

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS



**“EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA REPRODUCTIVA ESTACIONAL E
INDUCCIÓN ARTIFICIAL DE MADURACIÓN DE SOROS EN EL ALGA PARDA
EISENIA ARBOREA”**

TESIS

PARA CUBRIR PARCIALMENTE LOS REQUISITOS NECESARIOS PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS EN OCEANOGRAFÍA COSTERA

PRESENTA

ANGELES LEAH ALVAREZ ALVAREZ

Ensenada, Baja California, México 2025.

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS
POSGRADO EN OCEANOGRAFIA COSTERA

EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA REPRODUCTIVA ESTACIONAL
E INDUCCIÓN ARTIFICIAL DE MADURACIÓN DE SOROS EN EL
ALGA PARDA *EISENIA ARBOREA*

T E S I S

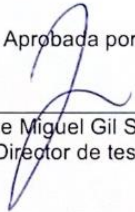
QUE PARA CUBRIR PARCIALMENTE LOS REQUISITOS NECESARIOS PARA
OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS EN OCEANOGRAFÍA COSTERA


PRESENTA:

ANGELES LEAH ALVAREZ ALVAREZ

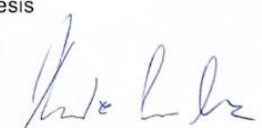
Aprobada por:



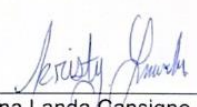
Dr. Jose Miguel Gil Sandoval
Director de tesis



Dr. José Antonio Zertuche González
Sinodal



Dr. Ricardo Cruz López
Sinodal



Dr. Cristina Landa Cansigno
Sinodal

1. Resumen

Eisenia arborea es el alga parda con mayor distribución latitudinal en el Pacífico norteamericano. Destaca por su relevancia ecológica, tolerancia a condiciones extremas y potencial de uso comercial. A pesar de su importancia socio-ecológica, aún se desconocen muchos aspectos básicos de su ecología. La dinámica del fenotipo reproductivo es uno de esos aspectos inexplorados de *E. arborea*, cuyo estudio es relevante tanto para entender la dinámica poblacional de esta especie, como para sustentar actividades que sustenten su domesticación y el aprovechamiento sustentable comercial de los mantos naturales. En este sentido, se conoce que los esporofitos adultos de *E. arborea* se presentan reproductivos (*i.e.*, muestran soros) la mayor parte del año, aunque su reclutamiento es muy variable. Esta condición limita el aprovechamiento de esta especie, y actividades relacionadas con su conservación y restauración. La inducción artificial de maduración de soros en laboratorio es una alternativa interesante que permitiría una menor dependencia de la disponibilidad de tejidos reproductivos maduros en mantos naturales de *E. arborea*. Por lo dicho, esta tesis tiene el objetivo principal de examinar, por primera vez, el fenotipo reproductivo de *E. arborea* mediante dos aproximaciones: i) la evaluación de su dinámica estacional natural mediante muestreos *in situ* en una población localizada en Bahía Soledad (Baja California), y ii) la aplicación de experimentos de laboratorio para la inducción de la maduración de tejidos reproductivos *ex situ*. Nuestros resultados confirman que, a pesar de que los esporofitos adultos de *E. arborea* presentan soros todo el año, existe una variación estacional del fenotipo reproductivo, y de variables directamente

relacionadas con la eficiencia de reproducción. La tasa de liberación y de germinación de esporas, y la longitud del esporangio, fueron los descriptores que más variación mostraron a lo largo del ciclo estacional, en relación con cambios en la irradiancia y la temperatura. No se encontró una relación entre la tasa de liberación de esporas con la ultraestructura básica de los esporangios. Tampoco se detectó una correlación clara entre las tasas de liberación y de germinación de esporas con otros descriptores del fenotipo reproductivo y el contenido en C y N del tejido de soros. Ya que en esta tesis las tasas de liberación y de germinación de esporas se realizaron bajo condiciones controladas de laboratorio, se destaca la necesidad de estudios *in situ* para corroborar estos patrones del fenotipo reproductivo bajo las condiciones naturales de factores como la irradiancia, temperatura o nutrientes. Por otra parte, los experimentos de inducción no lograron la maduración artificial de soros. Los tratamientos propuestos en el fotoperiodo e intensidad de irradiancia no indujeron dichos soros en láminas completas ni en discos de tejido vegetativo. Sin embargo, se comprobó la maduración de un soro inmaduro en láminas completas. Se necesitan más experimentos que sigan poniendo a prueba esta potencial inducción de la maduración artificial de soros en *E. arborea*, que incorporen distintos tratamientos de temperatura y nutrientes, así como el uso de hormonas como el ácido absícico (ABA) y auxinas, que han dado buenos resultados en otras macroalgas pardas Laminariales.

2. Dedicatoria y/o agradecimiento

Mamá, papá, siempre apoyando mis sueños, sé que a veces se preguntaban de donde saqué el amor al mar, pero lo obtuve del vaivén de las olas en el que me paseaban tomada de sus manos cuando era niña. Gracias por todo lo que han hecho por mí, por abrazarme cuando estaba al borde del llanto frustrada porque no me salían mis experimentos y por dejarme sumergirme en mi eterno amor por el mar.

Hermana, siempre mi apoyo emocional y mi verdadera alma gemela, la distancia nunca fue un problema para mantenernos al día en la vida de la otra. Eres la guía de mi velero, te llevo en la piel.

Abuelito, me perdí a la mitad del camino sin usted, sin embargo, me reencuentro con usted en las olas, en la brisa de la tarde...

Leonardo, mi amor y mi mejor amigo, siempre estuviste para animarme y darme palabras de aliento cuando ya no quería seguir, mientras yo veía un callejón sin salida, tú me enseñabas que siempre había un camino. Me inspiras. Gracias por preocuparte por mí, la paciencia y la comprensión, te amo.

Agradezco profundamente a la Universidad Autónoma de Baja California y al departamento de botánica marina por brindarme las facilidades para la realización de este trabajo.

A mi director de tesis, **Dr. Jose Sandoval** y a mi comité de tesis por sus enseñanzas académicas.

A mis compañeros de laboratorio, y personal del área quienes siempre estuvieron dispuestos a compartir sus conocimientos.

3. Índice

1.	<i>Resumen</i>	3
2.	<i>Dedicatoria y/o agradecimiento</i>	5
3.	<i>Índice</i>	7
4.	<i>Introducción</i>	9
5.	<i>Hipótesis</i>	15
6.	<i>Objetivos</i>	16
7.	<i>Metodología</i>	17
	7.1 Evolución estacional de fenotipo reproductivo	17
	7.2. Inducción artificial de maduración de soros en laboratorio	25
	7.3 Análisis estadístico	27
8.	<i>Resultados</i>	28
	8.1 Evolución estacional de fenotipo reproductivo	28
	8.2 Maduración artificial de soros	39
9.	<i>Discusión</i>	43
	9.1 Evolución estacional del fenotipo de reproductivo	43
	9.2 Experimentos de inducción artificial de maduración de soros	48
10.	<i>Conclusiones</i>	51

10.1 Conclusiones sobre la evolución estacional del fenotipo reproductivo de <i>E. arborea</i>	51
10.2 Conclusiones sobre los experimentos de inducción artificial de soros en láminas vegetativas de <i>E. arborea</i>	52
11. <i>Bibliografía</i>	53
12. <i>Anexos</i>	64

4. Introducción

Eisenia arborea (J.E. Areschoug) es una macroalga perteneciente a la clase Phaeophyceae del orden Laminariales (Hollenberg, 1939), y son comúnmente denominadas por el anglicismo “kelps”. Esta especie se distribuye de manera discontinua (Fig.1) a lo largo del Pacífico Norteamericano, desde la isla de Vancouver (Canadá) hasta Bahía Magdalena en Baja California Sur, México (Abbott y Hollenberg, 1976; Matson y Edwards, 2007; Hernández-Velazco *et al.*, 2018), por lo que, dentro de las laminariales es la especie con distribución latitudinal más amplia en el Pacífico norteamericano (Shults y Herbst, 1938; Hollenberg, 1939; Abbott y Hollenberg, 1976; Pérez-García, 2015).

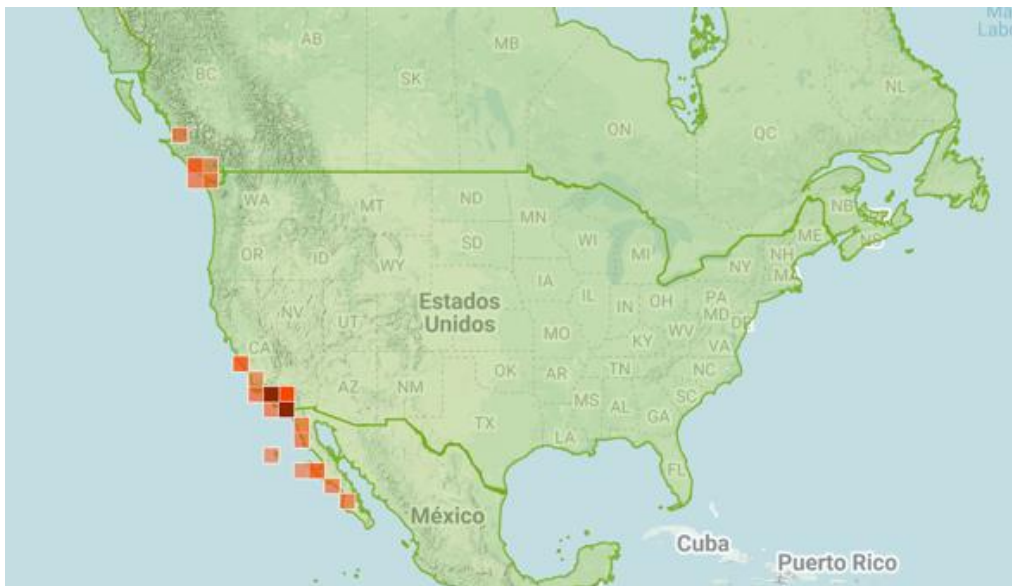


Figura 1. Distribución registrada de *E. arborea*. Cuadros de color indican reportes presenciales de *E. arborea* y la colorimetría se refiere a la abundancia de reportes (colores claros quieren decir que hay pocos reportes, mientras que los colores oscuros se refieren a mayor abundancia de reportes).

Imagen tomada de: <https://mexico.inaturalist.org/taxa/125879-Eisenia-arborea>

E. arborea se presenta comúnmente en ambientes de sustrato rocoso, desde la zona intermareal hasta más de 30 metros de profundidad (Dayton *et al.*, 1999; Spalding *et al.*, 2003). En la costa occidental de Baja California, los mantos de *E. arborea* pueden alcanzar densidades de 19-36 esporofitos m⁻² (Parada *et al.*, 2009). Es una especie perenne, cuya historia de vida heteromórfica no difiere significativamente de la del resto de las especies del orden Laminariales (Fig.2; Hollenberg, 1939; Bold y Wynne, 1985).

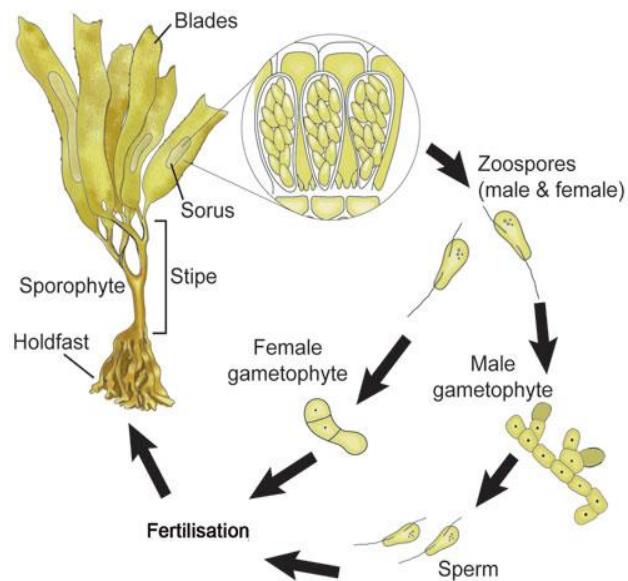


Figura 2. Ciclo de vida heteromórfica de *E. arborea*. (Ilustración: Erika Mackay)

<https://niwa.co.nz/images/heteromorphic-life-cycle-true-kelps-graphic-erika-mackay>

Su ciclo de vida incluye una fase microscópica (gametofito haploide o 1n) y una fase macroscópica (esporofito diploide o 2n) (Bold y Wynne, 1985). La morfología típica de los esporofitos adultos de *E. arborea* (Fig.3) se basa en un conjunto de hapteras que le permiten resistir la fuerza del oleaje y las corrientes (Mendoza-Almanza, 2014), un estipe parenquimatoso de color marrón oscuro, y una bifurcación que da lugar a unas láminas rugosas, lanceoladas y con márgenes dentados. Las láminas especializadas para la reproducción presentan manchas esporangiales irregulares, llamadas soros (Abbott y Hollenberg, 1976).



Figura 3. Partes de *E. arborea*. (Ilustración: <https://niwa.co.nz/images/heteromorphic-life><http://www.miegyoren.or.jp/fisheries-in-mie/uopedia/sagrame>).

Los mantos de *E. arborea* desempeñan un papel ecológico importante en los sistemas costeros que habitan, de igual forma que otras macroalgas laminariales. Se destacan porque proporcionan hábitat de refugio y reproducción, alimentación y

sustrato para diversos organismos marinos (Ávila-Peltroche *et al.*, 2024). Además de su importancia ecológica, *E. arborea* sostiene diversos servicios socio-económicos y tiene un valor significativo en varias industrias. Sus tejidos y sus extractos se pueden utilizar como fertilizante en la agricultura (Canales-López, 1999), en la producción de alginatos como agentes gelificante (Arvizu, 2007), y en la industria farmacéutica (Landa-Cansigno *et al.*, 2017). Su reciente domesticación en condiciones de cultivo (Zertuche-González *et al.*, 2022) también hace de esta especie una opción atractiva para el mercado alimenticio, tanto para consumo humano como para organismos marinos de alto valor económico, como el erizo rojo o el abulón (Zertuche-González *et al.*, 2013).

Un factor clave que también define la importancia de *E. arborea* en la actualidad, es que, en comparación con otras especies de Laminariales en Baja California, ésta presenta una aparente mayor resistencia a elevadas temperaturas y a la escasez de nutrientes del agua de mar. Su presencia en las latitudes más meridionales de la península de Baja California (Fig.1) demuestra esta condición de termorresistencia. Las poblaciones de *E. arborea* han demostrado capacidad para hacer frente a temperaturas que alcanzan los 26 °C a una baja disponibilidad de nitratos ($< 1 \mu\text{M}$) (Matson y Edwards, 2007; Hernández-Carmona *et al.*, 2011). A diferencia de otros kelps, como *Macrocystis pyrifera*, se ha demostrado que los esporofitos de *E. arborea* muestran resiliencia ante eventos anómalos de calentamiento asociados a El Niño Oscilación del Sur (ENSO) (Ladah *et al.*, 1999; Edwards y Hernández-Carmona, 2005) y a olas de calor marinas (Arafeh-Dalmau *et al.*, 2019). Estudios experimentales recientes han demostrado la termorresistencia de sus estados de

desarrollo temprano (gametofitos, esporofitos embriófitos) (Matson y Edwards, 2007; Muth *et al.* 2019), incluso superior al de otras especies de kelp con los que comparte hábitat, como *M pyrifera* o *Pterygophora californica* (Almeida-Saa *et al.*, 2025). En general, estos trabajos sugieren la notable capacidad de adaptación de *E. arborea* frente a eventos relacionados con anomalías térmicas extremas y, en consecuencia, se identifica esta especie como clave para los sistemas costeros de Baja California en un escenario de cambio climático.

A pesar del relevante papel socio-ecológico de *E. arborea*, aún existe una carencia clara de información acerca de su ecología y biología, sobre todo en comparación con otras especies en la región como *M. pyrifera*. La dinámica del fenotipo reproductivo de *E. arborea* es un claro ejemplo del escaso conocimiento que se tiene sobre esta especie. Como fenotipo reproductivo de macroalgas pardas Laminariales se entiende el conjunto de las características observables y medibles relacionadas con su reproducción, así como los procesos de formación y liberación de gametos y esporas (Espinoza Avalos, 2005; Parada-Sánchez *et al.*, 2009). En general, el fenotipo reproductivo de Laminariales está fuertemente condicionado por la variación de parámetros ambientales (Le *et al.*, 2022; Veenhof *et al.*, 2022), incluyendo los factores extremos y asociados al cambio climático (Matson y Edwards, 2007). Por ejemplo, algunos trabajos han documentado cambios en distintas características de la reproducción de otras especies de kelp (i.e., *Saccharina japonica*, *Laminaria digitata*, *Ecklonia radiata*, *Lessonia trabeculata*) bajo distintas condiciones de luz (intensidad, fotoperiodo), temperatura y nutrientes (Lüning y Dieck, 1989; Tala *et al.*, 2004; Bartsch *et al.*, 2013; Prager *et al.*, 2022; Liu

et al., 2022). En particular, para el Pacífico norteamericano, estos aspectos han sido examinados en *M. pyrifera* (Reed, *et al.*, 2008), y en menor medida, en otras especies como *Pterygophora californica* (Dayton *et al.*, 1999). Hasta donde sabemos, no existe información previa sobre la plasticidad del fenotipo reproductivo de *E. arborea* frente a cambios en las condiciones ambientales, más allá de los trabajos Matson y Edwards (2007) y Muth *et al.* (2019) con gametofitos y esporofitos embriófitos.

Las estructuras reproductivas de esporofitos adultos de *E. arborea* se basan en manchas en las láminas reproductivas, en donde se puede observar por medio de cortes histológicos en estas áreas, un conjunto de esporangios en donde se encuentran 32 esporas por esporangio (Hollemer, 1939). A diferencia de otras especies del género *Eisenia*, que presentan la maduración reproductiva estacionalmente, los esporofitos adultos de *E. arborea* parecen estar reproductivos la mayor parte del año (Parada *et al.*, 2009). Sin embargo, en comparación con otras especies de kelp de la región, se ha demostrado una muy baja capacidad de reclutamiento para *E. arborea* (Dayton *et al.*, 1999). Esto sugiere que la maduración de soros o la capacidad de generar esporas viables en la especie no es constante. Ante esto, la inducción artificial de maduración de soros en laboratorio es una alternativa actual que ha mostrado éxito en kelps como *Saccarina japonica* (Liu *et al.* 2022) y *Ecklonia radiata* (Prager *et al.*, 2022). Esta técnica permitiría una menor dependencia de la disponibilidad de tejidos reproductivos maduros en mantos naturales de *E. arborea*. Esto tendría implicaciones positivas en el aprovechamiento de esta especie tanto en su cultivo, como en actividades relacionadas con su

conservación y restauración, que dependen de la disponibilidad de soros maduros y esporas viables que permitan el desarrollo de *E. arborea* en condiciones controladas.

Esta tesis examina el fenotipo reproductivo de *E. arborea* mediante dos aproximaciones:

i) La evaluación estacional natural del fenotipo reproductivo (*i.e.*, liberación y germinación de esporas), y su relación con otras características de la maduración de los tejidos reproductivos (*i.e.*, área y composición bioquímica de soros, ultraestructura de los soros).

ii) La aplicación de experimentos de laboratorio para la inducción de la maduración de tejidos reproductivos, mediante el control de condiciones de disponibilidad de irradiancia (intensidad y fotoperiodo).

5. Hipótesis

- A pesar de que los esporofitos adultos de *E. arborea* se presentan en estado reproductivo gran parte del año, existe una variación estacional del fenotipo reproductivo, y de variables directamente relacionadas con la eficiencia de reproducción, *i.e.* liberación de esporas y su germinación.

- Es posible inducir la aparición y maduración de soros a partir de tejidos vegetativos, por medio de manipulación de las condiciones de luz en condiciones de cultivo en laboratorio.

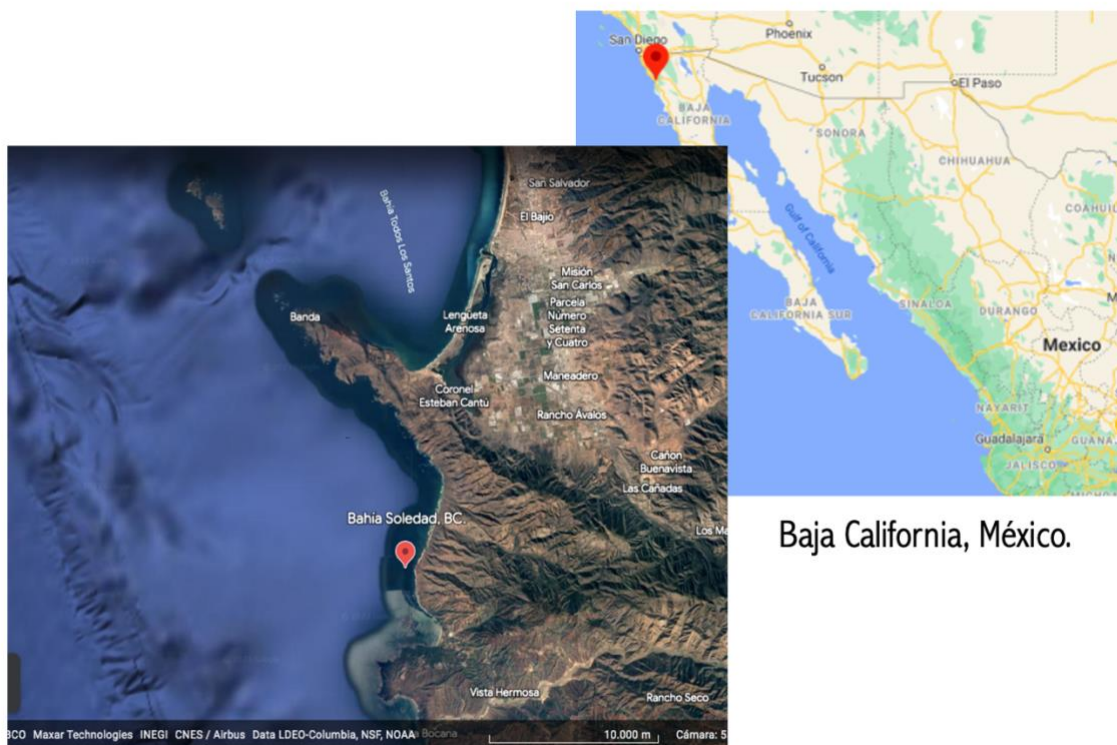
6. Objetivos

- Caracterizar el fenotipo reproductivo de *E. arborea* a lo largo de un ciclo estacional, y determinar si variables descriptivas de la eficiencia reproductiva (*i.e.*, liberación y germinación de esporas), están relacionadas con otras características de la maduración de los tejidos reproductivos (*i.e.*, área y composición bioquímica de soros, ultraestructura de los soros).
- Inducir la aparición y maduración de soros en láminas vegetativas (completas o imparciales), manipulando las condiciones de irradiancia en laboratorio. Probar esta inducción en láminas completas o partes de ellas.

7. Metodología

7.1 Evolución estacional de fenotipo reproductivo

Las láminas reproductivas de *E. arborea* se colectaron de un manto ubicado entre 12-14 m en Bahía Soledad (N 31°37'02.6" W 116° 40' 23.1"), Baja California. México (Fig. 4).



Bahía Soledad, Ensenada.

Baja California, México.

Recuperado: Google maps.

Figura 4. Ubicación geográfica del manto de *E. arborea* en Bahía Soledad, Ensenada, B.C., México
(Fuente: de: Google maps).

Se monitoreó la luz y temperatura de la zona con ayuda de sensores sumergibles (Onset HOBO, MX2202). Los muestreos fueron bimestrales, desde febrero 2023 a febrero 2024, y se realizaron por medio de buceo autónomo (Fig.5).



Figura 5. Zona de muestreo, manto de E. arborea en Bahía. Soledad.

En cada muestreo se seleccionaron 15 esporofitos adultos al azar en un espacio 400 m² y se recolectó una lámina reproductiva por individuo. Se seleccionaron frondas saludables en apariencia, sin signos de deterioro o abrasión. Desde el sitio de colecta, las láminas con soros fueron transportadas húmedas y en oscuridad en hieleras, hasta el laboratorio de Botánica Marina del Instituto de Investigaciones Oceanológicas de la Universidad Autónoma de Baja California. Una vez en el laboratorio, las 15 láminas se limpiaron de la presencia de epífitas con ayuda de un cepillo de dientes de cerdas duras y agua de mar filtrada (1 µm, UV; Fig 8.A).

La cobertura y área del soro (Fig. 6) se examinaron sobre fotografías de las láminas reproductivas usando el programa de análisis de imágenes Fiji (versión Java6). Para las fotografías, las láminas se colocaron sobre papel albanene forrado con papel adherible transparente, con el fin de visualizar el soro con mayor contraste.

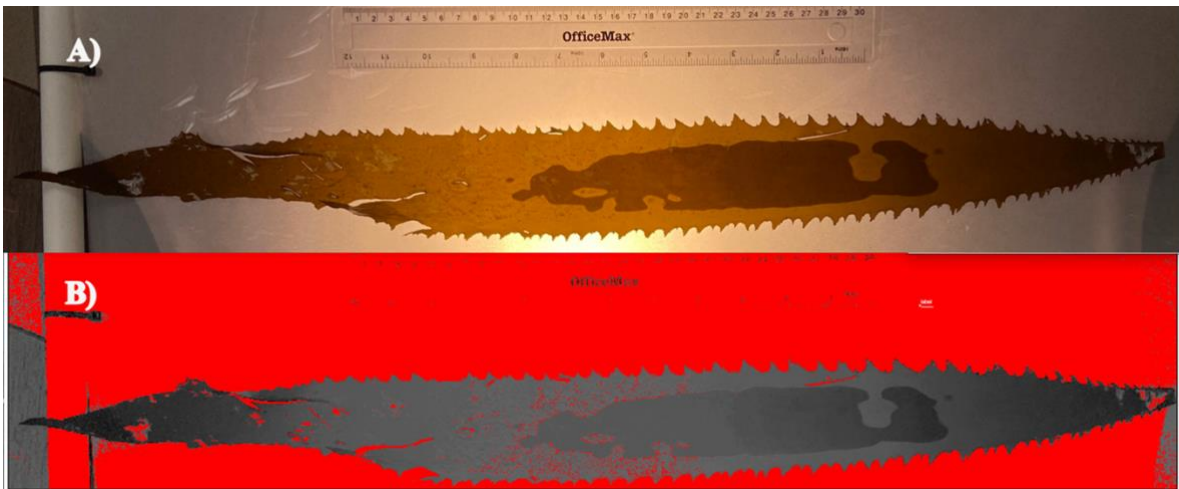


Figura 6. Cobertura del soro sobre la lámina reproductiva. A) Ejemplo de la identificación del soro y registro del mismo por medio de fotografías. B) Procesamiento de imágenes del porcentaje de cobertura por medio del programa Fiji.

Las tasas de esporulación y germinación se realizaron de acuerdo al protocolo general de Zertuche-González *et al.*, (2022), con algunas modificaciones. Para someter el tejido a estrés e inducir la esporulación, los soros se mantuvieron 24 h a 4 °C y en oscuridad, envueltos en papel húmedo cubierto en aluminio. Tras este periodo, las esporas se liberaron de dos discos (1.32 cm de diámetro cada uno) tomados de cada soro (Fig. 8B). Por cada soro, los discos se sumergieron en un tubo cónico de polipropileno de 15 ml, con 7.5 ml de agua de mar filtrada (1 μ m, UV). La liberación de esporas se llevó a cabo a 16°C, y a condiciones de irradiancia

de 200 μmol fotones $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ estas condiciones se mantuvieron durante toda la liberación. Desde el inicio de la inmersión de los discos, se realizaron conteos de esporas por medio de un hemocitómetro (o cámara de Neubauer) usando un microscopio compuesto (Zeiss, AXIOSKOP-40) cada hora (Fig. 8B). Los conteos se realizaron por un mínimo de 4 horas. La selección de datos de la tasa de esporulación (Fig. 7) se realizó seleccionando el punto máximo de liberación de esporas y se calculó la tasa de liberación de esporas con la formula siguiente:

$$TL = \left(\frac{\left[\text{Esporas} \left(\frac{\text{cel}}{\text{mL}} \right) \right] * \text{Vol. agua (mL)}}{\Delta \text{tiempo (min)}} * A \text{ disco} \right) / 60$$

Figura 7. Fórmula para obtener la tasa de liberación de esporas.

Donde:

TL= Tasa de liberación

Esporas= Numero de esporas máximo (cel/mL)

Vol. Agua= Volumen de agua en el que el soro fue sumergido (mL)

Δ tiempo= Diferencia del tiempo inicial y el tiempo en función a la variable esporas (min).

A disco= Área del disco (cm^2).

**la cifra 60 en la formula se refiere a la conversión de unidades de tiempo.*

Tras la etapa de liberación las esporas (Fig. 8C) se sembraron a una concentración de 25 cel/mL, en cajas Petri (60 x 15 mm), con agua de mar filtrada (1 μm , UV) y enriquecida con medio Provasoli (Universidad Autónoma de Baja California, 2022) (1ml/L). El fondo de las placas Petri se marcaron con tres cuadrados de 1 cm^2 (Fig. 8D), y que sirvieron para delimitar el área de observación y conteos de germinación de esporas (Fig. 8E). Dicha germinación se estuvo monitoreando semanalmente a lo largo de un mes. Durante este periodo, se fue incrementando la intensidad de luz semanalmente, (30, 60, 90, y 120 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$), y se realizaron recambios del medio de cultivo. Se mantuvo un fotoperiodo neutro (12:12) durante la germinación y crecimiento de gametofitos.

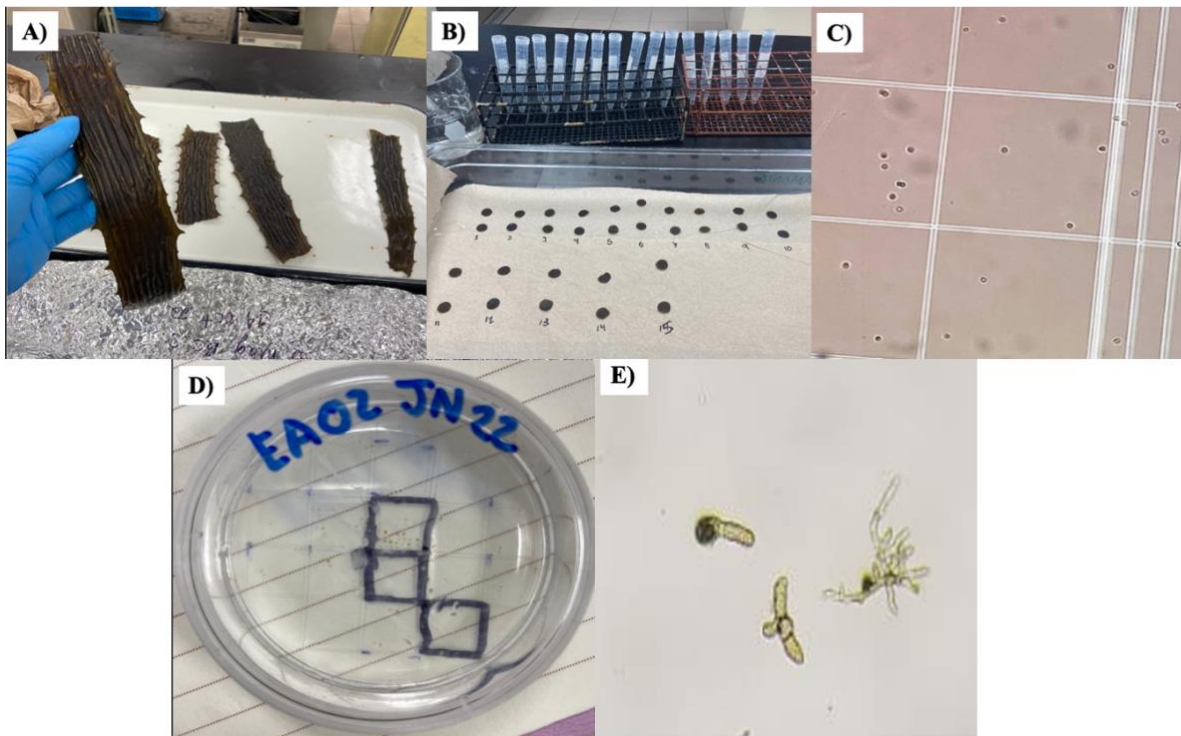


Figura 8. Imágenes del proceso para la determinación de las tasas de esporulación y germinación. A) Limpieza de lámina reproductiva. B) Tejido reproductivo sometido a estrés de luz, desecación y deshidratación. C) Conteo de esporas en cámara de Neubauer. D) Caja sembrada para obtener la tasa de germinación con tres zonas de observación de 1 cm². E) Esporas germinadas y gametofitos.

El estudio de la ultraestructura de los soros se realizó con cortes histológicos siguiendo el protocolo general de Tapia *et al.*, (2012). Se extrajo tejido de 1 cm² de la parte central del soro, y se conservó en formaldehído al 2 % (Fig. 9A) y en refrigeración hasta el día de su procesado. El procedimiento de cortes para el estudio de la ultraestructura comenzó con el secado de los tejidos y su ultracongelación en medio de inclusión por 1 h a -30 °C (Fig. 9B). Tras la congelación, se realizaron cortes de 5 µm y ajustados a 6° de inclinación, mediante el uso de un criostato (microtomo rotativo criostato HYRAX). Por cada muestra de tejido reproductivo se realizaron como mínimo 8 réplicas, con lo que el total de muestras fueron N=90 (Fig. 9C). Estas muestras fueron fijadas con gelatina de glicerina. Se sumergieron en un carrusel de solventes (Xileno I por 10 min, Xileno II por 10 min, Xileno III por 10 min, alcohol etílico 100% por 5 min, etanol (EtOH) 96% por 5 min, EtOH 80% por 5 min, EtOH 70% por 5 min, EtOH 50% por 5 min, agua formulada por 5 min; Fig. 9D) con el fin de remover el medio de inclusión y fijar los cortes para su posterior observación.

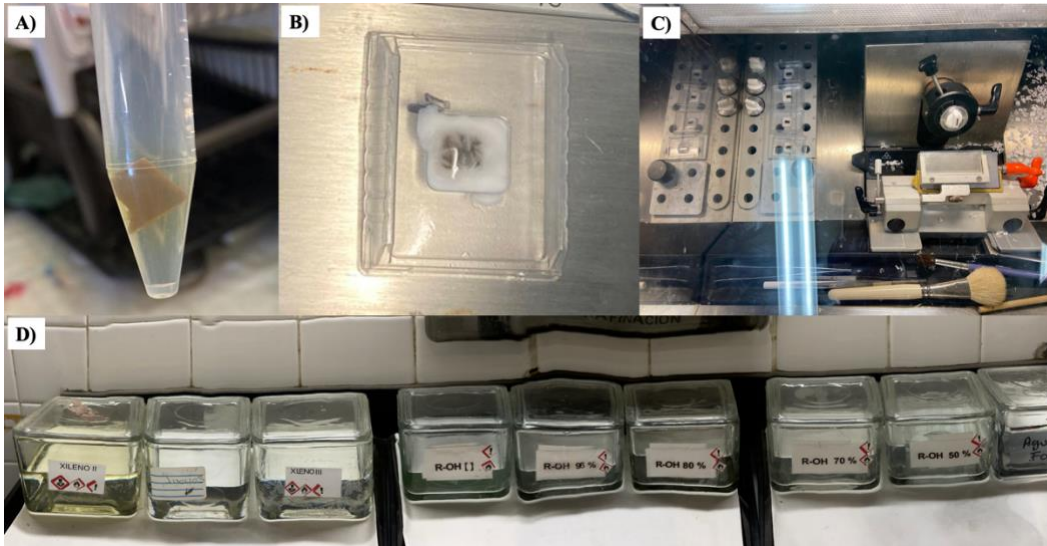


Figura 9. Metodología para la obtención de cortes histológicos para la evaluación de la ultraestructura del soro. A) Tejido reproductivo sumergido en solución de formaldehído 2%. B) Tejido reproductivo en proceso de ultracongelación en criostato por medio de parafina. C) Muestras montadas para realizar cortes histológicos en criostato. D) Carrusel de solventes a distintas concentraciones para la desparafinación de los cortes histológicos del tejido reproductivo.

Los cortes fueron examinados en el microscopio invertido Zeiss AxioVision A1. Se analizaron tres réplicas, y en cada una se eligieron tres zonas al azar para contar la densidad de esporangios a lo largo de 100 μm , así como lo largo y ancho de los esporangios. Se decidió trabajar con los tejidos sin tinción debido a que el corte era tan delgado que la absorción de la tinta en la muestra saturaba el tejido y no permitía una buena visualización (Fig. 10).

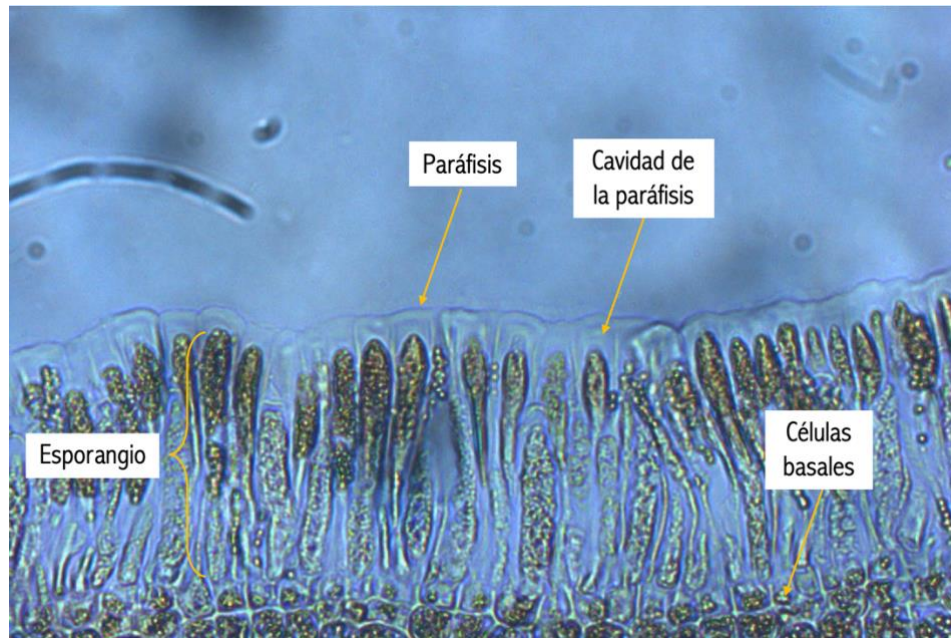


Figura 10. Ultraestructura del soro. Corte histológico transversal 5 μ m de grosor, sin tinción a 40X en donde puede apreciarse los esporangios del alga parda E. arborea.

El contenido de carbono (C) y nitrógeno (N) total del tejido de los soros se determinó siguiendo el protocolo del laboratorio de isótopos estables. Un área de cada soro (5x5 cm) se secó en estufa a 60°C durante 72 horas. Las muestras secas se molieron hasta obtener un polvo fino, y se encapsularon en cápsulas de estaño. La determinación el N y C se llevó a cabo por medio de un analizador elemental (EA) acoplado con un espectrofotómetro de masas de relación isotópica de flujo continuo en el del Instituto de Investigaciones Oceanológicas de la Universidad Autónoma de Baja California, por medio de un analizador elemental (EA) acoplado con un espectrofotómetro de masas de relación isotópica de flujo continuo.

7.2. Inducción artificial de maduración de soros en laboratorio

Para la inducción artificial de la maduración de soros se realizaron dos tipos de experimentos, uno empleando discos extraídos de láminas vegetativas y otro con láminas vegetativas completas, siguiendo los ejemplos de los trabajos de Bartch *et al.*, (2013), Prager *et al.*, (2022) y Liu, *et al.*, (2022). Las láminas fueron colectadas durante febrero y marzo 2023 en campo Kennedy (Ensenada, Baja California, 31° 42'19"N 116°41'17"O). Se colectaron >10 láminas sin presencia del tejido reproductivo, de esporofitos adultos diferentes. Se tuvo cuidado de coleccionar láminas maduras (>20 cm de largo) saludables en apariencia, sin daños o abrasión.

Para el experimento con discos de lámina (Fig. 11), las láminas vegetativas colectadas se limpiaron usando agua de mar filtrada (1µm, UV) y un cepillo cerdas blandas para remover organismos epífitos adheridos a la lámina. Luego se cortaron discos (4 cm diámetro) usando un molde comercial. Por cada lámina se obtuvieron 3 discos de la parte central. Cada disco se colocó en una caja de Petri (90 x15 mm) con 10 ml de agua de mar filtrada (1µm, UV) y con medio Provasoli (1ml/L; 659 µM de N; 37 µM de F). Se hicieron recambios totales del medio de cultivo semanalmente. Las cajas de Petri se mantuvieron en una incubadora de cultivo a temperatura constante de 16 °C. Para el experimento se establecieron dos factores experimentales, *i.e.* el fotoperiodo y la intensidad de irradiancia. Se establecieron dos fotoperiodos (12:12 y 8:16; Luz:Oscuridad) y dos intensidades de luz (60 y 120 µmol fotones m⁻² s⁻¹). La luz fue generada por lámparas led 150 W. Se dispusieron 3 réplicas (cajas Petri) para cada uno de los cuatro tratamientos resultantes de la

interacción de los factores experimentales (N = 3). Se monitoreó la aparición de soro en los tejidos por un periodo experimental de 4 semanas.

El experimento llevado a cabo con láminas completas de *E. arborea* se realizó con los mismos tratamientos de intensidad de luz e irradiancia que el realizado con discos de tejido (Fig. 11). Sin embargo, en este experimento las láminas se mantuvieron sumergidas en agua de mar en cubetas transparentes de 8 L. En cada cubeta se colocaron 3 láminas vegetativas, y se dispusieron 3 cubetas para cada tratamiento (N = 3). Se estableció una temperatura constante de 16 °C. La luz fue generada por lámparas LED instaladas a diferentes alturas por encima de las cubetas. Se hicieron recambios de agua y fertilizaciones del agua de mar con NaNO₃ (5 mg/L; 58.82 µM de N; 3.05 µM de F.) y H₃PO₄ (0.5 mg/L) semanalmente. Las láminas permanecieron en estas condiciones experimentales durante 4 semanas.

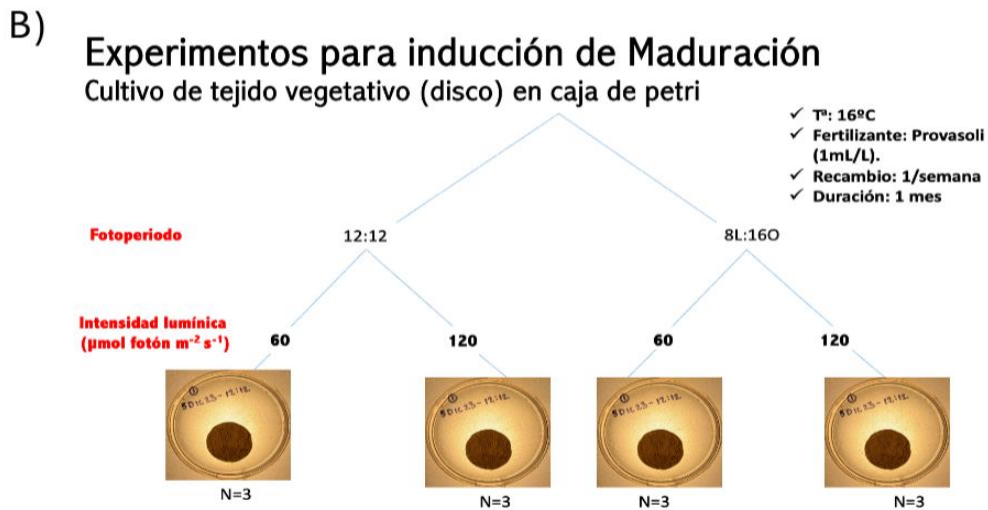
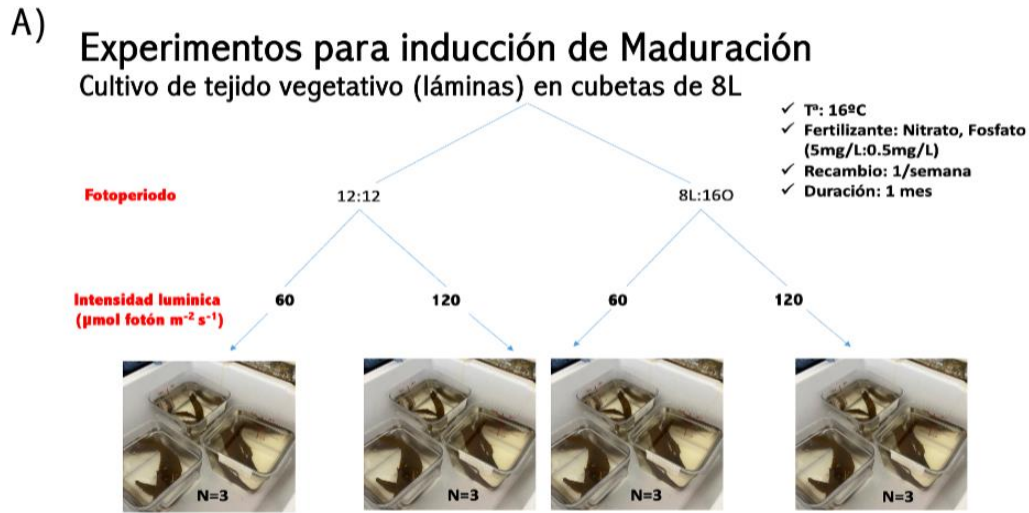


Figura 11. Diseños experimentales básicos de los experimentos empleados para la inducción artificial de maduración de tejido vegetativo de *E. arborea*, en láminas (A) y en discos de láminas (B).

7.3 Análisis estadístico

Se realizaron pruebas de normalidad (prueba de Shapiro-Wilk) y homogeneidad de varianzas (prueba de Levene) para cada variable respuesta. Para los datos paramétricos se realizó un análisis de variancia de una vía (ANADEVA) (*post-hoc*,

Student Newman Keuls) para las variables de tasa de esporulación, densidad de esporangios, y contenido de carbono y nitrógeno del soro. Se estableció la significancia estadística con $P < 0.05$. Cuando no se cumplieron las asunciones de normalidad y homocedasticidad se aplicó una prueba no paramétrica de comparación de grupos análoga, Kruskal-Wallis. Este fue el caso de las variables de tasa de liberación de esporas, porcentaje de germinación, largo de esporangio y ancho de esporangio. También se realizó análisis de correlación (Pearson) entre la tasa de esporulación y el porcentaje de germinación con el resto de variables asociadas al fenotipo reproductivo. Este tipo de análisis también se aplicó para detectar si hay relación entre la temperatura y las variables de fenotipo reproductivo. Todos los análisis se realizaron con el paquete estadístico StatSoft de programa SigmaPlot 11.

8. Resultados.

8.1 Evolución estacional de fenotipo reproductivo

La temperatura y la irradiancia PAR mostraron una clara variación estacional. La máxima variación de temperatura registrada durante el presente estudio fue durante el mes de julio, con valores entre 11 y 21°C (*Fig. 12*).

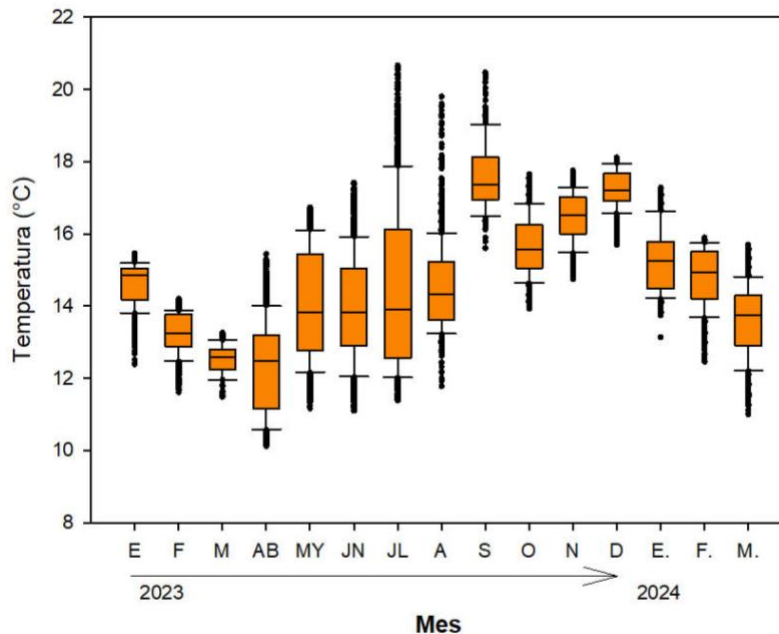


Figura 12. Temperatura del mar en el sitio de colecta de tejidos reproductivos de *E. arborea* (Bahía Soledad, Baja California), entre el periodo de enero 2023 a marzo 2024. Las gráficas de cajas y bigotes (box plots) muestran la distribución de los datos, resaltando la mediana, los cuartiles y los posibles valores atípicos o outliers.

La temperatura mínima registrada fue de 10 °C en primavera (abril 2023) y la temperatura máxima registrada fue de 21 °C en verano (julio 2023). En verano, primavera, invierno y otoño, los valores máximos de irradiancia PAR a lo largo de un ciclo diario fueron de 250, 200, 170 y 140 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectivamente. El fotoperiodo largo (15:9) corresponde a la temporada de verano, mientras que el más corto registrado (12:12) pertenece a el otoño e invierno. La dosis lumínica diaria

varió estacionalmente, siendo máxima en verano ($13.8 \text{ mmol m}^{-2} \text{ día}^{-1}$), seguida de primavera ($10.51 \text{ mmol m}^{-2} \text{ día}^{-1}$), invierno ($7.40 \text{ mmol m}^{-2} \text{ día}^{-1}$) y otoño ($6.04 \text{ mmol m}^{-2} \text{ día}^{-1}$) (Fig. 13).

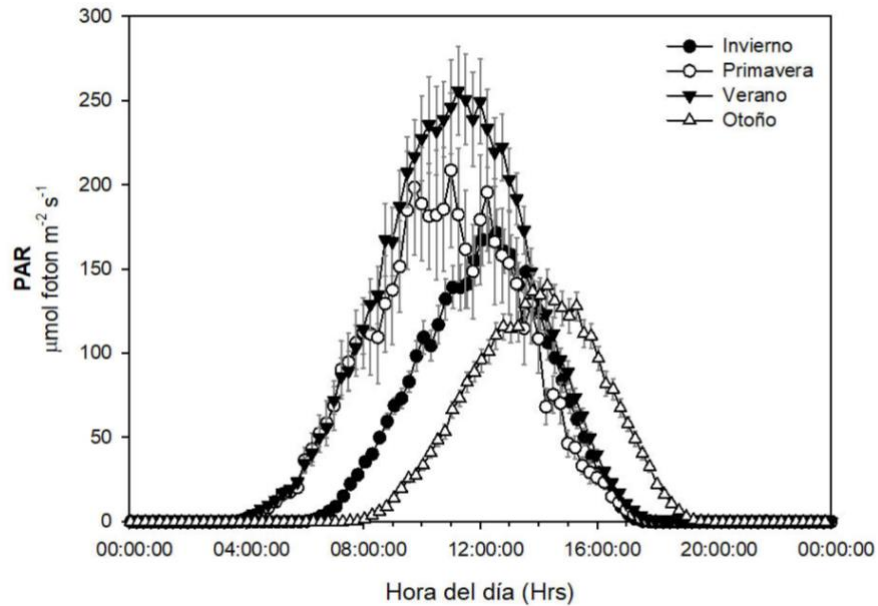


Figura 13. Valores de irradiancia PAR en ciclos diarios promediados para cada estación del año, y registrados en el sitio de colecta. Los valores como promedios y errores estándar ($N = 32$).

La cobertura del soro (Fig. 14) respecto del total del tejido de la lámina reproductiva fue 1.5 veces mayor en los meses de otoño (septiembre y noviembre) en comparación con el resto del año.

Porcentaje de tejido reproductivo

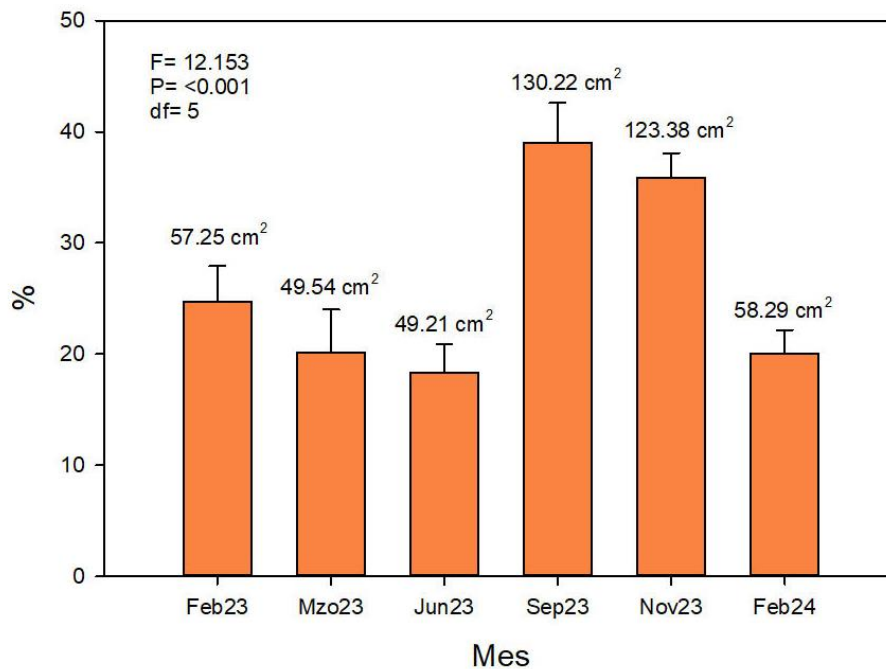


Figura 14. Variación estacional del porcentaje de cobertura del soro respecto de la lámina completa. Los resultados se muestran como promedios y errores estándar (N =15). En la parte superior izquierda del panel se muestran los resultados estadísticos (ANOVA-1 vía, post-hoc Student Newman Keuls. Sobre las barras se indica adicionalmente el promedio del área de soro (cm²).

La máxima tasa de liberación de esporas (Fig. 15) se observó en el mes de marzo 2023, y la mínima en noviembre 2023. En marzo, la tasa de esporulación fue significativamente (116%) mayor que en el resto del año. La tasa de esporulación de noviembre fue significativamente (100%) menor al resto del año.

Tasa de liberación de esporas

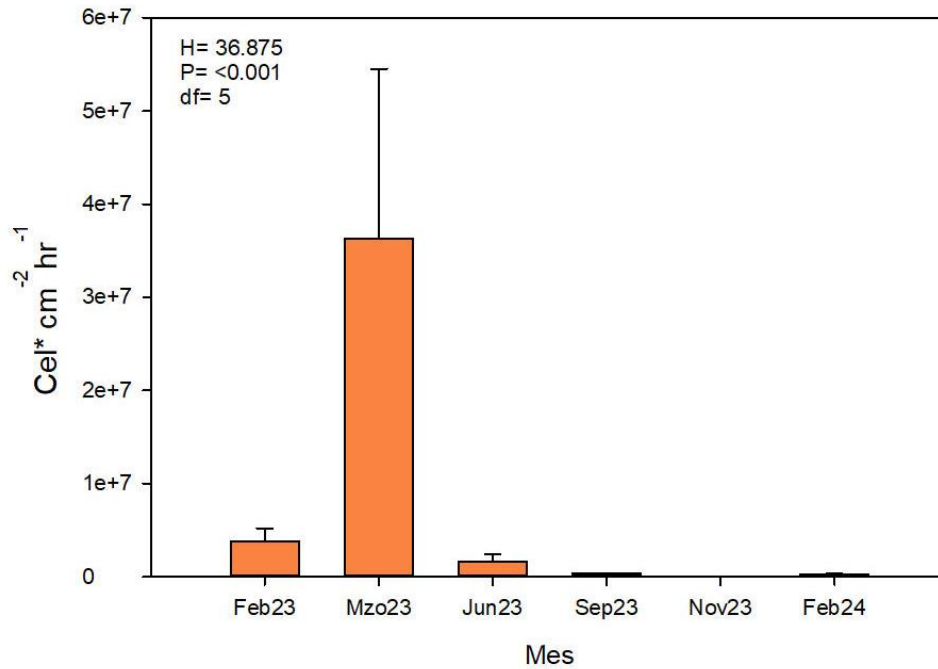


Figura 15. Variación estacional de la tasa de liberación de esporas. Los resultados se muestran como promedios y errores estándar (N =15). En la parte superior izquierda del panel se muestran los resultados estadísticos (Kruskal-Wallis).

El máximo porcentaje de germinación de esporas ocurrió en febrero 2023 (60-70% de germinación) y el mínimo en el mes de noviembre 2023 (21.8%). Los valores del porcentaje de germinación entre los meses de marzo, junio, septiembre no variaron significativamente, y se mantuvieron con valores promedio de 45 %. En comparación con febrero 2023, los valores de germinación de febrero de 2024 fueron más reducidos (promedio de 30%).

Porcentaje de germinación

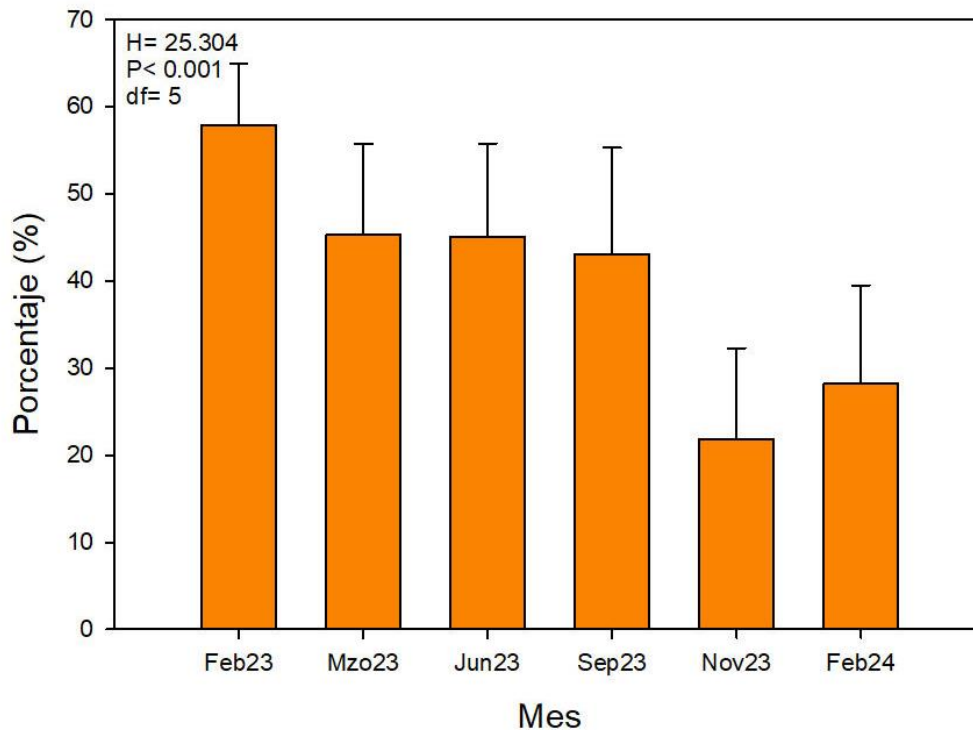


Figura 16. Variación estacional del porcentaje de germinación. Los resultados se muestran como promedios y errores estándar ($N = 15$). En la parte superior izquierda del panel se muestran los resultados estadísticos (Kruskal Wallis).

La longitud de los esporangios mostró variación estacional significativa (Fig. 17A). Los valores máximos se registraron en febrero de 2023 (promedio de $40 \mu\text{m}$), duplicando los valores observados durante el resto del año (promedio de $20 \mu\text{m}$). En contraste, los valores mínimos correspondieron a septiembre de 2023 ($14.59 \mu\text{m}$). Es notable que en febrero de 2024 (promedio de $20 \mu\text{m}$) los esporangios fueron significativamente más cortos que los registrados en el mismo mes del año anterior.

Respecto al ancho de los esporangios (Fig. 17B), no se encontraron diferencias significativas entre la mayoría de los meses muestreados, manteniéndose en un rango de 4.82 a 5.4 μm . La única excepción fue marzo de 2023, que presentó valores ligeramente superiores (5.61 μm).

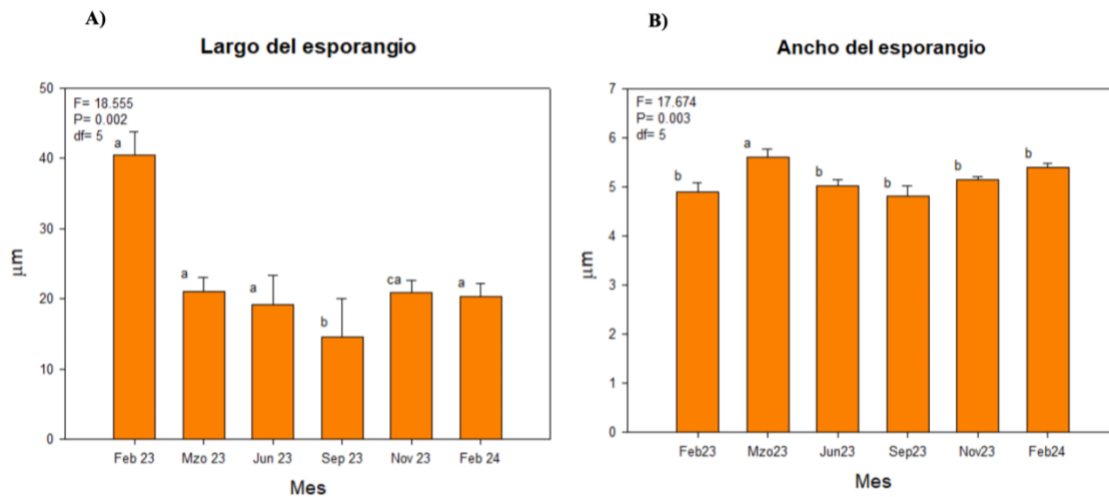


Figura 17. Variación estacional de la Ultraestructura del soro. A) Largo del esporangio promedio obtenido durante febrero 2023 a febrero 2024. B) Ancho del esporangio promedio durante febrero 2023 a febrero 2024. Los resultados se muestran como promedios y errores estándar ($N=15$). En la parte superior izquierda del panel se muestran los resultados estadísticos (Kruskal Wallis).

Con respecto a la densidad de esporangios (Fig. 18), la variación entre meses fue significativa, siendo marzo y septiembre los meses que presentaron menor densidad de esporangios (10.5 esporangios/100 μm), mientras que el valor más alto lo encontramos en noviembre 2023 (14.8 esporangios/100 μm).

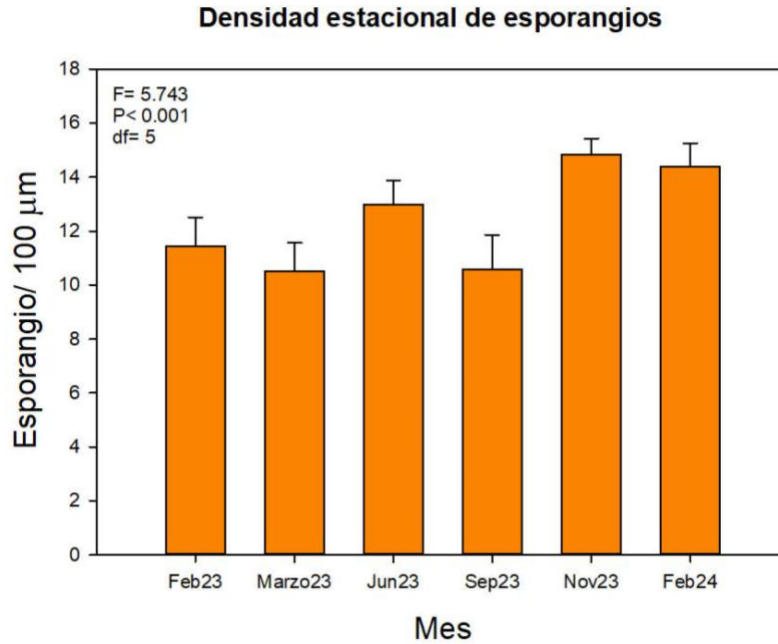


Figura 18. Variación estacional de la densidad promedio de esporangios a lo largo de 100 μm . Los resultados se muestran como promedios y errores estándar (N =15). En la parte superior izquierda del panel se muestran los resultados estadísticos (ANOVA-1 vía, post-hoc Student Newman Keuls

Los soros mostraron un mayor contenido en carbono (25-28%) entre los meses de junio 2023 a febrero de 2024. El contenido en carbono de los soros fue de 22% en los meses de febrero y marzo de 2023. Por el contrario, no se encontraron diferencias significativas en el contenido en nitrógeno, y los valores se mantuvieron variables entre 4.97 y 8.84 %.

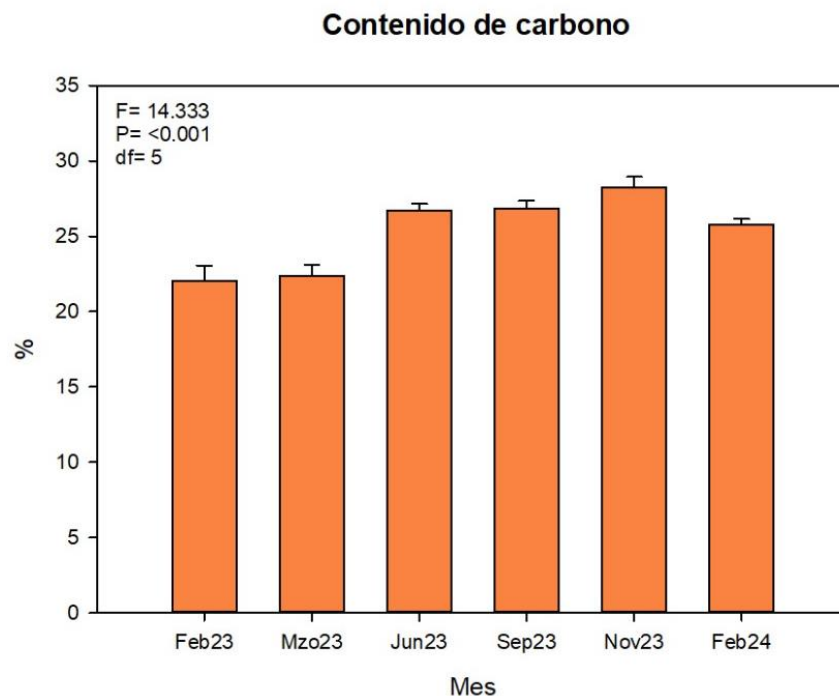


Figura 19. Variación estacional del contenido de carbono del soro. Los resultados se muestran como promedios y errores estándar (N =15). En la parte superior izquierda del panel se muestran los resultados estadísticos (ANOVA-1 vía, post-hoc Student Newman Keuls).

El contenido de C en los soros mostró variación temporal significativa. Durante los primeros meses del estudio (febrero-marzo de 2023), los valores fueron menores (22%), incrementándose posteriormente desde junio de 2023 hasta febrero de 2024, cuando alcanzaron su máximo (25-28%). En contraste, el contenido de N (Fig. 20) no mostró diferencias significativas entre meses, fluctuando en un rango de (1.5 y 2%).

Contenido de nitrógeno

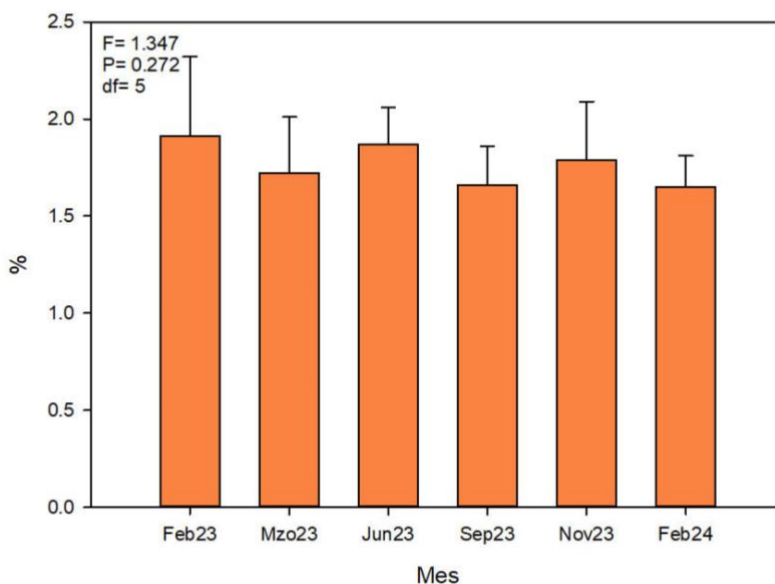


Figura 20. Variación estacional del contenido de nitrógeno del soro. Los resultados se muestran como promedios y errores estándar (N =15). En la parte superior izquierda del panel se muestran los resultados estadísticos (ANOVA-1 vía, post-hoc Student Newman Keuls).

De forma general, no se observó una correlación estadística entre las tasas de liberación de esporas y su germinación, con los demás descriptores analizados sobre el soro (Tabla I), así como con la temperatura (Tab. II) y la luz (Tab. III) .

Tabla I. Coeficiente de correlación de Pearson entre la eficiencia reproductiva y variables del fenotipo reproductivo.

Tasa de liberación de esporas						
	Cobertura	Contenido de carbono	Contenido de nitrógeno	Largo de esporangio	Ancho de esporangio	Densidad de esporangio
P	0.461	0.175	0.799	0.985	0.116	0.336
R²	0.142	0.404	0.0182	0.0000936	0.501	0.23
Germinación						
	Cobertura	Contenido de carbono	Contenido de nitrógeno	Largo de esporangio	Ancho de esporangio	Densidad de esporangio
P	0.583	0.12	0.31	0.275	0.504	0.132
R²	0.0818	0.493	0.252	0.285	0.119	0.472

Tabla II. Coeficiente correlación de Pearson entre la temperatura de la zona de muestreo con los nutrientes del soro y las variables de eficiencia reproductiva.

Temperatura				
	%C del soro	%N del soro	Tasa de liberación de esporas	% de germinación
P	0.055	0.382	0.256	0.000
R²	0.641	0.194	-0.621	-0.521

Tabla III. Coeficiente correlación de Pearson entre la temperatura de la zona de muestreo con los nutrientes del soro y las variables de eficiencia reproductiva.

Luz				
	%C del soro	%N del soro	Tasa de liberación de esporas	% de germinación
P	0.000	0.000	0.364	0.000
R²	0.191	-0.644	-0.060	0.0393

8.2 Maduración artificial de soros

En el experimento de inducción de tejido reproductivo usando discos de lámina vegetativa, bajo las condiciones fotoperiódicas 8:16(Luz:Oscuridad) se observó el deterioro de los ejemplares desde la segunda semana. En la tercera semana uno de los ejemplares se había desintegrado de tal modo que no fue posible fotografiarlo. En la semana 4 todos los ejemplares se habían desintegrado. Bajo estas condiciones no se observó la formación de soros en ninguno de los tratamientos expuestos a distintos fotoperiodos (Fig. 21).

8:16	INICIO	SEMANA 1	SEMANA 2	SEMANA 3	SEMANA 4
	Fecha	22-Feb	1-Mar	8-Mar	16-Mar
	Nutrientes	Provasoli (1mL/L)	Provasoli (1mL/L)	Provasoli (1mL/L)	Provasoli (1mL/L)
60 μ mol fotones m ⁻² s ⁻¹					
120 μ mol fotones m ⁻² s ⁻¹					

Figura 21. Maduración artificial de tejido vegetativo (discos) en cajas Petri. Imágenes de las discos tomadas en el tratamiento correspondiente al fotoperiodo 8:16 (obscuridad:luz). En este tratamiento, la temperatura se mantuvo a 16°C, y se aumentó gradualmente la intensidad de luz.

Por otro lado, el experimento desarrollado en el fotoperiodo 12:12 (Fig. 22) sufrió un deterioro grave. Desde la primera semana, uno de los ejemplares comenzó a presentar síntomas de pérdida del tejido y, conforme se desarrollaba el experimento, el deterioro se agravó en todos los ejemplares hasta el punto de que no fue posible manipularlo para fotografiarlos.


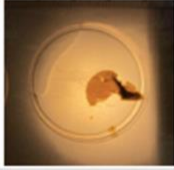




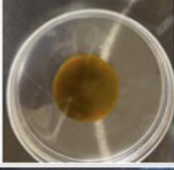
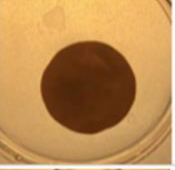



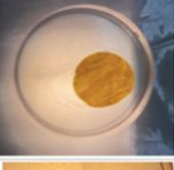
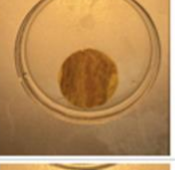



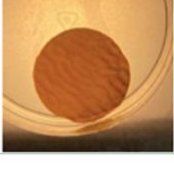
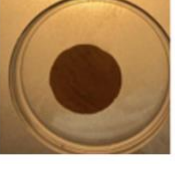


12:12	INICIO	SEMANA 1	SEMANA 2	SEMANA 3	SEMANA 4
	Fecha	22-Feb	1-Mar	8-Mar	16-Mar
	Nutrientes	Provasoli (1mL/L)	Provasoli (1mL/L)	Provasoli (1mL/L)	-----
60 μ mol fotones m ⁻² s ⁻¹					
					
120 μ mol fotones m ⁻² s ⁻¹					
					

Figura 22. Maduración artificial de tejido vegetativo (discos) en cajas Petri. Imágenes de los discos tomadas en el tratamiento correspondiente al fotoperiodo 12:12 (luz:oscuridad). En este tratamiento, la temperatura se mantuvo a 16°C, y se aumentó gradualmente la intensidad de luz.

El experimento de inducción en laminas vegetativas (Fig. 23) se llevó a cabo con bajo las mismas condiciones de luz y fotoperiodo, variando únicamente la concentración de nutrientes y las dimensiones del sistema experimental. Estas laminas estuvieron en agitación por volteo, se conservaron en óptimas condiciones durante las primeras tres semanas.

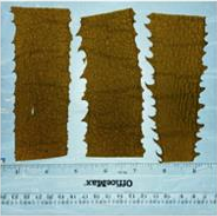
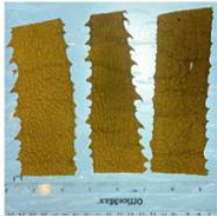
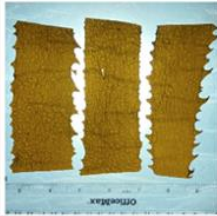
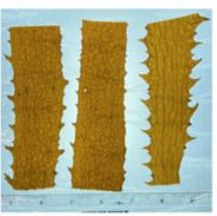






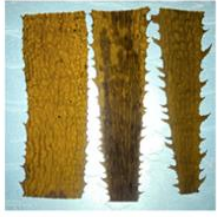
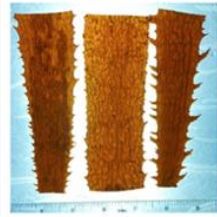
	INICIO	SEMANA 1	SEMANA 2	SEMANA 3
	Fecha	4-Apr	14-Apr	24-Apr
	Nutrientes	5mg/L:0.5mg/L (Nitrato/Fosfato)		
60μmol fotones m⁻²s⁻¹	12:12			
	8:16			
120μmol fotones m⁻²s⁻¹	12:12			
	8:16			

Figura 23. Maduración artificial de tejido vegetativo (láminas completas) cubetas. Imágenes tomadas para los 4 tratamientos resultantes de la interacción de los factores experimentales de fotoperiodo (12:12 y 8:16) e intensidad de luz (60 y 120 μ mol fotones m⁻²s⁻¹).

9. Discusión

9.1 Evolución estacional del fenotipo de reproductivo

La presente tesis supone la primera caracterización del fenotipo reproductivo estacional de *E. arborea*. Las distintas variables examinadas evidenciaron que, a pesar de que los esporofitos adultos de *E. arborea* presentan soros durante todo el periodo de estudio (febrero 2023 a febrero de 2024), algunas variables del fenotipo reproductivo indican que la eficiencia reproductiva varía estacionalmente.

Nuestras observaciones demostraron que, en nuestra población de estudio, *E. arborea* se presentó reproductiva a lo largo de todo el periodo de estudio, aunque la cobertura del soro sobre el área total de la lámina varió estacionalmente. En junio, se encontró el tamaño mínimo de soro (área de 49.218 cm², 18.32% de cobertura), mientras que, el área reproductiva alcanzó sus valores máximos (130.22 cm², 37.43% de cobertura) en septiembre. Esta variación del área del soro también se ha encontrado en otras especies laminariales, como *Ecklonia máxima* (Joska y Bolton 1987) y *Laminaria longicruris* (Van Patten y Yarish 1993). Joska y Bolton (1987) no encontraron una relación de la cobertura de soros en *E. maxima* con factores bióticos o abióticos, mientras que Van Patten y Yarish (1993) la relacionaron con estrés por temperatura en *L. longicruris*.

A pesar de que *E. arborea* presentó soros en todas las estaciones del año, nuestros resultados mostraron que las tasas de liberación de esporas no fueron constantes. Más aún, no estuvieron relacionadas con el tamaño de soro, contenido de nutrientes

(C y N) y biometría de esporangios (ancho, largo, y densidad; Tab. I, II, III y IV). De hecho, se observó que la mayor cobertura de soro no es proporcional a una mayor liberación de esporas, y, por tanto, no está relacionada con el grado de madurez del soro. Específicamente, *E. arborea* registró su mayor tasa de liberación de esporas en marzo de 2023 durante la primavera (18.2×10^{-6} cel $\text{cm}^{-2} \text{h}^{-1}$), y una mínima en otoño-noviembre (601 cel $\text{cm}^{-2} \text{h}^{-1}$), a pesar de que en ésta última fecha presentó una mayor cobertura de soros. En nuestro trabajo, la tasa de liberación de esporas pudiese estar condicionada por la irradiancia, en términos de horas de luz al día y máxima intensidad de luz. Se encontró que la mayor liberación de esporas ocurre cuando los días son más largos (fotoperiodo 15:9) y hay más luz disponible. En cambio, cuando los días son más cortos (12:12) y con menos intensidad de luz, se liberó una menor cantidad. Por otra parte, las máximas y mínimas tasas de germinación de esporas mostraron una relación inversa con la temperatura del agua de mar, siendo máximas en condiciones de menor temperatura (febrero) y mínimas en condiciones de mayor temperatura (noviembre). Se sabe que la temperatura es un factor clave condicionante de estas etapas de reproducción en *E. arborea* (Matson y Edwards, 2007; Muth *et al.* 2019), y otras especies de Laminariales. Por ejemplo, Joska y Bolton (1987) demostraron estacionalidad en la liberación de esporas en alga parda *E. maxima*, con tasas bajas en invierno y altas en primavera y verano. En *Ecklonia radiata*, Mohring *et al.* (2013) también reportaron una relación positiva entre la temperatura y la liberación de esporas. En general, las tasas de esporulación de *E. arborea* fueron menores que las observadas para especies macroalgas pardas laminariales (Tabla IV), lo que coincide con la baja capacidad de reclutamiento atribuida a esta especie (Dayton *et al.*, 1999). Sin embargo,

nuestros datos deben tomarse con cautela, ya que las tasas de esporulación pueden variar también entre poblaciones (p.e., *Macrocystis pyrifera*; Anderson y North, 1966), y dependiendo del método empleado. Estudios previos como los desarrollados por Anderson y North (1966) y Chapman (1984) han obtenido tasas teóricas de esporulación para diversas especies de laminariales a partir de cortes histológicos, contando esporangios y asumiendo 32 esporas por esporangio. Cabe destacar que otros estudios, incluido el presente, inducen la liberación de esporas mediante distintos estímulos de estrés en laboratorio. Esto genera una variabilidad significativa en la información disponible. Alsuwaiyan *et al.* (2019) destacan la necesidad de estandarizar protocolos y métodos empleados para estudiar las tasas de liberación de esporas, para mejorar la comparación de datos entre zonas, especies y estudios.

La germinación de esporas también fue variable a lo largo del periodo de estudio, a pesar de que este proceso también se indujo en laboratorio bajo condiciones estándar controladas ($T = 16^{\circ}\text{C}$ e incrementos graduales de irradiancia de 30, 60, 90, y $120 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Esto sugiere que la germinación de esporas puede venir condicionada por su metabolismo y contenido nutricional previos de acuerdo a las condiciones de factores ambientales en el medio natural de origen (Laeseke *et al.*, 2019). La composición bioquímica de *E. arborea* varía de manera estacional (Landa-Cansigno *et al.*, 2017), y ésta podría contribuir a favorecer o inhibir el desarrollo en la germinación. Por otra parte, Tala *et al.*, 2004 cuantificaron porcentajes de germinación máximos de hasta 80% en otoño para *Lessonia trabeculata*, estimulados por condiciones de elevadas temperatura e irradiancia. En

nuestro estudio, por el contrario, se encontró un menor porcentaje de germinación en invierno (21.8%), con temperaturas frías y baja disponibilidad de luz.

Cabe recordar que, en esta tesis, las tasas de liberación y de germinación de esporas se realizaron bajo controladas de laboratorio (*ex situ*). Se requieren estudios *in situ* para corroborar estos patrones del fenotipo reproductivo bajo las condiciones naturales de factores como la irradiancia, temperatura o nutrientes. La reciente aplicación de técnicas modernas como las basadas en el análisis de DNA ambiental ya ofrecen aproximaciones interesantes en la actualidad en bosques de kelp (Ward *et al.*, 2025).

El nitrógeno es uno de los componentes esenciales para estructuras vitales de las algas como el material genético, proteínas, aminoácidos, y otras biomoléculas esenciales para el desarrollo de los organismos. El contenido en nitrógeno se le relaciona directamente con el desarrollo del alga, y en ocasiones, con su capacidad reproductiva (Hurd *et al.*, 2014). Se sabe que la aparición de soros varía con el contenido de nitrógeno en los tejidos (Mizuta, *et al.*, 1998). En *Laminaria japonica* se ha encontrado que la aparición de soros está ligada al contenido de nitrógeno disponible en el medio, sugiriendo que los compuestos nitrogenados se transfieren a las zoosporas y que a pesar de la alta demanda de nitrógeno, lo que da lugar a la formación de soros es cuando la relación C:N es baja (Mizuta, *et al.*, 1998). Nuestros resultados no demostraron una variación estacional del contenido de N en soros de *E. arborea*, con intervalos entre (1.5 y 2%). Esto indica que el contenido de N en el soro no parece contribuir al fenotipo reproductivo. Por su parte el contenido de carbono se mantuvo alto durante todo el muestreo. No obstante, el contenido en

carbono total se incrementó en soros en primavera y verano, coincidiendo con la mayor disponibilidad de luz y el aumento de la temperatura de la columna de agua. En *E. arborea* y otras macroalgas, se ha relacionado un mayor contenido en carbono total con una mayor acumulación de compuestos de reserva (Hurd *et al.* 2014; *arborea* Landa- *et al.*, 2017), posiblemente estimulados por mayores tasas de fotosíntesis. Sin embargo, no encontramos una correlación entre el contenido en carbono y las distintas variables del fenotipo reproductivo. El contenido de N y de C de otros compartimentos vegetativos de la macroalga no se contempló en esta tesis, y se sabe que varía estacionalmente en láminas vegetativas (Placencia-Torres 2025). Se necesitan más estudios para comprobar si los nutrientes translocados de otros compartimentos hacia los tejidos reproductivos pudieran tener efectos sobre variables reproductivas.

Por último, es importante destacar que la mayoría de los estudios relacionados con el fenotipo reproductivo se han realizado en laboratorio (Tala, *et al.*, 2004) y se tiene poca comprensión sobre como dichos procesos ocurren en el medio natural (Joska y Bolton, 1987; Anderson y North, 1966). Por ejemplo, estudios realizados en mantos naturales han demostrado valores más bajos en la liberación de esporas que en los tejidos reproductivos manipulados en el laboratorio (Joska y Bolton, 1987). Esto enfatiza la necesidad de contemplar estudios futuros *in situ* que generen información más precisa sobre la dinámica de los procesos reproductivos bajo condiciones naturales.

9.2 Experimentos de inducción artificial de maduración de soros.

Existen precedentes que demuestran la posibilidad de inducir artificialmente la formación de tejido reproductivo en tejido vegetativo en macroalgas pardas del orden Laminariales (Liu, *et al.*, 2022; Praeger *et. al.*, 2022). En estos trabajos los tejidos reproductivos se indujeron bajo distintas condiciones experimentales de luz, temperatura y nutrientes, usando esporofitos completos, láminas completas, y discos extraídos de láminas. En esta tesis se manipularon los factores del fotoperiodo y la intensidad de irradiancia. Sin embargo, estos factores fueron ineficientes para inducir soros reproductivos partiendo de tejido vegetativo. Este patrón se observó tanto en láminas completas como en discos obtenidos de las frondas (Fig. 21, 22 y 23). Los soros pueden formarse bajo una gran variedad de condiciones bióticas y abióticas, sin embargo, en las algas Laminariales, el fotoperiodo y la temperatura juegan un papel fundamental. Cabe mencionar que en este trabajo se utilizó la misma temperatura en el desarrollo del experimento, lo que limita las observaciones que se obtuvieron, es recomendable en futuros trabajos la consideración de la variable temperatura como un estímulo potencial para la maduración del soro.

No obstante, estas variables no son las únicas que pueden contribuir a la formación de soros en las láminas. Las algas pardas regulan su transición de láminas vegetativas a láminas reproductivas por medio de fitohormonas como el ácido abscísico (ABA) y auxinas, cuya concentración varía con respecto al fotoperiodo y temperatura (Uji y Mizuta, 2022). Liu, *et al.*, (2023) utilizaron ABA para inducir a la aparición de soros en el alga de maduración tardía *S. japonica*. Los autores

documentaron que *S. japonica* logró ser inducida a la maduración por medio del control de variables, 17°C, 5 mg de NO₂-N L⁻¹, 0.5 mg de PO₄ L⁻¹, 10⁻⁶ mol L⁻¹ de ABA, irradiancia de entre 60-100 μmol fotones m⁻² s⁻¹ y fotoperiodo corto (8:16). Las condiciones de nuestros experimentos fueron distintas a éste, ya que usamos las condiciones a las que se suele cultivarse *E. arborea* en la región de Baja California, para asegurar el buen estado de los tejidos durante el proceso experimental de maduración (Zertuche-González *et al.*, 2022). Consideramos, por tanto, que la presencia de fitohormonas podría haber sido un factor clave en la aparición de estructuras reproductivas. No se han encontrado artículos en donde se utilicen hormonas para inducir a la maduración de *E. arborea* aun cuando también es un alga de maduración tardía. Aunque el diseño experimental se basó en Praeger, *et al.* (2022), que sugería una duración de 4 semanas, los resultados obtenidos no fueron los esperados. Por su parte, Liu *et al.*, (2022) reportó una duración de 52 días por lo que se propone que el experimento de cultivo debe tener una duración mayor a 4 semanas. Se debe considerar estos puntos para futuras pruebas de maduración en *E. arborea.*, especialmente en experimentos en maduración artificial en laminas

Praeger *et al.*, (2022) documentan cómo el compartimento vegetativo usado para experimentos de inducción de soros (lámina apical, lámina central o esporofito entero), puede ser determinante para la aparición de tejidos reproductivos. Liu *et al* (2022) consiguieron inducir tejido reproductivo en tejido de *S. japonica*. Como se ha comentado, nuestros tratamientos no indujeron soros ni en láminas vegetativas completas, ni en discos extraídos de ellas. Por ello, cabe resaltar que, en láminas

completas, bajo las condiciones experimentales de fotoperiodo 8:16 y $120 \mu\text{mol}$ fotones $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$, se observó la maduración de un soro inmaduro ya preexistente en la lámina. Este fue un resultado que anima a continuar con la manipulación de la irradiancia, en combinación con otras variables, para la consecución de la inducción de tejido reproductivo en *E. arborea*.

Nuestros resultados sugieren que el cultivo con discos no es una estrategia adecuada para *E. arborea* bajo las condiciones evaluadas, debido a la rápida degradación del tejido. Las láminas completas representan una mejor alternativa, como se evidenció por la maduración del soro preexistente.

La degradación observada en el experimento de maduración en discos antes de la semana 4 podría atribuirse a la falta de movimiento del cultivo. Praeger *et al.* (2022) indicaron que sus láminas apicales sobrevivieron durante 4 semanas en cultivo con agitación constante, lo que sugiere que el movimiento del agua es crucial para mantener la viabilidad del tejido. Por tanto, futuros experimentos deberían incorporar cultivo con volteo o agitación, diferentes irradiancias, múltiples temperaturas y la adición de hormonas como ABA, ya que esta combinación podría inducir la maduración del tejido de *E. arborea* de manera más eficiente

10. Conclusiones

10.1 Evolución estacional del fenotipo reproductivo de *E. arborea*

En el sitio de estudio, *E. arborea* exhibió siempre presencia de soros, que cubrieron entre el 20 y el 40 % de la superficie total de la lámina. No obstante, nuestros resultados confirman la hipótesis inicial de esta tesis, de que a pesar de que los esporofitos adultos de *E. arborea* presentan soros todo el año, existe una variación estacional del fenotipo reproductivo y de variables directamente relacionadas con la eficiencia de reproducción.

El mayor porcentaje de cobertura de soros por área de lámina se encontró en septiembre-noviembre 2023, lo que coincide con las menores tasas de germinación y liberación de esporas. Esto demuestra que la cobertura del soro no es un buen indicador de la eficiencia reproductiva de esta especie.

La tasa de liberación y de germinación de esporas, y el largo del esporangio, fueron los descriptores que más variación mostraron a lo largo del ciclo estacional. La tasa de liberación de esporas fue máxima en marzo 2023, y cinco veces mayor que la tasa registrada el resto del año. La tasa de liberación de esporas también coincidió con una elevada tasa de germinación. Esto podría estar relacionado con un mayor esfuerzo reproductivo a inicios de primavera, cuando las condiciones de irradiancia y disponibilidad de nutrientes pudieran favorecer el reclutamiento.

No se encontró una relación entre la tasa de liberación de esporas con la densidad de esporangios y el ancho de los mismos. Esto indica que otros factores ajenos a la ultraestructura del soro son los inductores de la mayor tasa de liberación, como por

ejemplo posibles señales metabólicas relacionadas con variables ambientales. Solo la mayor longitud de los esporangios (máxima en febrero 2023) pudiera ser un indicador que precede a la mayor capacidad reproductiva de *E. arborea*.

No se observó una correlación clara entre las tasas de liberación y de germinación de esporas con otros descriptores del fenotipo reproductivo o su contenido en C y N.

10.2 Inducción artificial de soros en láminas vegetativas de *E. arborea*.

Nuestros resultados rechazaron la hipótesis de este estudio que planteaba que era posible inducir artificialmente la aparición de soros en tejido vegetativo de *E. arborea* por la manipulación del fotoperiodo e intensidad de irradiancia.

Durante los experimentos se observó la degradación completa de los discos, mientras que las láminas completas mantuvieron su integridad. Además, una de las láminas completas en el tratamiento de $120 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y fotoperiodo 8:16 mostró la maduración de un soro incipiente presente en ella desde el inicio del experimento. Este resultado accidental sugiere que este tratamiento pudiese servir de partida para futuros experimentos de inducción de maduración de láminas vegetativas o soros inmaduros o bien, un diseño experimental más robusto. Sin duda, en estas futuras pruebas se deberían usar láminas completas, y no discos, mucho más sensibles a las condiciones de cultivo en laboratorio.

Se necesitan más experimentos que sigan poniendo a prueba la inducción de la maduración artificial de soros en *E. arborea*. Futuros experimentos deben

considerar, además de los fotoperiodos, distintos tratamientos de temperatura y nutrientes, así como el uso de hormonas como el ácido abscísico (ABA) y auxinas.

11. Bibliografía

- Abbot, J.A. y Hollenberg, G.J. (1976). "Marine Algae of California" Stamford University Press, Stanford. 827 pp.
- Almeida-Saá, A. C., Umanzor, S., Zertuche-González, J. A., Cruz-López, R., Ferreira-Arrieta, A., Rangel-Mendoza, L. K., and Sandoval-Gil, J. M. (2025). Comparative photophysiology and respiration of Kelp gametophytes reveals species-specific thermo-tolerance to marine heatwaves. *Marine Biology*, 172(5), 71.
- Alsuwaiyan, N. A., Mohring, M. B., Cambridge, M., Coleman, M. A., Kendrick, G. A., and Wernberg, T. (2019). A review of protocols for the experimental release of kelp (Laminariales) zoospores. *Ecology and Evolution*. doi:10.1002/ece3.5389
- Altamirano-Gomez, Z. (2017). Maricultivo de *Eisenia arborea* y *Macrocystis pyrifera* en Bahía Santa María, Baja California, México: validación de sitio.

[Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Baja California] Repositorio en línea UABC

- Arafeh-Dalmau N., Montaña-Moctezuma G, Martínez JA, Beas-Luna R, Schoeman DS and Torres-Moye G (2019) Extreme Marine Heatwaves Alter Kelp Forest Community Near Its Equatorward Distribution Limit. *Front. Mar. Sci.* 6:499. doi: 10.3389/fmars.2019.00499
- Arvizu, DL. (2007). Chemical constituents of *Eisenia arborea* (Areschoug) from Baja California Sur, México". *Invest. Mar., Valparaíso*, 35(2): 63-69
- Avila-Peltroche, J., Avalos, M. L., and Scholl Chirinos, J. (2024). Concise review of the kelp genus *Eisenia* Areschoug. *Journal of Applied Phycology*, 36(5), 2397-2416.
- Bartsch, I., Vogt, J., Pehlke, C., and Hanelt, D. (2013). Prevailing sea surface temperatures inhibit summer reproduction of the kelp *Laminaria digitata* at Helgoland (North Sea). *Journal of Phycology*, 49(6), 1061–1073. doi:10.1111/jpy.12125
- Beas-Luna and R., Ladah, L.B. (2014). Latitudinal, seasonal, and small-scale spatial differences of the giant Kelp, *Macrocystis pyrifera*, and an herbivore at their southern range limit in the northern hemisphere. *Marine Biology*, 161(4), 947–957. <https://doi.org/10.1007/s00227-014-2483-6>
- Bold, H. and Wynne, M.J. (1985). *Introduction to the Algae. Structure and Reproduction*. (2nd ed.). Prentice-Hall, Inc.,

- Callejas-Jiménez, M. E. (2007). Caracterización de *Eisenia arborea* Areschoug, 1876 (Laminariales, Phaeophyta) en tres diferentes sustratos dentro de Bahía San Quintín, Baja California, México. [Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Baja California] Repositorio en línea UABC
- Canales-López, B. (1999). Enzimas-algas: Posibilidades de su uso para estimular la producción agrícola y mejorar los suelos. *Terra Latinoamericana*, 17(3), 271-176
- Clare, T. S., and Herbst, C. C. (1938). The Life History of *Eisenia arborea*. *American Journal of Botany*, 25(7), 494–498. <https://doi.org/10.2307/2436676>
- CONABIO. (2022). Bosques de macroalgas. Biodiversidad de México. Recuperado del Sitio web: <https://www.biodiversidad.gob.mx/ecosistemas/bosqueMacroalgas>
- Dayton P.K., Tegner, M.J., Edwards, P. and Riser, K. (1999). Temporal and spatial scales of kelp demography: the real oceanographic climate. *Ecological monographs*. 69:(2), 29-250. [https://doi.org/10.1890/0012-9615\(1999\)069\[0219:TASSOK\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9615(1999)069[0219:TASSOK]2.0.CO;2).
- Duarte, C. M., Losada, I. J., Hendriks, I. E., Mazarrasa, I., and Marbà, N. (2013). The role of coastal plant communities for climate change mitigation and adaptation. *Nature Climate Change*, 3(11), 961–968. doi:10.1038/nclimate1970

- Edwards, M. S., and Hernandez-Carmona, G. (2005). Delayed recovery of giant kelp near its southern range limit in the North Pacific following El Niño. *Marine Biology*, 147, 273–279. <https://doi.org/10.1007/s00227-004-1548-7>
- Espinoza-Avalos, J., (2005). Fenología de macroalgas marinas. *Hidrobiológica*, 15(1), 109-122. ISSN: 0188-8897. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57815111>
- Hernández-Carmona, G., Riosmena-Rodríguez, R., Serviere-Zaragoza, E., and Ponce-Díaz, G. (2011). Effect of nutrient availability on understory algae during El Niño Southern Oscillation (ENSO) conditions in Central Pacific Baja California. *Journal of applied phycology*, 23(3), 635-642. <https://doi.org/10.1007/s10811-011-9656-5>
- Hernández-Velasco, A., Beas-Luna, R., Villaseñor-Derbez, J.C., Domínguez-Guerrero, I., Precora de la-Mora, M y Gómez-Gómez (2018). Los bosques sumergidos de México. CONABIO 2018. https://mex-cal.org/wp-content/uploads/2018/09/hernandez-Velasco_etal_2018.pdf
- Hollenberg, G. J. (1939). Culture studies of marine algae. I. *Eisenia arborea*. *American Journal of Botany*, 26(1), 34-41.
- Hurd, C. L., Harrison, P. J., Bischof, K., and Lobban, C. S. (2014). Seaweed ecology and physiology. *Cambridge University Press*. <https://doi.org/10.1017/CBO9781139192637>

- Espinoza-Avalos, J. (2005). Fenología de macroalgas marinas. *Hidrobiológica* 15 (1): 109-122.
- Joska, M. A. P. and Bolton, J. J. (1987). *In situ* measurement of zoospore release and seasonality of reproduction in *Ecklonia maxima* (Alariaceae, Laminariales), *British Phycological Journal*, 22(2), 209-214, <http://doi.org/10.1080/00071618700650251>
- Kakinuma, M., and Kawai, H. (2006). Relationship between nitrogen content and sorus formation in the brown alga *Laminaria japonica* cultivated in southern Hokkaido, Japan. *Journal of Applied Phycology*, 18(3–5), 345–349. <https://doi.org/10.1007/s10811-006-9028-9>
- Ladah, L.B., Filonov, A., Lavín M, Leichter J, Zertuche-González, J. and Pérez-Mayorga, D. (2012). Cross shelf transport of sub-thermocline nitrate by the internal tide and rapid (3-6 h) incorporation by an inshore macroalga. *Continental Shelf search*. 42,10-19. <https://doi.org/10.1016/j.csr.2012.03.010>
- Ladah, L. B., Zertuche-González, J. A., and Hernández-Carmona, G. (1999). Giant kelp (*Macrocystis pyrifera*, Phaeophyceae) recruitment near its southern limit in Baja California after mass disappearance during ENSO 1997–1998. *Journal of Phycology*, 35(6), 1106-1112.
- Laeseke, Philipp, Inka Bartsch, and Kai Bischof. (2019). Effects of kelp canopy on underwater light climate and viability of brown algal spores in Kongsfjorden (Spitsbergen). *Polar Biology* 42(8), 1511-27. <https://doi.org/10.1007/s00300-019-02537-w>.

- Landa-Cansigno, C., Hernández-Carmona, G., Arvizu-Higuera, D.L., Muñoz-Ochoa, M., and Hernández-Guerrero, C.J. (2017). Bimonthly variation in the chemical composition and biological activity of the brown seaweed *Eisenia arborea* (Laminariales: Ochrophyta) from Bahía Magdalena, Baja California Sur, Mexico. *Journal of Applied Phycology*, 29(3),1361-1371. <http://doi.org/10.1007/s10811-017-1195-2>
- Li, J., and Song, L. (2007). Applicability of the MTT assay for measuring viability of cyanobacteria and algae, specifically for *Microcystis aeruginosa* (Chroococcales, Cyanobacteria). *Phycologia*, 46(5), 593–599. <https://doi.org/10.2216/07-11.1>
- Le, D.M., Desmond, M.J., Pritchard, D.W. and Hepburn, C.D. (2022). Effect of temperature on sporulation and spore development of giant kelp (*Macrocystis pyrifera*). *PLoS ONE* 17(12), e0278268. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0278268>
- Liu, Y., Liang, Z., Zhang, P., Yuan, Y., Wu, Y., Zhang, D., and Liu, F. (2023). Sorus developmental biology of hybrid cultivar in *Saccharina japonica*: Environmental and endogenous regulation. *Aquaculture*, 565, 739165.
- Lüning, K., and Dieck, I.T. (1989). *Environmental Triggers in Algal Seasonality*. *Botanica Marina*, 32(5). 365-370. <https://doi.org/10.1515/botm.1989.32.5.3>.
- Matson, P.G, y Edwards, M. (2007). Efectos de la temperatura del océano en los límites del rango sur de dos algas del sotobosque, *Pterygophora*

californica y *Eisenia arborea*, en múltiples etapas de vida. *Marine Biology*. 151, 1941–1949. <https://doi.org/10.1007/s00227-007-0630-3>

- Mendoza-Almanza, B.D. (2014). Análisis genético y morfológico de *Eisenia arborea* Areschoug en la costa Pacífico de la Península de Baja California. [Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Baja].
- Mizuta, H., Hayasaki, J., and Yamamoto, H. (1998). Relationship between nitrogen content and sorus formation in the brown alga laminaria japonica cultivated in southern Hokkaido, Japan. *Fisheries Science*. 64, 909–913. <https://doi.org/10.2331/fishsci.64.909>
- Mohring, M. B., Wernberg, T., Kendrick, G. A., and Rule, M. J. (2013). Reproductive synchrony in a habitat-forming kelp and its relationship with environmental conditions. *Marine Biology*, 160(1), 119–126. <https://doi.org/10.1007/s00227-012-2068-5>
- Muth, A.F., Graham, M.H., Lane, C.E., and Harley, C.D.G. (2019). Recruitment tolerance to increased temperature present across multiple Kelp clades. *Ecology*. 100(3) Article e02594. <https://doi.org/10.1002/ecy.2594>
- Nimura, K., Takatsuji, H., Masuda, S. and Shimamoto, J. (2007). Growth and maturation of *Ecklonia cava* and *Eisenia arborea* seedlings transplanted along the coast of Hainan, Shizuoka Prefecture, and the grazing caused by herbivorous fish *Siganus fuscescens*. *Aquaculture Science*, 55(4), 541-546.
- Parada-Sánchez, G. M., Riosmena-Rodríguez, R., Martínez, E. A. y Hernández-Carmona, G. (2009). Dinámica poblacional de *Eisenia arborea*

Areschoug (Laminariales: Ochrophyta) en el intermareal de Punto Eugenia, Baja California Sur, México. *Ciencia y Mar*. 13(39): 3-13.

- Pérez-García, J.M., (2015). Condiciones óptimas de temperatura e irradiancia para el crecimiento de esporofitos juveniles de *Eisenia arborea* (Areschoug, 1879) y su capacidad de recuperación bajo condiciones de estrés térmico. [Tesis de Maestría, Universidad Autónoma de Baja California]. Repositorio institucional UABC.
- Peteiro, C., Cortés, B., Arroyo, N. L., García-Tasende, M., Vergés, A., y Martínez, B. (2014). Bancos de algas para conservar los bosques de laminarias. [Informe técnico]. Recuperado de: https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/52509696/Quercus_Peteiro-libre.pdf
- Placencia-Torres, I. (2025). Comparación de la ecofisiología de las láminas jóvenes y maduras del kelp *Eisenia arborea* en un ciclo estacional [Tesis inédita de maestría, Universidad Autónoma de Baja California].
Nota: Esta tesis está en proceso de aprobación y publicación.
- Praeger, C., Magnusson, M.E. and Lawton, R.J. (2022). Successful initiation of sorus formation and viable zoospores in *Ecklonia radiata* on isolated lateral fronds under hatchery conditions. *Journal of Applied Phycology*. <https://doi.org/10.1007/s10811-022-02894-w>
- Reed, D. C., Ebeling, A. W., Anderson, T. W., and Anghera, M. (1996). Differential Reproductive Responses to Fluctuating Resources in Two

Seaweeds with Different Reproductive Strategies. *Ecology*, 77(1), 300–316.
doi:10.2307/2265679.

- Sánchez-Medina, R. (2008) Descripción de la historia de vida y desarrollo de *Eisenia arborea* Areschoug (Phaeophyta, Laminariales) bajo condiciones de laboratorio. [Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma de Baja California.
- Schults, C.T. and Herbots, C.C. (1938). The life history of *Eisenia arborea*. *American Journal of Botany*. 25, 494-498.
- Smale, D.A. (2020). Impacts of ocean warming on kelp forest ecosystems. Vol. 225, *New Phytologist*. 1447–54. <https://doi.org/10.1111/nph.16107> PMID: 31400287.
- Spalding, H., Foster, M. S., and Heine, J. N. (2003). Composition, distribution, and abundance of deep-water (>30 m) macroalgae in central California. *Journal of Phycology*, 39(2), 273–284. doi:10.1046/j.1529-8817.2003.02010.x.
- Steneck, R., Graham, M., Bourque, B., Corbett, D., Erlandson, J. and Estes, J. (2002). Kelp Forest Ecosystems: Biodiversity, Stability, Resilience and Future. *Environmental Conservation*. 29. 436-459. 10.1017/S0376892902000322.
- Tala, F., Edding, M. and Vasquez, J. (2004). Aspects of the reproductive phenology of *Lessonia trabeculata* (Laminariales: Phaeophyceae) from three populations in northern Chile. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 38, 255–266.

- Tapia-Vázquez, O. M., Montes-Pérez, M. I., Rodarte-Venegas, D. y Inda-Presichi, E. A. (2012). *Manual para el curso teórico práctico de histología y biología del desarrollo*. Universidad Autónoma de Baja California, Facultad de Ciencias. <https://ciencias.ens.uabc.mx/documentos/manuales/MANUAL%20Histologia%20y%20Embriologia.pdf>
- Tseng, C. K. (1987). *Laminaria mariculture in Chin (FAO Fisheries Technical Paper)*. Food and Agriculture Organization and the United Nations.
- Uji, T., and Mizuta, H. (2022). The role of plant hormones on the reproductive success of red and brown algae. *Frontiers in Plant Scienc.* 13, 1019334. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1019334>
- Universidad Arturo Prat. (2021). *Manual de cultivo de macroalgas pardas*. Sembrando el Mar. https://sembrandoelmar.cl/web/wp-content/uploads/2021/02/manual_cultivo_pardas_UArturo_Pratt.pdf
- Universidad Autónoma de Baja California. (s.f.). *Manual de histología y embriología*. Facultad de Ciencias. <https://ciencias.ens.uabc.mx/documentos/manuales/MANUAL%20Histologia%20y%20Embriologia.pdf>
- Universidad Autónoma de Baja California (2022). *Manual de Prácticas de Laboratorio de [Biotecnología de Macroalgas]*. Universidad Autónoma de Baja California

- Van Patten, M. S., and Yarish, C. (1993). Allocation of blade surface to reproduction in *Laminaria longicuris* of Long Island Sound (USA). J. W. Wright and C. E. O. Nielsen (Eds.), *Ecology of Marine Benthos* (pp. 173-181). Springer. https://doi.org/10.1007/978-94-011-1998-6_21
- Veenhof, R. J., Champion, C., Dworjanyn, S. A., Wernberg, T., Minne, A. J. P., Layton, C., Bolton, J. J., Reed, D. C., and Coleman, M. A. (2022). Kelp gametophytes in changing oceans. In S. J. Hawkins, A. J. Lemasson, A. L. Allcock, A. E. Bates, M. Byrne, A. J. Evans, L. B. Firth, C. H. Lucas, E. M. Marzinelli, P. J. Mumby, B. D. Russell, J. Sharples, I. P. Smith, S. E. Swearer, & P. A. Todd (Eds.), *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review* (Vol. 60, pp. 335-371). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781003288602-7>
- Wade, R., Augyte, S., Harden, M., Nuzhdin, S., Yarish, C. and Alberto, F. (2020) Macroalgal germplasm banking for conservation, food security, and industry. *PLoS Biology* 18(2): e3000641. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000641>
- Ward, M. R., Burridge, C. P., McCammon, S., Smolenski, A., Hurd, C. L., and Visch, W. (2025). Applications of environmental DNA monitoring for seaweed reproductive phenology: A case study with giant kelp (*Macrocystis pyrifera*). *Journal of Phycology*, 61(2), 288-298.
- Zertuche-González, J.A., Sánchez-Barredo, M., Guzmán-Calderón, J., Altamirano-Gómez, Z. (2013). *Eisenia arborea* JE areschoug como dieta de

abulón en una granja del IMTA en Baja California, México. *Journal of Applied Phycology*. 26, 957–960. doi: 10.1007/s10811-013-0138-9

- Zertuche-González, J. A., Sandoval-Gil, J. M., Sánchez-Barredo, M., Altamirano-Gómez, Z., Guzmán-Calderón, J. M., Rangel-Mendoza, L. K., ... and Yarish, C. (2022). *Eisenia arborea* (Areschoung) domestication and mariculture development on the Pacific coast of Baja California, Mexico. *Frontiers in Marine Science*, 9, 932534.

12. Anexos

Anexo I. Liberación de esporas de algas del orden Laminarial.

ESPECIE	Esporas/cm²	Bibliografía
<i>Nereocystis luetkeana</i>	2.97x10 ⁷	Scagel (1961)
<i>Laminaria hyperborea</i>	4.7x10 ⁷	Kain (1975)
<i>Macrocystis pyrifera</i>	3.5x10 ⁷	Anderson y North (1966)
<i>Laminaria digitata</i>	0.83x10 ⁷	Chapman (1984)
<i>Laminaria longicuris</i>	1.13x10 ⁷	Chapman (1984)
<i>Ecklonia maxima</i>	2.59x10 ⁷	Joska y Bolton (1987)
<i>Lessonia trabeculata</i>	1.6x10 ⁶	Tala <i>et al.</i> , (2004)
<i>Ecklonia radiata</i>	2.8x10 ⁵	Mohring <i>et al.</i> , (2013)
<i>E. arborea</i>	1.96x10 ⁵	Este estudio