

## MANTENCION INTERANUAL DE LOS NIVELES PRODUCTIVOS Y DEL RENDIMIENTO DE AGAR DE *GRACILARIA CHILENSIS* CULTIVADA EN ESTANQUES EN EL SUR DE CHILE

CLAUDIA A. RETAMALES<sup>1</sup>, ALEJANDRO MARTINEZ<sup>1</sup> Y ALEJANDRO H. BUSCHMANN<sup>1</sup>

**ABSTRACT:** Retamales, C.A.; Martínez, A. & A.H. Buschmann. 1994. Long term productivity and agar yield of *Gracilaria chilensis* tank culture in southern Chile. Revista de Biología Marina, Valparaíso 29(2): 251-261.

The present study evaluates the capacity of *Gracilaria chilensis* to maintain a high level of productivity over long term periods. The biomass production and the agar yield of the same initial algal inoculum were compared during a period of 2 years. Furthermore, the biomass production and agar yield of *G. chilensis* maintained in an intensive cultivation system over a two year period and a new inoculum collected from the same locality are also compared. All these experiments were carried out by cultivating the algae in landbased tanks using salmon seawater effluents rich in nutrients. The results obtained from the comparison between the biomass production of *G. chilensis* during the spring season of 1991 and 1992 showed no statistical difference, their values fluctuating between 80 and 220 g m<sup>-2</sup>day<sup>-1</sup>. The agar yield of *G. chilensis* also showed no significant difference between the two years. The second experiment carried out during 1992, comparing the old and new *G. chilensis* inoculum, also indicated that the inocula did not differ in biomass production potential. In relation to the agar yield the second experiment indicated significant differences during the first part of the experiment, but during the second month of the experiment no significant differences in the agar yield of both inocula were detected. This study concludes that it is possible to maintain high *G. chilensis* production standards in an intensive culture system over a period of two years.

**Key words:** Long term productivity, *Gracilaria chilensis*, tank culture.

**RESUMEN:** Retamales, C.A.; Martínez, A. & A.H. Buschmann. 1994. Mantención interanual de los niveles productivos y del rendimiento de agar de *Gracilaria chilensis* cultivada en estanques en el sur de Chile. Revista de Biología Marina, Valparaíso 29(2): 251-261.

El presente trabajo evaluó la capacidad que *Gracilaria chilensis* tiene para mantener un nivel productivo por un tiempo prolongado comparando la producción de biomasa y el rendimiento de agar de un mismo inóculo de *G. chilensis* cultivado intensivamente durante primavera en dos años consecutivos. Además, se compara la producción de biomasa y el rendimiento de agar de *G. chilensis* mantenido en cultivo durante dos años en los estanques con un nuevo inóculo colectado en la misma localidad. Todos los experimentos se realizaron utilizando un sistema de cultivo intensivo de salmonídeos en estanques del cual se utilizaron sus efluentes ricos en nutrientes para el cultivo de *G. chilensis*. Al comparar la producción de biomasa de *G. chilensis* durante la primavera de 1991 y 1992 no se apreciaron diferencias significativas entre ellas alcanzando, en ambos casos, valores que fluctuaron entre 80 y 220 g m<sup>-2</sup>día<sup>-1</sup>. Tampoco se encontró diferencias significativas en el rendimiento de agar por el período septiembre a octubre entre el inóculo cultivado en la primavera y la segunda temporada. Sin embargo, hubo diferencias significativas en el período noviembre a diciembre, con un incremento del rendimiento durante 1992 con respecto a 1991. Además, se constató que la producción de biomasa en experimentos realizados durante la primavera de 1992 no muestra diferencias significativas al comparar la productividad de este inóculo con dos años de cultivo en los estanques y un inóculo nuevo, pero de una misma procedencia. En relación al rendimiento de agar se observaron diferencias significativas en el mes de noviembre entre el inóculo antiguo y el nuevo en los estanques de cultivo. Sin embargo, estas diferencias no fueron significativas durante el mes de diciembre. Se concluye que, al menos dentro del período de cultivo intensivo de 2 años, *G. chilensis* puede mantenerse comercialmente productiva.

**Palabras claves:** Cultivo en estanques, *Gracilaria chilensis*, productividad interanual.

1) Universidad de Los Lagos, Departamento de Acuicultura, Casilla 933, Osorno, Chile.

## INTRODUCCION

El género *Gracilaria* ha sido durante las últimas décadas un alga de gran interés comercial, principalmente por la calidad de sus geles (Santelices & Doty 1989). Por esta razón se ha intentado cultivar esta alga roja en diferentes tipos de sistemas tanto abiertos en el fondo marino como suspendido y utilizando sistemas semi-cerrados de piletas y estanques (Santelices & Doty 1989). El cultivo de especies de *Gracilaria* y otras agarófitas en estanques ha sido realizado en diferentes latitudes y presenta diversas ventajas con respecto al cultivo en piletas o en sistemas abiertos (Neish 1979, Ryther *et al.* 1979, Bidwell *et al.* 1985). En Chile, el cultivo en estanques ha sido realizado a una escala experimental y sus resultados no son totalmente concluyentes. Edding *et al.* (1987) obtuvo producciones de 15 a 17 g (peso seco)  $m^{-2}día^{-1}$  (promedio anual) utilizando 2 kg (peso húmedo)  $m^{-2}$  de biomasa inicial y renovando el inóculo todos los meses. Ugarte & Santelices (1992) realizaron un estudio donde redujeron la frecuencia de la aireación y la tasa de reemplazo del agua de mar en los estanques, manteniendo el alga por un período de 13 meses en cultivo. Sin embargo, los resultados de Ugarte & Santelices (1992) muestran que la producción de biomasa disminuyó desde valores que fluctuaron entre 100 a 140g  $m^{-2}día^{-1}$  durante el verano de 1987 hasta valores que no superaron los 60g  $m^{-2}día^{-1}$  durante la primavera y verano siguientes. Por ello, aún existen dudas sobre la capacidad de *Gracilaria chilensis* Bird, McLachlan & Oliveira, para mantenerse productiva durante períodos prolongados de tiempo.

Para evaluar la capacidad de *G. chilensis* cultivada en estanques usando efluentes de salmonídeos de mantener un nivel productivo durante un período de tiempo prolongado, se comparó la producción de biomasa y el rendimiento de agar de un mismo inóculo en dos épocas de crecimiento consecutivas y se comparó la productividad y rendimiento de gel del inóculo mantenido en cultivo durante dos años en los estanques con un nuevo inóculo, colectados ambos en la misma localidad.

## MATERIALES Y METODOS

El presente estudio se llevó a cabo en la zona de Metri (41°36'S; 72°43'W) ubicado a 30 km al Sur-Este de la ciudad de Puerto Montt (Fig. 1). En esta localidad se instaló durante 1991 un módulo experimental para el cultivo mixto de salmonídeos y de *G. chilensis* (Fig. 2). El cultivo de *G. chilensis* comenzó en enero de 1991 y se prolongó en términos ininterrumpidos hasta enero de 1993. El sistema de cultivo de *G. chilensis* y las condiciones de cultivo se describe en detalle en Buschmann *et al.* (1994). Los efluentes provenientes del cultivo intensivo de peces fueron aprovechados para cultivar el alga en estanques tipo "raceways" de 2500 l divididos en 5 celdillas de 500 l cada una, teniendo cada celdilla una superficie de 0,62  $m^2$  y una profundidad de 0,8 m. Los estanques fueron instalados al aire libre, se les suministraba un flujo de aire (18 a 20 l/min por celdilla) con un soplador de grafito que mantenía al alga dentro de cada una de las celdillas rotando durante todo el período diurno y no se adicionó  $CO_2$ . El agua suministrada a las celdillas utilizadas en estos experimentos provenía en su totalidad de los

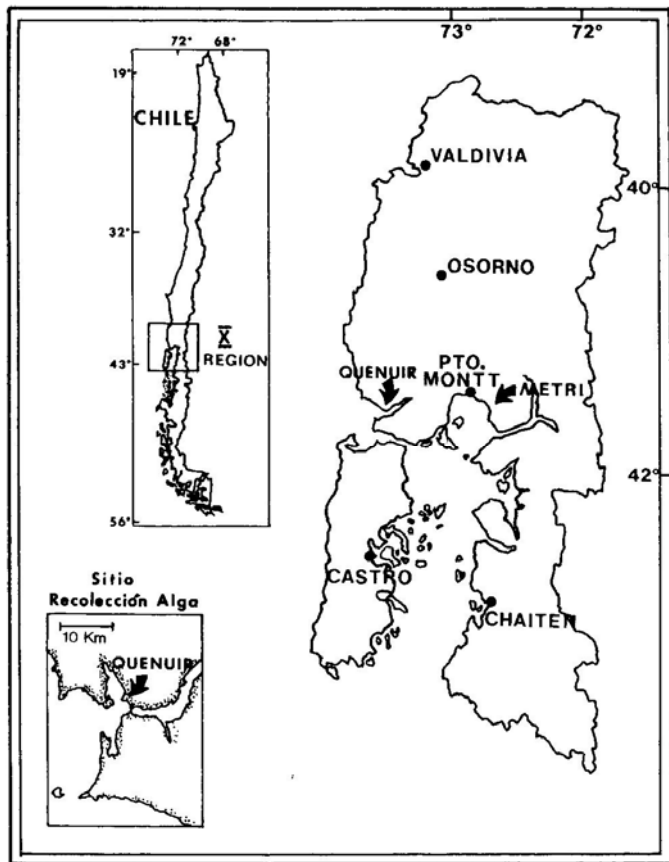


Fig. 1. Ubicación de las localidades de Metri, donde se llevaron a cabo las experiencias de cultivo, y Quenuir, lugar de procedencia del inóculo utilizado en este estudio, en la Xa Región, Chile.

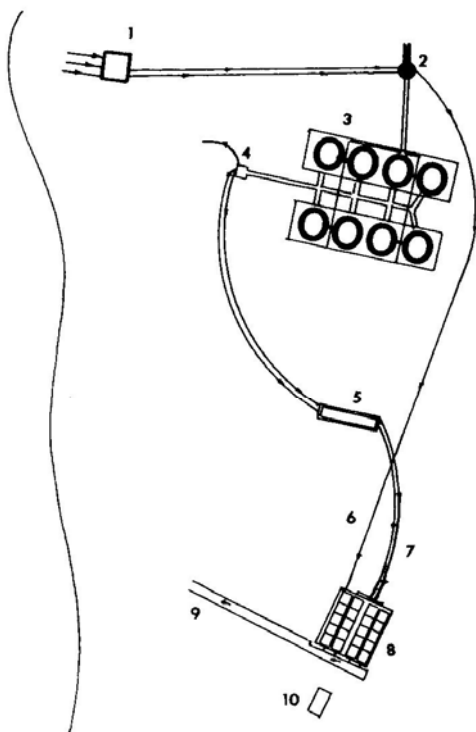


Fig. 2. Disposición de los estanques de cultivo de peces y algas en Metri. 1: caseta de bombeo de agua; 2: estanque de distribución del agua a los estanques para el cultivo de peces; 3: ocho estanques circulares de  $8 \text{ m}^3$  cada uno para el cultivo de *Oncorhynchus kisutch* y *O. mykiss*; 4: recolección de los efluentes de los peces; 5: decantador de partículas sólidas; 6: cañería con agua de mar bombeada directamente a los estanques de algas; 7: cañerías de efluentes de peces; 8: cuatro "raceways" de  $2500 \text{ l}$  cada uno para el cultivo de *Gracilaria* en celdillas de  $500 \text{ l}$  cada una; 9: desagüe de estanques de algas, y 10: sopladores de aire.

estanques utilizados para el cultivo de salmonídeos considerando una tasa de renovación diaria de 10 veces del volumen total. Los efluentes de peces eran aguas con concentraciones de nitratos de 4,23 a 5,24  $\mu\text{g-at/l}$ , fosfatos de 2,94 a 4,66  $\mu\text{g-at/l}$  y amonio de 12,03 a 13,95  $\mu\text{g-at/l}$  (Buschmann *et al.* 1994).

Todos los experimentos que se describen en este trabajo se realizaron utilizando un inóculo inicial de 3 kg  $\text{m}^{-2}$ . Durante los 25 meses que se mantuvo el inóculo de *G. chilensis* en cultivo este fue mantenido en las celdillas removiendo parcialmente la biomasa cada quince días, para llevar el inóculo a su peso inicial nuevamente. El inóculo de *G. chilensis* fue obtenido del estuario de Quenuir (Fig. 1), lugar donde se realizan prácticas de cultivo abierto de esta alga agarófito y ha sido previamente utilizado en estudios experimentales en Bahía Metri indicando su aclimatación a las condiciones ambientales locales (Kuschel & Buschmann 1991, Buschmann *et al.* 1992, Bravo *et al.* 1992).

Dos tipos de experimentos fueron llevados a cabo para someter a prueba la hipótesis de una eventual pérdida de la capacidad productiva de *G. chilensis* en el tiempo al estar sometida a condiciones de producción intensiva. La primera experiencia consistió en instalar 3 celdillas de cultivo, las cuales fueron repetidas mensualmente desde septiembre de 1991 hasta diciembre de 1992. Debido a que las primeras experiencias se comenzaron los primeros días de enero de 1991, el alga utilizada durante septiembre de 1991 y septiembre de 1992 tenían al inicio de la experiencia 9 y 21 meses de cultivo, respectivamente. La producción de bio-

masa húmeda se determinó restando a la biomasa final, el peso del inóculo inicial de cada celdilla y estandarizando posteriormente por el número de días que duró el período de crecimiento (15 días) y por el área de la celdilla. Los valores de producción fueron expresados en  $\text{g m}^{-2} \text{ día}^{-1}$ . El rendimiento de agar (% en peso seco) se determinó mensualmente y en triplicado siguiendo la metodología descrita por Cancino & Orellana (1987). Se comparó la producción de biomasa húmeda y el rendimiento de agar de *G. chilensis* cultivada durante la primavera de 1991 con la cultivada durante la primavera de 1992, para lo cual se utilizó un análisis de varianza de una vía (Sokal & Rohlf 1979). Previo al análisis estadístico, se procedió a transformar logarítmicamente los datos de producción y angularmente los datos de rendimiento de agar para homogeneizar las varianzas, la cual se sometió a prueba utilizando la prueba de Bartlett.

El segundo tipo de experimento consistió en comparar la productividad y el rendimiento de agar de *G. chilensis* que se encontraba 24 y 25 meses en condiciones de cultivo intensivo ininterrumpido en estanques utilizando los efluentes de peces, con un nuevo inóculo obtenido en la misma localidad del inóculo original (Quenuir, Fig. 1). Cada uno de los dos tratamientos (inóculo antiguo e inóculo nuevo) fue montado en triplicado y la producción de biomasa así como el rendimiento de agar fueron obtenidos de la misma forma que en el primer experimento. Los datos fueron analizados estadísticamente utilizando análisis de varianza de una vía para cada uno de los meses por separado, debido a que al no reemplazar el inóculo, las

muestras no son independientes en el tiempo (Sokal & Rohlf 1979). Previo al análisis estadístico los datos fueron transformados siguiendo los criterios señalados en el párrafo anterior.

La temperatura del agua, el pH, la radiación solar y el porcentaje de cielo totalmente cubierto (nubosidad) se determinaron durante la primavera de 1991 y 1992. La temperatura del agua de mar se determinó diariamente con un termómetro ( $\pm 0,5^\circ\text{C}$  de sensibilidad) a las 8:00, 12:00, 15:00 y 18:00 h. El pH se determinó a intervalos de 5 a 7 días a las 8:00, 12:00, 15:00 y 18:00 h en los estanques de cultivo con un pH-metro portátil Extech ( $\pm 0,01$  de sensibilidad). La radiación solar acumulada entre las 12 y las 15 h se determinó diariamente utilizando un radiómetro Li-Cor Modelo LI-1000. El porcentaje de nubosidad total se calculó a partir del número de observaciones que presentaban una cubierta nubosa de un 100 %, y el número de días observados. Para la temperatura del agua, la radiación solar y el pH se calcularon los valores promedios, mínimos y máximos para los períodos septiembre a octubre y noviembre a diciembre de cada año.

## RESULTADOS

La radiación solar durante la primavera tuvo valores mínimos desde 154 a 247 Wh/m durante 1991 y 1992 y valores máximos superiores a los 2500 Wh/m<sup>2</sup> (Fig. 3A). Además, el porcentaje de días totalmente cubierto tiende a aumentar en el segundo año del estudio, por sobre un 10 % de los días tanto en septiembre-octubre como en el período de noviembre-diciembre (Fig. 3B). La temperatura del agua fluctuó entre 9,5 y 16,0°C durante

septiembre y octubre de 1991, entre 7,3 y 15,2°C durante el mismo período de 1992, entre 11,5 y 19,5°C en noviembre y diciembre de 1991 y entre 9,2 y 17°C del mismo período de 1992 (Fig. 3C). El pH varió de 7,6 a 8,5 y de 7,7 a 8,7 durante septiembre y octubre de 1991 y 1992 respectivamente y de 8,0 a 8,2 y de 7,7 a 9,3 durante noviembre y diciembre de 1991 y 1992 respectivamente (Fig. 3D). Puede observarse que para ninguno de estos cuatro factores se puede apreciar diferencias entre las condiciones ambientales reinantes durante la primavera de 1991 y 1992.

Al comparar la producción de biomasa de *G. chilensis* durante septiembre-octubre de 1991 y 1992 no se aprecian diferencias significativas ( $F = 2,45$ ;  $P > 0,13$ ) entre ellas alcanzando en ambos casos, valores promedio que fluctuaron entre 80 y 120 g m<sup>-2</sup>día<sup>-1</sup> (Fig. 4A). La producción de biomasa de *G. chilensis* durante noviembre-diciembre de 1991 y 1992 no presenta diferencias significativas ( $F = 1,15$ ;  $P > 0,29$ ) entre ellas alcanzando en ambos casos, valores promedio que fluctuaron entre 160 y 220 g m<sup>-2</sup>día<sup>-1</sup> (Fig. 4A).

El rendimiento de agar de *G. chilensis* durante septiembre-octubre de 1991 y 1992 no tuvo diferencias significativas ( $F = 3,99$ ;  $P > 0,07$ ) entre el inóculo cultivado en el primer año, respecto al segundo año con valores que fluctuaron entre el 13 % y el 18 % (Fig. 4B). Sin embargo, el rendimiento de agar de *G. chilensis* de noviembre a diciembre de 1991 y 1992 incrementó significativamente ( $F = 65,27$ ;  $P < 0,001$ ) (Fig. 4B) desde un 12 % a un 20 %.

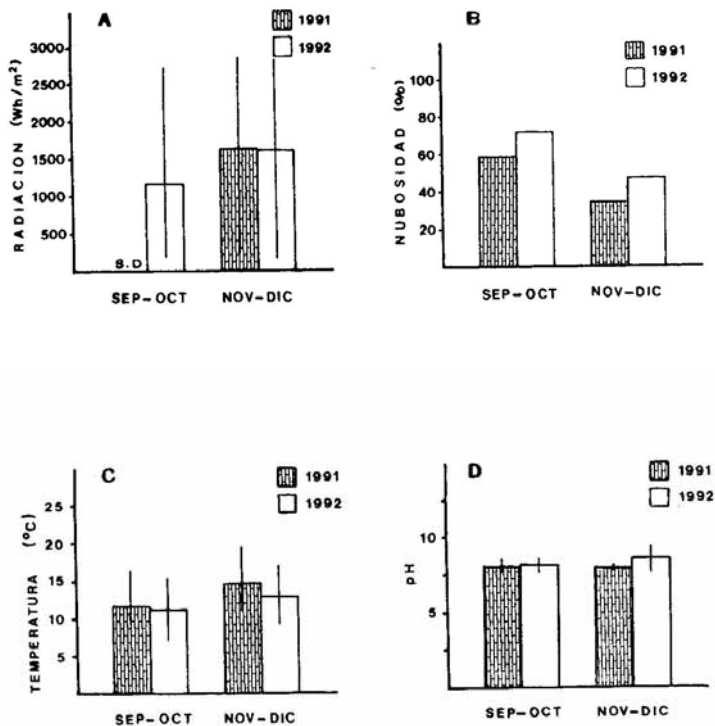


Fig. 3. Magnitud de cuatro variables ambientales medidas en Metri durante dos períodos (septiembre-octubre y noviembre-diciembre) de la primavera de 1991 y 1992. A) radiación solar (valores promedio de mediciones diarias de radiación solar acumulada entre las 12:00 y 15:00 h), B) porcentaje de días nublados, C) temperatura del agua de los estanques de cultivo y D) pH del agua de los estanques de cultivo. Se grafica el valor promedio y, para A), C) y D), también se grafica el rango.

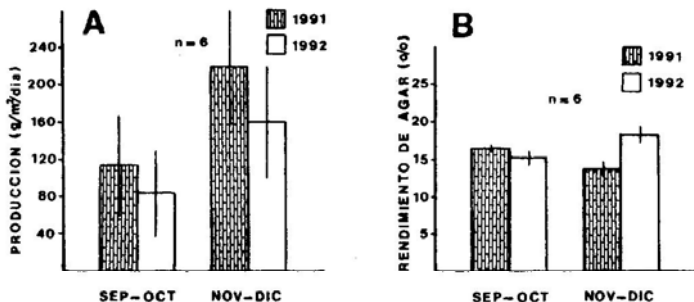


Fig. 4. Comparación de la producción de biomasa (A) y del rendimiento de agar (B) de *G. chilensis* cultivada en estanques en dos periodos de la primavera de 1991 y dos periodos de la primavera de 1992. Barras indican la media  $\pm$  1 DE, el número de réplicas se indica en cada gráfico.

La producción de biomasa en experimentos realizados durante la primavera de 1992 no muestra diferencias significativas (diciembre:  $F = 0,046$ ;  $P > 0,84$ ) (enero:  $F = 0,903$ ;  $P > 0,36$ ) entre el inóculo con dos años de cultivo en los estanques y el inóculo nuevo pero de una misma procedencia (Fig. 5A). En relación al rendimiento de agar se observan dife-

rencias significativas ( $F = 25,05$ ,  $P < 0,01$ ) en el mes de noviembre entre el inóculo antiguo y el nuevo en los estanques de cultivo (Fig. 5B). Sin embargo, estas diferencias no fueron significativas ( $F = 1,136$ ;  $P > 0,34$ ) durante el mes de diciembre entre ambos tipos de inóculos (Fig. 5B).



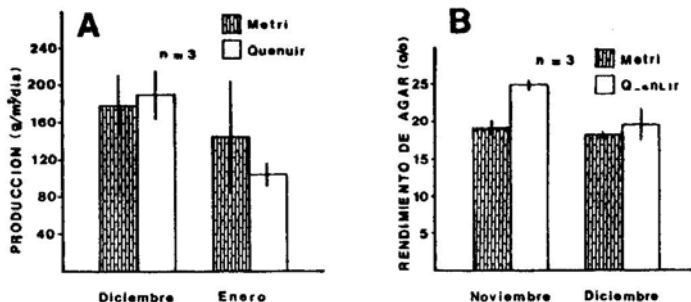


Fig. 5. Comparación de la producción de biomasa (A) y del rendimiento de agar (B) de *G. chilensis* entre el inóculo cultivado por 2 años en Metri y un inóculo traído desde Quenuir, en diciembre de 1992 y enero de 1993. Barras indican la media  $\pm$  1 DE, el número de réplicas se indica en cada gráfico.

## DISCUSION

Diferencias en las condiciones ambientales entre años, la estrategia de cultivo, la presencia de epífitos o endófitos y la aplicación de técnicas para el control de epífitos, además de cambios morfológicos de las razones superficie-volumen podrían explicar la disminución de la producción de biomasa en el tiempo (e.g. Hanisak *et al.* 1990, Friedlander & Ben-Amotz 1991) registrada en el trabajo de

Ugarte & Santelices (1992) durante el segundo período productivo. Sin embargo, no es posible a partir de este estudio comprobar estas hipótesis, que permitirían verificar las causas de la disminución de los niveles productivos.

Los resultados de este estudio indican en cambio, que utilizando efluentes de peces, sin la adición de  $\text{CO}_2$  ni de nutrientes y con un flujo continuo de agua, el cultivo de *G. chilensis* se puede llevar a

cabo en sistemas de estanques por un período de dos años en cultivo intensivo. Dado que en 1991 presentó características climáticas igualmente favorables que 1992 (Fig. 3) no es posible explicar la producción de biomasa semejante como consecuencia de mejores condiciones ambientales para el cultivo de esta alga roja. Además, al realizarse experiencias utilizando un inóculo nuevo proveniente de la misma localidad que el inóculo inicial se obtuvieron producciones similares al ser cultivadas simultáneamente.

Las condiciones de cultivo en los estanques con flujo de agua constante,

#### AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo recibido por Fondecyt (Proyecto Nr. 0888-90) y Plásticos Semar S.A. para la realización de este trabajo. Equipos para la medición de factores ambientales adquiridos por un Proyecto IFS-Suecia (Nr. 1600/A-1) también contribuyeron durante la realización de este trabajo. Se reconoce el valioso apoyo brindado durante este trabajo a P. Romano, I. Huerta y A. Gutiérrez. Los autores desean agradecer las críticas recibidas por ambos revisores para mejorar este manuscrito, así como el apoyo de Alberto Medina y Juan Carlos Uribe.

#### LITERATURA CITADA

- Bidwell, R.G.S.; McLachlan, J. & N.D. Lloyd. 1985. Tank cultivation of Irish moss, *Cladophora crispus* Stackh. *Botánica Marina* 28: 87-97.
- Bravo, A.; Buschmann, A.H.; Valenzuela, M.E.; Uribe, M.; Vergara, P.A. & M.S. Buitano. 1992. Evaluation of artificial intertidal enclosures for *Gracilaria* farming in Southern Chile. *Aquacultural Engineering* 11: 203-216.
- Buschmann, A.H.; Kuschel, F.A.; Vergara, P.A. & J.A. Schulz. 1992. Intertidal *Gracilaria* farming in southern Chile: differences of the algal provenience. *Aquatic Botany* 42: 327-337.
- Buschmann, A.H.; Mora, O.A.; Gómez, P.; Böttger, M.; Buitano, M.S.; Retamales, C.A.; Vergara, P.A. & A. Gutiérrez. 1994. *Gracilaria* tank cultivation in Chile: use of land-based salmon culture effluents. *Aquacultural Engineering* 13: 283-300.
- Cancino, J.M. & M.C. Orellana. 1987. Las perspectivas para la utilización de la fauna epífita (mitflidos) como fuente de nutrientes en cultivos de *Gracilaria verrucosa* en piscinas litorales. En: J.A.J. Verreth, M. Carrillo, S. Zanuy & E.A. Huisman (eds.), *Investigaciones Acuicolas en América Latina*: 380-392. Pudoc, Wageningen.
- Edding, M.; Macchiavello, J. & H. Black. 1987. Culture of *Gracilaria* sp. in outdoor tanks: productivity. *Hydrobiologia* 151/152: 369-373.

utilizando los efluentes de los peces ricos en amonio permite mantener producciones elevadas de biomasa y agar, sin grandes problemas de epifitismo (Buschmann *et al.* 1994). Por ello el cultivo de *G. chilensis* parece ser biológicamente factible y su implementación a una escala comercial depende principalmente de razones puramente económicas. Sin embargo, el desarrollo de un cultivo mixto plantea la reducción de costos de bombeo de agua, no se requiere de costos por concepto de la adición de fertilizantes ni de CO<sub>2</sub> y se obtiene un valor agregado por su capacidad efectiva para reducir el impacto ambiental.

- Friedlander, M. & A. Ben-Amotz. 1991. The effect of outdoor culture conditions on growth and epiphytes of *Gracilaria conferta*. *Aquatic Botany*, 39: 315-333.
- Hanisak, M.A.; Littler, M.M. & D.S. Littler. 1990. Application of the functional-form model to the culture of seaweeds. *Hydrobiologia* 204/205: 73-77.
- Kuschel, F.A. & A.H. Buschmann. 1991. Abundance, effects and management of epiphytism in intertidal cultures of *Gracilaria* (Rhodophyta) in southern Chile. *Aquaculture* 92: 7-20.
- Neish, I.C. 1979. Principles and perspectives of the cultivation of seaweeds in enclosed systems. En: B. Santelices (ed.), *Actas Primer Symposium sobre Algas Marinas Chilenas*: 59-74. Subsecretaría de Economía, Fomento y Reconstrucción, Santiago.
- Ryther, J.H.; DeBoer, J.A. & B.E. Lapointe. 1979. Cultivation of seaweed for hydrocolloids, waste treatment and biomass for energy conversion. *Proceeding International Seaweed Symposium* 9: 1-16.
- Santelices, B. & M. Doty. 1989. A review of *Gracilaria* farming. *Aquaculture* 78: 95-133.
- Sokal, P.R. & F.J. Rohlf. 1979. *Biometría. Principios y Métodos Estadísticos en la Investigación Biológica* 832 p. H. Blume, España.
- Ugarte, R. & B. Santelices. 1992. Experimental tank cultivation of *Gracilaria chilensis* in central Chile. *Aquaculture* 101: 7-16.