

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS



Fotoaclimatación y fotoprotección a corto plazo de esporofitos juveniles de *Macrocystis pyrifera* bajo condiciones de alta irradiancia durante su cultivo en aguas someras

TESIS

QUE PARA CUBRIR LOS REQUISITOS PARA OBTENER EL GRADO
DE

LICENCIADA EN BIOTECNOLOGÍA EN ACUACULTURA

PRESENTA

MARY MAR RAMIREZ GARCIA

ENSENADA, BAJA CALIFORNIA, MÉXICO, JUNIO DE 2019

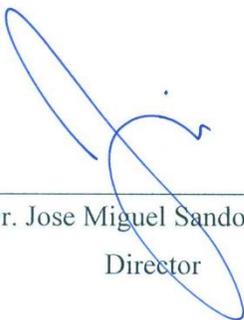
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS

**Fotoaclimatación y fotoprotección a corto plazo de esporofitos juveniles
de *Macrocystis pyrifera* bajo condiciones de alta irradiancia durante su
cultivo en aguas someras**

TESIS
QUE PARA CUBRIR LOS REQUISITOS PARA OBTENER EL GRADO DE
LICENCIADA EN BIOTECNOLOGÍA EN ACUACULTURA

PRESENTA
MARY MAR RAMIREZ GARCIA

Aprobado por:
Comité de Tesis



Dr. Jose Miguel Sandoval Gil
Director



Dra. Schery Umanzor
Co. Directora



Dr. José Antonio Zertuche González
Sinodal

Me lo contaron y lo olvidé

Lo vi y lo entendí

Lo hice y lo aprendí

(Confucio. Filósofo chino. 551-479 a.C)

DEDICATORIA

Marco Andrés Ramírez Villavicencio

Por las enseñanzas que cada día me das. Por tus anécdotas inigualables de piratas y orcas. Por ser la persona que me ha enseñado el verdadero significado de la palabra "humildad" y por darme cada lección de paciencia. Gracias Papá.

Ma. Luisa García Quintero

Por quererme tanto y mostrarlo en cada acción que tienes hacia mí. Por ser más fuerte que cualquier situación adversa y por cada vez que me dijiste "te quiero ver triunfar". Palabras que inspiran madre mía.

Brisa Andrea Ramírez García

Por ser una mujer inteligente y creativa que me motiva a sacar siempre lo mejor de mí. Por ser un ejemplo de superación, y por enseñarme que las barreras, solo son mentales.

Mary Sol Ramírez García

Por permanecer siempre a mi lado, apoyándome a toda costa. Por ser la "Rats", y porque contigo, tengo a mi mejor amiga.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma de Baja California, por otorgarme la hermosa carrera que he finalizado.

A la Facultad de Ciencias Marinas, por brindarme una segunda casa, por enseñarme que el que busca, encuentra, pero sobre todo, por brindarme la oportunidad de aprender a aprender.

Al laboratorio de Botánica Marina del Instituto de Investigaciones Oceanológicas, por enseñarme lo que realmente es la ciencia, lo que vale el conocimiento y lo que en verdad son los buenos compañeros de trabajo.

A la fundación "Rufford" por el proyecto "Restoration of the Giant kelp, *Macrocystis pyrifera* in Baja California, México", porque sin él, jamás se hubiera realizado esta tesis.

Al proyecto "Physiological Responses and Growth of the Seaweed *Ulva* sp. Under changing Cultivation Conditions in Pilot Land-based Ponds" por financiar equipos tan sofisticados y de difícil comprensión.

A mi director, Dr. Jose Miguel Sandoval Gil, por contagiarme de esa necesidad de ser curiosa ante la ciencia, por ser paciente conmigo en todo momento, por brindarme palabras tan sinceras y por ofrecer una buena amistad durante este recorrido. ¡Salud!

A mi co-directora, Dra. Schery Umazör, por su gran apoyo en todo momento, sus comentarios tan acertados y sobre todo, por creer en mí y aceptarme como su estudiante aún a pesar de la distancia y el trabajo.

A mi sinodal, Dr. José Antonio Zertuche González, por ser mi mentor en el ámbito profesional, por cada comentario que hizo para la realización de esta tesis y por ese buen pozole verde que nunca olvidaré.

A todo el equipo de Botánica Marina, porque sin dudar algunas puedo decir que apoyaron más de lo que creen en esta tesis. A Steph Revilla, Laura Rangel, Alejandra Maldonado, Edith Peralta, Mariana Sánchez, Héctor Sarabia, Fernando Castillo, Sandra Huertas y Mafer Figueroa. Que gran equipo hicimos.

A quienes me apoyaron en campo, a cada buzo y a cada pescador, que si bien, no me acuerdo de todos los nombres, me acuerdo perfectamente de sus caras y de cada aliento de ánimo que me dieron para poder comenzar esta travesía.

Al laboratorio de Recursos Botánicos de la Universidad Católica del Norte en Coquimbo, Chile, especialmente a la Marce y al David, por abrirme las puertas no solo del laboratorio, sino que además, de sus casas. Gracias por enseñarme el verdadero potencial de las algas.

Por último, pero no menos importante, a mis amigos, que estuvieron conmigo desde un inicio, luchando conmigo contra matemáticas, a excepción de Lalo Ashida, él es un genio. A Carolina Félix, Génesis León, Eliot De la Cruz, Zain Torres, Albert-Gazo, Mariana Salinas, Mariana Ruiz, y por supuesto, a mi buen amigo el genio.

ÍNDICE

Dedicatoria	I
Agradecimientos	II
1. Introducción	1
2. Hipótesis	5
3. Objetivo	5
4. Materiales y métodos.....	5
4.1. Zona de estudio	5
4.2. Colecta de juveniles, cultivo y diseño experimental	7
4.3. Descriptores fisiológicos	10
4.3.1 Fotosíntesis y respiración	10
4.3.2 Fluorescencia de la clorofila a	10
4.3.3 Propiedades bio-ópticas de la lámina	11
4.3.4 Contenido de pigmentos	12
4.3.5 Contenido de nitrógeno y carbohidratos solubles	12
4.3.6 Peroxidación lipídica	13
4.3.7 Contenido fenólico total	13
4.3.8 Capacidad antioxidante	13
5. Análisis estadístico	14
6. Resultados	14
7. Discusión	24
8. Conclusiones	28
Referencias	29

LISTA DE FIGURAS

Fig. 1 Mapa de macro localización.....	6
Fig. 2 Esporofitos juveniles.....	8
Fig. 3 Unidades de flotación	8
Fig. 4 Parámetros extraídos de Curvas P vs E.....	17
Fig. 5 Parámetros extraídos de fluorescencia de la Clorofila a.....	18
Fig. 6 Propiedades ópticas y contenido de pigmentos fotosintéticos.	20

LISTA DE TABLAS

Tabla 1 Estado fisiológico inicial.	15
Tabla 2 Nitrógeno total y carbohidratos solubles.	21
Tabla 3 Estrés oxidativo.	21
Tabla 4 Análisis estadístico	22

1. INTRODUCCIÓN

El ‘‘Sargazo gigante’’ *Macrocystis pyrifera* es un alga parda catalogada como uno de los organismos con mayor tasa de crecimiento en el mundo. Típicamente, *M. pyrifera* habita en submareales rocosos en zonas templadas donde la temperatura media del agua es inferior a 20°C, y crea densos bosques (también conocidos como ‘‘mantos’’) que pueden llegar hasta una profundidad de 30-40 m (Foster & Schiel, 1985; North *et al.*, 1986). Estos densos mantos se distribuyen en el continente Americano desde el norte de California (EUA) hasta Bahía Asunción, Baja California (México) (Dayton 1985) en el Pacífico Norte y desde el sur de Perú hasta Cabo de Hornos (Chile) en el Pacífico Sur (Buschmann *et al.* 2004, Plana *et al.* 2007). *Macrocystis pyrifera* es una especie ‘fundadora’ e ‘ingeniera de ecosistema’ cuya complejidad estructural, en conjunto con la densidad de sus bosques, modifican su entorno influyendo drásticamente en el desarrollo, distribución y permanencia de una gran variedad de organismos marinos bentónicos y pelágicos (Foster & Schiel 1985, Graham *et al.* 2007, Torres-Moye & Edwards 2013). Los bosques de *M. pyrifera* proporcionan un lugar de reproducción, refugio y alimentación tanto para organismos exclusivamente marinos como organismos asociados como algunas aves (Bradley & Bradley 1993). Además de su relevancia ecológica, *M. pyrifera* también es un alga con importancia comercial. Sus usos abarcan desde forraje para ganado vacuno hasta materia prima como el fertilizante agrícola (Montoya *et al.* 2018). También existe una industria asociada a la extracción de sus alginatos. Estos polisacáridos son empleados ampliamente en la industria farmacéutica, alimentaria, textil, médica y dental (Hernández-Carmona *et al.* 2012). Aún más, actualmente en la costa Oeste de Estados Unidos se encuentra en marcha un proyecto ambicioso que pretende cultivar miles de hectáreas de *M. pyrifera* con fines de producir biocombustibles (MARINER, 2017). Por otro lado, en la Península de Baja California, *M. pyrifera* solo se aprovecha a partir de biomasa recolectada de mantos naturales (Casas-Valdez *et al.*, 2011). Actualmente, hay un incremento en la demanda de algas, principalmente con la finalidad de obtener alginatos o bien, para desarrollar alimentos para especies acuícolas, por ejemplo, para el abulón y el camarón (Cruz-Suárez *et al.* 2000, Durazo-Beltrán *et al.* 2003, Zertuche-González *et al.* 2014, Montoya *et al.* 2018). Debido a la creciente demanda comercial de *M. pyrifera*, varios mantos naturales de la región ya se encuentran bajo permisos de extracción (Schiener *et al.* 2014).

Esta dependencia en los mantos naturales para satisfacer la demanda industrial aumenta la vulnerabilidad de esta pesquería sujeta a la estacionalidad del alga. Anomalías oceanográficas como aumentos en la temperatura del agua así como la disminución de los nutrientes disponibles afectan de forma negativa a los bosques de *M. pyrifera*. Por ende, las fluctuaciones ambientales típicas de las estaciones pueden repercutir en el estado nutricional del alga y en la disponibilidad de biomasa. La pesquería *M. pyrifera* resulta especialmente afectada durante años con influencia de El Niño cuando las temperaturas del mar pueden aumentar hasta niveles letales para *M. pyrifera* (Rodríguez-Montesinos & Hernández-Carmona 1991, Ladah & Zertuche-González 2004, Casas-Valdez *et al.* 2011). Por ejemplo, durante el 2014 (año "Niño") se registró una disminución superior al 90% en la cosecha de *M. pyrifera*, pasando de un promedio de 26,000 entre 1958 y 2004 a un promedio de 1,652 toneladas (Guzmán del Prío, 1993; CONAPESCA, 2019). Como resultado, se han realizado investigaciones que proponen el cultivo de *M. pyrifera* como alternativa para mitigar las limitaciones en la disponibilidad de biomasa, ya sea reemplazando o complementando la explotación de los mantos naturales.

En un estudio realizado en Bahía Santa María (B.C.) se demostró la posibilidad de implementar el cultivo de *M. pyrifera* en Baja California (Altamirano-Gómez 2017). Sin embargo, los resultados aún son poco concluyentes y precisan de más investigación que permita optimizar su producción en el mar. Entre los principales desafíos que presenta el cultivo de macroalgas en el mar destaca la selección de sitio para el cultivo. Distintas investigaciones han ayudado a comprender los factores clave que condicionan el rendimiento de *M. pyrifera* en cultivo. Por ejemplo, factores biológicos como la presencia de herbívoros y epifitos influyen en el rendimiento y crecimiento del alga (Rothäusler *et al.*, 2011; Poore *et al.*, 2014; Graiff *et al.*, 2016; Winkler *et al.*, 2017). Por otro lado, condiciones climatológicas y oceanográficas, como la intensidad de las corrientes y el oleaje, también contribuyen a variaciones en su productividad (North *et al.* 1986). La atenuación de luz en el gradiente batimétrico, así como las condiciones de turbidez también son factores determinantes en el cultivo de macroalgas en mar (Shivji 1985). Por tanto, la selección adecuada de la zona de cultivo es fundamental y determina en gran medida el éxito del maricultivo.

La disponibilidad de luz y turbidez, ambos de particular interés en este estudio, influyen directamente en el desempeño de la productividad fotosintética y por ende, en la productividad de las algas. De forma general, lo ideal es que las condiciones de luz sean óptimas para la fotosíntesis de las algas en cultivo (p.e., más horas de saturación fotosintética por día), aunque dichos óptimos de irradiancia presentan una elevada variabilidad inter e intraespecífica (Fei & Neushul 1984). La disponibilidad de luz cambia también de manera estacional (Kirk 1994), limitando la productividad de las algas cuando los requerimientos de luz para el crecimiento no son satisfechos (Gerard 1986). Otros eventos como tormentas, pueden propiciar la resuspensión de sedimentos y el incremento de la turbidez. En Baja California los eventos de turbidez pueden disminuir los valores de luz hasta $<1 \text{ mol quanta m}^{-2} \text{ día}^{-1}$ durante días o semanas en praderas de pastos marinos, afectando a su crecimiento y supervivencia (Koch & Beer 1996, Cabello-Pasini *et al.* 2002). Durante su cultivo, las algas también pueden estar expuestas a condiciones subóptimas de luz por efecto de auto-sombreado de la biomasa (McLachlan, 1991; Cremades *et al.*, 2007).

La profundidad a la que crecen las algas en el medio natural no es necesariamente la profundidad ideal para el cultivo comercial. El aumento de la profundidad ofrece una desventaja operativa en el despliegue, monitoreo del cultivo y cosecha de la biomasa. Por ende, la posibilidad de cultivar individuos juveniles en aguas poco profundas, similar a operaciones de cultivo en Chile (Camus *et al.* 2019), podría presentarse como una solución a algunas de las restricciones asociadas con el cultivo y el establecimiento de los esporofitos juveniles en Baja California. En esa región, *M. pyrifera* crece típicamente hasta una profundidad de 7-15 m, de forma similar a lo reportado en Chile y EUA (Westermeier & Moller, 1990; Buschmann, 1992; Graham *et al.*, 2007). Similar a los cultivos que se desarrollan de esta especie en Chile, los trasplantes de juveniles a una profundidad más superficial puede proponer una solución a las restricciones asociadas a los cultivos más profundos (Gutierrez *et al.* 2006; Celis Pla & Alveal 2012).

A pesar de incrementar la disponibilidad de luz, el trasplantar juveniles de *M. pyrifera* de aguas profundas a aguas más someras puede conllevar efectos negativos en el metabolismo del alga relacionadas con la sobre-exposición a luz solar, con temperaturas altas o escasez de nutrientes por

encima de la termoclina, además de daños mecánicos debido a la acción de las olas (Seymour *et al.*, 1989). Se ha documentado que las láminas de los esporofitos adultos creciendo a distintas profundidades son capaces de aclimatarse a diferentes condiciones de luz a corto y largo plazo mediante diferentes procesos entre los que se incluyen los cambios en el contenido de pigmentos, regulación de la fotosíntesis y cambios en las propiedades bio-ópticas del tejido (Wheeler, 1980; Colombo-Pallotta *et al.*, 2006; García-Mendoza & Colombo-Pallotta, 2007; Edwards & Kim, 2010; Xu *et al.*, 2015; Koch *et al.*, 2016; Marambio *et al.*, 2017). El estrés fisiológico debido a la exposición a altas irradiancias es un aspecto muy poco estudiado en comparación con las condiciones de limitación por luz, y los estudios que existen se limitan generalmente a especies que habitan el intermareal (Huppertz *et al.* 1990). A diferencia de plantas adultas, existe poca o nula información acerca de las propiedades de foto-aclimatación de esporófitos juveniles de *M. pyrifera*, y más aún, de las alteraciones fisiológicas que podría ocasionar la exposición a irradiancias cercanas a la superficie de la columna de agua.

El objetivo de este trabajo fue de determinar si esporofitos juveniles (<10 cm) de *M. pyrifera* pueden aclimatarse a una dosis lumínica aproximadamente 4.5 veces mayor cuando son trasplantados de 10 m a aguas someras (3 m) en un sistema de cultivo. Después de 7 días de cultivo experimental, se evaluaron sus capacidades de fotoaclimatación mediante el análisis de rendimiento fotosintético y capacidad de capturar luz. Además de ello, también se analizó el contenido de nutrientes (nitrógeno total y carbohidratos solubles) y distintos componentes de estrés oxidativo y sistema antioxidante para evaluar el estado fisiológico de los esporofitos.

2. HIPÓTESIS

Esporofitos juveniles de *M. pyrifera* trasplantados en cultivo de 10 a 3 m de profundidad podrán aclimatarse a un incremento a corto plazo de 4.5 veces la dosis de luz disponible.

3. OBJETIVO

Evaluar la tolerancia fisiológica que permitiría cultivar esporofitos juveniles de *M. pyrifera* en aguas relativamente someras donde la dosis lumínica puede ser de hasta 4.5 veces mayor que la disponible en su zona de crecimiento natural.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. ZONA DE ESTUDIO

El experimento se llevó a cabo en Punta San Miguel (31° 54' 3.81'' N; 116° 44' 22.90'' W), localizada en la sección norte de la Bahía Todos Santos, Baja California (México) durante primavera de 2018 (Fig. 1). La zona de estudio se caracteriza por estar medianamente protegida del oleaje, contar con sustrato predominante de tipo arenoso y desprovisto de mantos natural de *M. pyrifera*.



Fig. 1 Mapa de macro localización de Punta San Miguel (Tomada de Paz-Lacavex, 2018).

4.2. COLECTA DE JUVENILES, CULTIVO Y DISEÑO EXPERIMENTAL

La colecta de 192 esporofitos juveniles (7-10 cm) de *M. pyrifera* se realizó mediante buceo autónomo a una profundidad de 9-11 m en un manto ubicado a 1 km NO de la zona experimental (Faro de San Miguel). Se recolectaron individuos completos (crampón incluido), sin signos de herbivoría, daño mecánico y cuya lámina aún no mostrara la primera bifurcación. Durante la colecta, los juveniles se resguardaron en bolsas de plástico oscuras para prevenir la sobreexposición a la luz solar. Inmediatamente tras la recolección, los esporofitos juveniles se colocaron dentro de hieleras con agua de mar y se transportaron (plazo de 1 hora) al laboratorio de Botánica Marina del Instituto de Investigaciones Oceanológicas de la Universidad Autónoma de Baja California.

Los juveniles fueron colocados en un tanque de 1000 L con agua de mar, aireación, y bajo condiciones controladas de temperatura e irradiancia (14-16°C; 70-80 μmol fotones $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$), similares a las condiciones de campo durante la colecta. Además, el agua del tanque se fertilizó con NH_4NO_3 a una concentración de 50 μM , a las 10 y 60 h luego de la colecta con el fin de evitar un potencial estrés fisiológico asociado a limitaciones de nitrógeno. Antes de trasladar a los esporofitos juveniles a la zona de estudio, estos fueron trasplantados a cuerdas de polipropileno siguiendo el método descrito por Umanzor et al. (2017) (Fig 2). Cuatro esporofitos fueron trasplantados a una cuerda de 36 cm de largo, seguido, cuatro cuerdas como las antes mencionadas fueron colocadas en mallas de plástico (36 x 30 cm), obteniendo un total de 16 esporofitos juveniles por malla. Cada malla fue considerada como una unidad experimental, a su vez, cada unidad experimental se sujetó a una botella de plástico que funciono como boya (Fig. 3; Unidad de flotación). Las unidades de flotación se instalaron en módulos previamente instalados en la zona de estudio. Estos módulos consistieron en camas rectangulares de metal anclados al sustrato.

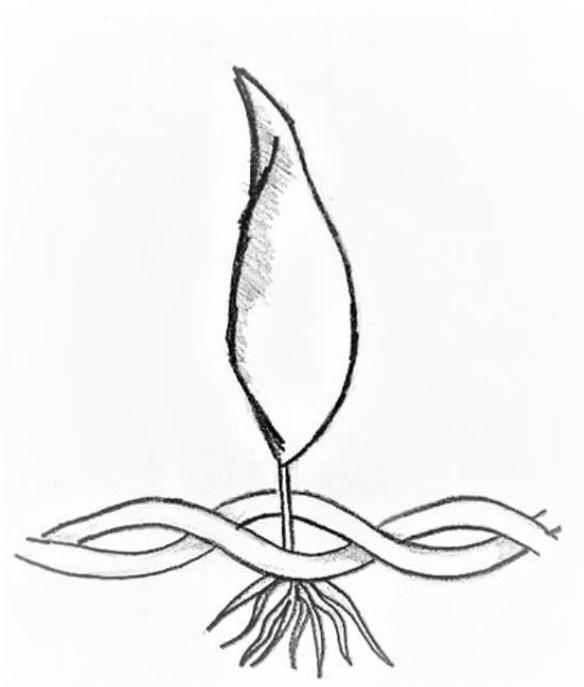


Fig. 2 Esporofitos juveniles trasplantados a cuerdas de polipropileno.



Fig. 3 Unidades de flotación diseñadas *ad hoc* para el cultivo experimental de juveniles *M. pyrifera* a 3 y 10 m de profundidad.

Las unidades de flotación se colocaron en los módulos a 10 m de profundidad donde permanecieron por tres días con la finalidad de obtener un estado fisiológico homogéneo previo a los tratamientos. Tras dicho periodo, se colectó una unidad de flotación por módulo ($n = 4$; Tabla 1) y se transportaron al laboratorio donde se midieron los descriptores fisiológicos (ver abajo). En el mismo día, una unidad de flotación por módulo se colocó a una profundidad de 3 m, mientras que la otra permaneció a la profundidad de 10 m ($n = 4$). El periodo experimental fue de siete días. Al término de dicho periodo, los esporofitos fueron transportados al laboratorio para la medición del estado fisiológico final.

La temperatura del agua a 3 y 10 m se registró cada 20 minutos utilizando sensores sumergibles (HOBO Pro V2). Durante los siete días experimentales, los vientos del noroeste causaron que la columna de agua se mezclara, obteniendo temperaturas similares entre ambas profundidades (3 m = $13.7 \pm 0.1^\circ\text{C}$; 10 m = $13.04 \pm 0.05^\circ\text{C}$). Esta condición ambiental nos permitió examinar el efecto de la disponibilidad de luz en las dos diferentes profundidades, minimizando el efecto que se pudiera ocasionar derivado de otros factores ambientales, p.e. la temperatura. Se hicieron perfiles de luz mediante el uso de un irradiómetro esférico (4π) (LICOR A-250 y LI-193) con la finalidad de obtener la intensidad de luz. El promedio de dosis lumínica diaria fue de $8.6 (\pm 0.2)$ mol fotones $\text{m}^{-2} \text{día}^{-1}$, mientras que a los 10 m fue de $1.81 (\pm 0.04)$ mol fotones $\text{m}^{-2} \text{día}^{-1}$. El coeficiente de atenuación de luz calculado (K_d) fue de $0.28 (\pm 0.04) \text{m}^{-1}$.

Tras el periodo experimental, los juveniles fueron colectados y mantenidos en incubadores (VWR, modelo 2015 2015-2) en total oscuridad, y a la misma temperatura que se encontraban en el mar. Excepto por las Curvas P vs. E, todos los descriptores fisiológicos se midieron en dos juveniles por módulo y por profundidad; por lo tanto, los valores de las dos mediciones se consideraron pseudorréplicas y para obtener un valor real de la réplica, se promediaron ambas mediciones.

4.3. DESCRIPTORES FISIOLÓGICOS

4.3.1 FOTOSÍNTESIS Y RESPIRACIÓN (CURVAS P VS E)

Las tasas de fotosíntesis y respiración fueron medidas mediante la técnica de evolución de oxígeno disuelto (OD), utilizando un sistema de laboratorio diseñado *ad hoc* por el laboratorio de fotobiología. Dicho sistema consistió en una cámara de borosilicato de 200 mL conectada a un baño térmico y rodeado por cuatro fuentes de luz (LED 10 W) controladas automáticamente por software. El OD fue medido por medio de un sistema de optodos (dipping probe DP-PSt3, PreSens, Alemania) controlados por software (Measurement Studio 2, PreSens, Germany). Para las incubaciones se usó una proporción biomasa/volumen de 0.03 y 0.05 g PF L⁻¹, que en pruebas previas se consideró como idóneo en la obtención de tasas fotosintéticas óptimas, evitando potenciales condiciones de limitación por carbono. Al inicio de las incubaciones los tejidos se mantuvieron siempre en total oscuridad durante un periodo de 30 minutos para determinar las tasas de respiración (R); tras el periodo de oscuridad, los tejidos se expusieron a irradiancias crecientes (6, 22, 37, 51, 88, 119, 137, 156, 193, 251 y 327 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$; 5 minutos por cada irradiancia). En todas las incubaciones se utilizó agua de mar filtrada (5 μm) con un pH \sim 8. En cada curva P vs. E, la tasa máxima de fotosíntesis neta ($F_{\text{máx-neta}}$; $\mu\text{mol O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ PS h}^{-1}$) fue calculada mediante el promedio de los valores máximos de fotosíntesis obtenidos a partir de la irradiancia de saturación ($E_k = F_{\text{máx-neta}} / \alpha$; $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). La tasa de fotosíntesis bruta ($F_{\text{máx-bruta}}$; $\mu\text{mol O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ PS h}^{-1}$) fue calculada sumando las tasas de R a la $F_{\text{máx-neta}}$. La eficiencia fotosintética (α ; $\mu\text{mol O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ PS h}^{-1} / \mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) corresponde a la pendiente de la regresión lineal de las tasas de fotosíntesis a bajas irradiancias (sub-saturantes), mientras que la irradiancia de compensación corresponde al intercepto de dicha regresión con el eje-x (E_c ; $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{ s}^{-1}$).

4.3.2 FLUORESCENCIA DE LA CLOROFILA A

Los cambios en la fluorescencia de la clorofila a del fotosistema II (PSII) fueron medidos mediante el uso de un Fluorómetro de Pulso de Amplitud Modulada (Diving-PAM Fluorometer, Walz, Alemania). Para estandarizar los datos colectados, las mediciones de fotoquímica se realizaron en la zona central de la lámina donde se midieron los valores de la eficiencia cuántica máxima (F_v/F_m), tras la exposición del tejido a un pulso de luz saturante ($\sim 5000 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, 0.8 s). También se realizaron las llamadas Curvas Rápidas de Luz (o RLC por su nomenclatura en inglés)

en las que el tejido era expuesto a nueve luces actínicas que iban en aumento consecutivamente (5-406 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$; por 30 s a cada irradiancia). Tras la exposición a cada luz actínica se emitía un pulso de luz saturante para obtener los valores de los siguientes parámetros: i) las tasas de transporte de electrones o ETR (por su nomenclatura en inglés, Electron Transport Rate), la eficiencia cuántica del PSII (ϕ_{PSII}) y el apagamiento no fotoquímica NPQ (por su nomenclatura en inglés, Non-Photochemical Quenching). Los valores de ETR absoluta se calcularon mediante la ecuación:

$$ETR = \phi_{\text{PSII}} \cdot I \cdot AF \cdot 0.5$$

donde ϕ_{PSII} es la eficiencia cuántica en la transferencia de electrones del PSII, I es la intensidad de cada pulso de luz actínica en $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, AF es el factor de absorptancia medido (ver en la sección de propiedades ópticas más adelante) y 0.5 es el porcentaje de fotones absorbidos entre los dos fotosistemas II (Beer *et al.*, 2014). Los valores de NPQ fue calculado mediante la ecuación:

$$NPQ = (F_m - F_{m'})/F_{m'}$$

donde F_m es la fluorescencia máxima obtenida tras un pulso saturante en total oscuridad, y $F_{m'}$ es la fluorescencia medida tras cada pulso de luz actínica.

4.3.3 PROPIEDADES BIO-ÓPTICAS DE LA LÁMINA

La absorptancia (A) del tejido en el rango PAR (400-700 nm) fue determinada utilizando una esfera integradora (LI-1800-12, LICOR; USA) conectada por fibra óptica a un espectroradiómetro (FieldSpec, ASD, Boulder, Colorado, EUA). Las mediciones se realizaron en piezas de 2 cm de la parte central de las láminas, posicionadas sobre dos portaobjetos de microscopio. La Reflectancia (R) y la Transmitancia (T) se midieron con intervalos de 1 nm, usando como referencia el sulfato de bario. La capacidad relativa de absorción de luz por las láminas o absorptancia (A) fue determinada mediante la ecuación $1-T-R$ (Krause and Weis 1991). Los espectros de A fueron corregidos mediante la sustracción de los valores de A a 725-750. La absorbancia (D) fue calculada de acuerdo a Kirk (1994) con la ecuación:

$$D = -\log_{10} \cdot (1 - A)$$

El coeficiente específico de absorción (a_w^* , $\text{cm}^2 \text{mg}^{-1} \text{PS}$) fue determinado mediante la ecuación exponencial [$\text{exp} = -\ln(1-A)$] normalizada por la masa foliar por área (MFA; mg PS cm^{-2}). El MFA se estimó midiendo el área y el peso de cada segmento empleado en la determinación de pigmentos.

4.3.4 CONTENIDO DE PIGMENTOS

Para determinar el contenido de pigmentos fotosintéticos, se siguió el protocolo y las ecuaciones propuestas por Wheeler (1980). Para extraer fucoxantina, 20 mg de tejido previamente lavado con agua destilada se colocó en un tubo con dimetilsulfóxido (DMSO). Después, se decantó, y el tejido fue colocado en una solución DMSO:Agua destilada 4:1 con agua destilada. El contenido de pigmentos se obtuvo utilizando un espectroradiómetro (Shimadzu UV-1800; Kyoto, Japón) leyendo en las absorbancias de 480, 582, 631 y 665 nm. Para extraer clorofilas, el mismo tejido se colocó en un tubo con acetona al 100% durante 24 h en total oscuridad. La solución colectada fue diluida en una solución Acetona:Metanol:Agua destilada 3:1:1. El contenido de clorofilas se obtuvo leyendo en las absorbancias de 470, 581, 631 y 664 nm.

4.3.5 CONTENIDO DE NITRÓGENO Y CARBOHIDRATOS SOLUBLES

Para los análisis se utilizó tejido seco (48 h a 60°C) y pulverizado. En la determinación de nitrógeno total se utilizó el método de micro-Kjeldahl descrito por Miller & Houghton (1945), modificando el volumen del destilado a 70 mL y utilizando ácido clorhídrico a 0.02 N para la titulación. Para la determinación de carbohidratos solubles totales se utilizó el método colorimétrico del fenol-sulfúrico (Dubois *et al.*, 1956) empleando como estándar β -D Glucosa. El tejido fue digerido en 0.2 M HCl (60° , 3 h), y después de la centrifugación (5 min a $1000 \times g$), se le agregó 3% y ácido sulfúrico concentrado al sobrenadante. La absorbancia se midió con un espectrofotómetro a una longitud de onda de 490 nm. El contenido total para ambos nutrientes se encuentra reportado en porcentaje de peso seco.

4.3.6 PEROXIDACIÓN LIPÍDICA

Los daños producidos en la membrana lipídica producto de especies reactivas de oxígeno (ROS) fueron determinados mediante el método descrito por Hodges *et al.* (1998). Las láminas se molieron en un mortero con nitrógeno líquido y se homogenizaron en una solución 1:10 con ácido tricloroacético (TCA) al 20%. El tejido se centrifugó (3000 g, 10 min) y el sobrenadante fue transferido a dos soluciones; con TCA al 20% y con ácido tiobarbitúrico (TBA) al 0.5%. Ambas soluciones se calentaron a 90°C durante 30 minutos y se centrifugaron nuevamente (10000 g, 10 min). Luego el supernadante fue extraído y se midieron sus absorbancias (440, 532 y 600 nm) mediante un espectrofotómetro (Shimadzu UV-1800; Kyoto, Japón). Para determinar los equivalentes de malondialdehído (Eq. MDA; coeficiente de extinción molar $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), que son los metabolitos secundarios resultado de la peroxidación lipídica en la membrana celular, se utilizó el método de Barrote (2005).

4.3.7 CONTENIDO FENÓLICO TOTAL

El contenido fenólico total en el tejido fue determinado empleando la versión modificada del método Folin-Ciocalteu (Folin y Ciocalteu 1927) utilizando ácido gálico como estándar. Primero, el tejido seco fue colocado en metanol al 80% durante 24 h con agitación constante y posteriormente centrifugado (10 min a 1000 x g). El supernadante fue decantado y mezclado con reactivo Folin-Ciocalteu por 30 s, seguido se adiciono una solución de Na_2CO_3 al 20%. La mezcla se incubo durante 30 min a 40°C en total oscuridad. Por último se midió la absorbancia a la longitud de onda de 765 nm.

4.3.8 CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

La capacidad antioxidante en el tejido fue determinada por el método del radical libre DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidracil) que fue descrito por Blois (1958), utilizando ácido ascórbico como estándar. Seguido de la extracción con metanol al 80% (ver descripción en el contenido fenólico total), el supernadante fue diluido 1:5 y una alícuota fue mezclada con DPPH (60 μM). La mezcla

fue incubada por 30 minutos en total oscuridad a temperatura ambiente. Finalmente, se midió la absorbancia a la longitud de onda de 517 nm.

5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó la prueba T-Student para examinar diferencias significativas ($p < 0.05$) producto de los tratamientos entre juveniles de ambas profundidades experimentales (3 y 10 m). Antes de los análisis, se verificaron los supuestos de normalidad y homocelastividad. Las diferencias en los descriptores obtenidos de las RLC's (NPQ, Φ_{PSII} y ETR) realizadas en plantas de ambas profundidades se examinaron comparando los valores a la irradiancia de $114 \mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$ correspondiente al $\text{ETR}_{\text{máx}}$. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el paquete estadístico SIGMAPLOT 11 (Systat Software Inc, EE.UU.).

6. RESULTADOS

Los valores de los descriptores fisiológicos medidos tras el tratamiento de 3 y 10 m de profundidad se encontraron cerca o dentro de los rangos medidos en dichos juveniles después del periodo de homogenización (Tabla 1). Esto prueba que los dispositivos de flotación empleados para la obtención de los tratamientos experimentales de profundidad no supusieron un estrés fisiológico adicional en los juveniles experimentales.

Tabla 1 Parámetros iniciales que describen el estado fisiológico de los esporofitos juveniles durante el período de aclimatación (T0) *in situ* a 10 m de profundidad.

	Promedio \pm E.E.	Mín.	Máx.
<i>Fotosíntesis y respiración</i>			
Tasa máxima de fotosíntesis neta ($\mu\text{mol O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ PS h}^{-1}$)	788.3 \pm 110.89	656.9	1008.7
Tasa máxima de fotosíntesis bruta ($\mu\text{mol O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ PS h}^{-1}$)	814.8 \pm 112.21	682.4	1037.9
Respiración (R) ($\mu\text{mol O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ PS h}^{-1}$)	-26.4 \pm 1.40	-24.5	-29.2
Eficiencia fotosintética (α) ($\mu\text{mol O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ PS h}^{-1}$)/ ($\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	4.2 \pm 0.51	3.5	5.2
Irradiancia de saturación (E_k) ($\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	186.6 \pm 8.22	170.4	196.7
Irradiancia de compensación (E_c) ($\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	3.9 \pm 2.02	27.9	34.5
<i>Fluorescencia de la clorofila a</i>			
ETR	7.7 \pm 1.03	5.7	9.1
F_v/F_m	0.73 \pm 0.01	0.7	0.7
NPQ	0.16 \pm 0.06	0.06	0.2
Φ_{PSII}	0.17 \pm 0.007	0.16	0.19
<i>Propiedades bio-ópticas</i>			

Absorptancia (400-700)	0.41 ± 0.02	0.38	0.45
Absorptancia (680)	0.62 ± 0.02	0.58	0.67
a _w * (400-700) (cm ⁻² mg ⁻¹ PS)	0.51 ± 0.012	0.4	0.5
a _w * (680) (cm ⁻² mg ⁻¹ PS)	0.77 ± 0.03	0.7	0.8
Masa foliar por área (MFA) (mg PS cm ⁻²)	2.09 ± 0.33	1.4	2.6
<i>Contenido de pigmentos</i> (mg g ⁻¹ PF)			
Clorofila a	1.32 ± 0.06	1.2	1.4
Clorofila c	0.21 ± 0.02	0.2	0.2
Fucoxantina	0.50 ± 0.024	0.5	0.5
<i>Contenido nutricional</i> (% de peso seco)			
Nitrógeno total	2.34 ± 0.06	2.1	2.5
Carbohidratos solubles	2.48 ± 0.11	2.4	2.7
<i>Respuestas antioxidantes</i>			
Peroxidación lipídica (nmol MDA g ⁻¹ PF)	20.4 ± 0.84	19.2	22.04
Contenido fenólico total (mg GAE g ⁻¹ PF)	3.2 ± 0.5	2.3	3.7
Capacidad antioxidante (mg AAE g ⁻¹ PF)	2.8 ± 0.05	2.6	2.9

Los juveniles trasplantados a 3 m de profundidad redujeron de forma significativa (25%) su eficiencia fotosintética (α) respecto a los juveniles de 10 m (Fig 4a; Tabla 4). Las tasas de fotosíntesis máxima bruta y neta mostraron una reducción del 15 y 12% respectivamente pero no hubo diferencia significativa (Fig 4b; Tabla 4). Los valores de E_k y E_c fueron significativamente mayores en los trasplantes someras (Fig 4c; Tabla 4). Las tasas de R más elevadas correspondieron a los juveniles de 3 m con un aumento del 77% (Fig 4d; Tabla 4).

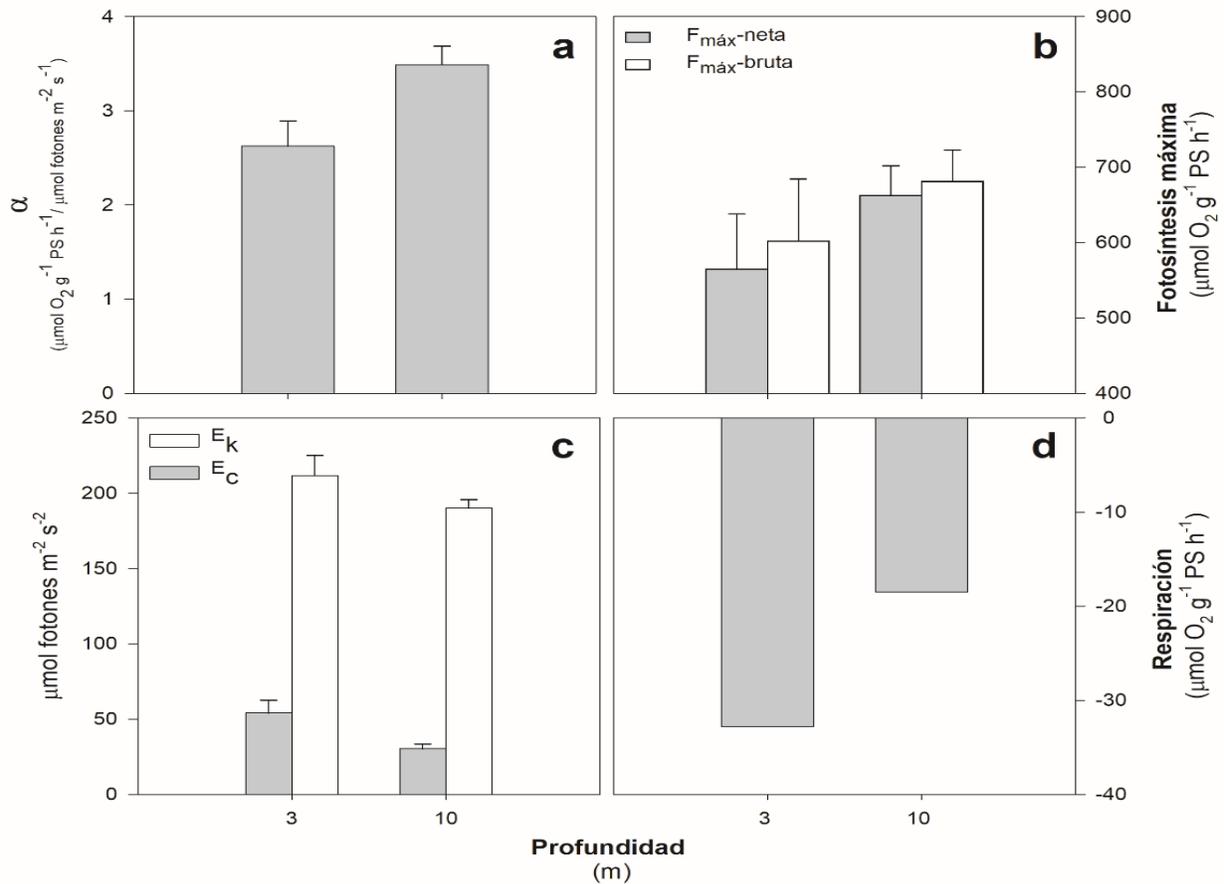


Fig. 4 Parámetros extraídos de Curvas P vs E (promedio \pm E.E.) de esporofitos juveniles de *M. pyrifera* trasplantados a dos diferentes profundidades (3 y 10 m): **(a)** eficiencia fotosintética (α), **(b)** fotosíntesis máxima neta y bruta, **(c)** irradiancia de compensación (E_c) y de saturación (E_k), y **(d)** tasas de respiración.

Los valores de ETR y F_v/F_m fueron significativamente menores (17-21%) en juveniles de la profundidad de 3 m con respecto a los de 10 m (Fig 5a-b; Tabla 4). No se encontraron diferencias significativas entre los valores de ϕ_{PSII} obtenidos de los juveniles a ambas profundidades (Fig 5c; Tabla 4). El NPQ se incrementó alrededor de un 83% en los juveniles trasplantados a menor profundidad (Fig 5d, Tabla 4).

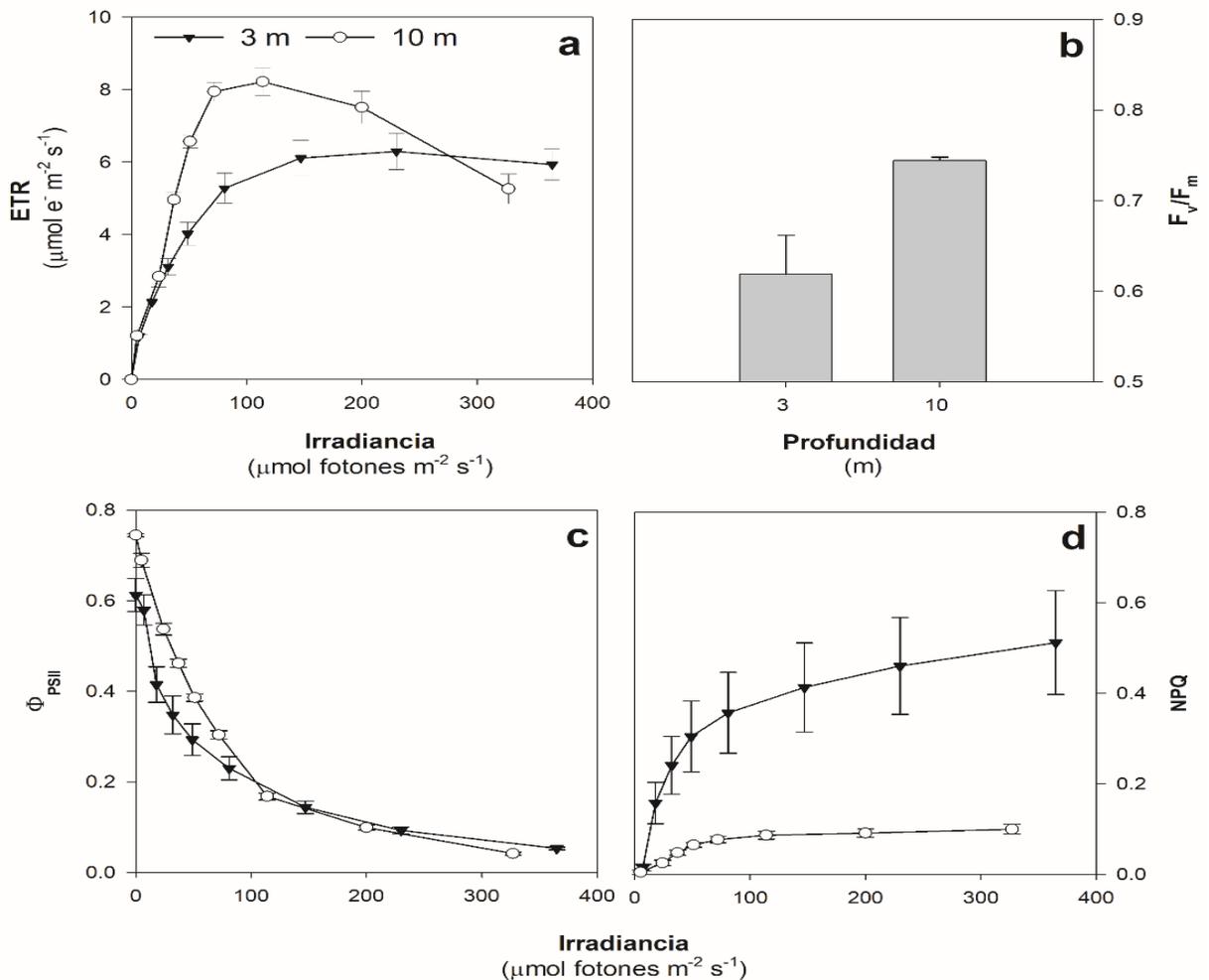


Fig. 5 Parámetros extraídos de fluorescencia de la Clorofila a (promedios \pm E.E.) en esporofitos juveniles de *M. pyriferá* trasplantados a dos diferentes profundidades (3 y 10 m): **(a)** tasa de transporte de electrones (ETR), **(b)** máxima eficiencia cuántica (F_v/F_m), **(c)** eficiencia cuántica del PSII, y **(d)** apagamiento no fotoquímico (NPQ)

Los juveniles trasplantados a 3 m de profundidad mostraron menores valores de A (18-19%; Tabla 4) y de a_w^* (41-32%; Tabla 4), así como una menor concentración de clorofila a, c y fucoxantina (12-29%; Tabla 4) que los juveniles de la profundidad de 10 m (Fig a-c). Dichas diferencias fueron significativas entre profundidades, excepto para el caso de fucoxantina, donde las diferencias estuvieron cerca de la significancia estadística (Tabla 4).

El MFA mostró un patrón contrario, ya que se encontraron valores más elevados (27%) en las láminas de los juveniles a los 3 m, pero las diferencias solo estuvieron cerca de la significancia (Fig 6d; Tabla 4).

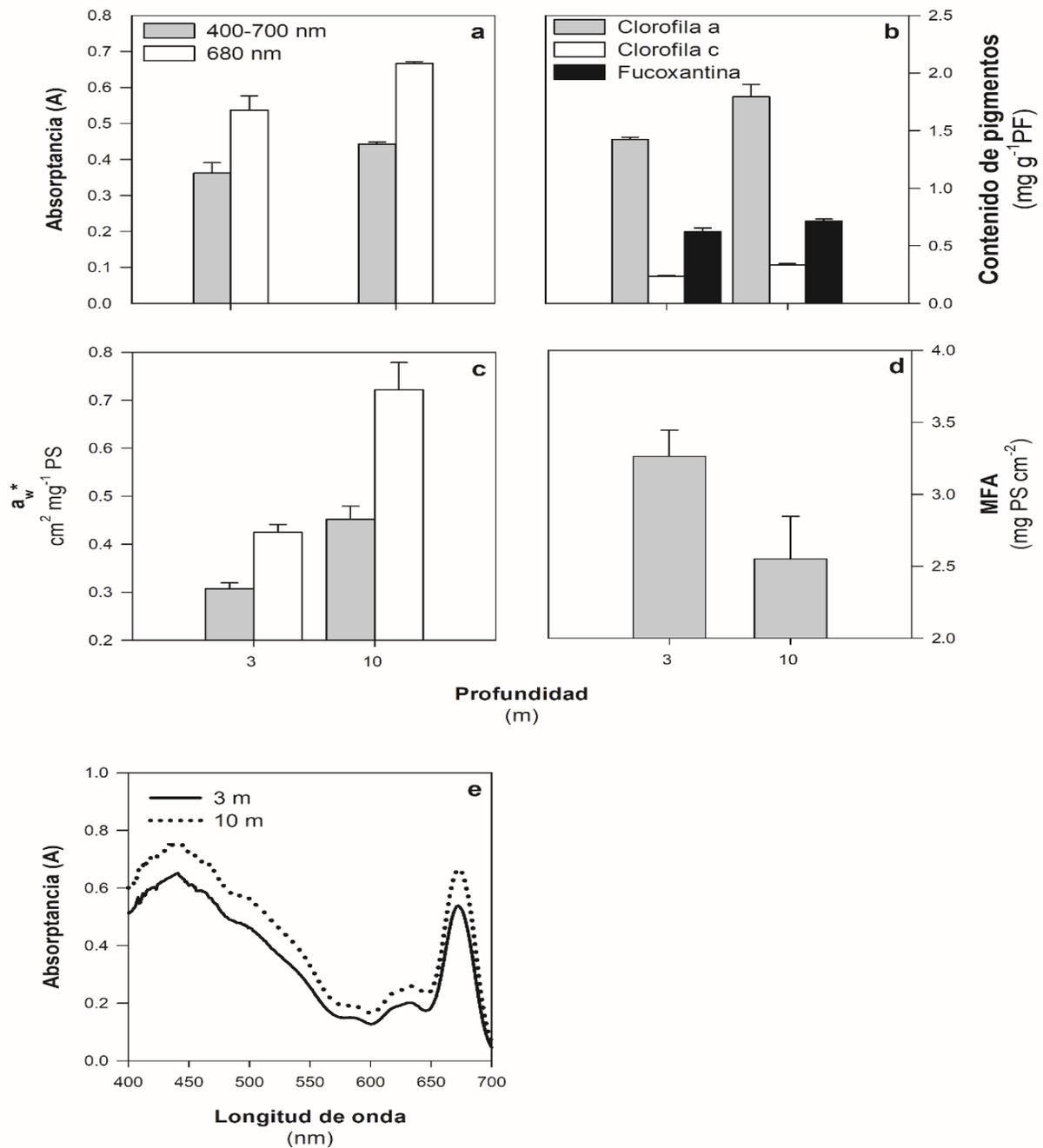


Fig. 6 Propiedades ópticas y contenido de pigmentos fotosintéticos (promedios \pm E.E.) en esporofitos juveniles de *M. pyrifera* trasplantadas a dos profundidades (3 y 10 m): **(a)** absorptancia entre 400-700 nm y pico de la clorofila a (680 nm), **(b)** contenido de pigmentos, **(c)** coeficientes específicos de absorción (a_w^*), **(d)** masa foliar por área (MFA) y **(e)** espectros de absorptancia (A) de la luz el rango PAR.

Se observó un incremento del 11% en el contenido de nitrógeno total en los juveniles a 3 m de profundidad, sin embargo, no hubo diferencia significativa entre profundidades (Tabla 2 y 4). Del mismo modo, el contenido de carbohidratos solubles, el nivel de peroxidación lipídica, el contenido fenólico total así como capacidad antioxidante no fueron significativamente diferentes entre profundidades (Tabla 2, 3 y 4).

Tabla 2 Nitrógeno total y carbohidratos solubles (promedio \pm E.E., $n = 4$) de esporofitos juveniles de *M. pyrifera* trasplantados a 3 y 10 de profundidad.

	Profundidad (m)	
	3	10
Nitrógeno total (% PS)	2.72 \pm 0.08	2.42 \pm 0.06
Carbohidratos solubles (% PS)	2.0 \pm 0.02	2.20 \pm 0.24

Tabla 3 Estrés oxidativo (promedio \pm E.E., $n = 4$) de esporofitos juveniles de *M. pyrifera* trasplantados a 3 y 10 m de profundidad.

	Profundidad (m)	
	3	10
Peroxidación lipídica (nmol MDA g ⁻¹ PF)	20.0 \pm 2.41	16.2 \pm 1.5
Contenido fenólico total (mg GAE g ⁻¹ PS)	1.19 \pm 0.08	1.41 \pm 0.15

Capacidad antioxidante (mg AAE g ⁻¹ PS)	2.57 ± 0.09	2.84 ± 0.014
---	-------------	--------------

Tabla 4 Análisis estadístico (T-Student; $n = 4$) de los descriptores biológicos medidos en esporofitos juveniles de *M. pyrifera* trasplantados a 3 y 10 m de profundidad. Las diferencias significativas se encuentran indicadas en negritas.

	T-Student		
	df	<i>t.</i>	<i>p.</i>
<i>Fotosíntesis y respiración</i>			
Tasa máxima de fotosíntesis neta	6	-1.177	0.284
Tasa máxima de fotosíntesis bruta	6	-0.854	0.426
Respiración (R)	6	-3.493	0.013
Eficiencia fotosintética (α)	6	-2.616	0.040
Irradiancia de saturación (E_k)	6	1.491	0.187
Irradiancia de compensación (E_c)	6	2.596	0.041
<i>Fluorescencia de la clorofila a</i>			
ETR	6	-2.849	0.029
F_v/F_m	6	-2.924	0.026
NPQ	6	6.529	<0.001
Φ_{PSII}	6	-1.522	0.179
<i>Propiedades bio-ópticas</i>			
Absorptancia (400-700)	6	12.202	0.001
Absorptancia (680)	6	13.576	<0.001

a_w^* (400-700)	6	-4.794	0.003
a_w^* (680)	6	-4.989	0.002
Masa foliar por área (LMA)	6	2.056	0.085
<i>Contenido de pigmentos</i>			
Clorofila a	6	-3.347	0.015
Clorofila c	6	-8.409	<0.001
Fucoxantina	6	-2.452	0.050
<i>Contenido nutricional</i>			
Nitrógeno total	6	1.985	0.094
Carbohidratos solubles	6	-0.805	0.452
Peroxidación lipídica	6	1.712	0.138
<i>Respuestas antioxidantes</i>			
Peroxidación lipídica	6	1.712	0.138
Contenido fenólico total	6	-0.871	0.417
Capacidad antioxidante	6	-1.633	0.154

7. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este trabajo demuestran que los esporofitos juveniles de *M. pyrifera* colectados de un manto natural a una profundidad de 10 m y trasplantados a 3 m, presentan una robusta capacidad de fotoaclimatación en condiciones de alta irradiancia (casi 4.5 veces más alta que a la profundidad que fueron colectados). Los esporofitos mostraron una notable plasticidad fisiológica, en términos de fotoaclimatación y fotoprotección, tras un corto periodo experimental (7 días). Esta capacidad de fotoaclimatación está basada principalmente en la disminución en la capacidad de cosechar y procesar luz, y en la disipación de energía fotónica en forma de calor.

La luz es un factor determinante en la distribución de las algas (Lüning & Yarish 1990). En *M. pyrifera*, así como en otras especies de macroalgas la luz también determina respuestas tales como la reproducción en esporofitos adultos y desarrollo en juveniles (Wheeler, 1980; Fei & Neushul, 1984; Gerard, 1986; Smith & Melis, 1987; Koch *et al.*, 2016). Nuestros resultados indican que entre los múltiples mecanismos de aclimatación empleados por las algas, la menor síntesis de pigmentos fotosintéticos (cl a, c y fuc), así como la disminución en la A, α y el E_c, juegan un importante rol en la capacidad de *M. pyrifera* para capturar menos luz en aguas someras (Enríquez *et al.*, 1994). Estos mecanismos de fotoprotección y fotoaclimatación restringen la proporción de luz que se absorbe cuando el tejido se expone a niveles de luz potencialmente estresantes (García-Mendoza & Colombo-Pallotta, 2007). Además, los esporofitos juveniles cultivados a 3 m mostraron un aumento en el empaquetamiento del tejido (MFA) lo que se ha relacionado con el grado de empaquetamiento de pigmentos y estructuras fotosintéticas en pastos marinos y macroalgas, y por tanto, con una reducción en su eficiencia de captación por efectos de "auto-sombreado" (Enríquez, 2005; Sandoval-Gil *et al.*, 2015).

El aumento en la respiración medida en los esporofitos juveniles trasplantados a aguas someras se podría atribuir a la estimulación en los procesos metabólicos del carbono como consecuencia de una mayor disponibilidad de luz y mayor disponibilidad de energía metabólica (ATP, NADPH) (Lapointe *et al.*, 1984; Markager & Sand-Jensen, 1992; Wong & Chang, 2000). Por el contrario, las menores tasas de respiración medidas en los juveniles que crecen a mayor profundidad (es

decir, a 10 m) pueden interpretarse como un mecanismo compensatorio que se observa en macrófitos marinos sujetos a limitación por luz. Gómez y colaboradores (1997) observaron como en dos diferentes algas pardas que crecen a profundidades mayores a 20 m en la Antártida, la respiración disminuía a medida que aumentaba la profundidad. Esta disminución se atribuye a una estrategia compensatoria frente a posibles desbalances de carbono (i.e. ratio Fotosíntesis/Respiración) (Littler *et al.*, 1986). En general, la regulación de la respiración es considerada entre las respuestas de aclimatación de macroalgas y pastos marinos frente a condiciones de luz cambiantes, o incluso para mantener el balance de carbono ante diversas condiciones ambientales estresantes (Geider *et al.*, 1998; Sandoval-Gil *et al.*, 2012, 2014).

El decremento en F_v/F_m y el ETR coincide con la reducción en el contenido de pigmentos y A de juveniles trasplantados a 3 m de profundidad. Aunque esta reducción en F_v/F_m y ETR pudiera ser consecuencia de la reducida capacidad para cosechar luz (Gorbunov *et al.*, 2000; Major & Dunton, 2002), no pueden descartarse daños en el aparato fotosintético ocasionados por el estrés lumínico (Krause, 1988; Long & Humphries, 1994). Contrario a lo esperado, no se observaron diferencias en los valores de fotosíntesis máxima ($F_{máx}$) en esporofitos de ambas profundidades a pesar del decremento en el F_v/F_m y el ETR. Autores reportan que plantas marinas aclimatadas a condiciones de alta irradiancia, las tasas máximas de fotosíntesis aumentan (Wheeler, 1980; Smith & Melis, 1987; Silva *et al.*, 1998; Colombo-Pallotta *et al.*, 2006; Cabello-Pasini *et al.*, 2000). La discrepancia que muestran nuestros resultados en la comparativa entre tasas máximas de fotosíntesis por evolución de oxígeno y $ETR_{máx}$ podría atribuirse a una falta de linealidad entre las ETR y la producción del O_2 a elevadas irradiancias, por efecto de la estimulación de mecanismos que actúan como sumideros de electrones alternativos a la fotosíntesis (p. e., fotorrespiración).

Otro resultado de suma importancia que se extrajo del estudio fue la evidencia de un incremento drástico del NPQ en los juveniles a 3 m. El NPQ es un mecanismo de fotoprotección basado en la disipación de energía en forma de calor por la clorofila a del fotosistema II, el cual es operado por el ciclo de las xantofilas (Colombo-Pallotta *et al.* 2006). En individuos adultos, los altos niveles de NPQ permiten que las frondas de las zonas apicales se recuperen después de eventos de estrés

producto de las altas irradiancias en la superficie. Por tanto, el evidente aumento del NPQ en los esporofitos trasplantados a 3 m de profundidad enfatiza la plasticidad fisiológica de los juveniles cuando estos son expuestos a intensidades de luz de hasta casi 4.5 veces mayor que las que regularmente se encuentran en su entorno natural (10 m de profundidad).

El exceso de luz puede llegar a causar una fotoinhibición en el PSII y una producción de especies reactivas de oxígeno (ROS, por su nomenclatura en inglés) por la activación de sumideros alternativos de electrones, como el ciclo de Mehler (Krause 1988). Nuestros resultados sugieren que los ajustes de fotoaclimatación y fotoprotección activados por los esporofitos juveniles trasplantados a 3 m de profundidad (i. e., reducción de pigmentos, de A y la estimulación de NPQ) fueron capaces de controlar un potencial daño oxidativo por la producción de ROS, y que podrá afectar al ADN, desnaturalizar proteínas y peroxidar lípidos de membranas celulares, entre otros efectos (Slater 1984). Los niveles similares de peroxidación lipídica, de actividad antioxidante y contenido en fenoles medidos en esporofitos juveniles de ambas profundidades sostiene dicha restricción en la producción de ROS.

El nitrógeno total y los carbohidratos solubles revelaron que los esporofitos juveniles trasplantadas a aguas someras (3 m) y profundas (10 m) mantuvieron su calidad nutricional durante todo el experimento. Wheeler y North (1980) reportan que, la disponibilidad de nitrógeno es crítica para el crecimiento de los juveniles. El contenido de nitrógeno total obtenido por dichos autores fue de 1.8- 3.2% de peso seco, mientras que en este estudio fue de 2- 2.72% de peso seco. Esto nos podría indicar primero que no hubo diferencias entre la disponibilidad de N entre profundidades experimentales, dos que tampoco hubo diferencia en las tasas de incorporación/asimilación y catabolismo del nitrógeno. Distintos trabajos documentan que las cinéticas de incorporación de NID pueden verse alteradas de acuerdo a la disponibilidad de luz, entre otros factores; por tanto, si estos cambios en cinéticas se dieron entre juveniles de ambas profundidades, es probable que no detectáramos cambios en el contenido en N debido al reducido periodo experimental.

En general, nuestros resultados muestran por primera vez las estrategias de fotoaclimatación y fotoprotección de juveniles de *M. pyrifera* bajo condiciones de alta irradiancia. Nuestros resultados sugieren que *M. pyrifera* puede cultivarse en aguas relativamente poco profundas y así reducir

potencialmente los desafíos de instalación, monitoreo y recolección de cosecha. Sin embargo, hay que considerar algunas limitantes externas como las condiciones ambientales, y las limitaciones internas, como el estado de los esporofitos. Ambas limitaciones pueden restringir el alcance los resultados aquí obtenidos; por ejemplo, la resistencia de los juveniles podría depender de su estado fisiológico en cada estación del año. Además, las sinergias con otros factores bióticos y abióticos podrían alterar la vulnerabilidad de los esporofitos juveniles. Si bien los resultados aquí obtenidos aportan criterios científicos que pueden contribuir a la mejora de los sistemas de cultivo de esta especie, los resultados deben tratarse con cautela y corroborarse con investigaciones más específicas.

8. CONCLUSIONES

- Los esporofitos juveniles de *M. pyrifera* trasplantados a una intensidad de luz de hasta 4.5 veces más alta presentan estrategias de fotoaclimatación y fotoprotección en un corto periodo experimental (días).
- Nuestros resultados indican que la reducción de los pigmentos fotosintéticos, A y el α , además de un aumento en el NPQ son mecanismos críticos para la fotoaclimatación y fotoprotección de los esporofitos juveniles de *M. pyrifera*.
- Los resultados obtenidos sugieren que los mecanismos de fotoprotección y fotoaclimatación de los esporofitos juveniles de *M. pyrifera* son lo suficientemente efectivos que pueden limitar la producción excesiva de ROS cuando son trasplantados a intensidades de luz de hasta 4.5 veces más alta y así evitar un potencial daño oxidativo.
- Los mecanismos de fotoaclimatación y fotoprotección desempeñados por lo esporofitos juveniles de *M. pyrifera* sugieren la factibilidad de un cultivo superficial en donde las condiciones de luz fuesen de hasta 4.5 veces más altas. De esta manera se podrían reducir los desafíos de instalación, monitoreo y recolección de la cosecha que conlleva un maricultivo.

9. REFERENCIAS

- Altamirano-Gómez, Z. 2017. Maricultivo de *Eisenia arborea* Y *Macrocystis pyrifera* en Bahía Santa María, Baja California, México: Validación de sitio. Ensenada, México.
- Barrote, I.M.A. 2005. Efeitos a posteriori dos défices hídricos sobre a actividade fotossintética. Universidade do Algarve Faculdade, Faro.
- Beer, S., Björk, M. & Beardall, J. 2014. Photosynthesis in the marine environment. 157 pp.
- Blois, M.S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nat. Publ. Gr.* 181:1199–200.
- Bradley, R.A. & Bradley, D.W. 1993. Wintering shorebirds increase after kelp (*Macrocystis pyrifera*) recovery. *Condor.* 95:372–6.
- Buschmann, A.H. 1992. Algal Communities of a Wave-Protected Intertidal Rocky Shore in Southern Chile. ACADEMIC PRESS, INC. 91–104 pp.
- Buschmann, A.H., Vásquez, J.A., Osorio, P., Reyes, E., Filún, L., Hernández-González, M. & Vega, A. 2004. The effect of water movement, temperature and salinity on abundance and reproductive patterns of *Macrocystis* spp. (Phaeophyta) at different latitudes in Chile. *Mar. Biol.* 145:849–62.
- Cabello-Pasini, A., Aguirre-Von-Wobeser, E. & Figueroa, F.L. 2000. Photoinhibition of photosynthesis in *Macrocystis pyrifera* (Phaeophyceae), *Chondrus crispus* (Rhodophyceae) and *Ulva lactuca* (Chlorophyceae) in outdoor culture systems. *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* 57:169–78.
- Cabello-Pasini, A., Lara-Turrent, C. & Zimmerman, R.C. 2002. Effect of storms on photosynthesis, carbohydrate content and survival of eelgrass populations from a coastal lagoon and the adjacent open ocean. *Aquat. Bot.* 74:149–64.
- Camus, C., Infante, J. & Buschmann, A.H. 2019. Revisiting the economic profitability of giant kelp *Macrocystis pyrifera* (Ochrophyta) cultivation in Chile. *Aquaculture.* 502:80–6.
- Casas-Valdez, M., Serviere-Zaragoza, E. & Lluch-belda, D. 2011. Temporal Changes in the Harvest of the Brown Algae *Macrocystis pyrifera* (Giant Kelp) along the Mexican Pacific Coast. In Matovic, D. [Ed.] *Biomass: Detection, Production and Usange.* InTech, p. 496.
- Celis Pla, P. & Alveal, K. 2012. Development of *Macrocystis pyrifera* from spores and gametes on artificial substrate. Algal production in a surface culture. *Lat. Am. J. Aquat. Res.* 40:292–9.
- Colombo-Pallotta, M.F., García-Mendoza, E. & Ladah, L.B. 2006. Photosynthetic performance, light absorption, and pigment composition of *Macrocystis pyrifera* (Laminariales, Phaeophyceae) blades

- from different depths. *J. Phycol.* 42:1225–34.
- Cremades, J., Freire, Ó., Baamonde, S., Salinas, J.M. & Fuertes, C. 2007. Nuevo método para el cultivo industrial de *Laminaria saccharina* (Laminariales, Phaeophyta) en las costas gallegas. 559–562 pp.
- Cruz-Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M. & Guajardo-Barbosa, C. 2000. Uso de harina de kelp (*Macrocystis pyrifera*) en alimentos para camarón. *Av. en Nutr. Acuícola V. Memorias del V Simp. Int. Nutr. Acuícola.* 227–66.
- Dayton, P.K. 1985. The structure and regulation of some south american kelp communities. *Ecol. Monogr.* 55:447–68.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. & Smith, F. 1956. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Anal. Chem.* 28:350–6.
- Durazo-Beltrán, E., Toro-Vázquez, J.F., Vásquez-peláez, C. & Viana, M.T. 2003. Efecto de la macroalga *Macrocystis pyrifera* y una dieta formulada sobre el crecimiento y la composición de ácidos grasos en el abulón azul, *Haliotis fulgens*, en condiciones de cultivo comercial. *Ciencias Mar.* 29:645–54.
- Edwards, M.S. & Kim, K.Y. 2010. Diurnal variation in relative photosynthetic performance in giant kelp *Macrocystis pyrifera* (Phaeophyceae, Laminariales) at different depths as estimated using PAM fluorometry. *Aquat. Bot.* 92:119–28.
- Enríquez, S. 2005. Light absorption efficiency and the package effect in the leaves of the seagrass *Thalassia testudinum*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 289:141–50.
- Enríquez, S., Agustí, S. & Duarte, C.M. 1994. Light absorption by marine macrophytes. *Oecologia.* 98:121–9.
- Fei, X. & Neushul, M. 1984. The effects of light on the growth and development of giant kelp. *Hydrobiologia.* 116/117:456–62.
- Folin, O. & Ciocalteu, V. 1927. Tyrosine and Tryptophane in Proteins. *J. Biol. Chem.* 627–650.
- Foster, M.S. & Schiel, D.R. 1985. Ecology of giant kelp forests in California: a community profile. *Biol. Rep.* 85:1–152.
- García-Mendoza, E. & Colombo-Pallotta, M.F. 2007a. The giant kelp *Macrocystis pyrifera* presents a different nonphotochemical quenching control than higher plants. *New Phytol.* 173:526–36.
- García-Mendoza, E. & Colombo-Pallotta, M.F. 2007b. The giant kelp *Macrocystis pyrifera* presents a different nonphotochemical quenching control than higher plants. *New Phytol.* 173:526–36.
- Geider, R.J., MacIntyre, H.L. & Kana, T.M. 1998. A dynamic regulatory model of phytoplankton acclimation to light, nutrients, and temperature. *Limnol. Oceanogr.* 43:679–94.
- Gerard, V.A. 1986. Photosynthetic characteristics of giant kelp (*Macrocystis pyrifera*) determined in situ.

- Mar. Biol.* 90:473–82.
- Gómez, I., Weykam, G., Klöser, H. & Wiencke, C. 1997. Photosynthetic light requirements, metabolic carbon balance and zonation of sublittoral macroalgae from King George Island (Antarctica). *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 148:281–93.
- Gorbunov, M.Y., Falkowski, P.G. & Kolber, Z.S. 2000. Measurement of photosynthetic parameters in benthic organisms in situ using a SCUBA-based fast repetition rate fluorometer. *Limnol. Oceanogr.* 45:242–5.
- Graham, M.H., Vásquez, J.A. & Buschmann, A.H. 2007. Global ecology of the giant kelp *Macrocystis*: From ecotypes to ecosystems. *Oceanogr. Mar. Biol.* 45:39–88.
- Graiff, A., Pantoja, J.F., Tala, F. & Thiel, M. 2016. Epibiont load causes sinking of viable kelp rafts: seasonal variation in floating persistence of giant kelp *Macrocystis pyrifera*. *Mar. Biol.* 163:1–14.
- Gutierrez, A., Correa, T., Muñoz, V., Santibañez, A., Marcos, R., Cáceres, C. & Buschmann, A.H. 2006. Farming of the giant kelp *Macrocystis pyrifera* in southern Chile for development of novel food products. *J. Appl. Phycol.* 18:259–67.
- Hernández-Carmona, G., Rodríguez-Montesinos, Arvizu-Higuera, Reyes-Tisnado R, Murillo-Álvarez, J.I. & Ochoa, M.- 2012. Avances tecnológicos en la producción de alginatos en México Technological Advance for Alginate Production in Mexico. *Ing. Investig. y Tecnol.* XIII:155–68.
- Hodges, D.M., Delong, J.M., Forney, C.F. & Prange, R.K. 1998. Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. *Planta.* 207:604–11.
- Huppertz, K., Hanelt, D. & Nultsch, W. 1990. Photoinhibition of photosynthesis in the marine brown alga *Fucus serratus* as studied in field experiments. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 66:175–82.
- Kirk, J.T.O. 1994. Light & Photosynthesis in Aquatic Ecosystems. 2nd editio. University of Cambridge.
- Koch, E.W. & Beer, S. 1996. Tides, light and the distribution of *Zostera marina* in Long Island Sound, USA. *Aquat. Bot.* 53:97–107.
- Koch, K., Thiel, M., Hagen, W., Graeve, M., Gómez, I., Jofre, D., Hofmann, L.C. et al. 2016. Short- and long-term acclimation patterns of the giant kelp *Macrocystis pyrifera* (Laminariales, Phaeophyceae) along a depth gradient. *J. Phycol.* 52:260–73.
- Krause, G.H. 1988. Photoinhibition of photosynthesis. An evaluation of damaging and protective mechanisms. *Physiol. Plant.* 74:566–74.
- Krause, G.H. & Weis, E. 1991. Chlorophyll Fluorescence and Photosynthesis: The Basics. *Annu. Rev. Plant*

- Physiol. Plant Mol. Biol.* 42:313–49.
- Ladah, L.B. & Zertuche-González, J.A. 2004. Giant kelp (*Macrocystis pyrifera*) survival in deep water (25 – 40 m) during El Niño of 1997 – 1998 in Baja California , Mexico. *Bot. Mar.* 47:367–72.
- Lapointe, B.E., Tenore, K.R. & Dawes, C.J. 1984. Interactions between light and temperature on the physiological ecology of *Gracilaria tikvahiae* (Gigartinales: Rhodophyta). *Mar. Biol.* 80:161–70.
- Littler, M.M., Littler, D.S., Blair, S.M. & Norris, J.N. 1986. Deep-water plant communities from an uncharted seamount off San Salvador Island , Bahamas : distribution , abundance , and primary productivity ScienceDirect - Deep Sea Research Part A . Oceanographic Research P ... *Deep. Res.* 33:881–92.
- Long, S.P. & Humphries, S. 1994. Photoinhibition of photosynthesis in nature. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 45:633–62.
- Lüning, Kl. & Yarish, C. 1990. Seaweeds : their environment, biogeography, and ecophysiology. New York (N.Y.) : Wiley.
- Major, K.M. & Dunton, K.H. 2002. Variations in light-harvesting characteristics of the seagrass, *Thalassia testudinum*: evidence for photoacclimation. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 275:173–89.
- Marambio, J., Rodriguez, J.P., Mendez, F., Ocaranza, P., Rosenfeld, S., Ojeda, J., Rautenberger, R. et al. 2017. Photosynthetic performance and pigment composition of *Macrocystis pyrifera* (Laminariales, Phaeophyceae) along a gradient of depth and seasonality in the ecoregion of Magellan, Chile. *J. Appl. Phycol.* 29:2575–85.
- Markager, S. & Sand-Jensen, K. 1992. Light requirements and depth zonation of marine macroalgae. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 88:83–92.
- McLachlan, J.L. 1991. General principles of on-shore cultivation of seaweeds: effects of light on production. *Hydrobiologia.* 221:125–35.
- Miller, L. & Houghton, J.A. 1945. Micro-Kjeldahl determination of the nitrogen content of amino acids and proteins. *J. Biol. Chem.* 159:373–83.
- Montoya, E., García, Y. & Lira, C. 2018. Usos y aplicaciones de las macroalgas: Una revisión. *Bol. Inst. Ocean. Venez.* 56:89–101.
- North, W.J., Jackson, G.A. & Manley, S.L. 1986. *Macrocystis* and its environment, knowns and unknowns. *Aquat. Bot.* 26:9–26.
- Paz-Lacavex, A. 2018. Evaluación de la dinámica histórica de los bosques de macroalgas en Punta San Miguel: el uso de percepción remota para informar conservación. Universidad Autónoma de Baja California, 27 pp.

- Plana, J., Mansilla, A., Palacios, M. & Navarro, N. 2007. Estudio poblacional de *Macrocystis pyrifera* (L.) C. Agardh (Laminariales: Phaeophyta) en ambientes protegido y expuesto al oleaje en Tierra del Fuego. *Gayana*. 71:66–75.
- Poore, A.G.B., Gutow, L., Pantoja, J.F., Tala, F., Jofré Madariaga, D. & Thiel, M. 2014. Major consequences of minor damage: Impacts of small grazers on fast-growing kelps. *Oecologia*. 174:789–801.
- Próo, G. del 1993. desarrollo y perspectivas de la explotación de algas marinas en México.pdf. In *Ciencia Pesquera, Instituto Nacional de La Pesca. Secretaria de Pesca, México*. pp. 129–36.
- Rodríguez-Montesinos, Y. & Hernández-Carmona, G. 1991. Seasonal And Geographic Variations Of *Macrocystis Pyrifera* Chemical Composition At The Western Coast Of Baja California. *Ciencias Mar.* 17:91–107.
- Rothäusler, E., Gómez, I., Hinojosa, I.A., Karsten, U., Miranda, L., Tala, F. & Thiela, M. 2011. Kelp rafts in the Humboldt current: Interplay of abiotic and biotic factors limit their floating persistence and dispersal potential. *Limnol. Oceanogr.* 56:1751–63.
- Sandoval-Gil, J.M., Marín-Guirao, L. & Ruiz, J.M. 2012. The effect of salinity increase on the photosynthesis, growth and survival of the Mediterranean seagrass *Cymodocea nodosa*. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 115:260–71.
- Sandoval-Gil, J.M., Ruiz, J.M., Marín-Guirao, L., Bernardeau-Esteller, J. & Sánchez-Lizaso, J.L. 2014. Ecophysiological plasticity of shallow and deep populations of the Mediterranean seagrasses *Posidonia oceanica* and *Cymodocea nodosa* in response to hypersaline stress. *Mar. Environ. Res.* 95:39–61.
- Sandoval-Gil, J.M., Ruiz, J.M., Marín-Guirao, L., Bernardeau-Esteller, J. & Sánchez-Lizaso, J.L. 2015. Ecophysiological plasticity of shallow and deep populations of the Mediterranean seagrasses *Posidonia oceanica* and *Cymodocea nodosa* in response to hypersaline stress. *Mar. Biol.* 162:55–68.
- Schiener, P., Black, K.D., Stanley, M.S. & Green, D.H. 2014. The seasonal variation in the chemical composition of the kelp species *Laminaria digitata*, *Laminaria hyperborea*, *Saccharina latissima* and *Alaria esculenta*. *J. Appl. Phycol.* 27:363–73.
- Seymour, R., Tegner, M.J., Dayton, P.K. & Parnell, P. 1989. Storm wave induced mortality of Giant kelp, *Macrocystis pyrifera*, in Southern California. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 28:277–92.
- Shivji, M.S. 1985. Interactive Effects of Light and Nitrogen on Growth and. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 89:81–96.
- Silva, J., Santos, R., Serôdio, J. & Melo, R.A. 1998. Light response curves for *Gelidium sesquipedale* from

- different depths, determined by two methods: O₂ evolution and chlorophyll fluorescence. *J. Appl. Phycol.* 10:295–301.
- Slater, T.F. 1984. Free-radical mechanisms in tissue injury. *Biochem. J.* 222:1–15.
- Smith, B.M. & Melis, A. 1987. Photosystem Stoichiometry and Excitation Distribution in Chloroplasts from Surface and Minus 20 Meter Blades of *Macrocystis pyrifera*, the Giant Kelp. *Plant Physiol.* 84:1325–30.
- Torres-moye, G. & Edwards, M.S. 2013. Estructura de la comunidad bentónica en los bosques de macroalgas de la cuenca del Sur de California. *Ciencias Mar.* 39:239–52.
- Umanzor, S., Ladah, L. & Zertuche-González, J.A. 2017. The influence of species, density, and diversity of macroalgal aggregations on microphytobenthic settlement. *J. Phycol.* 53:1060–71.
- Westermeier, R. & Moller, P. 1990. Population Dynamics of *Macrocystis pyrifera* (L.) C. Agardh in the Rocky Intertidal of Southern Chile. *Bot. M.* 33:363–7.
- Wheeler, P. & North, W. 1980. Effect of nitrogen supply on nitrogen content and growth rate of juvenile *Macrocystis pyrifera* (Phaeophyta) sporophytes. *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* 16:577–82.
- Wheeler, W.N. 1980. Pigment content and photosynthetic rate of the fronds of *Macrocystis pyrifera*. *Mar. Biol.* 56:97–102.
- Winkler, N.S., Pérez-Matus, A., Villena, Á.A. & Thiel, M. 2017. Seasonal variation in epifaunal communities associated with giant kelp (*Macrocystis pyrifera*) at an upwelling-dominated site. *Austral Ecol.* 42:132–44.
- Wong, S.L. & Chang, J. 2000. Salinity and light effects on growth, photosynthesis, and respiration of *Grateloupia filicina* (Rhodophyta). *Aquaculture.* 182:387–95.
- Xu, D., Ye, N., Cao, S., Wang, Y., Wang, D., Fan, X., Zhang, X. et al. 2015. Variation in morphology and PSII photosynthetic characteristics of *Macrocystis pyrifera* during development from gametophyte to juvenile sporophyte. *Aquac. Res.* 46:1699–706.
- Zertuche-González, J.A., Sánchez-Barredo, M., Guzmán-Calderón, J.M. & Altamirano-Gómez, Z. 2014. Eisenia arborea J.E. Areschoug as abalone diet on an IMTA farm in Baja California, México. *J. Appl. Phycol.* 26:957–60.