

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS



“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

QUE CUBRIR PARCIALMENTE LOS REQUISITOS NECESARIOS PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS EN OCEANOGRAFÍA COSTERA

PRESENTA

JURITZY MARGARITA PÉREZ GARCÍA

Ensenada, Baja California, México. 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

Juritz M. Pérez García. IIO. Facultad de Ciencias Marinas, Universidad Autónoma de Baja California, Apartado postal 453,

Ensenada, Baja California, México. * e-mail: jupegaens @gmail.com

RESUMEN

El creciente interés en el uso de *Eisenia arborea* (Areschoug, 1879) como alimento para consumo humano y como forraje en la acuicultura de herbívoros marinos de alto valor comercial, motivan la investigación sobre el desarrollo de su cultivo óptimo en cada una de sus fases de crecimiento. El objetivo de este estudio fue determinar las mejores condiciones de irradiancia y temperatura para el crecimiento de juveniles de *Eisenia arborea*. Plántulas de 1 cm de longitud se expusieron a cuatro diferentes irradiancias (90, 120, 156 y 210 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) y cuatro temperaturas (15, 18, 21 y 24 °C). Adicionalmente, con el fin de establecer condiciones de trasplante de plántulas del laboratorio al mar, se hicieron experimentos para evaluar la capacidad de supervivencia y recuperación de organismos sometidos a estrés térmico. Para ello, plántulas de 1 y 7 cm cultivadas a 15 °C se expusieron a 21 y 24 °C durante una semana y se regresaron a condiciones iniciales (15 °C y 90 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$). Los resultados mostraron que los organismos juveniles de *E. arborea* presentan el mayor crecimiento a 15 °C y 90 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, con una tasa de crecimiento en peso húmedo de 21 % día⁻¹. En los experimentos de estrés térmico, las plántulas de 1 cm tuvieron supervivencia de 47 % mientras que las de 7 cm de 73 %. Sin embargo, al regresarse a las condiciones iniciales (15°C y 90 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) las plántulas de 7 cm no lograron recuperarse mientras que las de 1cm tuvieron una recuperación del 43 %. Este estudio permite establecer mejores condiciones para el desarrollo de juveniles de *E. arborea* en el laboratorio, así como establecer criterios favorables para el traslado de juveniles al mar.

Palabras claves: cultivo de macroalgas, crecimiento, *Eisenia arborea*, estrés térmico.

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

"Condiciones óptimas de temperatura y luz para el crecimiento de esporofitos juveniles de *Eisenia arborea* y su capacidad de recuperación bajo condiciones de estrés térmico."

TESIS

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

MAESTRA EN CIENCIAS

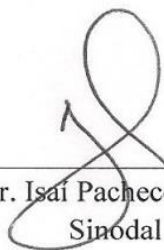
Presenta

Juritzzy Margarita Pérez García

Aprobada por



Dr. José Antonio Zertuche González
Director de Tesis



Dr. Isai Pacheco Ruiz
Sinodal



Dr. Roberto Millán Núñez
Sinodal

Agradecimientos

A mis **padres** por su apoyo incondicional, por preguntarme tantas veces ¿Cuánto tiempo más vas a tardar? Ya que me hicieron aplicarme en el trabajo diario.

A mi **hermano Mario**, que siempre estuvo pendiente de su hermanita, por siempre estar disponible para mí.

Al **Dr. José A. Zertuche** por aunque aún con la infinidad de trabajo que tenía se dio el tiempo para leer y corregir mi trabajo, al **Dr. Isaí Pacheco** por su paciencia, sus observaciones y recomendaciones. Al técnico **Gálvez** por prestarme su material y espacio del laboratorio para trabajar.

Al **Dr. Roberto Millán Núñez** por brindarme su apoyo en cada presentación de la tesis, corregirme oportunamente y escucharme en mis momentos de desesperación.

Al profesor y amigo **José Guzmán Calderón**, porque no hay palabras para enumerar todo lo que le agradezco, el tiempo de apoyo brindado no solo en lo académico si no en mi vida diaria.

A mi querida amiga **Norma Sánchez Piñón**, por recordarme día con día que la distancia no es sinónimo de lejanía, por siempre hacerme sentir cerca de casa. Escuchar mis locuras y hacerme parte a sus aventuras en mi tiempo como tesista.

A mi equipo Tiburón: Jimena (Mena), Elisabet (Eli) y Lorena (Lore), por sus palabras de apoyo, sus risas, sus ocurrencias, los viajes juntas. Por su tiempo para alimentarme, hacerme compañía en los momentos de estrés total. Por ponerle color y sazón a esta etapa como tesista.

A mis amigas Ocotlenses Paola, Nathali, Lizeth, Zaira, porque cuando pude verlas me hicieron reír y recordar que tengo una de las cosas más valiosas en esta vida AMIG@S.

A mis amigos **Sandra, Mauricio, Nathalí, Doreny, Leonardo, Fernanda, Moisés, Florian**, por escucharme en mis momentos difíciles y prestarme su hombro. Por los días antiestrés llenos de aventuras, por cada abrazo, risa, regaño y palabra de aliento.

A **Diego y Nidia** por hacerme parte de su familia, preocuparse por mí e inspirarme a seguir superándome en lo académico y personal.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (**CONACyT**) y la **UABC** por haberme brindado la oportunidad de crecer académicamente y financiar mi estancia en el posgrado.

A las personas que probablemente no mencioné y estuvieron, pero no por que no sean importantes, es solo que sería más corta la tesis que mi lista de agradecimientos. Por ser como las estrellas que aunque no siempre las ves siempre están allí.

Índice de Contenidos

<i>Resumen</i> -----	→1
<i>Agradecimientos</i> -----	→3
<i>Índice de Contenidos</i> -----	→4
<i>Lista de Figuras y tablas</i> -----	→5
Introducción -----	→6
Hipótesis -----	→8
Objetivos Generales -----	→8
Objetivos particulares -----	→8
Metodología -----	→8
Obtención de juveniles-----	→8
Experimento factorial para determinar la irradiancia y temperaturas óptimas-----	→9
Respuesta a estrés térmico -----	→9
Análisis estadístico-----	→10
Resultados -----	→10
Experimento factorial para determinar la irradiancia y temperaturas óptimas-----	→10
Respuesta a estrés térmico-----	→15
Análisis estadístico-----	→17
Discusión -----	→19
Referencias -----	→22

Lista de Tablas

Tabla I. Resultados del análisis a posteriori de la prueba Wilcoxon con la corrección de Kruskal Wallis para dos muestras independientes, del peso húmedo en las diferentes irradiancias y semanas. Donde los valores dentro de la tabla representan las H calculadas-----→18

Tabla II. Resultados del análisis de la prueba Wilcoxon para muestras independientes para las tasas de crecimiento específico en peso húmedo. Los valores dentro de las tablas representan las TL y TU calculadas en la temperatura de 15 °C -----→18

Tabla III. Resultados del análisis de la prueba Wilcoxon para muestras independientes para las tasas de crecimiento específico en peso húmedo. Los valores dentro de las tablas representan las TL y TU calculadas en la temperatura de 18 °C-----→18

Tabla IV. Resultados del análisis a posteriori de la prueba Wilcoxon con la corrección de Kruskal Wallis para dos muestras independientes, con respecto a las diferentes irradiancias y temperaturas (15 y 18°C). Donde los valores dentro de la tabla representan las H calculadas-----→19

Lista de Figuras

Figura 1. Longitud promedio por semana (cm) de plántulas cultivadas a 15 °C (A) y 18 °C (B), bajo irradiancias de 90, 120, 156 y 210 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Durante 28 días de mediciones semanales. Las barras representan el error estándar -----→12

Figura 2. Peso húmedo (biomasa) promedio por semana (g) de plántulas cultivadas a 15 °C (A) y 18 °C (B), bajo irradiancias de 90, 120, 156 y 210 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Durante 28 días de mediciones semanales. Las barras representan el error estándar (n=30) -----→13

Figura 3. Promedio de la tasa de crecimiento específico en longitud de juveniles de *E. arborea* en tres temperaturas (15, 18 y 21 °C) bajo diferentes irradiancias (90, 120, 156 y 210 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), en 28 días de experimento. Las barras representan el error estándar (n=30) -----→14

Figura 4. Promedio de la tasa de crecimiento específico en peso húmedo de juveniles de *Eisenia arborea* en tres temperaturas (15, 18 y 21 °C) a diferentes irradiancias (90, 120, 156 y 210 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) en un 28 días de experimento. Las barras representan el error estándar (n=30) -----→14

Figura 5. Tasa de crecimiento específico en peso húmedo en juveniles de *Eisenia arborea* de 1 cm de longitud, sometidos a estrés térmico de 24 y 21 °C. Los valores entre paréntesis representan el porcentaje de supervivencia (2da. semana) y recuperación (3ra. semana). Con barras de error de estándar para n=15-----→15

Figura 6. Tasa de crecimiento específico en peso húmedo en juveniles de *Eisenia arborea* de 7 cm de longitud, sometidos a estrés térmico de 24 y 21 °C. Los valores entre paréntesis representan el porcentaje de supervivencia (2da. semana) y recuperación (3ra. semana). Con barras de error de estándar para n=15 -----→16

Introducción

Entre los sargazos típicos de los bosques de algas del Pacífico de Baja California se encuentra *Eisenia arborea*. Se distribuye desde Vancouver hasta Bahía Magdalena, México (Matson y Matthew, 2007) lo que la hace el sargazo con mayor distribución latitudinal de Pacífico Oriental y mayor distribución sureña. *E. arborea* es una especie endémica de aguas templadas, pertenece al orden de Laminariales, de la familia Alariaceae y, como el resto de las especies del orden Laminarial, se caracteriza por poseer una alternancia de generaciones heteromórfica, con una fase haploide microscópica (gametofito) y una diploide macroscópica (esporofito). Los esporofitos maduros de *E. arborea* se caracterizan por un estipe rígido de color pardo que puede alcanzar de 1 a 2 m de altura, con una bifurcación en la parte apical que se extiende en dos lóbulos aplanados en donde crecen las frondas laterales (Hollenberg, 1939).

En los últimos años, en la costa occidental de Baja California, hay un interés creciente en el uso del alga parda *E. arborea* como forraje en la acuicultura para herbívoros marinos de alto valor comercial (abulón, erizo, caracol entre otros) (Zertuche-González *et al.* 2013, González-Avilés y Shepherd 1996, Serviere-Zaragoza *et al.* 1998). Zertuche-González *et al.* (2013) probaron el uso de *E. arborea* en comparación con *Macrocystis pyrifera* (Agardh, 1820) como dieta del abulón rojo (*Haliotis rufescens*, (Swainson 1822)). Aun cuando los abulones tuvieron mayor crecimiento con *M. pyrifera*, entre las ventajas que los autores mencionan del uso de *E. arborea* es que esta especie tiene la capacidad de tolerar mayores temperaturas (>20 °C) (Hernández-Carmona *et al.* 2009) y condiciones de bajos nutrientes (<10 μ M) (Sánchez-Barredo *et al.* 2011) que cualquier otro sargazo, lo que permitiría estar disponible aun en condiciones climáticas adversas. Esta característica es relevante ya que es ampliamente conocido que los sargazos del Océano Pacífico norte se ven afectados por cambios climáticos como el Niño, que se asocian a altas temperaturas (>20 °C) y bajos nutrientes (<10 μ M) (Gerard, 1997).

La posibilidad del uso de *E. arborea* como forraje marino y el hecho de ser una especie euriterma y resistente también a bajas condiciones de nutrientes (Hernández-Carmona, Sánchez-Barredo *et al.* 2011), fue lo que motivó un programa para el desarrollo de su cultivo y mejor método de trasplante.

Una vez dominada la producción de propágulos, la domesticación de las algas requiere implementar las mejores condiciones para el crecimiento de cada uno de los estadios juveniles antes de que las plántulas puedan ser llevadas al mar. Las variables fisicoquímicas (luz, temperatura, nutrientes) en las que se encuentran las algas en el medio natural no siempre son las idóneas para su cultivo pues otros factores, como la competencia por sustrato o la presencia de herbívoros, pueden limitar su desarrollo (Zertuche-González, 1990).

En las costas de California se ha observado que *E. arborea* tiene un crecimiento relativamente lento y un bajo reclutamiento en comparación con *M. pyrifera* (Dayton *et al.* 1999). *M. pyrifera* al crecer más rápido, sombrea a los organismos juveniles de *E. arborea*. La irradiancia que pueden llegar a recibir los organismos de menor talla en algunos sotobosques es de $56 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ya que los organismos de mayor longitud somborean a la vegetación que crece cerca del suelo por debajo del dosel (Lobban y Harrison, 1994). En mantos naturales el efecto del sombreado y la temperatura sobre cada uno de los estadios de las algas del sotobosque (espora, huevo, gametofito o estadio juvenil) han sido poco estudiados. En *M. pyrifera* se ha observado que cada estadio tienen una diferente capacidad de recuperación y supervivencia a altas temperaturas, como las que se pueden presentar durante El Niño (Ladah y Zertuche, 2007). Maegawa *et al.* (1987) mostraron que la germinación de las esporas de *Eisenia bicyclis* (Kjellman, 1905) se ven afectadas por el sombreado lo cual afecta la densidad de los adultos. En un estudio comparativo entre *E. arborea* y *Pterygophora californica* (Ruprecht, 1852). Matson y Matthew (2007) observaron que los esporofitos adultos de ambas especies son tolerantes a altas temperaturas más no sus estadios microscópicos; solo en el caso de *E. arborea* los gametofitos fueron capaces de germinar a temperaturas de $18\text{ }^{\circ}\text{C}$. Los autores sin embargo no describen el efecto de la irradiancia.

El objetivo del trabajo es determinar la irradiancia y la temperatura óptimas para el crecimiento de la fase juvenil de *E. arborea* (0.8 a 1 cm) con el fin de mejorar su crecimiento en cultivo. Por otro lado se evaluó la capacidad de supervivencia de juveniles de *E. arborea* (1 y 7 cm) durante su exposición a estrés térmico.

Hipótesis: *E. arborea* es capaz de incrementar su tasa de crecimiento cuando se expone a irradiancias superiores a las que recibe en el medio natural ($56 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$).

Juveniles de *E. arborea* son capaces de tolerar cambios térmicos repentinos dentro del intervalo de temperatura típico ($>20 \text{ }^\circ\text{C}$) de su distribución euritermal.

Los esporofitos de mayor talla tendrán una mayor capacidad de supervivencia y recuperación.

Objetivos generales:

- Incrementar la velocidad de crecimiento en los juveniles de *E. arborea* y evaluar su capacidad de recuperación al estrés térmico causado por el trasplante al mar.

Objetivos particulares:

- Conocer la cantidad de irradiancia y temperatura a la cual los esporofilos juveniles de *Eisenia arborea* tiene un mayor crecimiento.
- Estimar el porcentaje de supervivencia y recuperación de organismos juveniles de 1 y 7 cm, sometidos a estrés térmico, en dos diferentes temperaturas ($21 \text{ }^\circ\text{C}$ y $24 \text{ }^\circ\text{C}$).

Metodología

Obtención de juveniles

Se generaron esporofitos de 0.8 a 1 cm en el laboratorio a partir de la liberación de esporas de *E. arborea* colectadas en Bahía San Quintín. Se recortaron soros de las láminas, se cepillaron para quitar los epifitos y se enjuagaron con agua de mar, filtrada e irradiada con luz UV. Posteriormente, se secaron con papel, se protegieron de la humedad y se mantuvieron en oscuridad por 20 minutos dentro de un recipiente cerrado. A continuación los soros se colocaron en matraces de 100 ml con agua de mar filtrada y esterilizada para inducir la liberación de las esporas. Se agitó el matraz vigorosamente en la oscuridad y se extrajeron muestras cada 15 minutos con una pipeta hasta observar la presencia de esporas (Merrill y Gillingham, 1991).

Posteriormente se determinó el número de esporas liberadas bajo un microscopio compuesto y una cámara de Neubauer (Merrill y Gillingham, 1991). Conocida la concentración de esporas, se tomó el volumen necesario para sembrar $1000 \text{ células ml}^{-1}$ en cuatro recipientes

con 20 litros de agua de mar filtrada (0.2 μm) e irradiada con UV. Previamente, como sustrato para la fijación de las esporas, en cada recipiente se colocaron líneas de nylon (2 mm) de 5 m de longitud enrolladas en tubos de PVC. Los cultivos se mantuvieron con un fotoperiodo neutro (12:12 luz:**obscuridad**) y un irradiancia de $56 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (lámparas fluorescentes de luz de día). Se hicieron recambios semanales con agua enriquecida con medio PROVASOLI modificado (Bold y Wynne, 1978 y Sánchez- Barredo *et al.* 2011).

Experimento factorial para determinar la irradiancia y temperatura óptimas para el crecimiento de juveniles.

De los cultivos descritos anteriormente (12:12 luz:**oscuridad** e irradiancia de $56 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), se seleccionaron 120 esporofitos con longitudes entre 0.8 y 1 cm. Estos se colocaron en un diseño factorial con cuatro irradiancias (90, 120, 156 y $210 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$) y cuatro temperaturas (15, 18, 21 y $24 \text{ }^\circ\text{C}$) en incubadores (VWR) con fotoperiodo y temperatura controlada. Para cada tratamiento, se utilizaron 10 plántulas contenidas en matraces de 125 ml con medio PROVASOLI. Los matraces se cubrieron con malla plástica para obtener las diferentes irradiancias. Cada tratamiento se hizo por triplicado.

Cada 7 días las plántulas se midieron (hojas milimétricas) y se pesaron (balanza analítica presión de 1×10^{-4} g). Se estimó el crecimiento específico (tasa de crecimiento) de las plántulas a partir de su longitud y peso húmedo, para ello se utilizó la fórmula:

$$TC \% = \frac{\text{Ln}(w_t) - \text{Ln}(w_o)}{t} \times 100$$

Dónde: w_t = es el peso húmedo final (g), w_o = el peso húmedo inicial (g) y t = el tiempo en días. Para el cálculo de la tasa de crecimiento en longitud se utilizó la misma fórmula solo sustituyendo W_t por L_t y W_o por L_o (Dean y Jacobsen, 1984).

Respuesta a estrés térmico

Con el objetivo de evaluar la capacidad de sobrevivencia y recuperación de plántulas de diferentes tallas expuestas a estrés térmico, se seleccionaron plántulas a y 7 cm ($n=45$ por talla) que se encontraban en el laboratorio a $17 \text{ }^\circ\text{C}$ y una irradiancia de $56 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Posteriormente, se colocaron matraces de 500 ml y se mantuvieron en un incubador bajo las condiciones óptimas de crecimiento obtenidas en la primera parte de este estudio ($15 \text{ }^\circ\text{C}$ y 90

$\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) por una semana. Al séptimo día se extrajeron submuestras de 15 plántulas y se expusieron a 15, 21 y 24 °C. Después de una semana en estas condiciones se evaluó la supervivencia (% de plántulas presentes sin decoloración). Los organismos sobrevivientes se regresaron a la condición inicial (15 °C con $90 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) y después de una semana se evaluó su recuperación (% de plántulas que incrementaron su biomasa y recobraron su coloración en más de la mitad de la lámina). En todos los tratamientos las plántulas se mantuvieron en medio enriquecido (PROVASOLI) y cada semana se evaluó el crecimiento específico.

Análisis estadístico

Los resultados de crecimiento en peso húmedo y longitud, no tuvieron una distribución normal, ni presentaron homocedasticidad. Por ello se utilizó una ANOVA de dos vías no paramétrica de Kruskal Wallis para tres o más muestras independientes, para probar diferencias entre los tratamientos de irradiancia y temperatura.

Después se aplicó una prueba *a posteriori* para dos muestras independientes con una prueba Wilcoxon con la corrección de Kruskal Wallis ($n > 10$), para probar similitudes o diferencias entre tratamientos.

Resultados

Experimento factorial para determinar la irradiancia y temperatura óptimas para el crecimiento de juveniles.

Los mayores incrementos en longitud y peso se detectaron en los cultivos que se mantuvieron a 15 °C en todas las irradiancias (Fig. 1A y 2A). Las algas con mayores tallas pasaron de 1 a 5.26 ± 0.82 cm (Fig.1A) y un incremento en peso de 0.0030 a 0.215 ± 0.106 g en 28 días (Fig. 2A). El mayor incremento en longitud (5.45 cm) se observó a $156 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, sin embargo, no se observaron diferencias estadísticas ($p > 0.05$) entre las irradiancias (90 a $156 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) (Fig.1A; Tabla I). Cabe mencionar que los organismos sometidos a $210 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ se contaminaron a partir de la tercera semana por las algas rojas *Acrochaetium daviesii* (Dillwyn, 1962) y *Stylonema alsidii* (Zanardini, 1841).

En cuanto a los crecimientos específicos en longitud y peso a 15 °C, las mayores tasas fueron de 6.58 ± 0.82 y 20.63 ± 0.5 % día⁻¹, respectivamente (Fig. 3 y 4). La menor tasa de

crecimiento específico en longitud se observó en las plántulas expuestas a $156 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (6.18 \% día^{-1}) (Fig. 3). No se observaron diferencias significativas ($p=0.05$) entre tratamientos de irradiancia (Tabla II).

En los cultivos que se mantuvieron a $18 \text{ }^\circ\text{C}$, el crecimiento en longitud y peso mostró una tendencia negativa conforme se aumentó la irradiancia (Fig. 1B y 2B). La máxima longitud ($4.80 \pm 0.74 \text{ cm}$) y peso húmedo ($0.1854 \pm 0.05 \text{ g}$) se observaron en los organismos expuestos a $90 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, mientras que las plántulas de $210 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ murieron a la tercera semana (Fig.1B y 2B). Los cultivos bajo irradiancias de 120 y $210 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ se vieron afectados a partir de la tercera semana por las epifitas filamentosas *A. daviesii* y *S. alsidii*. Aun con epifitas, los cultivos a $120 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ alcanzaron una talla de $3.32 \pm 0.74 \text{ cm}$ y peso húmedo de $0.111 \pm 0.05 \text{ g}$ (Fig.1B y 2B).

A $18 \text{ }^\circ\text{C}$ el mayor crecimiento específico en longitud fue $6.16 \pm 0.67 \text{ \% día}^{-1}$ y peso de $20.74 \text{ \% día}^{-1}$, se presentaron a $90 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Fig. 3 y 4) y no mostraron diferencias estadísticas significativas con las cultivadas a $15 \text{ }^\circ\text{C}$ bajo la misma irradiancia (Tabla IV). Sin embargo, a 120 y $156 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ los crecimientos fueron menores (5.23 y $4.81 \pm 0.25 \text{ \% día}^{-1}$, respectivamente) y estadísticamente diferentes $p>0.05$ (Tabla III). Los organismos a $210 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ murieron en la última semana.

A $21 \text{ }^\circ\text{C}$ ningún organismo sobrevivió más de dos semanas bajo ninguna irradiancia. Mientras que a $24 \text{ }^\circ\text{C}$ ningún organismo sobrevivió más de una semana en ninguna irradiancia.

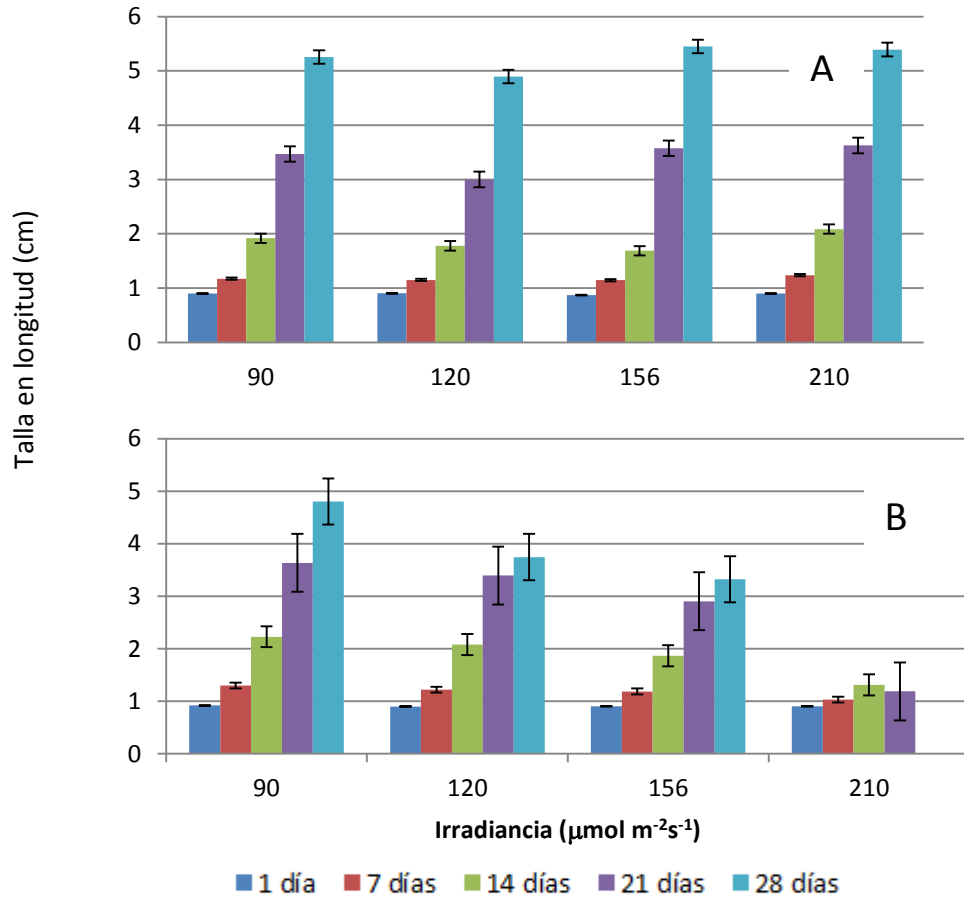


Fig. 1. Longitud promedio por semana (cm) de plántulas cultivadas a 15 °C (A) y 18 °C (B), bajo diferentes irradiancias, durante 28 días de mediciones semanales. Las barras representan el error estándar (n=30).

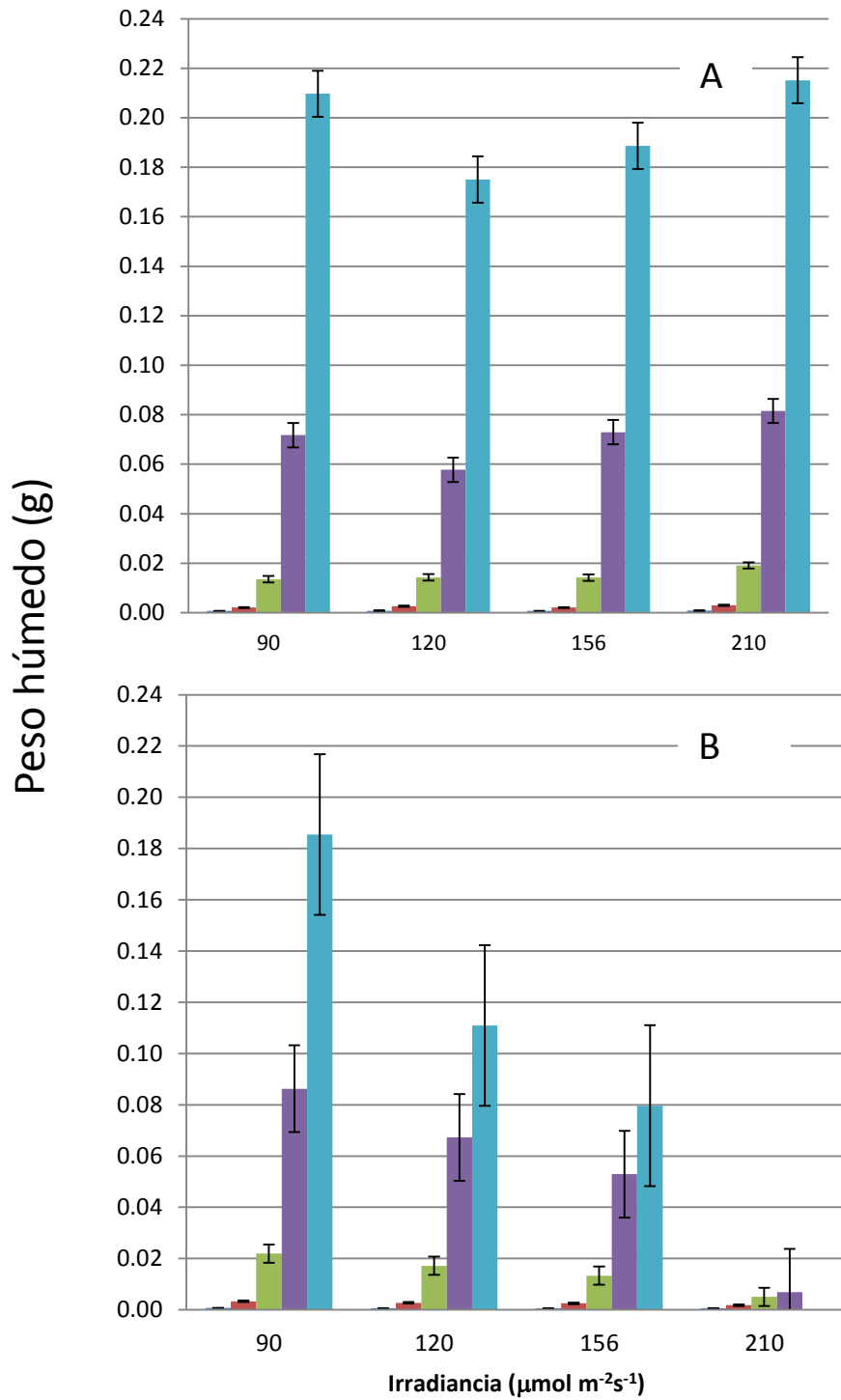


Fig. 2. Peso húmedo (biomasa) promedio por semana (g) de plántulas cultivadas a 15 °C (A) y 18 °C (B), bajo diferentes irradiancias, durante 28 días de mediciones semanales. Las barras representan el error estándar (n=30).

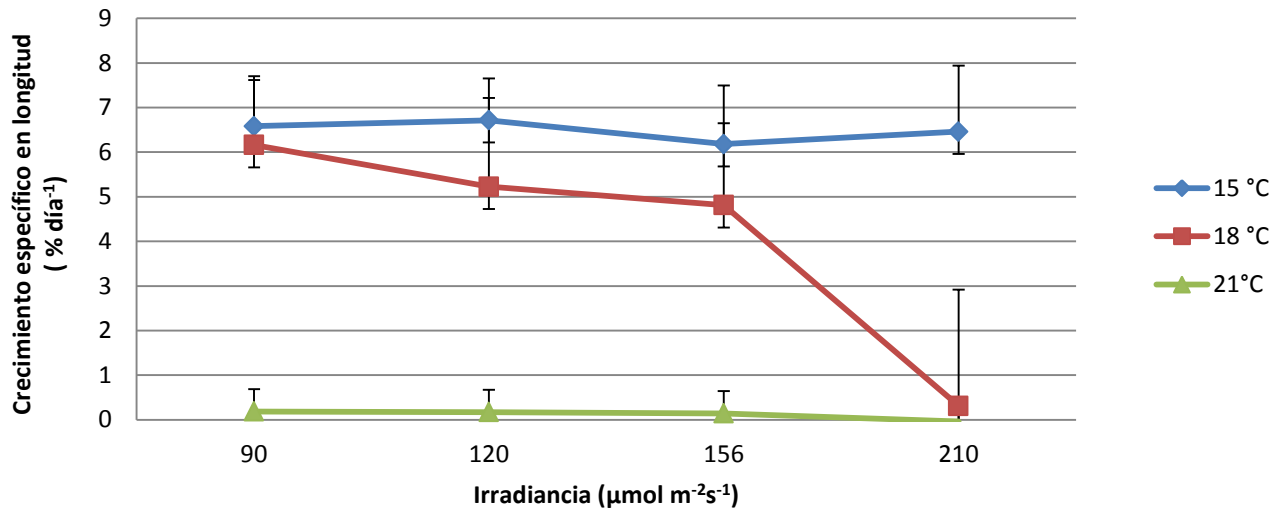


Fig. 3. Promedio de la tasa de crecimiento específico en longitud de juveniles de *E. arborea* en tres temperaturas (15, 18 y 21 °C) bajo diferentes irradiancias (90, 120, 156 y 210 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), en 28 días de experimento. Las barras representan el error estándar (n=30). El tratamiento a 24 °C no se incluye debido a que los organismos sólo sobrevivieron una semana.

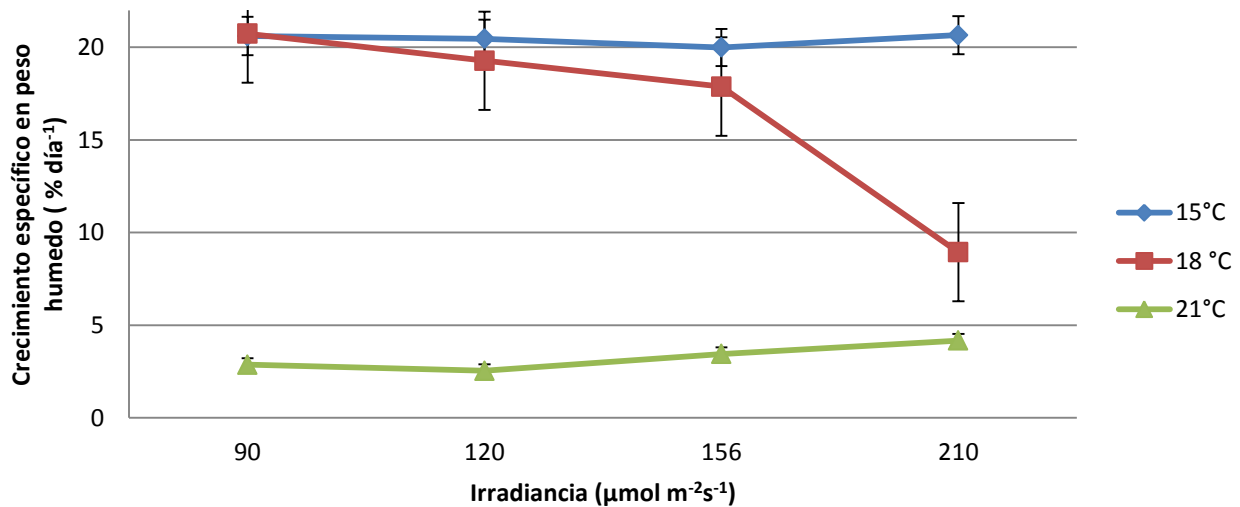


Fig. 4. Promedio de la tasa de crecimiento específico en peso húmedo de juveniles de *Eisenia arborea* en tres temperaturas (15, 18 y 21 °C) a diferentes irradiancias (90, 120, 156 y 210 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) en un 28 días de experimento. Las barras representan el error estándar (n=30). El tratamiento a 24°C no se incluye debido a que los organismos sólo sobrevivieron una semana.

Determinación de supervivencia y recuperación de organismos juveniles de *E. arborea* en dos temperaturas y dos tallas diferentes.

Las tasas de crecimiento específico en los organismos de 1 cm fue negativa cuando fueron expuestos a temperaturas de 24 °C y tuvieron una supervivencia del 47 % (Fig. 5). Sin embargo, cuando se regresan a la condición inicial en la tercera semana (90 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y 15 °C) logran recuperarse un 85 %, hasta alcanzar una tasa de crecimiento específico en peso húmedo del 7.3 % día⁻¹ (Fig. 5).

Los organismos expuestos a 21 °C disminuyen su crecimiento específico a 2.7 % día⁻¹ con una supervivencia del 93 % y se recuperan al 100 % hasta alcanzar una tasa de 11.7 % día⁻¹ cuando se regresan a su condición inicial (Fig. 5). El control (15 °C) mostró una tasa de crecimiento específico del 19.4 % día⁻¹, después de tres semanas. La supervivencia y la recuperación fue del 100 % (Fig. 5).

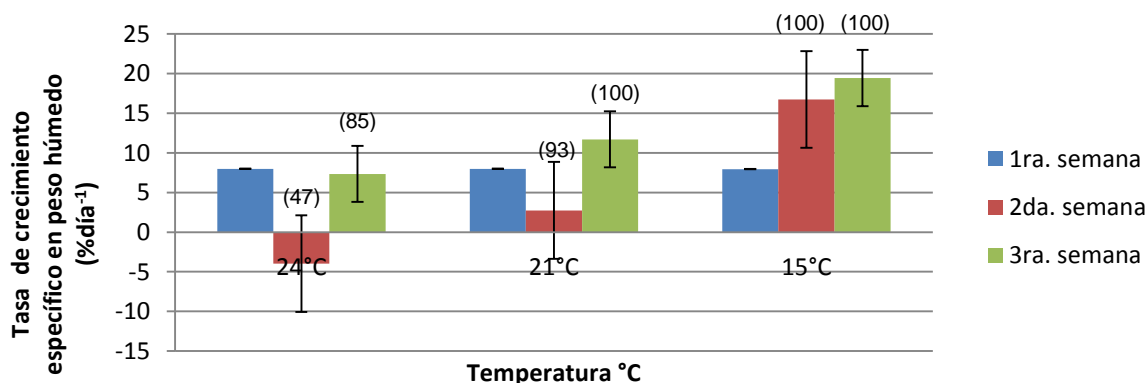


Fig. 5. Tasa de crecimiento específico en peso húmedo en juveniles de *Eisenia arborea* de 1 cm de longitud, sometidos a estrés térmico de 24 y 21°C. Los valores entre paréntesis representan el porcentaje de supervivencia (2da. semana) y recuperación (3ra. semana). Con barras de error de estándar para n=15.

Los organismos de mayor talla (7cm) expuestos a 24 °C tuvieron una tasa de crecimiento específico del 0.5 % día⁻¹, con una supervivencia del 85 % (Fig. 6). Sin embargo, no tuvieron capacidad de recuperación (0 %) una vez trasladados a la temperatura inicial.

A 21°C las algas de 7 cm tuvieron un crecimiento específico del 8.3 % día⁻¹. Una vez trasladadas a la condición inicial incrementaron su crecimiento a 11.91% día⁻¹ (Fig. 6). Los organismos de 7 cm bajo 15°C (control), tuvieron un crecimiento específico de 13.26 % día⁻¹ (Fig. 6). La supervivencia y recuperación tanto para 21 y 15 °C fueron del 100 %.

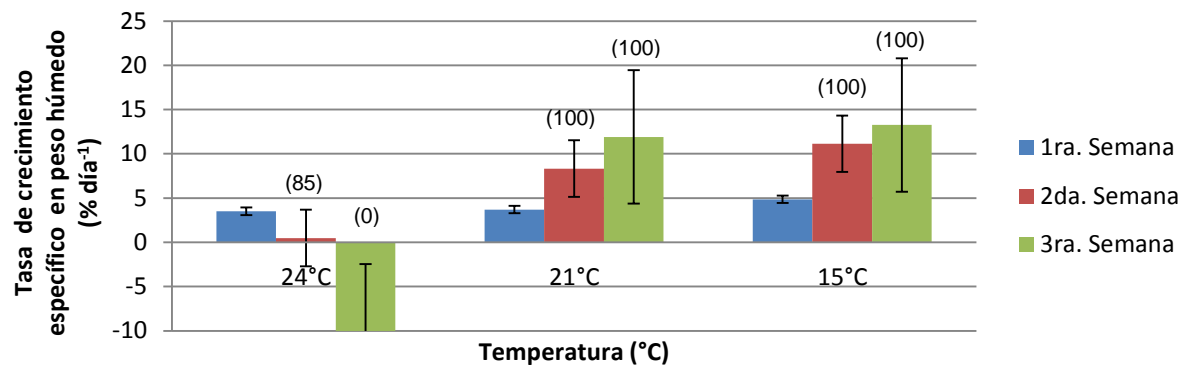


Fig. 6. Tasa de crecimiento específico en peso húmedo en juveniles de *Eisenia arborea* de 7 cm de longitud, sometidos a estrés térmico de 24 y 21 °C. Los valores entre paréntesis representan el porcentaje de supervivencia (2da. semana) y recuperación (3ra. semana). Con barras de error de estándar para n=15.

Análisis estadístico

El análisis estadístico para experimentos de crecimiento óptimo arrojó diferencias significativas ($p > 0.05$) para los diferentes tratamientos tanto de irradiancia y temperatura con un 95% de confianza (Tabla I).

Con respecto a las tasas de crecimiento a 15 °C los tratamiento de irradiancia no presentaron diferencias significativas ($p=0.05$) (Tabla II). Los organismos a 18 °C a excepción de las irradiancias de 210-156 y 156-120 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ presentaron diferencias significativas al 95 % (Tabla III).

El análisis a posteriori para el experimento de crecimiento óptimo para los tratamientos de irradiancia y temperatura entre las temperaturas, se obtuvo que la mayoría de los tratamientos son diferentes con un 95 % de confianza (Tabla IV).

Tabla I. Resultados del análisis a posteriori de la prueba Wilcoxon con la corrección de Kruskal Wallis para dos muestras independientes, del peso húmedo en las diferentes irradiancias y semanas. Donde los valores dentro de la tabla representan las H calculadas.

210 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$	156 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$	120 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$	90 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$	
5.13 *	3.09	11.26 *	6.47 *	1ra
24.97 *	3.1	6.294 *	7.48 *	2da
23.03 *	3.033	3.84	3.32	3ra
N/d	31.86 *	23.12 *	5.43 *	4ta

* = significativamente diferentes

Tabla II. Resultados del análisis de la prueba Wilcoxon para muestras independientes para las tasas de crecimiento específico en peso húmedo. Los valores dentro de las tablas representan las TL y TU calculadas en la temperatura de 15 °C.

TL	TU	Tratamientos comparados
16.5	19.5	210-156 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$
15.5	20.5	210-120 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$
15.5	20.5	210-90 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$
17.5	18.5	156-120 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$
16.5	19.5	156-90 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$
16.5	19.5	120-90 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$

* = significativamente diferentes

Tabla III. Resultados del análisis de la prueba Wilcoxon para muestras independientes para las tasas de crecimiento específico en peso húmedo. Los valores dentro de las tablas representan las TL y TU calculadas en la temperatura de 18 °C.

TL	TU	Tratamientos comparados
15.5	19.5	210-156 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$
13.4 *	28 *	210-120 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$
11 *	22.5 *	210-90 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$
17.5	18.5	156-120 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$
9.5 *	19.5 *	156-90 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$
16.5 *	24.3 *	120-90 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$

* = significativamente diferentes

Tabla IV. Resultados del análisis a *posteriori* de la prueba Wilcoxon con la corrección de Kruskal Wallis para dos muestras independientes, con respecto a las diferentes irradiancias y temperaturas (15 y 18 °C). Donde los valores dentro de la tabla representan las H calculadas

	210-156 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$	210-120 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$	210-90 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$	156-120 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$	156-90 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$	120-90 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$
15 °C	7.41 *	4.84 *	3	4.02*	7.39 *	4.48*
18 °C	N/d	N/d	N/d	13.71*	41.37*	23.96*

* = significativamente diferentes

Discusión

Los resultados del presente estudio muestran que es posible incrementar el crecimiento de juveniles de *E. arborea* en cultivo cuando se exponen a irradiancias mayores a las que se encuentran típicamente en el medio ambiente ($56 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$). Se observó que el crecimiento de *E. arborea* se satura con irradiancias hasta un 100 % superiores que en el medio natural (90 y $120 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$). Mayores irradiancias no parecen afectar a las plántulas a 15°C pero sí a temperaturas de 18°C o mayores.

Estos resultados soportan la hipótesis expuesta por Dayton *et al.* (1999) quienes sugieren que en las costas de California el crecimiento de *E. arborea* es inhibido debido al sombreado de mantos de *M. pyrifera*. Un caso similar sería el de *E. bicyclis* en Japón donde la germinación de las esporas es inhibida por el sombreado de *Ecklonia cava* (Maegawa *et al.* 1987). En el presente trabajo el incremento en la irradiancia permitió que los juveniles de *E. arborea* crecieran a tasas similares reportadas por Kopczak *et al.* (1991) para juveniles de *M. pyrifera* (20.7 % día⁻¹ y 20 % día⁻¹ respectivamente), cuando los juveniles *E. arborea* se cultivaron entre 15 y 18°C (Fig. 4).

Dean y Jacobsen (1984) reportaron que aun cuando la irradiancia, temperatura y nutrientes son importantes en el desarrollo tanto de plantas adultas como juveniles, su importancia relativa en el crecimiento es diferente para cada uno de los estadios de vida.

Matson y Edwards (2007) reportaron que irradiancias mayores a $56 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ pueden afectar el desarrollo de gametofitos de *E. arborea* lo que comprueba que cada estadio requiere condiciones específicas para su desarrollo.

Lüning (1982) observó que el crecimiento de juveniles de *Laminaria ssp.* es menos susceptible a la falta de irradiancia que a nutrientes, ya que los organismos son capaces de almacenar un excedente de carbón y nitrógeno que les permite extender sus periodo de crecimiento aun con una baja irradiancia. Diversos estudios en *M. pyrifera* muestran evidencias donde el crecimiento de plantas adultas durante el verano y el otoño está limitado por nutrientes. Sin embargo, las plantas juveniles están limitadas con mayor frecuencia por la irradiancia y solo ocasionalmente por otros factores (Jackson, 1977; Wheeler y North, 1981; Gerard, 1982).

En nuestro estudio observamos que una temperatura mayor a $18 \text{ }^\circ\text{C}$ puede reducir significativamente la capacidad de juveniles de *E. arborea* para tolerar irradiancias superiores a $120 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Este resultado es particularmente relevante para el cultivo, pues si bien es posible estimular el crecimiento de juveniles expuestos a mayores irradiancias, esto deberá hacerse bajo temperaturas menores a $18 \text{ }^\circ\text{C}$.

Juveniles de *E. arborea* mostraron un mejor crecimiento a una condición de temperatura específica ($15 \text{ }^\circ\text{C}$) al igual que otros sargazos. Por ejemplo, los gametofitos de *Saccorhiza polyschides* presentaron un mayor desarrollo a $10 \text{ }^\circ\text{C}$ mientras que los juveniles tuvieron su máximo crecimiento a $17 \text{ }^\circ\text{C}$ (Conolly y Drew, 1985). Juveniles de *Laminaria saccharina* cultivados a $10 \text{ }^\circ\text{C}$ presentaron mayores tasas de crecimiento que aquellos que se mantuvieron a $17 \text{ }^\circ\text{C}$ (Kain, 1979). En *Pterygophora californica* el desarrollo de los gametos se inhibió a $18 \text{ }^\circ\text{C}$ (Matson y Edwards, 2007).

Trabajos anteriores sugieren que los adultos de *E. arborea* son más tolerantes a alta temperaturas en comparación con *M. pyrifera*. La amplia distribución latitudinal de *E. arborea* la ubica como una especie euritermal (Abbott y Hollenberg, 1976), sin embargo, la fase gametofita de *E. arborea* es incapaz de sobrevivir a temperaturas mayores a $20 \text{ }^\circ\text{C}$ (Matson y Edwards, 2007), al igual que la fase juvenil de 1 cm como mostraron los resultados del presente trabajo (Fig. 1 y 2). Este comportamiento nos hace suponer que el

reclutamiento de la etapa juvenil en el sur de la distribución de *E. arborea* ocurre sólo en meses fríos.

En nuestro estudio fue evidente que la tolerancia a estrés térmico en los primeros estadios esporofitos varía aun entre organismos juveniles de diferentes tallas. Los organismos de 1 cm tienen una mejor recuperación a estrés térmico, mientras que los organismos de 7 cm tienen una mayor supervivencia pero menor recuperación. Estos resultados coinciden con Davison y Pearson (1996) quienes reportaron que la capacidad de recuperación a un evento de estrés térmico con frecuencia va más allá de la aclimatación fenotípica pues depende de la especie y del estadio.

La relativa alta mortalidad de los plántulas de 1 cm quizás se explique por el hecho de que son organismos con un mayor metabolismo, con tasas de crecimientos hasta 46 % más altas que los organismos de mayor talla (7cm), haciéndolos más sensibles a condiciones de estrés (Lobban y Harrison, 1994).

Nuestro trabajo concuerda con lo observado en *M. pyrifera* por Ladah *et al.* (2007) quienes reportaron que esporofitos juveniles tienen una menor capacidad de recuperación a estrés térmico, en comparación con las fases haploides y más pequeñas. Los mismos autores, sin embargo, mostraron que la recuperación de los esporofitos juveniles fue mayor cuando se expusieron a condiciones de sub-saturación de irradiancia, lo cual no fue probado en este estudio.

Este trabajo contribuirá establecer protocolos para el mejor desarrollo de juveniles de *E. arborea* en el laboratorio mediante el incremento en irradiancias a temperaturas controladas (<18 °C) y permitirá establecer criterios que incrementen la posibilidad de éxito cuando las plántulas son trasladadas al mar.

Referencias

- Abbott I A y Hollenberg G J. 1976. Marine algae of California. Stanford University Press. 827pp.
- Bold C H and Wynne M J. 1978. Introduction to the Algae. Structure and Reproduction. Prentice Hall, New Jersey. 706 pp.
- Conolly N J y Drew E A. 1985. Physiology of *Laminaria*. III. Effect of a coastal eutrophication gradient on seasonal patterns of growth and tissue composition in *L. digitata*. Y *L. saccharina*. Mar Ecol 6:181–95.
- Davison I R y Pearson G A. 1996. Stress tolerance in intertidal seaweeds. J Phycol 32:197-211.
- Dayton P K, Tegner M J, Edwards P y Riser K. 1999. Temporal and spatial scales of kelp demography: the role of oceanographic climate. Ecological monographs. 69:219-250. Ecological society of America.
- Dean T y Jacobsen F R. 1984. Growth of juvenile *Macrocystis pyrifera* (Laminariales) in relation to environmental factors. Mar Biol 83:301-11.
- Gerard V. 1997. The role of nitrogen nutrition in high temperature tolerance of the kelp *Laminaria saccharina* (Chromophyta). J Phycol 33:800-810.
- Gerard V A. 1982. Growth and the utilization of internal reserves by the giant kelp *Macrocystis pyrifera* in a low nitrogen environment . Mar Biol 66:27-35.
- González-Avilés J G y Shepherd S A. 1996. Growth and survival of the blue abalone *Haliotis fulgens* barrels at Cedros Island, Baja California with a review of abalone barrel culture. Aquaculture 140: 169-176.
- Graham M H. 1996. Effect of high irradiance on recruitment of the giant kelp *Macrocystis* (Phaeophyta) in shallow water. J Phycol 32:903-906.
- Hernández-Carmona G S, Carrillo D L, Rodríguez Y E, Murillo Álvarez J I, Muñoz Ochoa M, Castillo R M. 2009. Monthly variation in the chemical composition of *Eisenia arborea* J.E. Areschoug. J Appl Phycol 21:607-616.
- Hollenberg G J. 1939. Culture studies of marine algae in *Eisenia arborea*. Amer J Bot Vol.26.
- Jackson G A. 1977. Nutrients and production of giant kelp, *Macrocystis pyrifera*, off southern California. Limnol Oceanogr 22:979-995.

- Kain J M. 1979. A view of the genus *Laminaria*. Mar Biol Ann 17:101-161.
- Kopczak C D, Zimmerman R C y Kremer J N. 1991. Variation in nitrogen physiology and growth among geographically isolated populations of the giant kelp, *Macrocystis pyrifera* (Phaeophyta). J Phycol 27:149-158.
- Ladah L, Zertuche-González J A, Hernández-Carmona G .1999. Rapid recovery giant kelp (*Macrocystis pyrifera*, Phaeophyceae) recruitment near its southern limit in Baja California after mass disappearance during ENSO 1997-1998. J Phycol 35:1106-1112.
- Ladah L y Zertuche-González J A. 2007. Survival of microscopic stages of a perennial kelp (*Macrocystis pyrifera*) from the center y the southern extreme of it range in the Northern Hemisphere after exposure to simulated El Niño stress. Mar Biol 152:677-686.
- Lobban C S, Wynne M J. 1981. Botanical Monographs: The Biology of Seaweeds. Blackwell Specific Publications. University of California. 786 pp.
- Lobban C S y Harrison P J. 1994. Seaweed ecology and physiology. Cambridge University. 367 pp.
- Lüning K. 1980. Critical levels of light and temperature regulating the gametogenesis of three laminaria species (Phaeophyceae). J Phycol 16:1-15.
- Lüning K. y Bolton J J. 1982. Optimal growth y maximal survival temperatures of Atlantic Laminaria species (Phaeophyta) in culture. Mar Biol 66:89-94.
- Lüning K. 1990. Seaweeds their environment, biogeography, and ecophysiology. Wiley Interscience publication. USA, 527 pp.
- Maegawa M, Yokohama Y y Aruga Y.1987. Critical light conditions for young *Ecklonia cava* and *Eisenia bicyclis* with reference to photosynthesis. Hydrobiology 151/152:447-455.
- Matson P G y Matthew E. 2007. Effects of ocean temperature on the southern range limits of two understory kelps, *Pterygophora californica* and *Eisenia arborea* at multiple life-stage. Mar Biol 151:1941-1949.
- Merrill J E y Gillingham D M. 1991. Bull kelp cultivation handbook. Seattle, Washington. Applied algal research Co.
- Miller S M y Hurd C L. 2011. Variations in growth, erosion, productivity and morphology *Ecklonia radiata* (Alariaceae; Laminariales) along a fjord in southern New Zealand. J Phycol 47:505-5.

- Parada G M, Riosmena-Rodríguez R, Martínez E y Hernández-Carmona G. 2009. Dinámica poblacional de *Eisenia arborea* Areschoug (Laminariales: Ochrophyta) en el intermareal de Punta Eugenia, Baja California Sur, México. *Ciencias y Mar* 39:3-13.
- Sánchez-Barredo M, Ladah L B, y Zertuche-González J A. 2011. Nitrate uptake and duration of internal nitrogen reserves in the kelp *Eisenia arborea*. *Bot Mar* 54:441- 446.
- Serviere-Zaragoza E, Mazariegos-Villareal A, Reynoso-Granados T, Robles R, Monsalvo S P, Ponce Díaz G, Castro A y Hernández A. 1998. Patterns of growth of juvenile pink abalone *Haliotis corrugata* fed rehydrated natural feeds at laboratory and a hatchery. *Aquac Nutrit* 15: 241-246.
- Wheeler P A y North W J. 1981. Effect of nitrogen supply on nitrogen content and growth rate of juvenile *Macrocystis pyrifera* (Phaeophyta) sporophytes. *J Phycol* 16:577-582.
- Zertuche-González J A. 1990. Temas de Oceanografía: Macroalgas y el desarrollo de su cultivo. Biológica en México. Rosa Vélez J. de la y F. González Farías. Ensenada. 337 pp.
- Zertuche-González J A., Sánchez-Barredo M, Guzmán-Calderón J M, Altamirano-Gómez Z. 2013. *Eisenia arborea* J.E. Areschoug as abalone diet on an IMTA farm in Baja California, México. *J Appli phycol* 26:957-960.
- Zimmerman R C. 1983. Seasonal patterns in productivity of a giant kelp (*Macrocystis pyrifera*) forest: the effect of nutrient availability. Ph.D. dissertation, University of Southern California. 182 pp.