

**CULTIVO SEMICERRADO DE *HYPNEA MUSCIFORMIS* (RHODOPHYTA):
EVALUACIÓN DE LA TASA DE CRECIMIENTO**

DAYAN LIZETH VARGAS CASTRO

**Trabajo de grado
para optar al título de Biólogo Marino**

**Directora
Gladys Rozo Torres
Título Química MSc. Ph.D.**

**UNIVERSIDAD DE BOGOTÁ JORGE TADEO LOZANO
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES E INGENIERÍA
PROGRAMA DE PREGRAO EN BIOLOGÍA MARINA
Santa Marta, Colombia**

2026

Nota de aceptación

Director

Presidente de jurado

Jurado

Jurado

AGRADECIMIENTOS

Deseo manifestar mi más sincero agradecimiento a todos aquellos que hicieron posible este trabajo de grado. En primer lugar, a la directora Gladys Rozo Torres, por su valiosa orientación, paciencia y dedicación a lo largo de este proceso. Su experiencia y conocimientos fueron clave para el desarrollo de esta investigación.

A la Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano y todos los funcionarios de la sede Santa Marta, por brindarnos las instalaciones y recursos necesarios para llevar a cabo los ensayos, y por promover un ambiente de aprendizaje e investigación. Igualmente, agradezco a Jessica Gonzalez estudiante de la universidad Nacional de Colombia y al grupo de bioprospección y biotecnología, en particular a, Helena Benavides, Valentina Suarez y David Navarrete por su apoyo técnico y científico, compañeros que me asistieron durante las fases de campo y laboratorio.

No puedo omitir a mi familia, quienes me brindaron ánimo y respaldo emocional en los momentos más difíciles. Su confianza fue una constante fuente de motivación.

Finalmente, agradezco a la naturaleza y al Caribe colombiano, cuyo ecosistema fue fuente de inspiración y motivación para la exploración científica. Este proyecto simboliza no solo un logro académico, sino también un compromiso con la sostenibilidad y la protección ambiental.

CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN.....	11
2. JUSTIFICACIÓN	13
3. MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE	16
3.1 MARCO TEÓRICO	16
3.1.1 Sistema de cultivo.....	16
3.1.2 Generalidades de las macroalgas.....	23
3.1.3 Ubicación taxonómica de <i>Hypnea musciformis</i>	24
3.1.4 Hábitat y distribución geográfica de <i>Hypnea musciformis</i>	25
3.1.5 Morfología y estructura celular de <i>Hypnea musciformis</i>	26
3.1.6 Ciclo reproductivo	28
3.1.7 Aspectos químicos de los extractos de <i>Hypnea musciformis</i>	30
3.2 ESTADO DEL ARTE.....	34
3.2.1 Cultivo de algas rojas a nivel mundial	34
3.2.2 Cultivo de algas rojas en Colombia	35
4. DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA Y OBJETIVOS	36
4.1 PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	36
4.2 OBJETIVOS	39
4.2.1 Objetivo general.....	39
4.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	39
5. HIPÓTESIS	40
5.1 HIPÓTESIS ESPECIFICAS	40
6. METODOLOGÍA.....	40
6.1 FASE CAMPO.....	40
6.2 FASE DE LABORATORIO.....	42
6.2.1 Aclimatación	42
6.2.2 Establecimiento del sistema de cultivo semicerrado	43
6.2.3 Preparación del medio enriquecido y cosechas	48
6.3 FASE DE GABINETE.....	49

6.3.1 Tasa de crecimiento diario	49
6.3.2 Análisis estadístico	49
6.3.3 Perfil de MAAs	50
6.3.4 Contenido de Kappa-carragenina	51
7. RESULTADOS	52
7.1 ENSAYO 1:.....	52
7.1.1 TCDm vs tratamiento con [NaNO ₃]	52
7.1.2 TCDm VS Sustratos.....	53
7.1.3 Análisis estadístico	54
7.2 ENSAYO 2:.....	57
7.2.1 TCDm vs tratamiento con [NaNO ₃]	57
7.2.2 TCDM VS SUSTRATOS	58
7.2.3 TCDm VS Luz.....	59
7.2.4 Análisis estadístico	60
7.3 PERFIL DE MAAS	62
7.4 CONTENIDO DE KAPPA-CARRAGENINA	63
8. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	64
8.1 ENSAYO 1:.....	64
8.2 ENSAYO 2:.....	67
8.3 PERFIL DE MAAS	69
8.4 CONTENIDO DE KAPPA-CARRAGENINA.....	70
9. CONCLUSIONES.....	72
10. BIBLIOGRAFÍA.....	73
11. ANEXOS	97

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Parámetros físicos para controlar en un sistema de cultivo semicerrado o cerrado.	18
Figura 2. Diagrama morfológico de <i>H. musciformis</i> . Se ilustran las principales características distintivas observables a nivel estructural (Yokoya <i>et al.</i> , 2020).....	27
Figura 3. Estructura química de kappa - carragenina.	31
Figura 4. Estructuras químicas de las micosporinas encontradas en el género <i>Hypnea</i> . 32	
Figura 5. Ubicación geográfica del sitio de colecta de los talos (Vargas, 2024).	41
Figura 6. Fase de campo y aclimatación. a. Implementos utilizados para medir los parámetros fisicoquímicos del sitio. b. Equipo de colecta. c. Aclimatación. d. Limpieza... 42	
Figura 7. Sistema de cultivo semicerrado establecido en el laboratorio de acuicultura marina para el crecimiento de los talos de <i>H. musciformis</i> . a. Es la zona de desinfección y b. Muestra la zona de cultivo. Las líneas y flechas azules representan el flujo del agua, la figura de rombo verde los sustratos de malla, los hexágonos rojos los sustratos de coral y las estrellas amarillas indican la condición de luz blanca.	44
Figura 8. Sistema de cultivo semicerrado. a. Sustrato de esqueleto de coral (SC). b. Tanques de desinfección. c. Sustrato de mallas (SM), d. Montaje de las líneas con cada replica y e. Medio enriquecido. Fotografías tomadas por Navarrete, 2022.....	45
Figura 9. Diseño experimental 2. Al lado derecho se observa la disposición de las canaletas con luz azul + blanca (b.) y a la izquierda las que se trataron solamente con luz blanca (a.). Fotografías tomadas por Vargas, 2022.....	46
Figura 10. Tasa de crecimiento diario (TCD) promedio de los talos de <i>H. musciformis</i> durante todo cultivo obtenidos bajos los tratamientos de enriquecimiento T1 (5 mM NaNO ₃), T2 (15 mM NaNO ₃), T3 (25 mM NaNO ₃), T4 (0 mM NaNO ₃). El símbolo x representa el promedio, las barras la desviación estándar y los puntos externos los valores atípicos... 53	
Figura 11. Valores promedios de la tasa de crecimiento diario (TCDm) con su desviación estándar (líneas) de los talos de <i>H. musciformis</i> , durante las cosechas en el tiempo (8, 16, 26 y 30 días), en respuesta a los tratamientos (T1: 5 mM, T2: 15 mM, T3: 20 mM y T4: 0 mM).	53
Figura 12. Tasa de crecimiento diario promedio (TCD) a lo largo del estudio en función del tipo de sustrato. Las barras azul claro indican el sustrato de malla (SM) y las barras azul	

oscuro los sustratos de coral (SC). En la parte terminal de cada columna se presenta el valor promedio correspondiente.....	54
Figura 13. Resultados obtenidos durante el cultivo de <i>H. musciformis</i> en el sistema semicerrado de cultivo en canaletas. a. Talos dentro de SC luego de 8 días, se observa adherencia a la superficie de la canastilla. b. se observa adherida al sustrato. d y e. Crecimiento apical de los talos por dentro de los poros del esqueleto de coral. c y f. Crecimiento de otros organismos asociados. Tomado por Vargas, 2022.....	56
Figura 14. Tasa de crecimiento diario (TCD) promedio de los talos de <i>H. musciformis</i> durante todo cultivo obtenidos bajos los tratamientos de enriquecimiento T1 (5 mM NaNO ₃), T2 (15 mM NaNO ₃), expuestos a luz azul + blanca y luz blanca. El símbolo x representa el promedio, las barras la desviación estándar y los puntos externos los valores atípicos...	58
Figura 15. Tasa de crecimiento diario promedio (TCDm) a lo largo del ensayo 2 en función del tipo de sustrato. Las barras azul claro indican el sustrato de malla (SM) y las barras azul oscuro los sustratos de coral (SC). En la parte terminal de cada columna se presenta el valor promedio correspondiente.....	59
Figura 16. Valores promedios con su desviación estándar (líneas) de la tasa de crecimiento (TCDm %) de los talos con el tiempo, en respuesta a los tratamientos (T1: 5 mM y T2: 15 mM) y condiciones de luz. Las barras con líneas indican las muestras expuestas a luz azul + blanca y las de color solido las tratadas con luz blanca. Las barras azules indican el tratamiento uno, mientras las anaranjadas el tratamiento 2.	60

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Polisacáridos presentes en las algas rojas, de interés para usos en diferentes industrias.	30
Tabla 2. Producción de cultivo en 2019 para <i>Kappaphycus</i> sp, <i>Gracilaria</i> sp y <i>Porphyra</i> sp a nivel mundial (Cai <i>et al.</i> , 2021).....	34
Tabla 3. Comparación de los parámetros empleados en el sistema de cultivo semicerrado durante los ensayos 1 y 2.	47
Tabla 4. Medio Von - Stosch preparado con sus respectivas variaciones según Andersen, 2005.	48
Tabla 5. Comparaciones múltiples de la prueba PERMANOVA para los tratamientos de enriquecimiento con NaNO ₃ (Tr: Tratamiento) y los sustratos (Su: Sustrato) frente al TCD (%) de los talos de <i>H. musciformis</i> en el sistema de cultivo semicerrado. T1 (5 mM NaNO ₃), T2 (15 mM NaNO ₃), T3 (25 mM NaNO ₃), T4 (0 mM NaNO ₃). P(MC) indica la de Montecarlo y df los grados de libertad. PERMDISP indica las diferencias entre la dispersión entre los grupos.	55
Tabla 6. Correlación de Spearman y modelo de regresión lineal. ICi e ICs indican los intervalos de confianza inferior y superior respectivamente.	57
Tabla 7. Comparaciones múltiples de la prueba PERMANOVA para los tratamientos de enriquecimiento con NaNO ₃ (Tr: Tratamiento) y los sustratos utilizados (Su: Sustrato) frente al TCD de los talos en el sistema de cultivo semicerrado con luz azul + blanca y blanca. df indica los grados de libertad. PERMDISP indica las diferencias entre la dispersión entre los grupos.	61
Tabla 8. Correlación de Spearman y modelo de regresión lineal. Ici e Ics indican los intervalos de confianza inferior y superior respectivamente.	62
Tabla 9. Perfil de MAAs (mg. g-1 DW) para las muestras del primer ensayo (año 2022) con luz blanca y variación en la concentración de NaNO ₃ (Gonzales-Torrez <i>et al.</i> , 2025).	63
Tabla 10. Perfil de MAAs (mg. g-1 DW) para las muestras del segundo ensayo (año 2023) con luz blanca y blanca/azul y variación en la concentración de NaNO ₃ (Gonzales-Torrez <i>et al.</i> , 2025). MA indica muestra aclimatada y CC cosecha completa	63
Tabla 11. Rendimiento de k-carragenina para las muestras cultivadas durante los ensayos 1 y 2 (González-Torres, 2024).	64

RESUMEN

Los cultivos de macroalgas han tenido una tendencia en aumento durante los últimos años, ya que representan una estrategia con impacto global gracias a sus aplicaciones en sectores clave como la alimentación, la salud, la cosmética y la energía, sin embargo, en Colombia éste es un sector poco desarrollado, teniendo esto en cuenta, el objetivo del presente trabajo fue implementar un sistema de cultivo semicerrado para evaluar la tasa de crecimiento de los talos de *Hypnea musciformis* en condiciones controladas de salinidad, temperatura y pH. Para ellos, se realizaron dos cultivos entre septiembre - diciembre del 2022 y agosto - noviembre del 2023. Los talos colectados se aclimataron, se sembraron y se midió su tasa de crecimiento diario promedio (TCDm), en respuesta a cuatro tratamientos de NaNO₃ (5 mM, 15 mM, 20 mM y 0 mM), dos tipos de sustrato (esqueleto de coral (SC) y mallas de polipropileno (SM)) y dos condiciones de luz (blanca a 30 $\mu\text{mol. m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ y luz azul + blanca a 106 $\mu\text{mol. m}^{-2}.\text{s}^{-1}$). Se realizaron extractos mediante UHPLC-DAD y UHPLC-MS/MS para cuantificar el perfil de aminoácidos tipo micosporina (MAAs). Por último, se utilizó metanol para la extracción de kappa-carragenina y SEC-HPLC para determinar su peso molecular. En el primer ensayo, el mayor TCDm se obtuvo a los 8 días, el cual fue de 4.613 ± 2.792 %; n = 8 con 5 mM y para el segundo fue a los 35 días, 0.866 ± 0.576 %; n = 24 con 5 mM. Aunque no hubo diferencias significativas entre los sustratos, el ensayo 1 con SC y 5 mM [NaNO₃] presentó un TCDm de 6.973 %. Se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos para el ensayo uno (PERMANOVA, pseudo F = 12.262, p = 0.0001), y entre las condiciones de luz para el ensayo dos (PERMANOVA, pseudo F = 9.151, p = 0.003). La luz blanca alcanzó un TCDm de 0.619 ± 0.980 %; n= 56 con 15 mM [NaNO₃]. Las muestras cultivadas revelaron solamente trazas de MAAs, un rendimiento de extracción de kappa-carragenina entre 20.5 a 34.7 % y pesos moleculares de 134.80 KDa a 163.04 KDa. Se logró promover el aumento en el crecimiento de los talos y determinar que las variables contribuyen en un 34.8 % a la variabilidad del TCD, sin embargo, se destaca la importancia de optimizar las condiciones ambientales y el uso de biofiltros para limitar la presencia de organismos competidores, con el fin de optimizar y garantizar la viabilidad del cultivo a largo plazo.

Palabras clave: Kappa-carragenina, micosporinas, tasa de crecimiento, sustratos, nutrientes.

ABSTRACT

Macroalgae cultivation has been on the rise in recent years, representing a strategy with global impact thanks to its applications in key sectors such as food, health, cosmetics, and energy. However, in Colombia, this sector remains underdeveloped. Therefore, the objective of this study was to implement a semi-closed cultivation system to evaluate the growth rate of *Hypnea musciformis* thalli under controlled salinity, temperature, and pH conditions. Two cultivation periods were conducted between September and December 2022 and August and November 2023. The collected thalli were acclimatized, planted, and their average daily growth rate (TCDm) was measured in response to four NaNO₃ treatments (5 mM, 15 mM, 20 mM, and 0 mM), two substrate types (coral skeleton (CS) and polypropylene mesh (PM)), and two light conditions. (white light at 30 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ and blue + white light at 106 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Extracts were prepared by UHPLC-DAD and UHPLC-MS/MS to quantify the mycosporine-like amino acid (MAA) profile. Finally, methanol was used for kappa-carrageenan extraction and SEC-HPLC to determine its molecular weight. In the first assay, the highest TCDm was obtained at 8 days, which was $4.613 \pm 2.792 \%$; $n = 8$ with 5 mM, and for the second it was at 35 days, $0.866 \pm 0.576 \%$; $n = 24$ with 5 mM. Although there were no significant differences between substrates, trial 1 with SC and 5 mM [NaNO₃] showed a TCDm of 6.973%. Significant differences were found between treatments for trial 1 (PERMANOVA, pseudo $F = 12.262$, $p = 0.0001$), and between light conditions for trial 2 (PERMANOVA, pseudo $F = 9.151$, $p = 0.003$). White light achieved a TCDm of $0.619 \pm 0.980\%$; $n = 56$ with 15 mM [NaNO₃]. The cultured samples revealed only traces of MAAs, a kappa-carrageenan extraction yield between 20.5 and 34.7 %, and molecular weights from 134.80 kDa to 163.04 kDa. It was possible to promote increased thalli growth and determine that the contributing variables accounted for 34.8% of the TCD variability; however, the importance of optimizing environmental conditions and using biofilters to limit the presence of competing organisms is highlighted, in order to optimize and guarantee the long-term viability of the crop.

Keywords: Kappa-carrageenan, mycosporins, growth, substrates, nutrients.

1. INTRODUCCIÓN

La acuicultura de macroalgas es una alternativa sostenible que impulsa la nutrición, la industria y el desarrollo costero. En el siglo XXI el sector de la acuicultura ha tenido un mayor reconocimiento por su contribución esencial en la nutrición mundial y la seguridad alimentaria (FAO, 2022). Durante la propagación de COVID-19, la producción global de organismos acuáticos se estimó en 178 millones de toneladas, siendo alimentos disponibles para el consumo humano (FAO, 2022; Monirul *et al.*, 2022). Para el 2020 y el 2022 este sector aportó el 50.3 y el 50.9 % de la producción mundial, equivalentes a 122.6 y 130.9 millones de toneladas respectivamente (FAO, 2024; FAO, 2022; Monirul *et al.*, 2022). De lo cual, la producción de algas (algas marinas y microalgas) fue de 36.1 millones de toneladas (27.9 %) en el 2022 y de 35.1 millones de toneladas (26.8 %) en el 2020, correspondiente a aquellas destinadas a usos alimentarios y no alimentarios (FAO, 2024; FAO, 2022). Las macroalgas dominaron este mercado con un incremento de medio millón de toneladas equivalente a un aumento de 1.4 % con respecto a 2019 (FAO, 2022; Borit y Olsen, 2016).

El continente asiático representó la mayor producción de algas marinas a nivel mundial (99.4 %) y desde 1991 China ha sido uno de los mayores productores, aportando el 59.75 % en 2020 (FAO, 2022). Otros continentes como el africano, América, Europa y Oceanía representaron el 0.30 %, 0.07 %, 0.06 % y el 0.03 % respectivamente durante el mismo periodo (FAO, 2022; Cai *et al.*, 2021).

El aumento de la oferta y la demanda, los cambios en las preferencias de los consumidores y los avances tecnológicos son algunos factores que han incrementado el consumo de alimentos acuáticos en las últimas décadas (FAO, 2022). Entre las especies de macroalgas más cultivadas a nivel mundial durante el 2020, se encuentran *Saccharina japonica*, *Euclima sp*, *Gracilaria sp*, *Undaria pinnatifida*, *Porphyra sp*, *Kappaphycus alvarezii*, *Sargassum fusiforme* y *Euclima denticulatum*, de las cuales *S. japonica* domina el mercado, con una producción anual del 35.5 % (FAO, 2022; Buschmann *et al.*, 2017; Kim *et al.*, 2017). El 97 % de esta producción corresponde a algas provenientes de la acuicultura, mientras que solo el 3 % proviene de la recolección y explotación de poblaciones silvestres (Arias *et al.*, 2022). Adicionalmente, de las 9800 especies de algas marinas descritas únicamente el 0.17 % ha sido domesticado el para su explotación comercial (Duarte *et al.*, 2007; Pereira, 2021).

Considerando estas cifras, para lograr un cultivo exitoso, es importante tener en cuenta múltiples factores al momento de implementar un sistema acuicola. En el caso de las macroalgas, el movimiento del agua (Gaspar *et al.*, 2020), la disponibilidad de nutrientes, el tipo de sustrato y las condiciones de luz óptimas, son variables ambientales claves que pueden determinar el rendimiento de biomasa y la productividad (Cai *et al.*, 2021; Andersen, 2005; McHugh, 2003). El nitrógeno, el carbono y el fósforo son los tres principales nutrientes que se agregan a los sistemas intensivos y pueden ser manipulados para favorecer la síntesis de moléculas secundarias de gran interés comercial (García *et al.*, 2012; Andersen, 2005; McHugh, 2003). La absorción de estos nutrientes y el crecimiento de las algas pueden estar regulados adicionalmente por factores abióticos y bióticos (Bravin y Yoneshigue, 2002), por lo que evaluar su efecto, y determinar las variables ambientales óptimas que influyen en su metabolismo, puede mejorar el rendimiento en los cultivos con base en su crecimiento (García *et al.*, 2012; Andersen, 2005; Bravin I y Yoneshigue, 2002).

Por otro lado, las algas marinas son de vital importancia, ya que producen el oxígeno necesario para el metabolismo de otros organismos (Nauer *et al.*, 2015) y son productores primarios en la red trófica, generando materia orgánica a partir de luz solar, dióxido de carbono y agua (Caires *et al.*, 2013). En términos de uso y aprovechamiento, son utilizadas en alimentos como suplemento en ensaladas, comidas o sopas, y también tienen aplicaciones industriales, como en la producción de agar y carragenina (Cai *et al.*, 2021; Delgadillo y Newmark, 2008). Se usan en comunidades humanas desde la época romana, cuando eran empleadas como fertilizantes (Arias *et al.*, 2022). Además, ayudan a mitigar la acidificación de los océanos, almacenan carbono, pueden combatir los efectos del cambio climático, generan hábitats y recursos para otras especies ayudando a la restauración de los ecosistemas marinos y permiten la implementación de cultivos multitróficos, de gran interés para la industria de la maricultura (Perpetuo *et al.*, 2003).

En este contexto, el género *Hypnea* sp (Gigartinales) conformado por algas rojas, distribuidas principalmente en la zona intermareal, pueden estar adheridas a rocas someras o como epífitas de otros organismos, principalmente *Sargassum* spp (Pereira, 2021; Yokoya *et al.*, 2020; Gaspar *et al.*, 2020). Son talofitas que contienen clorofila como pigmento fotosintético principal, presentan una alta plasticidad fenotípica y tienen una amplia distribución a nivel global (Graham y Wilcox, 2000). En especial, *Hypnea musciformis* que puede llegar a medir hasta 20 cm de longitud, aunque suelen fragmentarse antes de llegar

a dicha altura. Su coloración varía entre rojo y marrón rojizo, y puede tornarse amarilla si crece en lugares con nutrientes limitados (Cosenza *et al.*, 2013, Lahaye, 2001).

Su cultivo es de gran importancia debido al interés comercial que representa. Uno de los componentes más abundantes presente en su pared celular es el polisacárido kappa – carragenina, una sustancia que se utiliza industrialmente como agente gelificante, estabilizante, espesante o emulsionante (Perpetuo, *et al.*, 2003; Campos, *et al.*, 2009). Se ha documentado su uso en la industria farmacéutica, cosmética, gráfica y textil, así como agentes de control de movilidad renovables, ecológicos y no tóxicos para la recuperación de entornos afectados por derrames de petróleo (Cosenza, *et al.*, 2013; Iglauer *et al.*, 2011). El cultivo mundial de algas rojas aumentó de 21000 toneladas en 1950 a 18.3 millones de toneladas en 2019. En este mercado, los principales representantes son *Gracilaria* spp., utilizada para la producción de agar, mientras que *Kappaphycus* sp se utiliza para extraer carragenina (Cai *et al.*, 2021; FAO, 2018; McHugh, 2003). Por lo que estudiar el cultivo de esta especie representa un interés comercial, productivo y de aprovechamiento. Teniendo en cuenta que en Colombia los cultivos experimentales de macroalgas apenas comienzan y las investigaciones que se han realizado hasta la fecha permanecen como literatura gris en tesis, avances e informes de difícil acceso (Arias *et al.*, 2022).

Con base a lo anterior, esta investigación forma parte del programa BALCARQ aprobado por Minciencias bajo el título *bioprospección química de algas del Caribe colombiano*, código 1101-852-69964 de la convocatoria 852-2019, y comparte financiación con el proyecto de la convocatoria interna 1013-19-20 de la Universidad Jorge Tadeo Lozano (Grupo bioprospección y biotecnología, COL00070232). Tiene como objetivo evaluar la tasa de crecimiento diario, el contenido de kappa-carragenina y aminoácidos tipo micosporina (MAAs) de los talos de *H. musciformis*, implementando un sistema semicerrado de cultivo que permita analizar su respuesta a la exposición de cuatro tratamientos de NaNO_3 , dos tipos de sustratos, y dos condiciones lumínicas. Para ello, se realizarán monitoreos continuos del sistema manteniendo parámetros constantes como salinidad, temperatura, disponibilidad de nutrientes, densidad de siembra y pH.

2. JUSTIFICACIÓN

La evaluación de la tasa de crecimiento de especies marinas cultivadas es fundamental para comprender su desarrollo y optimizar los sistemas de cultivo. En el caso de la

macroalga *H. musciformis*, su estudio es de importancia debido a su potencial aplicativo en diversas áreas, además de haber demostrado poseer propiedades bioactivas y nutricionales, lo que la convierte en un recurso valioso para la industria farmacéutica, alimentaria y cosmética. Asimismo, su estudio permitirá determinar condiciones óptimas para establecer ensayos posteriores a gran escala y proporcionar información importante para el diseño y la operación de sistemas de cultivos eficientes que aseguren una producción continua y sostenible de biomasa de alta calidad.

Muchas comunidades costeras del mundo tienen como tradición cultural el consumo de algas. En este contexto, se han documentado alrededor de 700 especies utilizadas con fines alimentarios: 195 pardas, 345 rojas y 125 verdes, esto es posible ya que la mayoría no tienen toxinas intrínsecas (Cai *et al.*, 2021; Pereira, 2016). Especies como *Saccharina* spp, *Porphyra* spp y *Undaria* spp son utilizadas como ingredientes en sopas, ensaladas, como envolturas de sushi y hasta refrigerios (Buschmann *et al.*, 2017; Tinellis, 2014). Son un alimento nutritivo, ricos en fibras dietéticas, micronutrientes y compuestos bioactivos (Cosenza *et al.*, 2013; Holdt y Kraan, 2011). También ayudan a mejorar la salud intestinal y reduce los riesgos de enfermedades como la obesidad y la diabetes (Gómez y Martel, 2016).

Aparte de su interés alimenticio directo, las algas también se procesan para producir aditivos como el glutamato y el alginato, obtenido principalmente de *S. japónica* (Milinovic *et al.*, 2021), el agar extraído de *Gracilaria* spp y otras agarofitas o la carragenina proveniente de *Kappaphycus* spp. Además, extractos como el yodo, el fucoidan, la fucoxantina y los florotaninos, se utilizan como complementos alimenticios para beneficios de la salud (Cai *et al.*, 2021; Cosenza *et al.*, 2013). A nivel mundial, y durante el 2019 los precios promedio de venta fueron de USD 0.47/kg (peso húmedo) para las algas pardas, USD 0.39/kg para las rojas y USD 0.79/kg para las verdes. Desde la perspectiva de la oferta, las economías en crecimiento pueden ayudar a reducir los costos de producción, y factores como los bajos costos de capital y mano de obra son clave para reducir el costo (Cai *et al.*, 2021). En Colombia, las aplicaciones de las algas se han enfocado principalmente en el estudio de su composición (Álvarez *et al.*, 2007), tanto para consumo directo como para producción de fertilizantes, en la extracción de polisacáridos y pigmentos y en la evaluación de la actividad biológica de los extractos (Arias *et al.*, 2022).

El primero en realizar diversos esfuerzos para evaluar la posible utilización industrial de las algas, así como de los cultivos que pudieran suplir la cantidad necesaria de materia prima, utilizando la rodofita *Grateloupia filicina* fue Bula-Meyer desde 1989. Hasta la fecha, se han realizado algunas investigaciones sobre el establecimiento de cultivos piloto de algas marinas tanto en mar abierto como en tierra, pero toda esta información se encuentra en tesis de pregrado u otros documentos que son de difícil acceso (Arias *et al.*, 2022).

Entre los trabajos más citados se encuentran los de Delgadillo y Newmark (2008) y Camacho y Montaña (2012) que establecieron cultivos de *H. musciformis* en las regiones de La Guajira y Santa Marta, respectivamente (Arias *et al.*, 2022); Camacho y Montaña obtuvieron una tasa de crecimiento diario de 2.66 % en mar abierto, comparable con las que obtienen países como Bangladesh (3.2 %) y Brasil (5.7 %) (Pereira *et al.*, 2020, Camacho y Montaña, 2012). Otros autores han realizado cultivos de *Gracilariopsis* sp en el Atlántico (Molina *et al.*, 2014) y en la Guajira (Rincones y Moreno, 2010), así como de *K. alvarezii* en la misma región (Diaz y Díaz, 2004). No obstante, todos presentaron dificultades, como tasas de crecimiento reducidas o pérdida de material vegetal por las condiciones ambientales del lugar donde se realizaron los cultivos (Arias *et al.*, 2022; Peña y Palacios, 2011). En cuanto a los cultivos terrestres la información es limitada y se destaca únicamente el trabajo de laboratorio realizado por Mosquera y Peña (2016) con *Caulerpa sertularioides*, donde determinaron un crecimiento óptimo a una salinidad de 25 ppt utilizando de mar artificial.

Teniendo en cuenta los beneficios industriales y comerciales que pueden generar, las operaciones de cultivos suelen requerir mucha mano de obra y emplean a muchos trabajadores a tiempo parcial u ocasionales, convirtiendo gran porcentaje de su producción en salarios o ingresos de numerosas familias (Cai *et al.*, 2021). Actividades como el manejo de postcosecha, distribución, procesamiento y mercadeo, tienden a generar más ingresos y empleo. Por ejemplo, en Filipinas, se involucraron de 100 000 a 150 000 cultivadores de algas marinas (Hurtado, 2013). La industria de la carragenina también creó un gran número de trabajos de apoyo, administrativos en laboratorios, oficinas y según las estadísticas de la ONU, 98 países obtuvieron 2650 millones de dólares en divisas en 2019 a través de la exportación de algas (USD 909 millones) e hidrocoloides extraídos de las mismas (USD 1 740 millones) (FAO, 2022; Cai *et al.*, 2021; FAO, 2018).

A pesar de los avances globales, Colombia continúa rezagada frente a países latinoamericanos como Chile, Brasil, Perú, y México, los cuales son la industria algal a nivel mundial (Alemañ *et al.*, 2019). Estos países cuentan con condiciones ambientales diferentes a las de Colombia y han establecido políticas claras en cuanto al manejo de su recurso marino (Hayashi *et al.*, 2014), además han desarrollado e implementado tecnologías de cultivo a gran escala en mar abierto que han permitido la expansión de su industria. Aunque nuestro país tiene un Plan Nacional para el Desarrollo de la Acuicultura Sostenible (AUNAP, 2014), este no incluye el cultivo de algas marinas. Por ello, se deben crear políticas claras y sencillas para acceder a los recursos y establecer permisos para desarrollar cultivos sostenibles en zonas costeras y oceánicas (Arias *et al.*, 2022). Esto podría contribuir al aumento de la investigación en este campo, al desarrollo de tecnologías de cultivo más eficientes y respetuosas con el medio ambiente, así como a la determinación de los procesos de extracción y purificación para satisfacer la demanda global de este mercado. Para lograrlo, se requiere un trabajo en conjunto con las comunidades locales y la participación de actores como inversionistas, el sector industrial y el gobierno, y de este modo garantizar una producción continua, homogénea y eficiente en el país (Arias *et al.*, 2022; Alemañ *et al.*, 2019).

3. MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE

3.1 MARCO TEÓRICO

3.1.1 Sistema de cultivo

Entre los sistemas más utilizados para el cultivo de macroalgas, de acuerdo con Weathon (1993), existen tres tipos, los abiertos, los semicerrados y los cerrados. Los sistemas abiertos hacen referencia al cultivo de especies hidrobiológicas en cuerpos de agua naturales como océanos, lagunas, estuarios, lagos o ríos, utilizando estructuras de cosecha, como las jaulas flotantes (Ortiz, 2014). En los sistemas semicerrados existe un único paso de agua en el sistema, cuyo efluente es posteriormente descartado, como por ejemplo los cultivos mediante raceways, en estanques o canaletas. Finalmente, los sistemas cerrados el agua es tratada y recirculada hacia las unidades de cultivo (Gómez *et al.*, 2016).

Los sistemas de cultivo semicerrados tienen una gran ventaja, ya que permiten optimizar las condiciones del cultivo, asegurar la calidad de la biomasa y minimizar el impacto

ambiental asociado a la recolección en el medio natural (Cornish *et al.*, 2017). Involucran el control de diversos factores ambientales, como la calidad del agua, la temperatura, la intensidad lumínica, la composición de los medios de cultivo y la densidad de siembra (Buschmann *et al.*, 2017). Estos parámetros son determinantes para el crecimiento y desarrollo de las macroalgas, debido a su influencia en la fotosíntesis, la absorción de nutrientes y la reproducción (Gómez *et al.*, 2016).

Es importante mantener un control constante sobre algunos factores durante el cultivo, siendo el principal de ellos la calidad del agua de mar natural (AN), ya que es un medio complejo que contiene más de 50 elementos, así como un número grande y variable de compuestos orgánicos. Para el cultivo de algas, el uso directo de AN rara vez es aceptable (Andersen, 2005). Sin un aporte adicional de nutrientes y metales traza, el rendimiento de las algas suele ser muy bajo para mantener el cultivo o ensayos de laboratorio, por lo tanto, se suele requerir un proceso de enriquecimiento (García *et al.*, 2012). Los demás parámetros que se consideran importantes son tanto físicos como químicos y se listan en la figura 1.

3.1.1.1 Parámetros físicos

Una de las mayores ventajas de los sistemas de cultivo cerrados o semicerrados es la capacidad de regular y ajustar los parámetros ambientales, lo que permite optimizar el crecimiento y la salud de las macroalgas. En la figura 1, se presenta un resumen detallado de los principales factores físicos como la temperatura, el pH, la salinidad, el movimiento y la iluminación, cuyo control favorecer un desarrollo adecuado del cultivo.

3.1.1.1.1 Sustratos

El sustrato, en el contexto de los cultivos de algas, hace referencia al material o medio al que estos organismos se fijan y crecen. En la naturaleza las macroalgas viven adheridas a sustratos sólidos, por lo que es importante y beneficioso emplear sustratos específicos diseñados para maximizar la producción de biomasa (Saavedra *et al.*, 2019). Existen diferentes tipos de sustratos que se utilizan en función del tipo de alga y el propósito del cultivo, por ejemplo, en algunos países de Asia utilizan tres técnicas basadas en sustratos (De San, 2012) los cuales son:

1. **Poste y línea:** Consiste en suspender una serie de líneas de 10 m de longitud entre dos postes. Es un método adecuado para lagunas o zonas poco profundas durante la

marea baja, y se emplea principalmente en cultivos de pequeña escala. Se controlan periódicamente y se recolectan durante los dos períodos de marea primaveral de cada mes.

2. **Palangres:** Implica el uso de una línea de hasta 50 m de longitud, anclada en cada extremo y sostenida por flotadores colocados aproximadamente cada 10 m. Se emplea generalmente en aguas de entre 4 y 10 m profundidad.
3. **Basado en rocas:** Los esquejes del alga se fijan inicialmente sobre una roca, al cabo de unas semanas el alga establece sus propios puntos de fijación. La recolección se realiza durante la marea baja y a pie, cortando el nuevo crecimiento en cada ciclo y dejando una cantidad suficiente de "raíces" para que el ciclo de crecimiento comience nuevamente. Esta técnica evita la necesidad de colocar nuevos esquejes después de cada cosecha y representa un importante ahorro de mano de obra. Requiere de un sitio protegido del oleaje, ya que en lugares demasiado expuestos, las rocas pueden terminar en la playa o en el fondo de la laguna (De San, 2012).

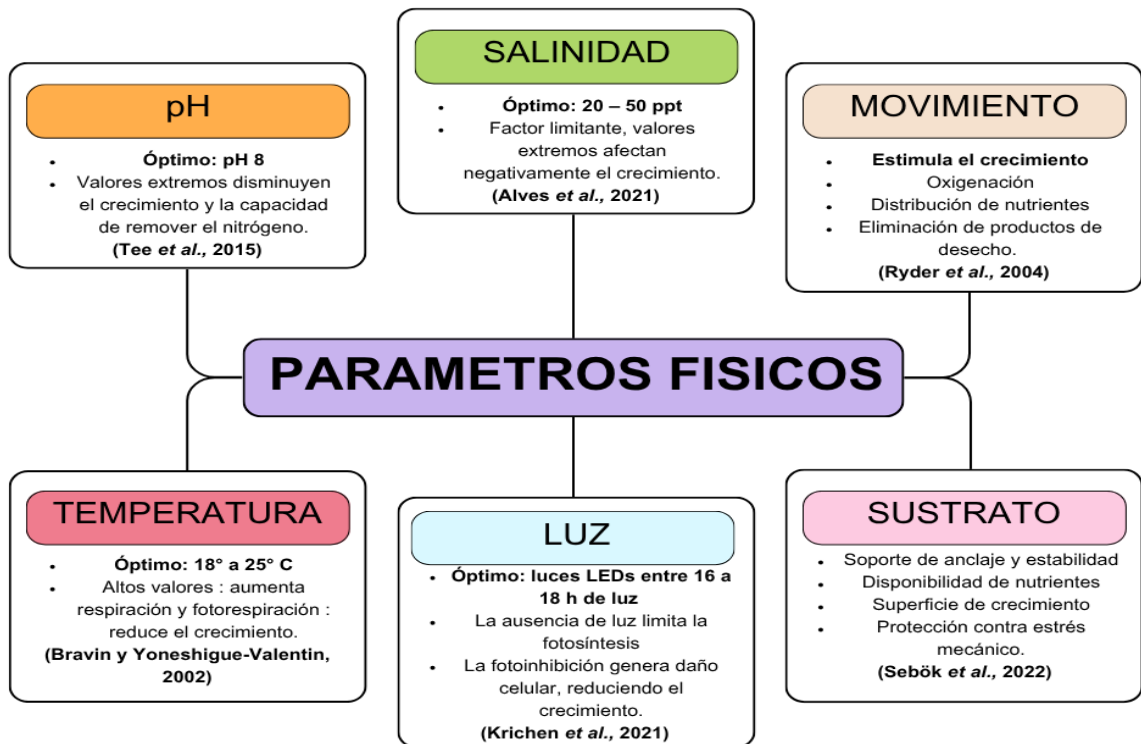


Figura 1. Parámetros físicos para controlar en un sistema de cultivo semicerrado o cerrado.

3.1.1.1.2 Luz

La intensidad lumínica es un factor físico esencial para la fotosíntesis en algas, ya que se usa para la absorción de nutrientes en las células, especialmente nitrógeno y carbono (Wedchaparn *et al.*, 2015). Es uno de los principales factores que influyen en el crecimiento, la concentración de pigmentos y la tasa fotosintética en las algas rojas (Necchi 2005). Las especies productoras de carragenanos varían según los lugares en los que existen, la mayoría son de zonas epipelágicas donde penetra suficiente luz para la fotosíntesis (Olatunji 2020). Carnicas *et al.*, (1999) informaron que, en las zonas tropicales, cuando la irradiancia ronda los $2500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, la fotosíntesis máxima de las algas expuestas es de alrededor de $500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, mientras que en algas en sombra oscila entre $60\text{-}150 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Es bien sabido que la tasa de crecimiento (TC) aumenta o disminuye según la intensidad de luz, el cual será el resultado de la tensión y la temperatura de cultivo, sin embargo, el TC de las algas es máxima a una intensidad de saturación (Juneja *et al.*, 2013). Cuando se aumenta por encima de los límites de saturación, causa fotoinhibición (You y Barnett, 2004). La composición celular de las algas se ve afectada por la intensidad de la luz. Por ejemplo, la tasa de crecimiento de *Gracilaria* sp aumenta cuando aumenta la intensidad de la luz. Sin embargo, en la naturaleza, *Gracilaria* sp no vive bajo una alta intensidad de luz, excepto en verano (Gómez *et al.*, 2005).

El crecimiento algal también se ve influenciado por la calidad de la luz (blanca, azul, verde, amarilla o roja), el efecto sobre la fotosíntesis puede alterar la acumulación de pigmentos fotosintéticos, proteínas y aminoácidos similares a las micosporinas (MAA) que absorben los rayos UV. En investigaciones realizadas con el alga roja *Porphyra leucosticte*, las luces azul y blanca promovieron la mayor acumulación de compuestos derivados del metabolismo del nitrógeno, mientras que la luz blanca incrementa la tasa de crecimiento (Korbee *et al.*, 2005).

En cuanto al tipo de luz artificial que se puede utilizar en un sistema de cultivo terrestre para proporcionar una intensidad de luz constante, los diodos emisores de luz (LED) son especialmente empleados debido a su eficiencia en la radiación fotosintéticamente activa (PAR), que oscila entre el 80 y el 100 %. Esto proporciona combinaciones de colores con longitudes de onda que corresponden a la luz azul, verde, amarilla, naranja, roja y otras

luces, así como una intensidad que se asemeja al espectro de la luz solar (Katam *et al.*, 2023). Su potencial radica en producir luz monocromática de una manera energéticamente eficiente (Bourget, 2008). En general, comparado con el cultivo de luz fluorescente, la tasa de crecimiento de las algas podría aumentarse en un 10 – 60 % en condiciones de luz LED adecuadas (Huang *et al.*, 2021).

3.1.1.2 Parámetros químicos

3.1.1.2.1 Nutrientes esenciales

Existen nutrientes como el nitrógeno, el carbono, el fósforo y el silicio que conforman los principales elementos requeridos por las algas marinas para llevar a cabo la fotosíntesis y sostener el crecimiento, regulando de forma interactiva sus tasas de producción (Schmidt *et al.*, 2009). Sin embargo, el silicio se requiere sólo para diatomeas, silicoflagelados y algunas crisofitas (Andersen, 2005). Generalmente se requieren en una proporción de 16N:16 Si:1P; mientras que para el carbono se requiere (por unidad de peso seco del tejido) del 10 % al 50 %, con un valor medio cercano al 25% (Carvalho, 2019).

Estos compuestos ingresan a la célula mediante tres mecanismos principales: transporte pasivo, difusión facilitada y transporte activo. Una vez que han atravesado la pared celular, pueden almacenarse en varios depósitos o ser asimilados. Para que las algas los absorban, los nutrientes deben cruzar la capa límite de difusión y la pared celular (Schmidt *et al.*, 2009; Rangel *et al.*, 2014; Lee, 2008).

En esta sección se profundizará en la importancia de investigar y desarrollar estrategias de cultivo controlado que permitan maximizar la producción de biomasa y compuestos bioactivos, tratando de garantizar la sostenibilidad del proceso.

a) Nutriente esencial nitrógeno:

En los sistemas naturales, el nitrógeno es el nutriente que más comúnmente limita el crecimiento de las algas marinas, está disponible en forma inorgánica como nitrato (NO_3^-) y amonio (NH_4^+), y en forma orgánica como urea (Schmidt *et al.*, 2009). A menudo las algas absorben NO_3^- y NH_4^+ simultáneamente, pero las tasas de captación pueden ser diferentes para cada fuente de nitrógeno (Wang *et al.*, 2014). La absorción de NO_3^- se realiza a través del transporte activo, el cual se asimila a NH_4^+ , lo que requiere la síntesis y el mantenimiento

de las enzimas nitrato reductasa y nitrito reductasa. Esta “nueva producción” puede almacenarse dentro de la célula (Schmidt *et al.*, 2009; Bouzon, 2006).

Para la captación y asimilación de este nutriente, se requiere energía de las reacciones luminosas de la fotosíntesis (Navarro y Robledo, 1999). Al tener más disponibilidad de nitrógeno, se produce un aumento de los compuestos tisulares como aminoácidos, ficobiliproteínas y clorofila, lo que a su vez aumenta la actividad fotosintética y el crecimiento (Naldi y Wheeler, 2002). Sin embargo, este aumento puede reducir el contenido de ficocoloides (por ejemplo, agar y carragenina), si se limita el nitrógeno, se produce una alteración en la producción de carbohidratos y/o lípidos (McGlathery *et al.*, 1996). Para algunos compuestos de interés comercial, como los agarofitos y carragenofitos, el flujo de fotosíntesis en varios productos finales depende del estado del nitrógeno tisular (Chopin y Wagey, 1999).

La producción primaria basada en NH_4^+ , y urea se denomina "producción reciclada", ya que proviene de los desechos de los invertebrados y peces en los sistemas asociados (Bouzon, 2006). La captación de NH_4^+ tiende a ser por difusión pasiva y normalmente no se almacena en grandes concentraciones dentro de la célula, se metaboliza rápidamente a aminoácidos a través de la glutamina y el glutamato sintetasa (Ribeiro *et al.*, 2017). En el pH típico del agua de mar, hay alrededor de un 90 % de NH_4^+ y en cuanto a la urea, es necesario que se caliente para que se descomponga en NH_4^+ y CO_2 a través de la enzima ureasa, produciendo 2 moléculas de N (Raven *et al.*, 1999; Carvalho, 2019). El nitrito también se puede absorber como otra fuente inorgánica pero no se considera una forma importante en el agua de mar natural (Schmidt *et al.*, 2009).

La capacidad de absorción de nitrógeno se verá afectada por la etapa de vida en la que el talo se encuentre, en algunas plantas maduras la presencia de NH_4^+ puede inhibir la síntesis de NO_3^- , pero no en fases germinativas (Schmidt *et al.*, 2009).

b) Nutriente esencial carbono y fósforo:

En el agua de mar, el carbono inorgánico (Ci) se presenta en altas concentraciones (2 000 μM), principalmente en forma de bicarbonato (HCO_3^-), en relación con el CO_2 disuelto (14 μM DIC), la reabsorción de HCO_3^- , se realiza a través de transporte activo y requiere energía, mientras que para que se absorba CO_2 el mecanismo se realiza mediante difusión pasiva, que es energéticamente "económica" (Andersen, 2005). Las algas que crecen en

hábitats con luz limitada pueden aumentar la absorción de CO_2 en relación con el HCO_3^- , para reducir los costos energéticos, aunque es poco probable que las algas marinas que utilizan HCO_3^- se vean limitadas por el suministro de C, y alrededor del 35 % de las ellas no lo pueden utilizar (Turpin, 1991). Por lo tanto, en sistemas altamente productivos, puede limitar el crecimiento de algunas algas, aunque esto dependerá de los mecanismos de absorción y sus requerimientos de carbono para el crecimiento (Abreu *et al.*, 2011).

En cuanto al fósforo, en algunos casos puede ser un limitante. Las macroalgas lo obtienen a través de la enzima fosfatasa alcalina, que descompone la materia orgánica en la superficie del alga en PO_4^{3-} el cual lo retoma posteriormente (Chopin y Wagey, 1999).

3.1.1.2.2 Vitaminas

Para el crecimiento adecuado de las algas en un sistema de cultivo controlado, por lo general se utilizan tres vitaminas: vitamina B12 (cianocobalamina), tiamina y biotina. Sin embargo, muy pocas algas necesitan las tres (Provasoli y Carlucci, 1974). El orden general de requerimientos vitamínicos es B12 > tiamina > biotina.

Cuando el objetivo es el cultivo a gran escala de una sola especie, se deben verificar qué vitaminas requiere dicha especie. Puede ser posible omitir la adición de dos de las tres vitaminas, ya que la mayoría de las especies requieren solo una o dos (Andersen, 2005).

3.1.1.2.3 Metales traza

En el agua de mar, solo una baja proporción de su composición (0.02 %) corresponde a elementos traza, que pueden actuar como oligoelementos metálicos debido a su papel en los sistemas biológicos (Fe, Cu, Cd, Se) (Castilla *et al.*, 2021). Se pueden encontrar metales de transición (Fe, Mn), metales pesados (Hg, Cd, Cu, Pb y Zn) y metaloides (Se, As), todos ellos en bajas concentraciones (Mason, 2013). Sin embargo, estos mismos elementos pueden tener efectos toxicológicos en el ecosistema acuático cuando se encuentran en concentraciones elevadas, especialmente si provienen de fuentes antropogénicas tales como aguas residuales, efluentes industriales, urbanos o de operaciones mineras (Aitio *et al.*, 2007).

En medios de cultivo controlados, donde se utiliza agua de mar natural enriquecida (WSE) se utilizan soluciones madre de metales traza que pueden consistir en sales de cloruro o

sulfato de zinc, cobalto, manganeso, selenio y níquel, los cuales se mantienen en una solución que contiene el quelante EDTA (Andersen, 2005).

El hierro generalmente se adiciona como cloruro férrico, sulfato ferroso o sulfato amónico. Dado que el medio marino se encuentra suficiente concentración de boro, no es necesario agregarlo. Otros metales trazas, como el mercurio y plomo, no cumplen un rol a nivel fisiológico y, a menudo, son tóxicos en cantidades muy pequeñas, ya que tienden a bioacumularse en los organismos al no ser metabolizados (Castilla *et al.*, 2021; Andersen, 2005).

3.1.2 Generalidades de las macroalgas

El término "algas" se refiere a una gran diversidad de entidades filogenéticas no relacionadas, que incluyen desde células picoplanctónicas hasta macroalgas marinas (Park y Li, 2022). Son organismos fotosintéticos autótrofos que no presentan sistema vascular (xilema y floema) y transforman la energía lumínica en energía química, capturando dióxido de carbono (CO₂) y liberando oxígeno gaseoso (O₂) (Pereira, 2021). Se distribuyen en hábitats marinos, dulceacuícolas y terrestres (Díaz y Díaz, 2003). Su diversidad incluye individuos unicelulares (microalgas), pluricelulares (macroalgas) y formaciones de colonias con organizaciones más complejas (Dawes y Mathieson, 2008). Dan soporte a varias comunidades de animales como erizos de mar, gasterópodos, peces herbívoros, entre otros (Pereira, 2021).

La mayoría de las algas marinas tienen en sus células pigmentos que les permiten hacer fotosíntesis y alimentarse por la absorción de sustancias orgánicas presentes en el agua (Pereira, 2020). Su coloración no es más que la expresión visible de la combinación de los diferentes pigmentos fotosintéticos presentes en sus células (Yokoya *et al.*, 2020). La mayoría de ellas tienen clorofila localizada en los cloroplastos; debido a esto, hace más de un siglo que se hizo la distinción de los diferentes phylum y clases de macroalgas marinas a partir de su coloración (Pereira, 2021; Diaz y Díaz, 2003):

- a. **Phylum Chlorophyta** (algas verdes): Su pigmentación es idéntica a la de las plantas vasculares y está compuesta por clorofilas a y b, además de carotenoides.
- b. **Phylum Rhodophyta** (algas rojas): Presenta clorofila a, ficobilinas y algunos carotenoides como pigmentos fotosintéticos.

c.

d. **Phylum Ochrophyta** (algas pardas): todas ellas se agrupan en la clase Phaeophyceae, poseen clorofilas a y c, además de carotenoides (donde predomina la fucoxantina, responsable de su color parduzco).

3.1.3 Ubicación taxonómica de *Hypnea musciformis*

Se estima que la diversidad global de todas las algas es de alrededor de 164 000 especies de las cuales unas 9 800 son algas marinas (Arias *et al.*, 2022; Pereira, 2021) y solo el 0,17 % han sido domesticadas para su explotación comercial (Duarte *et al.*, 2007). En las costas de Colombia el número de algas conocidas asciende a 619 especies, en el Caribe colombiano (Rincón-Díaz y Gavio, 2020; Álvarez *et al.*, 2007; Díaz, 2002).

El género *Hypnea* J.V. Lamouroux (1813) incluye aproximadamente 67 especies distribuidas principalmente en aguas cálidas alrededor del mundo (Geraldino *et al.* 2009). *H. musciformis*, es un alga roja (Rhodophyta), pertenece a la clase Florideophyceae, orden Gigartinales y se ubica en la familia de Cystocloniaceae (Obis, 2022). Tradicionalmente, la clasificación taxonómica dividía a este phylum en dos clases: Bangiophyceae y Florideophyceae (incluyendo a la gran mayoría de las algas rojas modernas, aproximadamente 6 200 especies) (Nauer *et al.*, 2014), pero estudios basados en la biología molecular, dividieron a las Bangiophyceas en cinco clases distintas (McHugh, 2003).

Por mucho tiempo se agrupó a *H. musciformis* en la familia Hypnaceae, separada de la Cystocloniaceae, debido a que presentaban diferencias morfológicas, en Hypnaceae la estructura del carposporofito es un retículo de células alargadas que llevan a un solo carposporangio terminal; mientras que el carposporofito de Cystocloniaceae, es una estructura erecta y ramificada con cadenas terminales de carposporas (Yokoya *et al.*, 2020).

Otros autores las separaron por la química de la carragenina, donde las especies de Cystocloniaceae presentaban lambda-carragenina, mientras que las especies Hypnaceae producían principalmente kappa-carragenina (Yokoya *et al.*, 2020; Chiovetti *et al.*, 1998).

Sin embargo, estudios filogenéticos y moleculares posteriores agruparon la familia Hypnaceae dentro de Cystocloniaceae y también demostraron que las carrageninas lambda y kappa coexisten en los polisacáridos de numerosos taxones de Gigartinales, siendo un

criterio insuficiente para separar las dos familias (Saunders *et al.*, 2004; Nauer *et al.*, 2015). También mostraron que tres especies de algas rojas citadas en el pasado para la costa brasileña, *H. musciformis* (Wulfen) Lamouroux, 1813, *H. nigrescens* Greville ex J. Agardh y *H. valentiae* (Turner) Montagne, eran variantes morfológicas de una nueva especie, *H. pseudomusciformis* (Nauer *et al.*, 2019). Estas variantes crecen en diferentes zonas de la costa rocosa, siendo la variante *H. musciformis* la más común en la costa brasileña y se puede encontrar fácilmente formando poblaciones con alta biomasa (Perpetuo *et al.*, 2003).

3.1.4 Hábitat y distribución geográfica de *Hypnea musciformis*

Se encuentran de manera abundante en zonas intermareales y submareales de aguas tropicales y templadas a cálidas. Se adhieren a superficies rugosas y también son consideradas como epífitas de otras algas de mayor tamaño (Perpetuo *et al.*, 2003). Se extienden a regiones templadas incluyendo Japón, el Mediterráneo, Texas, Carolina del Norte y California (Graham y Wilcox, 2000). Esta amplia distribución puede explicarse por el aumento de revisiones regionales del género, especialmente en Brasil, Sudáfrica, Corea y Japón, junto con estudios moleculares (Geraldino *et al.*, 2010; Nauer *et al.*, 2014).

El Océano Atlántico y el Mediterráneo son la región con mayor número de especies endémicas de *Hypnea* sp, encontrándose particularmente en la costa este de los Estados Unidos, desde Florida hasta Nantucket, en el Caribe, desde el Golfo de México hasta Cuba (Guiry y Guiry 2014). En Brasil, entre el río Sao Francisco y Natal. En el continente asiático, China tiene el mayor número de especies, pero no registran especies endémicas, excepto *H. caespitosa* (Nunes, 2005). La especie con la distribución geográfica más amplia es *H. musciformis*, reportada en los océanos Atlántico, Índico y Pacífico y en más de 70 países. Otras especies ampliamente distribuidas y más citadas en estudios florísticos son *H. cervicornis*, *H. cornuta*, *H. pannosa*, *H. spinella* y *H. valentiae* (Guiry y Guiry 2014).

Es bien sabido que Colombia tiene una amplia diversidad de recursos genéticos de macroalgas, pero se encuentran en bajas proporciones los números de ejemplares en las zonas donde se ubican (Arias *et al.*, 2022). Los primeros estudios se remontan a 1799 con Humboldt y Bond-Pland, y posteriormente con Schnetter, quien durante las décadas de 1960 y 1970 contribuyó al inventario y la distribución geográfica de las especies (Schnetter, 2016; Acevedo, 1968). Estudios más recientes realizados por Rincón y Gavio en el 2020,

reportaron 619 especies agrupadas en tres reinos, de las cuales el 60 % correspondían a Rhodophyta, el 28 % a Chlorophyta y el 12 % a Phaeophyceae.

Es importante tener en cuenta que, aunque *Hypnea musciformis* es una especie que se encuentra distribuida en varias regiones del mundo, sobre todo en las zonas tropicales, también se rige por parámetros ambientales que pueden beneficiar y potenciar su crecimiento, tales como el régimen climático, la temperatura del agua, la salinidad, el pH entre otras (Cosenza, 2015). En la región del Magdalena el régimen climático está determinado por dos épocas climáticas con dos periodos de transición. De diciembre a abril ocurre la época seca mayor, en la que se presentan las mayores intensidades de los vientos Alisios, lo que produce un evento de surgencia característico de aguas frías, saladas y ricas en nutrientes (Camacho y Montaña, 2012; Delgadillo y Newmark, 2008), haciendo que la temperatura superficial del mar varíe entre los 20° a 25°C (Ángel *et al.*, 2000; García *et al.*, 2012), y que la salinidad se eleve hasta 38 ppt (Camacho y Montaña, 2012). Durante la época lluviosa mayor (septiembre-noviembre) los vientos son débiles y las zonas costeras se ven afectadas por pulsos de aguas continentales, lo que disminuye la salinidad, aumenta la turbidez, la temperatura varía entre 27° a 30°C (Palacios, 2009; Ángel *et al.*, 2000), la salinidad disminuye hasta 33 ppt y hay un aumento en la oferta de nutrientes (Camacho y Montaña, 2012; Garzón y Cano, 1991).

3.1.5 Morfología y estructura celular de *Hypnea musciformis*

Las algas varían en muchos aspectos, incluido el estructural. Por ejemplo, pueden presentar talos que varían de aplanados a foliáceos y cilíndrico con varios lóbulos y profundas incisiones que se interconectan entre sí o con una consistencia membranosa a cartilaginosa (Andersen, 2005). En *Hypnea musciformis*, la organización celular es uniaxial y pseudoparenquimatosa, con un eje principal único o múltiple y crecimiento celular apical. Los tilacoides se encuentran libres dentro de los cloroplastos (Castelar *et al.*, 2015; Yokoya *et al.*, 2020), Mientras que las ficobiliproteínas se localizan en ficobilisomas en la superficie de los tilacoides. Asimismo, las células presentan un tapón proteico que llena la conexión de las células y está compuesto por dos membranas de un material ligeramente granular y denso en electrones (Cosenza, 2015).

El primer estudio anatómico que evaluó la sección transversal del talo fue realizado por Tanaka en 1941, quien describió la especie *Hypnea* sp. de Japon a partir de características

internas como la disposición de las células axiales, periaxiales y centrales, así como el engrosamiento de la pared lenticular de las células medulares (Delgadillo y Newmark, 2008). Basándose en las características anatómicas del talo, los expertos dividieron el género en dos grupos: El primero está formado por especies con células axiales iguales o mayores que las células periaxiales; el segundo agrupa especies con células axiales mucho más altas y pequeñas que las periaxiales (Nauer *et al.*, 2015).

Para el género *Hypnea* se distinguen talos ramificados e irregulares, con colores que pueden variar entre rojo parduzco, amarillo verdoso, rosados, rojos, vinosos, marrón o negruzcos (Cosenza, 2015; Palacios, 2009; Andersen, 2005). Suelen presentar una estructura frondosa y enmarañada, con alturas entre 20 y 50 cm. Tienen talos cilíndricos de aproximadamente 600 μm de grosor, con ramas cortas a los lados que terminan en punta curva o en forma de gancho (Figura 2). Estas ramas suelen estar dispuestas en ángulos de 45 grados, con alrededor de ocho ramas por centímetro. Además, es común ver muchas ramas laterales cortas y algunas más largas en el talo principal (Yokoya *et al.*, 2020).

El talo se fija al sustrato a través de estructuras discoides (discos de fijación), estolones o ramas rizoides. *H. musciformis* en general, posee un rizoide muy pequeño o ausente, por ello, para anclarse, usa otras especies (generalmente del género *Sargassum* sp) como soporte, actuando como epífita (Delgadillo y Newmark, 2008).

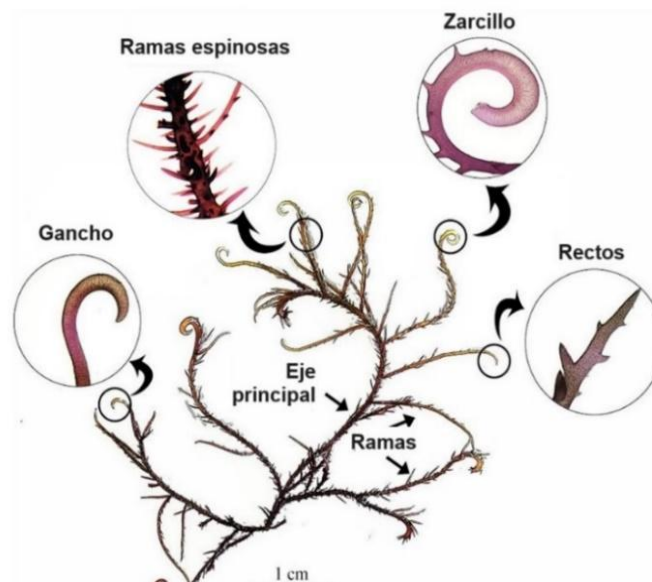


Figura 2. Diagrama morfológico de *H. musciformis*. Se ilustran las principales características distintivas observables a nivel estructural (Yokoya *et al.*, 2020).

Este género presenta una amplia plasticidad fenotípica, la cual depende directamente de las condiciones ambientales en las que se desarrollen, por ejemplo, si crece en aguas con poca o mucha disposición de nutrientes. Así mismo, en la zona intermareal en la que se encuentren pueden presentar diferencias morfológicas, ya que crece desde la zona intermareal superior a media, hacia la franja inferior de la zona intermareal, principalmente en costas expuestas (Castelar *et al.*, 2015; Pereira, 2021).

A nivel estructural, las especies del género *Hypnea* tienen células típicas de algas rojas, con paredes celulares formadas por microfibrillas incrustadas en una matriz amorfa (Cosenza, 2015). En *H. musciformis*, las células corticales están recubiertas por mucílago y se conectan con las células subcorticales a través de estructuras constreñidas en el medio y convexas en los extremos, de aproximadamente 1 μm . En la región media del talo presenta células turgentes (Yokoya *et al.*, 2020; Delgadillo y Newmark, 2008). El tejido presenta entre una y tres capas de células corticales, con una o dos células subcorticales isodiamétricas y de cuatro a seis células medulares irregulares. Las células corticales y subcorticales están rodeadas por una pared celular gruesa compuesta de microfibrillas concéntricas y un citoplasma denso que contiene cloroplastos con estructuras similares entre sí, además de pequeñas vacuolas (Rangel *et al.* 2014).

3.1.6 Ciclo reproductivo

La reproducción puede ser asexual donde no se produce la fecundación, o sexual, caracterizada por la intervención de la fusión de gametos, generalmente un solo individuo es capaz de reproducirse tanto asexual como sexualmente (Caires *et al.*, 2013; Nauer *et al.*, 2015).

3.1.6.1 Reproducción asexual

En este tipo de reproducción, la formación de nuevos individuos puede realizarse a través de tres procesos distintos, solo interviene la mitosis en la duplicación y división exacta del material entre dos células hijas (Caires *et al.*, 2013):

- a) **Fragmentación del talo:** cada fragmento desprendido es capaz de regenerar un nuevo talo completo y formar un nuevo individuo.
- b) **Formación de propágulos:** a través de un pequeño cúmulo de células con capacidad de adherirse a un sustrato y desarrollar un talo funcional independiente.

- c) Producción de esporas:** formadas dentro de esporocistos a partir de divisiones mitóticas del núcleo de la célula madre. Al final de su diferenciación, las esporas son liberadas al medio acuático a través de una abertura en la pared de esporocistos.

Las esporas tienen como objetivo dispersar la especie. Se adhieren a un nuevo sustrato lejano, germinan y dan origen a un nuevo talo. Algunas esporas son formas de resistencia, presentando paredes gruesa e impermeable que les permite pasar breves períodos de inactividad. Estas características son esenciales y necesarias para sobrevivir en condiciones ambientales adversas (Nauer *et al.*, 2019).

3.1.6.2 Reproducción sexual:

Este género presenta talo dioico y un ciclo de vida de tipo *Polysiphonia*, que consta de tres fases: dos diploides y una haploide (Andersen, 2005). El ciclo reproductivo completado de *H. musciformis* fue descrito por primera vez en un cultivo de laboratorio durante 118 días por Nauer *et al.*, en 2019.

Las ramas cultivadas en condiciones estándar desarrollan estructuras reproductivas llamadas tetrasporangios aproximadamente a los 40 días. Estos se localizan en la corteza y se originan a partir de las células externas del subcórtez, principalmente en las ramas laterales. Los tetrasporangios presentan formas ovoides y pueden distribuirse a lo largo de todo el talo o concentrarse únicamente en su base (Pereira, 2021; Delgadillo y Newmark, 2008). El talo se caracteriza por una abundantemente ramificación, con ejes revestidos por numerosos talos pequeños, cortos y espinescentes. El proceso de formación es zonado: la primera división forma dos células hijas; posteriormente ocurre una segunda división paralela a la primera, dando lugar a cuatro células hijas haploides denominadas tetrasporas. Estas tetrasporas se liberan luego de 15 días (Cosenza, 2015; Rangel *et a.*, 2014).

Después de liberarse por ruptura de la pared celular del tetrasporangio, las tetrasporas se adhieren al sustrato y se dividen sucesivamente dando lugar a un disco basal. Inicialmente se desarrolla un eje cilíndrico vertical no ramificado, que posteriormente se desarrolla ramificaciones escasas (Barreto *et al.*, 2019). Los gametofitos y esporofitos son isomorfos. En el gametofito masculino, los soros espermatangiales se forman en la región cortical del talo, siendo más delgados y livianos que los tetrasporangiales (Pereira, 2021).

Después de la fertilización, se desarrollan cistocarpos en los gametofitos femeninos, los cuales sobresalen del talo y comúnmente forman grupos de tres o más, pero también se pueden encontrar aislados (Andersen, 2005). Las esporas se pueden liberar a través de una pequeña abertura, y al germinar dan lugar a nuevas plantas que completan el ciclo de vida (Barreto *et al.*, 2019).

La transformación de las células de la corteza en tetrasporangios maduros implica una serie de cambios estructurales, los cuales incluyen una proliferación masiva de cloroplastos y un aumento de los gránulos de almidón distribuidos por toda la célula (Cosenza, 2015). Los tetrasporangios se forman en la región cortical de los talos, siendo su posición (basal, media o apical) la única característica reproductiva que podría ser útil en la identificación de especies de *Hypnea* sp (Perpetuo *et al.*, 2003).

3.1.7 Aspectos químicos de los extractos de *Hypnea musciformis*

La variedad de polisacáridos que producen las algas marinas ha sido de gran interés para los científicos debido a la diversidad de sus estructuras. Hay tres grupos en especial que se destacan, principalmente por su utilidad a nivel industrial (Cosenza, 2015) (ver tabla 1).

Tabla 1. Polisacáridos presentes en las algas rojas, de interés para usos en diferentes industrias.

Polisacáridos	Grupo	Composición	Usos
Alginatos	Phaeophyta	Ácido manurónico y ácido glucurónico	Industria alimenticia, textil y farmacéutica
Carragenanos	Rhodophyta	D-galactosa y su 3,6-anhidro-D-galactosa. Derivados	Industria alimenticia, cosmética y farmacológica
Agarinos	Rhodophyta	D-galactosa y L-galactosa o su derivado 3,6-anhidro	Industria alimenticia (agar). En microbiología como medio de cultivo y para geles en electroforesis (agarosa)

En *H. musciformis*, la carragenina es un componente fundamental de la estructura celular del alga. En la fase gametofítica, la kappa-carragenina es predominante, mientras que en las tetrasporofitas prevalece la lambda-carragenina. La presencia de este polisacárido proporciona flexibilidad al talo, permitiéndole adaptarse a cambios en la intensidad del oleaje. Se ha observado una mayor concentración de estos polisacáridos en algas que habitan en zonas rocosas de aguas turbulentas y logran sobrevivir en tales condiciones (Rozo *et al.*, 2019).

Además, en *H. musciformis* se encuentran pigmentos como clorofilas a y d, carotenos y ficobilinas. Estas últimas tienen la propiedad de almacenar azúcares en el cortisol de sus células en forma de gránulos de almidón, también conocido como almidón floridean (Aguiar *et al.*, 2013).

La estructura química de las carrageninas se caracteriza por unidades repetitivas de D-galactosa y 3,6-anhidro-D-galactosa, unidas alternadamente mediante enlaces glucosídicos α -1,3 y β -1,4. Estas unidades pueden estar sulfatadas en diversas posiciones, lo que influye en las propiedades fisicoquímicas del polímero.

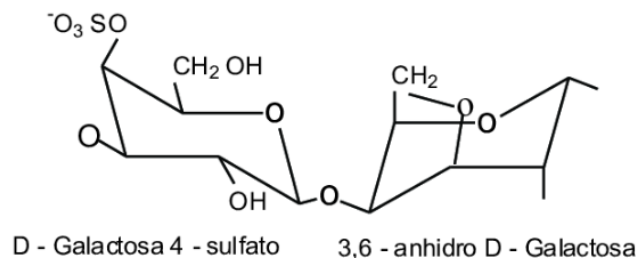


Figura 3. Estructura química de kappa - carragenina.

Otros compuestos de gran interés que se puede extraer de estas algas son los aminoácidos tipo micosporinas (MAAs), que son metabolitos secundarios nitrogenados de bajo peso molecular (menos de 400 Da) caracterizados por su alta capacidad de absorción de radiación ultravioleta, con máximos de absorción que puede variar de 310 a 360 nm (Korbee *et al.*, 2006; Cockell y Knowland, 1999). Estos compuestos, son solubles en agua, incoloros y presentan notable estabilidad frente a la fotodegradación y termodegradación en condiciones ambientales normales (Sun *et al.*, 2020; de la Coba *et al.*, 2019).

Estructuralmente, los MAAs se clasifican en dos grupos principales: las aminociclohexenonas (oxo-micosporinas), que absorben principalmente en la región UVB, y las aminociclohexeniminas (imino-micosporinas), con absorción predominante en la región UVA. Ambos tipos comparten un anillo central de ciclohexenona o ciclohexenimina, con diversas sustituciones que incluyen grupos funcionales como ésteres sulfato o carbohidratos, lo que genera una amplia variedad de derivados (Geraldés y Pinto, 2021). Estas estructuras confieren a los MAAs propiedades fotoprotectoras al absorber eficazmente la radiación UV, además de actuar como antioxidantes, protegiendo a las células del daño oxidativo inducido por la exposición solar (Quezada *et al.*, 2011).

Debido a sus propiedades, los MAAs se pueden utilizar para producir filtros ultravioletas (UV) respetuosos con el medio ambiente, que representan una alternativa natural a los filtros sintéticos convencionales (Terence *et al.*, 2008). Son potentes fotoprotectores naturales que absorben radiación ultravioleta (UVR) en el rango de longitud de onda de 310 a 362 nm, y se considera que han evolucionado como una defensa natural contra la exposición crónica a los UVR ya que protegen la célula viva absorbiendo la dañina radiación solar (Singh y Singh, 2015).

Ahora bien, las macroalgas del orden *Gigartinales* dentro del cual se encuentra el género *Hypnea*, se consideran como altas productoras de MAAs aquellas que superan los 2 mg MAAs.g⁻¹ de peso seco de biomasa algal (DW). Las estructuras reportadas son: shinorina, asterina-330, porphyra-334, palythina (figura 4).

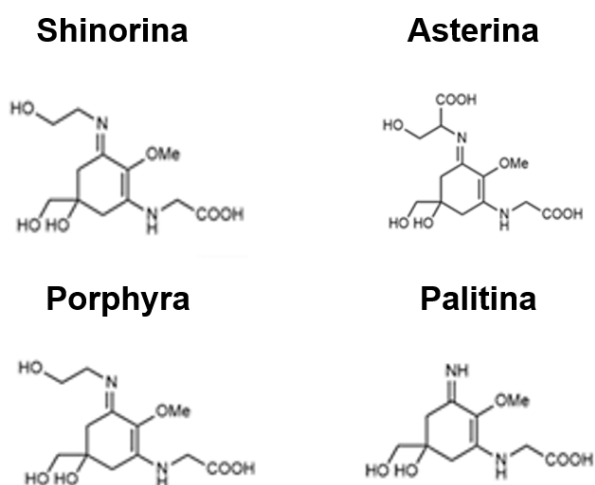


Figura 4. Estructuras químicas de las micosporinas encontradas en el género *Hypnea*.

Los compuestos mostrados en la figura 4, corresponden a MAAs que han ganado un interés significativo a lo largo de los años debido a su origen natural, su capacidad de absorción de la RUV y otras propiedades relevantes para la industria cosmética, como la disminución del estrés oxidativo. Estos atributos los posicionan como una opción prometedora para la fotoprotección de la piel y la mitigación de los efectos de la radiación UV.

En América Latina los estudios sobre el contenido de MAAs en macroalgas rojas son escasos. En Brasil, una investigación reportó que los ejemplares de *Hypnea musciformis* provenientes de la subregión sur del contenían predominantemente shinorina como el MAA más abundante, mientras que aquellas de la subregión sureste y noreste mostraron una mayor prevalencia de asterina-330 (Briani *et al.*, 2018).

Para Colombia se han publicado dos artículos sobre MAAs en macroalgas marinas, uno de ellos está relacionado con muestras recolectadas en el Océano Pacífico y el otro cuenta con resultados obtenidos en el Mar Caribe (Urrea-Victoria *et al.*, 2023; Urrea-Victoria *et al.*, 2025), ambos incluyendo macroalgas del género *Hypnea*. Específicamente para macroalgas Rhodophytas del género *Hypnea*, se han reportado los siguientes MAAs: shinorina, asterina-330, porphyra-334, palythina y micosporina-glicina (Ashkenazi *et al.*, 2022).

Por otro lado, el género *Hypnea* es reconocido como fuente de compuestos bioactivos, entre ellos polisacáridos como la carragenina, altamente valorada en la industria alimentaria, farmacéutica y cosmética debido a sus propiedades viscosantes y gelificante (Zia *et al.*, 2017).

En este contexto, *H. musciformis* ha sido de gran interés a nivel mundial y por ello ha sido cultivada en países como por ejemplo Israel, India, Bangladesh, Brasil e incluso Colombia (Ashkenazi *et al.*, 2022; Ganesan *et al.*, 2006; Mohiuddin *et al.*, 2023; Pereira *et al.*, 2020; Camacho y Montaña 2012). En Colombia, los estudios de cultivo sobre esta especie se han centrado en la obtención de biomasa y uno de ellos también evaluó la extracción de carragenina (Camacho y Montaña 2012).

3.2 ESTADO DEL ARTE

3.2.1 Cultivo de algas rojas a nivel mundial

En 2019, las algas rojas representaron el 52.6 % del cultivo mundial de algas en términos de tonelaje y el 47.6 % en términos de valor. Su cultivo se concentra en tres géneros principalmente: *Kappaphycus* sp., *Gracilaria* sp. y *Porphyra* sp., (Cai *et al.*, 2021), ver tabla 2.

Tabla 2. Producción de cultivo en 2019 para *Kappaphycus* sp, *Gracilaria* sp y *Porphyra* sp a nivel mundial (Cai *et al.*, 2021).

Genero	País/área	Toneladas (peso húmedo)	Participación mundial (%)
<i>Kappaphycus</i> sp	Total	11 622 213	100.0
	Asia	11 491 956	98.88
	África	115 334	0.99
	Oceanía	14 050	0.12
	Latino América	874	0.01
	Total	3 639 833	100.0
<i>Gracilaria</i> sp	Asia	3 617 828	99.40
	Latino América	21 702	0.60
	África	303	0.01
	Europa	0,13	0.00
<i>Porphyra</i> sp	Total	2 984 123	100.0
	Asia	2 984 123	100.0

Algunos autores han utilizado variaciones en las técnicas implementadas en sus cultivos. Por ejemplo, Pereira *et al.*, 2020 desarrollaron una estructura de palangre adaptada y modular, en la que cada módulo de 1 m estaba compuesto por una cuerda trenzada de polipropileno de 1 cm de espesor, dentro del cual se entrelazaban los sustratos espaciados. Los autores encontraron que la estructura permitía que las algas crecieran asentadas sobre el sustrato y no sólo adheridas a él. Además, reportaron una tasa de crecimiento diario (TCD) de 5.66 % día⁻¹ y una productividad de 0.64 kg m⁻¹ en 45 días.

En cuanto a los efectos de la luz, el resultado puede variar mucho según la especie cultivada. En *P. leucosticte*, se determinó que una exposición de 840 µmol m⁻² s⁻¹ no altera la concentración de clorofila a; sin embargo, una irradiancia más baja, de 40 µmol m⁻² s⁻¹ durante 48 h, puede aumentar significativamente la concentración de clorofila (Figuroa *et*

al., 2003). Para *K. alvarezii*, una de las especies de algas rojas más importantes por ser la fuente más común de carragenano, Olatunji (2020) encontró un TCD de 3.77% utilizando una irradiancia de $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ a una temperatura de 28°C . Otros estudios indican que una buena intensidad de luz oscila entre 143 y $162.4 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Klok *et al.*, 2013). Investigaciones realizadas con *Chattonella* sp encontraron un crecimiento óptimo con una irradiancia de $150 \text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, una temperatura de 25°C y una salinidad de 30 psu, pero lograron una tasa de crecimiento más rápida con una irradiancia de $450 \text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Singh y Singh, 2015).

Por otro lado, Aline *et al.*, (2011) encontraron que, para *H. musciformis*, la tasa de crecimiento fue mayor en el intervalo de 20 a 100 mM de NaNO_3 , pero la concentración óptima de nitrato para la fotosíntesis neta fue de 20 mM NaNO_3 . Entre los medios de enriquecimiento recomendados para cultivos de macroalgas, los basados en el medio "Grund" de von Stosch (1963) son los más utilizados para cultivar algas rojas, se basa en utilizar inicialmente una concentración de 5 mM de NaNO_3 (Andersen, 2005). Concentraciones como 0 mM de NaNO_3 son utilizadas en los ensayos como control o blancos (Aline *et al.*, 2011).

El cultivo de algas ricas en carragenina ha generado impactos socioeconómicos sumamente positivos en las comunidades costeras, especialmente al favorecer operaciones familiares a pequeña escala. Estas actividades crean empleo en áreas remotas con pocas alternativas económicas y recursos pesqueros sobreexplotados (Valderrama *et al.*, 2013). Además, mejora significativamente el nivel de vida de los agricultores, facilitado el acceso a educación, mejores viviendas y alimentación, a la vez que reduce la presión sobre la pesca y tiene un efecto notablemente positivo en la autonomía económica de las mujeres (Valderrama *et al.*, 2013).

3.2.2 Cultivo de algas rojas en Colombia

A nivel nacional, gran parte de las investigaciones sobre cultivos de macroalgas ni se encuentran registradas en bases de datos indexadas. Un ejemplo es el trabajo de Arias *et al.*, (2022), quienes compilaron información acerca de los cultivos realizados en el país. En especial Camacho y Montaña (2012), quienes cultivaron talos de *H. musciformis* en condiciones naturales utilizando cuerdas de polipropileno con bolsas pequeñas como

sustratos, unidas a una línea suspendida en el mar a una profundidad de 0.5 m. A partir de un peso de siembra inicial de 1.5 y 2 g obtuvieron una TCD promedio total de 2.66 % día⁻¹.

En Bahía Portete Delgadillo y Newmark (2008) instalaron cuerdas de polipropileno de 17 m de largo a profundidades entre 0.2 m y 1.5 m en el costado noroccidental de la bahía, sobre praderas de pastos marinos. Se sembraron pesos entre 5 y 50 g, obtuvieron TCD promedios de 3.5 % día⁻¹ y 0.97 % día⁻¹ en diferentes sitios.

En cultivos realizados bajo condiciones controladas de laboratorio, Mosquera y Peña (2016) encontraron un TCD promedio de 4.82 % día⁻¹ a una salinidad de 25 ppt, representando una de las mayores tasas de crecimiento registradas para *C. sertularioides* en el pacífico colombiano.

Las propiedades del sustrato, como la porosidad y la composición de las fibras, influyen en la fijación, el intercambio de nutrientes y el flujo de agua, todos estos factores clave para el desarrollo saludable de las macroalgas (Sebök *et al.*, 2022). Un ejemplo de ello es el estudio de Sebök y colaboradores en 2022, donde *Ectocarpus* sp. cultivada en mallas con estructuras porosas hechas de hebras vellosas (en especial aquellas con fibras naturales) exhibió un desarrollo significativamente mejor en comparación con otras clases de textiles.

4. DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA Y OBJETIVOS

4.1 Problema de investigación

¿De qué manera afecta la implementación de un sistema de cultivo semicerrado en el desarrollo y crecimiento de los talos de *H. musciformis*?

La información disponible sobre el cultivo de macroalgas en Colombia es limitada y presenta vacíos que pueden afectar la viabilidad de estos sistemas en el país. Esto es debido a la necesidad de considerar múltiples factores ambientales, ya que las algas son altamente sensibles a cambios de temperatura, salinidad, luz, pH, entre otros parámetros fisicoquímicos (Rincones y Moreno, 2011). En algunas regiones de Colombia, estas condiciones no son ideales para el cultivo de macroalgas, aspectos como la contaminación del agua por desechos industriales, agrícolas o urbanos, puede afectar negativamente los cultivos (Álvarez *et al.*, 2007). Adicionalmente, la presencia de contaminantes químicos o patógenos puede perjudicar el crecimiento y la salud de las algas, así como la competencia

por el uso del espacio en el agua con otras actividades, como la pesca, la acuicultura u otras industrias marítimas, puede ser un desafío para su desarrollo (Perpetuo *et al.*, 2003).

La ausencia de tecnología y conocimientos especializados en el cuidado de estos sistemas puede ser otro obstáculo para el éxito de los proyectos. Además, hasta el momento, no hay regulaciones establecidas a nivel nacional para supervisar y obtener los permisos necesarios para el uso y la comercialización de estos organismos (Rincones y Moreno, 2011).

En resumen, el cultivo de macroalgas no solo tiene beneficios económicos significativos, sino que también desencadena una serie de impactos positivos en términos de sostenibilidad ambiental, seguridad alimentaria y desarrollo local, sin embargo es importante generar una atención continua a estas prácticas para que sean sostenibles y beneficiosas a largo plazo (Díaz y Medellín, 2011).

En este sentido, ¿Cuál es el potencial de establecer cultivos rentables y sostenibles en Colombia? Para responder esta pregunta, es importante centrarse en que, desarrollar un cultivo de macroalgas representa un inmenso beneficio puesto que tienen un amplio campo de implementación, como por ejemplo a nivel ambiental, donde los cultivos de algas desempeñan un papel crucial en los ecosistemas marinos al absorber nutrientes, producir oxígeno y proporcionar hábitats importantes para diversas especies marinas, además de conservar y restaurar los ecosistemas acuáticos (Castelar *et al.*, 2015). También pueden ayudar a mitigar el cambio climático al actuar como sumideros de carbono, contribuyendo a la reducción de los niveles de CO₂ en el agua y la atmósfera, así mismo ayudan a mejorar la calidad del agua al absorber nutrientes como el nitrógeno y el fósforo, lo que es particularmente relevante en áreas afectadas por la escorrentía agrícola y la contaminación (Espí *et al.*, 2019).

A nivel económico, las algas tienen múltiples usos: son consumidas directamente por humanos, se emplean como ingredientes en alimentos procesados y son una fuente importante de nutrientes para la acuicultura. (Buschmann *et al.*, 2017). Además, son una fuente sostenible de materias primas para algunas industrias, ya que contienen compuestos bioactivos con propiedades nutricionales y medicinales de interés (Bravin y Yoneshigue 2002). Puede generar empleo en comunidades costeras, ofreciendo oportunidades económicas sostenibles, además de diversificar las fuentes de ingresos en regiones

dependientes de actividades como la pesca y puede ayudar a reducir la presión sobre las poblaciones silvestres, afectadas por la sobrepesca (Espi *et al.*, 2019).

En especial *H. musciformis* es reconocida principalmente por ser una fuente de carragenina (kappa / iota) la cual alcanza hasta el 48 % de su masa seca (Aziza *et al.*, 2008; Reis *et al.*, 2008, Vázquez-Delfín *et al.*, 2014). Sin contar que, contiene una gama de compuesto bioactivos importantes, como polisacáridos sulfatados, fenólicos, flavonoides, proteínas, aminoácidos y ácidos grasos, que aportan a sus actividades antioxidantes (Balamurugan *et al.*, 2017; Rozo *et al.*, 2019, Arulkumar *et al.*, 2020), antivirales (Mendes *et al.*, 2012), antibacterianas (Selvin y Lipton, 2004, Ghose *et al.*, 2022), insecticidas (Roni *et al.*, 2015), hasta anticancerígenas (Balamurugan *et al.*, 2017, Elhady *et al.*, 2022), lo que la convierte en un recurso biológico clave ampliamente utilizado en diversos sectores industriales.

A todo esto, se le suma que *H. musciformis* es altamente adaptable al cultivo, ya que se ha demostrado que prospera en una variedad de condiciones ambientales, sustratos y es adecuada para sistemas tanto de acuicultura tradicionales como nuevas prácticas innovadores (Ganesan *et al.*, 2006; Mohiuddin *et al.*, 2023; Neori *et al.*, 2004). Debido a su capacidad de cultivarse durante todo el año la convierten en un recurso confiable para la producción comercial, sin embargo, no se ha logrado un cultivo sostenible a escala comercial y se ha reportado una sobreexplotación de los yacimientos naturales, lo que disminuye su disponibilidad en las poblaciones naturales (Vázquez-Delfín *et al.*, 2023; Hayashi *et al.*, 2014; Ganesan *et al.*, 2006).

En cuanto al mercado y la demanda, si bien las algas son consumidas en varias partes del mundo, el mercado para estos productos puede no estar completamente desarrollado en ciertas regiones (FAO, 2018). La falta de demanda puede desincentivar la inversión en el cultivo de macroalgas, y la falta de investigación y desarrollo específicos en Colombia puede ser una limitación. La inversión en investigación es esencial para superar desafíos técnicos y mejorar las prácticas de cultivo (Arias *et al.*, 2022).

Por todo lo anterior, el presente trabajo tiene como finalidad establecer un sistema de cultivo semicerrado en canaletas, bajo condiciones controladas de pH, salinidad y temperatura para el crecimiento y desarrollo de los talos de *H. musciformis*, en respuesta a cuatro tratamientos de NaNO₃ (5 mM, 15 mM, 20 mM y 0 mM), dos tipos de sustrato (esqueleto de coral y mallas de polipropileno), luz blanca a 30 $\mu\text{mol. m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ y luz azul + blanca a 106

$\mu\text{mol. m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. El objetivo es contribuir al conocimiento relacionado con el mantenimiento de macroalgas en cultivos, así como desarrollar técnicas que permitan, a futuro, obtener sistemas sostenibles, productivos y rentables en Colombia, siendo este uno de los primeros esfuerzos en el país en implementar un sistema de este tipo.

4.2 Objetivos

4.2.1 Objetivo general

Evaluar la tasa de crecimiento, el contenido de kappa-carragenina y los aminoácidos tipo micosporinas (MAAs) de los talos de *Hypnea musciformis* mediante la implementación de un sistema semicerrado de cultivo, tomando en cuenta cuatro tratamientos de nitrato de sodio NaNO_3 (5 mM, 15 mM, 20 mM y 0 mM), dos sustratos (esqueleto de coral y mallas de polipropileno), y dos tipos de condiciones lumínicas (blanca a $30 \mu\text{mol. m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ y azul + blanca a $106 \mu\text{mol. m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) en escenarios controlados de salinidad, temperatura y pH. Lo anterior con el fin de identificar los parámetros óptimos que promuevan el incremento de la biomasa y la calidad bioquímica del alga.

4.2.2 Objetivos específicos

1. Determinar la tasa de crecimiento de los talos de *H. musciformis* bajo cuatro tratamientos de $[\text{NaNO}_3]$ (5 mM, 15 mM, 20 mM y 0 mM).
2. Analizar el efecto de dos tipos de sustratos (esqueleto de coral y mallas de polipropileno) sobre el crecimiento de los talos de *H. musciformis*.
3. Evaluar la influencia de dos condiciones lumínicas (blanca a $30 \mu\text{mol. m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ y azul + blanca a $106 \mu\text{mol. m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) sobre la tasa de crecimiento de los talos.
4. Determinar si existe una correlación entre la $[\text{NaNO}_3]$, los sustratos y la condición de luz que promuevan un aumento en la tasa de crecimiento de los talos.
5. Cuantificar el contenido de kappa-carragenina en los talos cultivados bajo cada combinación de tratamiento. Este objetivo se desarrolló de manera conjunta con la tesis de maestría de la estudiante Jessica González Torres de la Universidad Nacional.
6. Caracterizar el contenido de MAAs en las muestras del cultivo. Este objetivo se desarrolló de manera conjunta con la tesis de maestría de la estudiante Jessica González Torres de la Universidad Nacional.

5. HIPÓTESIS

Se espera que, en el sistema de cultivo semicerrado la combinación óptima de los tratamientos de NaNO_3 , los sustratos y los diferentes tipos de luz, sometidos a condiciones controladas de salinidad, temperatura y pH, genere un efecto significativo en la tasa de crecimiento de los talos de *H. musciformis*, así como en la síntesis de MAAs y en la producción de kappa-carragenina de las muestras.

5.1 Hipótesis específicas

1. Las tasas de crecimiento diario de los talos evaluados en los tratamientos de NaNO_3 tienen un comportamiento diferencial.
2. Las tasas de crecimiento de los talos varían significativamente en función del sustrato.
3. Existen diferencias significativas en el efecto de las distintas condiciones de luz sobre el crecimiento de los talos.
4. Existe una interacción positiva entre las variables que beneficia el crecimiento de los talos en el sistema de cultivo semicerrado.
5. Existe una correlación significativa entre el tipo de luz y el contenido de nutrientes con la concentración de aminoácidos tipo micosporina (MAAs) en las algas cultivadas.
6. Existe una correlación significativa entre el tipo de luz y el contenido de nutrientes con la concentración de carragenina en algas cultivadas.

6. METODOLOGÍA

6.1 Fase campo

Los talos de *H. musciformis* se recolectaron en la zona costera del Aeropuerto Simón Bolívar en Santa Marta, Colombia ($11^{\circ} 7' 4'' \text{ N} - 74^{\circ} 14' 57'' \text{ W}$) (Figura 5), al norte, donde la plataforma continental es ancha, rocosa y con incrustaciones de fósiles de coral que data del Holoceno (García y Díaz Pulido, 2006), la cual favorece el establecimiento de una gran diversidad de algas (Camacho y Montaña, 2012).

En la zona se distinguen cuatro temporadas climáticas: seca mayor (diciembre a abril), seca menor (mayo a junio), veranillo de San Juan (julio a agosto) y lluviosa mayor (septiembre a

noviembre) (Mancera Pineda *et al.*, 2016). Durante la época seca, el fenómeno de surgencia provoca el afloramiento de aguas frías que disminuye la temperatura, aumenta la salinidad y la disponibilidad de nutrientes. En contraste, durante la época lluviosa, la presencia de agua dulce proveniente de escorrentía altera las condiciones del agua marina: Aumenta la temperatura, disminuye la salinidad, aumenta la turbidez y la materia orgánica suspendida lo que puede influir en la fotosíntesis y, por ende, en la dinámica de los ecosistemas costeros (Díaz *et al.*, 2000).



Figura 5. Ubicación geográfica del sitio de colecta de los talos (Vargas, 2024).

Los talos de *H. musciformis* se colectaron en septiembre del 2022. Utilizando guantes y equipo de careteo, se escogieron talos que se encontraban en la zona intermareal, durante la marea baja, cortándolos desde la base y procurando eliminar la mayor cantidad de organismos asociados. Para evitar la exposición directa al sol se depositaron inmediatamente en frascos blancos de 500 mL con agua de mar y se transportaron al laboratorio de Acuicultura Marina de la Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, sede Santa Marta, en una nevera de polipropileno.

En el sitio de colecta se tomaron parámetros fisicoquímicos como la salinidad, temperatura superficial del agua, pH, concentración de nitrito, nitratos y fosfatos mediante test colorimétricos siguiendo las instrucciones del fabricante (Seachem), así como la incidencia de luz con un luxómetro (Figura 6.a).



Figura 6. Fase de campo y aclimatación. a. Implementos utilizados para medir los parámetros fisicoquímicos del sitio. b. Equipo de colecta. c. Aclimatación. d. Limpieza.

6.2 Fase de laboratorio

6.2.1 Aclimatación

Los talos colectados, se llevaron al laboratorio donde fueron aclimatados durante 10 días en agua de mar desinfectada (AMD) anteriormente, en acuarios plásticos transparentes, bajo una temperatura constante de 24°C, una salinidad aproximada de 37 ppt y un pH de 8, con aireación constante y periodos de luz y oscuridad de 12 h (Figura 6.c) (Mosquera y Peña, 2016; Camacho y Montaña, 2012; Delgadillo y Newmark, 2008; Bravin y Yoneshigue, 2002, Perpetuo *et al.*, 2003).

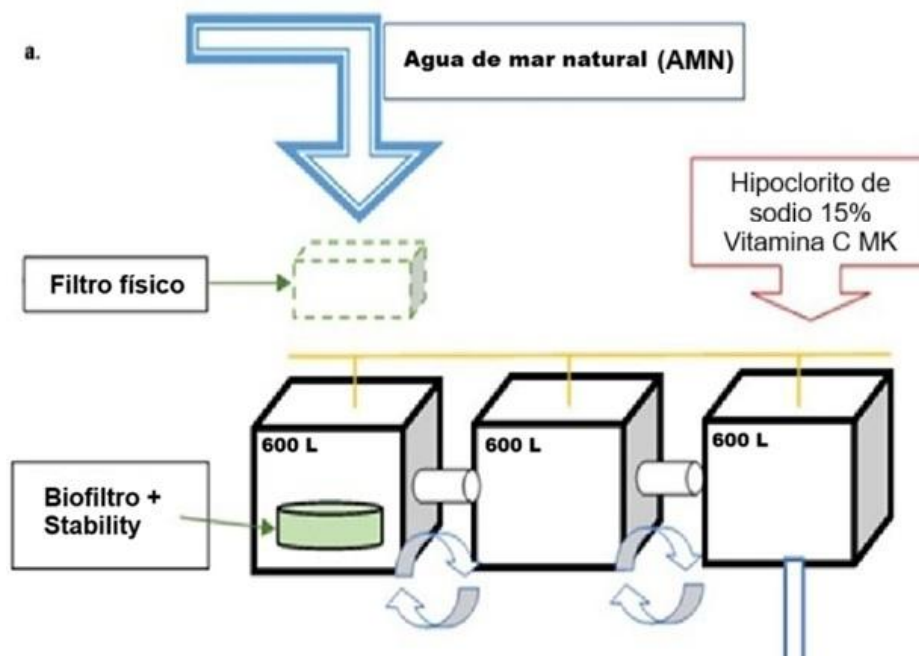
Los residuos, materia orgánica, epifitos y otros organismos asociados a las algas se retiraron con pinceles y pinzas de disección, utilizando baja intensidad de luz y alta hidratación (Figura 6.d). Pasado este tiempo, los talos se cortaron y pesaron en porciones

entre 2 - 3 g en una balanza analítica y se sembraron en canaletas de 200 L (Saavedra *et al.*, 2019).

6.2.2 Establecimiento del sistema de cultivo semicerrado

El sistema de cultivo se dividió en dos zonas: una de desinfección y una de cultivo. En la zona de desinfección se utilizaron tres tanques negros de 600 L cada uno, donde se filtró y desinfectó el agua de mar natural (AMN) la cual era abastecida por un sistema de bombes de las instalaciones de Mundo Marino (Figura 7.a). Antes de que el agua se depositara en los tanques, pasaba por un filtro físico, constituido por guata, para eliminar desechos y partículas grandes como macroalgas, plásticos y otros contaminantes presentes (Figura 6.b) (García *et al.*, 2012; Andersen, 2005).

Una vez los tanques de reserva se encontraban llenos, el AMN se desinfectó con hipoclorito de sodio al 15 % Chemi, adicionando 180 mL para los 1 800 L de AMN (Moretti *et al.*, 1999) y se dejó recircular el agua durante 3 días. Para asegurar que no se encontraran rastros de hipoclorito de sodio y como medida complementaria, se adicionó una pastilla comercial de vitamina C 1 g MK, la cual se utilizó como agente neutralizante para eliminar cualquier traza residual de hipoclorito. Aunque este compuesto se descompone de forma natural (Bernal *et al.*, 2024), su uso se consideró necesario como medida preventiva, debido a la alta sensibilidad de las algas incluso ante pequeñas concentraciones de hipoclorito de sodio.



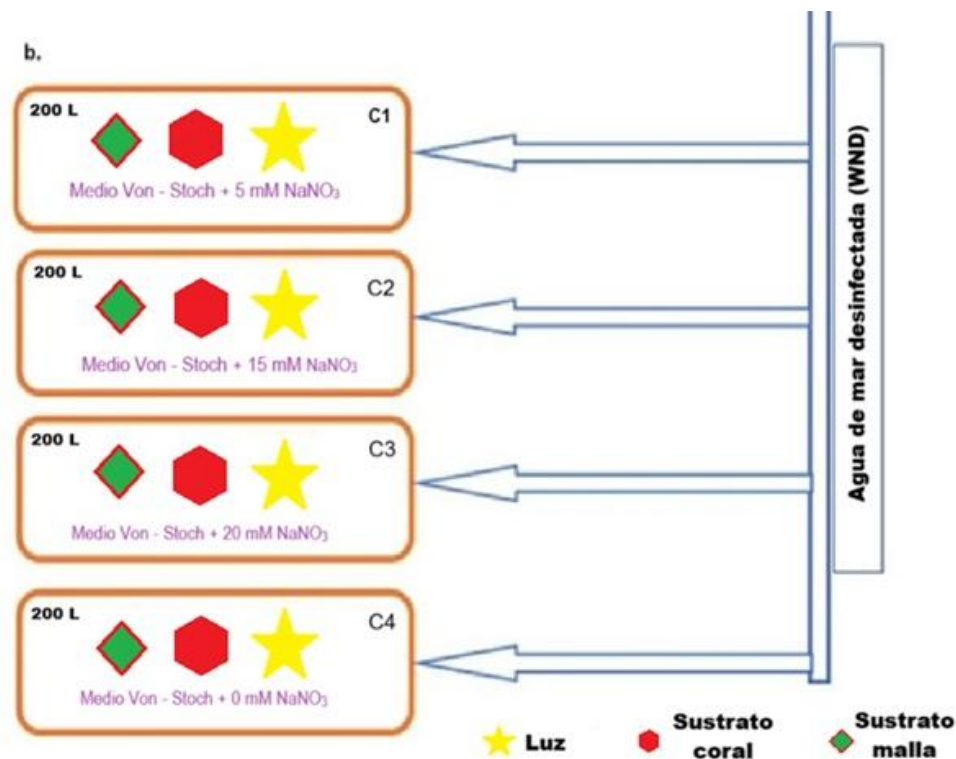


Figura 7. Sistema de cultivo semicerrado establecido en el laboratorio de acuicultura marina para el crecimiento de los talos de *H. musciformis*. a. Es la zona de desinfección y b. Muestra la zona de cultivo. Las líneas y flechas azules representan el flujo del agua, la figura de rombo verde los sustratos de malla, los hexágonos rojos los sustratos de coral y las estrellas amarillas indican la condición de luz blanca.

Luego de este tiempo, se introdujeron las canastas que contenían el biofiltro, con esqueleto de coral, biorulos y bioruedas, dentro de uno de los tanques y se añadió el producto Stability de la marca Seachem, siguiendo las instrucciones del fabricante, con el propósito de establecer un biofiltro natural mediante el crecimiento de bacterias nitrificantes y así facilitar la eliminación de compuestos nitrogenados. Por último, en el tercer tanque se dispuso un power - head para mantener la circulación del agua entre los tanques y mover el agua hacia las canaletas. Todo este sistema de desinfección permaneció con oxigenación constante y se realizaba limpieza tanto de tanques, como de tuberías y el filtro principal cada semana, para mantener el área limpia y estéril (figura 7).

Para la zona de cultivo se utilizaron cuatro canaletas color piel con una capacidad de 200 L cada una (Figura 7.b), las cuales se llenaron completamente con agua de mar desinfectada (AMD). En cada canaleta se colocaron 8 líneas de cuerda de polipropileno (5 mm de diámetro) ubicadas horizontalmente, en las cuales se dispusieron canastillas transparentes suspendidas a una distancia de 36 cm desde la superficie, dentro de una malla de polipropileno verde (Camacho y Montaña, 2012). En cada una de estas canastillas se situaron dos tipos de sustratos, en la primera línea se ubicaron 3 con sustrato de esqueleto de coral (SC) y en la segunda tres con sustrato de mallas de polipropileno (SM). Las demás líneas se instalaron de la misma manera para un total de 4 réplicas por tratamiento (Figura 8.a.c) (Pereira, 2020; De San, 2012).

En cuanto a los parámetros fisicoquímicos del cultivo, se mantuvo constante la salinidad, la temperatura, el pH y la intensidad lumínica, de la misma manera que las condiciones utilizadas en el proceso de aclimatación, los cuales se medían diariamente a las 8 am y a las 6 pm, con ciclos de 12 h luz y 12 h oscuridad (García *et al.*, 2012), utilizando lámparas LED blancas T5 18 W y 120 cm (ITL22 marca Mercury). Por último, se midió la irradiancia del entorno con un luxómetro siguiendo el manual de instrucciones.



Figura 8. Sistema de cultivo semicerrado. a. Sustrato de esqueleto de coral (SC). b. Tanques de desinfección. c. Sustrato de mallas (SM), d. Montaje de las líneas con cada replica y e. Medio enriquecido. Fotografías tomadas por Navarrete, 2022.

Se realizaron dos ensayos, cada uno con una duración de tres meses cada uno. El primero se realizó de septiembre a diciembre del 2022, en el cual se sembraron 318.4 g de biomasa de *H. musciformis*, los cuales se distribuyeron de 2 a 3 g de biomasa en cada sustrato (SC o SM). Se utilizó luz blanca con una intensidad lumínica estimada en radiación fotosintéticamente activa (PAR) de $30 \mu\text{mol. m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (Figura 8.d) (Perpetuo *et al.*, 2003). Se aplicaron cuatro tratamientos de NaNO_3 (5 mM, 15 mM, 20 mM y 0 Mm), como se observa en la Figura 8.e. Además, se colocaron mangueras de aireación constante para crear movimiento. En la tabla 3 se especifican otras condiciones del cultivo que se manejaron durante este ensayo.

En cuanto al segundo ensayo, el cual se llevó a cabo de agosto a noviembre del 2023. Se sembraron inicialmente 524.86 g de biomasa, con un promedio de $5.467 \pm 0.639 \text{ g}$; $n = 96$ por sustrato, se estimó una intensidad lumínica de $106 \mu\text{mol. m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, donde la canaleta 1 y 2 tuvieron luz azul + blanca (figura 9.b), mientras que en las canaletas 3 y 4 únicamente se utilizó luz blanca (figura 9.a) (Ashkenazi *et al.*, 2022). Se redujo la aireación y se incluyeron dos bombas de agua marca Jeneca (filtro interno sumergible para acuario 500 L/h 18W – 110v) en cada canaleta para crear un efecto de corriente sumergida en sentido de las manecillas del reloj (García *et al.*, 2012). En cuanto a los tratamientos de NaNO_3 solamente se utilizaron dos concentraciones: 5 mM y 15 mM.

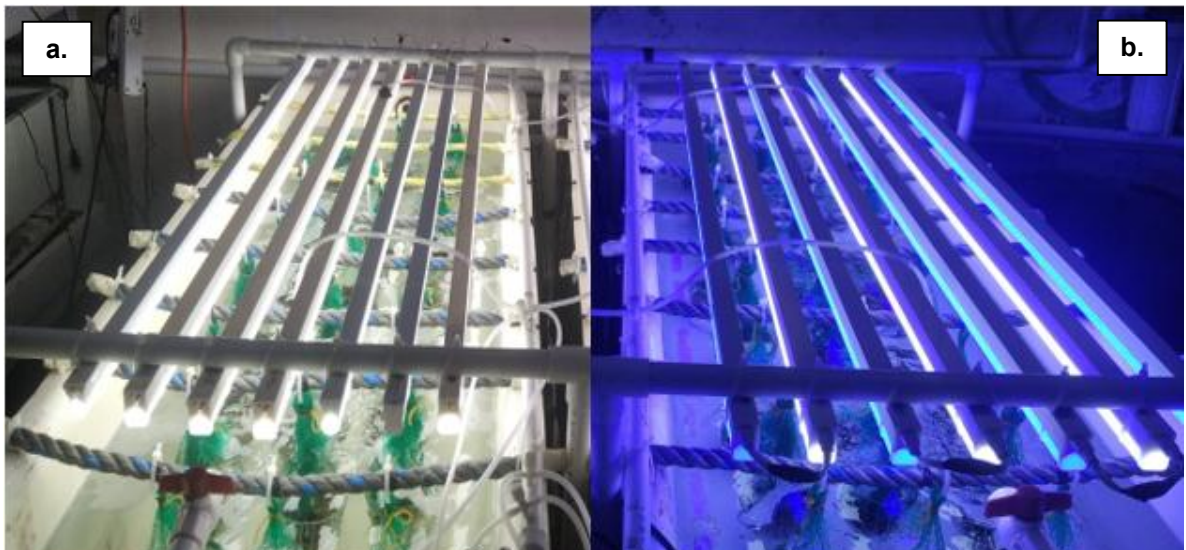


Figura 9. Diseño experimental 2. Al lado derecho se observa la disposición de las canaletas con luz azul + blanca (b.) y a la izquierda las que se trataron solamente con luz blanca (a.). Fotografías tomadas por Vargas, 2022.

En la tabla 3 se presentan las condiciones experimentales definidas para cada ensayo, junto con otros parámetros utilizados. Entre ellos se encuentran la adición del enriquecimiento, el control de fosfatos y silicatos, el periodo de aclimatación, entre otros, lo que permite evidenciar claramente las variaciones metodológicas aplicadas en cada caso.

Tabla 3. Comparación de los parámetros empleados en el sistema de cultivo semicerrado durante los ensayos 1 y 2.

Condiciones del cultivo de <i>H. musciformis</i>		
Parámetro	Ensayo 1	Ensayo 2
Temperatura	24 - 25°C	24 - 25°C
Salinidad	37 - 38 ppt	37 - 38 ppt
pH	8	8
Luz	30 PAR	106.1 PAR
Fotoperiodo	12h Luz/12h noche	12h Luz/12h noche
Tipo de luz	Blanca	Blanca + azul / Blanca
Concentración NaNO ₃	5 ,15, 20 y 0 mM	5 y 15 mM
Enriquecimiento	Von Stosch	Von Stosch
Control fosfatos y silicatos	--	PhosGuard
Corriente y movimiento	Aireadores	Bombas de agua 2*canaleta
Desinfección agua de mar	Hipoclorito (180mL * 1800 L H2O)	Hipoclorito (180mL * 1800 L H2O)
Tratamiento agua de mar	Filtro sólido + Stability + Biofiltro	Filtro sólido + Stability + Biofiltro
Periodo de aclimatación	10 días	7 días
Periodo de cosechas	8 - 15 días	8 - 15 días
Sustratos	12 malla y 12 coral * canaleta	12 malla y 12 coral * canaleta
Densidad de siembra	3 g aprox * sustrato	5.5 g aprox * sustrato
Recambio de agua	20 % cada 8 Días	20 % cada 8 Días
Limpieza	cada 8 días	cada 8 días
Adición enriquecimiento	2 veces * semana	Diario

Toma test

Nitratos-fosfatos-pH - 2
veces*semana

Nitratos-fosfatos-pH - 2
veces*semana

6.2.3 Preparación del medio enriquecido y cosechas

Se realizó la preparación de soluciones de medio Von- Stosch (Andersen, 2005) al 10%, para utilizarlo como medio enriquecido (ME), reemplazando el β -glicerofosfato por fosfato di-ácido de sodio. En la tabla 4 se listan los componentes y sus respectivas cantidades para preparar 1 L de ME.

En el primer ensayo se prepararon cuatro soluciones de ME con diferentes concentraciones de nitrato de sodio (NaNO_3), los cuales se establecieron como tratamientos experimentales, de la siguiente forma: T1 = 5 mM, T2 = 15 mM, T3 = 25 mM y T4 = 0 mM. Cada ME se diluyó en un botellón de 25 L con agua de mar y se agregó cada ocho días en las canaletas 1, 2, 3, 4 respectivamente, reduciendo el nivel del agua a un 20%. Cabe resaltar que las concentraciones de $[\text{NaNO}_3]$ que se indican, son las correspondientes a las del ME, no a aquellas resultantes en las posteriores diluciones. Para el ensayo 2, se utilizaron dos tratamientos, T1 = 5 mM y T2 = 15 mM $[\text{NaNO}_3]$ y se adicionó cada solución de ME según la tabla 3. ⁻⁶

Tabla 4. Medio Von - Stosch preparado con sus respectivas variaciones según Andersen, 2005.

Componente	Solución stock (g/L)	mL	Concentración (mM)
$\text{Na}_2 \beta$ glicerolfosfato	5.36	10	0.25
NaNO_3	42.52	10	5.00
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.28	10	0.01
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1.96	10	0.1
EDTA	3.72	10	0.1
Tiamina		200 mg	5.93×10^{-6}
Biotina	0.1	1	4.09×10^{-6}
Cianocobalamina	0.2	1	1.48×10^{-6}

A los ocho días de la siembra, se cosecharon aleatoriamente ocho canastillas de cada tratamiento, una por cada línea. Se extrajo la biomasa en su totalidad, se secaron con toallas absorbentes y se pesaron con balanza analítica. A los 15 días se realizó una cosecha completa en la que se retiraron y pesaron el resto de los talos en los sustratos (Camacho y Montaña, 2012). De este último proceso se separó una porción de cada muestra para hacer

análisis de MAAs y carragenina, luego se sembró la otra porción. Este proceso se repitió dos veces más. Un día antes de cada cosecha y un día después de adicionar el ME se midieron las concentraciones de nitritos, nitratos y fosfatos con test colorimétricos marca Seachem siguiendo las instrucciones del fabricante.

6.3 Fase de gabinete

6.3.1 Tasa de crecimiento diario

Luego del tiempo determinado en el cultivo, se determinó la biomasa (g) húmeda presente en cada una de las canastillas. Se calculó la tasa de crecimiento diario (TCD) de acuerdo con la ecuación planteada por Bird et al. (1979):

$$\text{TCD} = \frac{\% \text{ incremento}}{\text{día}} = \left(\left(\frac{W_f}{W_o} \right)^{1-D} \right) * 100$$

Ecuación 2: Ecuación para determinar la tasa de crecimiento diario de los talos cultivados de *H. musciformis*.

Donde:

Wo = peso húmedo inicial sembrado

Wf = peso húmedo final cosechado

D = duración del cultivo en días.

6.3.2 Análisis estadístico

Teniendo en cuenta que no se cumplieron los supuestos de normalidad y homogeneidad (prueba de Shapiro-Wilks y Prueba de Levene) se estableció la necesidad de trabajar con estadística no paramétrica. Los resultados se informan en base a materia húmeda y se expresan como media \pm desviación estándar. Se realizó una transformación logarítmica de los datos mediante (LN (TCD + X)) para normalizar la distribución, reducir la asimetría y evitar la presencia de valores negativos.

Los datos se analizaron mediante análisis permutacional de la varianza PERMANOVA, utilizando distancias euclidianas (paquete PERMANOVA en PRIMER 7; Anderson *et al.*, 2008). Las distancias se analizaron por homogeneidad de varianza utilizando PERMDISP. Se utilizó una PERMANOVA bidireccional para probar el efecto de "Tratamiento" (Tr 1 = 5

mM, Tr 2 =15 mM, Tr 3 = 20 mM y Tr 4 = 0 mM) y “Sustratos” (Sr coral y Sr malla) como factores fijos, con Sr anidado en Tr (suma de cuadrados tipo III y permutación de residuos (9999) bajo un modelo reducido ($\alpha=0,05$)). Se toma esta decisión metodológica ya que cada canaleta se encontraba asociada a un tratamiento con concentraciones de nutrientes particulares y los sustratos se dispusieron dentro de cada canaleta, por tanto, no son comparables entre tratamientos, si no que dependen de las características propias de cada Tr.

Las comparaciones por pares de los niveles de factores se ejecutaron cada que el PERMANOVA resultaba en una diferencia significativa entre las medias muestrales (suma de cuadrados tipo III y permutación de residuos (9999)) (Anderson *et al.*, 2008). Para el ensayo dos, se tomaron dos tratamientos (Tr 1 = 5 mM, Tr 2 = 15 mM), los mismos sustratos y se agregó un factor adicional: condición de luz (luz blanca y luz blanca + azul). Las medias se consideraron significativamente diferentes cuando se obtuvieron niveles de $p < 0.05$.

Adicionalmente, con el programa R Studio (v.4.3.2) se realizó un análisis exploratorio a partir del coeficiente de correlación de Spearman para determinar qué tipo de correlación existe entre el TCD (%) con los tratamientos, los sustratos y el tiempo. En el ensayo 2 se evaluó como factor adicional la luz. Posteriormente, se realizó un modelo de regresión lineal múltiple para determinar si existe una relación significativa entre las variables independientes y la variable dependiente en cada ensayo, y determinar si el sistema de cultivo propuesto tiene un efecto positivo sobre el TCDm de los talos de *H. musciformis*.

6.3.3 Perfil de MAAs

Para el análisis de aminoácidos tipo micosporinas (MAAs) las muestras obtenidas durante cada cosecha se congelaron y procesaron en los laboratorios de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá, Facultad de Ciencias, Departamento de Química por Jessica Gonzales Torrez estudiante de maestría, según el método descrito por Urrea-Victoria (2025), validado según las directrices de ICH (Singh J., 2015).

La extracción de biomasa algal seca se realizó empleando agua acidificada y ultrasonido. Luego, las muestras se sometieron a centrifugación y filtración. Los extractos fueron analizados mediante cromatografía UHPLC acoplada a espectrometría de masas para identificar y cuantificar los MAA, utilizando parámetros como espectro UV, tiempo de retención y estándares de referencia.

La cuantificación se fundamentó en una curva de calibración con Porphyra-334, presentando los resultados en miligramos por gramo de peso seco de alga, enfatizando compuestos como shinorina, palitina y asterina-330, cuyas concentraciones se ajustaron con base en sus coeficientes de extinción molar específicos (González- Torres et al., 2025).

6.3.4 Contenido de Kappa-carragenina

La extracción de kappa-carragenina se llevó a cabo en los laboratorios de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá, Facultad de Ciencias, Departamento de Química por Jessica Gonzales Torrez estudiante de maestría, según el método descrito por la docente Ph.D. Gladys Rozo “Procedure for extracting and purifying kappa carrageenan obtained from *H. musciformis*. Patent number 08043691, Certificate number 29475, Gazzette No 597”.

Se emplearon 600 mg de biomasa algal seca, obtenida de tres réplicas de 200 mg cada una. Las muestras se congelaron con nitrógeno líquido y se trituraron manualmente hasta obtener un polvo fino. Se añadieron 5 mL de metanol y se sometió a ultrasonido durante 20 minutos a aproximadamente 10 °C para eliminar lípidos y compuestos de mediana polaridad. Tras separar el sobrenadante, tanto el residuo algal como el extracto se secaron en un concentrador centrífugo de vacío.

Los extractos liofilizados se analizaron en un espectrofotómetro de infrarrojo con transformación de Fourier (FT-IR) y con módulo de muestreo de reflexión total atenuada (ATR) de diamante (Cary 630, Agilent Technologies), disponible en la Universidad Jorge Tadeo Lozano, sede Bogotá.

Los extractos liofilizados se analizaron en un espectrofotómetro de infrarrojo con transformación de Fourier (FT-IR) y con módulo de muestreo de reflexión total atenuada (ATR) de diamante (Cary 630, Agilent Technologies), disponible en la Universidad Jorge Tadeo Lozano, sede Bogotá.

El análisis del peso molecular de carragenina se realizó en la Universidad de Antioquia mediante cromatografía de alta resolución por exclusión de tamaño (SEC-HPLC), en el que a 5 mg de extracto liofilizado de carragenina se le adicionó 1mL de agua y se mezcló hasta su disolución. Posteriormente, el extracto se pasó por un filtro de PVDF de 0,2 µm y el filtrado se reservó en un vial HPLC.

Las muestras se analizaron en un cromatógrafo HPLC Agilent 1100 que se encuentra en la Universidad de Antioquia, y el cual estaba acoplado a un detector ELSD Varian 380-LC y a un detector UV de onda variable (VWD). Para el análisis se utilizó una columna Superose 12 10/300 GL (11 μm , 300mm x 10 mm) y agua como fase móvil. La corrida cromatográfica se realizó a temperatura ambiente por 60 minutos, a un flujo de 0,5 mL. Min⁻¹, inyectando un volumen 10 μL . El gas de corrida usado fue aire comprimido a un flujo de 1,6 L.min⁻¹ y la temperatura del evaporador de 60°C. El detector VWD se fijó a una longitud de onda de 280 nm y los estándares de peso molecular utilizados para la estimación de peso molecular fueron del kit P-82 Shodex Standard (Japón).

El rendimiento del ficocoloide se calculó mediante la siguiente relación:

$$\% \text{ de Rendimiento} = \left(\frac{W_s - W_c}{W_s} \right) * 100$$

Donde: W_c corresponde al peso seco final de la carragenina obtenida y W_s corresponde al peso del algal seca inicial.

7. RESULTADOS

7.1 Ensayo 1:

7.1.1 TCDm vs tratamiento con $[\text{NaNO}_3]$

En general, la biomasa total cosechada durante todo el ensayo 1 fue de 706.1 g (Anexo 1, Tabla 1). La mayor tasa de crecimiento diario promedio (TCDm) se presentó para T1, con valores de 2.360 ± 4.471 % ($n = 48$), sin embargo, se presentaron valores extremos, lo que ocasionó una alta variabilidad (Figura 10). En cuanto a T2 y T4 presentaron valores de 1.691 ± 3.154 % ($n = 48$) y 0.673 ± 2.627 % ($n = 48$) respectivamente, evidenciando un crecimiento más homogéneo. Por último, el tratamiento que no mostró crecimiento fue T3, ya que su TCDm fue negativo (-1.005 ± 4.233 %; $n = 48$), además, presentó una mayor variabilidad, sugiriendo que con este tratamiento los talos perdieron biomasa (Figura 10).

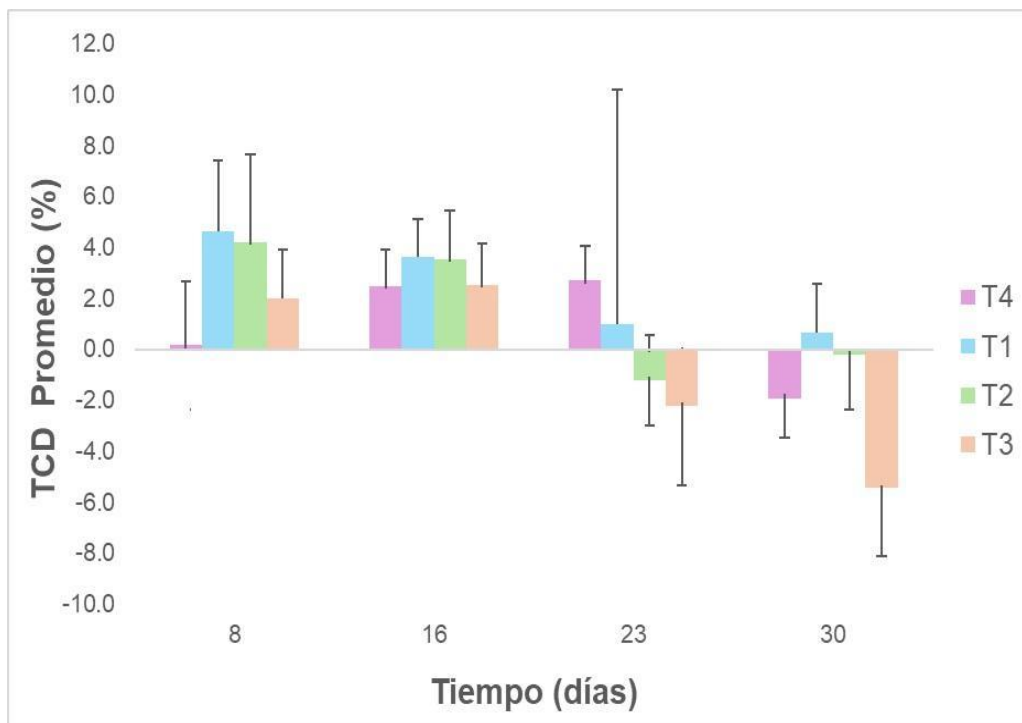


Figura 11. Valores promedio de la tasa de crecimiento diario (TCDm) con su desviación estándar (líneas) de los talos de *H. musciformis*, durante las cosechas en el tiempo (8, 16, 26 y 30 días), en respuesta a los tratamientos (T1: 5 mM, T2: 15 mM, T3: 20 mM y T4: 0 mM).

Durante las cuatro cosechas realizadas, como se observa en la figura 11, el mayor TCDm registrado fue a los 8 días para todos los tratamientos, excepto con T4, el cual fue de 0.164 ± 2.520 % ($n = 8$). El mayor valor obtenido fue de 4.613 ± 2.792 % ($n = 8$) en T1, seguido de T2 con un TCDm de 4.217 ± 3.413 % ($n = 8$). A los 16 días, el TCDm de T4 aumentó a $2.489 \pm 1,404$ % ($n = 16$), siendo el mayor registrado para este tratamiento, al igual que con T3. Sin embargo, luego de los 8 días, no se evidencio crecimiento, en T1 y T2 el TCDm fue disminuyendo con el paso del tiempo para todos los tratamientos.

7.1.2 TCDm VS Sustratos

Los resultados obtenidos muestran una clara diferencia en el TCDm de los talos de *H. musciformis* en respuesta al tipo de sustrato, como se observa en la figura 12, tanto en la primera cosecha semanal como en la quincenal, hubo un mayor crecimiento con el sustrato de coral (SC) de más del doble del sustrato de malla (SM), presentando el mayor TCDm a los 8 días con un valor de 4.403 ± 2.756 % ($n = 16$), mientras que con SM el crecimiento

diario no supero el 2 %. Con el tiempo se evidenció una disminución progresiva en el TCD para ambos sustratos, llegando hasta valores negativos a los 30 días donde se evidencia perdida de biomasa, siendo más evidente con SM (Figura 12).

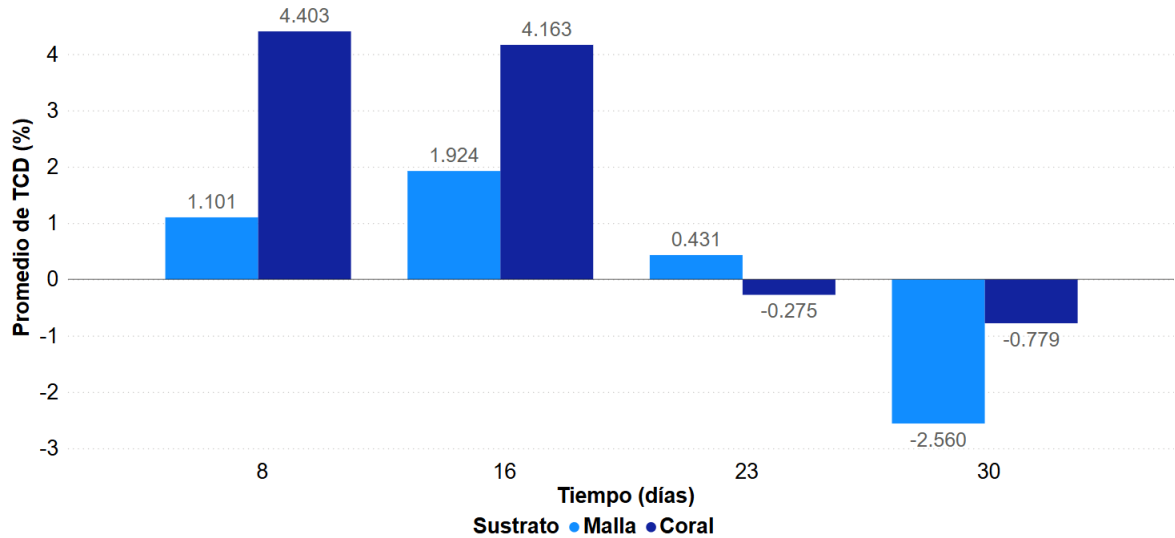


Figura 12. Tasa de crecimiento diario promedio (TCD) a lo largo del estudio en función del tipo de sustrato. Las barras azul claro indican el sustrato de malla (SM) y las barras azul oscuro los sustratos de coral (SC). En la parte terminal de cada columna se presenta el valor promedio correspondiente.

7.1.3 Análisis estadístico

El análisis de las variables reveló diferencias significativas entre los tratamientos (Tr) (PERMANOVA, pseudo - F = 15.262, $p < 0.05$), lo que indica que estos ejercieron una influencia diferencial sobre la tasa de crecimiento diario de los talos de *H. musciformis* siendo un factor determinante para el crecimiento de estos (Tabla 5). El análisis por pares reveló que, existen diferencias significativas entre todos los pares menos entre T1 y T4 ($p < 0.05$) ver tabla 5. En cuanto a los tipos de sustratos, no se encontraron diferencias significativas (PERMANOVA, pseudo - F = 1.617, $p = 0.171$) (Tabla 5). Por último, se encontraron diferencias significativas entre las distancias dentro de cada tratamientos (PERMDISP, F = 10.338, $p < 0.05$) siendo Tr 1 y Tr4 los más variables, mientras que Tr 2 y 3 presentaron un comportamiento más homogéneo (Anexo 5).

Tabla 5. Comparaciones múltiples de la prueba PERMANOVA para los tratamientos de enriquecimiento con NaNO₃ (Tr: Tratamiento) y los sustratos (Su: Sustrato) frente al TCD (%) de los talos de *H. musciformis* en el sistema de cultivo semicerrado. T1 (5 mM NaNO₃), T2 (15 mM NaNO₃), T3 (25 mM NaNO₃), T4 (0 mM NaNO₃). El df son los grados de libertad. Y PERMDISP indica las diferencias entre la dispersión entre los grupos.

Factor	PERMANOVA						PERMDISP	
	df	SS	MS	Pseudo - F	p-valor	U. perms	F	p-valor
Tr	3	5.210	1.737	15.262	0.0001*	9967	10.338	0.0001*
Su (Tr)	4	0.736	0.184	1.617	0.171	9959	4.3857	0.0349
Por pares (Tr)		t	p-valor	U. perms				
Tr 1	Tr 2	4.8077	0.0001*	9831				
Tr 1	Tr 3	3.299	0.0009*	9844				
Tr 1	Tr 4	0.20042	0.8389	9832				
Tr 2	Tr 3	3.8568	0.0003*	9827				
Tr 2	Tr 4	6.555	0.0001*	9841				
Tr 3	Tr 4	4.5056	0.0001*	9837				

Los datos se transformaron en LN_(x+1) en cada caso. * Significancia al nivel 0.05.

Cabe resaltar que al momento de las primeras cosechas se observaron los talos brillantes, rojizos y con una textura robusta. En la primera cosecha se observó que algunos talos se hallaban adheridos a las tapas de las canastillas (Figura 13.a), mientras que otros se adherían al esqueleto de coral (Figura 13.b), incrustando sus zarcillos dentro de sus poros (Figura 13.d.e).

Luego de dos semanas, se evidenció presencia de otras macroalgas como algas costrosas (figura 13.c) y de algas filamentosas (figura 13.f). Además de algas verdes que se asentaban sobre las canaletas, el fondo y las canastillas.



Figura 13. Resultados obtenidos durante el cultivo de *H. musciformis* en el sistema semicerrado de cultivo en canaletas. a. Talos dentro de SC luego de 8 días, se observa adherencia a la superficie de la canastilla. b. se observa adherida al sustrato. d y e. Crecimiento apical de los talos por dentro de los poros del esqueleto de coral. c y f. Crecimiento de otros organismos asociados. Tomado por Vargas, 2022.

En el análisis de correlación, se determinó que existe una correlación negativa muy débil a moderada entre el TCD (%) y los tratamientos o los sustratos. Mientras que con el tiempo se observa una correlación negativa moderadamente fuerte, esto indica una relación más clara entre las dos variables comparado con las anteriores, en la que, a medida que va aumentando el tiempo, la tasa de crecimiento diario disminuye (Tabla 6).

Con base en el modelo, se logró determinar que las variables propuestas tienen una contribución moderada frente al TCDm, ya que explican aproximadamente el 34.8 % de su variabilidad. A pesar de ello, el modelo indicó un efecto significativo sobre el TCD en el sistema de cultivo (Regresión lineal múltiple, $r^2 = 0.348$, $F_{3,188} = 33.425$, $P < 0.001$). En la tabla 6 se pueden observar los coeficientes obtenidos para cada una de las variables.

Tabla 6. Correlación de Spearman y modelo de regresión lineal. ICi e ICs indican los intervalos de confianza inferior y superior respectivamente.

Correlación de Spearman						
Muestra	r_s					
<i>TCD - Tratamiento</i>	-0.21					
<i>TCD - Sustrato</i>	-0.292					
<i>TCD - Tiempo</i>	-0.562					

Modelo de regresión lineal múltiple						
Variable	Coefficientes	Error típico	t - valor	p - valor	ICi	ICs
<i>Intercepción</i>	10.516	1.07	9.827	< 0.001	8.405	12.627
<i>Tratamiento</i>	-0.776	0.206	-3.765	< 0.001	-1.182	-0.369
<i>Sustrato</i>	-1.772	0.461	-3.847	< 0.001	-2.681	-0.864
<i>Tiempo</i>	-0.243	0.029	-8.444	< 0.001	-0.3	-0.186

7.2 Ensayo 2:

7.2.1 TCDm vs tratamiento con [NaNO₃]

En general, la biomasa total cosechada durante el ensayo 2 fue de 1 158.91 g (Anexo 2, Tabla 1). Como se observa en la figura 14, el mayor TCDm se obtuvo en T2 (0.312 ± 1.632 % (n = 109)), mientras que con T1 fue cercano a cero (0.031 ± 1.342 % (n = 88)). Aunque ambos tratamientos evidenciaron una dispersión considerable, esta fue menor que la registrada durante el ensayo 1. Asimismo, dicha variabilidad pudo haber sido influenciada por valores atípicos, con TCDm máximos de hasta 5.167 % en T2 (figura 14), así como la presencia de valores negativos.

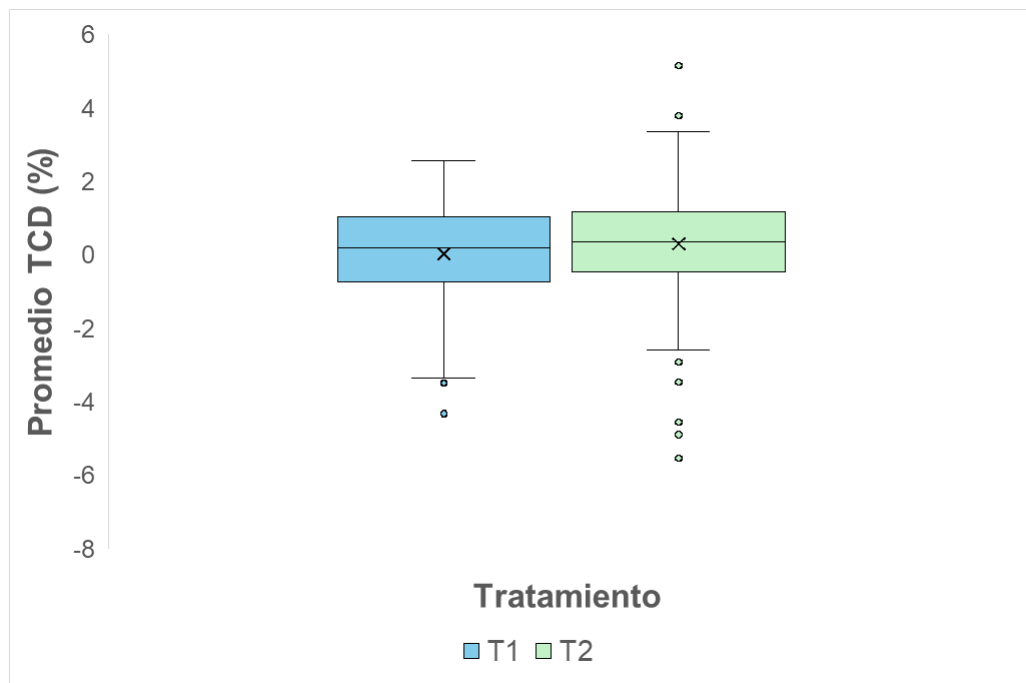


Figura 14. Tasa de crecimiento diario (TCD) promedio de los talos de *H. musciformis* durante todo cultivo obtenidos bajos los tratamientos de enriquecimiento T1 (5 mM NaNO₃), T2 (15 mM NaNO₃), expuestos a luz azul + blanca y luz blanca. El símbolo x representa el promedio, las barras la desviación estándar y los puntos externos los valores atípicos.

7.2.2 TCDm VS Sustratos

En cuanto a los tipos de sustratos, las tasas de crecimiento diario no superaron el 1 %. El mayor TCDm se obtuvo con SC a los 35 días de cultivo (0.995 ± 0.652 %; n = 24), mientras que con SM fue de 0.726 ± 0.456 %; n = 24 (Figura 15). Durante las primeras cosechas (10 días y 23 días) se evidenciaron TCDm negativas para ambos sustratos, lo que sugiere que los talos estuvieron bajo estrés durante este periodo, para luego presentar un estado de adaptación al medio. No se observó una diferenciación clara del TCDm en relación con los sustratos; sin embargo, a los 56 días, aunque este valor disminuyó para ambos, fue menor en SC en comparación a SM. En SC, el TCDm fue de 0.391 ± 2.009 %; n = 36, mientras que en SM fue de 0.034 ± 2.172 %; n = 36.

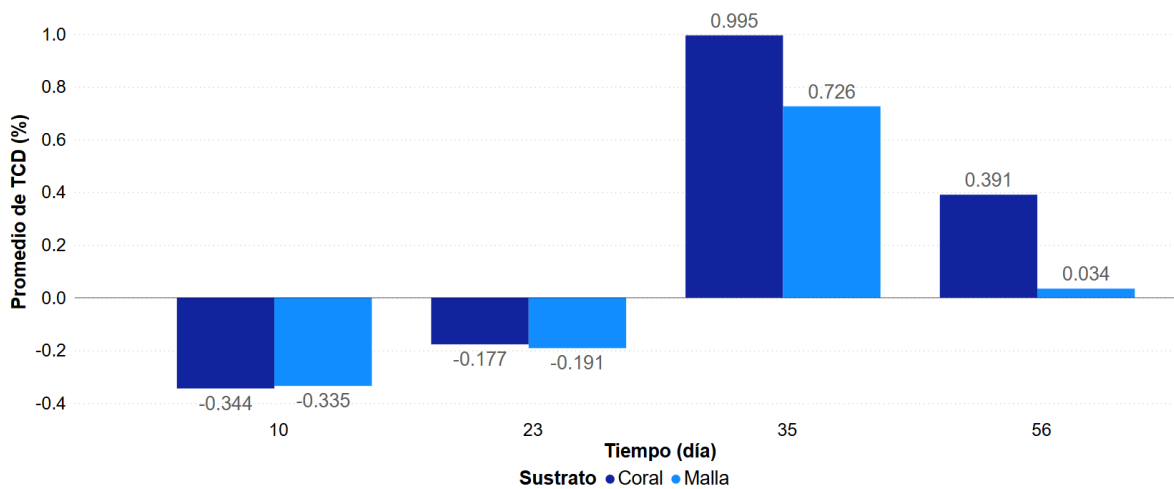


Figura 15. Tasa de crecimiento diario promedio (TCDm) a lo largo del ensayo 2 en función del tipo de sustrato. Las barras azul claro indican el sustrato de malla (SM) y las barras azul oscuro los sustratos de coral (SC). En la parte terminal de cada columna se presenta el valor promedio correspondiente.

7.2.3 TCDm VS Luz

En general, la condición de luz blanca mostró un mejor desempeño en el cultivo, con un TCDm de 0.444 ± 1.233 % ($n=112$) favoreciendo el crecimiento, en comparación con la combinación de luz azul + blanca que presentó un TCDm negativo (Anexo 2. Tabla 5), lo que indica una pérdida de biomasa. Durante la primera cosecha se evidenció que los talos tuvieron un TCDm negativo bajo condiciones de luz azul + blanca, mientras que con la luz blanca fue de 0.336 ± 1.356 % ($n=8$) en T1 (5 Mm de NaNO_3) y 0.208 ± 0.633 % ($n=8$) en T2 (15 Mm de NaNO_3) (Figura 16). El mayor TCDm, se reflejó en T1 y T2 a los 35 días con la luz blanca, 0.866 ± 0.576 %; $n=24$ y 0.856 ± 0.605 %; $n=24$ respectivamente, los cuales fueron valores muy cercanos entre sí (Figura 16). En la última cosecha, el TCDm más alto para los talos expuestos a luz azul + blanca, el cual fue de 0.530 ± 2.987 %; $n=56$ con T2, mientras que para la luz blanca disminuyó en ambos tratamientos.

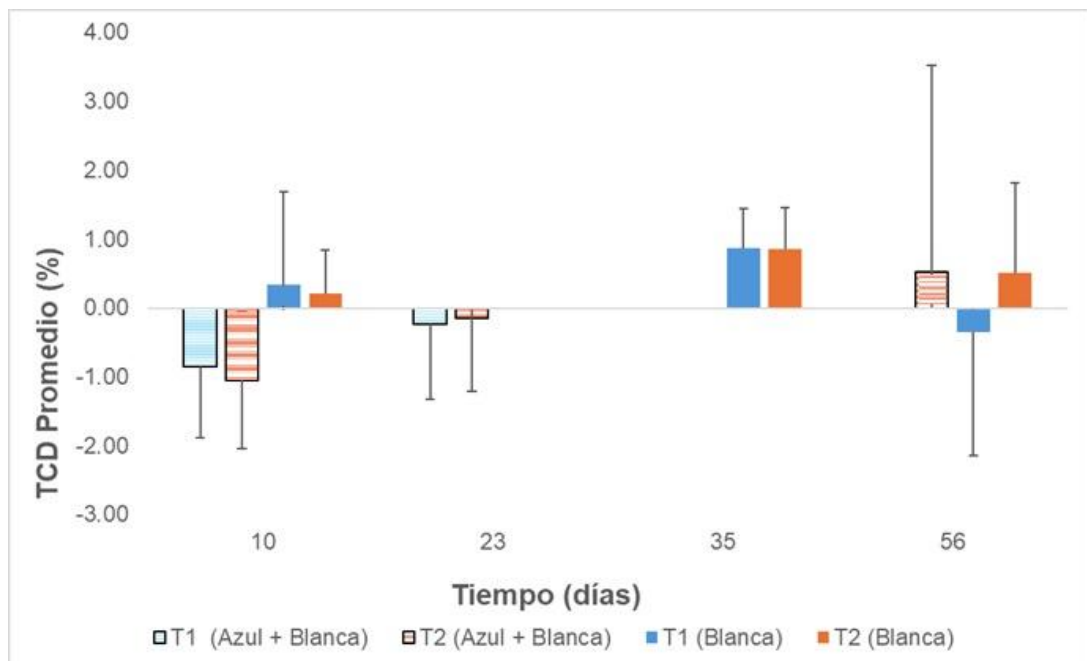


Figura 16. Valores promedios con su desviación estándar (líneas) de la tasa de crecimiento (TCDm %) de los talos con el tiempo, en respuesta a los tratamientos (T1: 5 mM y T2: 15 mM) y condiciones de luz. Las barras con líneas indican las muestras expuestas a luz azul + blanca y las de color solido las tratadas con luz blanca. Las barras azules indican el tratamiento uno, mientras las anaranjadas el tratamiento 2.

7.2.4 Análisis estadístico

Se encontraron diferencias significativas entre las condiciones de luz (PERMANOVA, pseudo $F = 9.151$, $p = 0.003$). No se hallaron diferencias significativas al comparar el crecimiento entre tratamiento y tampoco con los sustratos ($p > 0.05$) (Tabla 7). Se encontraron diferencias significativas entre las varianzas de las condiciones de luz (PERMIDISP, $F = 0.180$, $p\text{-valor} = 0.011$), siendo la luz azul + blanca la que presente un comportamiento más heterogéneo (Anexo 6).

Tabla 7. Comparaciones múltiples de la prueba PERMANOVA para los tratamientos de enriquecimiento con NaNO_3 (Tr: Tratamiento) y los sustratos utilizados (Su: Sustrato) frente al TCD de los talos en el sistema de cultivo semicerrado con luz azul + blanca y blanca. df indica los grados de libertad. PERMDISP indica las diferencias entre la dispersión entre los grupos.

Factor	PERMANOVA						PERMDISP	
	df	SS	MS	Pseudo – F	p–valor	U. perms	F	p-valor
<i>Tr</i>	1	0.055	0.055	0.837	0.368	9823	6.383	0.686
<i>Luz</i>	1	0.604	0.604	9.151	0.003*	9844	0.180	0.011*
<i>Su (Tr)</i>	2	0.279	0.139	2.111	0.120	9950	4.03E	
							-02	0.840
<i>Luz * Tr</i>	1	0.038	0.038	0.574	0.459	9840		
<i>Luz * S</i>	2	0.154	0.077	1.167	0.315	9945		
Por pares (Luz)			t	p-valor	u. perms			
Azul + Blanca	Blanca		3.025	0.002*	9857			

Los datos se transformaron en $\log(x+1)$ en cada caso. * Significancia al nivel 0.05.

A diferencia del ensayo 1 en el 2 las correlaciones encontradas fueron positivas muy bajas (Tabla 8). El sustrato mostró una correlación negativa, pero fue muy débil. Además, se evidenció multicolinealidad. Con base al modelo, se determinó que las variables propuestas no explican la variabilidad del TCD, ya que se obtuvo un coeficiente de determinación del 6 %, y aunque resulta ser estadísticamente significativo, la relación entre las variables y el TCD no es especialmente fuerte (Regresión lineal múltiple, $r^2 = 0.058$, $F_{4,192} = 2.978$, $P = 0.020$). El único coeficiente que fue significativo fue la luz con un p – valor = 0.013 (Tabla 8), lo que sugiere que la luz actúa como un factor modulador del crecimiento, pero que pueden existir otros factores que también desempeñan un papel importante en la respuesta de los talos.

Tabla 8. Correlación de Spearman y modelo de regresión lineal. Ici e Ics indican los intervalos de confianza inferior y superior respectivamente.

Correlación de Spearman	
Muestra	r_s
TCD – Luz	0.24
TCD – Tratamiento	0.088
TCD – Sustrato	-0.076
TCD – Tiempo	0.232

Modelo de regresión lineal múltiple						
Variable	Coefficientes	Error típico	t – valor	p – valor	Ici	Ics
Intercepción	-0.99	1.464	-0.676	0.5	-3.879	1.898
Luz	0.584	0.232	2.518	0.013*	0.127	1.041
Tratamiento	0.329	0.219	1.501	0.135	-0.103	0.76
Sustrato	-0.196	0.212	-0.922	0.358	-0.615	0.223
Tiempo (d)	0.005	0.007	0.713	0.477	-0.008	0.018

7.3 Perfil de MAAs

En cuanto al perfil de MAA en las muestras de cultivo, no se identificaron compuestos adicionales, ni se observaron mayores concentraciones de shinorina en las muestras de CS en comparación con las de MS.

Las muestras aclimatadas del primer ensayo mostraron una concentración inicial de MAAs, sin embargo, durante el cultivo se observó una disminución progresiva a lo largo del tiempo y solo se encontraron niveles traza (Tabla 9). (Gonzales-Torrez *et al.*, 2025).

Tabla 9. Perfil de MAAs (mg. g-1 DW) para las muestras del primer ensayo (año 2022) con luz blanca y variación en la concentración de NaNO₃ (Gonzales-Torrez *et al.*, 2025).

Aminoácidos micospóricos	Muestra*	Cosecha parcial 1	Cosecha completa 1
	aclimatada mg. g-1 DW		
Shinorina UV λmax= 333 nm	1.43	En todos los casos sólo se detectaron trazas de los MAAs	En todos los casos sólo se detectaron trazas de los MAAs
Palythina UV λmax= 320 nm	0		
Asterina-330 UV λmax= 330 nm	0.01		
Porphyra-334 UV λmax= 334 nm	0		
Total, MAAs	1.44		

*Valores promedio n = 10

En cuanto al segundo ensayo este comenzó con una cepa con alto contenido de MAAs, con las muestras aclimatadas 2 (Tabla 10) pero al final del período de cultivo, los niveles de MAA habían disminuido a niveles traza (Gonzales-Torrez *et al.*, 2025).

Tabla 10. Perfil de MAAs (mg. g-1 DW) para las muestras del segundo ensayo (año 2023) con luz blanca y blanca/azul y variación en la concentración de NaNO₃ (Gonzales-Torrez *et al.*, 2025). MA indica muestra aclimatada y CC cosecha completa

Aminoácidos micospóricos	MA mg. g-1* DW	MA mg. g-1* DW	CC 1
Shinorina UV λmax= 333 nm	1.78	4.37	En todos los casos sólo se detectaron trazas de los MAAs
Palythina UV λmax= 320 nm	0.04	0.09	
Asterina-330 UV λmax= 330 nm	0.02	0	
Porphyra-334 UV λmax= 334 nm	0	0	
Total, MAAs	1.84	4.46	

*Valores promedio n = 10

7.4 Contenido de Kappa-carragenina

Los rendimientos de extracción de carragenina obtenidos para las muestras del cultivo oscilaron entre 20.5 % y 34.7 % (Tabla 11), con un rendimiento de extracción promedio de 28.40 ± 4.38 %. La única excepción, que tuvo un rendimiento bajo, se presentó para la muestra del ensayo 2 con un tratamiento de [NaNO₃] = 15 mM y luz blanca + azul, el cual fue de 20.5%. Mientras que para el ensayo 1 el mejor rendimiento fue de 33.3 % en las muestras tratadas con [NaNO₃] = 0 mM.

Tabla 11. Rendimiento de k-carragenina para las muestras cultivadas durante los ensayos 1 y 2 (González-Torres, 2024).

Tratamiento [NaNO ₃]	Tipo de luz	Muestra
5 mM	Blanca	Cosecha 8 días 2022
15 mM		Cosecha 8 días 2022
25 mM		Cosecha 8 días 2022
0 mM		Cosecha 8 días 2022
--		Sustrato malla 2022 de cosecha 8 días
--	--	Aclimatada 2023
5 mM	Luz blanca	Cosecha 10 días 2023
15 mM		Cosecha 10 días 2023
5 mM	Luz blanca + Luz azul	Cosecha 10 días 2023
15 mM		Cosecha 10 días 2023

CMF empleado como patrón de k-carragenina | Carragenina para aplicación cosmética
*Valor promedio n = 15

En cuanto al peso molecular, las muestras de aclimatación correspondiente al 2023 el valor fue 118.99 KDa, mientras que, para todas las muestras cosechadas de ambos cultivos, estos valores se encontraron por encima de los 134.80 KDa y hasta los 163.04 KDa. Las muestras del ensayo 2 con [NaNO₃]= 15 mM y luz azul + blanca que presentaron valores negativos de TCD, tuvieron el mayor aumento en el peso molecular de la carragenina extraída, el cual fue de 163.04 KDa. Mientras que para el ensayo 1 con [NaNO₃] = 0 mM se obtuvo un peso molecular de 161.06 KDa. Durante el tiempo de desarrollo del cultivo las muestras de ambos ensayos presentaron un aumento en su peso molecular (González-Torres, 2024).

8. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

8.1 Ensayo 1:

Este estudio demostró que la tasa de crecimiento diario promedio (TCDm) de los talos de *H. musciformis* fue influenciada por los tratamientos de enriquecimiento aplicados al sistema de cultivo semicerrado. Se logró obtener un TCD promedio de 2.36 ± 4.52 % (n = 48) bajo el tratamiento con 5 mM de NaNO₃ durante todo el cultivo, valor comparable con lo obtenido en otros estudios realizados en el medio natural (Mohiuddin *et al.*, 2023; Camacho y Montaña, 2012; Wallner *et al.*, 1992).

La mayor tasa de crecimiento se obtuvo durante los primeros 8 días, con valores promedios de 4.61 ± 2.79 % (n=8) con este mismo tratamiento y de 4.23 ± 3.41 % (n = 8) con 15 mM de NaNO_3 , lo que refuerza la idea de que la disponibilidad de nitrógeno es un factor crucial para el crecimiento algal. Mosquera-Murillo y Peña-Salamanca, (2016) obtuvieron TCD promedio de 4.82 % y 3.02 % en *Caulerpa sertularioides* en condiciones de laboratorio comparables con las utilizadas en este estudio y un enriquecimiento de 35 g/L de NaNO_3 , al igual que lo reportan Titlyanov *et al.*, (2006) para *Gelidium* sp. con un TCD de 4.9 ± 1.9 % utilizando soluciones de Von Stosch al 100 %. Ferreira *et al.*, (2006) consiguieron TCD mayores (8.4 % y 7.1%) en cepas de *H. musciformis* con concentraciones menores, lo que sugiere una adaptación de la especie a bajas concentraciones de nutrientes.

El hecho de que T4 (0 mM de NaNO_3) presentara el TCD promedio más bajo en la primera cosecha, y que durante la segunda lo haya aumentado hasta 2.49 ± 1.40 % sugiere que, aunque la ausencia de nitrógeno pueda limitar el crecimiento inicial de los talos, en etapas posteriores se pueden generar adaptaciones a las condiciones del cultivo. Carvalho, (2019) y Martins *et al.*, (2011) reportaron TCD mayores con tratamientos de NaNO_3 , desde los 0 mM hasta los 100 mM. Bravin y Yoneshigue-Valentin, (2002) obtuvieron los mejores resultados de TCDm (20.79 %) utilizando un medio enriquecido con nutrientes, aireación y a 25 °C con talos de *H. musciformis*, esto resalta la importancia de mantener la combinación adecuada de los nutrientes y las condiciones del cultivo específicas para maximizar el rendimiento.

Por otro lado, el efecto del fósforo también se ha evaluado, ya que desempeña un papel fundamental en el almacenamiento de energía. Sarri *et al.*, en 2022, encontraron que *K. striatus* enriquecido con fósforo, alcanzó un crecimiento del 2.40 % por día después de 45 días, lo que indica que, concentraciones más altas de fósforo pueden ralentizar el crecimiento del alga. El exceso de fósforo reduce la capacidad del alga para absorber micronutrientes esenciales, en particular zinc y hierro (Provin y Pitt, 2008) además, puede volverse soluble y móvil en el agua, llegando a las porciones superficiales y provocando el crecimiento de algas y otras plantas indeseables (Sarri *et al.*, 2022).

Dado que se aseguró la disponibilidad de nutrientes como nitritos, nitratos y fosfatos durante todo el cultivo, así como los demás parámetros, la razón por la cual el TCDm disminuyó considerablemente luego de la tercera semana, puede deberse al crecimiento

de otros organismos, como algas verdes, algas coralinas y algas filamentosas, que pueden generar un efecto de competencia para *H. musciformis*. La presencia de epífitos reduce la biomasa, debilita los talos, causa ruptura y disminuye el TCD debido a que se recubre la superficie de los fragmentos e impiden la absorción de luz y nutrientes (Delgadillo Garzón y Newmark, 2016; Vairappan, 2006; Critchley *et al.*, 2004; Ask y Azanza, 2002). Una posible solución es la remoción por métodos mecánicos o biológicos, así como controles de limpieza periódicos que eviten el asentamiento de estos organismos (Critchley *et al.*, 2004).

Los recambios de agua son un punto importante en este sentido, ya que es necesario utilizar un ciclo similar de llenado al natural de la bahía, haciendo renovaciones cada 12 horas (Rodríguez *et al.*, 2012), para que no se sature el sistema de nutrientes. Al igual que en los cultivos piscícolas, es recomendable determinar tasas de conversión alimenticias para evitar el exceso de nutrientes no consumidos. Esto puede evitar pérdidas económicas directas y la degradación del ambiente, que a su vez pueden causar estrés, enfermedades, bajo crecimiento, baja supervivencia y una mala cosecha (Aguirre *et al.*, 2022).

Por otro lado, hay que tener en cuenta que, los factores ambientales actúan sinérgicamente como responsables del crecimiento; el enriquecimiento, la aireación, la temperatura, y la irradiación actúan de manera coordinada para la absorción de nitrógeno (Bravin y Yoneshigue-Valentin, 2002; Nivedita y Raghunathan, 2016). En los ensayos, se utilizaron cuerdas, mallas y canastillas de polipropileno que bloqueaba la incidencia directa de la luz en los talos, lo que podría haber tenido un efecto negativo sobre el TCD. Adicionalmente, la formación de burbujas en la superficie del agua afectó la disponibilidad de luz, la cual está limitada por la transparencia del agua y determina directamente la actividad de fotosíntesis de las algas y su capacidad de biosíntesis (Orfanidis, 1992), por lo que reducir obstáculos directos entre las algas y la luz dentro de la columna de agua es de vital importancia.

Con lo anterior, se evidencia que los tratamientos generan diferencias significativas en el crecimiento de los talos, sin embargo, el resultado significativo del PERMDISP indica la presencia de heterogeneidad en variabilidad del TCDm de los talos dentro de cada Tr, así como solapamiento. En este contexto, la significancia observada podría estar influenciada no solo por el efecto de cada tratamiento sino también por la variabilidad interna de cada grupo. Este comportamiento puede explicarse por la amplia plasticidad fisiológica de las

macroalgas a las variaciones ambientales, que generan diferencias en la regulación del metabolismo. Adicionalmente, la presencia de valores extremos sugiere que algunos talos pudieron experimentar condiciones subóptimas, lo que pudo generar la variabilidad dentro de cada tratamiento.

Aunque se presentó un TCDm alto de 6.97 ± 2.44 % (n=4) con el sustrato de esqueleto de coral y un tratamiento de $[\text{NaNO}_3]$ 15 mM en la primera cosecha, no se encontraron diferencias significativas entre los sustratos (PERMANOVA, pseudo F = 2.274, p = 0.058) (Tabla 7). Lo que denota que dentro del sistema no hay un efecto de preferencia para el asentamiento que favorezca el crecimiento de los talos, y que este puede estar influenciado por múltiples factores. Resultados muy prometedores con diferentes sustratos (Pereira *et al.*, 2020; Saavedra *et al.*, 2019), resaltan la importancia de seguir haciendo ensayos con materiales que puedan beneficiar el asentamiento, el crecimiento, generen resistencia a epifitismo para mejorar la productividad del cultivo.

Finalmente, se obtuvo una correlación negativa moderadamente fuerte entre el tiempo y la tasa de crecimiento diario de los talos, lo que responde a lo esperado y a lo reportado por Camacho y Montaña Fernández, (2012) y Lapointe *et al.*, (1976) quienes mencionaron que después de un periodo de 7 a 30 días los talos de *H. musciformis* sufren una gran fragmentación y va disminuyendo su TCD con el paso del tiempo sin poder mantener su biomasa en cultivos en tanques, esto puede estar relacionado a una posible senescencia de los talos.

8.2 Ensayo 2:

En comparación con el ensayo 1, se obtuvo un TCD poco promisorio, ya que no se incrementó la biomasa de los talos, y durante las primeras cosechas hubo pérdida de biomasa, con TCD negativos. Sin embargo, estos resultados permiten analizar sobre la influencia de los diferentes tipos de luz utilizados y su relación con la disponibilidad de nutrientes y el TCD.

Teniendo en cuenta que se obtuvieron diferencias significativas entre los tipos de luz, se sugiere que la luz blanca favorece el crecimiento en comparación con la combinación de luz azul + blanca, ya que en las primeras cosechas la luz blanca mostró un ligero crecimiento positivo con ambos tratamientos de NaNO_3 , y el mayor TCD promedio de registró a los 35 días. Esto indica que esta última proporcionó un entorno óptimo para el

crecimiento continuo de los talos. Estudios previos lo respaldan, Syahrul *et al.*, (2023) registraron TCDm 3.77 ± 0.06 % para *K. alvarezii* a 28°C + luz blanca a 100 PAR, mientras que para *Gracilaria asiática*, Wedchaparn *et al.*, (2015) reportaron un TCD de 18.87% y 10.56 % con $90 \pm 20 \mu\text{mol m}^{-2}\text{seg}^{-1}$. Una amplia gama de estudios refleja los resultados prometedores sobre el efecto de luz blanca artificial sobre el TCD promedio en cultivos in vitro de algas, sean rojas, verdes o pardas (Gong *et al.*, 2020; J. K. Kim *et al.*, 2015; J.-H. Kim *et al.*, 2019; Schulze *et al.*, 2016; Shen *et al.*, 2013).

La luz azul se ha reportado principalmente para evaluar su efecto sobre la acumulación de proteínas y aminoácidos, tipo micosporinas en algas rojas, pero han encontrado TCD promedio de 3.3 ± 0.7 % siendo los valores más bajos utilizando diferentes tipos de luz a $45 \mu\text{mol m}^{-2}\text{sec}^{-1}$ (Korbee *et al.*, 2005). Barufi *et al.*, (2015), compararon diferentes tipos de luz a $350 \mu\text{mol m}^{-2}\text{seg}^{-1}$ en cultivos de *Gracilaria birdiae*, y encontraron que las algas cultivadas en luz blanca mostraron un TCD más alto que las cultivadas en roja y azul, lo que concuerda con lo obtenido.

Por la presencia de valores atípicos, especialmente la pérdida de biomasa y las altas variabilidades observadas, las diferencias significativas obtenidas para las condiciones de luz podrían estar influenciadas por diferencias en la dispersión del TCDm, por lo que se resalta la necesidad de implementar un control riguroso en las condiciones experimentales.

La correlación positiva pero débil entre las variables y el TCD sugiere que la luz es un factor significativo, pero no es el único que afecta el crecimiento. El bajo coeficiente de determinación indica que otros factores no considerados en el modelo podrían estar influyendo en el TCD. Uno de ellos podría ser la salinidad: durante las dos primeras semanas se presentaron alzas en la concentración de este parámetro por condiciones del laboratorio, y la exposición prolongada a salinidades más altas o bajas de las óptimas inhibe la división celular y puede provocar retraso en el crecimiento (Graham y Wilcox, 2000). Una vez la salinidad fue ajustada pudo beneficiar el crecimiento de los talos, ya que, en la última cosecha, los talos expuestos a la luz azul + blanca mostraron un aumento en el TCDm (0.53 ± 2.98 %). Macler, (1988) reportó para *G. coulteri* TCD bajos en los primeros cinco días en salinidades de 50 g/l, las cuales se recuperaron después de cinco semanas cultivadas.

La relación existente entre la luz y el nitrato no es menos importante, ya que en macroalgas están estrechamente relacionadas a nivel fisiológico y enzimático. Ambas regulan de forma continua la fotosíntesis y la asimilación del nitrógeno, lo que determina el crecimiento (Mendes *et al.*, 2024). Chow *et al.*, 2004, demostraron como la enzima de nitrato reductasa (NR), la cual es responsable de la reducción de NO_3^- a NO_2^- es fuertemente dependiente de la luz en *Gracilaria chilensis*. Lo que implica que, en condiciones de alta irradiancia, aumenta la fijación del carbono en el ciclo de Calvin y por tanto hay mayor capacidad de incorporar nitrógeno en aminoácidos, favoreciendo el crecimiento (Kowalczyk *et al.*, 2013). Sin embargo, teniendo en cuenta los resultados del presente estudio, los talos cultivados obtuvieron un TCD mínimo, lo que puede indicar que uno de estos factores era limitante en el sistema, reduciendo la capacidad de utilización del nitrato, y restringiendo su crecimiento, esto sumado al estrés por salinidad.

Cabe resaltar que los talos de este ensayo tuvieron una mayor duración en el tiempo, ya que el cultivo duró 26 días más que el ensayo 1, y aunque el TCD no aumentó significativamente, los talos se mantuvieron en el cultivo, lo que resalta que los cambios realizados en cuanto a las condiciones estructurales del sistema pudieron propiciar un mejor entorno para el cultivo.

8.3 Perfil de MAAs

Dado que los resultados obtenidos mostraron una disminución progresiva en los niveles de MAAs a lo largo del tiempo en ambos ensayos, se sugiere que los factores asociados al entorno no beneficiaron la producción de MAAs. Múltiples estudios han determinado que uno de los factores más relevantes para la síntesis de MAAs es la radiación solar (Huovinen *et al.*, 2004). Tanto la calidad y cantidad de radiación recibida, así como el contenido de nitrógeno, fósforo y un pH ambiental básico del medio de cultivo influye en la acumulación de MAAs en experimentos en laboratorio (Briani *et al.*, 2018; Korbee *et al.*, 2006). Sin embargo, las fluctuaciones en la salinidad pueden cambiar la densidad del agua, la absorción de nutrientes y la presión osmótica en las células (Fong *et al.*, 1996), lo que provoca un estrés fisiológico y bioquímico significativo, generando cambios en la tasa de crecimiento y el rendimiento fotosintético (Schmidt *et al.*, 2015), lo cual, a su vez, puede afectar la producción de compuestos secundarios, como las MAAs.

Adicionalmente, es importante considerar que los aminoácidos similares a las micosporinas (MAA) son una gran familia de protectores naturales que absorben los rayos UV (Geraldés y Pinto, 2021), razón por la cual el tipo de luz utilizado pudo influenciar en los resultados obtenidos, ya que las luces LED comúnmente empleadas en cultivos bajo condiciones controladas no emiten radiación UV la cual es un estímulo clave para la biosíntesis de MAAs (Velasco-Charpentier et al., 2016).

8.4 Contenido de Kappa-Carragenina

Uno de los factores importantes para tener en cuenta al analizar los valores del contenido de carragenina es el método de extracción utilizado. En este estudio, los rendimientos oscilaron entre 20.5 % y 34.7 %, situándose dentro del rango reportado en la literatura para la extracción de k-carragenina en diversas especies de algas rojas cultivadas. Estudios previos han documentado rendimientos que varían ampliamente, desde 6.5 % hasta 43 %, dependiendo de la especie de alga y las condiciones de extracción empleadas, donde los valores más altos se logran bajo extracción alcalina (Martín-del-Campo *et al.*, 2021). Por ejemplo, Manuhara *et al.* (2016) reportaron rendimientos para *K. alvarezii* entre 19.50 % y 43.91 % utilizando varias concentraciones de solución de KCl. Otros estudios registran rendimientos para *H. musciformis* entre 35 % y 47 % controlando el pH (Mtolera y Buriyo, 2004; Rozo, 2006). En el medio natural, para el Caribe colombiano se han reportado rendimientos entre 44 y 48 % con un proceso de extracción a partir de agua alcalina (Camacho y Montaña Fernández, 2012).

No obstante, es importante tener en cuenta cómo los factores ambientales del sistema de cultivo pudieron influir en la concentración de este ficocoloide, ya que los mayores rendimientos (34.7 y 33.3 %) se obtuvieron en los ensayos con menor o nula concentración de nitrato ($\text{NaNO}_3 = 5 \text{ mM}$ en el Ensayo 2 y $\text{NaNO}_3 = 0 \text{ mM}$ en el Ensayo 1, respectivamente), lo que concuerda con la idea de que a bajas concentraciones de nitrato pueden mejorar su rendimiento (Luhan *et al.*, 2015). Generalmente, cuando hay una limitación de nitrógeno, el alga destina el carbono almacenado a la producción de polisacáridos carbonatados, como la carragenina, ya que estos compuestos le sirven de protección para resistir periodos de estrés o cambios ambientales (Mendes *et al.*, 2024). En cambio, bajo condiciones de alta disponibilidad de nitrógeno, las algas priorizan la síntesis de compuestos nitrogenados, como proteínas, enzimas y clorofila, lo que se traduce en un

mayor crecimiento y aumento de biomasa (Luhan *et al.*, 2015). Este fenómeno se conoce como el “efecto Neish” (Chopin *et al.*, 1990).

En cuanto al ensayo 2, el tratamiento de $[\text{NaNO}_3] = 15 \text{ mM}$ fue el que obtuvo un menor rendimiento, lo que se sugiere que una alta disponibilidad de nitrógeno en combinación con valores elevados de PAR pueden no ser favorables en la producción de carragenina (Zhu *et al.*, 2014) ya que puede causar fotoinhibición, interrumpiendo el desarrollo de las algas y afectando los niveles de carragenina (Kravchenko *et al.*, 2018; Véliz *et al.*, 2017; Hurtado *et al.*, 2009).

Por otro lado, para el peso molecular, el aumento en relación con el tiempo de permanencia en el cultivo podría indicar que las condiciones experimentales favorecieron la síntesis de cadenas de polisacáridos más largas. La muestra con el mayor peso molecular (163.04 KDa) correspondió al ensayo 2 con $\text{NaNO}_3 = 15 \text{ mM}$ y luz azul + blanca, que también presentó el rendimiento de extracción más bajo. Esta observación podría sugerir que el aumento del peso molecular estimado en la carragenina podría ser el resultado de la exposición a un proceso de estrés, la actividad metabólica se ve alterada por la temperatura, el pH y la disponibilidad de nutrientes según las diferentes condiciones ambientales, lo que puede generar cambios en la composición química (Afonso *et al.*, 2021).

Los valores obtenidos para las muestras del cultivo (134.80 KDa a 163.04 KDa) fueron generalmente más altos que el de la muestra de aclimatación (118.99 KDa), evidenciando un efecto de aumento relacionado a las condiciones del cultivo. Sin embargo, estos valores están dentro de lo normal, ya que los pesos moleculares de la carragenina se encuentran generalmente en el rango de 100 a 500 kDa (Rozo, 2006). Ekstrom (1985) analizó ocho muestras de carragenina de grado alimenticio y halló que el valor medio del peso molecular de esas carrageninas era de 167 kDa, lo que indica que las muestras con los menores pesos moleculares son aptas para utilizar en alimentos. Rozo, (2006) indicó que para kappa-carragenina usada en alimentos, el peso molecular variaba entre 50 y 100 kDa. Es importante destacar que el peso molecular de kappa-carragenina puede influir en sus propiedades y aplicaciones (Flórez-Fernández *et al.*, 2022).

Por último, es bien sabido que en Colombia falta realizar investigaciones referentes al cultivo de macroalgas, tanto en medio natural como en sistemas controlados, sin embargo, ésta es un área prometedora, especialmente en las regiones del Caribe y el Pacífico (Arias-

Echeverri *et al.*, 2022). Para maximizar su potencial comercial y sostenible, es crucial estabilizar y controlar parámetros como la disponibilidad de nutrientes, la calidad del agua, y las condiciones de cultivo, una buena manera de romper con estas limitaciones sería implementando nuevos diseños altamente controlados, como lo son la acuicultura multitrófica integrada (AMTI), donde existe un aprovechamiento centrado en utilizar diferentes especies que desarrollan funciones específicas dentro del sistema (Chopin *et al.*, 2008; Neori *et al.*, 2004). Así como que las especies utilizadas, además de biofiltrar, tengan un valor comercial añadido (Neori *et al.*, 2004; Nobre *et al.*, 2010) siendo este el caso de *H. musciformis* la cual tiene un amplio interés comercial.

9. CONCLUSIONES

Este estudio marca un hito en Colombia al implementar por primera vez un sistema de cultivo semicerrado de macroalgas marinas. A diferencia de investigaciones previas que se centraron en cultivos experimentales en mar abierto, como los realizados en Bahía Portete, La Guajira, y Santa Marta entre 2005 y 2006, donde se evaluó la factibilidad de cultivos piloto de macroalgas rojas, este nuevo enfoque introduce un sistema semicerrado que, proporciona un mayor control sobre las condiciones de cultivo. Esta innovación no solo representa un avance significativo en las técnicas de cultivo de macroalgas en el país, sino que también abre nuevas posibilidades para el desarrollo sostenible de la acuicultura y la biotecnología marina en Colombia.

En el ensayo 1, se determinó que el sistema de cultivo propuesto promueve el crecimiento de los talos de *H. musciformis*. Las concentraciones de NaNO_3 tuvieron un efecto directo sobre la tasa de crecimiento (TCD), siendo los tratamientos con 5 y 15 mM los que tuvieron los mejores resultados iniciales. Los sustratos SC presentaron las mayores TCD promedio, pero no se encontraron diferencias significativas entre SC y SM, lo que indica que no se presentó una distinción entre uno y el otro que promoviera el aumento de la biomasa, y que más variables podrían estar afectando el crecimiento de los talos, en cuanto a la disminución del crecimiento con el tiempo fue un fenómeno esperado.

En el ensayo 2 se identificó que la luz blanca resulta ser más beneficiosa para el crecimiento de los talos, pero es fundamental seguir investigando la interacción de múltiples factores y su influencia a largo plazo en el cultivo, debido a que se observó una disminución en los niveles de MAAs, sugiriendo que los factores asociados al entorno no beneficiaron su

producción, por lo que, la variabilidad observada y los resultados atípicos destacan la complejidad de optimizar las condiciones del cultivo para maximizar la producción de biomasa y al mismo tiempo favorecer la producción interna de los compuestos químicos.

Se resaltó la importancia de estabilizar las variables más importantes que afectan directamente el crecimiento del alga, así como aquellas que intervienen en la producción de los compuestos con interés comercial, en cuanto a cantidad, calidad y eficiencia. Esto influye no solo en la disponibilidad de nutrientes y las condiciones de iluminación, sino también factores como la salinidad, la aireación y el control de organismos competidores. La optimización de estos parámetros contribuirá a la rentabilidad del cultivo a largo plazo y así mismo mejorará la productividad y calidad de los compuestos como las MAAs y kappa-carragenina que produce naturalmente *H. musciformis*.

Como producto de este trabajo se elaboró un artículo titulado “MAAs Profiling in Wild *Hypnea* Samples (Gigartinales, Rhodophyta) from the Colombian Caribbean and in Samples from a Pilot Semi-Closed Cultivation of *H. musciformis*” el cual fue sometido a la revista VITAE, ver anexo 5.

10. BIBLIOGRAFÍA

- Abreu, M. H., Pereira, R., Yarish, C., Buschmann, A. H., y Sousa-Pinto, I. 2011. IMTA with *Gracilaria vermiculophylla*: Productivity and nutrient removal performance of the seaweed in a land-based pilot scale system. *Aquaculture*, 312(1-4), 77–87. doi: 10.1016/j.aquaculture.2010.12.036 10.1016/j.aquaculture.2010.12.036
- Acevedo, G. 1968. Las algas marinas colombianas y su distribución geográfica. *Rev. Acad. Colomb. Cienc. Exactas Fís. Nat.* 13, 237–257.
- Afonso, C., Correia, A. P., Freitas, M. V., Baptista, T., Neves, M., y Mouga, T. 2021. Seasonal Changes in the Nutritional Composition of *Agarophyton vermiculophyllum* (Rhodophyta, Gracilariales) from the Center of Portugal. *Foods*, 10(5), Article 5. <https://doi.org/10.3390/foods10051145>
- Aguiar, T. C., Costa, I. O., de Jesus, P. B., de Matos, M. R. B., Pereira-Filho, G. H., y Nunes, J. M. de C. 2013. Evaluation of the stocks of *Hypnea musciformis* (rhodophyta:

- Gigartinales) on two beaches in Bahia, Brazil. *Brazilian Journal of Oceanography*, 61(1), 65–71. <https://doi.org/10.1590/S1679-87592013000100007>
- Aguirre, M. B., Martínez, A. V., Jaramillo, J. C. G., y Barrios, D. 2022. Manual de cálculos, estimaciones y consideraciones básicas para granjas piscícolas. Fondo Editorial Biogénesis. <https://revistas.udea.edu.co/index.php/biogenesis/article/view/352121>
 - Aitio, A., Bernard, A., Fowler, B. A., y Nordberg, G. F. 2007. Biological monitoring and biomarkers. G.F. Nordberg, B.F. Fowler, M. Nordberg, L. Friberg (Eds.), Handbook on the Toxicology of Metals (3rd ed, pp. 65-78). Amsterdam, Nederland: Elsevier
 - Alemañ, A. E., Robledo, D., y Hayashi, L. 2019. Development of seaweed cultivation in Latin America: current trends and future prospects. *Phycologia*, 58(5), 462–471. <https://doi.org/10.1080/00318884.2019.1640996>
 - Aline P. MartinsI; Orlando Necchi JuniorII; Pio ColepicoloIII; Nair S. Yokoya. 2011. Effects of nitrate and phosphate availabilities on growth, photosynthesis and pigment and protein contents in colour strains of *Hypnea musciformis* (Wulfen in Jacqu.) J.V. Lamour. (Gigartinales, Rhodophyta). *Rev. bras. farmacogn.* 21 (2). <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2011005000078>
 - Álvarez R., León C.M, P. P. y A. A. T. 2007. Evaluación Y Utilización Potencial De Las Macroalgas Marinas Del Caribe Y El Pacífico De Colombia: Estado Actual De Su Conocimiento. *Biosalud*, 6, 113–129.
 - Alves, J. D. P., Bessa Junior, A. P., y Henry-Silva, G. G. 2021. Salinity tolerance of macroalgae *Gracilaria birdiae*. *Ciência Rural*, 51(1), e20190958. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20190958>
 - Andersen, R. A. 2005. Algal Culturing Techniques.
 - Anderson M., Gorley R., and Clarke K. 2008. PERMANOVA+ for PRIMER: Guide to Software and Statistical Methods. PRIMER-E: Plymouth, U. 24pp
 - Arias, J.P.; Zapata, P.A.; Ramírez, M.; Rendón, L.; Ocampo, C. 2022 Present and Future of Seaweed Cultivation and Its Applications in Colombia. *J. Mar. Sci. Eng.*, 10, 243. <https://doi.org/10.3390/jmse10020243>

- Arias-Echeverri, J. P., Zapata-Ramírez, P. A., Ramírez-Carmona, M., Rendón-Castrillón, L., y Ocampo-López, C. 2022. Present and Future of Seaweed Cultivation and Its Applications in Colombia. *Journal of Marine Science and Engineering*, 10(2), Article 2. <https://doi.org/10.3390/jmse10020243>
- Ashkenazi, D.Y.; Figueroa, F.L.; Korbee, N.; García-Sánchez, M.; Vega, J.; Ben-Valid, S.; Paz, G.; Salomon, E.; Israel, Á.; Abelson, A. 2022. Enhancing Bioproducts in Seaweeds via Sustainable Aquaculture: Antioxidant and Sun-Protection Compounds. *Mar. Drugs*, 20, 767. <https://doi.org/10.3390/md2012076>
- Ask, E. I., y Azanza, R. V. 2002. Advances in cultivation technology of commercial eucaematoid species: A review with suggestions for future research. *Aquaculture*, 206(3-4), 257-277. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00724-4](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00724-4)
- Ángel, M.; Bejarano, P.; Berrio, P.; Galindo, L.; Giraldo, C.; Gómez, G; Laverde, O.; Laython, M.; Martínez, A.; Morales, N.; Parra, G.; Rangel, J.; Silva, A.; Tovar, E.; Valenzuela, E. y Zarate, L. 2000. Ecología Regional Marina de Santa Marta. UNAL, Bogotá, 180 p.
- Arulkumar, A., Satheeshkumar, K., Paramasivam, S., Rameshthangam, P., y Miranda, J. M. 2020. Chemical Biopreservative Effects of Red Seaweed on the Shelf Life of Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*). *Foods*, 9(5), 634. <https://doi.org/10.3390/foods9050634>
- AUNAP. 2014. Plan Nacional para el Desarrollo de la Acuicultura Sostenible en Colombia. Autoridad Nacional de Acuicultura y Pesca. <http://aunap.gov.co/wp-content/uploads/2016/04/Plan-Nacional-para-el-Desarrollo-de-la-Acuicultura-Sostenible-Colombia.pdf>
- Aziza, M., Givernaud, T., Chikhaoui-khay, M., y Bennasser, L. 2008. Seasonal variation of the growth, chemical composition and carrageenan extracted from *Hypnea musciformis* (Wulfen) Lamouroux harvested along the Atlantic coast of Morocco. *Sci. Res. Essays*. Vol 2 (10). pp. 509-514.
- Balamurugan, M., Sivakumar, K., Mariadoss, A. A., y Suresh, K. 2017. Modulating effect of *Hypnea musciformis* (red seaweed) on lipid peroxidation, antioxidants and biotransforming enzymes in 7,12-dimethylbenz (a) anthracene induced mammary

- carcinogenesis in experimental animals. *Pharmacognosy Research*, 9(1), 108. <https://doi.org/10.4103/0974-8490.187085>
- Barreto P.J., Pestana EMS, Affe HMJ, Rocha DSB, Caires TA, Nunes JMC, Schnadelbach AS. 2019. Reproductivemorphology and phenolog- ical aspects of one morphological variant of *Hypnea pseudomusciformis* (Gigartinales, Rhodophyta). *Acta Bot Brasil* 33:67–77 doi: 10.1590/0102-33062018abb0247
 - Barufi, J. B., Figueroa, F. L., y Plastino, E. M. 2015. Effects of light quality on reproduction, growth and pigment content of *Gracilaria birdiae* (Rhodophyta: Gracilariales). *Scientia Marina*, 79(1), Article 1. <https://doi.org/10.3989/scimar.04049.12A>
 - Bernal, K., Kose, O., Leclerc, L., Vergnon, J.-M., Pourchez, J., y Forest, V. 2024. Development of a protocol of isolation of nanoparticles from patients' broncho-alveolar lavages for their in vitro toxicity assessment. *Nanoscale Advances*, 6(2), 458-466. <https://doi.org/10.1039/D3NA00918A>
 - Bird, N. L., C. M. Chen y J. McLachlan. 1979. Effects of temperature, light and salinity on growth in culture of *Chondrus crispus*, *Furcellaria lumbricalis*, *Gracilaria tikvahiae* (Gigartinales. Rodophyta), and *Fucus serratus* (Fucales, Phaeophyta). *Bot. Mar.*, 22: 521-527.
 - Borit, M., y Olsen, P. 2016. Seafood traceability systems: gap analysis of inconsistencies in standards and norms. In *FAO Fisheries and Aquaculture Circular No. 1123, FIAM/C1123* (Vol. 1123).
 - Bourget, C. M. 2008. An Introduction to Light-emitting Diodes. *HortScience horts*, 43(7), 1944-1946. Retrieved May 31, 2024, from <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.43.7.1944>
 - Bouzon, Z. L. 2006. Histoquímica e ultra-estrutura da ontogênese dos tetrasporângios de *Hypnea musciformis* (Wulfen) J. V. Lamour. (Gigartinales, Rhodophyta). 1(Fritsch 1965), 229–238.
 - Bravin I. y Yoneshigue. 2002. Influência de fatores ambientais sobre o crescimento in vitro de *Hypnea musciformis* (Wulfen) Lamouroux (Rhodophyta). *Revista Brasileira de Botânica*, 25(4), 469–474. <https://doi.org/10.1590/s0100-84042002012000011>

- Briani, B., Sissini, M. N., Lucena, L. A., Batista, M. B., Costa, I. O., Nunes, J. M. C., Schmitz, C., Ramlov, F., Maraschin, M., Korbee, N., Rörig, L., Horta, P. A., Figueroa, F. L., y Barufi, J. B. 2018. The influence of environmental features in the content of mycosporine-like amino acids in red marine algae along the Brazilian coast. *Journal of Phycology*, 54(3), 380-390. <https://doi.org/10.1111/jpy.12640>
- Bula-Meyer, G. A. 1989a. Las macroalgas bénticas marinas como recurso potencial económico en Colombia. *Rev. Acad. Colomb. Cienc.*, 17 (65): 383-387.
- Buschmann, A. H., Camus, C., Infante, J., Neori, A., Israel, Á., Hernández-González, M. C., Pereda, S. V., Gomez-Pinchetti, J. L., Golberg, A., Tadmor-Shalev, N., y Critchley, A. T. 2017. Seaweed production: overview of the global state of exploitation, farming and emerging research activity. *European Journal of Phycology*, 52(4), 391–406. <https://doi.org/10.1080/09670262.2017.1365175>
- Cai, J., Lovatelli, A., Aguilar-Manjarrez, J., Cornish, L., Dabbadie, L., Desrochers, A., Diffey, S., Garrido Gamarro, E., Geehan, J., Hurtado, A., Lucente, D., Mair, G., Miao, W., Potin, P. P. C., Reantaso, M., Roubach, R., Tauati, M., y Yuan, X. 2021. Seaweeds and microalgae: an overview for unlocking their potential in global aquaculture development FAO. *Fisheries and Aquaculture Circular NFIA/C1229*. In *Fao* (Vol. 1229).
- Caires, T. A., Costa, I. O., de Jesus, P. B., de Matos, M. R. B., Pereira-Filho, G. H., y Nunes, J. M. de C. 2013. Evaluation of the stocks of *Hypnea musciformis* (Rhodophyta: Gigartinales) on two beaches in Bahia, Brazil. *Brazilian Journal of Oceanography*, 61(1), 65–71. <https://doi.org/10.1590/S1679-87592013000100007>
- Camacho, O., y Montaña-Fernández, J. 2012. Cultivo experimental en el mar del alga roja *Hypnea musciformis* en el area de Santa Marta, Caribe Colombiano. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*, 41(1), 29–46. <https://doi.org/10.25268/bimc.invemar.2012.41.1.71>
- Campos, V. L., Kawano, D. F., Silva, D. B., y Carvalho, I. 2009. Carrageenans: Biological properties, chemical modifications and structural analysis – A review. *Carbohydrate Polymers*, 77, 167–180.

- Carnicas, E., C.J. Jimenez and F.X. Niell, 1999. Effects of changes of irradiance on the pigment composition of *Gracilaria tenuistipitata* var. liui Zhang et Xia. J. Photochem. Photobiol. B: Biol., 50: 149-158.
- Carvalho, M. F. De. 2019. Cultivo da macroalga vermelha gelidium floridanum em diferentes concentrações de nitrato: efeitos cultivo da macroalga vermelha *Gelidium floridanum* em diferentes concentrações de nitrato: efeitos. Thesis.
- Castilla, J. C., Fariña, J. M., y Camaño, A. (Eds.). 2021. Programas de monitoreo del medio marino costero: Diseños experimentales, muestreos, métodos de análisis y estadística asociada. Ediciones Universidad Católica. Santiago, Chile. 320 pp.
- Castelar, B., Reis, R. P., Azeredo, F., Mattos, P., y Berardinelli, G. 2015. *Hypnea musciformis*: ¿alternative or complement to the production of *Kappaphycus alvarezii* introduced in tropical countries? *Aquaculture Research*, 47(11), 3538–3550. <https://doi.org/10.1111/are.12804>
- Chiovitti A, Kraft GT, Bacic A, Craik DJ, Munro SLA, Liao M-L. 1998. Carrageenans from Australian representatives of the family Cystocloniaceae (Gigartinales, Rhodophyta), with description of *Calliblepharis celatospora* sp. nov., and transfer of *Austroclonium* to the family Areschougiaceae. *J Phycol* 34:515–535
- Chopin, T., Robinson, S. M. C., Troell, M., Neori, A., Buschmann, A., y Fang, J. G. 2008. *Ecological Engineering: Multi-Trophic Integration for Sustainable Marine Aquaculture*. Elsevier, Amsterdam. <https://urn.kb.se/resolve?urn=urn:nbn:se:su:diva-17741>
- Chopin, T. y Wagey, B. 1999. Factorial Study of the Effects of Phosphorus and Nitrogen Enrichments on Nutrient and Carrageenan Content in *Chondrus crispus* (Rhodophyceae) and on Residual Nutrient Concentration in Seawater. 42(1), 23-31. <https://doi.org/10.1515/BOT.1999.004>
- Chopin, T.; Hanisak, M.D.; Koehn, F.E.; Mollion, J.; Moreau, S. Studies on carrageenans and effects of seawater phosphorus concentration on carrageenan content and growth of *Agardhiella subulata* (C. Agardh) Kraft and Wynne (Rhodophyceae, Solieriaceae). J. Appl. Phycol. 1990, 2, 3–16.

- Chow, F., de Oliveira, M. C., y Pedersén, M. 2004. In vitro assay and light regulation of nitrate reductase in red alga *Gracilaria chilensis*. *Journal of Plant Physiology*. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2004.01.002>
- Cockell, C. S., y Knowland, J. 1999. Ultraviolet radiation screening compounds. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 74(3), 311-345. <https://doi.org/10.1017/S0006323199005356>
- Cosenza., Navarro., Fissore., R. y S. 2013. Chemical and rheological characterization of the carrageenans from *Hypnea musciformis* (Wulfen) Lamoroux. 2015–2017.
- Cosenza, Vanina Andrea. 2015. Galactanos de *Hypnea musciformis*. Estructura, propiedades y modificaciones. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. http://hdl.handle.net/20.500.12110/tesis_n5814_Cosenza
- Cornish, M., Critchley, A. y Mouritsen, O. 2017. Consumption of seaweeds and the human brain. *Journal of Applied Phycology*. doi: 10.1007/s10811-016- 1049-3.
- Dawes, C. J., y Mathieson, A. C. 2008. The seaweeds of Florida. Gainesville, USA: University Press of Florida 591.
- Delgadillo, O., y Newmark, F. 2008. Cultivo piloto de macroalgas rojas (rhodophyta) en bahía portete, la guajira, Colombia. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*, 37(2), 7–26. <https://doi.org/10.25268/bimc.invemar.2008.37.2.188>
- De San, M., 2012. The Farming of Seaweeds. SmartFish Programme. Eastern-Southern Africa And Indian Ocean Region 10th European Development Fund Agreement No: RSO/FED/2009/021-330
- de la Coba, F., Aguilera, J., Korbee, N., de Gálvez, M. V., Herrera-Ceballos, E., Álvarez-Gómez, F., & Figueroa, F. L. 2019. UVA and UVB Photoprotective Capabilities of Topical Formulations Containing Mycosporine-like Amino Acids (MAAs) through Different Biological Effective Protection Factors (BEPFs). *Marine Drugs*, 17(1), Article 1. <https://doi.org/10.3390/md17010055>
- Díaz, J.M., L.M. Barrios, M.H. Cendales, J. Garzón-Ferreira, J. Geister, M. López-Victoria, G.H. Ospina, F. Parra-Velandia, J. Pinzón, B. Vargas-Angel, F.A. Zapata y S.

- Zea. 2000. Áreas coralinas de Colombia. INVEMAR, Serie Publicaciones Especiales núm. 5, Santa Marta. 176 p.
- Díaz MC. 2002. Ensayos de actividad biológica y ecología química de extractos orgánicos crudos de algunas macroalgas del Caribe colombiano [Tesis Profesional]. Fac. Biol. Marina: Univ. de Bogotá Jorge Tadeo Lozano
 - Diaz Pulido, Guillermo; Díaz Ruíz, Martha. 2003. Diversity of benthic marine algae of the Colombian Atlantic Biota Colombiana, vol. 4, núm. 2, diciembre, pp. 203- 246 Instituto de Investigación de Recursos Biológicos "Alexander von Humboldt" Bogotá, Colombia
 - Díaz-Pulido, G. y M. C. Díaz-Ruíz. 2004. Informe sobre la taxonomía, biología y ecología del alga cultivada en el Cabo de la Vela, Península de la Guajira. *INVEMAR-MHNM*. Inf. Técnico, 55 p.
 - Díaz Ruíz, M., y Medellín, J. 2011. *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty ex P.C. Silva. In Guía de las especies introducidas marinas y costeras de Colombia (Issue 1).
 - Duarte, C. M., Marbá, N., y Holmer, M. 2007. Rapid domestication of marine species. *Science*, 316(5823), 382–383. <https://doi.org/10.1126/science.1138042>
 - Ekstrom, L. G. 1985. Molecular-weight-distribution and the behaviour of kappa-carrageenan on hydrolysis. *Carbohydrate Research*, 135, 283±289. En [Uno, Y., Omoto, T., Goto, Y., Asai, I., Nakamura, M., y Maitani, T. 2001. Molecular weight distribution of carrageenans studied by a combined gel permeation/inductively coupled plasma (GPC/ICP) method. *Food Additives and Contaminants*, 18(9), 763-772. <https://doi.org/10.1080/02652030117235>]
 - Elhady, S.S., Habib, E.S., Abdelhameed, R.F.A., Goda, M.S., Hazem, R.M., Mehanna, E.T., Helal, M.A., Hosny, K.M., Diri, R.M., Hassanean, H.A., Ibrahim, A.K., Eltamany, E.E., Abdelmohsen, U.R., y Ahmed, S.A., 2022. Anticancer effects of new ceramides isolated from the Red Sea red algae *Hypnea musciformis* in a model of Ehrlich Ascites carcinoma: LC-HRMS analysis profile and molecular modeling. *Mar. Drugs* 20, 63. <https://doi.org/10.3390/md20010063>.

- Espi, A., Robledo, D., y Hayashi, L. 2019. Development of seaweed cultivation in Latin America: current trends and future prospects, *Phycologia*, 58:5, 462-471, DOI: 10.1080/00318884.2019.1640996
- FAO. 2018. The global status of seaweed production, trade and utilization. FAO *Globefish Research Programme*, 124, 120.
- FAO. 2022. The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Towards Blue Transformation. Rome, FAO. <https://doi.org/10.4060/cc0461en>
- FAO. 2024. El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2024. FAO; <https://openknowledge.fao.org/handle/20.500.14283/cd0683es>
- Ferreira, L. B., Barufi, J. B., y Plastino, E. M. 2006. Growth of red and green strains of the tropical agarophyte *Gracilaria cornea* J. Agardh (Gracilariales, Rhodophyta) in laboratory. *Revista Brasileira de Botânica*, 29(1). <https://doi.org/10.1590/S0100-84042006000100017>
- Figueroa Felix L, Escassi Luis, Perez-Rodriguez Eduardo, Korbee Nathalie, Delia Giles Alma, Johnsen Geir. 2003. Effects of short-term irradiation on photoinhibition and accumulation of mycosporine like amino acids in sun and shade species of the red algal genus *Porphyra*. *J Photochem Photobiol, B: Biol* ;69:21–30.
- Flórez-Fernández, N., Falqué, E., Domínguez, H., y Torres, M. D. 2022. Green Extraction of Carrageenans from *Mastocarpus stellatus*. *Polymers*, 14(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/polym14030554>
- Fong, P., Boyer, K. E., Desmond, J. S., y Zedler, J. B. 1996. Salinity stress, nitrogen competition, and facilitation: ¿What controls seasonal succession of two opportunistic green macroalgae? *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 206(1), 203-221. [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(96\)02630-5](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(96)02630-5)
- Ganesan, M., Thirupathi, S., y Jha, B. (2006). Mariculture of *Hypnea musciformis* (Wulfen) Lamouroux in South east coast of India. *Aquaculture*, 256(1-4), 201-211. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.01.039>

- García, A., Hernández, J. P., Fernández, Y., y Moreira, A. R. 2012. Evaluación del sistema experimental para el cultivo intensivo de macroalgas marinas. *Centro Azúcar*, 39(3), 21–27.
- Garzón, J. y Cano M., 1991. Tipos, distribución, extensión y estado de conservación de los ecosistemas marinos costeros del Parque Nacional Natural Tayrona. 7º Concurso Nacional de Ecología “Enrique Pérez Arbelaez”. Fondo para la protección del medio ambiente-FEN, Santa Marta. 82 p.
- Gaspar, R., Fonseca, R., y Pereira, L. 2020. Illustrated Guide to the Macroalgae of Buarcos Bay, Figueira da Foz, Portugal. *Mare Uc, Dcv, Fct, January*. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.31009.56165>
- Geraldés, V., Pinto, E. 2021. Mycosporine-Like Amino Acids (MAAs): Biology, Chemistry and Identification Features. *Pharmaceuticals*, 14(1), 63. <https://doi.org/10.3390/ph14010063>
- Geraldino PJL, Yang EC, Kim MS, Boo SM. 2009. Systematics of *Hypnea asiatica* sp. nov. (Hypneaceae, Rhodophyta) based on morphology and nrDNA SSU, plastid rbcL, and mitochondrial cox1. *Taxon* 58:606–616
- Ghose, R., Asaduzzaman, A.K.M., Hasan, I., y Kabir, S.R., 2022. *Hypnea musciformis* mediated Ag/AgCl-NPs inhibit pathogenic bacteria, HCT-116 and MCF-7 cells' growth in vitro and Ehrlich ascites carcinoma cells in vivo in mice. *IET Nanobiotechnol.* 16, 49–60. <https://doi.org/10.1049/nbt2.12075>.
- Gong, J., Liu, Z., y Zou, D. 2020. Growth and photosynthetic characteristics of *Gracilaria lemaneiformis* (Rhodophyta) and *Ulva lactuca* (Chlorophyta) cultured under fluorescent light and different LED light. *Journal of Applied Phycology*, 32(5), 3265-3272. <https://doi.org/10.1007/s10811-020-02151-y>
- González-Torres, J. (2024). *Hypnea musciformis* del Caribe colombiano: perfil metabólico en ambiente natural y en cultivo, y su potencial cosmético. [Tesis de maestría, Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá].
- González-Torres, J., Urrea-Victoria, V., Vargas, D., Benavides, M., Rozo, G., Puyana, M., Costa, G. M., Ramos, F., y Castellanos, L. 2025. Maas Profiling in Wild *Hypnea*

Samples (Gigartinales, Rhodophyta) from the Colombian Caribbean and in Samples from an Experimental Semi-Closed Cultivation of *H. Musciformis* (SSRN Scholarly Paper No. 5201559). Social Science Research Network. <https://doi.org/10.2139/ssrn.5201559>

- Gómez, I., F.L. Figueroa, P. Huovinen, N. Ulloa and V. Morales, 2005. Photosynthesis of the red alga *Gracilaria chilensis* under natural solar radiation in an estuary in southern Chile. *Aquaculture*, 244: 369-382.
- Gómez Pinchetti, J.L. y Martel Quintana, A. 2016. Algae production and their potential contribution to a nutritional sustainability. *Journal of Environment and Health Science*, 2:1–3
- Graham, L. E., y Wilcox, L. W. 2000. Algae. Prentice Hall, *Upper Saddle River*, New Jersey, 700 pp.
- Guiry MD, Guiry GM. 2014. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>; searched on 20 junio 2023
- Hayashi, L., Bulboa, C., Kradolfer, P., Soriano, G., y Robledo, D. 2014. Cultivation of red seaweeds: a Latin American perspective. *Journal of Applied Phycology*, 26(2), 719–727. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0143-z>
- Holdt, S.L. y Kraan, S. 2011. Bioactive compounds in seaweed: functional food applications and legislation. *Journal of Applied Phycology*, 23: 543–597.
- Huovinen, P., Gómez, I., Figueroa, F. L., Ulloa, N., Morales, V., y Lovengreen, C. 2004. Ultraviolet-absorbing mycosporine-like amino acids in red macroalgae from Chile. 47(1), 21-29. <https://doi.org/10.1515/BOT.2004.003>
- Huang S, Li K, Pan Y, Yu Y, Wernberg T, Bettignies Td, Wu J, Zhou C, Huang Z, Xiao X. 2021. Artificial light source selection in seaweed production: growth of seaweed and biosynthesis of photosynthetic pigments and soluble protein. PeerJ 9:e11351 <https://doi.org/10.7717/peerj.11351>
- Hurtado, A.Q. 2013. Social and economic dimensions of carrageenan seaweed farming in the Philippines. In D. Valderrama, J. Cai, N. Hishamunda y N. Ridler, eds. Social and

economic dimensions of carrageenan seaweed farming, pp. 91–113. *Fisheries and Aquaculture Technical Paper No. 580*. Rome, FAO. 204 pp

- Hurtado A. Q., Critchley A. T., Trespoie y A., Bleicher-Lhonneur G. 2009. Growth and carrageenan quality of *Kappaphycus striatum* var. sacol grown at different stocking densities, duration of culture and depth. In Nineteenth International Seaweed Symposium, Developments in Applied Phycology. Vol. 2. eds Borowitzka M. A., Critchley A. T., Kraan S., Peters A., Sjøtun K., and M. (Notoya Dordrecht): Springer, 101–105.
- Iglauer, S., Wu, Y., Shuler, P., Tang, Y., y Goddard, W. A., III. 2011. Dilute iota- and kappa-carrageenan solutions with high viscosities in high salinity brines. *Journal of Petroleum Science and Engineering*, 75, 304–311
- Juneja, A., R.M. Ceballos and G.S. Murthy, 2013. Effects of environmental factors and nutrient availability on the biochemical composition of algae for biofuels production: A review. *Energies*, 6: 4607-4638.
- Katam K., Ananthula R., Anumala S., Sriariyanun M., and Bhattacharyya D. 2022. The impact of light intensity and wavelength on the performance of algal-bacterial culture treating domestic wastewater. *Web of Conferences* 355. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202235502003>
- Kim, J. K., Yarish, C., Hwang, E. K., Park, M., y Kim, Y. 2017. Seaweed aquaculture: Cultivation technologies, challenges and its ecosystem services. *Algae*, 32(1), 1–13. <https://doi.org/10.4490/algae.2017.32.3.3>
- Kim, J. K., Mao, Y., Kraemer, G., y Yarish, C. 2015. Growth and pigment content of *Gracilaria tikvahiae* McLachlan under fluorescent and LED lighting. *Aquaculture*, 436, 52-57. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.10.037>
- Kim, J.-H., Choi, S.-J., y Lee, S. 2019. Effects of temperature and light on photosynthesis and growth of red alga *Pyropia dentata* (Bangiales, Rhodophyta) in a conchocelis phase. *Aquaculture*, 505, 167-172. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.02.058>
- Klok Anne J, Martens Dirk E, Wijffels Rene H, Packo P Lamers. 2013. Simultaneous growth and neutral lipid accumulation in microalgae. *Bioresour Technol*; 134:233–43.

- Korbee, N., Figueroa, F. L., y Aguilera, J. 2006. Acumulación de aminoácidos tipo micosporina (MAAs): Biosíntesis, fotocontrol y funciones ecofisiológicas. *Revista chilena de historia natural*, 79(1). <https://doi.org/10.4067/S0716-078X2006000100010>
- Korbee Nathalie, Figueroa Felix L, y Aguilera Jose. 2005. Effect of light quality on the accumulation of photosynthetic pigments, proteins and mycosporine-like amino acids in the red alga *Porphyra leucosticta* (Bangiales, Rhodophyta). *J Photochem Photobiol B*; 80:71–8.
- Kowalczyk, N., Rappaport, F., Boyen, C., Wollman, F.-A., Collén, J., y Joliot, P. 2013. Photosynthesis in *Chondrus crispus*: The contribution of energy spill-over in the regulation of excitonic flux. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1827(7), 834-842. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2013.04.004>
- Kravchenko, A.O., Byankina Barabanova, A.O., Glazunov, V.P., Yakovleva, I.M., y Yermak, I.M. 2018. Seasonal variations in a polysaccharide composition of Far Eastern red seaweed *Ahnfeltiopsis flabelliformis* (Phyllophoraceae). *J. Appl. Phycol.* 30, 535–545
- Krichen, E., Rapaport, A., Le Floc'h, E., y Fouilland, E. 2021. A new kinetics model to predict the growth of micro-algae subjected to fluctuating availability of light. *Algal Research*, 58, 102362. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102362>
- Lahaye, M. 2001. Chemistry and physico-chemistry of phycocolloids. *Cahiers de Biologie Marine* 42(1-2): 137–157
- Larkum, A. W. D., y Wood, W. F. 1993. The effect of UV-B radiation on photosynthesis and respiration of phytoplankton, benthic macroalgae and seagrasses. *Photosynthesis Research*, 36(1), 17-23. <https://doi.org/10.1007/BF00018071>
- Lee, R. E. 2008. *Phycology* Cambridge, New York, Melbourne, Madrid, Cape Town, Singapore, São Paulo <http://www.cambridge.org/9780521864084>.
- Luhan, M. R. J., Avañcena, S. S., y Mateo, J. P. 2015. Effect of short-term immersion of *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty in high nitrogen on the growth, nitrogen assimilation, carrageenan quality, and occurrence of “ice-ice” disease. *Journal of Applied Phycology*, 27(2), 917-922. <https://doi.org/10.1007/s10811-014-0365-8>

- Macler, B. A. 1988. Salinity Effects on Photosynthesis, Carbon Allocation, and Nitrogen Assimilation in the Red Alga, *Gelidium coulteri*. *Plant Physiology*, 88(3), 690-694. <https://doi.org/10.1104/pp.88.3.690>
- Mohiuddin, Md., Banik, U., Iqbal, M. Z., Chamily, F. A., Rahman, Md. M., Nahiduzzaman, Md., Wahab, Md. A., Rahman, Md. A., y Asaduzzaman, Md. 2023. Influencia de los sistemas de cultivo y los factores ambientales asociados en el rendimiento del crecimiento del alga *Hypnea musciformis* en la costa sureste de la Bahía de Bengala, Bangladesh. *Aquaculture Reports*, 32, 101718. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2023.101718>
- Mancera Pineda, J. E., Pinto, G., y Vilarity, S. 2016. Patrones de distribución estacional de masas de agua en la bahía de santa marta, caribe colombiano: importancia relativa del upwelling y outwelling. *Bulletin of Marine and Coastal Research*, 42(2). <https://doi.org/10.25268/bimc.invemar.2013.42.2.55>
- Manuhara, G. J., Praseptiangga, D., y Riyanto, R. A. 2016. Extraction and Characterization of Refined K-carrageenan of Red Algae *Kappaphycus Alvarezii* (Doty ex P.C. Silva, 1996)] Originated from Karimun Jawa Islands. *Aquatic Procedia*, 7, 106-111. <https://doi.org/10.1016/j.aqpro.2016.07.014>
- Martín-del-Campo, A., Fermín-Jiménez, J. A., Fernández-Escamilla, V. V., Escalante-García, Z. Y., Macías-Rodríguez, M. E., y Estrada-Girón, Y. 2021. Improved extraction of carrageenan from red seaweed (*Chondracantus canaliculatus*) using ultrasound-assisted methods and evaluation of the yield, physicochemical properties and functional groups. *Food Science and Biotechnology*, 30(7), 901-910. <https://doi.org/10.1007/s10068-021-00935-7>
- Martins, A. P., Necchi Junior, O., Colepicolo, P., y Yokoya, N. S. 2011. Effects of nitrate and phosphate availabilities on growth, photosynthesis and pigment and protein contents in colour strains of *Hypnea musciformis* (Wulfen in Jacqu.) J.V. Lamour. (Gigartinales, Rhodophyta). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 21(2), 340-348. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2011005000078>
- Mason, R. P. 2013. Trace Metals in Aquatic Systems. Chichester, UK: John Wiley y Sons

- Mendes, G., da, S., Bravin, I.C., Yoneshigue-Valentin, Y., Yokoya, N.S., y Romanos, M.T.V., 2012. Anti-HSV activity of *Hypnea musciformis* cultured with different phytohormones. *Braz. J. Pharm.* 22, 789–794. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2012005000054>.
- Mendes, Madalena, João Cotas, Diana Pacheco, Kay Ihle, Alina Hillinger, Miguel Cascais, João Carlos Marques, Leonel Pereira, and Ana M. M. Gonçalves. 2024. "Red Seaweed (Rhodophyta) Phycocolloids: A Road from the Species to the Industry Application" *Marine Drugs* 22, no. 10: 432. <https://doi.org/10.3390/md22100432>
- McGlathery, K. J., M. F. Pedersen y J. Borum, 1996. Changes in intracellular nitrogen pools and feedback controls on nitrogen uptake in *Chaetomorpha linum* (Chlorophyta). *J. Phycol.* 32: 393-401
- McHugh, D. J. 2003. Seaweeds uses as Human Foods. In *A Guide to the Seaweed Industry*
- Milinovic, J., Mata, P., Diniz, M. y Noronha, J.P. 2021. Umami taste in edible seaweeds: The current comprehension and perception. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 23, 100301.
- Molina, J.N.; de la Rosa, C.R.; Olivares, L.A.; Parra, X.J.; Serrano, A. 2014. Evaluación de las condiciones de extracción de agar - agar a partir de *Gracilaria verrucosa* en el balneario de Santa Verónica en el departamento del atlántico. *Vitae* 2011, 18 (Supl. 2), S219.
- Monirul, G. M., Sarker, M. N. I., Gatto, M., Bhandari, H., y Naziri, D. 2022. Impacts of COVID-19 on the Fisheries and Aquaculture Sector in Developing Countries and Ways Forward. *Sustainability (Switzerland)*, 14(3), 1–13. <https://doi.org/10.3390/su14031071>
- Mohiuddin M, Banik U, Iqbal MZ, Chamily FA, Rahman MM, Nahiduzzaman M,. 2023. Influence of cultivation systems and associated environmental factors on the growth performance of *Hypnea musciformis* seaweed at the south-east coast of the Bay of Bengal, Bangladesh. *Aquac Reports* [Internet]. 32:101718. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352513423002570>

- Moretti, A., Fernandez-Criado, M. P., Cittolin, G., y Guidastrì, R. 1999. Manual on hatchery production of seabass and gilthead seabream. *FAO*. Volume 1. <https://openknowledge.fao.org/handle/20.500.14283/x3980e>
- Mosquera-murillo, Z., y Peña-salamanca, E. J. 2016. Effect of salinity on growth of the green alga *Caulerpa sertularioides* (Bryopsidales, Chlorophyta) under laboratory conditions Efecto de la salinidad sobre el crecimiento del alga verde *Caulerpa sertularioides* (Bryopsidales , Chlorophyta) en condicio. 26(2), 277–282.
- Naldi, M. and Wheeler, P.A. 2002, 15n Measurements of ammonium and nitrate uptake by *Ulva fenestrata* (chlorophyta) and *Gracilaria pacifica* (Rhodophyta): comparison of net nutrient disappearance, release of ammonium and nitrate, and 15n accumulation in algal tissue †. *Journal of Phycology*, 38: 135-144. <https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.2002.01070.x>
- Navarrete, D. 2022. Fotografía del sistema de cultivo semicerrado [Fotografía]. Archivo personal
- Navarro-Angulo, L., Robledo, D. 1999. Effects of nitrogen source, N:P ratio and N-pulse concentration and frequency on the growth of *Gracilaria cornea* (Gracilariales, Rhodophyta) in culture. In: Kain, J.M., Brown, M.T., Lahaye, M. (eds) Sixteenth International Seaweed Symposium. *Developments in Hydrobiology*, vol 137. *Springer, Dordrecht*. https://doi.org/10.1007/978-94-011-4449-0_37
- Nauer F, Cassano V, Oliveira MC. 2014. *Hypnea species* (Gigartinales, Rhodophyta) from the southeastern coast of Brazil based on molecular studies complemented with morphological analyses, including descriptions of *Hypnea edeniana* sp.nov.and *H. flava* sp. nov. *Eur J Phycol* 49:550–575
- Nauer, F., Cassano, V., y Oliveira, M. C. 2015. Description of *Hypnea pseudomusciformis* sp. nov., a new species based on molecular and morphological analyses, in the context of the *H. musciformis* complex (Gigartinales, Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology*, 27(6), 2405–2417. <https://doi.org/10.1007/s10811-014-0488-y>
- Nauer, F., Ayres-Ostrock, L., Amorim, A. M., Santos, J. P., Chow, F., Plastino, E. M., y Oliveira, M. C. 2019. Life history, growth, and pigment content of two morphological

- variants of *Hypnea pseudomusciformis* (Gigartinales, Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology*, 31(2), 1271–1284. <https://doi.org/10.1007/s10811-018-1630-z>
- Necchi, O. 2005. Light-related photosynthetic characteristics of freshwater rhodophytes. *Aquatic Botany*, 82(3), 193–209. doi: 10.1016/j.aquabot.2005.02.010
 - Neori, A., Chopin, T., Troell, M., Buschmann, A. H., Kraemer, G. P., Halling, C., Shpigel, M., y Yarish, C. 2004. Integrated aquaculture: Rationale, evolution and state of the art emphasizing seaweed biofiltration in modern mariculture. *Aquaculture*, 231(1), 361-391. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2003.11.015>
 - Nivedita, S., y Raghunathan, C. 2016. Mariculture Potential of Seaweeds: With Special Focus on Gracilaria Cultivation. En J. C. Dagar, P. C. Sharma, D. K. Sharma, y A. K. Singh (Eds.), *Innovative Saline Agriculture* (pp. 419-440). Springer India. https://doi.org/10.1007/978-81-322-2770-0_19
 - Nunes JMC. 2005. Rodofíceas marinhas bentônicas do estado da Bahia, Brasil. PhD Thesis. University of São Paulo, São Paulo, Brazil. 410 p.
 - Nobre, A. M., Robertson-Andersson, D., Neori, A., y Sankar, K. (2010). Ecological-economic assessment of aquaculture options: Comparison between abalone monoculture and integrated multi-trophic aquaculture of abalone and seaweeds. *Aquaculture*, 306(1), 116-126. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.06.002>
 - OBIS (2022) Ocean Biodiversity Information System. Intergovernmental Oceanographic
 - Olatunji, O. 2020. Aquatic Biopolymers. Springer Series on Polymer and Composite Materials. doi:10.1007/978-3-030-34709-3
 - Orfanidis, S. 1992. Light requirements for growth of six shade-acclimated Mediterranean macroalgae. *Marine Biology*, 112(3), 511-515. <https://doi.org/10.1007/BF00356298>
 - Ortiz, S. 2014. Sistemas de Recirculación Intensivos y con bajo Recambio: Factores Limitantes y Opciones de Solución. Profesor Asistente Departamento de Recursos Hidrobiológicos, Facultad de Ciencias Pecuarias, Universidad de Nariño

- Palacios D., 2009. Identificación y uso de *Gracilaria blodgettii* (harvey) para ensayos de esporulación en condiciones de laboratorio. Universidad Jorge Tadeo Lozano facultad de ciencias naturales programa de Biología Marina. Tesis de Grado.
- Park, B. S., y Li, Z. 2022. Taxonomy and Ecology of Marine Algae. *Journal of Marine Science and Engineering*, 10(1), 3–6. <https://doi.org/10.3390/jmse10010105>
- Pereira, L. 2016. Edible Seaweeds of the World. In *Edible Seaweeds of the World*. <https://doi.org/10.1201/b19970> (Issue 441). <http://afrilib.odinafrica.org/handle/0/15549%5Cnhttp://www.fao.org/docrep/006/y4765e/y4765e00.htm>
- Pereira, S. A., Kimpara, J. M., y Valenti, W. C. 2020. A simple substrate to produce the tropical epiphytic algae *Hypnea pseudomusciformis*. *Aquacultural Engineering*, 89(July 2019), 102066. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2020.102066>
- Pereira, L. 2021. Macroalgae. *Encyclopedia*, 1(1), 177–188. <https://doi.org/10.3390/encyclopedia1010017>
- Peña, E.J.; Palacios, M.L. 2011. Introducción del alga roja *Kappaphycus alvarezii* (Doty) en Colombia y experiencias de cultivo en la península de la guajira, caribe colombiano. In Guía de las Especies Introducidas Marinas y Costeras de Colombia; Gracia, A., Medellín, J., Gil, D.L., Puentes, V., Eds.; *INVEMAR*. Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible: Santa Marta, Colombia; pp. 93–103.
- Perpetuo, R. Leal, M. C. R., Yoneshigue-Valentin, Y., y Belluco, F. 2003. Efeito de fatores bióticos no crescimento de *Hypnea musciformis* (Rhodophyta - Gigartinales). *Acta Botanica Brasilica*, 17(2), 279–286. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062003000200010>
- Provasoli, L., and Carlucci, A. F. 1974. Vitamins and growth regulators. In: Stewart, W. D. P., ed. *Algal Physiology and Biochemistry*. *Blackwell Scientific*, London, pp. 741– 87.
- Provin, T.L., and Pitt, J.L. 2008. Phosphorus--Too much and plants may suffer. Produce by Agricultural Communications, The Texas A&M University System. 2pp. <https://hdl.handle.net/1969.1/86793>

- Quezada MM, Angeles G, Olguin EJ. 2011. Effect of irradiance on the cell density, size and lipid accumulation of *Neochloris oleoabundans*. *Rev Latinoam Biotecnol* AMB Algal;2(2):81–92
- Rangel Miguel, T., Schmidt, E., Bouzon, Z., P. Nascimento, F., Da Cunha, M., Pireda, S., Nascimento, K., Nagano, C., Saker-Sampaio, S., Cavada, B., Miguel, E., y Sampaio, A. 2014. Morphology, ultrastructure and immunocytochemistry of *Hypnea cervicornis* and *Hypnea musciformis* (Hypneaceae, Rhodophyta) from the coastal waters of Ceará, Brazil. *Journal of Microscopy and Ultrastructure*, 2(2), 104. <https://doi.org/10.1016/j.jmau.2014.03.004>
- Raven, J. A., Evans, M. C. W., and Korb, R. E. 1999. The role of trace metals in photosynthetic electron transport in O₂-evolving organisms. *Photosynth. Res.* 60:111–49
- Reis, R.P., Yoneshigue-Valentin, Y., y Pereira Dos Santos, C., 2008. Spatial and temporal variation of *Hypnea musciformis* carrageenan (Rhodophyta - Gigartinales) from natural beds in Rio de Janeiro State, Brazil. *J. Appl. Phycol.* 20, 1–8. <https://doi.org/10.1007/s10811-007-9173-8>.
- Ribeiro ALNL, Chiozzini VG, Braga ES, Yokoya NS. 2017. Physiological responses and biofilter potential of *Hypnea aspera* (Rhodophyta, Gigartinales) cultivated in different availabilities of nitrate, ammonium, and phosphate. *J Appl Phycol* 29:683–694
- Rincón-Díaz, M.N.; Gavio, B. 2020. Diversidad de Macroalgas Marinas del Caribe Colombiano, v2.8; Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras—Invemar: Santa Marta, Colombia.
- Rincones, R. E. y Moreno, D. 2010. Proyecto desarrollo experimental de la maricultura de algas como alternativa productiva a las comunidades costeras entre los corregimientos de Carrizal y Cabo de La Vela, departamento de La Guajira (Informe Final. Convenio Fundación Terrazul-SENA). Manuscrito no publicado.
- Rincones-León, R. E., y Moreno-Tirado, D. A. 2011. Aspectos técnicos y económicos para el establecimiento comercial del maricultivo de algas en Colombia: Experiencias en la Península de La Guajira. *Ambiente Y Desarrollo*, 15(28), 123–144.

- Rozo, G. 2006. Extracción y caracterización de kappa-carragenina. *Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas*, Pontificia Univ. Javeriana, 145 p.
- Rozo, G., Rozo, C., Puyana, M., Ramos, F. A., Almonacid, C., y Castro, H. 2019. Two compounds of the Colombian algae *Hypnea musciformis* prevent oxidative damage in human low density lipoproteins LDLs. *Journal of Functional Foods*, 60(May), 103399. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.06.001>
- Rodríguez, A. G., Touset, J. P. H., Avilés, F., y González, A. M. 2012. Evaluación de sistema experimental para el cultivo intensivo de macroalgas marinas.
- Roni, M., Murugan, K., Panneerselvam, C., Subramaniam, J., Nicoletti, M., Madhiyazhagan, P., Dinesh, D., Suresh, U., Khater, H. F., Wei, H., Canale, A., Alarfaj, A. A., Munusamy, M. A., Higuchi, A., y Benelli, G. 2015. Characterization and biotoxicity of *Hypnea musciformis*-synthesized silver nanoparticles as potential eco-friendly control tool against *Aedes aegypti* and *Plutella xylostella*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 121, 31-38. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.07.005>
- Ryder, E., Nelson, S. G., McKeon, C., Glenn, E. P., Fitzsimmons, K., y Napoleon, S. 2004. Effect of water motion on the cultivation of the economic seaweed *Gracilaria parvispora* (Rhodophyta) on Molokai, Hawaii. *Aquaculture*, 238(1), 207-219. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.05.019>
- Saavedra S, Henríquez L, Leal P, Galleguillos F, Cook S, y Cárcamo F. 2019. Cultivo de Macroalgas: Diversificación de la Acuicultura de Pequeña Escala en Chile. Convenio de Desempeño, Subsecretaría de Economía y Empresas de Menor Tamaño. *Instituto de Fomento Pesquero*. 106 pp.
- Saavedra S, Henríquez L, Leal P, Galleguillos F, Cook S, y Cárcamo F. 2019 - Cultivo de Macroalgas: Diversificación de la Acuicultura de Pequeña Escala en Chile. Convenio de Desempeño, Subsecretaría de Economía y Empresas de Menor Tamaño. Instituto de Fomento Pesquero. 106 pp.
- Saunders GW, Chiovitti A, Kraft GT. 2004. Small-subunit rDNA sequences from representatives of selected families of the Gigartinales and Rhodymeniales (Rhodophyta). 3. Delineating the Gigartinales sensu stricto. *Can J Bot* 82:43–74

- Sarri, J.H., Abdulmutalib, Y.A., Mohammad Tilka, M.E., Terzi, E., and Tahiluddin, A.B. 2022. Effects of inorganic nutrient enrichment on the carragee nan yield, growth, and ice-ice disease occurrence of red alga *Kappaphycus striatus*. *Aquatic Research*, 5(2), 99-109. <https://doi.org/10.3153/AR22009>
- Schmidt, É. C., de L. Felix, M. R., Polo, L. K., Kreuzsch, M. G., Pereira, D. T., Costa, G. B., Simioni, C., de P. Martins, R., Latini, A., Chow, F., Ramlov, F., Pereira, A., Maraschin, M., Ouriques, L. C., Steiner, N., y Bouzon, Z. L. 2015. Influence of cadmium and salinity in the red alga *Pterocladia capillacea*: Cell morphology, photosynthetic performance and antioxidant systems. *Brazilian Journal of Botany*, 38(4), 737-749. <https://doi.org/10.1007/s40415-015-0183-5>
- Schmidt, É. C., Scariot, L. A., Rover, T., y Bouzon, Z. L. 2009. Changes in ultrastructure and histochemistry of two red macroalgae strains of *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Gigartinales), as a consequence of ultraviolet B radiation exposure. *Micron*, 40(8), 860–869. <https://doi.org/10.1016/j.micron.2009.06.003>
- Schnetter R. 2016. Beitrag zur kenntnis der algenflora an der kolumbianischen kiiste der karibischen see. *Bol. Investig. Mar. Costeras* [Internet]. [citado 19 de marzo de 2024];3. Disponible en: <http://boletin.invemmar.org.co:8085/ojs/index.php/boletin/article/view/588>
- Schulze, P. S. C., Pereira, H. G. C., Santos, T. F. C., Schueler, L., Guerra, R., Barreira, L. A., Perales, J. A., y Varela, J. C. S. 2016. Effect of light quality supplied by light emitting diodes (LEDs) on growth and biochemical profiles of *Nannochloropsis oculata* and *Tetraselmis chuii*. *Algal Research*, 16, 387-398. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.03.034>
- Selvin, J., Lipton, A.P., 2004. Biopotentials of *Ulva fasciata* and *Hypnea musciformis* collected from the peninsular coast of India. *J. Mar. Sci. Technol.* 12, 1–6. <https://doi.org/10.51400/2709-6998.2214>.
- Singh, S. P., y Singh, P. 2015. Effect of temperature and light on the growth of algae species: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 50, 431–444. doi: 10.1016/j.rser.2015.05.024

- Singh J. 2015. International conference on harmonization of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. *J Pharmacol Pharmacother.*;6(3):185-187. doi:10.4103/0976-500X.162004
- Shen, S. C., Huang, H. J., Chao, C. C., y Huang, M. C. 2013. Design and analysis of a high-intensity LED lighting module for underwater illumination. *Applied Ocean Research*, 39, 89-96. <https://doi.org/10.1016/j.apor.2012.10.006>
- Sebök, S., Brockhagen, B., Storck, J. L., Post, I. B., Bache, T., Korchev, R., Böttjer, R., Grothe, T., y Ehrmann, A. 2022. Growth of marine macroalgae *Ectocarpus* sp. On various textile substrates. *Environmental Technology*, 43(9), 1340-1351. <https://doi.org/10.1080/09593330.2020.1829086>
- Sun Y, Zhang N, Zhou J, Dong S, Zhang X, Guo L. 2020. Distribution, Contents, and Types of Mycosporine-Like Amino Acids (MAAs) in Marine Macroalgae and a Database for MAAs Based on These Characteristics. *Marine Drugs*. Vol. 18.
- Syahrul, S., Nirmala, K., y Lideman. 2023. (Growth and quality performances of seaweed (*Kappaphycus alvarezii*) with different combinations of temperature and light parameters. *IOP Publishing*, 1221(012028). <https://doi.org/doi:10.1088/1755-1315/1221/1/012028>
- Terence J, Niedz Randall P, Gary J Kirkpatrick. 2008. Temperature and irradiance impacts on the growth, pigmentation and photosystem II quantum yields of *Haematococcus pluvialis* (Chlorophyceae). *J Appl Phycol*; 20:411–22
- Tee, M. Z., Yong, Y. S., Rodrigues, K. F., y Yong, W. T. L. 2015. Análisis de la tasa de crecimiento e identificación de proteínas de *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Gigartinales) bajo cultivo de estrés inducido por pH. *Aquaculture Reports*, 2, 112-116. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2015.09.001>
- Titlyanov, E. A., Titlyanova, T. V., Kadel, P., y Lüning, K. 2006. Obtaining plantlets from apical meristem of the red alga *Gelidium* sp. *Journal of Applied Phycology*, 18(2), 167-174. <https://doi.org/10.1007/s10811-006-9091-1>
- Tinellis, C., ed. 2014. Coastal chef: culinary art of seaweed and algae in the 21st century. Ulladulla, Australia, *Harbour Publishing House*. 258 pp.

- Turpin, D. H. 1991. Effects of inorganic n availability on algal photosynthesis and carbon metabolism. *Journal of Phycology*, 27(1), 14–20. doi:10.1111/j.0022-3646.1991.00014.x
- Urrea-Victoria V, Gerales V, Pinto E, Castellanos L. 2023. Photosynthetic pigments and photoprotective metabolites of Colombian pacific marine macroalgae in response to contrasting ultraviolet-index periods. *J Exp Mar Bio Ecol* [Internet]. 564:151908. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022098123000400>
- Urrea-Victoria V, Costa GM, Gavio B, Ramos Rodríguez FA, Castellanos L. 2025. Mycosporine-like-Amino Acids profile in Red Algae from High UV-Index geographical areas (San Andrés Island and La Guajira) of the Colombian Caribbean Coast. *Algal Research*. Published online 2025.
- Vairappan, C. S. 2006. Seasonal Occurrences of Epiphytic Algae on the Commercially Cultivated Red Alga *Kappaphycus Alvarezii* (Solieriaceae, Gigartinales, Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology*, 18(3-5), 611-617. <https://doi.org/10.1007/s10811-006-9062-6>
- Valderrama, D., Cai, J., Hishamunda, N., y Ridler, N. B., 2013. Social and economic dimensions of carrageenan seaweed farming. *Food & Agriculture Organization of the United Nations*.
- Vargas, D. 2023. Fotografía del sistema de cultivo semicerrado [Fotografía]. Archivo personal
- Vargas, D. 2024. SAS.Planet y Surfer 13. SAS Planet [Software]. <https://sasgis.com/> y Surfer 13 [Software]. Golden Software, LLC. <https://www.goldensoftware.com/>
- Vazquez-Delfín, ´ E., Boo, G.H., Rodríguez, D., Boo, S.M., y Robledo, D., 2016. *Hypnea musciformis* (Cystocloniaceae) from the Yucatan Peninsula: Morphological variability in relation to life-cycle phase. *Phycologia* 55, 230–242. <https://doi.org/10.2216/15-118.1>.
- Vázquez-Delfín, E., Robledo, D., Vásquez-Elizondo, R. M., y Freile-Pelegrín, Y. 2023. Seasonal variation in the biomass, reproduction and biochemical composition of *Hypnea musciformis* (Cystocloniaceae, Rhodophyta) from Playa Xcalacoco, Quintana Roo, Mexico. *Aquatic Botany*, 184, 103600. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2022.103600>

- Velasco-Charpentier, C., Pizarro-Mora, F., y Navarro, N. P. 2016. Variación en la concentración de aminoácidos tipo micosporinas en macroalgas de las regiones de Valparaíso y Magallanes, Chile. *Revista de biología marina y oceanografía*, 51(3), 703-708. <https://doi.org/10.4067/S0718-19572016000300023>
- Véliz, K., Chandía, N., Rivadeneira, M., and Thiel, M. 2017. Seasonal variation of carrageenans from *Chondracanthus chamissoi* with a review of variation in the carrageenan contents produced by Gigartinales. *J. Appl. Phycol.* 29, 3139–3150.
- Yokoya, N. S., Nauer, F., y Oliveira, M. C. 2020. Concise review of the genus *Hypnea* J.V. Lamouroux, 1813. *Journal of Applied Phycology*, 32(6), 3585–3603. <https://doi.org/10.1007/s10811-020-02209-x>
- You, T. and S.M. Barnett, 2004. Effect of light quality on production of extracellular polysaccharides and growth rate of *Porphyridium cruentum*. *Biochem. Eng. J.*, 19: 251-258.
- Wang, C., Lei, A., Zhou, K., Hu, Z., Hao, W., y Yang, J. 2014. Growth and Nitrogen Uptake Characteristics Reveal Outbreak Mechanism of the Opportunistic Macroalga *Gracilaria tenuistipitata*. *PLoS ONE*, 9(10), e108980. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108980>
- Weathon, F.W. 1993 “Acuacultura, diseño y construcción de sistemas”. México: A. G. T., 704
- Wallner, M., Lobo, S., Boccanera, N., y Silva, E. M. 1992. Biomass, carrageenan yield and reproductive state of *Hypnea musciformis* (Rhodophyta: Gigartinales) under natural and experimental cultivated condition. *Aquaculture Research*, 23(4), 443-451. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.1992.tb00788.x>
- Wedchaparn O., Larbi Ayisi C., Huo Y. and Peimin He, 2015. Effects of Different Light Intensity Fluctuations on Growth Rate, Nutrient Uptake and Photosynthetic Efficiency of *Gracilaria asiatica*. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 10: 533-542.
- Zar, J. H. 1999. *Biostatistical analysis*. Cuarta Edición, Prentice-Hall Inc., Nueva York. 931 p.

- Zia KM, Tabasum S, Nasif M, Sultan N, Aslam N, Noreen A,. 2017. A review on synthesis, properties and applications of natural polymer based carrageenan blends and composites. *Int J Biol Macromol.* 96:282–301.
- Zhu, J., Fang, Z., Liu, M., Liang, L., Huang, H., Zou, X., Lin, X., y Bao, S. 2014. Effects of temperature, salinity and light intensity on the growth, pigment and carrageenan of *Betaphycus gelatinum*. *Algological Studies*, 135-144. <https://doi.org/10.1127/1864-1318/2014/0171>

11. ANEXOS

Anexo 1. Ensayo 1

Tabla 1. Valores promedio de la tasa de crecimiento (TCDm %) de los talos para cada tratamiento, y el total obtenido para todo el cultivo del ensayo 1. Tr indica Tratamiento. Sum la suma de los pesos finales (Pf g) y el DE indica la desviación estándar del TCDm %.

Tr	[NaNO ₃] mM	Sum de Pf (g)	TCDm (%)	DE de TCD (%)
1	5 mM	206.390	2.360	4.471
2	15 mM	197.860	1.691	3.154
3	20 mM	146.240	-1.005	4.233
4	0 mM	155.610	0.673	2.627
Total		706.100	0.930	3.911

Tabla 2. Valores promedio de la tasa de crecimiento (TCDm %) de los talos para cada sustrato, obtenido durante cada cosecha en el cultivo del ensayo 1. Tr indica Tratamiento.

Su el sustrato. DE indica la desviación estándar del TCDm% y n el número de muestras evaluadas.

Su	Tiempo (días)	TCDm (%)	DE TCD (%)	n
Coral	8	4.403	2.756	16
Coral	16	4.163	1.529	32
Coral	23	-0.275	2.840	16
Coral	30	-0.779	3.116	32
Malla	8	1.101	2.841	16
Malla	16	1.924	0.987	32
Malla	23	0.431	6.961	16
Malla	30	-2.560	3.040	32
Total		0.930	3.911	192

Tabla 3. TCD promedio (%) del ensayo 1 en las diferentes cosechas para cada tratamiento. IB indica el incremento de biomasa, \bar{X} : promedio y σ : desviación estándar. TR indica tratamiento, Pi indica el peso inicial de los talos, Pf corresponde al peso final y el TCD (%) a la tasa de crecimiento diario obtenida.

Tr	[NaNO ₃]	Sustrato	Tiempo (días)	Pi (g)	Pf (g)	TCD (%)
1	5 mM	Coral	8	2.800	5.000	7.248
1	5 mM	Coral	8	2.600	5.400	9.136
1	5 mM	Coral	8	3.400	3.600	0.714
1	5 mM	Coral	8	3.400	4.500	3.504
1	5 mM	Malla	8	3.100	3.500	1.517
1	5 mM	Malla	8	3.100	5.300	6.704
1	5 mM	Malla	8	3.400	4.200	2.641
1	5 mM	Malla	8	3.300	5.100	5.441
2	15 mM	Coral	8	3.400	6.100	7.306
2	15 mM	Coral	8	3.400	6.800	8.664
2	15 mM	Coral	8	3.500	6.900	8.484
2	15 mM	Coral	8	3.500	4.600	3.416
2	15 mM	Malla	8	3.300	4.200	3.015
2	15 mM	Malla	8	3.400	3.400	0.000
2	15 mM	Malla	8	3.500	4.700	3.685
2	15 mM	Malla	8	3.100	2.900	-0.834
3	20 mM	Coral	8	3.400	4.700	4.047
3	20 mM	Coral	8	3.500	4.600	3.416
3	20 mM	Coral	8	3.600	4.500	2.789

3	20 mM	Coral	8	3.500	4.600	3.416
3	20 mM	Malla	8	3.300	4.000	2.405
3	20 mM	Malla	8	3.000	2.500	-2.279
3	20 mM	Malla	8	3.200	3.500	1.120
3	20 mM	Malla	8	3.000	3.300	1.191
4	0 mM	Coral	8	3.500	4.300	2.573
4	0 mM	Coral	8	3.400	4.400	3.223
4	0 mM	Coral	8	3.600	4.400	2.508
4	0 mM	Coral	8	3.400	3.400	0.000
4	0 mM	Malla	8	3.100	3.200	0.397
4	0 mM	Malla	8	3.000	3.000	0.000
4	0 mM	Malla	8	3.600	2.600	-4.068
4	0 mM	Malla	8	3.000	2.300	-3.321
1	5 mM	Coral	16	3.700	7.200	4.161
1	5 mM	Coral	16	3.400	7.300	4.776
1	5 mM	Coral	16	3.100	8.400	6.230
1	5 mM	Coral	16	3.500	7.300	4.594
1	5 mM	Coral	16	3.500	7.500	4.763
1	5 mM	Coral	16	3.600	6.400	3.596
1	5 mM	Coral	16	3.500	7.700	4.928
1	5 mM	Coral	16	3.400	7.500	4.945
1	5 mM	Malla	16	2.900	5.600	4.113
1	5 mM	Malla	16	2.400	3.900	3.034
1	5 mM	Malla	16	3.300	5.700	3.416
1	5 mM	Malla	16	3.100	3.900	1.435
1	5 mM	Malla	16	3.100	4.400	2.189
1	5 mM	Malla	16	3.000	4.800	2.938
1	5 mM	Malla	16	3.000	3.100	0.205
1	5 mM	Malla	16	3.400	5.400	2.891
2	15 mM	Coral	16	3.600	7.900	4.912
2	15 mM	Coral	16	3.600	8.900	5.657
2	15 mM	Coral	16	3.400	9.500	6.422
2	15 mM	Coral	16	3.400	7.800	5.190
2	15 mM	Coral	16	3.500	8.800	5.762
2	15 mM	Coral	16	3.500	7.100	4.421
2	15 mM	Coral	16	3.600	7.200	4.332
2	15 mM	Coral	16	3.100	8.100	6.003
2	15 mM	Malla	16	3.300	4.700	2.210
2	15 mM	Malla	16	3.000	4.100	1.952
2	15 mM	Malla	16	3.300	3.800	0.882
2	15 mM	Malla	16	3.400	4.800	2.155
2	15 mM	Malla	16	3.600	5.600	2.761
2	15 mM	Malla	16	3.400	4.100	1.170

2	15 mM	Malla	16	3.600	4.700	1.666
2	15 mM	Malla	16	3.300	3.800	0.882
3	20 mM	Coral	16	3.500	4.000	0.835
3	20 mM	Coral	16	3.400	4.330	1.511
3	20 mM	Coral	16	3.400	8.120	5.441
3	20 mM	Coral	16	3.500	6.390	3.762
3	20 mM	Coral	16	3.600	7.190	4.323
3	20 mM	Coral	16	3.500	7.210	4.517
3	20 mM	Coral	16	3.600	6.930	4.093
3	20 mM	Coral	16	3.600	3.020	-1.098
3	20 mM	Malla	16	3.300	4.470	1.897
3	20 mM	Malla	16	3.300	5.060	2.672
3	20 mM	Malla	16	3.300	5.090	2.708
3	20 mM	Malla	16	3.100	3.530	0.812
3	20 mM	Malla	16	3.300	4.430	1.840
3	20 mM	Malla	16	3.100	5.240	3.281
3	20 mM	Malla	16	3.300	4.490	1.925
3	20 mM	Malla	16	3.100	4.170	1.853
4	0 mM	Coral	16	3.500	5.220	2.498
4	0 mM	Coral	16	3.500	6.070	3.441
4	0 mM	Coral	16	3.600	6.930	4.093
4	0 mM	Coral	16	3.400	6.250	3.805
4	0 mM	Coral	16	3.400	6.210	3.765
4	0 mM	Coral	16	3.500	5.530	2.859
4	0 mM	Coral	16	3.400	6.750	4.286
4	0 mM	Coral	16	3.300	6.670	4.398
4	0 mM	Malla	16	3.000	3.230	0.462
4	0 mM	Malla	16	3.100	4.750	2.667
4	0 mM	Malla	16	3.100	4.560	2.412
4	0 mM	Malla	16	3.000	3.850	1.559
4	0 mM	Malla	16	3.100	4.340	2.103
4	0 mM	Malla	16	3.100	3.050	-0.102
4	0 mM	Malla	16	3.300	3.810	0.898
4	0 mM	Malla	16	3.400	3.790	0.679
1	5 mM	Coral	23	2.200	1.730	-3.004
1	5 mM	Coral	23	2.000	2.340	1.963
1	5 mM	Coral	23	2.600	2.800	0.926
1	5 mM	Coral	23	3.400	2.170	-5.613
1	5 mM	Malla	23	1.800	11.770	23.472
1	5 mM	Malla	23	2.200	1.690	-3.297
1	5 mM	Malla	23	2.200	2.580	1.992
1	5 mM	Malla	23	2.400	1.230	-8.356
2	15 mM	Coral	23	2.200	2.030	-1.005

2	15 mM	Coral	23	2.500	3.220	3.164
2	15 mM	Coral	23	3.000	2.820	-0.773
2	15 mM	Coral	23	2.900	2.400	-2.366
2	15 mM	Malla	23	2.400	2.000	-2.279
2	15 mM	Malla	23	2.300	2.060	-1.378
2	15 mM	Malla	23	2.000	1.690	-2.105
2	15 mM	Malla	23	2.200	1.740	-2.932
3	20 mM	Coral	23	2.200	1.420	-5.473
3	20 mM	Coral	23	2.600	2.420	-0.897
3	20 mM	Coral	23	2.270	2.070	-1.153
3	20 mM	Coral	23	2.140	2.170	0.174
3	20 mM	Malla	23	1.800	1.590	-1.551
3	20 mM	Malla	23	2.430	1.800	-3.751
3	20 mM	Malla	23	2.140	2.670	2.766
3	20 mM	Malla	23	2.070	1.110	-7.790
4	0 mM	Coral	23	2.280	2.310	0.163
4	0 mM	Coral	23	2.590	3.060	2.084
4	0 mM	Coral	23	2.640	3.180	2.326
4	0 mM	Coral	23	2.390	3.590	5.086
4	0 mM	Malla	23	2.440	3.240	3.545
4	0 mM	Malla	23	2.130	2.790	3.374
4	0 mM	Malla	23	1.300	1.650	2.980
4	0 mM	Malla	23	1.860	2.220	2.212
1	5 mM	Coral	30	2.000	1.940	-0.190
1	5 mM	Coral	30	2.300	4.050	3.536
1	5 mM	Coral	30	2.300	4.450	4.125
1	5 mM	Coral	30	2.100	1.690	-1.358
1	5 mM	Coral	30	2.500	2.860	0.841
1	5 mM	Coral	30	3.000	3.570	1.087
1	5 mM	Coral	30	3.600	5.190	2.286
1	5 mM	Coral	30	3.200	3.030	-0.341
1	5 mM	Malla	30	2.300	2.800	1.229
1	5 mM	Malla	30	2.400	2.560	0.403
1	5 mM	Malla	30	2.900	2.540	-0.828
1	5 mM	Malla	30	2.600	2.240	-0.931
1	5 mM	Malla	30	2.100	4.040	4.089
1	5 mM	Malla	30	2.400	2.300	-0.266
1	5 mM	Malla	30	2.500	2.220	-0.742
1	5 mM	Malla	30	3.000	1.900	-2.855
2	15 mM	Coral	30	3.500	3.000	-0.963
2	15 mM	Coral	30	2.800	3.210	0.854
2	15 mM	Coral	30	2.100	3.780	3.674
2	15 mM	Coral	30	2.700	3.130	0.924

2	15 mM	Coral	30	2.600	3.860	2.470
2	15 mM	Coral	30	3.100	3.150	0.100
2	15 mM	Coral	30	2.100	3.810	3.723
2	15 mM	Coral	30	3.000	4.600	2.672
2	15 mM	Malla	30	1.300	1.260	-0.195
2	15 mM	Malla	30	1.300	0.760	-3.355
2	15 mM	Malla	30	2.000	1.810	-0.624
2	15 mM	Malla	30	1.700	1.440	-1.037
2	15 mM	Malla	30	1.900	2.150	0.773
2	15 mM	Malla	30	1.900	1.490	-1.519
2	15 mM	Malla	30	1.600	0.800	-4.332
2	15 mM	Malla	30	1.700	1.150	-2.443
3	20 mM	Coral	30	2.600	0.950	-6.293
3	20 mM	Coral	30	1.740	0.330	-10.391
3	20 mM	Coral	30	2.600	1.140	-5.153
3	20 mM	Coral	30	2.020	0.910	-4.984
3	20 mM	Coral	30	2.180	1.550	-2.132
3	20 mM	Coral	30	2.350	1.670	-2.135
3	20 mM	Coral	30	2.230	1.530	-2.355
3	20 mM	Coral	30	2.450	1.810	-1.892
3	20 mM	Malla	30	2.310	0.560	-8.857
3	20 mM	Malla	30	1.790	0.610	-6.728
3	20 mM	Malla	30	1.930	0.950	-4.430
3	20 mM	Malla	30	1.980	1.200	-3.130
3	20 mM	Malla	30	1.680	0.770	-4.876
3	20 mM	Malla	30	1.680	0.620	-6.230
3	20 mM	Malla	30	2.220	0.480	-9.572
3	20 mM	Malla	30	1.910	0.540	-7.896
4	0 mM	Coral	30	2.240	1.660	-1.873
4	0 mM	Coral	30	2.620	1.590	-3.122
4	0 mM	Coral	30	2.530	2.400	-0.330
4	0 mM	Coral	30	2.000	2.110	0.335
4	0 mM	Coral	30	2.560	1.820	-2.132
4	0 mM	Coral	30	2.370	1.520	-2.776
4	0 mM	Coral	30	2.520	2.140	-1.022
4	0 mM	Coral	30	2.500	1.780	-2.123
4	0 mM	Malla	30	1.610	0.940	-3.363
4	0 mM	Malla	30	1.910	1.380	-2.031
4	0 mM	Malla	30	1.870	1.620	-0.897
4	0 mM	Malla	30	1.340	1.450	0.493
4	0 mM	Malla	30	1.540	0.680	-5.109
4	0 mM	Malla	30	2.000	1.620	-1.317
4	0 mM	Malla	30	1.620	1.460	-0.650

4 | 0 mM Malla 30 1.670 0.790 -4.678

Anexo 2. Ensayo 2

Tabla 4. Valores promedio de la tasa de crecimiento (TCDm %) de los talos para cada tratamiento, y el total obtenido para todo el cultivo del ensayo 1. Tr indica Tratamiento. Sum la suma de los pesos finales (Pf g) y el DE indica la desviación estándar del TCD %.

[NaNO₃] mM	Sum de Pf (g)	TCDm (%)	DE de TCD (%)
5	526.990	0.031	1.342
15	631.920	0.312	1.632
Total	1158.910	0.187	1.516

Tabla 5. Valores promedio de la tasa de crecimiento (TCDm %) de los talos para cada sustrato, obtenido durante cada cosecha en el cultivo del ensayo 1. Tr indica Tratamiento. Su el sustrato. DE indica la desviación estándar del TCDm% y n el número de muestras evaluadas.

Su	Tiempo (días)	TCDm (%)	DE de TCD (%)	n
Coral	10	-0.344	0.973	16
Coral	23	-0.177	1.156	24
Coral	35	0.995	0.652	24
Coral	56	0.391	2.009	36
Malla	10	-0.335	1.298	16
Malla	23	-0.191	0.958	24
Malla	35	0.726	0.456	24
Malla	56	0.034	2.172	33
Total		0.187	1.516	197

Tabla 6. TCD promedio (%) del ensayo 2 en las diferentes cosechas o tiempo para cada tratamiento bajo su respectivo tratamiento de luz. IB indica el incremento de biomasa, \bar{X} : promedio y σ : desviación estándar.

Luz	Tr	[NaNO₃] mM	Su	Tiempo (días)	Pf (g)	TCDm (%)
Azul + Blanca	T1	5	Coral	10	5.480	0.448
Azul + Blanca	T1	5	Coral	10	4.500	-0.242

<i>Azul + Blanca</i>	T1	5	Coral	10	4.090	-1.704
<i>Azul + Blanca</i>	T1	5	Coral	10	4.020	-1.520
<i>Azul + Blanca</i>	T1	5	Malla	10	5.270	-2.266
<i>Azul + Blanca</i>	T1	5	Malla	10	5.290	-1.375
<i>Azul + Blanca</i>	T1	5	Malla	10	5.720	0.520
<i>Azul + Blanca</i>	T1	5	Malla	10	6.320	-0.717
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Coral	10	4.990	-0.918
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Coral	10	5.210	-0.722
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Coral	10	5.240	0.271
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Coral	10	4.360	-1.587
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Malla	10	4.540	-2.098
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Malla	10	5.010	0.161
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Malla	10	4.490	-2.508
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Malla	10	5.060	-0.960
<i>Blanca</i>	T1	5	Coral	10	4.930	-1.310
<i>Blanca</i>	T1	5	Coral	10	6.220	0.926
<i>Blanca</i>	T1	5	Coral	10	5.290	-1.652
<i>Blanca</i>	T1	5	Coral	10	5.460	-0.055
<i>Blanca</i>	T1	5	Malla	10	5.610	-0.053
<i>Blanca</i>	T1	5	Malla	10	6.360	2.287
<i>Blanca</i>	T1	5	Malla	10	6.140	1.303
<i>Blanca</i>	T1	5	Malla	10	6.400	1.246
<i>Blanca</i>	T2	15	Coral	10	5.990	0.219
<i>Blanca</i>	T2	15	Coral	10	5.550	0.274
<i>Blanca</i>	T2	15	Coral	10	6.420	1.225
<i>Blanca</i>	T2	15	Coral	10	6.100	0.837
<i>Blanca</i>	T2	15	Malla	10	5.900	0.068
<i>Blanca</i>	T2	15	Malla	10	5.010	-0.878
<i>Blanca</i>	T2	15	Malla	10	5.360	0.113
<i>Blanca</i>	T2	15	Malla	10	6.050	-0.196
<i>Azul + Blanca</i>	T1	5	Coral	23	4.810	0.705
<i>Azul + Blanca</i>	T1	5	Coral	23	3.440	-1.830
<i>Azul + Blanca</i>	T1	5	Coral	23	4.910	0.227
<i>Azul + Blanca</i>	T1	5	Coral	23	5.670	1.073
<i>Azul + Blanca</i>	T1	5	Coral	23	3.180	-1.615
<i>Azul + Blanca</i>	T1	5	Coral	23	4.350	-0.079
<i>Azul + Blanca</i>	T1	5	Coral	23	5.070	0.706
<i>Azul + Blanca</i>	T1	5	Coral	23	5.990	1.341
<i>Azul + Blanca</i>	T1	5	Coral	23	3.310	-1.661
<i>Azul + Blanca</i>	T1	5	Coral	23	4.810	0.338
<i>Azul + Blanca</i>	T1	5	Coral	23	2.100	-3.484
<i>Azul + Blanca</i>	T1	5	Coral	23	5.050	0.105
<i>Azul + Blanca</i>	T1	5	Malla	23	6.220	1.321

<i>Azul + Blanca</i>	T1	5	Malla	23	4.800	-0.365
<i>Azul + Blanca</i>	T1	5	Malla	23	5.550	-0.760
<i>Azul + Blanca</i>	T1	5	Malla	23	6.320	0.175
<i>Azul + Blanca</i>	T1	5	Malla	23	5.480	0.236
<i>Azul + Blanca</i>	T1	5	Malla	23	5.690	-0.281
<i>Azul + Blanca</i>	T1	5	Malla	23	4.700	-0.423
<i>Azul + Blanca</i>	T1	5	Malla	23	4.550	-0.769
<i>Azul + Blanca</i>	T1	5	Malla	23	5.510	-0.457
<i>Azul + Blanca</i>	T1	5	Malla	23	5.250	0.417
<i>Azul + Blanca</i>	T1	5	Malla	23	4.500	-0.281
<i>Azul + Blanca</i>	T1	5	Malla	23	6.610	-0.117
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Coral	23	5.480	0.338
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Coral	23	6.580	1.211
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Coral	23	6.350	0.649
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Coral	23	5.660	0.344
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Coral	23	4.970	-0.519
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Coral	23	6.120	0.634
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Coral	23	5.040	0.194
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Coral	23	3.860	-1.211
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Coral	23	3.330	-1.828
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Coral	23	5.050	-0.051
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Coral	23	5.640	0.370
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Coral	23	5.190	-0.205
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Malla	23	5.280	-0.185
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Malla	23	4.910	-0.485
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Malla	23	4.660	-0.799
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Malla	23	6.070	0.904
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Malla	23	5.140	0.325
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Malla	23	5.600	0.484
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Malla	23	8.000	1.391
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Malla	23	5.210	-0.444
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Malla	23	6.040	0.329
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Malla	23	2.500	-3.452
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Malla	23	5.240	0.292
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Malla	23	3.810	-1.651
<i>Blanca</i>	T1	5	Coral	35	6.720	0.873
<i>Blanca</i>	T1	5	Coral	35	5.100	-0.277
<i>Blanca</i>	T1	5	Coral	35	7.520	0.873
<i>Blanca</i>	T1	5	Coral	35	9.140	1.349
<i>Blanca</i>	T1	5	Coral	35	10.400	1.873
<i>Blanca</i>	T1	5	Coral	35	7.860	0.933
<i>Blanca</i>	T1	5	Coral	35	6.710	0.491
<i>Blanca</i>	T1	5	Coral	35	11.200	1.671

<i>Blanca</i>	T1	5	Coral	35	9.320	1.570
<i>Blanca</i>	T1	5	Coral	35	6.200	0.347
<i>Blanca</i>	T1	5	Coral	35	7.890	1.617
<i>Blanca</i>	T1	5	Coral	35	9.900	1.384
<i>Blanca</i>	T1	5	Malla	35	7.800	0.926
<i>Blanca</i>	T1	5	Malla	35	5.900	-0.095
<i>Blanca</i>	T1	5	Malla	35	7.470	0.753
<i>Blanca</i>	T1	5	Malla	35	7.960	0.579
<i>Blanca</i>	T1	5	Malla	35	8.950	0.892
<i>Blanca</i>	T1	5	Malla	35	6.190	0.576
<i>Blanca</i>	T1	5	Malla	35	8.340	1.433
<i>Blanca</i>	T1	5	Malla	35	7.770	1.045
<i>Blanca</i>	T1	5	Malla	35	9.430	1.130
<i>Blanca</i>	T1	5	Malla	35	6.100	0.169
<i>Blanca</i>	T1	5	Malla	35	5.800	0.105
<i>Blanca</i>	T1	5	Malla	35	6.870	0.559
<i>Blanca</i>	T2	15	Coral	35	8.400	0.849
<i>Blanca</i>	T2	15	Coral	35	5.360	-0.255
<i>Blanca</i>	T2	15	Coral	35	7.410	0.883
<i>Blanca</i>	T2	15	Coral	35	6.850	0.244
<i>Blanca</i>	T2	15	Coral	35	9.560	1.632
<i>Blanca</i>	T2	15	Coral	35	9.020	1.541
<i>Blanca</i>	T2	15	Coral	35	10.230	1.681
<i>Blanca</i>	T2	15	Coral	35	7.540	0.917
<i>Blanca</i>	T2	15	Coral	35	4.470	-0.198
<i>Blanca</i>	T2	15	Coral	35	7.060	0.657
<i>Blanca</i>	T2	15	Coral	35	10.030	1.615
<i>Blanca</i>	T2	15	Coral	35	8.390	1.619
<i>Blanca</i>	T2	15	Malla	35	7.210	0.385
<i>Blanca</i>	T2	15	Malla	35	7.220	0.596
<i>Blanca</i>	T2	15	Malla	35	8.230	0.805
<i>Blanca</i>	T2	15	Malla	35	8.280	1.184
<i>Blanca</i>	T2	15	Malla	35	9.010	1.421
<i>Blanca</i>	T2	15	Malla	35	8.130	0.980
<i>Blanca</i>	T2	15	Malla	35	7.900	0.883
<i>Blanca</i>	T2	15	Malla	35	6.940	0.770
<i>Blanca</i>	T2	15	Malla	35	14.020	1.675
<i>Blanca</i>	T2	15	Malla	35	6.990	-0.065
<i>Blanca</i>	T2	15	Malla	35	7.070	0.389
<i>Blanca</i>	T2	15	Malla	35	7.510	0.330
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Coral	56	4.920	1.921
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Coral	56	5.520	1.867
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Coral	56	5.350	0.479

<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Coral	56	3.630	-0.164
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Coral	56	4.590	3.001
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Coral	56	4.280	1.295
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Coral	56	4.560	5.167
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Coral	56	3.160	3.805
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Coral	56	2.240	1.490
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Coral	56	4.970	3.197
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Coral	56	1.520	-5.521
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Coral	56	3.880	0.314
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Malla	56	2.660	-2.914
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Malla	56	3.260	1.379
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Malla	56	5.120	1.862
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Malla	56	5.190	3.357
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Malla	56	2.030	-4.551
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Malla	56	6.260	0.243
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Malla	56	2.130	2.373
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Malla	56	2.350	-4.884
<i>Azul + Blanca</i>	T2	15	Malla	56	2.040	-2.578
<i>Blanca</i>	T1	5	Coral	56	4.470	-1.299
<i>Blanca</i>	T1	5	Coral	56	4.080	1.086
<i>Blanca</i>	T1	5	Coral	56	4.370	-1.873
<i>Blanca</i>	T1	5	Coral	56	8.140	1.423
<i>Blanca</i>	T1	5	Coral	56	5.810	-2.659
<i>Blanca</i>	T1	5	Coral	56	4.160	-3.358
<i>Blanca</i>	T1	5	Coral	56	5.720	1.206
<i>Blanca</i>	T1	5	Coral	56	9.200	1.298
<i>Blanca</i>	T1	5	Coral	56	6.560	-0.903
<i>Blanca</i>	T1	5	Coral	56	4.670	0.000
<i>Blanca</i>	T1	5	Coral	56	5.140	-0.749
<i>Blanca</i>	T1	5	Coral	56	6.250	-2.112
<i>Blanca</i>	T1	5	Malla	56	6.190	1.146
<i>Blanca</i>	T1	5	Malla	56	4.400	1.625
<i>Blanca</i>	T1	5	Malla	56	3.410	-4.315
<i>Blanca</i>	T1	5	Malla	56	7.040	0.798
<i>Blanca</i>	T1	5	Malla	56	6.820	-0.146
<i>Blanca</i>	T1	5	Malla	56	4.060	-1.633
<i>Blanca</i>	T1	5	Malla	56	4.490	-2.191
<i>Blanca</i>	T1	5	Malla	56	6.010	-0.116
<i>Blanca</i>	T1	5	Malla	56	7.600	-0.324
<i>Blanca</i>	T1	5	Malla	56	5.600	1.967
<i>Blanca</i>	T1	5	Malla	56	5.840	2.584
<i>Blanca</i>	T1	5	Malla	56	5.450	0.167
<i>Blanca</i>	T2	15	Coral	56	6.970	1.058

<i>Blanca</i>	T2	15	Coral	56	4.440	2.042
<i>Blanca</i>	T2	15	Coral	56	5.880	1.522
<i>Blanca</i>	T2	15	Coral	56	4.310	-1.180
<i>Blanca</i>	T2	15	Coral	56	7.690	0.520
<i>Blanca</i>	T2	15	Coral	56	6.570	0.467
<i>Blanca</i>	T2	15	Coral	56	8.060	0.640
<i>Blanca</i>	T2	15	Coral	56	5.430	0.394
<i>Blanca</i>	T2	15	Coral	56	2.960	-0.494
<i>Blanca</i>	T2	15	Coral	56	5.480	1.160
<i>Blanca</i>	T2	15	Coral	56	6.220	-1.081
<i>Blanca</i>	T2	15	Coral	56	6.470	0.109
<i>Blanca</i>	T2	15	Malla	56	5.880	0.778
<i>Blanca</i>	T2	15	Malla	56	7.560	3.055
<i>Blanca</i>	T2	15	Malla	56	6.440	0.332
<i>Blanca</i>	T2	15	Malla	56	6.370	0.682
<i>Blanca</i>	T2	15	Malla	56	5.400	-1.900
<i>Blanca</i>	T2	15	Malla	56	7.940	3.297
<i>Blanca</i>	T2	15	Malla	56	5.630	-0.485
<i>Blanca</i>	T2	15	Malla	56	5.140	-0.456
<i>Blanca</i>	T2	15	Malla	56	11.300	1.024
<i>Blanca</i>	T2	15	Malla	56	6.630	2.239
<i>Blanca</i>	T2	15	Malla	56	4.540	-0.598
<i>Blanca</i>	T2	15	Malla	56	5.110	-0.681

Anexo 5.

Tabla 7. Promedio y desviación estándar del análisis PERMDISP para el ensayo 1.

Tratamiento	n	Promedio	SE
1	48	3.65E-01	5.860E-02
2	48	1.27E-01	2.206E-02
3	48	1.01E-01	1.517E-02
4	48	2.32E-01	3.769E-02

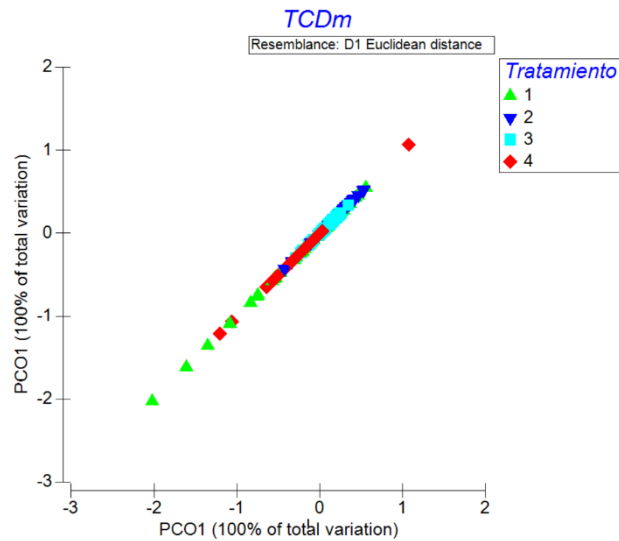


Gráfico 1. Gráfico de análisis principal de coordenadas (PCO) muestra la diferenciación entre los tratamientos, se observan mientras aisladas que sugieren alta variabilidad entre los Tr del ensayo 1.

Anexo 6. Promedio y desviación estándar del análisis PERMDISP para el ensayo 1.

Luz	n	Promedio	SE
Azul + Blanca	85	0.2039	2.86E-02
Blanca	112	0.12853	1.43E-02

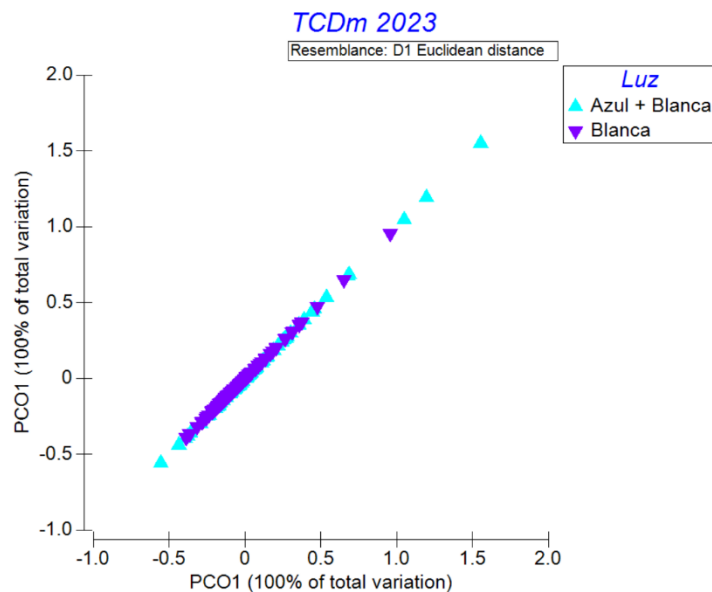


Gráfico 2. Gráfico de análisis principal de coordenadas (PCO) muestra la diferenciación entre las condiciones de luz, se observan muestras aisladas que sugieren alta variabilidad entre las condiciones de luz del ensayo 2.

Anexo 7.

MAAs Profiling in Wild *Hypnea* Samples (Gigartinales, Rhodophyta) from the Colombian Caribbean and in Samples from a Pilot Semi-Closed Cultivation of *H. musciformis*

Perfilado de MAAs en Muestras Silvestres de *Hypnea* (Gigartinales, Rhodophyta) del Caribe Colombiano y de un Cultivo Piloto Semicerrado de *H. musciformis*

Jessica González Torres¹, Dayan Vargas², Vanessa Urrea-Victoria¹, Gladys Rozo², Monica Puyana², Freddy A. Ramos¹, Geison Costa³, Leonardo Castellanos^{1*}

¹ Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá, Facultad de Ciencias, Departamento de Química, Grupo Estudio y Aprovechamiento de Productos Naturales Marinos y Frutas de Colombia. Av. Carrera 30 # 45-03, Bogotá, Colombia.

² Facultad de Ciencias Naturales e Ingeniería, Universidad Jorge Tadeo Lozano, Carrera 4 No. 22-61, Bogotá, Colombia. *icastellanosh@unal.edu.co

³ Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá 110231, Colombia

Abstract

Background: Mycosporine-like amino acids (MAAs) are marine natural products with significant ultraviolet radiation (UVR) absorption capacity, positioning them as promising candidates for the cosmetic industry. Species of *Hypnea* have been identified as sources of MAAs. Objective: This study aims to evaluate the MAA content in wild-type *Hypnea* spp. (Gigartinales, Rhodophyta) from the Colombian Caribbean and explore a pilot semi-closed cultivation of *H. musciformis*. Methods: Samples of *Hypnea* species were collected from the Colombian Caribbean Sea. *H. musciformis* was cultured under semi-closed laboratory conditions, with variations in sodium nitrate concentration (5 mM to 25 mM) and light incidence (white light, PAR = 30 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ and 106 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, or a mix of blue and white light, PAR = 106 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$). Polar extracts of wild type and cultured samples were analyzed by UHPLC-DAD and UHPLC-MS/MS to establish the profile and quantify the MAAs. Results: Concentrations exceeding 2 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ DW were found in *H. cf. caraibica*, with trace-level presence in *H. valentiae* and no detectable MAAs in *H. cervicornis* and *H. spinella*. The highest MAA content (6.22 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ DW) was observed in *H. musciformis*. Overall, shinorine was the most abundant MAA, followed by palythine, asterine-330, and porphyra-334. Cultured samples revealed only trace-level amounts of MAAs. Conclusion: The abundant species *H. musciformis* collected at Santa Marta Bay is a promising source of MAAs, particularly shinorine. However, laboratory cultivation of this species did not yield significant amounts of these compounds. Further laboratory trials are required to identify the

variables that may enhance MAA production, such as increased UV or photosynthetically active radiation (PAR) exposure.

Keywords: shinorine, aquaculture, blue cosmetics, marine natural products

Antecedentes: Los aminoácidos tipo micosporinas (MAAs, por sus siglas en inglés) son productos naturales marinos con una notable capacidad de absorción de radiación ultravioleta (RUV), lo que los posiciona como candidatos prometedores para la industria cosmética. Se ha identificado a especies de *Hypnea* como fuentes de MAAs. Objetivo: El objetivo de este estudio es evaluar el contenido de MAAs en muestras ambientales de *Hypnea* spp. (Gigartinales, Rhodophyta) del Caribe colombiano y explorar la producción de estos compuestos en un cultivo piloto semi cerrado de *H. musciformis*. Métodos: Se recolectaron muestras de especies de *Hypnea* en el mar Caribe colombiano. Además, *H. musciformis* se cultivó en condiciones semicerradas de laboratorio, variando la concentración de nitrato de sodio (de 5 mM a 25 mM) y la incidencia de luz (luz blanca, PAR = 30 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ y 106 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, o una mezcla de luz azul y blanca, PAR = 106 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$). Los extractos polares se analizaron mediante UHPLC-DAD y UHPLC-MS/MS para establecer el perfil y cuantificar los MAAs. Resultados: Se encontraron concentraciones superiores a 2 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ de peso seco en *H. cf. caraibica*, con presencia en niveles traza en *H. valentiae* y sin MAAs detectables en *H. cervicornis* y *H. spinella*. El mayor contenido de MAAs (6.22 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ de peso seco) se observó en *H. musciformis*. Shinorina fue el MAA más abundante, seguido por palythina, asterina-330 y porphyra-334. Las muestras de los cultivos revelaron sólo cantidades traza de MAAs. Conclusión: La especie abundante en la bahía de Santa Marta *H. musciformis* es una fuente prometedora de MAAs, particularmente shinorina. Sin embargo, el cultivo de esta especie en condiciones de laboratorio no permitió la obtención significativa de estos compuestos. Se requieren más ensayos de laboratorio para identificar las variables que puedan promover un aumento en la producción de MAAs, como una mayor exposición a RUV o radiación fotosintéticamente activa (PAR).

Palabras clave: acuicultura, cosmética azul, productos naturales marinos, shinorina.

Introduction

Solar radiation, particularly ultraviolet (UV) and near-infrared radiation, has been identified as a significant factor in skin-related issues such as premature photoaging and various types of cancer (1,2). UV radiation is categorized into UVC, UVB, and UVA. While the sun emits all types of UV radiation, UVC (200–280 nm) is completely absorbed by the stratosphere, and UVB (280–320 nm) is filtered by approximately 90% in the atmosphere (1,3). Consequently, the radiation reaching the Earth's surface primarily consists of UVA rays (320–400 nm), which account for over 90%, while UVB rays constitute a smaller proportion, roughly 4 to 5% (4). UVB radiation that reaches the Earth's surface poses a harmful abiotic factor to living organisms by damaging key biomolecules such as DNA, RNA, lipids, and proteins (5). In response, many sun-exposed organisms have evolved mechanisms and specialized compounds for protection against solar radiation, including mycosporine-like amino acids (MAAs). These compounds effectively absorb UV radiation and have been studied since the

1960s, primarily for their photoprotective properties. MAAs are found in fungi, cyanobacteria, microalgae, dinoflagellates, macroalgae (especially Rhodophyta), lichens, and in organisms along the food chain such as corals, sponges, crustaceans, and fish (6,7).

Approximately 40 MAAs have been identified and characterized in algae, fungi, and cyanobacteria (7–9). Beyond their photoprotective properties, MAAs exhibit various biological activities, including antioxidant, antiviral, antifungal, antibiotic, anticancer, and antidiabetic effects (10,11). Moreover, their biological roles extend beyond UV absorption to functions such as scavenging reactive oxygen species for antioxidant effects, osmoregulation, nitrogen storage, and others (7). MAAs have gained significant interest in this context due to their natural origin, UV absorption capacity, and additional properties relevant to the cosmetic field (4). These attributes position them as a promising option for skin protection and mitigation of UV radiation effects, offering a sustainable solution that benefits both health and the environment.

Within the order Gigartinales, which includes *Hypnea*, species with concentrations exceeding 2 mg.g⁻¹ DW of MAAs are classified as high producers of these compounds. The most common MAAs in this order include asterine-330, mycosporine-glycine, palythene, palythanol, porphyra-334, palythine, shinorine, and usujirene (12). Specifically, in *Hypnea*, the following MAAs have been reported: shinorine, asterine-330, porphyra-334, palythine, and mycosporine-glycine (12). Additionally, *Hypnea* is recognized as a producer of various bioactive small compounds (13,14), and polysaccharides, with carrageenans being particularly prominent (15). These polysaccharides are highly valued in the food, pharmaceutical, and cosmetic industries due to their viscosifying and gelling properties (16). As a result, *Hypnea musciformis* Lamouroux has been cultivated globally, including in regions such as Israel (10) and Bangladesh (17), as well as in Latin America (e.g., Brazil (18)) and even Colombia (19). In Colombia, studies have primarily focused on carrageenans.

Studies on the content of MAAs in red algae within Latin America are scarce. Notably, research conducted in Brazil revealed that *Hypnea musciformis* specimens from the southern Brazilian subregion predominantly contained shinorine as the most abundant MAA, while those from the southeastern and northeastern subregions exhibited a higher prevalence of asterine-330 (20). In Colombia, two reports have been published on MAAs from algae: one for samples collected in the Pacific Ocean (21) and another for samples from the Caribbean Sea (22), which also included preliminary findings for macroalgae from the genus *Hypnea*. The aim of this study is to assess the MAA content in wild-type *Hypnea* spp. (Gigartinales, Rhodophyta) from the Colombian Caribbean and investigate the MAA profile of samples from a pilot semi-closed cultivation of *H. musciformis*.

Material and methods

Collection of Biological Material

Wild-type samples of macroalgae from the genus *Hypnea* were collected in Magdalena, La Guajira, San Andrés, and Providencia in the Colombian Caribbean (Figure 1), as summarized in Table 1. After collection, the samples were cleaned with seawater to remove

sand and epiphytes, then preserved by freezing at -16°C . Subsequently, they were transported to Bogotá Laboratories, where they were freeze-dried.

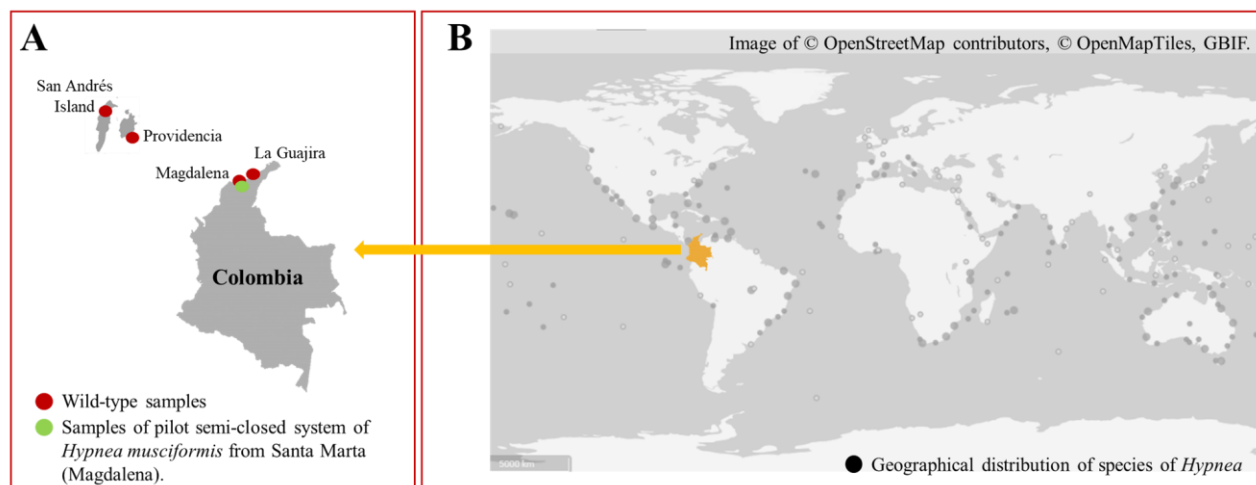


Figure 1. (A) Collection sites for wild-type *Hypnea* spp. samples along the Colombian Caribbean coast were carefully selected based on their ecological diversity and the richness of their marine ecosystems. (B) Geographical location of Colombia and the global distribution of *Hypnea*, as recorded in the Global Biodiversity Information Facility (GBIF). Image of © OpenStreetMap contributors, © OpenMapTiles, GBIF.

The samples were identified by Dr. Brigitte Gavio and Dr. Vanessa Urrea-Victoria based on morphological characteristics, primarily using the descriptions provided in (23) and (24). Reference specimens were deposited in the Jiwukori Herbarium at the National University of Colombia (Bogotá, Colombia). The nomenclature and taxonomy of the algae follow the database (25).

Table 1. Wild-type samples of *Hypnea* spp. collected from the Colombian Caribbean, utilized for MAA quantification and HPLC-MS/MS analysis.

Species	Code (samples)	Location	Collection date (month)	Collection date (year)	Identifier/collector	Herbarium code (Voucher)
<i>Hypnea musciformis</i> Lamouroux	Wt-2809-22	Santa Marta, Magdalena	9	2022	DV, JG-T, HB	*
	Wt-1109-R-22 (red thalli)					

Species	Code (samples)	Location	Collection date (month)	Collection date (year)	Identifier/collector	Herbarium code (Voucher)
	Wt-1109-MX-22 (red and green thalli)					
	Wt-11-22	Santa Marta, Magdalena	11	2022	DV, JG-T, HB	*
	Wt-0309-23	Santa Marta, Magdalena	9	2023	DV, HB	*
	HP1411 ^a		11	2018	MP	*
	HP1505 ^b		5	2019	MP	*
	HP0903		3			*
	HPB1408	Providencia	8			*
	HPB0209		9			*
	HP1209		9			*
	HP0810		10			*
	HJMM ^a	Musichi, La Guajira	3	2021	MP, ML	*
<i>Hypnea valentiae</i> Montagne	HJV ^a	Cabo de la Vela, La Guajira	2	2021	MP, ML	*
<i>Hypnea cervicornis</i> Agardh	HJC ^a	Cabo de la Vela,	2	2021	MP, ML	*

Species	Code (samples)	Location	Collection date (month)	Collection date (year)	Identifier/collector	Herbarium code (Voucher)
		La Guajira				
<i>Hypnea spinella</i> Agardh	HMS ^a	Cabo de la Vela, La Guajira	3	2021	MP, ML	*
<i>Hypnea</i> cf. <i>caraiibica</i> Nauer, Cassano, & Oliveira	HJ1125	Riohacha, La Guajira	7	2022	VU-V	JIW00003432
	HJ1073		3			JIW00003433
<i>Hypnea</i> sp.1	HJ1077	Riohacha, La Guajira	3	2022	VU-V	*
<i>Hypnea</i> cf. <i>muscifor mis</i>	HJ1067	El Pájaro, La Guajira	3	2022	VU-V	*
<i>Hypnea</i> sp.2	HJ1117	El Pájaro, La Guajira	7	2022	VU-V	*
<i>Hypnea</i> sp.3	HJ1120 and HJ1121	El Pájaro, La Guajira	7	2022	VU-V	*
<i>Hypnea</i> sp.4	HJ1126, HJ1128 and HJ1131	Riohacha, La Guajira	7	2022	VU-V	*
<i>Hypnea</i> cf.	HJ1111	San Andrés	7	2022	VU-V	*

Species	Code (samples)	Location	Collection date (month)	Collection date (year)	Identifier/collector	Herbarium code (Voucher)
<i>musciformis</i>						

[Into collection date, in red indicate a high UVR period and in blue a low UVR period; Sample dried under the sun and froze (a); Samples dried under the sun and preserved without freezing (b). Dayan Vargas (DV), Helena Benavides (HB), Jessica González (JG-T), Mariana Luna (ML), Mónica Puyana (MP), Vanessa Urrea-Victoria (VU-V); *In process of being herbarized].

Pilot Semi-Closed Cultivation of *Hypnea musciformis*

The cultivation of *H. musciformis* was conducted at the Aquaculture Laboratory of Jorge Tadeo Lozano University (UJTL), Santa Marta campus (Figure 1). The first attempt of cultivation took place in 2022 and the second in 2023, with each cycle lasting three months (from September to November). The algae used for cultivation were collected from Punta la Loma, a rocky mid-littoral zone near the beaches around Simón Bolívar Airport in Santa Marta. Sampling was performed by manually detaching the entire thalli from their natural growth substrate, ensuring minimal disturbance to the specimens. The collected thalli were transported to the laboratory, where they were cleaned and acclimatized to laboratory conditions for 7 days without the addition of nutrients.

The algae were cultivated in four 200 L capacity tanks, where polypropylene ropes, LED lights, and a series of polypropylene baskets within mesh nets were suspended from the ropes (Figure 2). Two different growth substrates were tested within the baskets: coral skeleton (Coral Substrate, SC) and polypropylene mesh (Mesh Substrate, SM).

Seawater for the cultures was provided by Mundo Marino Acuario (Santa Marta, Magdalena), and it was treated in the laboratory with Stability® Seachem® and filtered through mechanical filters and biofilters. Following the planting of the *H. musciformis* thalli, a modified von Stosch medium (26) (substituting sodium β-glycerophosphate with sodium nitrate) was added to the cultures.

The cultures were maintained under a 12-hour photoperiod with constant aeration, the addition of enriched von Stosch medium, a 20% water volume replacement, and the laboratory temperature was maintained at 24°C. Every 12 hours, physicochemical parameters of the water were measured, including pH (MultiTest® Marine pH & Alkalinity Seachem® kit), temperature (mercury thermometer -10/150°C), and salinity (pocket refractometer and ATAGO® PAL-06S saltwater refractometer, ATAGO®) for each tank or experimental unit.

In the 2022 cultivation, white LED lights with a theoretical Photosynthetically Active Radiation (PAR) of 30 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ were used, and four different sodium nitrate concentrations were tested: 0, 5, 15 and 25 mM. In the 2023 cultivation, two sodium nitrate concentrations were tested: 5 mM and 15 mM, along with two types of LED lights (white and

white with blue), both providing a theoretical PAR of $106 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Two tanks with different sodium nitrate concentrations were illuminated with white LED lights, while the other two tanks were illuminated with white and blue LED lights (Figure 2).

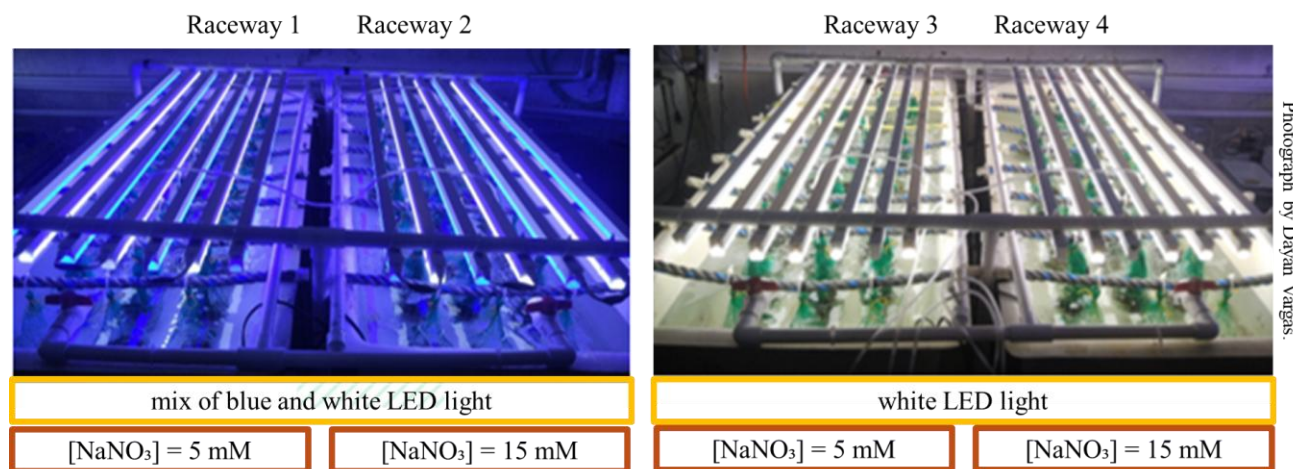


Figure 2. Pilot semi-closed cultivation system for *Hypnea musciformis* developed in Santa Marta, 2023. (Design and photographs by Dayan Vargas)

The samples were harvested in partial collections (every 8 days) randomly, and a full harvest (complete collection) was carried out between 15 and 30 days after planting or replanting. The harvested thalli were observed, cleaned, and weighed before being preserved in plastic bags at -16°C and sent to Bogotá. There, the biomass was stored at -20°C . The samples were then lyophilized and analyzed according to the details outlined in Table SM1.

Extraction and Analysis of MAAs

The extraction and quantification of MAAs were performed according to the method described by Urrea-Victoria (22), which was validated following the guidelines set by ICH (2015) (27). In brief, 5 mg of dried algal biomass was mixed with 1 mL of acidified water (0.25% formic acid and 20 mM ammonium formate) and subjected to ultrasonic treatment for 15 minutes (Elmasonic Easy 30H, Elma). The sample was then centrifuged at 6000 rpm (HERMLE Z206A), and the supernatant was filtered through a $0.22 \mu\text{m}$ PTFE filter. The filtrate was collected into an HPLC vial and stored at -18°C in a freezer. The polar extracts were then analyzed using a Shimadzu Nexera X2 UHPLC chromatograph (Japan), coupled with a diode array detector (DAD-SPD M240). The mobile phase consisted of (A) water with 0.25% formic acid and 20 mM ammonium formate, and (B) acetonitrile. The analysis started in isocratic mode, with 100% (A) for 3 minutes, followed by a gradient to 95% (A) over 4 minutes, and then to 50% (A) over 1 minute. The system was then returned to 100% (A) for 3 minutes and equilibrated for 7 minutes before the next injection. The total analysis time was 15 minutes, with an injection volume of $5 \mu\text{L}$. The column temperature was maintained at 25°C , and the flow rate was set to $0.3 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. The detection wavelengths were set at 310 nm, 320 nm, 334 nm, and 360 nm.

Identification of MAAs

The identification of MAAs was carried out using two key parameters: the UV spectrum and the MS/MS spectrum of each chromatographic peak, along with the retention time, which was compared with reference standards. Mass spectra were obtained using a Shimadzu Nexera X2 UHPLC system (Japan) coupled with a qTOF-MS detector. The mass spectrometer (MS) was operated in positive ion mode, with a nitrogen gas temperature set to 350°C and a flow rate of 10 mL.min⁻¹. The nebulizer pressure was set at 45 psi, the sheath gas temperature was 300°C, with a flow rate of 12 mL.min⁻¹. The capillary voltage was set at 3500 V, and the nozzle voltage was 500 V. The analysis of the MAAs was performed in Multiple Reaction Monitoring (MRM) mode for the target MAAs, complemented by a full scan analysis (DIA mode) to verify the presence of other potential MAAs.

MAAs Quantification

A standard solution of P-334, isolated in-house by Urrea-Victoria, was used as a control. Quantification of the standard pattern isolate, Porphyra-334 (P-334), was performed using the calibration curve developed by Urrea-Victoria (22) ($Y = 33276x + 13308$; $R^2 = 0.9995$; LOQ: 0.1460 µg.mL⁻¹; LOD: 0.0438 µg.mL⁻¹). The results were expressed as milligrams of mycosporine-like amino acids (MAAs) per gram of dry weight (DW) of the algae. The concentrations of shinorine, palythine, and asterine-330 were calculated using the same equation. The areas for the quantification of shinorine, palythine, and asterine were determined at their respective maximum absorption wavelengths and corrected using their molar extinction coefficients (ϵ): shinorine (332 nm) = 44,668 M⁻¹.cm⁻¹, palythine (320 nm) = 36,200 M⁻¹.cm⁻¹, and asterine-330 (330 nm) = 43,800 M⁻¹.cm⁻¹, relative to the extinction coefficient of porphyra-334 (334 nm = 42,300 M⁻¹.cm⁻¹).

Results

MAAs profiling in wild-type of *Hypnea* from the Colombian Caribbean

The species *Hypnea musciformis* was the most frequently encountered in the regions of the Colombian Caribbean explored in this study (Santa Marta, Providencia, La Guajira, and San Andrés), aligning with its extensive global distribution (28). Additionally, samples of *H. valentiae* Montagne, *H. cervicornis* Agardh, *H. spinella* J.Agardh, and *H. cf. caraibica* Nauer, Cassano & Oliveira were collected in La Guajira, along with four other samples whose taxonomic identities remain undetermined. These unidentified samples appear to represent different species, distinct from those mentioned above.

The collected samples were analyzed for MAAs content by HPLC-DAD and HPLC-MS/MS. The results showed that most samples contained one predominant MAA (shinorine) and three minor MAAs (palythine, asterine-330, and porphyra-334), along with the relatively rare MAA, mycosporine-glycine-glutamic acid (MGA-Gly) (Figure 3). Identification of these MAAs was achieved through comparisons of retention times with standards, UV absorption maxima, and MS/MS spectral data. The observed values were cross-referenced with existing literature, leading to the identification of five MAAs, summarized in Table SM2.

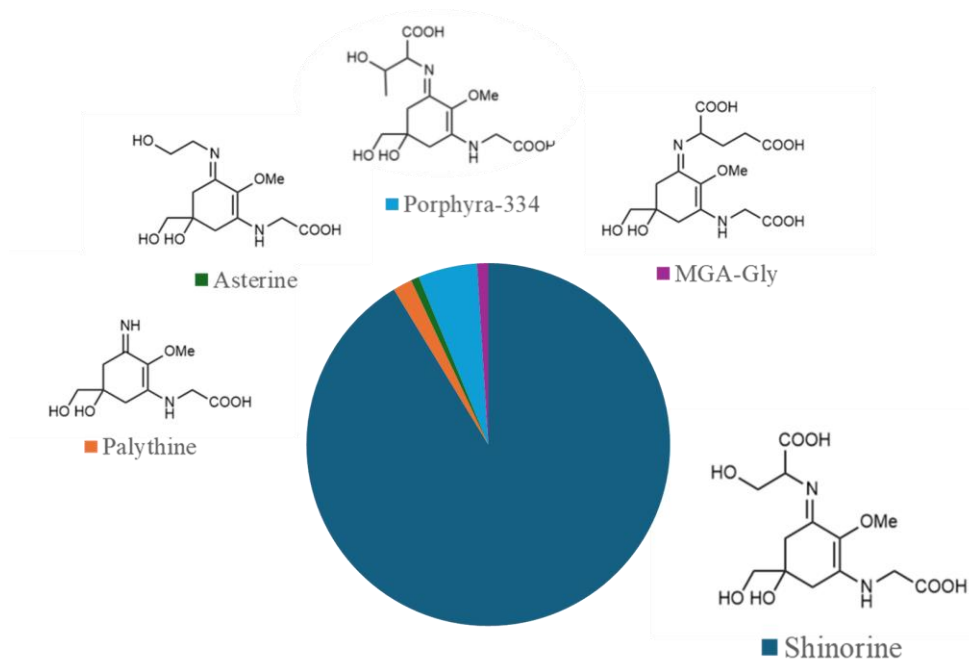


Figure 3. Identified and prevalence distribution of MAAs in *Hypnea* spp. samples collected from the Colombian Caribbean Sea.

Notably, no MAAs were detected in samples of *H. cervicornis* and *H. spinella*. In the case of *H. valentiae*, although MAAs were present, their concentration was too low to be quantified. Among the analyzed samples, *Hypnea* sp. 3 from La Guajira exhibited two MAAs with similar abundances: shinorine and porphyra-334.

The quantification of MAAs was conducted on two *Hypnea* species (*H. musciformis* and *H. cf. caribica*) and four unidentified samples (*Hypnea* sp.1 to *Hypnea* sp.4) (Table 2). Total MAA content for *H. cf. caribica* ranged between 3.27 and 4.60 mg.g⁻¹ DW. Other *Hypnea* samples exhibited the following concentrations: *Hypnea* sp.1 (3.04 mg.g⁻¹ DW), *Hypnea* sp.2 (2.85 mg.g⁻¹ DW), *Hypnea* sp.3 (1.69 mg.g⁻¹ DW), and *Hypnea* sp.4 (2.81 mg.g⁻¹ DW). According to Sun et al. (2020), species within the *Gigartinales* order are classified as high MAA producers, with reported values ranging from 2 to 20 mg.g⁻¹ DW (12).

Table 2. Quantification of MAAs in Environmental Samples of *Hypnea* spp. collected from the Colombian Caribbean. (*, No detected, indicating that MAAs were not detected as they were below the detection limit; **, "Traces" refers to the detection of a specific MAA, but it could not be quantified as it was found below the quantification limit).

Location	Collection date (year)	Shinorine (mg.g ⁻¹ DW)	Palythine (mg.g ⁻¹ DW)	Asterine (mg.g ⁻¹ DW)	Porphyra-334 (mg.g ⁻¹ DW)	Total MAAs (mg.g ⁻¹ DW)	
Santa Marta, Magdalena	2022	1.46	*	**	**	1.46	minimum
	2022	1.92	**	**	**	1.92	
	2022	1.75	**	**	**	1.75	maximum
Santa Marta, Magdalena	2023	6.22	**	**	**	6.22	
Providencia	2021	0.03	0.09	0.01	0.01	0.13	
Musichi, La Guajira	2021	**	*	*	*	**	
Cabo de la Vela, La Guajira	2021	**	*	*	*	**	
Cabo de la Vela, La Guajira	2021	*	*	*	*	*	
Cabo de la Vela, La Guajira	2021	*	*	*	*	*	
Riohacha, La Guajira	2022	4.48	0.01	0.02	0.09	4.60	
	2022	3.01	0.13	0.03	0.10	3.27	
Riohacha, La Guajira	2022	2.94	0.02	*	0.06	3.04	
El Pájaro, La Guajira	2022	0.40	0.11	0.09	0.68	1.27	
El Pájaro, La Guajira	2022	2.58	0.04	0.03	0.20	2.85	
El Pájaro, La Guajira	2022	1.15	0.10	0.04	0.39	1.69	
Riohacha, La Guajira	2022	2.73	0.01	0.01	0.05	2.81	
San Andrés	2022	0.15	0.03	*	0.08	0.26	

In contrast, *H. musciformis* samples collected in Colombia exhibited lower MAA levels, ranging from 0.13 to 1.92 mg.g⁻¹ DW, which is relatively low for Gigartinales (28). However, a noteworthy exception was the *H. musciformis* sample Wt-0903-23 from Santa Marta (2023), which recorded the highest total MAA content in this study (6.22 mg.g⁻¹ DW). This sample was subsequently selected for cultivation studies (*vide ultra*). The lowest concentrations were observed in samples from Providencia and La Guajira, particularly those dried under the sun and stored without freezing. Interestingly, quantifiable MAA content was also found in *H. musciformis* samples from open-sea cultivation in Providencia (2019), despite prolonged storage and sun-drying, underscoring the high stability of MAAs (7). This highlights the potential of drift samples as sources for MAAs.

MAAs profiling in cultured samples of *Hypnea musciformis*

In this study, variations in nitrogen concentration (as nitrates) and the type of incident light into pilot semi-closed systems were evaluated. Despite implementing filtration controls for the water supply to the cultivation raceway, contamination with diatoms was observed after two weeks during the 2022 cultivation, while the second cultivation exhibited the presence of green macroalgae after three weeks (Figure SM1). In the first partial harvest of 2022, conducted after eight days, effective control of external cultivation variables was achieved, resulting in the highest daily growth rate (DGR) of 6.96% ± 2.44 under the 15 mM nitrate treatment. The thalli demonstrated a positive response, displaying visual improvements such as increased brightness, thickness, reddish pigmentation, and the presence of tendrils. Qualitatively, the coral substrate (CS) outperformed the mesh substrate (MS), facilitating stronger attachment, reduced fragmentation, and a higher growth rate. No significant differences in growth were observed between the two light systems assayed during the 2023 harvest.

Regarding the profiling of MAAs in cultivation samples, no additional MAAs were identified, nor were higher shinorine concentrations observed in samples from CS compared to MS. A progressive decline in the abundance of MAAs was noted over time in both the 2022 and

2023 cultivations, relative to the environmental and acclimated samples (Table SM3). By the end of the cultivation period, MAA levels had diminished to trace amounts, despite the 2023 cultivation beginning with an MAA hyperproducing strain.

Discussion

Colombia is a significant reservoir of marine organisms and bioactive marine compounds; however, its marine algae, particularly red algae, remain understudied (29). This paper aims to highlight the abundant red algae of the *Hypnea* genus as a potential source of bioactive compounds. *Hypnea* is a genus of macroalgae belonging to the order Gigartinales. This genus is distributed worldwide across temperate, tropical, and subtropical regions, with 61 accepted species as of 2020 (28). The Atlantic Ocean hosts the highest number of reported species, followed by the Pacific and Indian Oceans. The species with the broadest geographical distribution is *Hypnea musciformis*, which has been reported in the three oceans and in 70 countries (28). In Colombia, species such as *H. musciformis*, *H. cervicornis*, *H. spinella*, and *H. cornuta* have been reported in Santa Marta and Cartagena (30). Additionally, *H. valentiae* has also been documented (31).

Shinorine, the most abundant and widespread MAA in macroalgae from the order Gigartinales (12), was the primary MAA detected across all analyzed *Hypnea* species, even in unidentified *Hypnea* species (*Hypnea* sp.1 to *Hypnea* sp. 4). Additionally, the presence of other minor MAAs relative to shinorine was observed, including palythine, asterine-330, and porphyra-334. Notably, the rare MAA mycosporine-glycine-glutamic acid (MGA-Gly) was detected exclusively in certain *H. musciformis* samples. In the literature, there are reports for *Hypnea* species with high content of shinorine, and others where palythanol and asterine may dominate under certain conditions, including in *H. musciformis* cultivated in IMTA (Integrated Multi-Trophic Aquaculture) systems (10) or collected from natural environments (20).

The concentration of shinorine, and MAAs in general, found in *Hypnea* spp. samples from the Colombian Caribbean are lower than that reported for *Gracilaria* spp. (which can reach up to 8.98 mg.g⁻¹ DW) or *Bryocladia* spp. (which can reach up to 10.39 mg.g⁻¹ DW), algae sample also found in Colombia (21,22). Even more, this value is even lower than that observed in highly cultivated species worldwide, such as certain *Pyropia dentata* (which can reach up to 31.28 mg.g⁻¹ DW) (32). Shinorine holds substantial potential for the cosmetic industry due to its strong antioxidant properties and anti-inflammatory effects following UV exposure. It is also a key component of *Porphyra umbilicalis* extracts used in commercial sunscreen formulations such as Helionori® and Helioguard®, which have demonstrated efficacy in reducing DNA damage from UV-A radiation and providing anti-aging benefits. These benefits include antioxidant activity, inhibition of collagenase enzyme activity, and protection of cellular lipids (3).

A comparative study in Brazil reported MAA concentrations in *H. musciformis* from four subregions. The Northeastern subregion, most similar to Colombian conditions, showed the lowest MAA content (0.2 mg.g⁻¹ DW), with asterine as the predominant MAA. Higher concentrations were recorded in the Southeastern (0.9 mg.g⁻¹ DW, asterine-dominant) and Southern subregions (2.5 mg.g⁻¹ DW, shinorine-dominant), with elevated MAA levels

attributed to stronger upwelling of nutrient-rich waters (20). Colombian samples generally exhibited higher MAA levels than those from Brazil's Northeastern subregion and were qualitatively and quantitatively more comparable to samples from the Southern subregion, likely due to similar upwelling phenomena observed in Santa Marta.

On the other hand, *Hypnea musciformis* has been cultivated globally due to its significance as a source of polysaccharides (17,33). In Colombia, two open-sea cultivation trials of *H. musciformis* have been reported: one in La Guajira (34) and another in Magdalena (19). These studies primarily focused on evaluating the viability of the cultures, with the latter also assessing carrageenan production. Open-sea cultivation systems are considered cost-effective, as they utilize natural resources such as nutrients, sunlight, and salinity. However, these systems are highly vulnerable to environmental factors, including wind, waves, and tides. Additionally, biomass production is often compromised by the presence of epiphytic organisms (both flora and fauna) that either deposit on or consume the algae, thereby reducing yields (35). In contrast, laboratory cultivation offers greater control over these adverse conditions but requires substantial infrastructure investment.

Here, this study presents the first implementation of a semi-closed laboratory cultivation system for *H. musciformis* in Colombia. Our results showed that algae can survive in these conditions, but semi-closed cultured samples showed MAAs content is lower than wild type samples. This trend is consistent with findings by Figueroa (2011), who reported a similar reduction in MAA production over time in both indoor and outdoor cultures of *Hydropuntia cornea* (Rhodophyta) (36) .

Previous studies have indicated that MAA production is influenced by factors such as nitrogen availability, the incidence of PAR, UVR, and a range of other variables, making this process complex and flexible in its establishment (10,37). The light intensity in the system used in this study may have been lower than anticipated due to the presence of polypropylene ropes, baskets, and meshes, as well as water bubbling and the formation of precipitates in the enriched culture medium. Additionally, as the cultivation was conducted under artificial light in the laboratory, there was no exposure to UVR, which would have otherwise prompted the production of these compounds. This finding aligns with a study conducted by Briani et al., (20) along the Brazilian coast, which demonstrated that UVR is the primary factor affecting MAA concentration, outweighing other factors such as nutrient availability and water pH.

Conclusions

The study of MAAs in *Hypnea* species from the Colombian Caribbean highlights their potential in the cosmetic industry, particularly as natural sunscreens. Although the concentrations are lower than in other commercial macroalgae, the presence and diversity of MAAs in both natural and cultivated conditions demonstrate their viability. Semi-closed cultivation of *H. musciformis* shows that mariculture can be developed in Colombia, though environmental conditions need optimization to improve production. This work opens opportunities for the sustainable production of bioactive compounds with commercial and environmental applications.

Conflicts of interest

The authors declare no conflict of interest in the present investigation.

Authors' contributions

JG-T, DV, and VU-V conceived the idea and developed the methodology under the supervision of GR, MP, FAR, GC and LC. DV, MP and VU-V were responsible for collecting samples. JG-T, VU-V and LC led the manuscript writing, with support from all the authors. All the authors contributed to the reviewing and editing of the manuscript.

Acknowledgment

The Ministerio de Ciencias de la República de Colombia, and the National University of Colombia for the project 'BALCAR-Q: Bioprospection and Chemistry of Caribbean Algae' (1101-852-69964). Additionally, the Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible de la República de Colombia for permit No. 121 of January 22, 2016 (modified with amendment No. 7), and the Programa de Jóvenes Investigadores associated with Financing Contract No. 80740-739-2020.

References

1. Blaustein AR, Searle C. Ultraviolet Radiation. In: *Encyclopedia of Biodiversity*. Elsevier; 2013:296-303. doi:10.1016/B978-0-12-384719-5.00147-7
2. Hudson L, Rashdan E, Bonn CA, Chavan B, Rawlings D, Birch-Machin MA. Individual and combined effects of the infrared, visible, and ultraviolet light components of solar radiation on damage biomarkers in human skin cells. *The FASEB Journal*. 2020;34(3):3874-3883. doi:10.1096/fj.201902351RR
3. Chrapusta E, Kaminski A, Duchnik K, Bober B, Adamski M, Bialczyk J. Mycosporine-Like Amino Acids: Potential Health and Beauty Ingredients. *Marine Drugs*. 2017;15(10):326. doi:10.3390/md15100326
4. Saewan N, Jimtaisong A. Natural products as photoprotection -. *Journal of Cosmetic Dermatology*. 2015;14(1):47-63. doi:https://doi.org/10.1111/jocd.12123
5. Lombardini ED, Pacheco-Thompson M, Melanson MA. Radiation and Other Physical Agents. In: *Haschek and Rousseaux's Handbook of Toxicologic Pathology*. Vol II. Third Edition. Academic Press; 2013:1421-1503. Accessed January 16, 2025. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780124157590000443>
6. Bandaranayake WM. Mycosporines: are they nature's sunscreens? *Nat Prod Rep*. 1998;15(2):159-172. doi:10.1039/A815159Y
7. Geraldés V, Pinto E. Mycosporine-Like Amino Acids (MAAs): Biology, Chemistry and Identification Features. *Pharmaceuticals*. 2021;14(1):63. doi:https://doi.org/10.3390/ph14010063
8. Mishra S, Sinha RP. Biotechnological exploitation of cyanobacterial photoprotective metabolites. *Vegetos*. 2022;35(2):281-297. doi:10.1007/s42535-022-00347-w

9. Sinha RP, Singh SP, Häder DP. Database on mycosporines and mycosporine-like amino acids (MAAs) in fungi, cyanobacteria, macroalgae, phytoplankton and animals. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2007;89(1):29-35. doi:10.1016/j.jphotobiol.2007.07.006
10. Ashkenazi DY, Figueroa FL, Korbee N, et al. Enhancing Bioproducts in Seaweeds via Sustainable Aquaculture: Antioxidant and Sun-Protection Compounds. *Marine Drugs*. 2022;20(12):767. doi:10.3390/md20120767
11. de la Coba F, Aguilera J, Korbee N, et al. UVA and UVB Photoprotective Capabilities of Topical Formulations Containing Mycosporine-like Amino Acids (MAAs) through Different Biological Effective Protection Factors (BEPFs). *Marine Drugs*. 2019;17(1):55. doi:10.3390/md17010055
12. Sun Y, Zhang N, Zhou J, et al. Distribution, Contents, and Types of Mycosporine-Like Amino Acids (MAAs) in Marine Macroalgae and a Database for MAAs Based on These Characteristics. *Marine Drugs*. 2020;18(1):43. doi:10.3390/md18010043
13. Elhady SS, Habib ES, Abdelhameed RFA, et al. Anticancer Effects of New Ceramides Isolated from the Red Sea Red Algae *Hypnea musciformis* in a Model of Ehrlich Ascites Carcinoma: LC-HRMS Analysis Profile and Molecular Modeling. *Marine Drugs*. 2022;20(1):63. doi:10.3390/md20010063
14. Rozo G, Rozo C, Puyana M, Ramos FA, Almonacid C, Castro H. Two compounds of the Colombian algae *Hypnea musciformis* prevent oxidative damage in human low density lipoproteins LDLs. *Journal of Functional Foods*. 2019;60:103399. doi:10.1016/j.jff.2019.06.001
15. Brito TV, Barros FC, Silva RO, et al. Sulfated polysaccharide from the marine algae *Hypnea musciformis* inhibits TNBS-induced intestinal damage in rats. *Carbohydrate polymers*. 2016;151:957-964.
16. Mahmood K, Tabasum S, Nasif M, et al. A review on synthesis, properties and applications of natural polymer based carrageenan blends and composites. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2017;96:282-301. doi:10.1016/j.ijbiomac.2016.11.095
17. Mohiuddin Md, Banik U, Iqbal MZ, et al. Influence of cultivation systems and associated environmental factors on the growth performance of *Hypnea musciformis* seaweed at the south-east coast of the Bay of Bengal, Bangladesh. *Aquaculture Reports*. 2023;32:101718. doi:10.1016/j.aqrep.2023.101718
18. Pereira S, Kimpara JM, Valenti WC. A simple substrate to produce the tropical epiphytic algae *Hypnea pseudomusciformis*. *Aquacultural Engineering*. 2020;89:102066. doi:10.1016/j.aquaeng.2020.102066
19. Camacho O, Fernández JM. Cultivo experimental en el mar del alga roja *Hypnea musciformis* en el área de Santa Marta, Caribe colombiano. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*. 2012;41(1). doi:10.25268/bimc.invemar.2012.41.1.71

20. Briani, Sissini M, Lucena L, et al. The influence of environmental features in the content of mycosporine-like amino acids in red marine algae along the Brazilian coast. *Journal of Phycology*. 2018;54(3):380-390. doi:<https://doi.org/10.1111/jpy.12640>
21. Urrea-Victoria V, Geraldes V, Pinto E, Castellanos L. Photosynthetic pigments and photoprotective metabolites of Colombian pacific marine macroalgae in response to contrasting ultraviolet-index periods. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 2023;564:151908. doi:10.1016/j.jembe.2023.151908
22. Urrea-Victoria V, Costa GM, Gavio B, Ramos Rodríguez FA, Castellanos L. Mycosporine-like-Amino Acids profile in Red Algae from High UV-Index geographical areas (San Andrés Island and La Guajira) of the Colombian Caribbean Coast. *Algal Research*. Published online 2025.
23. Littler DS. *Marine Plants of the Caribbean: A Field Guide from Florida to Brazil*. AirLife; 1989.
24. Nauer F, Jesus PB, Cassano V, Nunes JMC, Schnadelbach AS, Oliveira MC. A taxonomic review of the genus *Hypnea* (Gigartinales, Rhodophyta) in Brazil based on DNA barcode and morphology. *Braz J Bot*. 2019;42(3):561-574. doi:10.1007/s40415-019-00544-z
25. AlgaeBase :: Listing the World's Algae. Accessed January 16, 2025. <https://www.algaebase.org/>
26. Anderson RA. *Algal Culturing Techniques, 1st Edition*. Vol 53.; 2005. doi:10.1017/CBO9781107415324.004
27. Singh J. International conference on harmonization of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. *J Pharmacol Pharmacother*. 2015;6(3):185-187. doi:10.4103/0976-500X.162004
28. Yokoya NS, Nauer F, Oliveira MC. Concise review of the genus *Hypnea* J.V.Lamouroux, 1813. *J Appl Phycol*. 2020;32(6):3585-3603. doi:10.1007/s10811-020-02209-x
29. Bautista CA, Puentes CA, Vargas-Peláez CM, et al. The state of the art of marine natural products in Colombia. *Rev Colomb Quim*. 2022;51(1). doi:10.15446/rev.colomb.quim.v51n1.100644
30. Schnetter R, Schnetter ML. Notas sobre unas especies del orden Gigartinales (Rhodophyceae) en la costa Atlántica de Colombia. *Bol Investig Mar Costeras*. 1967;1:45-52. doi:<https://doi.org/10.25268/bimc.invemar.1967.1.0.605>
31. Rincón-Díaz MN, Brigitte G, Montoya-Cadavid E, Bohorquez J. Diversidad de Macroalgas Marinas del Caribe colombiano. Sistema de informacion sobre biodiversidad marina. Accessed August 6, 2019.

https://ipt.biodiversidad.co/sibm/resource?r=macroalgas_caribe_colombia#citation

32. Kim W, Kim JY, Jeong SJ, Yang HC, Cho JY. Physicochemical characteristics and antioxidant activities of laver cultivars harvested at different times. *Korean J Food Preserv.* 2021;28(6):705-715. doi:10.11002/kjfp.2021.28.6.705
33. Cosenza VA, Navarro DA, Fissore EN, Rojas AM, Stortz CA. Chemical and rheological characterization of the carrageenans from *Hypnea musciformis* (Wulfen) Lamouroux. *Carbohydrate polymers.* 2014;102:780-789.
34. Delgadillo Garzon O, Newmark F. Cultivo piloto de macroalgas rojas (Rhodophyta) en bahía Portete, La Guajira, Colombia. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras.* 2008;37(2):7-26. doi:<https://doi.org/10.25268/bimc.invenmar.2008.37.2.188>
35. Arias-Echeverri JP, Zapata-Ramírez PA, Ramírez-Carmona M, Rendón-Castrillón L, Ocampo-López C. Present and Future of Seaweed Cultivation and Its Applications in Colombia. *Journal of Marine Science and Engineering.* 2022;10(2):243. doi:10.3390/jmse10020243
36. Figueroa FL, Korbee N, Abdala R, et al. Biofiltration of fishpond effluents and accumulation of N-compounds (phycobiliproteins and mycosporine-like amino acids) versus C-compounds (polysaccharides) in *Hydropuntia cornea* (Rhodophyta). *Marine Pollution Bulletin.* 2012;64(2):310-318. doi:10.1016/j.marpolbul.2011.11.012
37. Karsten U, Franklin LA, Lüning K, Wiencke C. Natural ultraviolet radiation and photosynthetically active radiation induce formation of mycosporine-like amino acids in the marine macroalga *Chondrus crispus* (Rhodophyta). *Planta.* 1998;205(2):257-262. doi:10.1007/s004250050319

Supplementary material

Figure SM1. Photographs of *Hypnea musciformis* samples from the first partial harvest, showing thalli in a bright and healthy condition: A) Coral Substrate and B) Mesh Substrate. Images of system contamination with C) diatoms and D) green macroalgae.

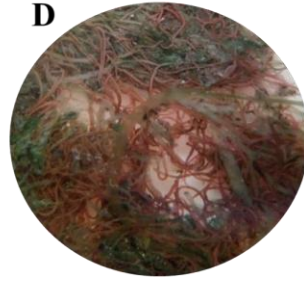
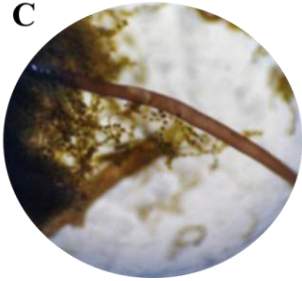
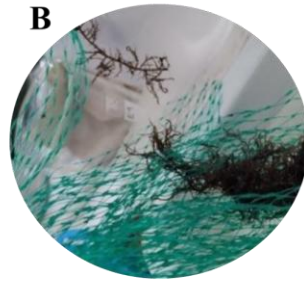


Table SM1. Harvested samples of *Hypnea musciformis* cultivated in a pilot semi-closed system in Santa Marta used for MAA analysis.

First trial (2022) with white light and varying nitrate concentrations						
Wild Type sample	Acclimated Sample	0 mM	5mM	15 mM	25 mM.	Observation
Wt-2809-22	A-Wt-2809-22	0-p1-22 Replicates 1-3	5-p1-22 Replicates 1-3	15-p1-22 Replicates 1-3	25-p1-22 Replicates 1-3	Partial Harvest 1
		0-k1-22 Replicates 1-3	5-k1-22 Replicates 1-3	15-k1-22 Replicates 1-3	25-k1-22 Replicates 1-3	Full Harvest 1
Second trial (2023) with white and white/blue light and varying nitrate concentrations						
Wild Type sample	Acclimated Sample	5mM		15 mM		Observation
		White light	white/blue light	White light	white/blue light	
Wt-0309-23	A-Wt-0309-23-R1	5-B-23	5-AB-23	15-B-23	15-AB-23	Full Harvest 1
	A-Wt-0309-23-R2	Replicates 1-3	Replicates 1-3	Replicates 1-3	Replicates 1-3	

Table SM2. Identified MAAs in *Hypnea* spp. samples.

MAAs	tr (min)	UV λ_{\max} (max)	[M+H]⁺	MS/MS [1][2] [3][4]	Samples/species
Shinorine	1.59	334 nm	333.1267	137; 182; 186; 187; 197; 211; 230; 255; 265; 300	<i>Hypnea musciformis</i> <i>Hypnea valentiae</i> <i>Hypnea</i> cf. <i>caraibica</i> <i>Hypnea</i> sp.1 <i>Hypnea</i> sp.2 <i>Hypnea</i> sp.3 <i>Hypnea</i> sp.4
Palythine	1.90	320 nm	245.1130	137; 150; 186	<i>Hypnea musciformis</i> <i>Hypnea</i> cf. <i>caraibica</i> <i>Hypnea</i> sp.1 <i>Hypnea</i> sp.2 <i>Hypnea</i> sp.3 <i>Hypnea</i> sp.4
Asterine-330	2.26	330 nm	289.1386	186; 230; 274	<i>Hypnea musciformis</i> <i>Hypnea</i> cf.

MAAs	tr (min)	UV λ_{\max} (max)	[M+H] ⁺	MS/MS [1][2] [3][4]	Samples/species
					<i>caraibica</i> <i>Hypnea</i> sp.2 <i>Hypnea</i> sp.3 <i>Hypnea</i> sp.4
Porphyra-334	2.77	334 nm	347.1444	137; 168; 186; 227, 244; 288; 303	<i>Hypnea</i> <i>musciformis</i> <i>Hypnea valentiae</i> <i>Hypnea</i> cf. <i>caraibica</i> <i>Hypnea</i> sp.1 <i>Hypnea</i> sp.2 <i>Hypnea</i> sp.3 <i>Hypnea</i> sp.4
Mycosporine- Glycine- Glutamic Acid (MGA-Gly)	4.24	330 nm	375.0970	118; 176; 192; 228; 258; 331	<i>Hypnea</i> <i>musciformis</i>

[1]. K. H. M. Cardozo *et al.*, "Analyses of photoprotective compounds in red algae from the Brazilian coast," *Rev. Bras. Farmacogn.*, vol. 21, no. 2, pp. 202–208, 2011, doi: 10.1590/S0102-695X2011005000047.

[2] V. Geraldes, F. R. Jacinavicius, D. B. Genuário, and E. Pinto, "Identification and distribution of mycosporine-like amino acids in Brazilian cyanobacteria using ultrahigh-performance liquid chromatography with diode array detection coupled to quadrupole time-of-flight mass spectrometry," *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, vol. 34, no. S3, 2020, doi: 10.1002/rcm.8634.

[3] "GNPS: Global Natural Products Social Molecular Networking," *Shinorine- library spectrum*.

<https://gnps.ucsd.edu/ProteoSAFe/gnpslibraryspectrum.jsp?SpectrumID=CCMSLIB00005436494>

[4] "GNPS: Global Natural Products Social Molecular Networking," *Palythine-library spectrum*.

<https://gnps.ucsd.edu/ProteoSAFe/gnpslibraryspectrum.jsp?SpectrumID=CCMSLIB00000574579>

Table SM3. Quantification of MAAs in harvest samples of *Hypnea musciformis* cultivated in a pilot semi-closed system in Santa Marta.

First trial (2022) with white light and variation in nitrate concentration.						
Type of sample	Sample code	MAAs (mg.g ⁻¹ DW)				
		shinorina UV λ_{max} = 333 nm	palythina UV λ_{max} = 320 nm	asterine- 330 UV λ_{max} = 330 nm	porphyra- 334 UV λ_{max} = 334 nm	Total MAAs (mg.g ⁻¹ DW)
Wild type	Wt-2809-22	1,46	0,00	0,00	0,00	1,46
Acclimated sample	A-Wt-2809-22	1,43	0,00	0,01	0,00	1,44
Cultured sample	Assays 0mM, 5mM, 15mM, 25mM Partial harvest 1	In all cases, only trace amounts of MAAs were detected.				
	Assays 0mM, 5mM, 15mM, 25mM Full harvest 1	In all cases, only trace amounts of MAAs were detected.				
Second trial (2023) with white light and white/blue light, and variation in nitrate concentration.						
Wild type	Wt-0309-23	6.22	0,00	0,00	0,00	6.22
Acclimated sample	A-Wt-0309-23- R1	1,75	0,00	0,00	0,00	1,75
Cultured	Assay 5mM, 15mM, and					

sample	white LED light 5mM, 15mM, and blue and white LED light Full harvest 1	In some cases, just trace amounts of MAAs were detected.
---------------	--	--