

UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE

**FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOLOGIA MARINA**

**Profesor Patrocinante
Dr. RENATO WESTERMEIER H.
Instituto de Acuicultura.
Campus Puerto. Montt.
Universidad Austral de Chile**

VARIACIÓN MENSUAL DE LOS CONTENIDOS ENÉRGICOS, PORCENTAJE DE RENDIMIENTO DE CARRAGENANOS Y ANÁLISIS QUÍMICO DE LOS CARRAGENANOS EN LAS FASES DEL CICLO DE VIDA DE Chondrchantus chamissoi (C.Agardh) Kutzing,1843 (Rhodophyta,Gigartinales) EN COQUIMBO CHILE.

Tesis de grado presentada como parte
de los requisitos para el título de
Biólogo Marino.

**MACARENA HERRERA ABAROA
VALDIVIA - CHILE
2005**

AGRADECIMIENTOS

A mi profesor patrocinante, Dr. Renato Westermeier por su comprensión, paciencia y al financiamiento de este trabajo a través de un proyecto FONDECYT. A nuestro Director de Escuela, Dr. Carlos Bertrán, por estar atento a solucionar los problemas surgidos en estos años. A mis profesores informantes, MSc. Alejandro Bravo y Dr. Jorge Jaramillo por su buena disposición. A Alonso Vega por su contribución a “desenterrar” las variables abióticas que fueron obtenidas por él mismo, al igual que por la obtención de macroalgas colectadas en Coquimbo. A Jaime Zamorano y a la Empresa Gelymar por su cooperación en los análisis de los contenidos químicos de los carragenanos. Al Dr. Francisco Borrás y Cristián Campusano en la redacción y compaginación de este trabajo. A mis amigos Cristián Campusano y Pamela Lara por entregarme un espacio de su intimidad y el material necesario para culminar este trabajo. A mi amiga Leyla Martínez por su disposición a efectuar trámites administrativos a la distancia.

INDICE DE CONTENIDOS

	Pág.
Agradecimientos.....	2
Indice de contenidos.....	3
Indice de Figuras.....	6
Indice de tablas.....	7
1.RESUMEN.....	8
2.ABSTRACT.....	9
3.INTRODUCCIÓN.....	10
Hipótesis.....	11
Objetivo general.....	12
Objetivos específicos.....	12
4. MATERIALES Y METODOS.....	13
4 .1. Material.....	13
a) Características de la especie.....	13
b) Ciclo de Vida.....	13

c) Caracterización del Area de Estudio.....	14
4.2 Metodología.....	14
a) Determinación de la Biomasa y número de individuos.....	14
b) Determinación fenofases del ciclo de vida de <i>Chondracanthus chamissoi</i>	15
c) Determinación de proteína cruda.....	17
d) Determinación del contenido de lípidos totales	18
e) Determinación del rendimiento de Carragenanos.....	19
f) Cuantificación de los contenidos químicos de los carragenanos.....	19
Cuantificación de 3,6 Anhidro.....	19
Cuantificación de D-Galactosa mediante análisis enzimática.....	21
g) Cuantificación de Sulfatos.....	23
h) Variables Abióticas.....	24
i) Análisis Estadístico.....	25
5. RESULTADOS.....	26
5.1 Caracterización poblacional (número de individuos/m ²) y de fenofase.....	26
5.2 Contenidos de proteína cruda.....	26
5.3 Contenidos de lípidos Totales.....	27
5.4 Contenidos de rendimiento de carragenanos.....	27
5.5 Cuantificación de los contenidos de los carragenanos.....	28
Cuantificación de 3,6 anhidro galactosa.....	29
Cuantificación de D-Galactosa.....	29
5.6 Cuantificación de Sulfato.....	30
5.7 Variables abióticas.....	30

5.8 Análisis estadístico.....	30
6.DISCUSIÓN.....	31
7.CONCLUSIONES.....	38
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	40
ANEXO FIGURAS.....	50
ANEXO TABLAS.....	64

INDICE DE FIGURAS

FIGURA 1.- Ubicación geográfica de la Bahía de La Herradura.....	51
FIGURA 2.- Ciclo de Vida de <i>Chondracanthus chamissoi</i>	52
FIGURA 3.- Variación del número de individuos por metro cuadrado de cada fenofase.....	53
FIGURA 4.- Contenidos proteicos versus fenofase.....	54
FIGURA 5.- Contenidos lipídicos versus fenofase	55
FIGURA 6.- Contenidos de carragenanos versus fenofase	56
FIGURA 7.- Contenidos de 3,6 anhidrogalactosa	57
FIGURA 8.- Contenidos de D-Galactosa	58
FIGURA 9.- Contenidos Sulfato esterificado.....	59
FIGURA 10.- Variación de la temperatura versus meses.....	60
FIGURA 11.- Variación del fotoperiodo versus meses	61
FIGURA 12.- Variación de la irradianza versus meses	62
FIGURA 13.- Variación de la turbidez versus meses.....	63

INDICE DE TABLAS

TABLA I. Análisis de varianza para el N° de individuos cistocárpicos de <i>Chondracanthus chamissoi</i> en las fases reproductivas.....	65
TABLA II. Análisis de varianza para el N° de individuos vegetativos de <i>Chondracanthus chamissoi</i> en las fases reproductivas.....	65
TABLA III. Análisis de varianza proteína de <i>Chondracanthus chamissoi</i> en las fases reproductivas.....	66

1. RESUMEN

Chondranchanthus chamissoi, Rhodophyta endémica del extremo Sur de Sudamérica, es intensamente extraída debido a que sintetiza polisacáridos sulfatados de muy buena calidad, que pertenecen a la familia de los carragenanos. Su contenido en proteínas, lípidos y carragenanos, incluidos los compuestos químicos de éstos, dependen de la estacionalidad y de las fenofases en su ciclo de vida. Estos contenidos fueron analizados química y estadísticamente en cada mes y cada fase reproductiva y se relacionaron con los factores ambientales. Los contenidos energéticos mostraron un patrón estacional tanto para lípidos, proteínas, carragenanos, como para los compuestos químicos derivados de los carragenanos. Aunque los mayores índices en lípidos y proteínas se concentran en otoño–invierno, en el caso de los carragenanos los máximos se alcanzan en los meses de primavera–verano. Por otro lado, dentro de los componentes de los carragenanos, los valores de D-Galactosa y de sulfato esterificado, presentan sus máximos en otoño–invierno, mientras que los valores máximos de 3,6-anhidrogalactosa se observan en verano. Solo se presentan diferencias significativas en los valores de proteínas con las diferentes fases reproductivas y en el número de individuos a través de los meses del año.

2. ABSTRACT

Chodrachanthus chamissoi,; an endemic Rhodophyta from the extreme south of South America, is intensively extracted due to its ability to synthesize high quality sulphated polysaccharides belonging to the family of carrageenans. Its nutritional content in proteins, lipids, carrageenans, and chemical compounds derived from carrageenans, is dependant on the season as well as on the fenofases from its life cycle. These contents were analysed chemically and statistically every month during each reproductive phase. The results thus obtained, were correlated with environmental factors in order to assess the most convenient time to extract this carrageenophyte to avoid affecting its natural abundance. It was found that the nutritional content of lipids, proteins, carrageenans and chemical compounds derived from carrageenans was season dependant. Although higher indices of lipids and proteins were found during autumn-winter, the maximum value for carrageenans was detected during spring-summer. Moreover, carrageenan-derived compounds such as D-galactose and ester sulphates, showed their maximum values during autumn-winter, whereas 3,6-anhydrous galactose showed its maximum during summer. Only they present significant differences in the values of proteins with the different reproductive phases and in the individual number of *Chodrachanthus chamissoi*, across the months of the year.

3. INTRODUCCIÓN

La demanda de las algas de la División Rhodophyta, va ligada necesariamente, a la extracción de polisacáridos sulfatados como los carragenanos, que son utilizados en una amplia variedad de alimentos. Aproximadamente el 80% de la producción anual va destinada a la industria alimenticia, especialmente en productos de primera necesidad, también como agentes suspensores en la industria farmacéutica y cosmetológica (Zamorano, 1992). El recurso *Chondracanthus chamissoi*, como tal está siendo requerido por el mercado nacional e internacional para uso alimentario y como materia para la extracción del carragenano.

Chondracanthus chamissoi (C.Agardh) Kutzing , (1843) , es una Rhodophyta del Orden Gigartinales que se distribuye desde Perú hasta Chiloé (Chile) ubicados en 12° 2` S y 77° 1` W (<http://es.wikipedia.org/wiki/Geog>) hasta 43° 20` S y 74° 19` W respectivamente. (<http://www.fundacionfuturo.cl/>)

Es una especie morfológicamente muy variable que habita entre 0-20 m. de profundidad, en bahías tranquilas y abrigadas, con suficientes corrientes de agua como la bahía de Coquimbo. (Santelices, 1988, Castilla et al. 1976). Su afinidad por las rocas cubiertas de algas calcáreas características de nuestro sistema sublitoral, hace que su colecta sea asociada a Gracilaria, (Castilla et al. 1976). Las algas productoras de carragenanos se caracterizan por sus propiedades viscosas y resuspendedoras de partículas, tiene múltiples aplicaciones, (Walland, 1981). Desde 1960, el recurso es procesado como algas verdes o rojas y vendido al mercado japonés como un producto comestible (Alveal et al., 2003). El ficocoloide carragenina,

comenzó a producirse en Chile en 1989, con 26 ton., luego en 1997 alcanzó las 1282 ton., llegando a una producción actual de 1665 ton. (SERNAPESCA, 2003). Estos valores de producción determinan la importancia comercial de las especies del género *Gigartina*, *Sarcothalia*, *Mazzaella* y *Chondracanthus*.

Pese a la gran relevancia económica, no existen mayores antecedentes en relación a la biología y ecología de *Chondracanthus chamissoi*. Sólo un estudio fenológico descrito por González (1993) que ayuda a tomar decisiones para desarrollar políticas de manejo de este recurso. Como consecuencia de lo anterior es que este estudio determina aspectos de su biología reproductiva, contenidos energéticos y químicos.

El presente trabajo pone a prueba la siguiente hipótesis:

La variación de los contenidos energéticos y químicos, tales como proteínas, lípidos y porcentaje de rendimiento de carragenanos y los compuestos químicos de los carragenanos dependen directamente de la estacionalidad y de las fenofases presentes en el ciclo de vida.

Para poner a prueba esta hipótesis se propusieron los siguientes objetivos:

OBJETIVO GENERAL

Analizar los aspectos biológicos, energéticos y químicos del alga carragenófito *Chondracanthus chamissoi*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Establecer el número de individuos por metro cuadrado y su distribución en las diferentes fenofases (biomasa) de *Chondracanthus chamissoi* en la bahía de La Herradura, Coquimbo.
- b) Caracterizar los contenidos de proteínas en las diferentes fenofases de *Chondracanthus chamissoi*.
- c) Caracterizar los contenidos de lípidos en las diferentes fenofases de *Chondracanthus chamissoi*.
- d) Determinar la variabilidad mensual de los rendimientos de carragenanos para las diferentes fenofases de *Chondracanthus chamissoi*.
- e) Determinar y cuantificar los contenidos químicos de los carragenanos: Sulfatos, 3,6 Anhidrogalactosa y D-Galactosa para las diferentes fenofases de *Chondracanthus chamissoi*.
- f) Evaluar estadísticamente si existe correlación de los parámetros físico-químicos con los contenidos energéticos, de rendimiento de carragenanos y de contenidos químicos de los carragenanos.

4. MATERIAL Y METODOS

4.1 Material

a) Caracterización de la especie

Chondracanthus chamissoi (C.Agardh) Kutzing , (1843) , es una Rhodophyta del Orden Gigartinales. Se conoce de su presencia en Perú y Chile, En Chile, se registra desde Iquique 20° 32' S y 70° 11' W a Chiloé , 43° 20 S y 74° 19 W respectivamente.

(<http://www.fundacionfuturo.cl/> ,http://www.meteochile.cl/climas/climas_localidades.html#iquique)

Ramirez & Santelices (1991), Westermeier, (1982).

Presenta una morfología variable que habita entre 0-20 m. de profundidad, en bahías tranquilas y protegidas del oleaje, abrigadas con suficientes corrientes de agua como la bahía de Coquimbo, (Fig.1).

b) Ciclo de vida

Posee un ciclo de vida del tipo Polisiphonia, con alternancia isomórfica de generaciones (Fig.2). Los espermacios del gametofito masculino son transportados por el agua al gametofito femenino, donde se produce la fecundación de la célula huevo. Este cigoto formado va a originar la fase carposporofítica. Del carposporangio de esta fase se originan las carpósporas 2n, que al fusionarse originan la fase tetrasporofítica (2n) En el tetrasporangio de esta planta se produce la meiosis, la que generará las tetrásporas, que en un 50% originarán gametofitos femeninos y el 50% restante, masculinos.

c) Caracterización del area de estudio

La Herradura del Guayacán está a una altura de 50 metros sobre el nivel del mar. Se accede directamente a la Ruta 5 Norte, y su playa tiene una longitud aproximada de 2 kilómetros hacia la costa; ubicados a $29^{\circ} 58,5' S$ y $071^{\circ} 51,5' W$. (Fig.1).

http://www.directemar.cl/R_Locales/0601007.htm

Posee un clima de estepa con abundante nubosidad, cuyo elemento más relevante es la presencia de aire subtropical y el mar frío adyacente que provee la humedad. Los registros dan un promedio de 74.3 días despejados en el año y 113.8 días cubiertos. (I.D.E.A.M.,2004).

La media anual de humedad relativa es de 78 a 81%; estos valores, permiten advertir que no existen variaciones muy marcadas a lo largo del año. Más significativa, es la variación diaria de la humedad, que sigue el ritmo de la nubosidad, con un máximo en las mañanas y un mínimo después del mediodía, para retomar la curva ascendente al atardecer. (I.D.E.A.M.,2004).

Las precipitaciones anuales son un poco superiores a los 100 mm. El régimen térmico, está moderado fuertemente por la influencia oceánica y la alta nubosidad reinante, lo que se advierte en el hecho que las temperaturas mínimas no alcancen a $0^{\circ}C$ y, que las máximas, no superen nunca los $30^{\circ}C$, observándose una media anual de $14.4^{\circ}C$. (I.D.E.A.M.,2004).

4.2 Metodología

a) Determinación del número de individuos

Las muestras fueron recolectadas en la Bahía de La Herradura mediante buceo autónomo, a una profundidad aproximada de 10 m. El número de cuadrantes utilizados fue 10, que fueron puestos al azar en la población natural de *Chondracanthus chamissoi*. Dichas muestras fueron

puestas en una bolsa de polietileno y llevadas al laboratorio donde se determinó el número de individuos y se analizó macro y microscópicamente, las diferentes fenofases que se presentaban en cada muestra. Luego fueron clasificadas por fenofases; carposporofitos, tetrasporofitos y gametofitos, o bien fases cistocárpica, tetraspórica y vegetativa respectivamente. Posteriormente se procedió a contabilizar el número de individuos de cada fenofase por cada cuadrante medido. Una vez establecidos el número de individuos por cada cuadrante, se procedió a calcular el número total de individuos por cada fase, a través de una sumatoria simple de los individuos de cada fenofase identificados en los cuadrantes medidos por cada mes en valores se representan en número de individuos por metro cuadrado.

b) Determinación de las fenofases del ciclo de vida de *Chondracanthus chamissoi* .

Para determinar la fase gametofítica, se utilizó además el método Resorcinol (Garbary & De Wreede 1988), mientras que la fase carposporofítica y tetrasporofítica fue identificada microscópicamente.

Este, se realizó a través de la siguiente metodología:

1. Se introdujo una pequeña muestra de la fronda en un tubo de ensayo la cual se seca previamente, para lo cual se puede utilizar un trozo de toalla nova.
2. Se adicionó dos ml., de reactivo resorcinol – acetal. No pipetear el reactivo con la boca.
3. Se puso el tubo de ensayo con la muestra y el reactivo en un baño de agua (baño María) por 60 segundos a 80° - 90° C.

4. Remover el tubo de baño de agua (baño María) y notar el color de la mezcla reactiva.
Pérdida de color o reacción muy suave indica que las frondas son tetrasporofíticas;
reacciones de coloración rosada a roja indican que las frondas son gametofíticas.

1. Solución Stock de Resorcinol (mantener por una semana).

- a) Adicionar 150 mg., de Resorcinol a 100 ml., de agua destilada.
- b) Adicionar 9 ml de solución stock (1 a 100 ml., de ácido clorhídrico concentrado (HCL)).

2. Solución Stock de Acetal (mantener por 3 semanas).

- a) Adicionar 0,1ml. de acetal de 10 ml. De agua destilada.
- b) Diluir un ml de (2 a) en 25 ml de agua destilada.

Adicionar un ml de la solución diluida (2b) a (1b), y esta solución final corresponde al reactivo test resorcinol- acetal, que es adicionado a los trozos de fronda.

Las muestras una vez lavadas y desprendidas de epífitos, se colocaron en una estufa de secado a 60 °C, hasta peso constante. A continuación y una vez secas, las muestras fueron trituradas y pulverizadas con ayuda de un molinillo. El material obtenido fue colocado en bolsas de polietileno con la rotulación correspondiente.

c) Determinación de proteína cruda

Este método fue descrito en Steubing (1965) y consiste en llevar a un digestor por 1 hora 30 minutos a 350 °C, las muestras pesadas con una pequeña cantidad de selenio y 2 ml de ácido sulfúrico concentrado.

Este procedimiento fue utilizado para la estimar el contenido de proteínas y se hizo en base a la cantidad de nitrógeno total presente en 0,2 g de muestra, sometiéndola a una digestión con ácido sulfúrico concentrado y selenio, y a la destilación en un microkjeldahl.

Luego que los tubos que contienen las muestras están fríos, se le adiciona a cada uno de ellos 50 ml de agua destilada. Mientras que al mismo tiempo, se prepara en un matraz de boca ancha, 15 ml de ácido bórico con 8 gotas del indicador azul de metileno y rojo de metilo; ambas preparaciones se llevan al destilador, el cual le adiciona automáticamente a la muestra 20 ml de hidróxido de sodio concentrado y se inicia la destilación por seis minutos.

El amoniaco destilado se transforma en ion amonio y el ácido bórico a ion borato, reacción que se hace evidente a través de una coloración verde claro. Luego esta solución se titula con ácido clorhídrico 0,1 N hasta un gris violáceo, para obtener así el porcentaje de nitrógeno a porcentaje de proteína cruda, según los cálculos matemáticos que se indican a continuación:

$$\% \text{ Nitrógeno total} = \frac{\text{Consumo HCl (ml)} \times N \times 14 \times 100}{\text{Peso muestra} \times 1000}$$

$$\% \text{ Proteína total} = \frac{\text{Consumo HCl (ml)} \times N \times 14 \times 6,25 \times 100}{\text{Peso muestra} \times 1000}$$

En que, N = Normalidad de HCl

14 = Relación 1 ml de HCl gastado: 1 ml de nitrógeno

6,25 = Factor de transformación del porcentaje de nitrógeno a porcentaje de proteína cruda.

d) Determinación del contenido de lípidos totales

Este procedimiento fue utilizado para la estimar el contenido de lípidos de acuerdo al método gravimétrico para la extracción y cuantificación de lípidos, descrito por Rougham, (1985). Se realizó a partir de un gramo de alga seca, por extracción con metanol y cloroformo en proporción 1:1, agregándosele a la muestra 5 ml de metanol cloroformo y sometiéndola a una agitación constante por diez minutos, se deja reposar por cinco minutos para que el alga decante y se filtre. El procedimiento se repite una vez más con el fin de extraer todos los lípidos presentes en la muestra.

Una vez efectuados los dos filtrados, se procede a lavarlo con cloruro de sodio al 1% con el propósito de extraer la fracción acuosa de la solución, luego se somete a 60°C por tres días con objeto de secar la fracción lipídica.

Para concluir se realiza el cálculo gravimétrico, por medio de una ecuación matemática, expresando el resultado en g/g alga seca:

$$\text{g lípidos} = [\text{peso crisol} + \text{lípidos (g)}] - \text{peso crisol (g)}$$

e) Determinación del rendimiento de Carragenanos

Este procedimiento fue utilizado para la estimar el contenido de carragenanos; método descrito por Klein et al., (1984), en donde la extracción de este polisacárido se basa en que 1 g. de alga se agita a baño María con 20-30 ml de agua destilada por dos horas a 80°C. A continuación la mezcla se centrifuga a 4000 rpm. y el sobrenadante se centrifuga y se precipita en etanol al 98% (aproximadamente, cinco veces su volumen), finalmente el precipitado se filtra al vacío y se seca a 60°C hasta peso constante.

Una vez seco el polisacárido se pesa en una balanza Sartorius de 0,1 mg de precisión y se calcula el porcentaje de rendimiento en base a la siguiente fórmula:

$$\% \text{ rendimiento de carragenanos} = (\text{crisol} + \text{muestra}) - \text{crisol} * 100$$

f) Cuantificación de los contenidos químicos de Carragenanos:

Cuantificación de 3,6-anhidrogalactosa

Este procedimiento fue utilizado para la estimar el contenido de 3,6 anhidrogalactosa y es un método exclusivo de la empresa Gelymar (ubicada en Llanquihue) y está fundamentado por Yaphe & Arsenault (1956). En que se disuelve en un matraz aforado de 100 ml, entre 11 y 13 mg de muestra (carragenina) con 70 ml de agua destilada 80°C. Una vez disuelta en su totalidad, se aforó a 100 ml con agua destilada. A continuación en un tubo de ensayo de 20 ml se adicionó 1

ml de la muestra diluída y 10 ml del reactivo resorcinol. Este procedimiento se debe realizar bajo campana extractora de gases, tapando los tubos, agitando en Vortex y calentar la muestra en un baño termostático a 80°C por exactamente 10 minutos.

Se enfría la muestra en baño de agua y hielo por 20 minutos, transcurrido este tiempo, se agitan los tubos en Vortex. Se debe leer la absorbancia contra un blanco a 55 nm, antes de 15 minutos.

El porcentaje de 3,6-anhidrogalactosa se calculó en base a la siguiente fórmula:

$$\% \text{ 3,6 anhidrogalactosa} = \frac{\text{Abs}_{555\text{nm}} \times V_t \times 100}{k \times m \times V_m \times 1000}$$

Donde:

Abs _{550nm}	=	Absorbancia de la muestra a 555 nm
V _t	=	Volumen total de solución de la muestra (100 ml)
V _m	=	Volumen de muestra para análisis de (ml)
m	=	Masa de muestra disuelta en 100 ml (mg)
k	=	Pendiente de la curva
1000	=	Factor de conversión de microgramos (ug) de 3,6- anhidrogalactosa a miligramos (mg)
100	=	Expresión de los resultados en porcentaje.

Paralelamente se elaboró una curva de calibración con la solución estandar de 3,6-anhidrogalactosa 81ug/ml, con una serie de diluciones en los rangos de 0 a 81 ug, tabla según la cual se leyó la absorbancia a 555 nm contra un blanco, a partir del cual se elaboró gráfica de absorbancia v/s concentración de 3,6- anhidrogalactosa , obteniendo así la ecuación de la curva y pendiente a partir de regresión lineal de los datos.

Cuantificación de D-Galactosa mediante análisis enzimático

Este procedimiento fue utilizado para la estimar el contenido de D-galactosa y es un método exclusivo de la empresa Gelymar, el cual está basado en los trabajos de Boehringer Mannheim (1989), Wythe et al. (1984). Se pesan 100 mg de muestra (carragenina) en un tubo de ensayo con tapa rosca y adicionan 15 ml de ácido sulfúrico 0,5 M, hidrolizando por 4 h. en baño María a 100° C (ebullición), agitando la muestra cada 20 minutos, enfriando hasta temperatura ambiente en baño de agua fría. Luego se toma 0,2 ml de hidrolizado y se diluyen a 10 ml en matraz aforado con buffer difosfato, adicionando los volúmenes indicados en la tabla que se muestra a continuación, y sin la adición inicial de la enzima (Gal-DH), mezclar el contenido y leer absorbancia a 340 nm sin corrección del blanco (tiempo inicial, to).

Reactivos	Cubeta UV ml
Solución NAD ⁺	0,200
Solución buffer difosfato	1,000
Agua destilada	1,950
Muestra	0,100
Solución de Gal-DH	0,050
Volumen Total	3,300

Una vez obtenido el valor inicial, se adicionó a la cubeta el volumen correspondiente de enzima Gal-DH, se mezcla bien y se lee la absorbancia a 340 nm cada 30 segundos que llegue a ser constante (tiempo final, tf).

Se realiza este procedimiento dos veces para cada muestra de carragenina hidrolizada.

CÁLCULOS:

$$\text{g D-Galatoso/L} = \frac{V_f \times PM \times \Delta \text{Abs}_{340\text{nm}}}{\epsilon \times A.C. \times V_m \times 1000,00}$$

$$\text{g D-Galactosa/L} = \frac{5,945 \times \Delta \text{Abs}_{340\text{nm}}}{\epsilon}$$

Donde:

Abs _{340nm} tf	=	Absorbancia a tiempo final (Abs. Constante)
Abs _{340nm} to	=	Absorbancia a tiempo inicial
Δ Absorbancia _{340nm}	=	Abs 340nm tf - Abs 340nm to
PM	=	Peso molecular de galactosa (180,16 g/mol)
A.C.	=	Ancho de la cubeta (1,00 ml)
Vf	=	Volumen final (3,3 ml)
Vm	=	Volumen de muestra (0,10 ml)
Transformación de moles a milimoles	=	1000,00
ϵ	=	Coefficiente de Exinción molar para el NAD ⁺ a 340 nm (6,30 mmol ⁻¹ cm ⁻¹)

Porcentaje de D-Galactosa

$$\text{A\%D-Galactosa} = \frac{\text{gGal} \times 10 \times \text{Vth} \times 100}{\text{Vd} \times \text{m}}$$

Donde:

G Gal	=	g D-Galactosa/l
Vd	=	Volúmen diluído a 10 ml (0,2 ml)
Vth	=	Volumen total hidrolizado (15 ml)
m	=	Masa de muestra (mg)

g) Cuantificación de Sulfatos

Este procedimiento fue utilizado para estimar el contenido de Sulfatos y es un método exclusivo de la empresa Gelymar y está basado en los trabajos de Jackson & McCandles , (1978). Se obtiene en base a una solución estándar de sulfato de sodio 100 ug/ml. Pesando en un tubo de ensayo con tapa rosca con capacidad para 20 ml, 100 mg de muestra, adicionando 16 ml de HCl al 1 M y 4 ml de Etanol absoluto. Posteriormente, se pesó cada tubo en balanza analítica, hidrolizando a continuación la muestra por 3 horas a 100° C en baño termoregulado y agitando los tubos cada 1 hora en Vortex. A continuación se enfrían los tubos a temperatura ambiente y después de pesar cada tubo, se llevan al peso inicial, agregándole agua destilada y se vuelve a agitar en el Vortex.

En un tubo de ensayo se toma 100 ul de la muestra hidrolizada, adicionándole 1,0 ml de agua destilada; 1,2 ml de TCA al 8% y 0,6 ml de agarosa al 0.01%. Se mezcla con el Vortex y se incuba a temperatura ambiente por 35 minutos, luego se agita la muestra nuevamente para leer la absorbancia a 500 nm contra un blanco.

El porcentaje de Sulfato libre se calculó en base a la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Sulfato libre} = \frac{\text{Abs}_{500\text{nm}} \times V_t \times 100}{k \times V_m \times 1000}$$

Donde:

Abs _{500nm}	=	Absorbancia de la muestra a 500 nm
V _t	=	Volumen total de hidrólisis (20 ml)
V _m	=	Volumen de muestra hidrolizado para el análisis de sulfatos (100 ml).s
m	=	masa de carragenina (mg)
k	=	Pendiente de la curva

1000 = Factor de conversión de ug a mg.
 100 = Expresión de los resultados en porcentaje.

$$\% \text{Sulfato esterificado (SO}_3) = \% \text{Sulfato libre (SO}_4) \times \text{Factor}$$

Donde :

$$\text{Factor} = \frac{\text{PM NaSO}_3}{\text{PM NaSO}_4} = \frac{103 \text{ g/mol}}{142 \text{ g/mol}} = 0,73$$

Paralelamente a la muestra se elabora una curva de calibración con la solución estandar de sulfato de sodio 100ug/ml, según la cual se leyó la absorbancia a 500 nm, a partir del cual se elaboró gráfica de absorbancia v/s concentración de Na₂SO₄, obteniendo así la ecuación de la recta y pendiente a partir de regresión lineal de los datos.

h) Variables Abióticas

Los parámetros Fotoperíodo, Irradianza, Biomasa, Temperatura del agua de mar y Turbidez, se obtuvieron, a partir de las mediciones efectuadas por el equipo del Laboratorio del departamento de Ecología Marina de La Universidad Católica del Norte.

i) Análisis estadístico

A. Para determinar si existen diferencias significativas entre las concentraciones de los constituyentes energéticos, de carragenanos y contenidos de carragenanos para cada fenofase entre sí , se realizó un análisis de varianza (Tabla I, II, III) .

B. Así como para establecer si existen diferencias significativas entre las la variabilidad de los contenidos energéticos a lo largo del año, realizó a cabo un análisis de varianza.

C. Para establecer si existen diferencias significativas entre las concentraciones de los constituyentes energéticos, los contenidos químicos de los carragenanos y la incidencia de las variables medioambientales, (fotoperíodo, irradianza, temperatura y turbidez), se realizó un análisis de varianza.

La significancia del coeficiente de regresión se probó con el test de Tuckey. El F calculado para cada variable independiente, se comparó con una probabilidad específica para cada caso a los niveles indicados anteriormente. Para realizar estos análisis se utilizó el programa SISTAT 11. (Stell & Torrie., 1988.)

5. RESULTADOS

5.1 Caracterización poblacional (número de individuos/m²) y de fenofases.

El número de individuos por metro cuadrado presentó una variación marcadamente estacional. Así las fenofases carposporofíticas y tetrasporofíticas tienen su mayor número de individuos en Noviembre con 45 y 40 ind/ m². En Agosto los gametofitos logran 60 plantas por m². Los valores mínimos ocurren en Agosto para los tetrasporofitos y carposporofitos con 5 y 7 ind./m², mientras los gametofitos en diciembre presentaron el valor mínimo (Fig.3). Se presentaron diferencias significativas en el análisis, tanto en el número de individuos vegetativos (con un $p = 0.968$) como en los cistocárpicos (con un $p = 0.841$) en relación a las otras fases reproductivas (Tabla I y II). Presentando picks bien marcados en Octubre- Diciembre y en Julio-Agosto del orden del 40%, los que exponen una estacionalidad bien marcada con respecto a la aparición de nuevos individuos en general.

El número de individuos de cada fase muy marcado, que obedece a condicionamientos estacionales. En que de Julio –octubre resalta un mayor porcentaje de gametofitos con 35%, de Noviembre –Diciembre un mayor porcentaje de tetrasporofitos con 45% y de Mayo-Agosto un mayor porcentaje de gametofitos con 60%.

5.2 Contenidos de proteína cruda

El contenido de proteína cruda para las tres fenofases analizadas de *Chondrachanthus chamissoi* (Fig.4), presentaron diferencia significativa ($p = 0.718$), y así se manifestaron

evidentes fluctuaciones entre los diferentes meses para las tres fenofases analizadas, observándose cierta estacionalidad con máximos en Julio (16%) para las 3 fenofases analizadas. Sin embargo en Marzo se produce un valor cercano al 18% de la fase cistocárpica.

En los meses de primavera (Septiembre a Noviembre) se presentaron los valores más bajos de proteína, alcanzando al 10 %.

5.3 Contenidos de Lípidos Totales

La variación del contenido de lípidos en las diferentes fenofases no arroja diferencias significativas, ya que ninguna fase es igual. Presentan a su vez una variabilidad estacional bien definida de los contenidos mensuales. A pesar del distinto comportamiento de las fases entre sí, (Fig.5) las concentraciones lipídicas mensuales de cada fenofase, establecen estacionalidad. Así desde Febrero a Julio se presentan los rangos mayores alcanzando 5,645 g/g en la fase tetraspórica en el mes de Julio y entre Junio y Noviembre los menores que llegaron a descender hasta un 0.18 g/g. en la fase tetraspórica en el mes de Noviembre.

5.4 Rendimiento de Carragenanos

Los valores de rendimiento, no muestran diferencias significativas para cada fenofase, y cada fenofase se comporta de manera distinta, aunque todas presentaron tendencia estacional.

Los meses invernales muestran los rangos menores, (Fig.6) que desde Marzo a Agosto que presentó un rendimiento mínimo de 14 % para la fase vegetativa del mes de Junio.

En el período estival en cambio, que comprende desde Septiembre hasta Enero, llega a alcanzar en el mes de Octubre un 63% para la fase cistocárpica .

5.5 Cuantificación de los contenidos químicos de carragenanos:

Cuantificación de 3,6-anhidrogalactosa

Los porcentajes de 3,6 anhidrogalactosa, no presentan diferencias significativas entre las fenofases, aunque cada fase tiene su propia variación estacional, siendo la fase tetrasporofítica la que presentó un ciclo más irregular, mientras los carposporofitos presentaron 3 períodos de máximos con 3 períodos en que los valores disminuyen.

No existe una clara tendencia en los valores menores para las tres fases del ciclo de vida. Sin embargo la fase gametofítica presentó su menor valor en Junio con aproximadamente 14%. Y los máximos durante Enero con 14,89% en la fase gametofítica .

Cuantificación de D- Galactosa

En la cuantificación de este parámetro se observó que la fase carposporofítica, no presentó cambios notables en su ciclo anual, oscilando entre 19 a 23 %. La fase gametofítica en los meses de julio a diciembre los valores son cercanos al 20%, alcanzando al final del próximo semestre el 40%. La fase tetrasporofítica es la que presenta mayores irregularidades en su ciclo, con máximos de 45 % en Febrero y de 22% en Mayo

5.6 Cuantificación de Sulfatos

En los porcentajes estimados de este componente, la curva exhibe una cierta regularidad en su comportamiento para las tres fenofases, (Fig.9) que nos muestra 2 casos de bruscos descenso y alza en la fase tetrasporofítica en los meses de Marzo con 5,1% y Abril con 27,5%, respectivamente

5.7 Variables abióticas

El ciclo anual de la Temperatura del agua de mar, presentó un máximo de 18,11°C en febrero y un mínimo de 12,84° C en julio, (Fig. 10).

El Fotoperiodo presentó un máximo en enero con 14,03 horas/ luz día y un mínimo de 11,15 horas/ luz día para los meses de agosto de 1994 y julio de 1995. (Fig. 11).

La Irradianza demostró su máximo en enero con 952 $\mu\text{mol} / \text{s} * \text{m}^2$ (PAR), y un mínimo registro de 345 $\mu\text{mol} / \text{s} * \text{m}^2$ (PAR) en julio. (Fig. 12).

En tanto la Transparencia del agua presentó su máximo durante el mes de abril con un 6,3 m. y un mínimo de 3,1 m. de visibilidad. (Fig. 13).

5.8 Análisis estadísticos

Con respecto a la relación entre el número de individuos (Fig.3) versus los meses del año, se presentan diferencias significativas con un $p < 0,841$ para la fase Cistocárpica, con un $p < 0,968$ para la fase Vegetativa.(Tablas I y II)

Al aplicarle el análisis de la correlación inversa a las variables medioambientales, el análisis muestra que no existen diferencias significativas en la mayoría de las asociaciones. Tanto con respecto a la variación mensual de los constituyentes, como la influencia de las variantes abióticas, versus los contenidos por fenofase.

Los contenidos de todas las fenofases de *Chondranchus chamissoi* en asociación con el fotoperiodo, irradianza y temperatura del agua de mar, no demuestran diferencias significativas con los porcentajes de contenidos protéicos, contenidos lipídicos, rendimientos de carragenanos, 3,6 anhidrogalactosa, porcentaje de D-galactosa y porcentajes de Sulfatos.

6. DISCUSION

Los contenidos energéticos están influenciados por factores endógenos y exógenos, resultados que se han descrito en diferentes especies de algas pardas y rojas. En ellas se muestran que las variaciones mensuales del contenido de lípidos, proteínas e hidratos de carbono, que presentan diferencias a nivel específico, trozos del talo analizado, estado reproductivo y edad de la planta entre otros (Haug & Jensen, 1954, Jensen et al., 1985; Rosell & Srivastava, 1984 ; Westermeier , 1982; Westermeier , 1987; Westermeier et al , 1987).

En relación al contenido de proteínas, se presentó una marcada estacionalidad, al igual que los lípidos y los carragenanos (Fig.4, 5 y 6), entre sus diferentes fenofases las concentraciones energéticas, sólo muestran en cuanto a las proteínas, que existen diferencias significativas (Tabla III). Lo que nos hace pensar que al no haber mayor variación entre sus constituyentes, las diferencias citológicas que se presentan en las etapas de desarrollo no estarían afectando la síntesis de compuestos orgánicos por parte del alga (Schnettler et al ,1994). En general la concentración de proteína cruda ostenta sus máximos valores en los meses de otoño-invierno, tendencia ratificada en *Gracilaria chilensis* e *Iridaea laminaroides* por Westermeier (1982) y Westermeier et al (1987) respectivamente y Schnettler, (1994) en *Gigartina skottsbergii*. Los rangos obtenidos en este estudio, son bastante altos comparados con las Rhodophyta anteriormente mencionada, donde sólo se pueden relacionar con los valores mínimos de 10 % de *G. chilensis*, en cambio muy distintos al 6 %, y 3 - 7% de *I. laminaroides* y *G. skottsbergii* respectivamente.

En general es posible explicar en algunas especies que los mayores índices de proteína revelan una formación activa de estructuras reproductivas estacionalmente determinadas (Haug & Jensen, 1954 ; Chapman & Craigie, 1977 ; Wheeler & North, 1981 ; Westermeier, 1982 ; Westermeier, 1987 ; Westermeier et al, 1987 ; Jensen et al. , 1985 ; Kopzac et al.(1991) . Además, es conocido que los niveles de proteínas están directamente relacionados con la concentración de nitrógeno presente en la masa de agua. Así como por Mathieson & Tveter (1976) identifica que la influencia de los nutrientes nitrogenados están en proporción a las variaciones proteicas de *Gigartina stellata*, puesto que sus máximos niveles proteínicos fueron en Otoño- Invierno, época que dispone de la mayor cantidad de nutrientes nitrogenados en la masa de agua. También se encontró que una baja en un 8 % en los niveles de proteína en los meses de Septiembre a Noviembre correspondió con una aguda declinación de los nutrientes, ya que es la época de principal florecimiento fitoplanctónico, como el inicio del periodo donde se presentan rápidos crecimientos en primavera de *G. stellata* y de otras algas (Burns & Mathieson , 1972)

Los contenidos lipídicos presentan una marcada estacionalidad (Fig.5) y bien se puede apreciar entre Septiembre y Enero, sus mayores índices en la fase vegetativa. Continúan los rangos más altos de la fase tetraspórica desde Enero hasta Julio, coincidiendo con el período de mayor liberación de estructuras reproductivas que no solo son tetrásporas o carpósporas sino que al igual como se ha observado en *Sarcotalia crispata*, podrían tratarse de soros esporangiales. Por su parte, los contenidos lipídicos de la fase cistocárpica, señalan sólo tres alzas en los meses de julio, diciembre y abril con valores de alrededor de un 3.4 g/g. Pero sin duda la fase que mayores niveles lipídicos presenta , es la gametofítica y esto podría

deberse a que en esta etapa , los gametofitos como tales están dedicados a desarrollarse para luego pasar a formar parte de otras etapas reproductivas como las cistocárpicas. Aunque como se ha propuesto , los lípidos en las aguas marinas variarían en relación al contenido de nitrógeno del agua , intensidad lumínica y la presencia de ciertos contaminantes (Miller , 1962 ; Smith & Harwood , 1984 ; Falkowsky & LaRoche , 1991).

Un constituyente de gran trascendencia que forma parte de la familia de los Hidratos de Carbono , es el Carragenano. El es sin duda , el azúcar más importante sintetizado por estas algas , pues la pared celular de las algas rojas posee una escasa concentración de celulosa (menos del 1 % de su peso seco) (Young , 1966) y por el contrario un alto contenido de polisacáridos , mayoritariamente galactanos sulfatados , que están presentes en las matrices intercelulares . Se ha postulado que los carragenanos son el principal componente de la pared celular y formador además de la matriz intercelular ; por lo tanto , de acuerdo a la localización no hay duda que es de tipo estructural (Noceda, 1989 ; McCandless et al ., 1977 ; Gordon & McCandless , 1975 ; McCandless et al ., 1975; Greer & Yaphe , 1984 ; Deslandes et al ., 1985 ; McCandless, 1978 ; Mathieson & Tveter , 1976) . Además, los carragenanos constituyen entre el 40 % y 70 % del peso seco del alga (Piriz & Cerezo , 1991 ; Noceda, 1989 ; Rojas et al . , 1984 ; Deslandes et al . , 1985 ; Greer & Yaphe , 1984) , lo cual depende de la especie, edad de la planta y fase de desarrollo .

El Carragenano constituye una familia de policáridos basados en residuos de D- galactosa unidos alternadamente por enlaces alfa 1-3 y beta 1-4 , con marcadas diferencias en relación al contenido de 3,6 anhidrogalactosa y al patrón de sulfatación (Matsuhiro , 1986 ; Rochas et al . ,

1989), por lo tanto, corresponde a una mezcla de varios polisacáridos relacionados estructuralmente, siendo inhomogéneo y polidisperso. Los carragenanos presentan diferencias químicas entre los estados gametofítico y esporofítico (Mc Candless et al., 1975; Walland, 1975). El esporofito presenta Lambda- carragenano y el gametofito presenta Kappa- carragenano, que se caracterizan por sus propiedades gelantes (Craigie & Pringle, 1978).

Al igual que los demás contenidos energéticos, los carragenanos presentaron una marcada tendencia estacional, aunque sin diferencias significativas entre fenofases. El máximo rendimiento de carragenanos se encontró en los meses de verano, entre octubre y diciembre, para disminuir hacia el otoño, entre abril y mayo y hacerse mínimos en los meses invernales.

Por otro lado, los constituyentes de los carragenanos, los porcentajes de D- galactosa y Sulfato esterificado presentaron sus máximos índices en otoño–invierno, a diferencia del porcentaje de 3,6 anhidro galactosa que presenta sus máximos en el período primavera-verano. El que no haya correspondencia significativa con la gradiente de temperatura, ni con la radiación y otros factores abióticos, respondería a que en esta zona geográfica la mayoría de las variables analizadas, son muy estables por encontrarse esta en un clima de estepa con abundante nubosidad, una humedad relativa del 78 - 81 %.

El análisis para las variables abióticas, no presenta diferencias significativas en las concentraciones, mensuales y por fase, lo que nos señala que los factores ambientales tales como

fotoperíodo, irradianza, temperatura del agua de mar y turbidez, no tienen incidencia con los cambios temporales de los constituyentes orgánicos del alga.

En tanto, la hipótesis propuesta en este trabajo, no nos entrega una explicación adecuada, sobre la influencia que tienen los factores ambientales en la variación de las concentraciones de los constituyentes que *Chondrachantus chamissoi* sintetiza, ya que los parámetros ambientales en este trabajo, no precisan bien cómo existe una coincidencia entre las concentraciones y las variables abióticas. Interesante sería relacionar todas estas variables con los nutrientes presentes en el medio. Es por ello que se hace complejo construir un modelo explicativo, ya que la síntesis de compuestos orgánicos, su almacenamiento y posterior degradación están regulados por un conjunto de factores tanto ambientales como endógenos de la planta (McCandless *et al.* , 1983; Wetermeier, 1982, Gómez, 1991).

Por tanto conociendo el comportamiento energético del alga y relacionándolo con la fenología del alga , sumado a las estrategias de manejo aplicadas podrían sostener la gran demanda para que el sector industrial alcance los mayores porcentajes de rendimiento de este ficocoloide y permitan sostener una explotación a través del tiempo sin abusar de la conservación de los mecanismos de dispersión de las praderas naturales.

Para finalizar, haciendo una evaluación de los antecedentes reunidos en este estudio, y debido a que se ha constatado en otras instancias una distribución batimétrica diferencial de los esporofitos, disminuyendo la abundancia de la biomasa cistocárpica a medida que aumenta la profundidad. Y es que aparentemente habrían diferencias de fertilidad y/o en el desarrollo de

estadios iniciales de ambas fases estarían explicando esta desproporción de razón de generación, pues así como experimentalmente lo constató (González, 1993), existe una mayor habilidad inherente de la fase gametofítica en mecanismos de germinación y asentamiento. Ya que la cantidad de carpósporas liberadas por gramo de alga fue mayor que la de tetrásporas, esto recompensa con una biomasa tetráspórica mayor. En relación a la dinámica poblacional, se explica en parte la dominancia gametofítica de la población a través del reclutamiento diferencial de esta fase. Así como se caracteriza la conducta reproductiva de *Chondracanthus chamissoi*, en general en Rhodophyta, existen numerosos casos de dominancia esporofítica, algo que no sería una regla para la Gigartinácea, ya que así como lo describe Siegel *et al*, 1996 en *Gigartina skotberggi*, también existe dominancia gametofítica. (Hanach y Santelices, 1985; Hanach y Walland; 1986; Russel, 1980 ;Westermeier *et al*, 1999).

Es difícil con los antecedentes reportados poder desarrollar un plan de manejo para la cosecha de esta especie. Sin embargo es posible pensar en algunas aproximaciones, como aquella referida principalmente al control de la fertilidad de la especie en estudio, en sus diferentes fases. De esa forma sería posible realizar una cosecha a toda la población, cuando ella haya liberado sus estructuras reproductivas. No obstante al comparar, por ejemplo, los estudios realizados por Westermeier *et al* (1999), con *Gigartina skootsberii*, de ciclo de vida también trifásico; con cuyos resultados se pudo construir un modelo de manejo de la especie, nos percatamos que es necesario en estudios futuros, para la presente especie, tener en consideración al menos , el conocimiento de la dinámica poblacional, en donde la variación de las fenofases, su fertilidad en el tiempo, reclutamiento, crecimiento, clases de talla, mortalidad entre otros elementos, son fundamentales para iniciar manejos de cualquier recurso.

Al analizar las variaciones de proteína y de lípidos, no es posible determinar ninguna acción, que establezca los meses donde sea posible una cosecha del recurso. Una situación diferente ocurre cuando se analizan los rendimientos de carragenanos, donde es posible visualizar algunas tendencias, pero que necesariamente se requiere de los elementos arriba señalados, que nos permitan formular posibles vías de manejo.

7. CONCLUSIONES

- a) La Variación del número de individuos por metro cuadrado presentó una clara estacionalidad, siendo los meses de primavera, (octubre, noviembre y diciembre), donde se reportaron las mayores densidades.
- b) Las tres fases del ciclo de vida de la especie se encuentran presentes, siendo la fase gametofítica dominante en algunos períodos del año.
- c) Se presentó una relación antagónica entre el comportamiento de las proteínas y de los rendimientos de carragenanos. Esto implica que los talos en primavera con mayores tamaños estarían principalmente produciendo hidratos de carbono, mientras que en otoño – invierno estarían creciendo y con ello se produciría, mayores concentraciones de nitrógeno y en consecuencia proteínas.
- d) Al igual que con otras especies de algas rojas, la variación lipídica, en las diferentes fases del ciclo de vida, no muestra un patrón de estacionalidad.
- e) Una relación antagónica en los porcentajes de 3,6 anhidrogalactosa, entre plantas carposporofíticas y tetraesporofíticas. Una tendencia semejante es posible observar con los porcentajes de D-Galactosa.

Es difícil con los resultados obtenidos desarrollar un plan de manejo con esta especie. Se hace necesario en consecuencia, poner un mayor énfasis en la dinámica poblacional, donde fertilidad, reclutamiento de las fenofases, crecimiento, clases de talla, mortalidad, nutrientes en el agua,

entre otros, podrían explicar, estadísticamente, con mayor claridad el comportamiento de los contenidos de esta especie, llegando así a la posibilidad de un manejo sustentable de este recurso.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Alveal , K . A .,Candia, A.,Edding & M.,Alveal, K. M.(2003) Proyecto de Estudio FNDR
Cultivo de *Chondracanthus chamissoi* Escalamiento Piloto Código 20157508-0, 32pp.

- Avila , M . & Nuñez , M . (2001) First Korea- Chile Aquaculture Workshop Resúmen,
Cultivo de *Chondracanthus chamissoi* Escalamiento Piloto Código 20157508-0, 32pp.

- Boehringer Mannheim.(1989) Methods of biochemical analysis and food analysis.Gel-AQ-
007.doc:1-5. Gel-RL-022:Registros de Laboratorio:Caracterización Química.

- Burns , R . L & Mathieson , A . C . (1972) Ecological studies of economic red algae . II
Culture studies of *Chondrus crispus* Stackhouse and *Gigartina stellata* (Stackhouse)
batters. J. Exp. Mar. Biol . Ecol . 8 , 1 - 6.

- Castilla , J . C . , Santelices , B . & Becerra , R .(1976) Guía para la observación e
identificación de mariscos y algas comerciales de Chile . pp 96 – 97 y 104 -105.

- Craigie , J . S . & J . D . Pringle , (1978) Spacial distribución of tetrasporophytes and
gametophytes in four maritime population of *Chondrus crispus* . Can . J . Bot . 56 ,2910
2914 .

- **Chapman , A . R . O . & Craigie , J . S . (1977)** Seasonal growth in *Laminaria longicuris* :
Relations with dissolved inorganic nutrients and internal reserves of nitrogen . Mar Biol .
40, 197-205 .

- Deslandes , e . , Floc'h , J . Y . , Bodeau – Bollion , C . , Brault , D . & Braub , J .- P .(1985)**
Evidence of iota carrageenans in *Soleria cordalis* (soleriaceae) and *Calliblepharis*
jubata , *Calliblepharis ciliata* , *Cistoclonium purpureum* (Rhodophyllidaceae) . Bot .
mar . vol . XXVIII . pp . 317 – 318 .

- Falkowski , P . G . & LaRoche , J . (1991)** Acclimation to spectral irradiance in algae . J .
Phycol . 27 : 8 -14 .

- **Garbary D. & R.E. De Wreede (1988).** Life History Phases in Natural Population of
Gigartinaceae (Rhodophyta): Quantification Using Resorcinol. In Lobban C.S; D.J.
Chapman. & B.P. Kremer (eds). Experimental Phycology. A. Laboratory Manual.
Cambridge University Press, Cambridge: 174-178.

- Gordon – Mills , E . M . & McCandless , E . L . (1975)** Carrageenans in the cell walls of
Chondrus crispus Stack (Rodophyceae , Gigartinales) . II . birefringence . Phycology .
Vol . 16 (2) , 169 -176 .

- Gonzalez, J. E. (1993)** Estudio comparativo de las fases isomórficas de *Gigartina chamissoi* (C. Agardh) J. Agardh, 1842 (Rhodophyta; Gigartinales). Tesis Facultad de Ciencias del Mar. Coquimbo, Chile, 66 pp.
- Gómez, I. M. (1991)** Contenidos energéticos de algas pardas chilenas: variación latitudinal y estacional. Tesis de Magíster en Ciencias; Mención Botánica, Universidad Austral de Chile. pp.115.
- Greer, C. W. & Yaphe, W. (1984)** Characterization of hybrid (beta – kappa – gamma) carrageenan from *Euchema gelatinae* J. Agardh (Rhodophyta, Solieriaceae) using carrageenases, Infrared and ¹³C – nuclear magnetic resonance spectroscopy. Bot. Mar. Vol. XXVII. pp. 473 – 478.
- Hannach G. & B. Santelices, (1985)** Ecological differences between the isomorphic reproductive phases of two species of Iridaea (Rhodophyta; Gigartinales). Mar. Ecol. Prog. Ser.: 291 – 303.
- Hannach G. & J. R. Walland, (1986)** Environmental, distribution and production of Iridaea. Aquat. Bot. 26: 51 – 78.
- Haug, A. & Jensen, A. (1954)** Seasonal variations in chemical composition of *Laminaria hyperborea* and *L. digitata* from northern Norway. Norw. Inst. Seaweed Res.

Report N° 10 .

- I.D.E.A.M. (2004)**, Instituto de Hidrobiología, Meteorología y Estudios ambientales. Universidad Católica del Norte. Decreto N° 3512 de 2003. pp 33-37.

- **Jackson, S.G. and McCandles, E. L. (1978)** "Simple, Rapid, Turbidometric determination of Inorganic Sulfate and/or Protein". *Analytical biochemistry* 90, 802-808.

- Jensen, A. , Ingergaard , M . & Holt , T . J. (1985)** Seasonal variations in the chemical composition of *Saccorrhiza polyschides* (Laminariales , Phaeophyceae) .

- Kim, D. H. (1976)** A study of the development of cystocarps and tetrasporangial sori in Gigartinaceae (Rhodophyta , Gigartinales) . *Nova Hedwigia* , 27 , 1 -145 .

- Klein, E., Matsuhira, B., Utrera, R . & Zanlungo, A . (1984)** Polysaccharides from chilean seaweed . part XIII . Studies on the carrageenans from *Gigartina papillata* *J. Ag . Rev . latinoamer . Quím .* 14 -3 . pp . 128 -131 .

- Kopczak , C . D . , Zimmerman , R . C . & 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 .

- Mathieson , a . C . & Tveter , E . (1976)** Carrageenan ecology of *Gigartina stellata*

(Stackhouse) Batters . Aquatic Botany. 2: 353 – 361.

- Matsuhira, B . (1986)** Ficoloides de Rhodophyta del litoral chileno . Monografías Biológicas 4 : 97 -110 pp.

- McCandless, E. L . , Craigie , J . S . & Hensen , J . E . (1975)** Carrageenans of gametangial and tetrasporangial stage s of *Iridaea cordata* (Gigartinaceae) . Can. J Bot . 53: 2315 -2318.

- **McCandless, E . L . , Okada , W .T . , Lott , J .N .A . , Vollmer , C .M .& Gordon Mills , E . (1977)** Structural studies of *Chondrus crispus* : The effect of extraction of carrageenan. Can . J . Bot . 55 : 2053 – 2064 .

- McCandless, E . L . (1978)** In modern approaches to the taxonomy of the red and brown algae (Irvine , D .E .G . and Price , J . H . , eds .) . Syst . Ass . Spl . Vol . 10 , pp. 63. Academic press London.

- McCandless, E . L . , West , J .A . & Guiry , M .D . (1983)** Carrageenan Patterns in the Gigartinaceae. Biochem. System. Ecol. Vol.11 N°3. pp. 175-182.

- Miller , H . (1962)** Fats and steroids . En : Physiology and Biochemistry of the algae . Lewin, R .A . (ed) . Academic Press , New York . pp. 357 – 370 .

- Noceda, M.D. (1989)** The carrageenan system of tetrasporic stage of *Gigartina skottsbergii*.
Cultivation of seaweeds in Latin América . pp . 111 – 116.
- Piriz, M. L . & Cerezo , A .S . (1991)** Seasonal variation of carrageenan in tetrasporic, cystocarpic and "sterile" stages of *Gigartina skottsbergii* S . et G.(Rhodophyta , Gigartinales). Hidrobiología 226: 65 – 69.
- Ramirez, M.E. & Santelices,B. (1991)** Catálogo de Algas Marinas bentónicas de la costa temperada del Pacífico de Sudamerica. Monografías Biológicas N°5. 437pp Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile
- Rochas , C . , Rinaudo , M . & Landry , S . (1989)** Relation between the molecular structure and mechanical properties of carrageenan gels *. Carbohydr. Pol. 10, 115 - 127.
- Rojas, N., Poblete , A . , Barrientos, E. , Rodríguez, E. & Candia, A. (1984)** Estudio estacional del rendimiento de polisacáridos de *Iridaea ciliata* (Kützing) de la región del Bio –Bio (*). Cienc . y Tec . del mar , Cona 8 : 17 - 26 .
- **Rossell, K.J. & Srivastava, L.M. (1984)** Seasonal variations in the chemical constituents of the brown algae *Macrocystis integrifolia* and *Nereocystis luetkeana*. Can. J.bot: 62: 2229-2236.

- Roughan , P . G . (1985)** Phosphatidylglycerol and chilling sensitivity in plants . *Plant Physiol* .
77, 740 – 746.
- Russel , G . (1980)** Variation and natural selection in marine macroalgae. *Oceanog. Mar. Biol. Ann. Rev.* 24, 309 – 377.
- Schnettler, P. (1994)** Variación mensual de los contenidos energéticos ,síntesis y tipo de carragenanos sintetizados por *Gigartina Skottsbergii* Setchell et Gardner (Rhodophyta , Gigartinales) . Tesis de Licenciado en Biología Marina, Universidad Austral de Chile , 66 pp .
- SERNAPESCA, (2003)** Anuario Estadístico de Pesca. pp: 223- 232.
- Siegel, J. (1997)** Capacidad reproductiva de las distintas fenofases de *Gigartina skottsbergii* Setchell et Gardner distintas fenofases de *Gigartina skottsbergii* Setchell et Gardner ,1936 (Rhodophyta, Gigartinales). Tesis Facultad de Ciencias. Univ. Austral de Chile, 60 pp.
- **Smith, K. L. & Harwood, J. L. (1984)** Lipid and lipid metabolism in the brown alga , *Fucus serratus*. *Phytochemistry*, 23: 2469 – 2473.
- **Steubing, L.(1965)** Pflanzenökologisches Praktikum . Paul Parey Verlag , Hamburg und Berlin. 262 pp.

- **Steel R.G.D., Torrie J.D. (1988)** Bioestadística, principios y procedimientos. 2^{da} ed. México D.F. México, M^c Graw Hill; pp. 620.

- **Waaland, J.R. (1975)** Differences in carrageenan in gamethophytes and tetrasporophytes of red algae . Phytochemistry. Vol.14. pp. 1359 -1362.

- **Waaland, J.R. (1981)** Comercial utilization in C.S. Lobban & M.J. Wynne (Editors), The Biology of Seaweeds. Blackwell Oxford, pp. 726-741.

- **Westermeier, R. (1981)** The marine seaweed of Chile´s tenth Region (Valdivia, Ancud, Llanquihue y Chiloé).Proceedings Internacional Seaweed Symposium. T.Leving (Ed) 10:215-220.

- **Westermeier, R. (1982)** Zonierung, biomasse , energiehalt und schwermetallakkumulation marinen algen aus Chile , Helgoland und Spanien . Inaugular Dissertation . Justus – Liebig Universitat , Giessen .160 pp.

- **Westermeier, R. (1987)** Contenidos energéticos en una macroalga del Sur de Chile , *Durvillaea antarctica* (Cham .) Hariot (Phaeophyta : Fucales) .Investigación acuícola en América latina . Verteth, J .A. J., Carrillo, M. Zanuy, S. & Huisman , E . A. (eds) . Pudoc Wageningen, Netherland . pp: 367 – 379 .

-Westermeier , R . , Guaiquil, V. H., Wenzel, H. Peruzzo, G. & Kohler, N. (1987)

Variación de valores calóricos , cenizas , hidratos de carbono , lípidos y proteínas en frondas cistocárpicas y tetraspóricas de *Iridaea laminaroides* Bory en el Sur de Chile . Medio Ambiente, 8: 85 -89 pp .

-Westermeier , R.,Aguilar,A.,Siegel,J.,Quintanilla,J., (1999) Biological basis for

manegement of *Gigartina skottsbergii* (Gigartinaceae, Rhodophyta) in southern Chile. Hidrobiologia 398/399, 137-147.

-Wheeler, P. A . & North , W . J . (1981) Nitrogen suply , tissue composition and front

growth ratyies for *Macrocystis pyrifera* off the coast of Southern california. Mar. Biol . 64: 59 – 69.

-Wythe, J.N.C.; R.E., Foreman & R.E. d DeWreede. 1984. Phycocolloid screening of British

columbia Red Algae. Hydrobiologia 116/117: 537-541.

-Yaphe W. and Arsenault G.P (1956). Improved Resorcinol Reagent for the determination of

fructose and 3,6 anhidrogalactose in Polisaccharides. Analitical Biochemistry 13, 143-148.

-Young , E . G . (1966) The chemical nature of the insoluble residue after severe

extraction in some Rhodophyceae and Phaeophyceae . Proc . Int . Seaweed Symp. 5,

337–346.

- **Zamorano, J. A. (1992)** Fenología de *Gigartina skottsbergii* en la bahía de Ancud, Chiloé X Región. Chile. Tesis Facultad de Ciencias. Univ. Austral de Chile. 62 pp.

-SITIOS WEB CITADOS http://www.directemar.cl/R_Locales/0601007.htm
<http://www.fundacionfuturo.cl/>
http://www.meteochile.cl/climas/climas_localidades.html#iquique
<http://es.wikipedia.org/wiki/Geog>

ANEXO FIGURAS



Fig.1: Ubicación de la Bahía de “La Herradura del Guayacán”, IV Región Chile.

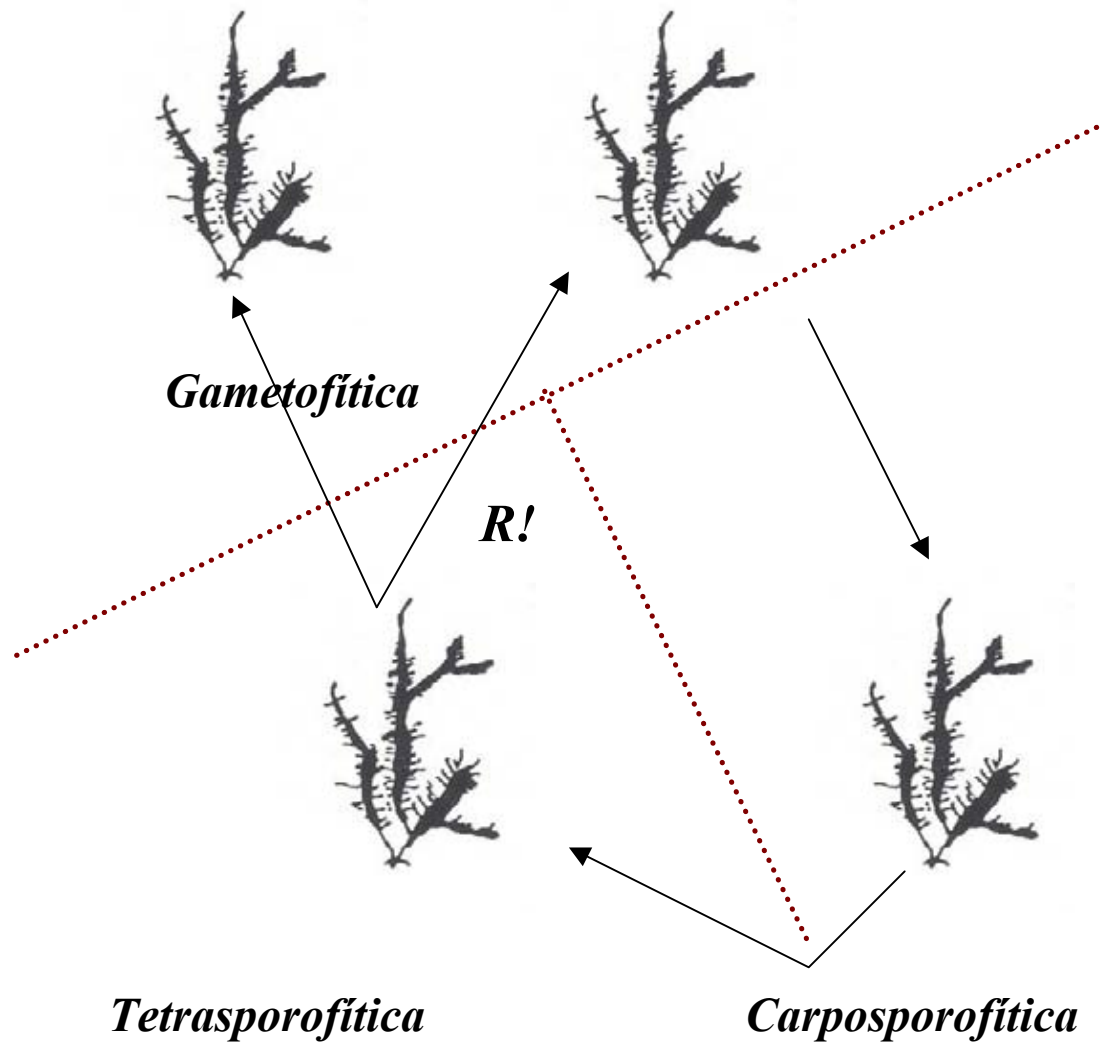


Fig 2: Ciclo trifásico isomórfico tipo Polisiphonia (Kim , 1976)
de *Chondracanthus chamissoi* .

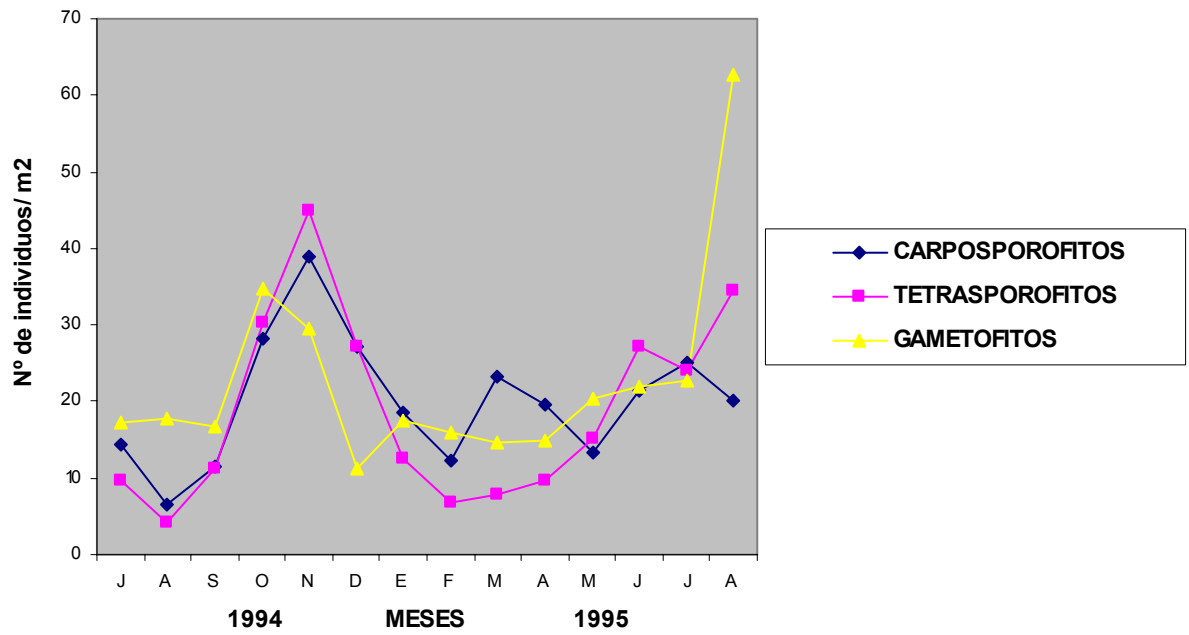


Fig.3: Variación del número de individuos por metro cuadrado de las diferentes fenofases de *Chondracanthus chamissoi*.

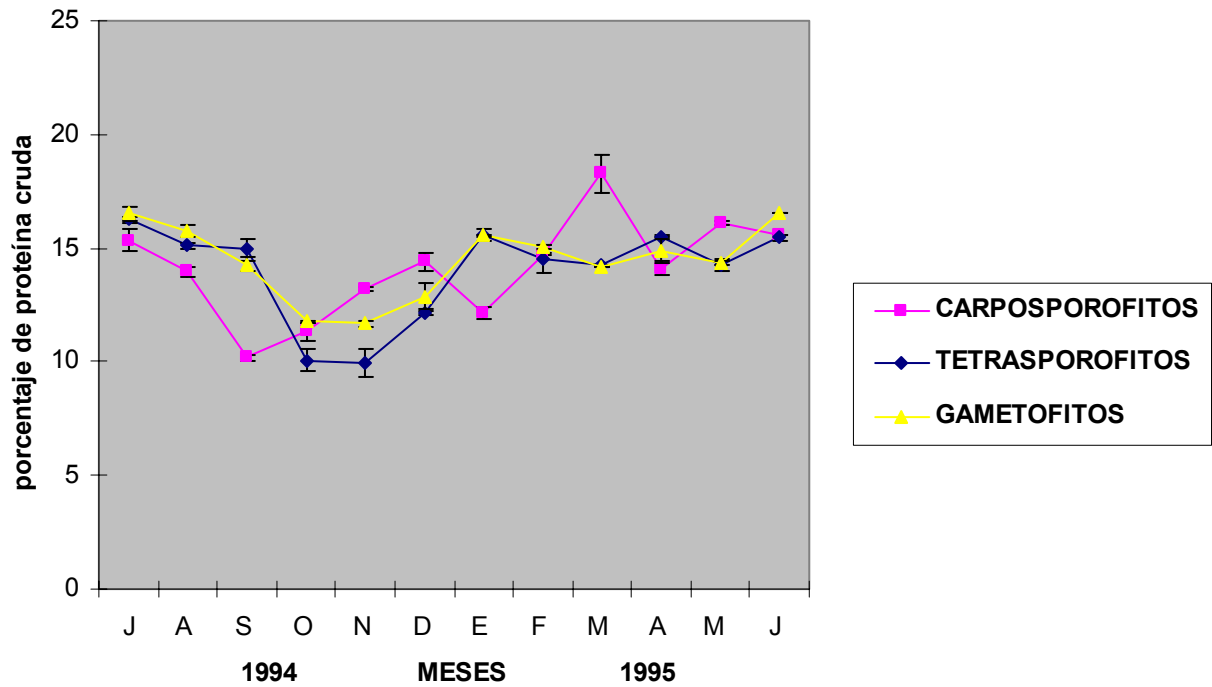


Fig.4: Variación de los contenidos de proteínas de *Chondracanthus chamissoi* en sus diferentes fenofases.

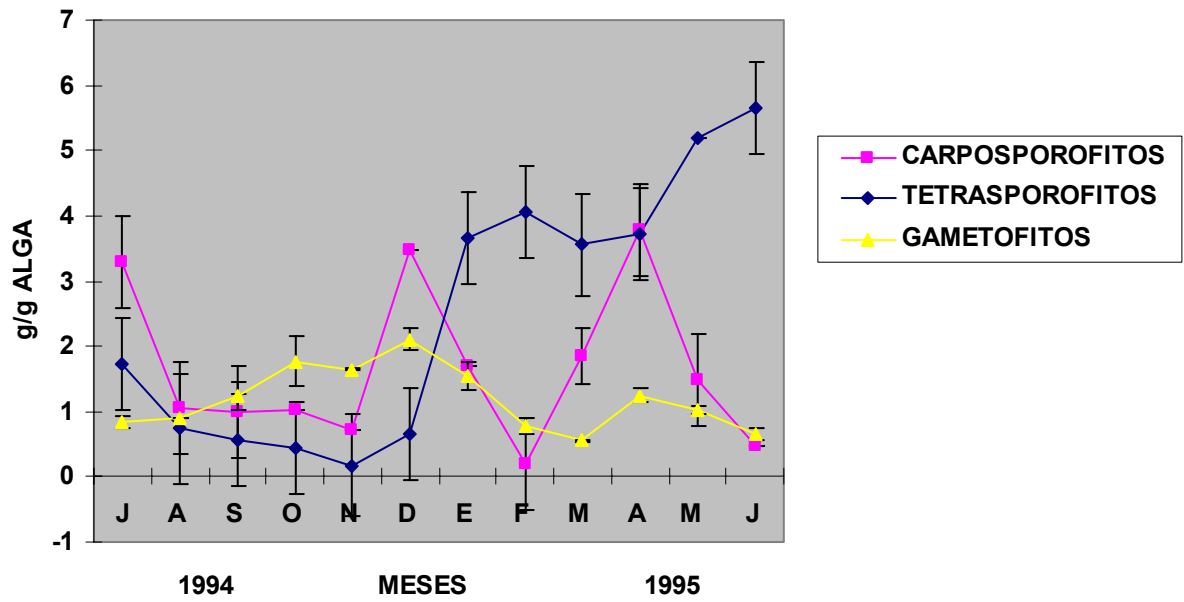


Fig.5: Variación de los contenidos lipídicos de *Chondracanthus chamissoi* en sus diferentes fenofases.

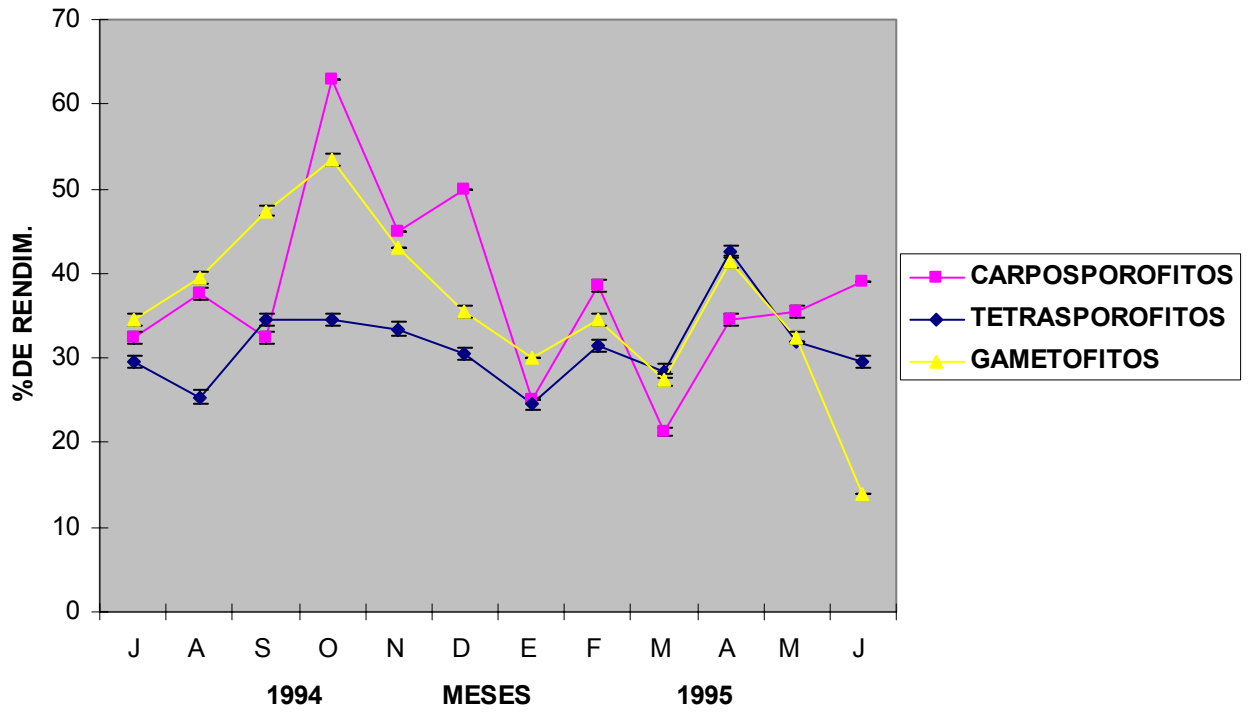


Fig.6: Variación del porcentaje de rendimiento de carragenanos de *Chondracanthus chamissoi* en sus diferentes fenofases.

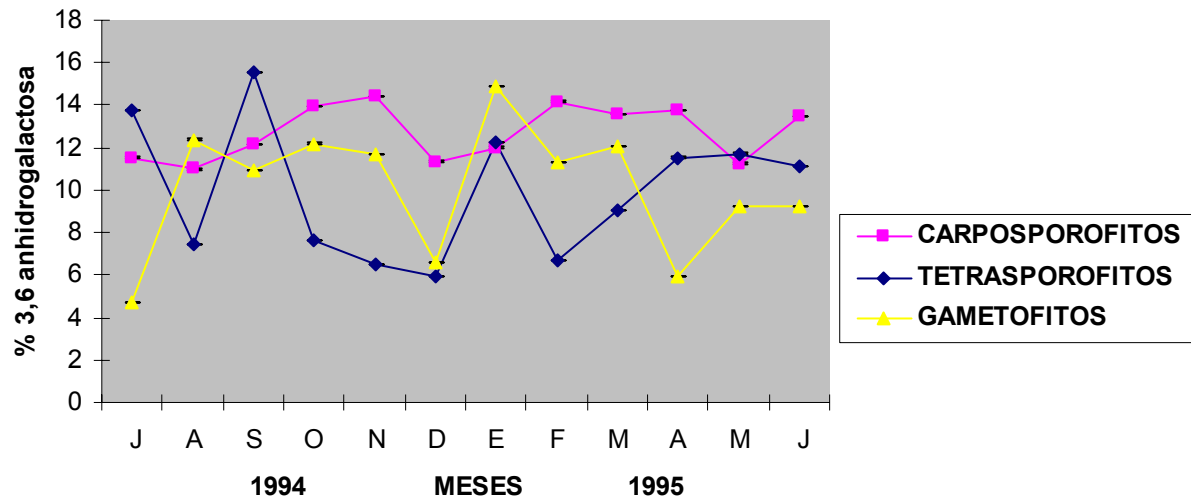


Fig.7: Cuantificación de los contenidos químicos de los Carragenanos: variación de los contenidos de 3,6 anhidrogalactosa de las diferentes fenofases de *Chondracanthus chamissoi*.

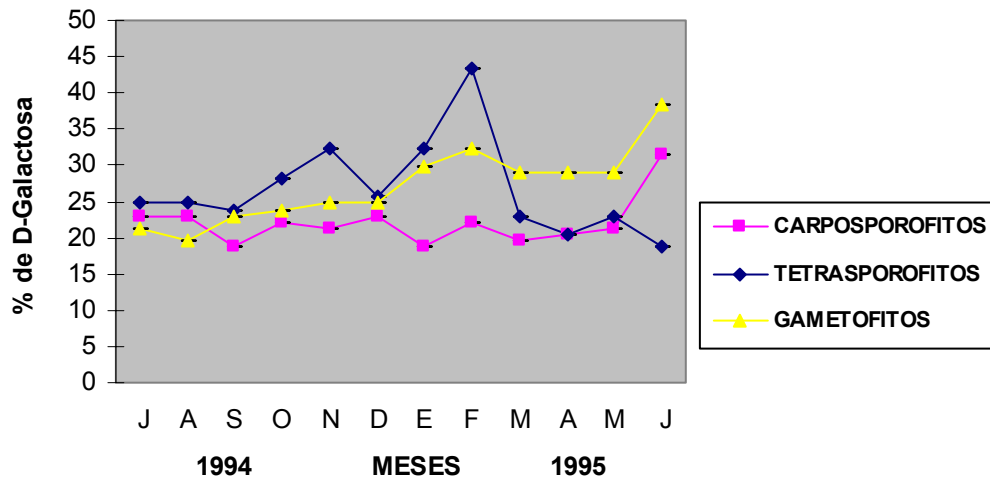


Fig.8: Cuantificación de los contenidos químicos de los Carragenanos: variación de los contenidos de D-Galactosa de las diferentes fenofases de *Chondracanthus chamissoi*.

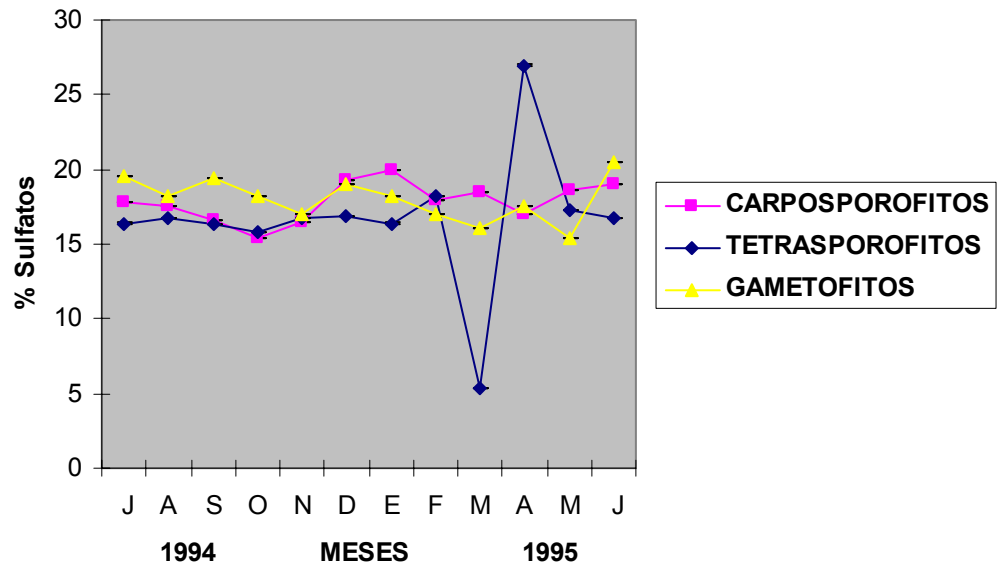


Fig.9: Variación de los contenidos de Sulfatos esterificados de las diferentes fenofases de *Chondracanthus chamissoi*.

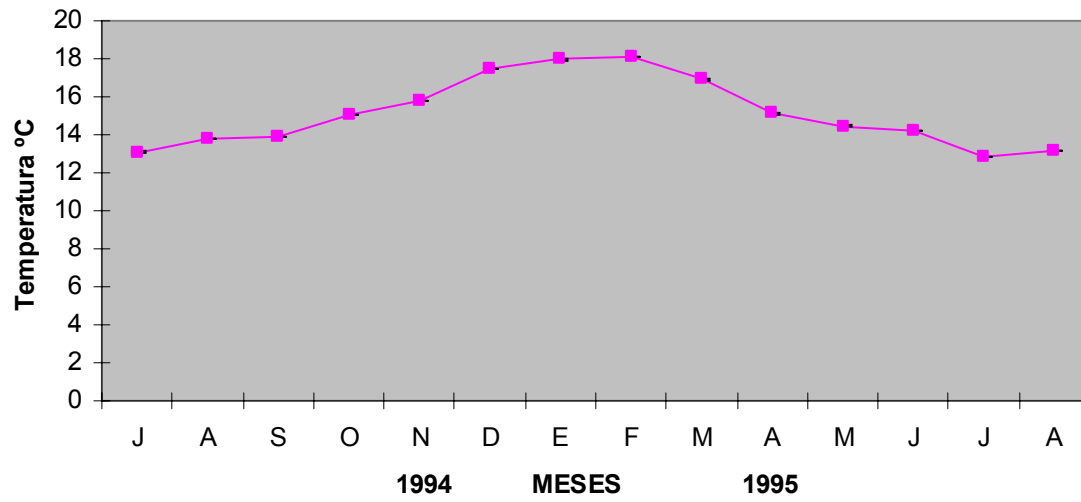


Fig.10: Variación de la temperatura del medio acuático en el area de estudio.

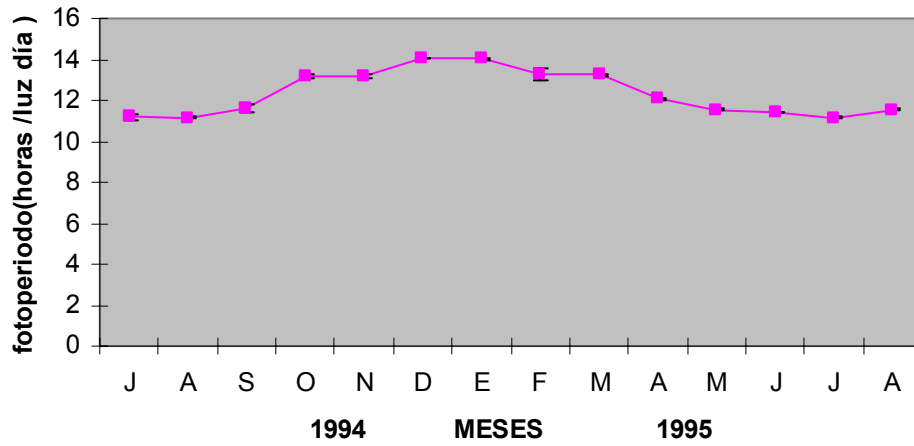


Fig.11: Variación del fotoperíodo en el area de estudio.

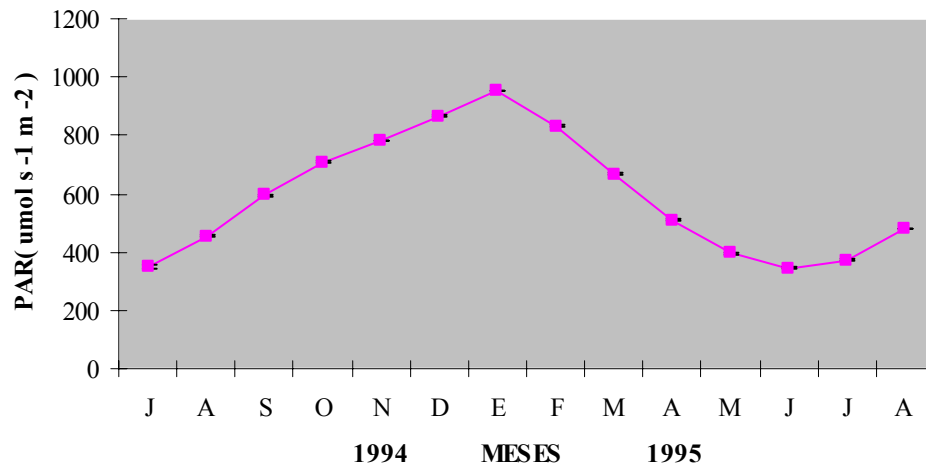


Fig.12: Variación de la Irradianza en el area de estudio.

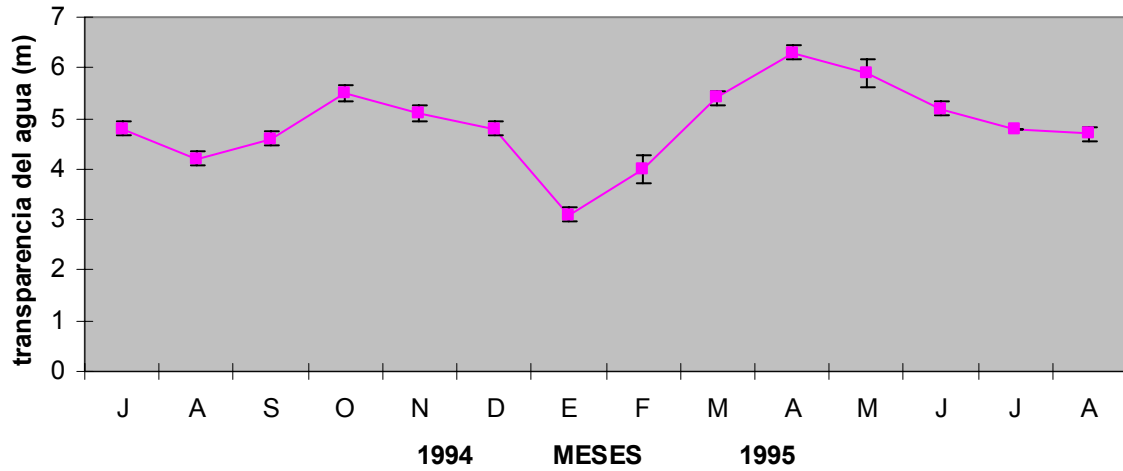


Fig.13: Variación de la turbidez del medio acuático en el area de estudio.

ANEXO TABLAS

TABLAS ESTADISTICAS

En las siguientes tablas, se muestran los efectos significativos de los análisis realizados.

Tabla I . Análisis de varianza para el N° de individuos cistocárpicos de *Chondracanthus chamissoi* en las fases reproductivas.

Dep Var: Múltiple R:0.010	N°de individuos	N: 14	Múltiple R:0.846		Cuadrado
Fuente	Suma de cuadrados	df	Intercepto	F	P
m	142273.970	11	12933.997	0.458	0.841
Error	56455.646	2	28227.82		

Tabla II . Análisis de varianza para el N° de individuos vegetativos de *Chondracanthus chamissoi* en las fases reproductivas.

Dep Var: Múltiple R:0.010	N°de individuos	N: 14	Múltiple R:0.846		Cuadrado
Fuente	Suma de cuadrados	df	Intercepto	F	P
m	118902.880	11	10809.353	0.210	0.968
Error	103015.230	2	51507.615		

Tabla III. Análisis de varianza para los valores de proteína de *Chondracanthus chamissoi* en las fases reproductivas.

Dep Var:	Proteína	N: 72	Múltiple R:0.098		Cuadrado
Múltiple R:0.716					
Fuente	Suma de cuadrados	df	Intercepto	F	P
Fasereprod	2.595	2	1.297	0.331	0.718
Error	269.433	69	3.906		