



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA, BIOQUÍMICA Y FARMACIA



CULTIVO DE MACROALGAS AGARÓFITAS DEL SURESTE DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES



Alumna: Agostina Blanco De Las Heras
Directora: Dra. M. Cecilia Gauna

Bahía Blanca
Fecha de defensa oral: 28/11/2025

2025



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR



DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA, BIOQUÍMICA Y FARMACIA

CULTIVO DE MACROALGAS AGARÓFITAS DEL SURESTE DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES

TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE LICENCIADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Firma del Alumno/a

Firma del Director/a

Título abreviado: Cultivo de macroalgas agarófitas del sureste bonaerense



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA, BIOQUÍMICA Y FARMACIA



CULTURE OF AGAROPHYTE SEAWEED FROM THE SOUTHEASTERN BUENOS AIRES COAST

BACHELOR'S THESIS IN BIOLOGICAL SCIENCES

Short title: Agarophyte seaweed culture in southeastern Buenos Aires

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría expresar mi profundo agradecimiento a la Universidad Nacional del Sur y al Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, por brindar los recursos necesarios para formar profesionales capacitados y comprometidos con la ciencia.

A mi directora, la Dra. María Cecilia Gauna, por acompañarme y guiarme durante estos dos últimos años, no solo en el desarrollo de este trabajo, sino también en el cierre de mi carrera. Gracias por su paciencia, por su confianza, por enseñarme todo lo que sé sobre el cultivo de algas, por las largas horas y días compartidos frente a frente, por ser siempre la mejor compañía, confiar en mí, alentarme en mis últimos finales y brindarme un espacio de contención y apoyo.

A mis amigas de la Universidad, porque lo mejor de ir a cursar era tomar mates en las clases teóricas y compartir risas en los trabajos prácticos.

A todas las personas que, de alguna manera, estuvieron cerca durante estos años, brindándome su apoyo y presencia en cada etapa de mi formación académica.

A Nutriterra S.A. por proveer los bioestimulantes utilizados en este estudio.

A Lisa, por su constante interés, sus palabras de aliento y por hacerme sentir siempre acompañada, aun estando lejos.

A mi prima Camila, por estar presente y compartir conmigo distintos momentos de esta etapa.

A mi prima Celeste, por ser no solo mi prima, sino también mi amiga, mi consejera y, sobre todo, la hermana mayor que la vida me regaló.

A mi tío Alfonso, por ser la figura paterna que tanto necesité estos últimos años.

A John, por acompañarme todos los días, por creer siempre en mí, incluso cuando yo dudaba, por saber qué decir en cada momento y por brindarme un espacio seguro para ser yo misma. Gracias por recordarme siempre lo que soy capaz de lograr, por su paciencia infinita y por hacer de este camino algo más liviano, con cariño, apoyo y dedicación, incluso en la distancia.

Finalmente, mi gratitud más profunda a mi mamá Liliana y a mi hermana Dana, por su amor incondicional. Gracias por consolarme cuando el estudio me desbordaba, por celebrar conmigo cada logro, por hacerme sentir amada incluso en mis días más difíciles, por cada abrazo, cada charla, cada viaje y cada pequeño gesto de amor del día a día. Dana, gracias por ser mi mejor amiga y por compartir conmigo risas, secretos y sueños. Este trabajo también es de ustedes; no hubiera podido lograrlo sin su amor.

RESUMEN

Los objetivos de trabajo se centraron en el cultivo de dos especies de *Gelidium* mediante el uso de bolsas permeables en medios enriquecidos con estimulantes naturales y químicos. La técnica empleada demostró ser adecuada y una alternativa viable para el cultivo de especies clonales. En *Gelidium carolinianum*, el suplemento con BIO A, promovió el mayor aumento de biomasa en talos enteros, mientras que los tratamientos con ALN A, BIO B y PES+BIO resultaron más efectivos en porciones apicales y estoloníferas. En *Gelidium crinale*, los talos enteros respondieron positivamente a PES, ALN y PES+ALN y PES+BIO, observándose también incrementos en las porciones apicales bajo PES y PES+ALN. Las TCD oscilaron entre 0,99 y 1,71 %/día, según especie y tratamiento. *G. crinale* mantuvo crecimiento activo durante 45 días, mientras que *G. carolinianum* evidenció una reducción de biomasa hacia la cuarta semana. Se observó la formación de comunidades epibiónticas sobre los sustratos, cuya composición varió según el tratamiento, siendo KEL y PES+BIO los más favorables para su desarrollo. Este trabajo aporta información sobre el comportamiento de *Gelidium* bajo condiciones controladas y sienta bases para el desarrollo de estrategias que impulsen un cultivo sustentable y escalable de macroalgas agarófitas en el sureste bonaerense.

Palabras clave: Algas rojas, Ficocultivo, *Gelidium*

ABSTRACT

The objectives of this study focused on the culture of two *Gelidium* species using permeable bags in enriched media with natural and chemical stimulants. The applied technique proved to be suitable and represents a viable alternative for the cultivation of clonal species. In *Gelidium carolinianum*, supplementation with BIO A promoted the highest biomass increase in entire thalli, while treatments with ALN A, BIO B, and PES+BIO were more effective in apical and stoloniferous portions. In *Gelidium crinale*, entire thalli responded positively to PES, ALN, and their combinations (PES+ALN and PES+BIO), with additional growth enhancement in apical portions under PES and PES+ALN. Daily growth rates (DGR) ranged from 0,99 to 1,71% per day depending on species and treatment. *G. crinale* maintained active growth during 45 days, whereas *G. carolinianum* exhibited biomass reduction after the fourth week. Epibiotic communities developed on the substrates, with composition varying according to treatment; KEL and PES+BIO favored their establishment. This study provides valuable insights into *Gelidium* behavior under controlled conditions and establishes a foundation for developing sustainable and scalable cultivation strategies of agarophyte seaweed in the southeastern region of Buenos Aires Province.

Keywords: *Gelidium*, Phycoculture, Red algae

ÍNDICE DE CONTENIDOS

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. El género <i>Gelidium</i>	1
1.2. Importancia económica de las especies agarofitas	1
1.3. Explotación de poblaciones silvestres de <i>Gelidium</i>	2
1.4. Cultivo de las especies de <i>Gelidium</i>	3
1.5. Tasas de crecimiento y medios de cultivo	4
1.6. Hipótesis y Objetivos	5
2. MATERIALES Y MÉTODOS	7
2.1. Sitio de colecta de muestra.....	7
2.2. Colecta de talos de <i>Gelidium</i>	8
2.3. Aclimatación y acondicionamiento de talos a condiciones de cultivo	9
2.4. Diseño experimental.....	9
2.5. Estimación del crecimiento	12
2.6. Caracterización de los organismos epifitos sobre el sustrato	12
2.7. Análisis estadísticos	13
3. RESULTADOS.....	14
3.1. Evaluación del crecimiento utilizando diferentes estimulantes y combinaciones.....	14
3.1.1. En <i>G. carolinianum</i>	14
3.1.1.1. En talos enteros.....	14
3.1.1.2. En porciones apicales.....	15
3.1.1.3. En porciones estoloníferas	16
3.1.2. En <i>G. crinale</i>	18
3.1.2.1. En talos enteros.....	18
3.1.2.2. En porciones apicales.....	19
3.1.2.3. En porciones estoloníferas	20
3.2. Evaluación del crecimiento bajo aumento de concentraciones de estimulantes.....	21
3.2.1. En <i>G. carolinianum</i>	21
3.2.1.1. En talos enteros.....	21
3.2.1.2. En porciones apicales.....	22
3.2.1.3. En porciones estoloníferas	23
3.2.2. En <i>G. crinale</i>	24
3.2.2.1. En talos enteros.....	24
3.2.2.2. En porciones apicales.....	24
3.2.2.3. En porciones estoloníferas	24
3.3. Evaluación del crecimiento comparando <i>G. carolinianum</i> y <i>G. crinale</i>	25
3.3.1. En talos enteros	25

3.3.2. En porciones apicales	26
3.3.3. En porciones estoloníferas	27
3.4. Caracterización de los organismos epifitos sobre el sustrato	28
4. DISCUSIÓN	31
4.1. Cultivo de especies de <i>Gelidium</i> bajo condiciones de laboratorio	31
4.2. Tasa de crecimiento de especies de <i>Gelidium</i>	31
4.3. Estimulantes del crecimiento en <i>Gelidium</i>	33
4.4. Evaluación general del método de cultivo en <i>Gelidium</i>	34
4.5. Presencia de epibiontes en las bolsas permeables	35
5. CONCLUSIONES	37
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39

1. Introducción

1.1. El género *Gelidium*

Gelidium J.V. Lamouroux es un género marino de macroalgas rojas perteneciente a la Clase Florideophyceae (Familia Gelidiaceae), que actualmente incluye 144 especies (Guiry & Guiry, 2025). Geográficamente, *Gelidium*, es el género más ampliamente distribuido de la familia Gelidiaceae, se encuentra en zonas intermareales y submareales desde regiones templadas y tropicales, con mayor diversidad en estas últimas. Está ausente en las aguas árticas y subantárticas (Meinita *et al.*, 2023).

Las especies de *Gelidium* presentan talos uniaxiales de crecimiento apical, con gran variabilidad de forma, color, tamaño y patrón de ramificación. Algunas poseen talos modulares, heterotricos, formados por estolones postrados y ejes erectos, que pueden ramificarse profusamente formando ensamblajes cespitosos o matas compactas (Croce & Freshwater, 2024).

En las costas de Argentina se han identificado dos especies de *Gelidium* mediante estudios morfológicos y moleculares: *Gelidium crinale* (Hare ex Turner) Gaillon y *Gelidium carolinianum* Perrone, Freshwater, Bottalico, G.H. Boo & S.M. Boo. Ambas especies coexisten en la región intermareal de las zonas templadas del país, con rangos de distribución que se superponen y ocupan el mismo hábitat.

Gelidium carolinianum presenta talos pequeños de hasta 2 cm de longitud, profusamente ramificados y de color rojo brillante a carmesí, con ejes erectos aplanados y membranosos. La ramificación es opuesta o subopuesta, y en ocasiones bipinnada (Perrone *et al.*, 2019).

Los talos de *G. crinale* son filiformes, fibrosos y alargados, escasamente ramificados, de color rojo oscuro a negruzco. Poseen estolones que originan ejes erectos cilíndricos formando matas de hasta 5 cm de altura. La ramificación puede ser opuesta, subopuesta o irregular (Croce & Parodi, 2013). Ambas especies son anuales y forman matas cespitosas que crecen fijadas a rocas o conchas de bivalvos y gasterópodos mediante sus estolones postrados (Croce & Freshwater, 2024).

1.2. Importancia económica de las especies agarófitas

Gelidium se integra dentro del grupo de las macroalgas agarófitas, es decir, aquellas algas utilizadas para la extracción de agar debido a sus polisacáridos específicos de su pared celular. Estos polisacáridos, denominados polisacáridos sulfatados o hidrocoloides, son esenciales por su utilidad en la industria alimentaria, donde se emplean como agentes gelificantes, espesantes y estabilizantes (Cebrián-Lloret *et al.*, 2024).

El agar, presente en las paredes celulares de las especies agarófitas, está compuesto por dos fracciones principales: agarosa y agarpectina. La agarosa constituye la fracción gelificante y está formada por unidades alternadas de β -D-galactopiranosas y 3,6-anhidro- α -L-galactopiranosas. La agarpectina, de estructura similar, corresponde a la fracción con propiedades espesantes y puede

contener ésteres sulfato y otros residuos, como grupos metoxilo y ácido pirúvico. Una mayor proporción de grupos sulfato en el agar suele asociarse a una menor capacidad gelificante y modifica tanto la temperatura de gelificación como la de fusión (Cebrián-Lloret *et al.*, 2024).

Además de *Gelidium*, se reconocen otros géneros agarófitos como *Gracilaria*, *Pterocladia*, *Pteroclatiella*, *Gelidiella*, *Acanthopeltis* y *Ahnfeltia*. Sin embargo, según los informes de la FAO (2024) el mercado de hidrocoloides está dominado por el agar obtenido de *Gracilaria* y *Gelidium*, las principales algas empleadas en la producción industrial de agar.

Varias especies de *Gracilaria* son cultivadas a nivel mundial para la obtención de agar de grado alimenticio y, de acuerdo con los datos de la FAO, este género ocupa el tercer lugar en la producción acuícola global de macroalgas marinas cultivadas. En cambio, la biomasa de *Gelidium* destinada a la extracción de agar proviene principalmente de poblaciones silvestres. A pesar de ello, las especies de este género, continúan siendo explotadas debido a que producen un agar y agarosa de grado bacteriológico de alta calidad, caracterizados por una elevada fuerza de gelificación y un bajo contenido en sulfatos. Esta calidad de agar solo se obtiene a partir de especies de *Gelidium*. Las demás especies agarófitas se utilizan a una escala industrial significativamente menor en comparación con *Gracilaria* y *Gelidium* (Chumsook *et al.*, 2023).

Tradicionalmente, *Gelidium* fue utilizado como alimento y en medicina herbal en países asiáticos como China, Japón y Corea. En la actualidad, se reconoce además como una fuente de compuestos bioactivos entre ellos R-ficoeritrina, R-ficocianina, terpenoides, taninos, flavonoides, saponinas, cumarinas y esteroides, con diversas aplicaciones en las industrias farmacéutica, alimentaria y nutracéutica. Estos compuestos presentan una amplia gama de actividades biológicas, tales como acciones antibacterianas, antioxidantes, anticancerígenas, antitumorales, antiinflamatorias, inmunoestimulantes, neuroprotectoras y antidiabéticas (Meinita *et al.*, 2023).

1.3. Explotación de poblaciones silvestres de *Gelidium*

Diversas especies de *Gelidium* se recolectan en todo el mundo para la extracción de agar. Entre las principales especies que se explotan comercialmente se citan a *G. corneum* en Portugal, España, Francia y Marruecos; *G. amansii* y *G. latifolium*, en Japón, Taiwán, Corea e Indonesia y *G. robustum* en México (Melo 1998; Santos & Melo, 2018).

La biomasa algal se obtiene a partir de arribazones varados en las playas, o mediante la colecta manual de talos adheridos en las zonas intermareales o submareales (Mac Monagail *et al.*, 2017; Araujo *et al.*, 2021). En el caso de las especies estoloníferas, la eliminación de los ejes rastreros durante la colecta puede retrasar la regeneración de los ejes erectos durante varios años, lo que favorece la colonización del área por otras macroalgas. Por lo tanto, la extracción de estas poblaciones silvestres tiene un impacto directo no sólo sobre la biomasa de la especie de interés, sino también sobre la biodiversidad y la composición de los ensamblajes macroalgales de las zonas explotadas (Lotze *et al.*, 2019).

Sin duda, la recolección de macroalgas silvestres enfrenta el desafío de equilibrar la sostenibilidad ambiental y socioeconómica de esta actividad. Durante las últimas décadas, la gestión de los recursos naturales ha enfatizado la necesidad de proteger las especies y los ecosistemas, promoviendo la conservación del hábitat para mantener la diversidad y abundancia de especies, al mismo tiempo que se posibilita una explotación sostenible de los recursos marinos. Considerando la importancia económica de varias especies de *Gelidium*, resulta necesario evaluar las poblaciones en las zonas de recolección con el fin de definir niveles adecuados de extracción, implementar medidas de repoblamiento, establecer temporadas de cosecha y aplicar regulaciones locales para el manejo sostenible de estos recursos algales (Araujo *et al.*, 2021).

Además de la presión ejercida por la colecta de las poblaciones silvestres, otros impactos antropogénicos, como el cambio climático, han incrementado las preocupaciones sobre la sostenibilidad de este recurso. De hecho, ya en 2018 se reportó una escasez global de colectas de *Gelidium* (Santos & Melo, 2018).

1.4. Cultivo de las especies de *Gelidium*

Se han realizado numerosos ensayos experimentales de cultivo en distintas especies de *Gelidium* bajo condiciones de laboratorio, en tanques y en el mar (Santelices 1988; Fei & Huang 1991; Melo *et al.*, 1991, Friedlander 2008). Las técnicas desarrolladas se basan en el cultivo a partir de esporas, fragmentos vegetativos, protoplastos o callos (Buschmann *et al.*, 2001; Titlyanov *et al.*, 2006; Villegas *et al.*, 2023).

Desde hace más de 30 años, los intentos de cultivo de *Gelidium* han sido ampliamente documentados. Se ha experimentado con el cultivo en el mar mediante granjas experimentales, tanto en aguas expuestas como protegidas, a diferentes profundidades y con o sin fertilización química, registrándose tasas de crecimiento específicas de hasta 2% por día en condiciones ideales (Melo *et al.*, 1991). Asimismo, varios estudios han abordado el re-ancraje de porciones estoloníferas bajo diferentes regímenes de temperatura y fotoperiodo, con el fin de optimizar el proceso de fijación en condiciones controladas (Salinas & Valdés, 1993). También se ha evaluado la esporulación y la fijación de esporas sobre conchas de moluscos y otros sustratos (Rojas *et al.*, 1996). Estas investigaciones han demostrado que el cultivo de *Gelidium* en el mar no es viable durante todo el año, debido principalmente a la acción del oleaje y a las fluctuaciones de temperatura del agua, factores que afectan negativamente su crecimiento y, en consecuencia, la factibilidad económica del cultivo a largo plazo. No obstante, el cultivo en tierra (*onshore*) representa una alternativa prometedora. Este tipo de cultivo, realizado en tanques controlados, permite mantener condiciones ambientales estables durante todo el año, asegurando calidad, rendimiento y trazabilidad constantes, entre otros beneficios. A pesar de los numerosos intentos y de que el cultivo de *Gelidium* es técnicamente posible tanto en el mar como en sistemas terrestres, aún no se ha desarrollado una tecnología lo suficientemente eficiente y rentable a escala comercial. Por ello, la gestión de la colecta de poblaciones naturales debe abordarse con especial precaución, mientras continúan las investigaciones orientadas al desarrollo de las técnicas de cultivo.

Uno de los principales problemas que enfrenta el cultivo de macroalgas, tanto en mar como en sistemas *onshore*, es la colonización por organismos epífitos. Estos organismos incluyen bacterias, hongos, micro y macroalgas e incluso pequeños invertebrados, que se establecen sobre la superficie del alga hospedadora formando biofilms y comunidades complejas. Aunque algunas de estas asociaciones pueden aportar beneficios al alga, como nutrientes adicionales, factores de crecimiento o protección frente al establecimiento de otros organismos *fouling* (organismos capaces de colonizar sustratos artificiales o naturales sumergidos), en la mayoría de los casos, la interacción genera competencia por la luz, el espacio y los nutrientes, afectando negativamente la capacidad fotosintética, el crecimiento, la reproducción y en casos extremos la mortalidad del hospedador. Si bien, el control de los epífitos puede ser factible en cultivos *onshore*, se requieren mayores esfuerzos de investigación para desarrollar estrategias efectivas de mitigación y manejo de estos organismos, con el objetivo de mantener rendimientos óptimos y asegurar la calidad del producto en la acuicultura de macroalgas marinas (Behera, 2022).

1.5. Tasas de crecimiento y medios de cultivo

La tasa de crecimiento de las especies de macroalgas en sistemas de cultivo, es uno de los parámetros más importantes para determinar el éxito del cultivo de la especie en interés. En general, estas tasas están fuertemente influenciadas por la concentración de nutrientes en el medio de cultivo, ya que su deficiencia constituye un factor limitante para el crecimiento de las algas (Harrison & Berges, 2004).

El medio de cultivo es una solución que contiene micro y macronutrientes, agregada al agua utilizada para el crecimiento de distintas especies de macroalgas. Uno de los medios más empleados es el medio de agua de mar enriquecida Provasoli, (PES, por sus siglas en inglés). Este medio ha demostrado ser altamente eficiente en el cultivo de diversas macroalgas bajo condiciones controladas de laboratorio, ya que promueve tanto el crecimiento como el aumento en el contenido de compuestos metabólicos (Harrison & Berges, 2004). De manera alternativa, pueden emplearse soluciones nutritivas basadas en extractos de macroalgas marinas, especialmente derivados de macroalgas pardas. En la actualidad, estos extractos se utilizan ampliamente en agricultura como bioestimulantes ecológicos, debido a su capacidad para promover el crecimiento vegetal y aumentar la resistencia frente a estreses ambientales y enfermedades (Critchley *et al.*, 2021; Margal *et al.*, 2023). La selección de extractos de origen macroalgal se debe a que estas algas producen gran biomasa y poseen un alto contenido de compuestos fisiológicamente activos, como polisacáridos, carotenoides, aminoácidos, proteínas, lípidos y polifenoles. Entre los más relevantes se destacan laminarina, fucoïdanos y manitol, compuestos reconocidos por su eficiencia en el crecimiento, la fotosíntesis y la resistencia al estrés en plantas vasculares (Bouissil *et al.*, 2020; Mamede *et al.*, 2023).

Los extractos basados en macroalgas marinas se consideran bioestimulantes amigables con el medio ambiente, no tóxicos para los organismos del ecosistema (Critchley *et al.*, 2021). Se elaboran sin la adición de químicos y se extraen a bajas temperaturas, lo que garantiza que su contenido fitohormonal

se mantenga biológicamente activo. Actualmente su uso no se limita al crecimiento de plantas vasculares, sino también se aplican al cultivo de macroalgas. La primera aplicación de extractos macroalgales se realizó a partir del alga parda *Ecklonia maxima*, bajo la marca comercial Kelpak®, resultando efectiva para promover el crecimiento de *Ulva pertusa* y de *Gracilaria vermiculophylla* (Robertson-Anderson *et al.*, 2006). Posteriormente surgieron otros productos basados en extractos de *Ascophyllum nodosum*, como AMPEP, Alganutrifol, entre otros, los cuales demostraron efectos positivos en la propagación asexual por esporas, en la reducción de la enfermedad “ice-ice” en especies carragenófitas, en el control de epífitos y endófitos, así como en la mejora del crecimiento y la tolerancia al stress térmico de diversas macroalgas (Umanzor *et al.*, 2020 Han *et al.*, 2022).

Actualmente existen numerosos bioestimulantes basados en extractos de algas, bajo distintas marcas comerciales. En Argentina, se sintetiza y comercializa el bioestimulante denominado Biotec, producido a partir de extractos de poblaciones nativas de *Macrocystis pyrifera*. Este producto ha mostrado efectos positivos significativos en cultivos de soja, maíz, trigo y sorgo, mejorando el crecimiento vegetal y la resistencia frente a diferentes estresores ambientales (Laboratorios Biotec S.A., www.laboratoriosbiotecsa.com).

Diversos estudios que han evaluado los extractos basados en macroalgas han demostrado su eficacia general en el cultivo de macroalgas, destacando su potencial como bioestimulantes capaces de mejorar el crecimiento y mitigar los efectos de los estreses bióticos y abióticos (Critchley *et al.*, 2021).

1.6. Hipótesis y Objetivos

Para lograr cultivar con éxito una especie es imprescindible conocer las condiciones de cultivo y los requerimientos nutricionales. Sin embargo, para la mayoría de las especies de macroalgas, estas condiciones aún son desconocidas, existiendo información únicamente para aquellas que actualmente son explotadas de manera comercial. Esta situación es especialmente evidente en países donde los estudios sobre el cultivo de macroalgas son escasos, como ocurre en Argentina. Considerando este contexto, el presente estudio se propone como una contribución al conocimiento del ficocultivo y al establecimiento de condiciones nutricionales óptimas para dos especies de *Gelidium* que crecen en las costas del sureste bonaerense.

En esta tesis de grado se plantea como hipótesis principal que:

Las especies gelidioides de las costas del sureste bonaerense pueden crecer vegetativamente bajo condiciones controladas de laboratorio, utilizando tanto estimulantes químicos como estimulantes basados en extractos de macroalgas.

A continuación, se plantean los siguientes objetivos específicos:

- Iniciar cultivos de *G. crinale* y *G. carolinianum* utilizando a) talos enteros, b) porciones apicales y c) porciones estoloníferas (basales), empleando bolsas tipo mesh como metodología de cultivo.
- Evaluar el efecto de utilizar diferentes estimulantes, como un formulado químico (PES) y extractos basados en macroalgas (Kelpak®, Alga Nutrifol y Biotec), y diferentes concentraciones de cada uno, sobre las tasas de crecimiento de los talos de ambas especies.
- Adicionar en los cultivos diferentes combinaciones de estimulantes y evaluar las tasas de crecimiento obtenidas.
- Identificar las tasas de crecimiento óptimas en función de los siguientes factores: a) especie b) talo entero, ápice, base, c) tipo de estimulante (PES, Kelpak®, Alga Nutrifol, Biotec) d) concentración de estimulante, e) combinaciones de estimulantes.
- Determinar cualitativamente la carga epifita desarrollada sobre las bolsas empleadas en el cultivo.

2. Materiales y Métodos

2.1. Sitio de colecta de muestras

Los talos de *Gelidium crinale* y de *Gelidium carolinianum* fueron colectados durante marea baja en pozas de marea intermareales del sitio costero de Villa Del Mar (Partido de Coronel Rosales, 38°51'24" S; 62°07'04" O), ubicado en la costa norte del estuario de Bahía Blanca (EBB) (Fig. 1 a y b).

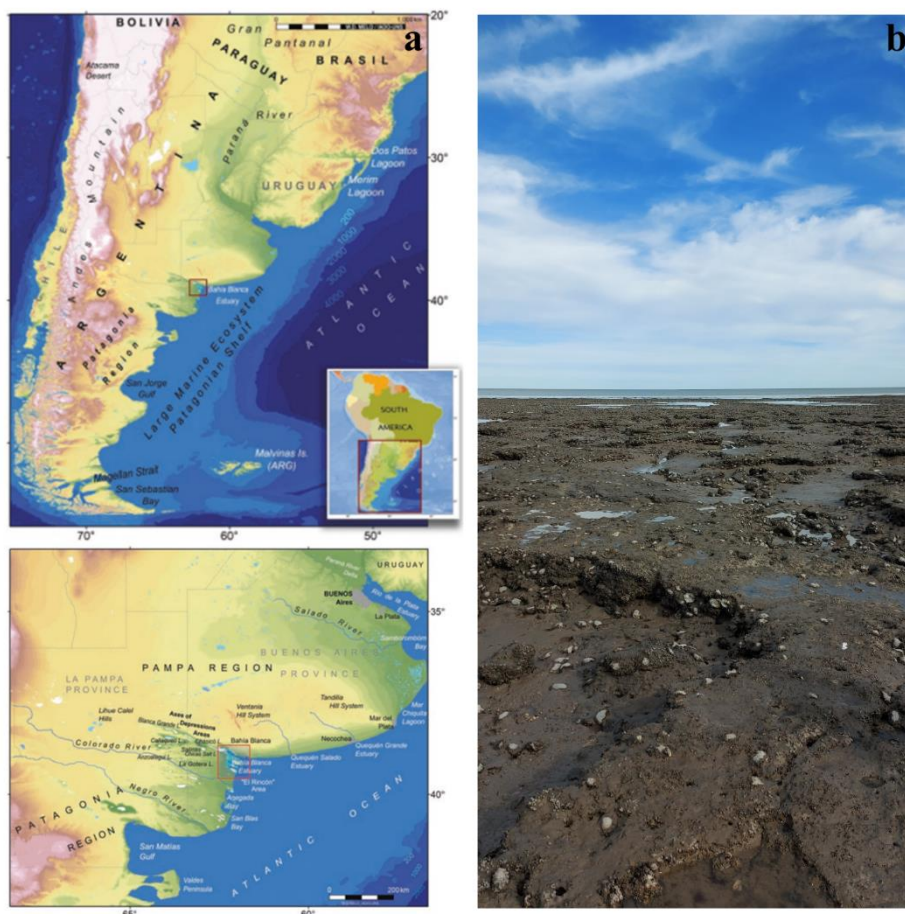


Figura 1. Sitio de colecta de muestras. a: Mapa de Argentina, con detalle de la provincia de Buenos Aires, y del estuario de Bahía Blanca. **b:** Zona intermareal de Villa del Mar mostrando pozas de mareas.

El EBB está conformado por una red compleja de canales de marea, entre los cuales se destacan los canales Principal, Bermejo, Bahía Falsa, Bahía Verde y Caleta Brightman. Se trata de un estuario mesomareal y semidiurno, con rangos de marea que varían entre 2,2 m hasta 4 m en la cabecera. La dinámica ambiental del EBB está influenciada principalmente por vientos del NNO, NO y N, que determinan un régimen climático predominantemente ventoso. La temperatura media anual oscila entre 14 y 20°C. Las precipitaciones son más frecuentes en verano (206,2 mm en promedio), seguidas por la primavera (198,4 mm), el otoño (138,1 mm) y el invierno (96,3 mm). En cuanto a las características físico-químicas del agua, las temperaturas superficiales promedio anuales son de aproximadamente 13 °C, alcanzando valores de hasta 21,6 °C en verano y descendiendo a 8,5 °C en invierno. La salinidad

superficial media varía entre 33,8 en invierno a 37,1 en verano, alcanzando valores máximos de 45,3 en otoño (IADO 2016,2018).

El EBB recibe un escaso aporte de agua dulce. Sus dos principales tributarios, ubicados en su costa norte, son el río Sauce Chico y el arroyo Napostá Grande. Sin embargo, el aporte más significativo de agua dulce, nutrientes y contaminantes proviene de los efluentes cloacales de las ciudades de Bahía Blanca, Punta Alta e Ingeniero White. A pesar de ello, la dinámica mareal semidiurna del estuario favorece una dilución efectiva de los efluentes a pocos kilómetros de su punto de descarga (Perillo & Piccolo, 2021).

La flora de la zona costera de Villa del Mar, está determinada por las condiciones hidrogeomorfológicas impuestas por su posición en el paisaje (Pratolongo & Fiori, 2021). En las zonas más elevadas, fuera del alcance de las mareas, predominan *Spartina densiflora* y *Sarcocornia perennis*, mientras que en las zonas más bajas se desarrolla *Spartina alterniflora*.

En Villa del Mar, el sustrato duro disponible para el asentamiento de algas incluye estructuras naturales y artificiales. El sustrato duro de origen natural está conformado por afloramientos formados por partículas sedimentarias finas consolidadas y conchas de moluscos (ostras, mejillones, caracoles y cirripedios). Estos afloramientos formados por materiales compactados de arena y arcilla, constituyen un sustrato relativamente duro (Aliotta & Lizasoain, 2004). Además, generan pozas de marea, que permanecen con agua durante la bajamar, lo que permite el desarrollo de comunidades macroalgales.

La riqueza de macroalgas en el EBB es baja en comparación con otras zonas costeras de Argentina, lo cual se atribuye a la elevada turbidez de sus aguas, que limita la penetración lumínica y, en consecuencia, el crecimiento algal. En términos de diversidad, se han registrado siete especies de macroalgas. Entre las rojas se identificaron *G. crinale*, *G. carolinianum*, *Polysiphonia abscissa*, *Polysiphonia morrowii* y *Ceramium diaphanum*; entre las verdes, distintos morfotipos del género *Ulva* y *Bryopsis plumosa*; y entre las pardas, *Ectocarpus siliculosus*, *Hinckesia hinckisiae* y *Punctaria latifolia* (Croce *et al.*, 2021).

2.2. Colecta de talos de *Gelidium*

Los talos de *G. crinale* y *G. carolinianum* fueron recolectados manualmente en piletas de marea y transportados inmediatamente al Laboratorio de Ficología del INIBIBB (con sede en FUNDASUR), en conservadora. Ambas especies pueden distinguirse fácilmente por sus características morfológicas. *G. crinale* presenta talos cilíndricos, de color negruzco, escasamente ramificados y de consistencia fibrosa, mientras que *G. carolinianum* posee talos aplanados, de color rojizo, con ramificación pinnada y consistencia laxa (Fig. 2 a, b y c).

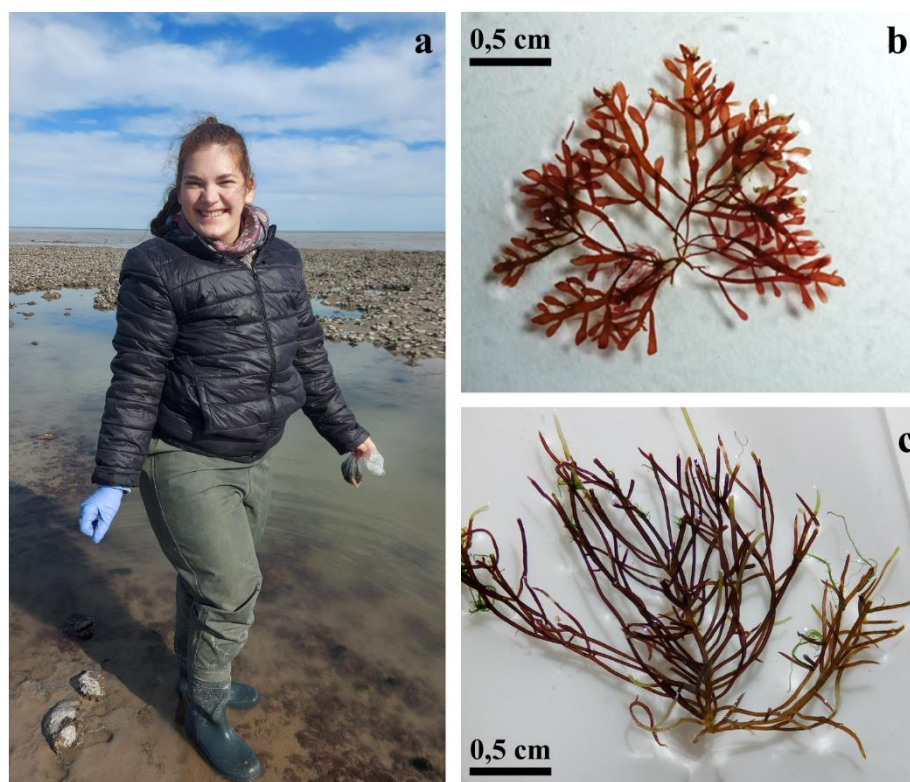


Figura 2. Colecta de talos de *Gelidium*. a: Colecta manual de talos en intermareal de Villa del Mar. b: *Gelidium carolinianum*. c: *Gelidium crinale*.

2.3. Aclimatación y acondicionamiento de talos a condiciones de cultivo

Los ejemplares fueron colocados en recipientes de vidrio de 3 L, previamente lavados con detergente no iónico y esterilizados en autoclave. Cada recipiente contuvo agua de mar filtrada a $1\ \mu\text{m}$, esterilizada mediante radiación UV (AMFyE), y enriquecida con medio Provasoli (PES) en una proporción de 10 ml de PES por litro de agua de mar. Los frascos se mantuvieron en una sala de cultivo a una temperatura de $18^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$, con una irradiancia de $80\ \mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$, fotoperiodo de 12:12 h. (luz: oscuridad) y aireación constante (Fig. 3 a). El período de aclimatación tuvo una duración de 15 días.

Una vez finalizado el período de aclimatación, se procedió al acondicionamiento y limpieza de los individuos. Los talos se separaron cuidadosamente de los sustratos de fijación (conchas de moluscos) utilizando un bisturí, y posteriormente se limpiaron mediante un suave pincelado de la superficie algal, seguido de varios enjuagues en AMFyE, hasta eliminar la mayor parte de los epibiontes y sedimentos superficiales.

2.4. Diseño experimental

Del stock de talos aclimatados y limpios de ambas especies de *Gelidium* se seleccionaron: a) talos enteros, b) secciones apicales y c) secciones basales o estoloníferas (Fig. 3 b). Los talos enteros y las diferentes secciones se colocaron por separado, en bolsas confeccionadas con tela tipo mesh, de 1

mm de apertura de malla (Fig. 3 c). En cada bolsa se colocaron 0,5 g de talos enteros, 0,3 g de secciones apicales y 0,1 g de porciones estoloníferas.

Las bolsas conteniendo biomasa algal se colocaron dentro de recipientes de vidrio de 320 ml previamente lavados y esterilizados, conteniendo AMFyE suplementada con nutrientes de diferente naturaleza. Como estimulante formulado se utilizó PES preparado en el laboratorio según las indicaciones de Bold & Wynne (1978). Como bioestimulantes se emplearon Kelpak® (KEL), (Kelp Products Pty Ltd., Simon's Town, Sudáfrica); Alga Nutrifol (ALN), (Spraytec, comercializado en Argentina por Nutriterra); y Biotec (BIO) (Laboratorios Biotec S.A, Argentina). Los ensayos se realizaron utilizando los estimulantes por separado, en combinación, y en diferentes concentraciones (Fig. 4, Tabla 1). Las proporciones utilizadas de los estimulantes se seleccionaron en base a datos publicados y/o recomendaciones de los fabricantes, garantizando concentraciones equivalentes de nitrógeno por volumen de cultivo (Provasoli 1968; Robertson-Andersson *et al.*, 2006, Hurtado *et al.*, 2008). Las proporciones finales empleadas y el pH de las soluciones de cultivo se detallan en la Tabla 1.

Las condiciones de cultivo fueron similares a las establecidas durante el período de aclimatación. Los cultivos se mantuvieron durante 45 días, realizando cambios del medio cada 5 días (Fig. 5 a y b). Las bolsas fueron reemplazadas al finalizar ese período, debido al desarrollo de organismos epifitos y sombreado de los talos y secciones. Todos los ensayos fueron realizados por triplicado.

Estimulante	Proporción (ml de estimulante/L)	pH de la solución
PES A	10	7,66
PES B	20	7,45
KEL A	5	6,13
KEL B	7,5	6,16
ALN A	0,32	7,9
ALN B	0,48	7,91
BIO A	1	8,06
BIO B	1,6	8,06
PES A / KEL A	10/5	6,19
PES A / ALN A	10/0,3	7,8
PES A / BIO A	10/1	7,84

Tabla 1. Proporciones empleadas de cada estimulante y el pH de las soluciones de cultivo.

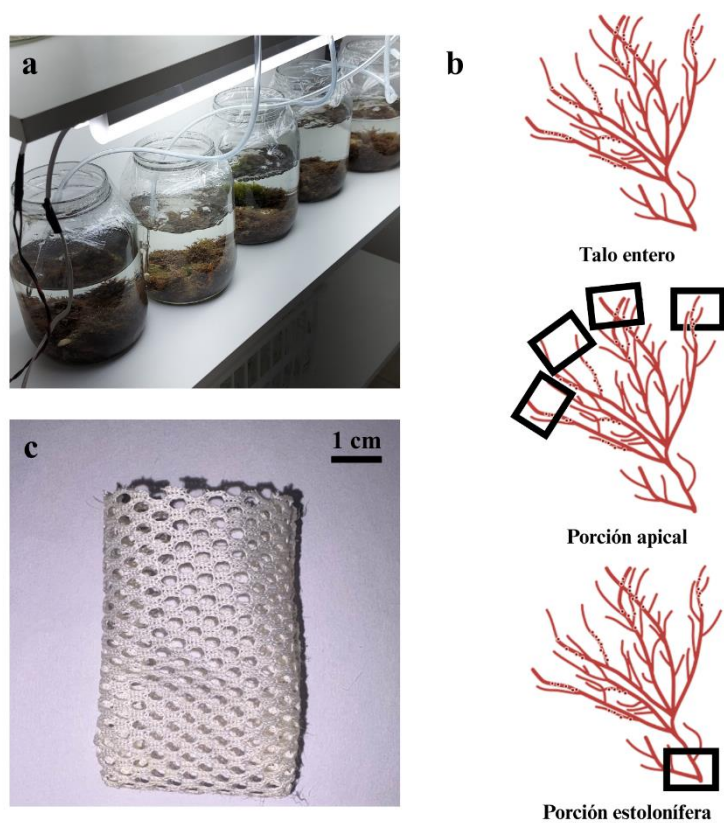


Figura 3. Aclimatación y diseño experimental. a: Aclimatación de los talos a condiciones de cultivo. b: Selección de talos en: talos enteros, porciones apicales y porciones estoloníferas. c: Bolsas confeccionadas con tela mesh utilizadas como sustrato de cultivo.

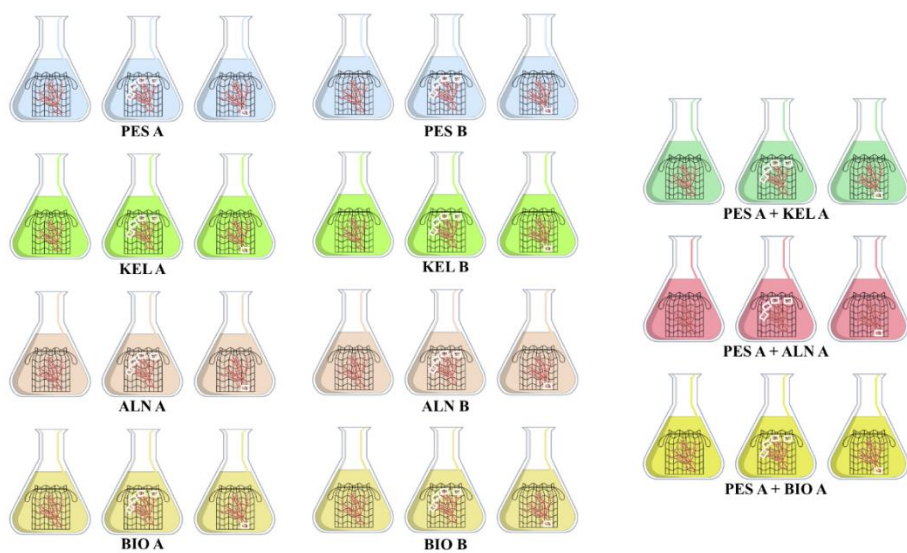


Figura 4. Diseño experimental. Diferentes estimulantes empleados.

2.5. Estimación del crecimiento

El peso húmedo escurrido de cada tratamiento se determinó cada 5 días utilizando una balanza analítica. Para ello, la biomasa algal se retiró de la bolsa mesh y se dejó escurrir sobre papel absorbente durante 20 minutos, reemplazando el papel a los 10 minutos. (Fig. 5 c) Los datos de peso húmedo obtenidos se utilizaron para calcular la tasa de crecimiento diaria (TCD) mediante la siguiente fórmula (Yong *et al.*, 2013):

$$TCD = ((PH_f/PH_i)^{(1/t)} - 1) \times 100$$

donde: PH_i = Peso húmedo inicial; PH_f = Peso húmedo final y t = días.

2.6. Caracterización de los organismos epífitos sobre el sustrato de cultivo

Se evaluó cualitativamente y se categorizó cuantitativamente la carga epifítica en las bolsas empleadas en el cultivo mediante microscopía óptica y electrónica de barrido (MEB). Para ello, pequeñas porciones de las bolsas fueron fijadas en glutaraldehído al 2,5% preparado en buffer cacodilato 0,01 M. La deshidratación, el montaje, el secado por punto crítico y el metalizado de las muestras fueron realizados por el Laboratorio de Microscopía Electrónica del CCT- Bahía Blanca. Finalmente, las muestras se observaron en un microscopio electrónico de barrido Leo Evo 40.

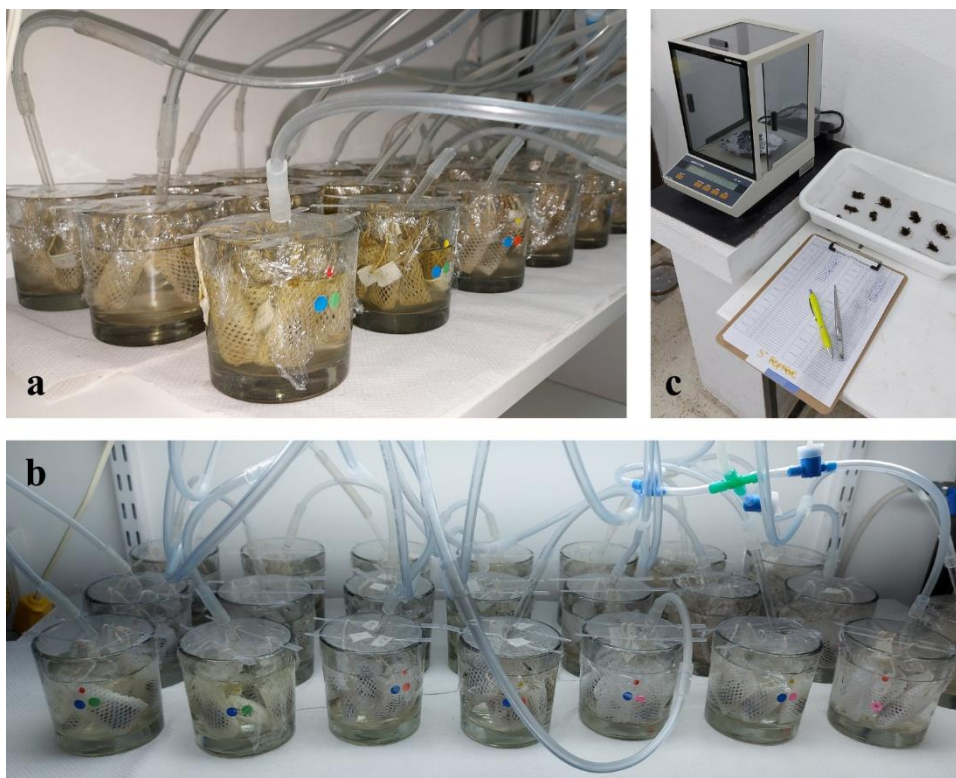


Figura 5. Cultivos de talos de *G. crinale* y *G. carolinianum* en distintos tratamientos. a y b: talos en cultivo bajo condiciones controladas de laboratorio. c: Estimación del peso húmedo escurrido.

2.7. Análisis estadísticos

Los datos obtenidos se expresaron como media $\pm$ desvío estándar (DE). Previo al análisis estadístico, se verificaron los supuestos de homocedasticidad y normalidad mediante las pruebas de Levene y Shapiro-Wilk, respectivamente. Para determinar qué tipo de estimulante produjo mejores resultados, se realizaron análisis de varianza (ANOVA) paramétricos y no paramétricos, según se cumplieran los supuestos mencionados, comparando las variables peso húmedo y tasa de crecimiento diaria (TCD) considerando los siguientes factores de agrupamiento: tipo de estimulante (PES, KEL, ALN y BIO), concentración (PES A, PES B, KEL A, KEL B, ALN A, ALN B, BIO A, BIO B), combinación (PES A+ KEL A, PES A+ ALN A y PES A+ BIO A) y zona del talo (entero, porción apical y porción estolonífera). Las diferencias entre grupos se analizaron por medio de las pruebas de Tukey y de Conover ($p < 0,05$). Para todos los análisis se utilizó el software InfoStat.

3. Resultados

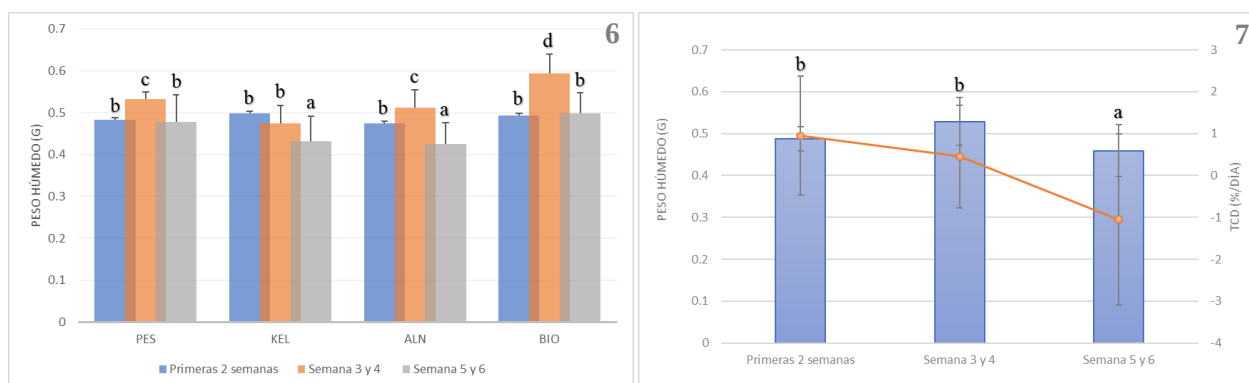
3.1. Evaluación del crecimiento utilizando diferentes estimulantes y combinaciones

3.1.1. En *G. carolinianum*

3.1.1.1. En talos enteros

En los cultivos iniciados con talos enteros, tras seis semanas de experimentación, se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas tanto entre los tratamientos aplicados como entre los períodos de cultivo ($F_{(80, 6)}=2,30$; $p=0,0143$). Durante las dos primeras semanas no se observaron diferencias significativas en la generación de biomasa húmeda entre los distintos estimulantes evaluados. No obstante, a partir de la segunda y tercera semana, el tratamiento con BIO favoreció un mayor incremento en la biomasa en los talos (Fig. 18), mientras que los tratamientos con ALN y PES registraron valores intermedios. En la quinta y sexta semana, los pesos de biomasa húmeda tendieron a disminuir en todos los tratamientos, sin embargo, dicha reducción fue menos pronunciada en los cultivos suplementados con BIO y PES (Fig. 6).

Las TCD calculadas a partir de los pesos de biomasa húmeda, no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos ($F_{(80, 3)}=0,230$; $p=0,8725$). En cambio, mostraron variaciones significativas a lo largo de período experimental ($F_{(80, 2)}=11,63$; $p<0,0001$). En particular, entre la quinta y sexta semana, las TCD disminuyeron de manera notable, alcanzando incluso valores negativos (Fig. 7).



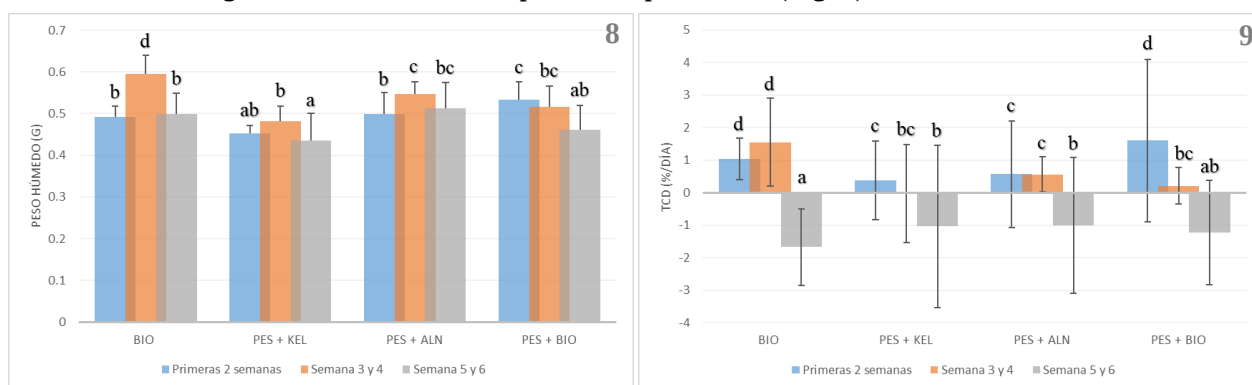
Figuras 6 y 7. Talos enteros de *G. carolinianum*. 6:

Variación del peso húmedo (g) (media $\pm$ DE) en función de los diferentes estimulantes utilizados y de los períodos de cultivo. 7: Variación de la TCD (% día⁻¹) y del peso húmedo a lo largo de las semanas de cultivo. Las letras sobre las barras indican los resultados del test de Tukey; letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p<0,05$).

Considerando los resultados obtenidos, se procedió a comparar el peso húmedo generado con el estimulante BIO, identificado como el más efectivo en la generación de biomasa y con las tres combinaciones de estimulantes (PES + KEL, PES + ALN y PES + BIO). Los análisis estadísticos evidenciaron diferencias altamente significativas tanto entre los tratamientos como entre las semanas de cultivo ($\chi^2=32,65$; $p=0,0006$). La mayor eficiencia en la generación de biomasa continuó observándose

con el uso de BIO, durante el mismo período de cultivo. No obstante, la combinación PES + ALN, mostró una mejora en su eficiencia entre la tercera y la sexta semana, en comparación con el uso individual de ALN (Fig. 8).

Asimismo, se detectaron diferencias altamente significativas entre las TCD al comparar los distintos tratamientos y períodos de cultivo ($\chi^2=29,06$; $p=0,0022$). Las mayores TCD se registraron con BIO durante las primeras 4 semanas de cultivo, y con la combinación PES+BIO en las dos primeras, lo que indica que esta última formulación no resultó efectiva para el mantenimiento de TCD positivas y sostenidas en el tiempo. Sin embargo, con esta última combinación se consiguieron las mayores TCD medias correspondiendo a un valor de 1,60%/día. De manera general, independientemente del estimulante utilizado, las TCD fueron negativas durante el último período experimental (Fig. 9).

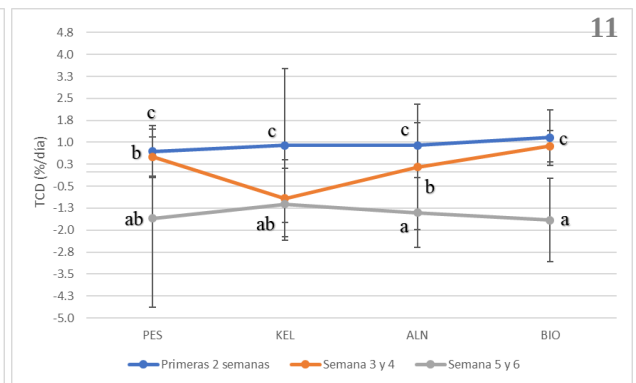
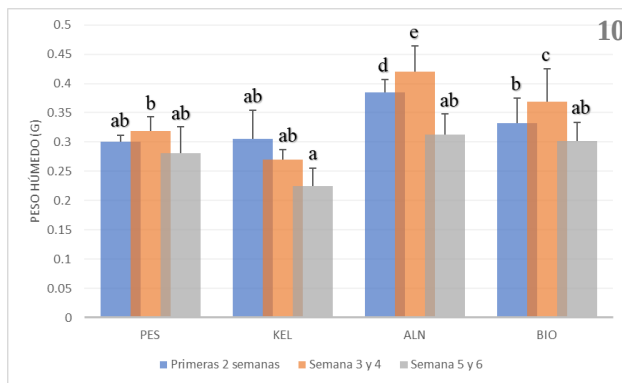


Figuras 8 y 9. Talos enteros de *G. carolinianum*. 8: Variación del peso húmedo (g) (media ± DE) en función de un estimulante individual (BIO) y las combinaciones utilizadas y de los períodos de cultivo. **9:** Variación de la TCD (% día⁻¹) utilizando mismos factores. Las letras sobre las barras indican los resultados de los test de Tukey y Conover; letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p<0,05$).

3.1.1.2. En porciones apicales

En los cultivos iniciados a partir de las porciones apicales se observaron diferencias significativas tanto entre los tratamientos aplicados como a lo largo de las semanas de cultivo ($F_{(80,6)}=2,42$; $p=0,0353$). Durante las dos primeras semanas, el tratamiento con ALN resultó el más efectivo para promover la generación de nueva biomasa. En la tercera y cuarta semana, ALN mantuvo su efecto estimulante, acompañado por BIO (Fig. 18). Finalmente, en la quinta y sexta semana, los pesos húmedos tendieron a disminuir en todos los tratamientos, sin embargo, esta reducción fue más pronunciada en los cultivos tratados con KEL (Fig. 10).

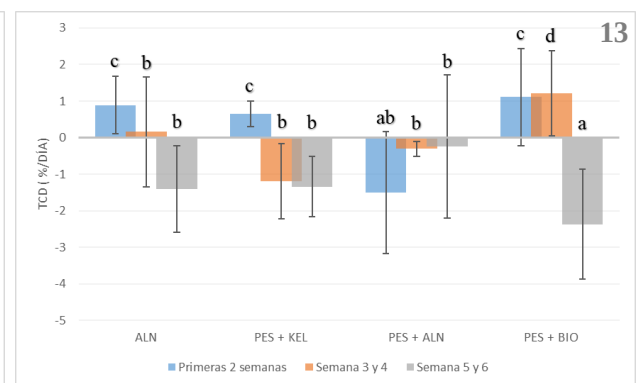
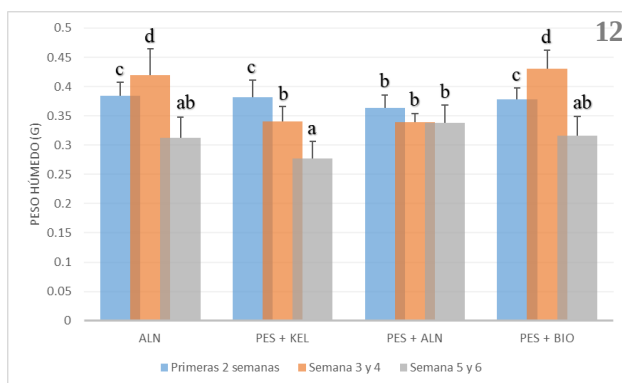
Las TCD de las porciones apicales también mostraron diferencias significativas entre los tratamientos y los períodos de cultivo ($\chi^2=43,58$; $p<0,0001$). Durante las dos primeras semanas, las TCD fueron positivas y no se detectaron diferencias significativas entre los estimulantes evaluados. En la tercera y cuarta semana, las TCD más bajas correspondieron al tratamiento con KEL, mientras que las más altas y positivas se registraron con BIO. En las dos últimas semanas, las TCD fueron negativas en todos los tratamientos, independientemente del estimulante aplicado (Fig. 11).



Figuras 10 y 11. Porciones apicales de *G. carolinianum*. 10: Variación del peso húmedo (g) (media $\pm$ DE) en función de los diferentes estimulantes utilizados y de los períodos de cultivo. **11:** Variación de la TCD (% día⁻¹) a lo largo de las semanas de cultivo. Las letras sobre las barras indican los resultados de los test de Tukey y Conover; letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

Considerando estos resultados, se procedió a comparar el efecto de ALN, identificado como el estimulante con mayor eficacia sobre el peso húmedo de las porciones apicales, con las combinaciones PES + KEL, PES + ALN y PES + BIO. Los análisis estadísticos revelaron diferencias significativas entre los tratamientos y los períodos de cultivo ($F_{(80, 6)}=7,32$; $p < 0,0001$). Los mayores valores de peso húmedo se obtuvieron con ALN y con la combinación BIO suplementada con PES, particularmente durante la tercera y cuarta semana de cultivo. Sin embargo, la suplementación de ALN con PES no favoreció la generación de nueva biomasa en las porciones apicales (Fig. 12).

Al analizar las TCD, se detectaron diferencias significativas en la interacción entre los factores ($F_{(80, 6)}=4,94$; $p = 0,0003$). Las tasas más altas se registraron con PES + BIO tanto en el primer como en el segundo período experimental (Fig. 13).



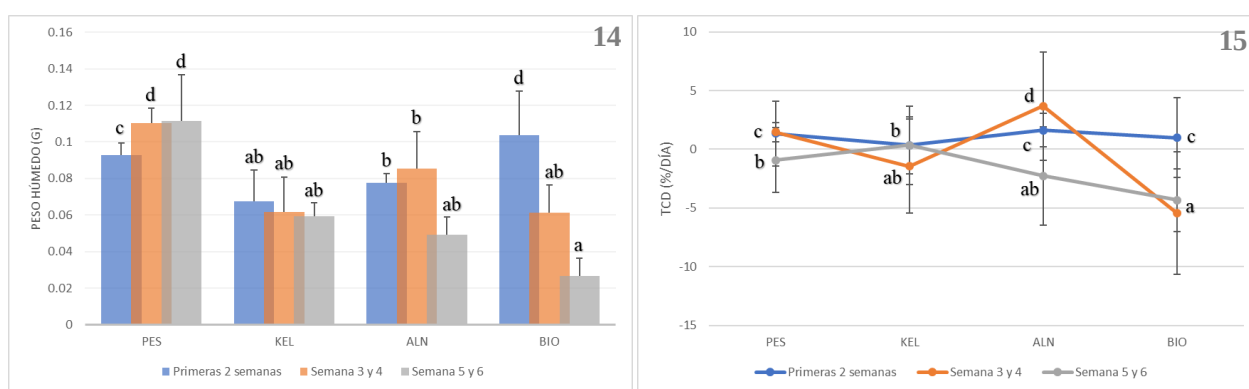
Figuras 12 y 13. Porciones apicales de *G. carolinianum*. 12: Variación del peso húmedo (g) (media $\pm$ DE) en función de un estimulante individual (ALN) y las combinaciones utilizadas y de los períodos de cultivo. **13:** Variación de la TCD (% día⁻¹) utilizando mismos factores. Las letras sobre las barras indican los resultados de los test de Tukey; letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). En porciones estoloníferas

3.1.1.3. En porciones estoloníferas

En los cultivos establecidos a partir de porciones estoloníferas, tras seis semanas de experimentación,

se observaron diferencias significativas tanto entre los tratamientos aplicados como entre los períodos de cultivo ($F_{(80,6)}=13,02$; $p<0,0001$). Durante las dos primeras semanas, los tratamientos con BIO y PES, promovieron una mayor generación de biomasa en los estolones. No obstante, desde la segunda semana y hasta la finalización del ensayo, únicamente el tratamiento con PES mantuvo un incremento sostenido de la biomasa, mientras que los demás estimulantes no generaron efectos positivos (Fig. 14 y 18).

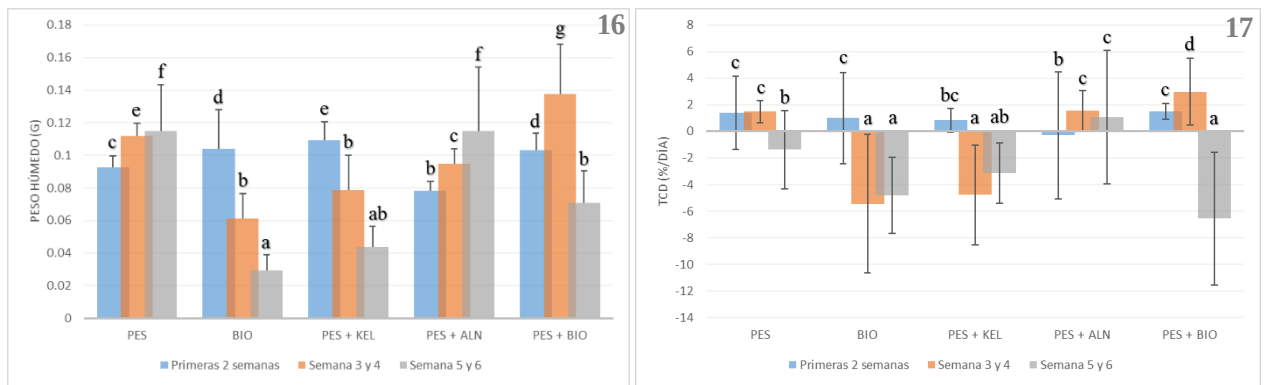
Las TCD también evidenciaron diferencias significativas entre tratamientos y períodos de cultivo ($\chi^2=31,29$; $p<0,0010$). Durante las dos primeras semanas, las TCD fueron positivas, destacándose el tratamiento con ALN por favorecer su incremento. En la tercera y cuarta semana, las TCD más bajas correspondieron a los tratamientos con KEL y BIO, mientras que las más elevadas y positivas se registraron con ALN y PES. En las dos últimas semanas, las TCD resultaron negativas en todos los tratamientos, independientemente del estimulante aplicado (Fig. 15).



Figuras 14 y 15. Porciones estoloníferas de *G. carolinianum*. 14: Variación del peso húmedo (g) (media $\pm$ DE) en función de los diferentes estimulantes utilizados y de los períodos de cultivo. 15: Variación de la TCD (% día⁻¹) a lo largo de las semanas de cultivo. Las letras sobre las barras indican los resultados del test de Tukey y Conover; letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p<0,05$).

Considerando estos resultados, se procedió a comparar las combinaciones de estimulantes (PES + KEL, PES + ALN y PES + BIO) con los efectos individuales de BIO y de PES, dado que estos últimos mostraron mayor eficacia sobre el peso húmedo de las porciones estoloníferas. Los análisis mostraron diferencias estadísticamente significativas en el peso húmedo tanto en los tratamientos como entre los períodos de cultivo ($F_{(90,8)}=13,15$; $p<0,0001$). Los valores más elevados de peso húmedo se registraron con la combinación de PES + BIO durante la tercera y cuarta semana de cultivo. No obstante, la aplicación individual de PES mostró una elevada eficiencia en el crecimiento de los estolones, especialmente durante las dos últimas semanas del experimento (Fig. 16).

Del mismo modo, las TCD variaron significativamente entre los tratamientos y los períodos de cultivo ($\chi^2=45,64$; $p<0,0001$). Las mayores TCD se obtuvieron con la combinación PES + BIO durante la tercera y cuarta semana de cultivo, alcanzando valores medios de 2,97%/día (Fig. 17).



Figuras 16 y 17. Porciones estoloníferas de *G. carolinianum*. 16: Variación del peso húmedo (g) (media $\pm$ DE) en función de los estimulantes individuales PES y BIO y las combinaciones utilizadas y de los períodos de cultivo. 17: Variación de la TCD (% día⁻¹) utilizando mismos factores. Las letras sobre las barras indican los resultados de los test de Tukey; letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

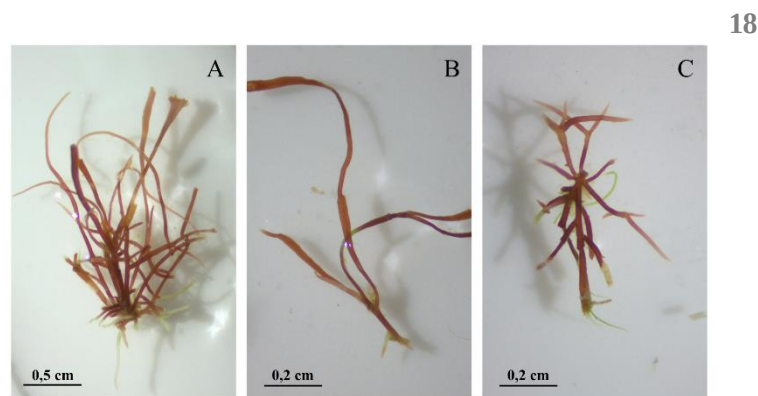


Figura 18: Vista general de *G. carolinianum*. A) Talo entero suplementado con BIO A en la tercera semana de cultivo. B) Porciones apicales mostrando ramas alargadas estimuladas por la aplicación de BIO B. C) Porción estolonífera con desarrollo de nuevas ramas cortas e incipientes ramas secundarias.

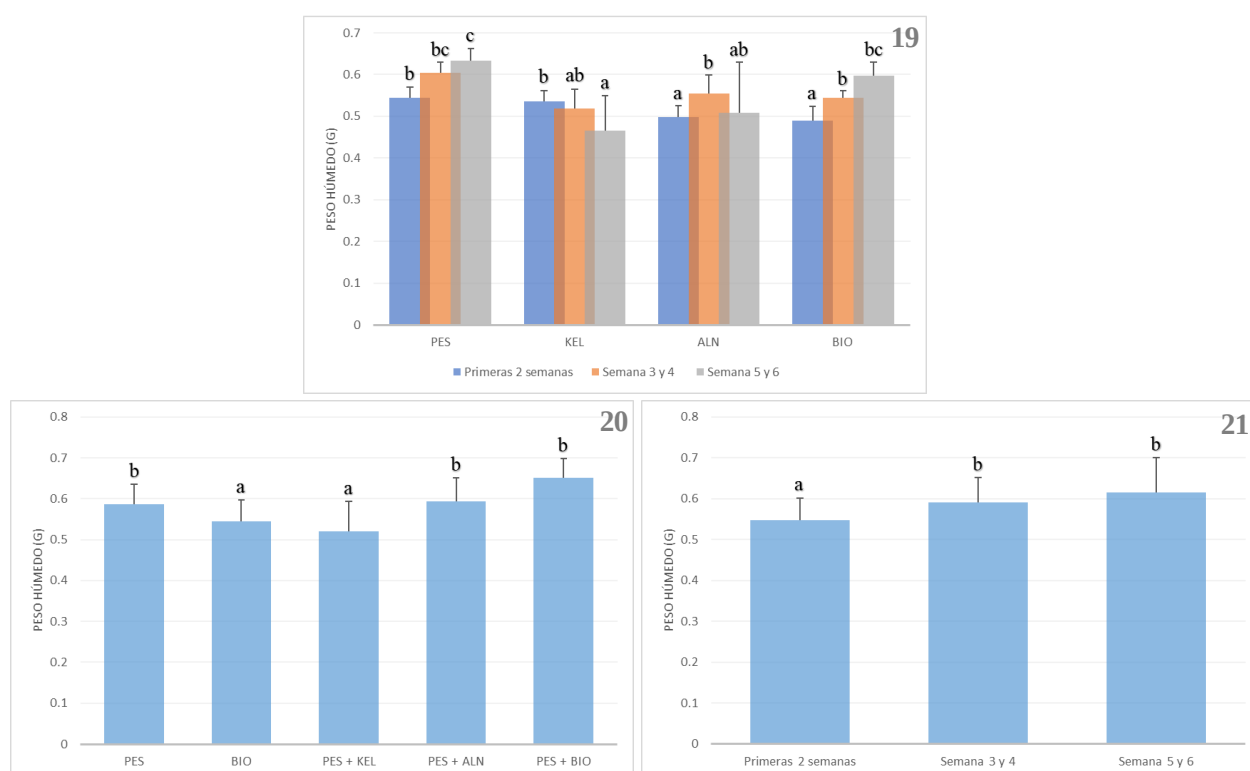
3.1.2. En *G. crinale*

3.1.2.1. En talos enteros

En los cultivos establecidos a partir de talos enteros, tras seis semanas de experimentación, se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas tanto entre los tratamientos aplicados como entre los períodos de cultivo ($F_{(80, 6)} = 4,15$; $p = 0,0013$). Durante las dos primeras semanas, la aplicación de PES y KEL promovió una mayor acumulación de biomasa húmeda (Fig. 26). No obstante, entre la segunda y la tercera semana, no se detectaron diferencias significativas entre tratamientos. En cambio, durante la quinta y sexta semana, los tratamientos con BIO y con PES registraron los valores más altos de peso húmedo (Fig. 19). Las TCD no mostraron diferencias significativas ni entre los tratamientos ni entre los períodos de cultivo ($\chi^2 = 15,23$; $p = 0,1721$).

Al comparar las combinaciones de los estimulantes (PES + KEL, PES + ALN y PES + BIO) con los efectos individuales de PES y BIO, considerados los más eficaces en la generación de biomasa, se

evidenciaron diferencias significativas en el peso húmedo de los talos enteros entre los tratamientos ($F_{(90, 4)}=23,72$; $p<0,0001$) y entre los períodos de cultivo ($F_{(90,2)}=17,36$; $p<0,0001$), aunque sin interacción significativa entre ambos factores ($F_{(90,8)}=1,79$; $p=0,0915$). Los mayores valores de peso húmedo continuaron obteniéndose con la aplicación individual de PES, sin embargo, las combinaciones PES + BIO y PES + ALN resultaron igualmente efectivas. En términos absolutos la combinación PES + ALN generó los valores más elevados de biomasa (Fig. 20). Respecto a los períodos de cultivo, la generación de biomasa se vio favorecida desde la tercera hasta la sexta semana de experimentación (Fig. 21). Las TCD no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos ni entre los períodos de cultivo ($\chi^2=12,11$; $p=0,5973$).

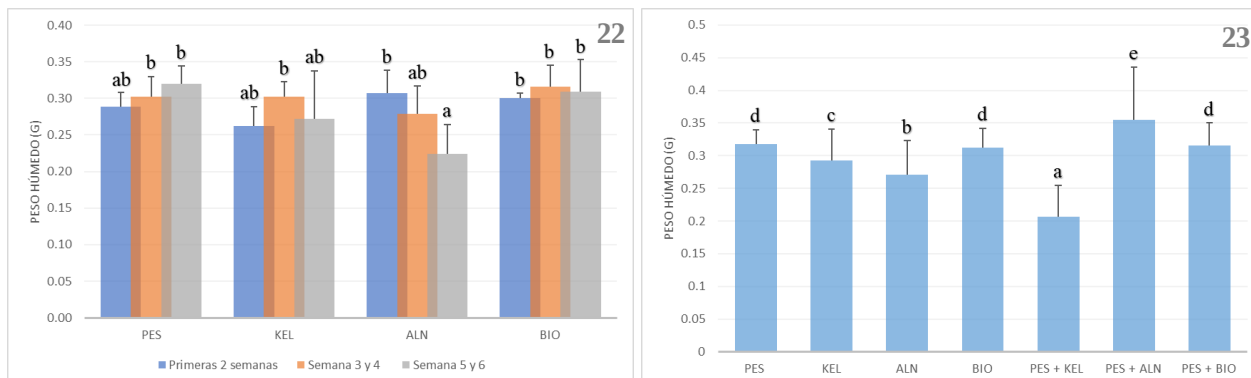


Figuras 19-21. Talos enteros de *G. crinale*. 19. Variación del peso húmedo (g) (media $\pm$ DE) en función de los diferentes estimulantes utilizados y de los períodos de cultivo. 20. Variación del peso húmedo (g) (media $\pm$ DE) en función de los estimulantes individuales PES y BIO y las combinaciones utilizadas. 21. Variación del peso húmedo (g) (media $\pm$ DE) en función a los períodos de cultivo. Las letras sobre las barras indican los resultados de los test de Tukey; letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p<0,05$).

3.1.2.2. En porciones apicales

En los cultivos iniciados a partir de las porciones apicales, se registraron diferencias estadísticamente significativas tanto entre los tratamientos como a lo largo de las semanas de cultivo ($F_{(80, 6)}=3,86$; $p=0,0023$). Durante las dos primeras semanas, así como en la tercera y cuarta, los distintos estimulantes tuvieron un efecto similar sobre la generación de biomasa de los ápices (Fig. 26). Sin embargo, en la quinta y sexta semana, se observó una disminución más prolongada del peso húmedo en los tratamientos con ALN (Fig. 22). Las TCD de las porciones apicales no mostraron diferencias significativas ni entre tratamientos ni entre los períodos de cultivo ($\chi^2=4,21$; $p<0,9635$).

El análisis de las combinaciones de estimulantes (PES + KEL, PES + ALN y PES + BIO) reveló que el peso húmedo presentó diferencias significativas únicamente entre los tratamientos ($\chi^2=57,36$; $p<0,0001$). Los valores más elevados se obtuvieron con la combinación PES + ALN (Fig. 23). En contraste, las TCD no evidenciaron diferencias estadísticamente significativas entre los factores analizados ($\chi^2 = 5,67$; $p= 0,9993$).

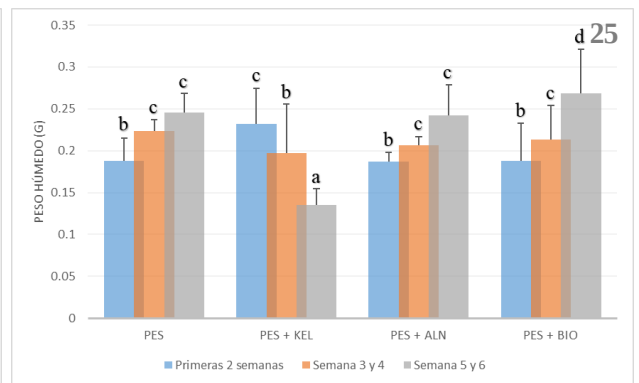
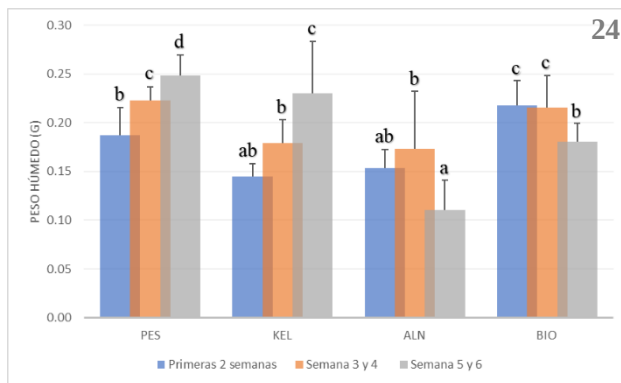


Figuras 22-23. Porciones apicales de *G. crinale*. 22. Variación del peso húmedo (g) (media $\pm$ DE) en función de los diferentes estimulantes utilizados y de los períodos de cultivo. 23. Variación del peso húmedo (g) (media $\pm$ DE) en función de los estimulantes individuales y las combinaciones utilizadas. Las letras sobre las barras indican los resultados de los test de Tukey y Conover; letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p<0,05$).

3.1.2.3. En porciones estoloníferas

En los cultivos establecidos a partir de porciones estoloníferas, tras seis semanas de experimentación, se evidenciaron diferencias significativas tanto entre los tratamientos aplicados como entre los períodos de cultivo ($F_{(80, 6)}=8,74$; $p<0,0001$). Durante las dos primeras semanas, el tratamiento con BIO promovió una mayor generación de biomasa en las porciones basales. Sin embargo, a partir de la segunda y tercera semana, el tratamiento con PES también estimuló el crecimiento de estas secciones, y hacia el final del período experimental, únicamente PES mantuvo el incremento sostenido de biomasa (Fig. 24). Las TCD de las porciones estoloníferas de *G. crinale* no mostraron diferencias significativas ni entre tratamientos ni entre distintos períodos de cultivo ($\chi^2=10,63$; $p<0,4746$).

El análisis de las combinaciones de estimulantes en comparación con el efecto individual de PES, mostró que el peso húmedo difirió significativamente tanto entre los tratamientos como entre los períodos de cultivo ($F_{(72, 6)}=8,19$; $p<0,0001$). La combinación de BIO con PES favoreció la generación de biomasa durante las quinta y sexta semana de cultivo (Fig. 25 y 26). No obstante, las TCD no presentaron diferencias ni entre tratamientos ni entre semanas de cultivo ($\chi^2= 16,36$, $p= 0,1284$).



Figuras 24 y 25. Porciones estoloníferas de *G. crinale*. 24. Variación del peso húmedo (g) (media $\pm$ DE) en función de los diferentes estimulantes utilizados y de los períodos de cultivo. 25. Variación del peso húmedo (g) (media $\pm$ DE) en función del estimulante individual (PES) y las combinaciones utilizadas a lo largo de las semanas de cultivo. Las letras sobre las barras indican los resultados del test de Tukey; letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).



Figura 26. Vista general de *G. crinale*. **A)** Talos enteros suplementados con PES A durante la primera semana de cultivo. **B)** Porciones apicales enriquecidas con PES + ALN en la tercera semana. **C)** Porción estolonífera con desarrollo de ramas jóvenes, producidas con el estímulo de PES + BIO en la tercera semana de cultivo.

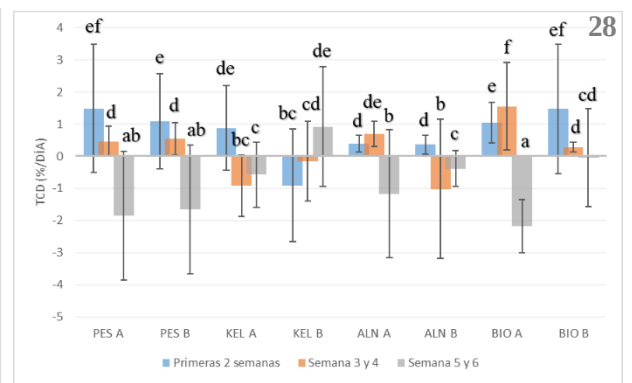
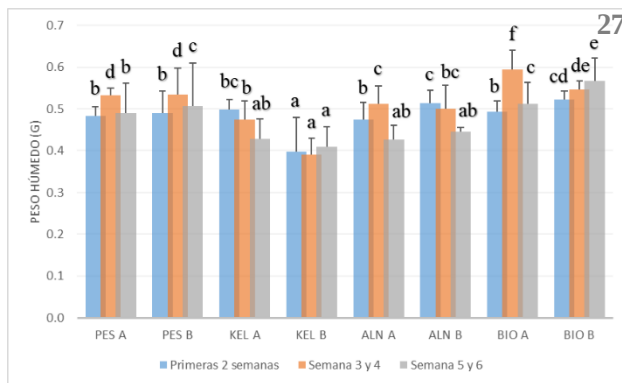
3.2. Evaluación del crecimiento bajo aumento de concentraciones de estimulantes

3.2.1. En *G. carolinianum*

3.2.1.1. En talos enteros

Al comparar los pesos húmedos obtenidos con la aplicación de los estimulantes en ambas concentraciones, se obtuvieron diferencias significativas tanto entre tratamientos como entre períodos de cultivo ($F_{(144,14)}=2,25$, $p=0,0094$). Los valores más altos de peso húmedo se obtuvieron con el uso de BIO al 1% (A) durante la tercera y cuarta semana de cultivo (Fig. 27).

En relación con las TCD, se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos y entre períodos de cultivo ($\chi^2=52,46$, $p=0,0004$). Las mayores TCD se obtuvieron nuevamente con el tratamiento de BIO A, en el segundo período de cultivo. No obstante, la aplicación de BIO 1,5% (B) resultó más efectiva durante las dos primeras semanas, aunque su efecto no se mantuvo en las etapas siguientes (Fig. 28). En conjunto, estos resultados indican que el incremento en la concentración en los estimulantes no promovió el crecimiento en los talos enteros de *G. carolinianum*.

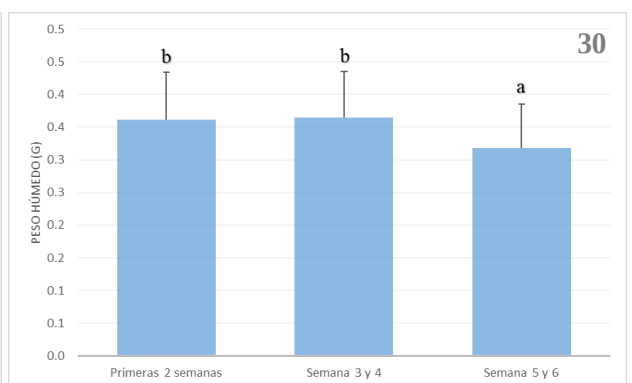
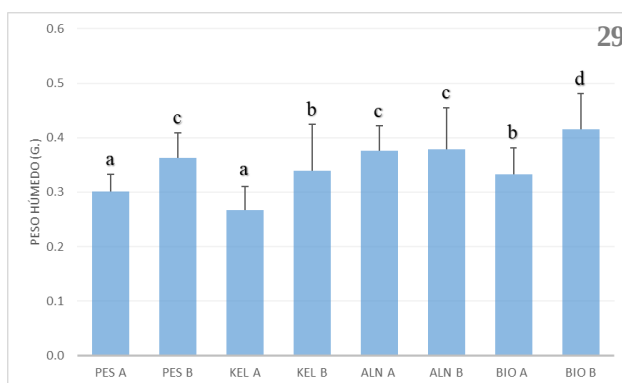


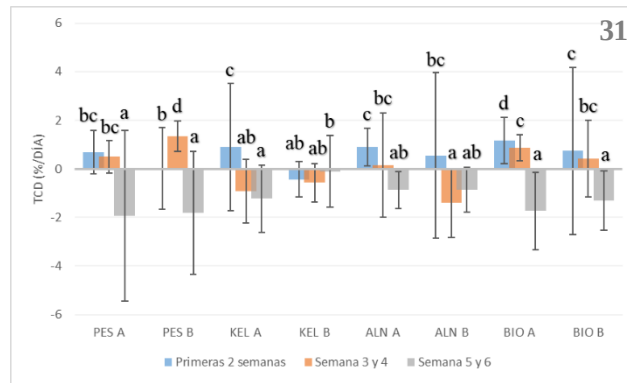
Figuras 27 y 28. Talos enteros de *G. carolinianum*. 27. Variación del peso húmedo (g) (media $\pm$ DE) en función de los diferentes estimulantes bajo concentraciones A y B a lo largo de las semanas de cultivo. 28. Variación de la TCD (% día⁻¹) utilizando mismos factores. Las letras sobre las barras indican los resultados de los test de Tukey; letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

3.2.1.2. En porciones apicales

Los pesos húmedos presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ($F_{(144,7)}=14$; $p < 0,0001$) y entre los períodos de cultivo ($F_{(144,2)}=11,19$; $p < 0,0001$), sin evidenciarse interacción entre ambos factores. El mayor peso húmedo se logró con la aplicación de BIO a una concentración de 1,5% (BIO B) (Fig. 29), lo que indica que el incremento en la concentración favoreció al crecimiento de los ápices, especialmente desde el inicio del experimento hasta la cuarta semana de cultivo (Fig. 30).

Las TCD mostraron diferencias significativas tanto entre tratamientos como entre períodos de cultivo ($\chi^2=61,65$; $p < 0,0001$). Las mayores TCD se registraron con la aplicación de BIO al 1%, durante las primeras semanas y las dos siguientes etapas de cultivo. Asimismo, el tratamiento con PES B promovió valores elevados de TCD en este mismo período, alcanzando las mayores TCD medias de 1,35%/día (Fig. 31).

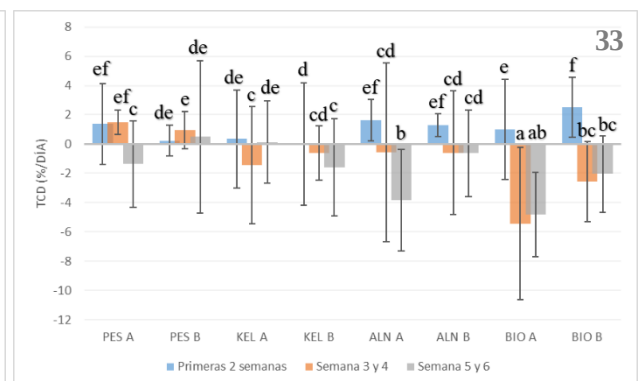
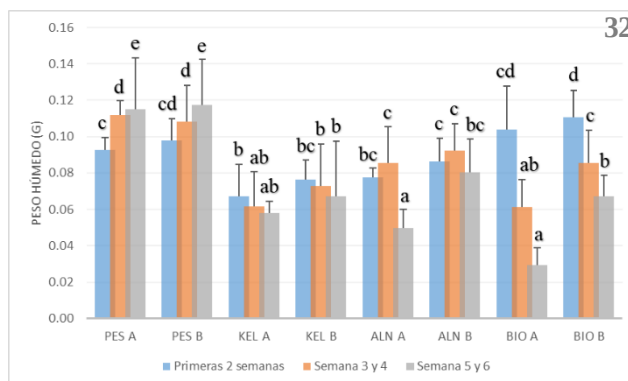




Figuras 29 - 31. Porciones apicales de *G. carolinianum*. 29. Variación del peso húmedo (g) (media $\pm$ DE) en función de los diferentes estimulantes bajo concentraciones A y B. 30. Variación del peso húmedo (g) (media $\pm$ DE) en función de las semanas de cultivo. 31. Variación de la TCD (% día⁻¹) utilizando mismos factores. Las letras sobre las barras indican los resultados de los test de Tukey y Conover; letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

3.2.1.3. En porciones estoloníferas

En relación con el peso húmedo de estas porciones, se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y entre los períodos de cultivo ($F_{(144, 6)} = 5,73$; $p < 0,0001$). Los valores más altos de peso húmedo se registraron con la aplicación de PES al 1% (PES A), así como con PES al 2% (B) hacia el final del período experimental (Fig. 32). Estos resultados indican que el incremento en la concentración de PES permite mantener un crecimiento más activo durante las etapas finales del cultivo. Por su parte, las TCD mostraron diferencias significativas entre tratamientos como entre períodos de cultivo ($\chi^2 = 20,31$; $p = 0,0002$). Las mayores TCD se obtuvieron con BIO B, aplicado a una concentración de 1.5%, durante las dos primeras semanas de cultivo. No obstante, el tratamiento con PES A, a una concentración del 1%, también promovió TCD positivas y se asoció con los valores más elevados (Fig. 33).



Figuras 32 y 33. Porciones estoloníferas de *G. carolinianum*. 32: Variación del peso húmedo (g) (media $\pm$ DE) en función de los diferentes estimulantes bajo concentraciones A y B a lo largo de los períodos de cultivo. 33: Variación de la TCD (% día⁻¹) en función de los diferentes estimulantes utilizados y de los períodos de cultivo. Las letras sobre las barras indican los resultados del test de Tukey y Conover; letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

3.2.2. En *G. crinale*

3.2.2.1. En talos enteros

En el análisis del peso húmedo solo se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ($\chi^2=31,43$; $p<0,0001$). Los valores más altos se registraron con la aplicación de ALN B, así como con los tratamientos PES A y PES B (Fig. 34). No obstante, las TCD no mostraron diferencias significativas ni entre tratamientos y períodos de cultivo ($\chi^2=12,18$; $p=0,3505$). Sin embargo, en términos de valores absolutos la máxima TCD media fue de 0,99%/día, conseguida con BIO B.

3.2.2.2. Porciones apicales

El peso húmedo de las porciones apicales presentó diferencias significativas entre los tratamientos ($\chi^2=20,27$; $p=0,005$), aunque no entre los períodos de cultivo. Los mayores valores de peso húmedo se obtuvieron con el tratamiento PES B (Fig. 35). En contraste, las TCD no mostraron diferencias estadísticamente significativas ni entre tratamientos ni entre los períodos de cultivo ($\chi^2=16,26$; $p=0,8441$). Sin embargo, en términos de valor absoluto la máxima TCD media se registró con el uso de PES B y alcanzó un valor de 1,52%/día.

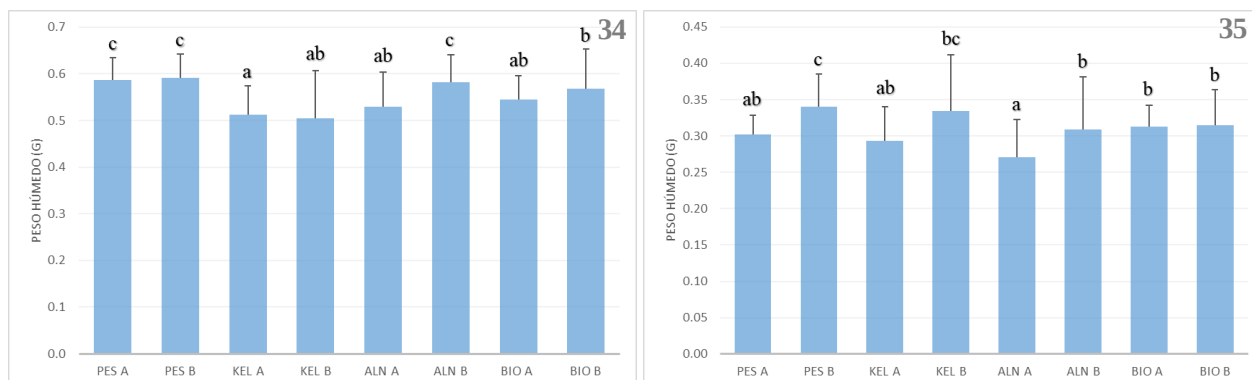
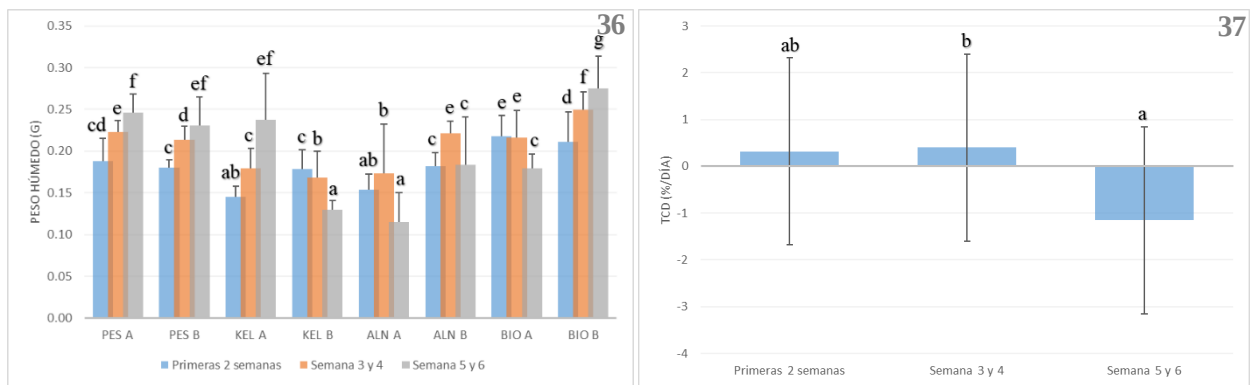


Figura 34 y 35. Talos enteros y porciones apicales de *G. crinale*. 34. Variación del peso húmedo de los talos entero (g) (media ± DE) en función de los diferentes estimulantes bajo concentraciones A y B. 35. Variación del peso húmedo de las porciones apicales (g) (media ± DE) en función de los diferentes estimulantes bajo concentraciones A y B. Las letras sobre las barras indican los resultados del test de Conover; letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p<0,05$).

3.2.2.3. Porciones estoloníferas

Los análisis revelaron diferencias estadísticamente significativas tanto entre los tratamientos como entre los períodos de cultivo ($F_{(144,14)}=5,51$; $p<0,0001$). La mayor biomasa de los estolones se obtuvo con la aplicación de BIO B. Este tratamiento promovió un crecimiento activo de los estolones, particularmente desde la tercera semana y hasta el final del período experimental (Fig. 36). Por su parte, las TCD mostraron diferencias significativas únicamente entre los períodos de cultivo ($\chi^2=6,7$; $p=0,035$). En general se registraron valores de TCD positivos y más elevados hasta la cuarta semana de cultivo (Fig. 37). En términos de valores absoluto, la máxima TCD media se registró con PES + BIO con un valor de 1,71%/día.

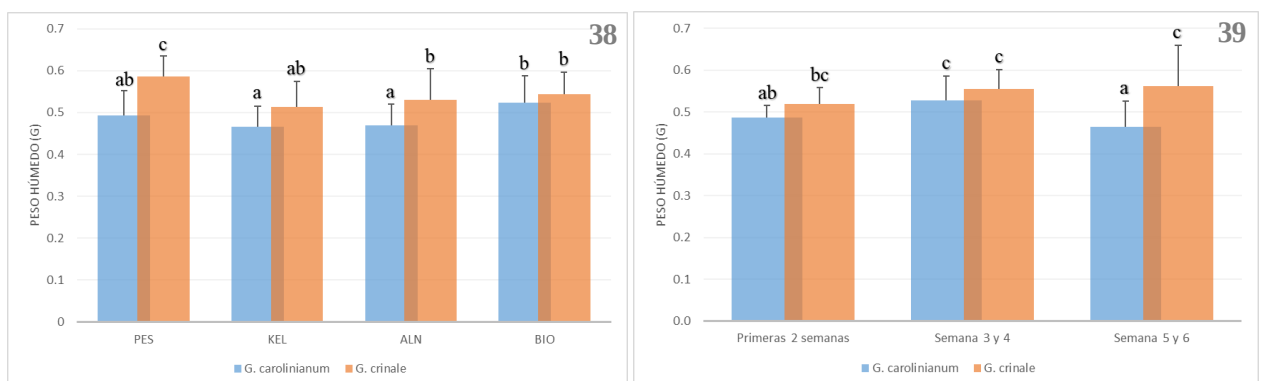


Figuras 36 y 37. Porciones estoloníferas de *G. crinale*. 36: Variación del peso húmedo (g) (media $\pm$ DE) en función de los diferentes estimulantes bajo concentraciones A y B a lo largo de los períodos de cultivo. 37: Variación de la TCD (% día⁻¹) en función de los períodos de cultivo. Las letras sobre las barras indican los resultados del test de Tukey y Conover; letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

3.3. Evaluación del crecimiento comparando *G. carolinianum* y *G. crinale*

3.3.1. En talos enteros

El peso húmedo de los talos enteros de ambas especies mostró diferencias entre los tratamientos ($F_{(160, 3)}=4,55$; $p=0,0045$) y entre los períodos de cultivo ($F_{(160, 2)}=7,89$; $p=0,0006$), aunque sin interacción significativa entre ambos factores ($F_{(160, 6)}=1,80$; $p=0,1048$). Los mayores valores de peso húmedo se registraron en *G. crinale* empleando PES, mientras que los menores valores correspondieron a *G. carolinianum* utilizando KEL y ALN. El uso de PES y de ALN favoreció un mejor crecimiento de talos enteros en *G. crinale*, en cambio la aplicación de KEL y BIO no generó un crecimiento diferencial en los talos enteros en ninguna de las especies evaluadas (Fig. 38). *Gelidium crinale* mantuvo un crecimiento activo durante todo el período de experimentación, mientras que en *G. carolinianum* claramente descendió hacia la quinta y sexta semana de cultivo (Fig. 39).



Figuras 38 y 39. Talos enteros de *G. carolinianum* y *G. crinale*. 38: Variación del peso húmedo (g) (media $\pm$ DE) en función de los diferentes estimulantes utilizados. 39: Variación del peso húmedo (g) (media $\pm$ DE) en función de las diferentes semanas de cultivo. Las letras sobre las barras indican los resultados del test de Tukey, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

Las TCD variaron significativamente entre las especies, tratamientos y períodos de cultivo ($\chi^2=51,41$; $p<0,0006$). En *G. carolinianum* durante la tercera y cuarta semana suplementando con BIO se consiguieron las mayores TCD, mientras que en *G. crinale* se consiguieron con el uso de PES y ALN en el mismo período. (Fig. 40).

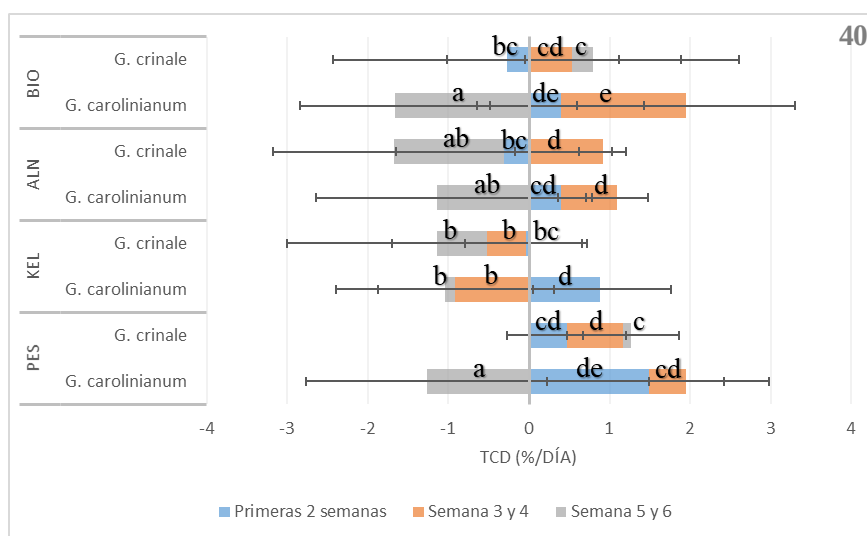
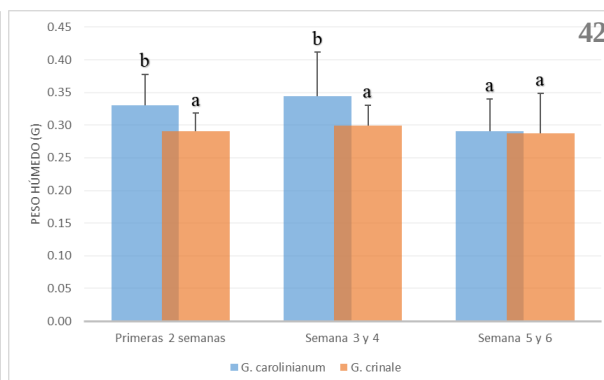
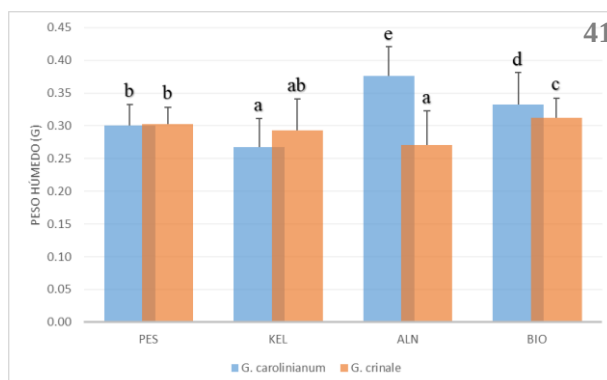


Figura 40: En talos enteros de *G. carolinianum* y *G. crinale*. Variación de la TCD (% día⁻¹) entre tratamientos y a lo largo de las semanas de cultivo. Las letras sobre las barras indican los resultados del test de Conover; letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p<0,05$).

3.3.2. En porciones apicales

El peso húmedo de las porciones apicales de ambas especies mostró diferencias entre los tratamientos ($F_{(160, 3)}=20,32$; $p<0,0001$) y entre los períodos de cultivo ($F_{(160, 2)}=7,25$; $p=0,0010$), aunque sin interacción significativa entre ambos factores ($F_{(160, 6)}=2,12$; $p=0,0545$). Los mayores pesos húmedos se registraron en *G. crinale* empleando PES, mientras que los menores valores correspondieron a *G. carolinianum* utilizando KEL y ALN. (Fig. 41). *G. crinale* mantuvo un crecimiento activo durante todo el período de experimentación, mientras que *G. carolinianum* claramente descendió hacia la quinta y sexta semana de cultivo (Fig. 42).



Figuras 41 y 42. Porciones apicales de *G. carolinianum* y *G. crinale*. 41: Variación del peso húmedo (g) (media $\pm$ DE) en función de los diferentes estimulantes utilizados. 42: Variación del peso húmedo (g) (media $\pm$ DE) en función de las diferentes semanas de cultivo. Las letras sobre las barras indican los resultados del test

de Tukey, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p<0,05$).

Las TCD mostraron diferencias significativas entre las especies, tratamientos y períodos de cultivo ($\chi^2=37,83$; $p=0,0266$). Las mayores TCD se lograron con *G. carolinianum* suplementado con BIO, mientras que las mayores en *G. crinale* se lograron con el suplemento con KEL (Fig. 43).

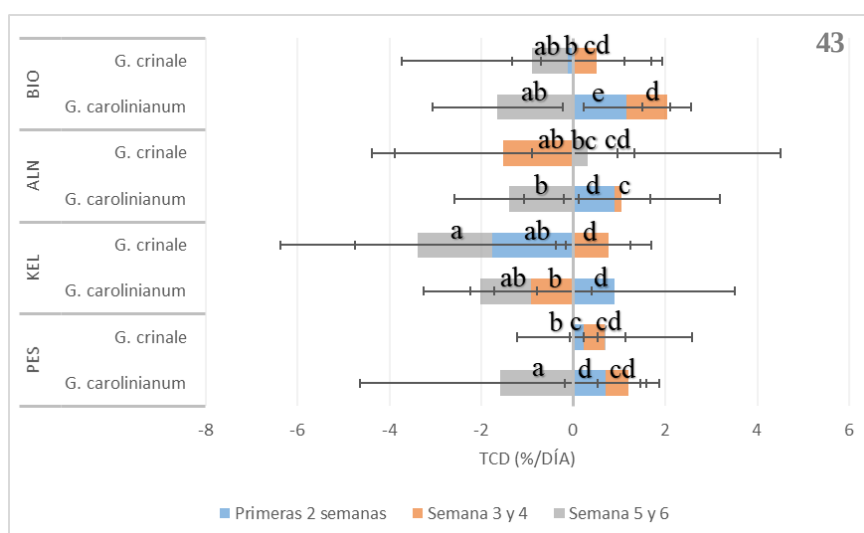


Figura 43: Porciones apicales de *G. carolinianum* y *G. crinale*. Variación de la TCD (% día⁻¹) entre tratamientos y a lo largo de las semanas de cultivo. Las letras sobre las barras indican los resultados del test de Conover; letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p<0,05$).

3.3.3. En porciones estoloníferas

Los pesos húmedos entre especies presentaron diferencias significativas entre la interacción de los factores: especie, tratamiento y período de cultivo ($\chi^2=81,91$; $p<0,0001$). El mayor peso se obtuvo en *Gelidium crinale*, cuando los cultivos fueron enriquecidos con PES, particularmente entre la tercera y cuarta semana (Fig. 44).

De manera similar, las TCD mostraron diferencias significativas en la interacción ($\chi^2=43,51$, $p=0,006$). Las mayores TCD se registraron en *G. crinale*, durante las 2 primeras semanas en los tratamientos suplementados con ALN y BIO, y durante la tercera y cuarta semana en los tratamientos con PES y KEL. En el caso de *G. carolinianum*, las mayores TCD se observaron en las primeras 2 semanas de cultivo con BIO, PES y ALN (Fig. 45).

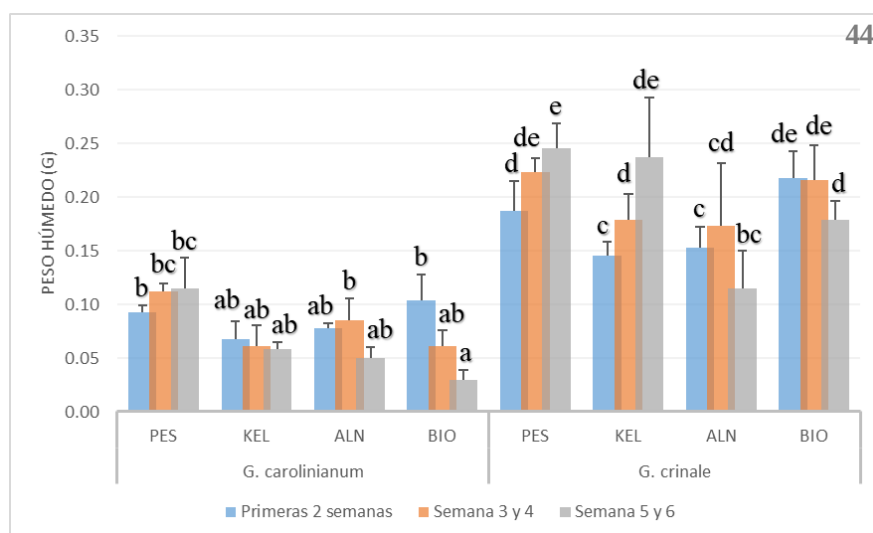


Figura 44. Porciones estoloníferas de *G. carolinianum* y *G. crinale*. Variación del peso húmedo (g) (media $\pm$ DE) en función de los diferentes estimulantes utilizados y las diferentes semanas de cultivo. Las letras sobre las barras indican los resultados del test de Conover, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

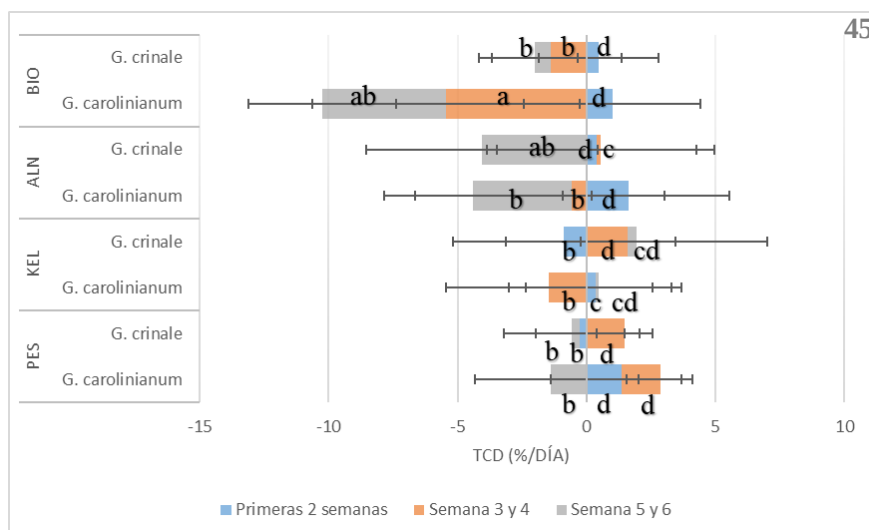


Figura 45: Porciones estoloníferas de *G. carolinianum* y *G. crinale*. Variación de la TCD (% día⁻¹) entre tratamientos y a lo largo de las semanas de cultivo. Las letras sobre las barras indican los resultados del test de Conover; letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

3.4. Caracterización de los organismos epífitos sobre el sustrato:

Sobre las fibras de las bolsas permeables (Fig. 46 A) se desarrollaron distintos biofilms, los cuales presentaron una notable heterogeneidad en su composición y estructura. Estos biofilms estuvieron conformados por una diversidad de organismos epífitos y por matrices de sustancias poliméricas extracelulares (EPS) cuya abundancia y organización variaron entre los diferentes tratamientos.

Un total de 10 taxones fueron identificados mediante el análisis microscópico (Tabla 2; Fig. 46), entre los cuales predominaron cianobacterias (Fig. 46 B-D), bacterias heterótrofas (Fig. 46 J) y diatomeas (Fig. 46 F-G), además de registrarse la presencia de talos jóvenes de *Ulva* sp. (Fig. 46 H). La

abundancia y la proporción de los distintos organismos variaron según el tratamiento, lo que sugiere que la composición del biofilm estuvo influenciada por el tipo de estimulante empleado.

	Tratamiento	Abundancia
Cianobacteria		
<i>Calothrix</i> sp.	PES	Escaso
	KEL	Muy abundante
	PES + KEL	Muy abundante
	PES + BIO	Escaso
<i>Symploca</i> sp.	KEL	Muy abundante
<i>Aphanothece</i> sp.	KEL	Muy abundante
	BIO	Muy abundante
	PES + BIO	Muy abundante
	PES + ALN	Muy abundante
Bacillariophyceae		
<i>Grammatophora</i> sp.	BIO	Escaso
	PES + BIO	Escaso
<i>Achnanthes</i> sp.	KEL	Escaso
	PES	Escaso
	PES + ALN	Muy abundante
Ulvophyceae		
<i>Ulva</i> sp.	BIO	Muy abundante
	PES	Muy abundante
	PES + BIO	Escaso
	PES + ALN	Muy abundante
Oligohymenophorea		
<i>Vorticella</i> sp.	KEL	Abundante
	ALN	Escaso
	PES + KEL	Escaso
Bacterias heterótrofas		
Bacterias cocoides y bacilos	KEL	Escaso
	PES + BIO	Abundante
Bacterias vibrio	KEL	Abundante
	PES + BIO	Escaso
	PES + ALN	Escaso
EPS	KEL	Abundante
	BIO	Escaso
	PES	Muy abundante
	PES + KEL	Escaso
	PES + BIO	Muy abundante
	PES + ALN	Muy abundante

Tabla 2. Categorías de abundancia de los taxones identificados sobre los sustratos de cultivo en los distintos tratamientos aplicados.

Entre los grupos identificados, las cianobacterias y las bacterias heterótrofas fueron los más representativos, mientras que las diatomeas, principalmente *Grammatophora* sp. y *Achnanthes* sp., fueron las más escasas. Los tratamientos enriquecidos con KEL y BIO + PES promovieron una mayor diversidad y complejidad estructural de los biofilms, evidenciada por una mayor coexistencia de taxones. En contraste, el tratamiento con ALN se asoció con una menor riqueza específica y una estructura más simple. La macroalga *Ulva* sp. fue el único taxón macroscópico identificado dentro de los biofilms, observándose generalmente en alta abundancia en los cultivos tratados con PES + ALN, BIO y PES, aunque estuvo ausente o en baja proporción en los tratamientos con KEL.

Las sustancias poliméricas extracelulares (EPS) constituyeron un componente estructural fundamental de los biofilms. Estas matrices, de aspecto denso y complejo, se asociaron estrechamente con la diversidad de organismos presentes. En particular, las EPS estuvieron principalmente relacionadas con la actividad de bacterias heterótrofas y de las diatomeas, las cuales contribuyeron a la formación y cohesión de las biopelículas. Según su grado de asociación con las células, se distinguieron dos tipos de

EPS con características diferenciadas: las EPS solubles (SI-EPS), débilmente unidas y liberadas al medio circundante (Fig. 46 K), y las EPS unidas (bound-EPS) (Fig. 46 L), íntimamente asociadas a las células y responsables de conferir la estructura compacta y adherente de los biofilms.

La heterogeneidad observada en la composición y estructura de los biofilms indica que los diferentes estimulantes ejercen una influencia dual, afectando tanto el crecimiento del alga cultivada, como la colonización y desarrollo de comunidades epifíticas.

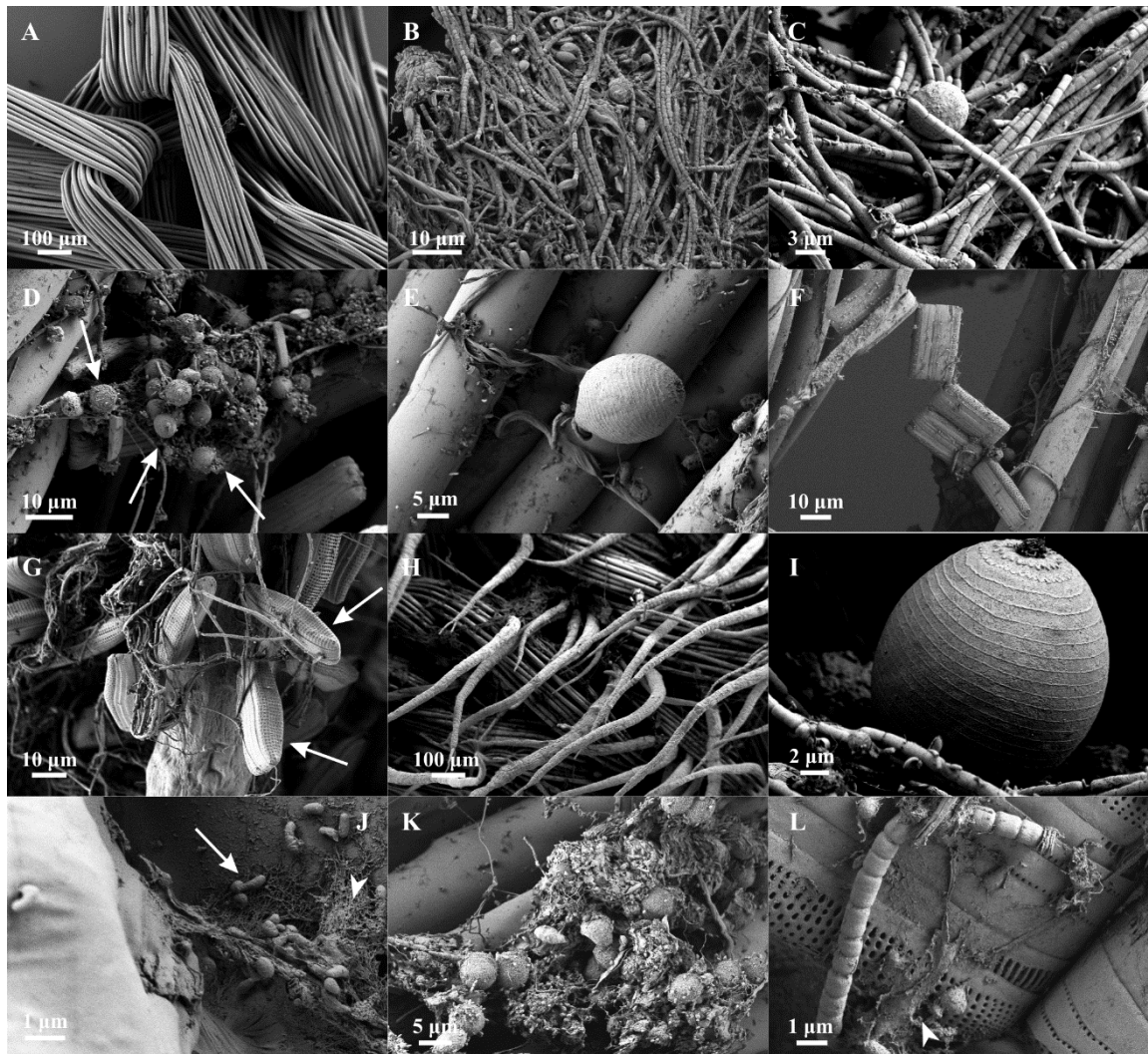


Figura 46: Taxa identificados en los biofilms. **A.** Detalle de fibras del sustrato de cultivo. **B.** Filamentos de *Calothrix* sp. en PES+KEL. **C.** Filamentos de *Symploca* sp. en KEL. **D.** Células cocoides de *Aphanothece* sp. en PES+BIO (flechas). **E.** Individuos *Vorticella* sp. adherido a fibra del sustrato. **F.** Cadena de *Grammatophora* sp. en PES+BIO. **G.** Individuos de *Achnanthes* sp. en PES (flechas). **H.** Filamentos de *Ulva* sp. en BIO. **I.** Detalle de un individuo de *Vorticella* sp. en KEL. **J.** Vista de bacterias heterótrofas cocoides, bacilos (flecha) y sustancias poliméricas adheridas (EPS) (punta de flecha) sobre fibras. **K.** EPS solubles. **L.** EPS (punta de flecha) unidas a un individuo de *Grammatophora* sp.

4. Discusión

4.1. Cultivo de especies de *Gelidium* bajo condiciones de laboratorio

A pesar de su gran importancia económica, especialmente en el área de la biotecnología, el cultivo de especies gelidioides ha sido escasamente estudiado. En general, las especies de algas agarófitas de mayor tamaño, se cultivan a partir de propágulos vegetativos, que se fijan a cuerdas en sistemas *long-line* dispuestos en el mar. En cambio, aquellas especies de menor porte, como *G. carolinianum* y *G. crinale*, se cultivan en tanques, empleando sistemas de suspensión libre (*free-floating*) o sustratos como bolsas permeables, generalmente con agitación continua para favorecer la circulación de agua y una distribución homogénea de nutrientes. El cultivo en el mar no resulta factible durante todo el año debido a la fuerte acción del oleaje y a las fluctuaciones de la temperatura del agua, factores que afectan negativamente en el crecimiento y el rendimiento anual de las algas. En contraste, el cultivo en tierra (*onshore*) representa una alternativa prometedora y confiable, ya que permite mantener condiciones de cultivo estables y controladas a lo largo del tiempo (Hafting *et al.*, 2012; Suthar *et al.*, 2019). Si bien se han reportado diversos intentos de cultivo de especies del género *Gelidium* (Santelices, 1988; Santos & Duarte, 1991; Melo, 1998; McHugh, 2003), ninguno ha logrado desarrollar una tecnología comercialmente exitosa (Friedlander, 2008). En este contexto, la metodología propuesta en esta tesis constituye una alternativa adicional para el cultivo de *Gelidium*, aunque requiere mayores estudios y optimización para su futura implementación a mayor escala.

4.2. Tasa de crecimiento de especies de *Gelidium*

La tasa de crecimiento diaria (TCD) de las macroalgas constituye uno de los parámetros fundamentales que determinan el éxito económico de su cultivo. En términos generales, tanto la tasa de crecimiento, como la composición química de las algas están fuertemente influenciadas por variables ambientales, tales como la temperatura del agua (Boulus *et al.*, 2007), la salinidad (Macler, 1988; Reis *et al.*, 2011) y la concentración de nutrientes en el medio de cultivo (Wijayanto *et al.*, 2020). A pesar de los esfuerzos realizados para optimizar las TCD en especies del género *Gelidium*, diversos autores coinciden que este género agarófito se caracteriza por presentar TCD relativamente bajas (Santelices, 1988; Santos & Duarte, 1991; Melo, 1998; McHugh, 2003). En este contexto, la optimización de la relación entre el medio de cultivo y la biomasa algal, resulta un factor determinante para alcanzar mayores TCD. Las TCD reportadas en este estudio se encuentran en concordancia con los valores observados por Baghel *et al.* (2024) para *Gelidium micropterum*, donde una relación entre 40-60 mg de biomasa algal por 100 mL de agua enriquecida con medio PES, produjo una TCD media 0,69%. En el presente trabajo, los talos enteros de *G. carolinianum* y *G. crinale* cultivados con una relación de 50 mg/100 mL presentaron TCD medias similares, de 1,60% y 0,99% respectivamente.

Las TCD máximas registradas en este estudio para los talos enteros mostraron diferencias significativas entre las dos especies de *Gelidium* que crecen en Villa del Mar, alcanzando valores de

8,01% para *G. carolinianum* y 3,61% para *G. crinale*. Estos valores se encuentran dentro de los rangos previamente registrados para otras especies del género: 1,9% en *G. corneum* (Carmona *et al.*, 1996), 1,05% en *G. pusillum* (Veeragurunathan *et al.*, 2018), 3,6% en *G. robustum* (Pacheco-Ruiz & Zertuche-González *et al.*, 1995), 7% en *G. sclerophyllum* (Rodríguez, 1996), 6,5% en *G. crinale* (Boulus *et al.*, 2007) y 6,7% en *G. amansii* (Shunzo, 1971), cultivadas en laboratorio, *in situ* o en tanques (*outdoor*). Cabe destacar que la TCD máxima de *G. carolinianum* obtenida en este estudio fue superior a las reportadas para otras especies del género y que no existen actualmente registros publicados sobre cultivos experimentales de *G. carolinianum*.

En el caso de *G. crinale*, Boulus *et al.*, (2007) reportaron previamente el efecto de la temperatura sobre la TC semanal en sistemas de cultivo en tanques *outdoor*, señalando que la temperatura constituye el principal factor limitante estacional, con un efecto positivo sobre la tasa de crecimiento, pero negativo sobre la concentración de agar. En el presente trabajo, si bien los cultivos se realizaron bajo un mismo régimen térmico en condiciones *indoor*, la composición diferencial de los estimulantes empleados en el medio de cultivo, mostró una marcada influencia sobre las TCD obtenidas para *G. crinale*.

Las condiciones de laboratorio establecidas en este estudio, para el cultivo de ambas especies resultan coherentes con las utilizadas para otras especies del género. Por ejemplo, en *G. capense*, Bentley (2010) reportó las mayores TCD bajo una temperatura de 15 °C, salinidad de 35 ppt, irradiancia media (80–100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y un movimiento continuo de agua. En este trabajo, las condiciones experimentales correspondieron a 18 °C, irradiancia de 80 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, fotoperiodo de 12:12, salinidad de 34,8 ppt y aireación continua. Otros autores han registrado TCD máx. en un rango de irradiancia de 150-250 $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ para talos enteros de *G. coulteri* (Mader & West, 1987) y para fragmentos de 2 a 3 cm de *G. pulchellum* (Sousa-Pinto *et al.*, 1996). En el presente estudio, las condiciones lumínicas fueron determinadas previamente durante la etapa de aclimatación de los talos, en la que se evaluó la capacidad de las algas para mantener su viabilidad en el nuevo ambiente. La selección de una irradiancia moderada (80 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), se basó tanto en antecedentes bibliográficos como en el hábitat natural de las poblaciones de *Gelidium* en Villa del Mar, donde las algas crecen entre sedimentos que se depositan entre los talos, atenuando significativamente la luz incidente. Este fenómeno de sedimentación y reducción lumínica podría constituir un factor ecológico determinante que explica la adaptación de ambas especies a ambientes de baja irradiancia y, en consecuencia, su favorable desempeño bajo condiciones experimentales establecidas. En síntesis, las TCD obtenidas en este estudio se encuentran dentro de los rangos previamente señalados para diferentes especies de *Gelidium*. No obstante, se sugiere que futuros estudios bajo diferentes condiciones de cultivo podrían permitir incrementar las tasas de crecimiento alcanzadas y optimizar los parámetros de cultivo para su aplicación a mayor escala.

4.3. Estimulantes del crecimiento en *Gelidium*

Unos de los medios de enriquecimiento más utilizados en el cultivo de macroalgas es el medio Provasoli Enriched Seawater (PES). No obstante, su concentración óptima para alcanzar el máximo

crecimiento puede variar significativamente según la especie (Yuniarti *et al.*, 2018). En el presente estudio se observó que el tratamiento PES B (20 ml/L de agua) resultó particularmente efectivo para estimular el crecimiento de talos enteros y porciones apicales de *G. crinale*. Este fue el único caso en el que se evidenció una relación dosis-dependiente, en la cual las concentraciones más elevadas de PES promovieron un mayor desarrollo de talos enteros y las porciones apicales de *G. crinale*. De manera similar, Baghel *et al.*, (2024) reportaron mayores TCD en *G. micropterum* cuando se utilizó una concentración de PES de 15 mL/L de agua, lo que sugiere que el requerimiento nutricional específico puede diferir entre las especies de *Gelidium*, incluso bajo condiciones de cultivo comparables.

El enriquecimiento de los cultivos de *G. carolinianum* y de *G. crinale* con bioestimulantes basados en extractos macroalgales generó efectos diferenciados según la especie, el tipo de estimulante y la concentración aplicada. Si bien en la bibliografía se han reportados numerosos estudios sobre el uso de extractos macroalgales en distintas especies (Hurtado & Critchley, 2020), aún no existen antecedentes publicados para el cultivo de especies de *Gelidium* con estos bioestimulantes.

El bioestimulante Kelpak, formulado a partir de extractos del alga parda *Ecklonia maxima*, ha sido evaluado previamente en el cultivo de *Ulva pertusa* y de *Gracilaria vermiculophylla*, sin evidenciar efectos significativos en la promoción del crecimiento (Robertson-Anderson *et al.*, 2006). En concordancia con dichos resultados, en el presente estudio Kelpak no promovió incrementos notables en las TCD de ambas especies de *Gelidium*.

Por otro lado, los productos comerciales basados en extractos de *Ascophyllum nodosum*, disponibles bajo distintas denominaciones como AMPEP o Alga nutritol, entre otros, han sido evaluados en diversas macroalgas, incluyendo las algas rojas *Kappaphycus*, *Gracilaria* y *Eucheuma*, la parda *Saccharina* y en *Ulva* (Ali *et al.*, 2018; Hurtado & Critchley, 2020). Estos estudios demostraron que tales extractos mejoran la eficiencia de la propagación asexual de esporas, reducen la incidencia de enfermedades como “ice-ice”, y la presencia de epífitos y endófitos, además de promover el crecimiento en condiciones tanto *indoor* como en el mar. En el presente trabajo, ALN resultó efectivo para ambas especies, *G. carolinianum* y *G. crinale*. En particular, las porciones apicales de *G. carolinianum* respondieron positivamente a la concentración más baja de ALN, mientras que los talos enteros de *G. crinale* mostraron un crecimiento superior con la concentración más alta.

Las combinaciones de bioestimulantes con el estimulante formulado PES no siempre produjeron incrementos adicionales en el crecimiento. Algunas asociaciones mostraron respuestas superiores diferentes entre especies y tipos de fragmentos. En este sentido, la combinación de PES + ALN fue particularmente efectiva en los talos enteros y las porciones apicales de *G. crinale*. Estos resultados sugieren que las posibles sinergias entre bioestimulantes naturales y medios formulados merecen una exploración más profunda, ajustando las concentraciones y proporciones para maximizar su efecto.

El empleo de extractos de macroalgas pardas, como Kelpak, AMPEP y Alganutrifol ha cobrado creciente interés en la acuicultura debido a su composición compleja de compuestos bioactivos (fitohormonas naturales, carbohidratos solubles, minerales, aminoácidos y compuestos fenólicos), los cuales actúan de manera sinérgica sobre los procesos fisiológicos de las macroalgas cultivadas. Estos

extractos pueden incrementar la TCD, tanto en longitud como en biomasa, debido a la presencia de auxinas, citoquininas y giberelinas, que estimulan la división y elongación celular. Además, aportan nutrientes secundarios y oligoelementos, como hierro, manganeso y zinc, que suelen ser limitantes en sistemas de cultivo, especialmente en aguas oligotróficas. Por ello, su utilización podría reducir la dependencia de fertilizantes químicos, contribuyendo al desarrollo de sistemas de cultivo más sostenibles (Hurtado & Critchley, 2020).

El estrés ambiental provocado por variaciones en salinidad, temperatura y radiación, representa un desafío constante en los cultivos de macroalgas, tanto *in situ* como en condiciones controladas. Se ha demostrado que el tratamiento con extractos de macroalgas pardas incrementa la tolerancia al estrés oxidativo, posiblemente debido a la presencia de polifenoles y fucoidanos, los cuales actúan como antioxidantes y estabilizadores de membranas celulares, favoreciendo una mayor supervivencia bajo condiciones desfavorables (Hurtado & Critchley, 2020).

El bioestimulante nacional BIO, formulado a partir de extractos de *Macrocystis pyrifera*, arrojó resultados alentadores. Este producto no había sido previamente evaluado en macroalgas, limitándose su aplicación a cultivos de plantas vasculares. En los talos enteros de *G. carolinianum*, la concentración más baja de BIO promovió el crecimiento, mientras que su combinación con PES y concentraciones más elevadas favorecieron el desarrollo de las porciones apicales de la misma especie. En *G. crinale*, las concentraciones altas de BIO y su mezcla con PES estimularon la generación de biomasa en las porciones estoloníferas. Estos resultados resaltan el potencial del bioestimulante nacional, que demostró eficacia comparable a productos internacionales, sugiriendo que los extractos de *M. pyrifera* provenientes de las costas patagónicas son una alternativa competitiva y sostenible.

En conjunto, los resultados aquí presentados evidencian la eficacia de los extractos macroalgales como bioestimulantes en el cultivo de *G. carolinianum* y *G. crinale*, destacando su potencial para optimizar el crecimiento bajo condiciones controladas de laboratorio.

4.4. Evaluación general del método de cultivo en *Gelidium*

El sistema de cultivo en bolsas permeables implementado en la presente tesis de grado, constituye un método novedoso y eficaz para el cultivo de macroalgas. Sin embargo, su aplicación aún es limitada y no ha sido ampliamente adoptada para un gran número de especies macroalgales. En el caso particular del género *Gelidium*, existen pocos antecedentes documentados sobre su empleo. En *G. pristoides*, Aken *et al.* (1993) evaluaron este método utilizando bolsas de malla sintética suspendidas en sistemas *long-line*, posicionadas tanto en la superficie como a un metro de profundidad, durante un período experimental de 5 a 8 semanas. Los resultados mostraron que el crecimiento vegetativo fue óptimo durante las dos primeras semanas, alcanzando casi la duplicación de la biomasa inicial, pero a partir de la tercera semana el crecimiento se detuvo progresivamente. Esta reducción fue atribuida a la acumulación de sedimentos dentro de las bolsas, al bloqueo lumínico causado por detritos y organismos *fouling*, y a la disminución de la circulación de agua debido a obstrucción parcial de la malla (Aken *et*

al., 1993). Un comportamiento similar en la dinámica de crecimiento fue observado en el presente estudio. En términos generales, *G. carolinianum* solo pudo mantenerse en cultivo durante 4 semanas, mientras que a *G. crinale*, bajo determinadas condiciones nutricionales, logró sostener su crecimiento hasta las seis semanas de experimentación.

Para escalar el cultivo de especies del género *Gelidium* en el mar utilizando mallas permeables, sería necesario ajustar diversos parámetros técnicos, especialmente los relacionados con el tamaño de apertura de malla, a fin de optimizar el flujo de agua y minimizar la sedimentación. Asimismo, debería seleccionarse cuidadosamente el sitio de cultivo, zonas con corrientes moderadas que reduzcan la acumulación de sedimentos, e implementarse protocolos de mantenimiento que incluyan limpiezas periódicas o recambios de bolsas para evitar la obstrucción causada por organismos *fouling*. El empleo de sustratos permeables presenta ventajas operativas significativas, ya que proporciona protección frente al oleaje y la herbivoría por macroinvertebrados, al tiempo que facilita el manejo y control del material cultivado. Por lo tanto, este método representa una alternativa prometedora para el cultivo experimental y potencial escalamiento productivo de especies del género *Gelidium*, aunque requiere ajustes técnicos adicionales y evaluaciones a largo plazo para su consolidación como una tecnología de cultivo.

4.5. Presencia de epibiontes en las bolsas permeables

Diversos autores han señalado que uno de los principales inconvenientes en el cultivo de *Gelidium* particularmente en sistemas de tipo *free floating*, es el desarrollo de los epifitos sobre la biomasa algal (Kuschel & Buschmann, 1991, Friedlander, 1992). Si bien los cultivos suelen iniciarse a partir de talos cuidadosamente seleccionados y libres de epífitos y, en muchos casos se aplican tratamientos preventivos, como el cepillado minucioso de la superficie algal o el uso de hipoclorito de sodio y dióxido de germanio para controlar la proliferación de diatomeas, el establecimiento de comunidades epifíticas continúa siendo una limitante crítica. La presencia de epífitos ocasiona reducciones significativas en las TCD de las especies, principalmente debido a efectos competitivos. Estos organismos pueden obstruir la incidencia lumínica sobre la superficie de los talos, limitando la fotosíntesis y, además, competir por los nutrientes disponibles, dado su carácter oportunista y su rápido crecimiento (Bidwell *et al.*, 1985).

En este sentido, Koller (2020) observó que, incluso tras implementar diversas estrategias de control epifítico en sistemas *free floating* de *Gelidium* sp., se produjo una colonización recurrente de micro y macroalgas filamentosas y laminares sobre los talos. En su estudio, Koller (2020) reportó una elevada abundancia de diatomeas epifíticas y cianobacterias, destacándose los géneros *Gyrosigma*, *Navicula* y *Nitzschia*, así como la proliferación de *Ulva*, *Ectocarpus* y *Acrochaetium*, las cuales fueron identificadas como las más problemáticas por su alta capacidad de cobertura y competencia.

El uso de sustratos permeables en el cultivo representa una ventaja relativa frente al desarrollo de la carga epifítica, ya que, aunque no constituye un método preventivo, la colonización epifítica tiende a concentrarse sobre la superficie de las bolsas más que sobre los talos de *Gelidium*. Este fenómeno pudo evidenciarse en el presente trabajo, donde hacia el final del período experimental se observó un marcado

desarrollo de diferentes epibiontes, especialmente diatomeas, cianobacterias, bacterias heterotróficas y abundantes EPS secretados por los microorganismos asociados. Aunque en este estudio no se cuantificaron los efectos específicos de la carga epifítica sobre el crecimiento de las macroalgas, resulta fundamental que investigaciones futuras aborden este aspecto de manera más sistemática, a fin de comprender en mayor detalle la dinámica y el impacto ecológico de las comunidades epibióticas en cultivos de *Gelidium*. Aún cuando las bolsas permeables contribuyen a reducir la colonización directa sobre los talos, la formación de biopelículas en la superficie del sustrato constituye un factor relevante que se debe considerar, ya que su control representa uno de los principales desafíos para la implementación a una escala mayor de este tipo de sistema de cultivo.

5. Conclusiones

- El empleo del método de bolsas permeables resultó adecuado para el cultivo de talos enteros, porciones apicales y estoloníferas de *Gelidium crinale* y *G. carolinianum*.
 - Esta técnica constituye una alternativa viable para el desarrollo experimental de talos gelidioides en condiciones controladas, ofreciendo ventajas prácticas frente a los sistemas tradicionales de cultivo *free-floating*.
- Los distintos estimulantes, tanto naturales como químicos, así como sus combinaciones y variaciones en concentración, ejercieron efectos diferenciales sobre el incremento de biomasa en ambas especies.
 - El suplemento con el bioestimulante BIO A a baja concentración, basado en extractos de *M. pyrifer*, favoreció el aumento de biomasa en los talos de *G. carolinianum*. En las porciones apicales, los tratamientos con los bioestimulantes ALN A, BIO B y la combinación de PES + BIO resultaron los más efectivos, siendo esta última combinación también efectiva para la generación de nueva biomasa en las secciones estoloníferas.
 - En *G. crinale*, los talos enteros respondieron positivamente al estímulo de PES (en ambas concentraciones), ALN a la concentración más elevada, y las combinaciones de PES + ALN y PES + BIO. En las porciones apicales, el PES más concentrado y su combinación con ALN promovieron un mayor incremento de biomasa húmeda. Los estolones, al igual que en *G. carolinianum*, respondieron favorablemente a PES + BIO y al estímulo individual de BIO B.
- Las tasas de crecimiento diario (TCD) fueron variables, registrándose valores de 0,99 a 1,71 %/día, según la especie y tratamiento aplicado.
 - Los talos enteros de *G. carolinianum* presentaron mayores TCD medias (1,60%/día) respecto a los de *G. crinale* (0,99%/día), bajo el estímulo de PES + BIO.
 - Las porciones apicales de *G. crinale* mostraron mayores TCD medias (1,52%/día) en comparación a *G. carolinianum* (1,21%/día), en cultivos enriquecidos con PES B.
 - Los estolones de *G. carolinianum* alcanzaron una TCD media (2,97%/día) respecto a los de *G. crinale* (1,71%/día), cuando fueron estimulados con PES + BIO.
- En general, las mayores TCD medias se registraron en el segundo período de cultivo (tercera y cuarta semana), independientemente de la especie analizada.
- El mantenimiento del cultivo dependió de la especie.
 - *G. crinale* logró mantenerse en crecimiento activo durante todo el período experimental, mientras que *G. carolinianum* mostró una marcada disminución de biomasa al finalizar la cuarta semana de cultivo.

- Sobre los sustratos permeables utilizados se observó el desarrollo de una comunidad epibiótica compuesta por diferentes organismos, cuya composición varió en función del tratamiento empleado.
 - El uso de KEL y PES + BIO favoreció al desarrollo del consorcio epibiótico.

En conjunto, los resultados evidencian que los estimulantes naturales pueden ser tan efectivos como los formulados, representando una alternativa prometedora para mejorar la productividad y sostenibilidad de los sistemas de cultivo de especies gelidioides. Dadas las bajas tasas de crecimiento registradas, resulta especialmente relevante continuar investigando estrategias que optimicen el cultivo y permitan aprovechar de manera sustentable este recurso valioso presente en nuestras costas.

En este sentido, esta tesis de grado aporta información relevante sobre el comportamiento de dos especies de *Gelidium* en condiciones controladas, y establece bases para futuras investigaciones orientadas a optimizar el uso de bioestimulantes naturales, reducir la carga epifítica y avanzar hacia un cultivo sostenible y escalable de macroalgas agarófitas del sudeste de la provincia de Buenos Aires.

6. Referencias bibliográficas

- Aken M.E., Griffin N.J., Robertson B.L. 1993. Cultivation of the agarophyte *Gelidium pristoides* in Algoa Bay, South Africa. *Hydrobiologia*, 268: 169-178.
- Ali M.K.M., Yashir S.M., Critchley A.T., Hurtado A. Q. 2018. Impacts of *Ascophyllum* marine plant extract powder (AMPEP) on the growth, incidence of the endophyte *Neosiphonia apiculata* and associated carrageenan quality of three commercial cultivars of *Kappaphycus*. *Journal of Applied Phycology*, 30: 1185-1195.
- Aliotta S., Lizasoain G.O. 2004. Tipos de fondos y su caracterización geológica por métodos sismoacústicos. En: Piccolo M.C., Hoffmeyer M. (eds) *Ecosistema del estuario de Bahía Blanca*. Instituto Argentino de Oceanografía, Bahía Blanca, pp. 51-59.
- Araújo R., Vázquez Calderón F., Sánchez López J., Azevedo I.C., Bruhn A., Fluch S., García Tasende M., Ghaderiardakani F., Ilmjärv T., Laurans M., Mac Monagail M., Mangini S., Peteiro C., Rebours C., Stefansson T., Ullmann J. 2021. Current status of the algae production industry in Europe: An emerging sector of the blue bioeconomy. *Frontiers in Marine Science*, 7: 626389.
- Baghel R.S., Sharma A.A.K., Delilah Vas A., Reddy C.R.K. 2024. Production of quality biomass of *Gelidium micropterum* Kützing through optimization of nutrients and salinity for sustainable land-based cultivation. *Journal of Applied Phycology*, 36(6): 3537-3547.
- Behera D.P., Ingle K.N., Mathew D.E., Dhimmarr A., Sahastrabudhe H., Sahu S.K., Krishnan M.G., Shinde P.B., Ganesan M., Mantri V.A. 2022. Epiphytism, diseases and grazing in seaweed aquaculture: A comprehensive review. *Reviews in Aquaculture*, 14: 1345-1370.
- Bentley J., 2010. A preliminary study of *Gelidium capense* in culture. Tesis de la Universidad de Cape Town (UCT). 22 pp.
- Bidwell R.G.S., McLachlan J., Lloyd N.D.H. 1985. Tank cultivation of irish moss, *Chondrus crispus*. *Botanica Marina*, 28: 87-97.
- Bold H.C., Wynne M.J. 1978. *Introduction to the algae: structure and reproduction*. Biology, Enviromental Science. Prentice-Hall.
- Bouissil S., El Alaoui-Talibi Z., Pierre G., Rchid H., Michaud P., Delattre C. 2020. Fucoïdians of Moroccan brown seaweed as elicitors of natural defenses in date palm roots. *Marine Drugs*, 18: 596.
- Boulus A., Spaneir E., Friedlander M. 2007. Effect of outdoor conditions on growth rate and chemical composition of *Gelidium crinale* in culture. *Journal of Applied Phycology*, 19: 471-178.
- Buschmann A.H., Correa, J.A., Westermeier, R., Hernández-González, M.C., Norambuena, R. 2001. Red algal farming in Chile: a review. *Aquaculture*, 194: 203-220.
- Carmona R., Vergara J.J., Pérez-Lloréns J.L., Figueroa F.L., Niell F.X. 1996. Photosynthetic acclimation and biochemical responses of *Gelidium sesquipedale* cultured in chemostats under different qualities of light. *Marine Biology*, 127: 25-34.
- Cebrián-Lloret V., Martínez-Abad A., López-Rubio A., Martínez-Sanz M. 2024. Exploring alternative red seaweed species for the production of agar-based hydrogels for food applications. *Food Hydrocolloids*, 14: 109177.
- Chumsook K., Praiboon J., Fu X. 2023. Sulfated galactans from agarophytes: Review of Extraction Methods, Structural Features, and Biological Activities. *Biomolecules*, 13, 1745.
- Critchley A.T., Critchley J.S.C., Norrie, J., Gupta, S., Van Staden J. 2021. Capítulo 13 - Perspectives on the global bio stimulant market: applications, volumes, and values, 2016 data and projections to 2022. En: Gupta,

- S. & Van Staden, J. (Eds.) *Biostimulants for Crops from Seed Germination to Plant Development: A Practical Approach*. Academic Press, Salt Lake City, UT, pp. 289-296.
- Croce M.E., Freshwater D.W. 2024. Intertidal species of *Gelidium* from the temperate coast of Argentina. *Diversity*, 16 (7): 399.
- Croce M.E., Parodi E.R. 2013. The turf-forming alga *Gelidium crinale* (Florideophyceae, Rhodophyta) on Atlantic Patagonian coasts. *Botanica Marina*, 56: 131-141.
- Croce M.E., Gauna M.C., Fernández C., Poza A.M., Parodi E.R. 2021. Biology and Ecology of the Benthic Algae En: S. Fori y P.D. Pratolongo (Eds.) *The Bahía Blanca Estuary Ecology and Biodiversity*. Springer Nature Switzerland AG, ISBN 978-3-030-66486-2/113-152 pp.
- FAO 2024. *World Food and Agriculture – Statistical Yearbook 2024*. Roma.
- Fei X.G., Huang L.J. 1991. Artificial sporeling and field cultivation of *Gelidium* in China. *Hydrobiologia*, 221: 119-124.
- Friedlander M. 1992. *Gracilaria conferta* and its epiphytes. The effect of culture conditions on growth. *Botanica Marina*, 35: 423-428.
- Friedlander M. 2008. Advances in cultivation of Gelidiales. *Journal of Applied Phycology*, 20: 451-456.
- Guiry M.D., Guiry G.M. 2025. *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <https://www.algaebase.org>; búsqueda realizada en octubre 2025.
- Hafting J., Critchley A., Cornish M., Hubley S., Archibald A. 2012. On-land cultivation of functional seaweed products for human usage. *Journal of Applied Phycology*, 24: 385-392.
- Han S., Park J.S., Umanzor S., Yarish C., Kim J. K. 2022. Effects of extraction methods for a new source of biostimulant from *Sargassum horneri* on the growth of economically important red algae, *Neopyropia yezoensis*. *Scientific Reports*, 12: 11878.
- Harrison P.J., Berges J.A. 2004. *Marine Culture Media Algal Culturing Techniques* America: National Institute Environmental Studies, Academic Press.
- Hurtado A.Q., Critchley A.T. 2020. Time for applications of biostimulants in phyconomy: seaweed extracts for enhanced cultivation of seaweeds (SEECS). En: Torres M.D., Kraan S., Domínguez H. (Eds.) *Advances in Green and Sustainable Chemistry. Sustainable Seaweed Technologies: Cultivation, Biorefinery, and Applications*. Elsevier, Amsterdam, pp. 103-127.
- IADO 2016. Programa de monitoreo de la calidad ambiental de la zona interior del estuario de Bahía Blanca. Informe Final, Instituto Argentino de Oceanografía, 228 pp. www.bahiablanca.gov.ar/cte/index.html
- IADO 2018. Programa de monitoreo de la calidad ambiental de la zona interior del estuario de Bahía Blanca. Informe Final, Instituto Argentino de Oceanografía, 364 pp. www.bahiablanca.gov.ar/cte/index.html
- Koller L. 2020. Cultivo de una especie de *Gelidium* (Gelidiales, Rhodophyta) del estuario de Bahía Blanca. Tesina de Licenciatura en Ciencias Biológicas, DBByF. Universidad Nacional del Sur. 45 pp.
- Kuschel F.A., Buschmann A.H. 1991. Abundance, effects and management of epiphytism in intertidal cultures of *Gracilaria* (Rhodophyta) in southern Chile. *Aquaculture*, 92: 7-19.
- Lotze H.K., Milewski I., Fast J., Kay L., Worm B. 2019. Ecosystem-based management of seaweed harvesting. *Botanica Marina*, 62: 395-409.
- Macler B.A. 1988. Salinity effects on photosynthesis, carbon allocation, and nitrogen assimilation in the red alga, *Gelidium coulteri*. *Plant Physiology*, 88: 690-694.
- Mac Monagail M., Cornish L., Morrison L., Araújo R., Critchley A.T. 2017. Sustainable Harvesting of Wild Seaweed Resources. *European Journal of Phycology*, 52: 371-390.

- Mader B.A., West J.A. 1987. Life history and physiology of the red alga, *Gelidium coulteri*, in unialgal culture. *Aquaculture*, 61: 281-293.
- Mamede M., Cotas J., Bahcevandziev K., Pereira L. 2023. Seaweed polysaccharides in agriculture: a next step towards sustainability. *Applied Science*, 13: 6594.
- Margal P.B., Thakare R.S., Kamble B.M., Patil V.S., Patil K.B., Titirmare N. S. 2023. Effect of seaweed extracts on crop growth and soil: a review. *Journal of Experimental Agriculture International*, 45: 9-19.
- McHugh D.J. 2003. A guide to the seaweed industry. FAO, Roma.
- Meinita D., Harwanto H., Amron M.A., Jeong G.T. Moon I.S., Choi J.S. 2023. A concise review of the potential utilization based on bioactivity and pharmacological properties of the genus *Gelidium* (Gelidiales, Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology*, 35 (4): 1499-1523.
- Melo, R. 1998. *Gelidium* Commercial Exploitation: Natural Resources and Cultivation. *Journal of Applied Phycology*, 10: 303-314.
- Melo R.A., Harger B.W.W., Neushul M. 1991. *Gelidium* cultivation in the sea. *Hydrobiologia*, 221: 91-106.
- Pacheco-Ruiz I., Zertuche-González J.A. 1995. Effect of water movement on the growth of *Gelidium robustum* (Gardn.) Hollenb. and Abb. (Rhodophyta). *Ciencias Marinas*, 21: 59-70.
- Perrone C., Bottalico A., Boo G.H., Boo S.M., Miller K.A. & Freshwater D.W. 2019. *Gelidium adriaticum* sp. nov. and *Gelidium carolinianum* sp. nov. (Gelidiales, Rhodophyta) from the Mediterranean Sea, *Phycologia*, 58: 359-373.
- Pratolongo P.D., Fiori S.M. 2021. The Bahía Blanca Estuary in a Regional Context. En: The Bahía Blanca Estuary: Ecology and Diversity (Fiori S.M., Pratolongo P.D. Eds). Springer, pp. 1-16.
- Provasoli L. 1968. Media and prospects for the cultivation of marine algae. *Cultures and collections of algae*, 63-75.
- Reis R., Loureiro R., Mesquita F. 2011. Does salinity affect growth and carrageenan yield of *Kappaphycus alvarezii* (Gigartinales/Rhodophyta)? *Aquaculture Research*, 42: 1231-1234.
- Robertson-Andersson D.V., Leitao D., Bolton J.J., Anderson R.J., Njobeni A., Ruck K. 2006. Can kelp extract (KELPAK®) be useful in seaweed mariculture. *Journal of Applied Phycology*, 18: 315-321.
- Rodríguez D. 1996. Vegetative propagation by fragmentation of *Gelidium sclerophyllum* (Gelidiales, Rhodophyta). *Hydrobiologia*, 326: 361-365.
- Rojas R.H., León N.M., Rojas R.O. 1996. Practical and descriptive techniques for *Gelidium rex* (Gelidiales, Rhodophyta) culture. *Hydrobiologia*, 326/327: 367-370.
- Sainz-Villegas S., Sanchez Astráin B., Puente A., Juanes J.A. 2023. Characterization of *Gelidium corneum*'s (Florideophyceae, Rhodophyta) vegetative propagation process under increasing levels of temperature and irradiance. *Marine Environmental Research*, 187: 105966.
- Salinas J.M., Valdés L. 1993. Influence of temperature and photoperiod on the re-attachment process of *Gelidium sesquipedale* (Clem.) Born. et Thur. (Gelidiales: Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology*, 5(3): 317-326.
- Santelices B. 1988. Synopsis of biological data on the seaweed genera *Gelidium* and *Pterocladia* (Rhodophyta). *FAO Fisheries Synopsis*, 145: 1-55.
- Santos R., Duarte P. 1991. Marine plant harvest in Portugal. *Journal of Applied Phycology*, 3: 11-18.
- Santos R., Melo R.A. 2018. Global Shortage of Technical Agars: Back to Basics (Resource Management). *Journal of Applied Phycology*, 30: 2463-2473.

- Shunzo S. 1971. Mariculture of seaweeds and its problems in Japan. *Proceedings of the First US Japan Meeting on Aquaculture at Tokyo, Japan*.
- Sousa-Pinto I., Lewis R., Polne-Fuller M. 1996. The effect of phosphate concentration on growth and agar content of *Gelidium robustum* (Gelidiaceae, Rhodophyta) in culture. *Hydrobiologia*, 326: 437-443
- Suthar P., Gajaria T.K., Reddy C.R.K. 2019. Production of quality seaweed biomass through nutrient optimization for the sustainable land-based cultivation. *Algal Research*, 42:101583.
- Titlyanov E.A., Titlyanova T.V., Kadel P., Lüning A. 2006. Obtaining plantlets from apical meristem of the red alga *Gelidium* sp. *Journal of Applied Phycology*, 18: 167-174.
- Umanzor S., Shin S., Marty-Rivera M., Augyte S., Yarish C., Kim J. K. 2019. Preliminary assessment on the effects of the commercial seaweed extract, AMPEP, on growth and thermal tolerance of the kelp *Saccharina* spp. from the Northwest Atlantic. *Journal of Applied Phycology*, 31: 3823-3829.
- Veeragurunathan V., Vadodariya N., Chaudhary J.P., Gogda K.R.A., Saminathan Meena R. 2018. Experimental cultivation of *Gelidium pusillum* in open sea along the south east Indian coast. *Indian Journal of Geo-marine Science*, 47(02): 336-345.
- Wijayanto A., Widowati I., Winanto T. 2020. Domestication of red seaweed (*Gelidium latifolium*) in different culture media. *Indonesian Journal of Marine Sciences*, 25: 39-44.
- Yong Y.S., Yong W.T.L, Anton A. 2013. Analysis of formulae for determination of seaweed growth rate. *Journal of Applied Phycology*, 25: 1831-1834.
- Yuniarti L.S., Sri A., Happy N., Muhammad F. 2018. Concentration of liquid pes media on the growth and photosynthetic pigments of seaweeds *Cotonii* propagule (*Kappaphycus alvarezii* Doty) through tissue culture. *Russian Journal of Agricultural and Socio-Economic Sciences*, 75(3): 133-144.