

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS



**DESARROLLO DE MATERIAL CERÁMICO CON RECUBRIMIENTOS
DE NANOPARTÍCULAS BIOMIMÉTICAS PARA LA RESTAURACIÓN DE
ARRECIFES DE CORAL MEDIANTE IMPRESIÓN 3D**

POR

ALENA BORISOVNA KHARISSOVA

**Como requisito parcial para obtener el Grado de
DOCTOR EN CIENCIAS con Orientación en Procesos Sustentables**

Junio, 2026

“Desarrollo de material cerámico con recubrimientos de nanopartículas biomiméticas para la restauración de arrecifes de coral mediante impresión 3D”

Aprobación de la Tesis:

DRA. SHADAI LUGO LOREDO

Presidente

DRA. ANDREA QUETZALLI Cerdán PASARÁN

Secretario (a)

DR. JUAN JACOBO RUIZ VALDÉS

Primer Vocal

DR. DAVID ALEJANDRO DE HARO DEL RÍO

Segundo Vocal

DRA. CLAUDIA JUDITH HERNÁNDEZ GUERRERO

Tercer Vocal

DR. JAVIER RIVERA DE LA ROSA

Sub-Director de Estudios de Posgrado

“Desarrollo de material cerámico con recubrimientos de nanopartículas biomiméticas para la restauración de arrecifes de coral mediante impresión 3D”

Revisión de la Tesis:

DRA. SHADAI LUGO LOREDO

Asesora

DRA. MARIA IDALIA DEL CONSUELO GÓMEZ DE LA FUENTE

Co-Asesora

DRA. DEYANI NOCEDO MENA

Co-Asesora

DRA. ANDREA QUETZALLI Cerdán PASARÁN

Comité Tutorial

DR. JUAN JACOBO RUIZ VALDÉS

Comité Tutorial

DR. DAVID ALEJANDRO DE HARO DEL RÍO

Comité Tutorial

DR. JAVIER RIVERA DE LA ROSA

Sub-Director de Estudios de Posgrado

Al océano,

*que lleva millones de años escribiendo soluciones en el lenguaje de la vida,
esperando a ser descifrado.*

AGRADECIMIENTOS

Quisiera agradecer a mi asesora la Dra. Shadai Lugo Loredó por el apoyo incondicional y su invaluable acompañamiento académico y moral en este trayecto, a mi co-asesoras y comité por sus valiosas aportaciones para mejorar este trabajo.

A la Facultad de Ciencias Químicas de la UANL por permitirme el uso de sus instalaciones, por la formación y el acompañamiento brindado.

A la SECIHTI por la beca de manutención otorgada.

Al Dr. Germán Méndez de Cozumel Coral Reef Restoration Programme (CCRRP), quién no solo me inspiró a realizar este proyecto y me abrió los ojos ante la crítica situación de los ecosistemas coralinos, sino también me formó como buzo investigador certificado durante este proceso.

Al Dr. Sergio Manuel Salcedo Martínez de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UANL por su apoyo en la identificación de las macroalgas de este trabajo.

A la Dra. Claudia Judith Hernández Guerrero del Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR) por recibirme en sus instalaciones, enseñarme sobre microbiología y apoyarme en las pruebas con bacterias en este trabajo.

Al Dr. José Ysmael Verde Gómez, por recibirme en el Instituto Tecnológico de Cancún durante mi estancia de investigación, así como enseñarme a usar los equipos de caracterización XRD y SEM y permitirme el uso de sus instalaciones para realizar la síntesis de nano y micropartículas desarrolladas de este trabajo a partir de ceniza de sargazo.

A la Dra. Anastazia Teresa Banaszak de la UNAM, por permitirme el uso de sus instalaciones, permitirme realizar con su equipo el monitoreo de corales *Diploria labyrinthiformis* y realizar las pruebas con corales *in vitro* de este trabajo.

A mi familia, a mi esposo Vasily por navegar conmigo en cada marea de este proceso y a todas las personas que sembraron palabras de aliento en este camino.

RESUMEN

Alena Borisovna Kharissova

Fecha de graduación: Junio, 2026

Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Químicas

Título: “Desarrollo de material cerámico con recubrimientos de nanopartículas biomiméticas para la restauración de arrecifes de coral mediante impresión 3D”

Número de páginas: 185

Candidato para el grado de Doctor en Ciencias con
Orientación en Procesos Sustentables

Campo de estudios: Procesos Sustentables

Propósito y método de estudio: El objetivo de esta investigación fue crear un material cerámico con impresión 3D con síntesis de recubrimientos biomiméticos de nanopartículas de CaCO_3 a partir de ceniza y extractos de algas *Sargassum* spp., orientado a imitar las fases cristalinas de las algas coralinas costrosas (ACC) y que, adicionalmente, tuviera propiedades antiincrustantes contra algas que compiten con los corales por espacio en un arrecife artificial. Para ello fue necesario la extracción y caracterización química de compuestos bioactivos del sargazo, realizar la evaluación de su actividad antibacteriana, antiincrustante y toxicológica, síntesis y depósito del recubrimiento micro y nanoestructurado sobre sustratos cerámicos usando la ceniza de sargazo post-macerado como fuente de materia prima para la producción de partículas y su respectiva caracterización por SEM-EDS, TEM, XRD. Así mismo se realizaron pruebas mecánicas de resistencia a la compresión en el cerámico base, pruebas de absorción de agua y porosidad aparente para determinar la viabilidad del sustrato para el entorno marino. Por último, se validó la biocompatibilidad de este material con larvas de coral *Diploria labyrinthiformis*. Se realizó un conteo de larvas asentadas a los 8 días post-fertilización sobre las placas impresas en 3D con el recubrimiento biomimético y se midió la eficiencia del sustrato contra la bioincrustación 70 días después del asentamiento larval, con el objetivo de ofrecer una solución sostenible para la restauración y protección de ecosistemas arrecifales frente a la proliferación indeseada de macroalgas.

Contribución y conclusión: El presente trabajo constituye la primer aproximación reportada de un recubrimiento antiincrustante que biomimetiza las algas coralinas costrosas (ACC) a nivel mineralógico, a través de la síntesis de micro y nanopartículas de CaCO_3 provenientes de ceniza de sargazo, así como se explora la arcilla potásica como sustrato base para la restauración de corales. En este trabajo se desarrollaron sustratos cerámicos impresos en 3D con recubrimientos biomiméticos de CaCO_3 que, de forma simultánea, inhiben la bioincrustación algal (72.8% en 70 días) con extracto de sargazo mientras favorecen el reclutamiento larval de coral (2x más que su control sin recubrimiento) al replicar las fases cristalinas de las ACC. Dicho material demuestra ser seguro y no tóxico para las bacterias y vida marina como la *Artemia franciscana*, validando al sargazo como materia prima en la rehabilitación de arrecifes.

Firma del director: _____



ÍNDICE

LISTA DE TABLAS	8
LISTA DE FIGURAS	10
NOMENCLATURA	15
CAPÍTULO 1	17
INTRODUCCIÓN	17
1.1 El Declive de los Ecosistemas Arrecifales: Causas e Impactos	17
1.2 Los Corales y el Fenómeno del Blanqueamiento	22
1.4 La Bioincrustación Marina y la Remoción Mecánica	33
1.5 El Sustrato Ideal para Corales: las Algas Coralinas Costrosas (ACC)	36
CAPÍTULO 2	38
ANTECEDENTES	38
2.1 Agentes Antiincrustantes en la Industria Marítima	38
2.2 Algas <i>Sargassum</i> Como Agentes Antiincrustantes	43
2.3 Contribución Científica	46
2.4 Hipótesis	47
2.5 Objetivo General	47
2.7 Metas Científicas	49
2.8 Metas Académicas	49
CAPÍTULO 3	50
MATERIALES Y MÉTODOS	50
3.1 Análisis Geoespacial de Condiciones Oceanográficas Mediante el Supercomputador CINECA	50
3.2 Recolección, Liofilizado y Obtención de Extractos	52
3.3 Ensayos Biológicos para Determinar Actividad Antibacteriana y Actividad Antiincrustante <i>in vitro</i>	53
3.4 Toxicidad en <i>Artemia franciscana</i>	58
3.5 Perfil de Ácidos Grasos Mediante GC-MS	59
3.6 Síntesis y Caracterización de NP para el Recubrimiento Antiincrustante	62
3.7 Análisis de Muestras de ACC Natural por SEM-EDS y XRD	65
3.8 Caracterización del Sustrato Cerámico Base	65
3.8.1 Materiales	65
3.8.2 Sinterizado de Muestras	66

3.8.3 Ensayo de Compresión	67
3.8.4 Ensayo de Absorción de Agua y Porosidad	69
3.8.5 Análisis de Contracción y Pérdida de Masa	71
3.9 Impresión 3D de Placas Cerámicas	71
3.10 Aplicación de Recubrimiento a las Placas por Pulverización	72
3.11 Disposición de Residuos	74
3.12 Ensayo con Corales <i>Diploria labyrinthiformis in vitro</i>	74
3.13 Cuantificación de la Bioincrustación <i>ex situ</i>	79
 CAPÍTULO 4	 81
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	81
4.1. Resultados de Análisis Geoespacial de Condiciones Oceanográficas	81
4.1.1 Tendencias de la Temperatura Superficial del Mar	81
4.1.2 Altura del Oleaje y Eventos Extremos	84
4.1.3 Patrones de Corrientes y Dinámica de Sedimentos	87
4.2 Obtención de Extractos a Partir de Macroalgas	91
4.3 Ensayos Biológicos <i>in vitro</i>	94
4.3.1 Microdilución en Microplaca para Evaluar Actividad Antibacteriana	94
4.3.2 Microdilución en Microplaca para Evaluar Actividad Antiincrustante	96
4.3.3 Toxicidad en <i>Artemia franciscana</i>	106
4.4 Perfil de Ácidos Grasos Determinado Mediante GC-MS	108
4.5 Recubrimiento Antiincrustante: SEM-EDS, XRD, TEM, y su Comparación con ACC de Campo	112
4.6 Caracterización de Sustrato Cerámico Base	129
4.6.1 SEM y XRD del Sustrato Cerámico	129
4.6.2 Ensayo de Compresión en Seco y en Húmedo	134
4.6.3 Ensayo de Absorción de Agua y Porosidad	140
4.6.4 Análisis de Contracción y Pérdida de Masa	144
4.7 Ensayo de Placas con Corales <i>Diploria labyrinthiformis in vitro</i>	147
4.7.1 Asentamiento Larval	147
4.7.2 Cuantificación de la Bioincrustación <i>ex situ</i>	151
 CAPÍTULO 5	 163
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	163
 REFERENCIAS	 166
 APÉNDICE A	 185

LISTA DE TABLAS

Tabla 1 ROS implicadas en la disrupción de la simbiosis del coral y zooxantela	26
Tabla 2 Agentes antiincrustantes industriales sintéticos utilizados en la industria marina.	40
Tabla 3 Estudios de recubrimientos antiincrustantes evaluados en el contexto de rehabilitación de corales.	41
Tabla 4 Propiedades antibacterianas y antiincrustantes de especies de <i>Sargassum</i> y sus compuestos de publicaciones publicadas con respaldos empíricos.	44
Tabla 5 Disposición de residuos.	74
Tabla 6 Peso de muestras en húmedo, biomasa liofilizada y peso del extracto.	92
Tabla 7 Actividad antibacteriana (Valores de CMI en $\mu\text{g/mL}$).	95
Tabla 8 Concentración letal LC_{50} para la <i>Artemia franciscana</i> .	107
Tabla 9 Análisis de ácidos grasos mediante GC-MS de un extracto compuesto de <i>Sargassum spp.</i> pelágico.	110
Tabla 10 Resultado de calcita-aragonita en ACC analizada, síntesis de partículas y ACC de la literatura.	125
Tabla 11 Prueba t de ACC sintética vs ACC naturales.	125
Tabla 12 Diferencia mineralógica entre arcilla potásica roja utilizada y arcilla roja ladrillera.	132
Tabla 13 Promedio de resistencia a la compresión del cerámico de base.	135
Tabla 14 Promedios de resistencia última por tipo de muestra para pruebas de compresión después de saturación de agua.	138
Tabla 15 Porcentaje de porosidad aparente promedio y absorción de agua de los 6 tratamientos de muestra (n=6).	140
Tabla 16 Promedio de pérdida y encogimiento de peso.	144

Tabla 17 Asentamiento larval en placas con diferentes tratamientos.	150
Tabla 18 Colonización promedio por clase en placas, utilizando la herramienta Trainable Weka Segmentation.	154
Tabla 19 Comparación de agentes antiincrustantes probados en corales con la literatura.	155

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Alerta de blanqueamiento de corales por satélite (a) 1 de octubre del 2000 y (b) 1 de octubre del 2025, SIMAR.	20
Figura 2 Análisis de la temperatura de la superficie del mar en boyas ubicadas en Playa del Carmen (20.617259,-87.0193) desde el 1 de octubre del 2022 al 7 de marzo del 2026.	21
Figura 3 Pólipo de coral.	22
Figura 4 Clasificación taxonómica de los corales	23
Figura 5 Blanqueamiento de coral del género <i>Diploria</i> y secciones con mortalidad. Foto tomada por el autor en Octubre 2024 en el Caribe (12.0500° N, 61.7667° W) a 10 m de profundidad, con temperatura del agua a 33°C.	27
Figura 6 Crecimientos biológicos e incrustación en sustrato.	35
Figura 7 Asentamiento de larvas del coral <i>Acropora millepora</i> de 10 días de edad sobre el alga coralina incrustante (ACC) <i>Titanoderma cf. tessellatum</i> .	37
Figura 8 Hipótesis gráfica de este trabajo de tesis.	47
Figura 9 Objetivos específicos de este trabajo de tesis.	49
Figura 10 Muestra de bioincrustación, tomada en septiembre de 2023 por el CICIMAR, para su posterior aislamiento bacteriano. Fotos hechas durante estancia de investigación en el CICIMAR.	55
Figura 11 Llenado de microplacas con concentraciones de cada extracto o compuesto en concentraciones de 1000, 500, 100, 50, 10, y 1 µg/mL, por sextuplicado (n=6).	56
Figura 12 Preparación de muestra para cuantificación de formación de biopelícula.	57
Figura 13 Placas para evaluación de toxicidad en <i>Artemia franciscana</i> y cuantificación de LC ₅₀ .	59

Figura 14 Resumen gráfico de la metodología empleada en las secciones 3.2-3.5.	60
Figura 15 Resumen gráfico de la metodología empleada en las secciones 3.6-3.10.	61
Figura 16 Ceniza de sargazo usada como precursor para síntesis de CaCO_3 .	63
Figura 17 Pruebas de compresión bajo la norma ASTM C109/C109M.	68
Figura 18 Saturación de agua siguiendo la norma NMX-C422-ONNCCE-2002.	70
Figura 19 Medición de peso para cálculo de absorción de agua y porosidad, siguiendo la norma NMX-C422-ONNCCE-2002.	70
Figura 20 Impresión 3D de placas con crestas y canales.	72
Figura 21 Aplicación de recubrimiento biomimético de ACC en placas de arcilla roja impresas en 3D.	73
Figura 22 Resumen gráfico de la metodología empleada en las secciones 3.11 y 3.12.	75
Figura 23 Colecta de gametos de coral <i>Diploria labyrinthiformis</i> en Puerto Morelos.	76
Figura 24 Colocación de placas en incubadoras con larvas 60 horas después de fertilización.	77
Figura 25 Tanque para monitoreo de pólipos de coral.	78
Figura 26 Temperatura de la superficie del mar a profundidad de medio metro, Diciembre 2023.	82
Figura 27 Variaciones de temperatura desde 2014 hasta 2021 en Playa el Recodo, Quintana Roo, con un calentamiento gradual de 0.0357°C/año .	83
Figura 28 Variaciones de temperatura desde 2022 hasta 2024 en Playa el Recodo, Quintana Roo, con un calentamiento gradual de 0.157°C/año .	83
Figura 29 Análisis de altura de las olas (SWH) de 1993-2020 (a) SWH media en m, (b) desviación estándar en m y (c) SWH máxima en m por celda de la cuadrícula.	85

Figura 30	Distribución de altura de las olas (SWH) de 1993-2020 en base a 86 frecuencia.	86
Figura 31	Análisis del periodo de retorno de las alturas de ola significativas 87 extremas (SWH) para la región de estudio, predicción de la SWH máxima para periodos de retorno de 1, 5, 10, 25 y 50 años.	87
Figura 32	Velocidad y dirección de la corriente superficial a 9.57 m de 89 profundidad (31 de diciembre de 2023).	89
Figura 33	Identificación de los 7 tipos de algas de la mezcla recolectada y su 92 número de voucher.	92
Figura 34	Rendimiento (%) de extracción para algas Rhodophyta y <i>Sargassum</i> . 93	93
Figura 35	Actividad antiincrustante de los extractos de sargazos y control (a) 98 <i>Sargassum acinarium</i> , (b) <i>Sargassum natans</i> , (c) <i>Sargassum horridum</i> , (d) control, después de 48 h.	98
Figura 36	Actividad antiincrustante de macroalgas rojas (a) <i>A. triquetrum</i> (b) <i>P.</i> 99 <i>perforata</i> (c) <i>D. simplex</i> (d) <i>Gracilaria</i> sp. (e) <i>Ceramium</i> sp. después de 48 h	99
Figura 37	Actividad antiincrustante de ácidos grasos (a) ácido palmítico (b) 100 ácido eicosapentaenoico (EPA) después de 48 h.	100
Figura 38	Inhibición de biopelícula promedio (de 7 algas), por concentración. 100	100
Figura 39	Inhibición de biopelícula promedio, por tipo de alga. 101	101
Figura 40	Inhibición de biopelícula promedio, por cepa bacteriana. 103	103
Figura 41	Cromatograma GC-MS de ésteres metílicos de ácidos grasos del 109 extracto compuesto de <i>Sargassum</i> spp. pelágico.	109
Figura 42	Caracterización SEM de ceniza de sargazo: (a) ceniza de sargazo sin 113 extracción y (b) ceniza de sargazo post-extracción.	113
Figura 43	SEM-EDS de sargazo sin extracción (gris) y post-extracción (verde). 114	114
Figura 44	Caracterización por XRD de ceniza de <i>Sargassum</i> post-extracción (a) 116 patrón experimental con identificación de la fases principales (b) refinamiento de Rietveld y fases ajustadas.	116
Figura 45	Imagen SEM que muestra cristales de aragonita (a) y calcita con alto 118 contenido de Mg (b) en el recubrimiento biomimético. Imagen TEM (c) de nanopartículas en el recubrimiento.	118

Figura 46 Imagen TEM en modo de patrón de difracción, mostrando el plano cristalográfico (104).	118
Figura 47 Caracterización por XRD y refinamiento de Rietveld que muestra (a) fases ajustadas de síntesis de Mg-calcita y aragonita (b) ACC (<i>Neogoniolithon</i> sp.), con contribuciones de fase individuales de Mg-calcita y aragonita.	120
Figura 48 Resultados de EDS de partículas biomiméticas obtenidos en este estudio y del rodolito natural <i>Neogoniolithon</i> sp. (ACC) de Puerto Morelos.	120
Figura 49 Estructuras de (a) calcita ($\text{Ca}_{0.94}\text{Mg}_{0.06}\text{CO}_3$), con simetría romboédrica (b) aragonita (CaCO_3) con simetría ortorrómbica, donde los iones Ca^{2+} son azules, el carbón es café y las esferas rojas son oxígeno. Software Vesta.	122
Figura 50 Imagen SEM de la formación al 100% de Mg-calcita utilizando etanol al 50% y un tiempo de agitación vigorosa de 24 horas.	123
Figura 51 SEM de la superficie del rodolito natural <i>Neogoniolithon</i> sp. (a) superficie porosa con epibiontes (b) con mediciones de diámetro de poro.	124
Figura 52 SEM de (a) arcilla sinterizada muestra Clay-1100 (b) <i>Neogoniolithon</i> sp. y sus respectivos tamaños de poro promedio.	131
Figura 53 XRD del sustrato cerámico con el patrón experimental con la identificación de la fases de α -cuarzo, anortita y magnetita a través del refinamiento de Rietveld.	131
Figura 54 Curvas de esfuerzo deformación para las 8 fórmulas (n=6).	135
Figura 55. Curvas de esfuerzo sobre deformación para las diferentes muestras después de saturación de agua.	138
Figura 56 Contenido de biocarbón en la arcilla y su porcentaje (%) de porosidad con la temperatura de sinterizado.	141
Figura 57 Contenido de biocarbón en la arcilla y su absorción de agua (%) con la temperatura de sinterizado.	142
Figura 58 Porcentaje (%) de pérdida de peso del cerámico cuerpo verde y sinterizado.	145
Figura 59 Porcentaje (%) de pérdida de encogimiento del cerámico cuerpo verde y sinterizado.	146

Figura 60 Asentamiento de coral por sustrato (todas las caras), por tratamiento, 8 días después de la fertilización *in vitro* del coral (n=10). 149

Figura 61 Placas 8 días después de la fertilización *in vitro* (a) cara frontal Control V2 (b) cara frontal Recubrimiento V2 (c) cara posterior Control V2 (d) cara posterior Recubrimiento V2. 151

Figura 62 Placas V1 (1a, 2a y 3a), controles sin recubrimiento (4a, 5a y 6a), placas con recubrimiento V2 (7a, 8a y 9a) y controles sin recubrimiento (10a, 11a y 12a) después de 70 días en los acuarios, y su respectiva segmentación de análisis por color (imágenes b y c): sustrato libre (verde), incrustaciones de algas (rojo), incrustaciones de gusanos serpúlidos (violeta), reclutas de coral (amarillo), fondo (azul y rosa). 153

Figura 63 Colonización promedio en placas con recubrimientos V1, V2 y sus respectivos controles. 154

Figura 64 Mecanismo propuesto de detección de señal mineralógicas de calcita-aragonita a través de cilios por larvas de coral durante el asentamiento. 160

NOMENCLATURA

GASB - Gran Cinturón de Sargazo del Atlántico

NOAA - National Oceanic and Atmospheric Administration

SIMAR - Sistema de Información y Análisis Marino-Costero

CONABIO - Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad

ATP - Adenosín Trifosfato (por sus siglas en inglés, Adenosine Triphosphate)

ROS - Especies Reactivas de Oxígeno (por sus siglas en inglés, Reactive Oxygen Species)

ACC - Algas Coralinas Costrosas

AA - Arrecifes Artificiales

TBT - Tributilo de estaño

DCOIT - Diclorooctilisotiazolinona

NP - Nanopartícula(s)

PDMS - Polidimetilsiloxano

PTFE - Politetrafluoroetileno

RMN - Resonancia Magnética Nuclear

CICIMAR - Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas

GC-MS - Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (por sus siglas en inglés, Gas Chromatography-Mass Spectrometry)

SEM-EDS - Microscopía Electrónica de Barrido acoplada a Espectroscopía de Energía Dispersiva (por sus siglas en inglés, Scanning Electron Microscopy - Energy Dispersive Spectroscopy)

XRD - Difracción de Rayos X (por sus siglas en inglés, X-ray Diffraction)

TEM - Microscopio Electrónico de Transmisión (por sus siglas en inglés, Transmission Electron Microscope)

SAED - Difracción de electrones de área seleccionada, por sus siglas en inglés.

TWS - Trainable Weka Segmentation (plugin de ImageJ)

PPT - Partes Por Mil (o por sus siglas en inglés, Parts Per Thousand)

SWH - Altura de las olas (significant wave height, SWH por sus siglas en inglés)

CMI - Concentración Mínima Inhibitoria

EPA - Ácido eicosapentaenoico (por sus siglas en inglés, eicosapentaenoic acid)

FAME - Ésteres metílicos de ácidos grasos (por sus siglas en inglés, Fatty Acid Methyl Esters)

TIC - Corriente iónica total (por sus siglas en inglés, Total Ion Current)

NIST - Instituto Nacional de Normas y Tecnología (por sus siglas en inglés, National Institute of Standards and Technology)

RPM - Revoluciones por minuto

TRP - Potencial de receptor transitorio (por sus siglas en inglés, Transient Receptor Potential)

CaSR - Sensor de calcio extracelular (por sus siglas en inglés, Calcium Sensing Receptor).

SVHC - Sustancias Extremadamente Preocupantes (por sus siglas en inglés, Substances of Very High Concern).

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

1.1 El Declive de los Ecosistemas Arrecifales: Causas e Impactos

Los arrecifes de coral son uno de los ecosistemas más diversos, socioeconómicamente valiosos y amenazados del mundo [1]. A pesar de representar el 0.1% de la superficie oceánica, proporcionan hábitat para al menos el 25% de todas las especies marinas, con más de un millón de especies estimadas viviendo en y alrededor de los arrecifes de coral [2]. La importancia de los corales radica principalmente en que forman hábitats tridimensionales complejos; actúan como refugio, área de alimentación, sitio de reproducción, y esta complejidad estructural es fundamental para mantener la biodiversidad y el equilibrio de los ecosistemas marinos para una gran diversidad de especies marinas [3].

Sin embargo, los arrecifes de coral en todo el mundo se han deteriorado rápidamente en las últimas cuatro décadas, con una disminución del 80% en la cobertura de coral (vivo) en el Caribe y más del 50% en el Pacífico [4][5]. A nivel global, la abundancia coralina ha disminuido a la mitad desde la década de 1950 y la cantidad de peces asociados a éstos importantes ecosistemas han mostrado un declive proporcional [6].

Los arrecifes de coral están experimentando factores de estrés crónico; presiones térmicas inducidas por el cambio climático (que provocan el blanqueamiento), acidificación del agua de mar (debido a la absorción de dióxido de carbón), contaminación de origen antrópico, brotes de enfermedades, así como

perturbaciones antropogénicas que impactan en las zonas costeras [1][2][7]. Además de las amenazas mencionadas, existe otra amenaza para los ecosistemas arrecifales: el fenómeno de arribazón masiva de algas *Sargassum* spp. [8]. Cada año, miles de toneladas de algas marinas se depositan en las costas del Caribe, Centro América y África Occidental a partir del Gran Cinturón de Sargazo del Atlántico (GASB, por sus siglas en inglés), la mayor acumulación de macroalgas del género *Sargassum* a nivel mundial, con una extensión de hasta 8,850 km y una biomasa estimada superior a 20 millones de toneladas (datos de Junio 2018) [9].

A nivel local, estas mareas recurrentes de algas que inundan las costas han alcanzado proporciones alarmantes y han impactado severamente los 180 km de costa caribeña de México en Quintana Roo, donde los volúmenes de recolección de sargazo aumentaron de 1,400 toneladas en 2015 a 522,226 toneladas en 2018, un aumento de 373 veces, a pesar de las fluctuaciones en los volúmenes [10]. Estas afluencias masivas de especies pelágicas de *Sargassum* spp. crean condiciones hipóxicas (disponibilidad de oxígeno disuelto), asfixia mecánica y atenuación física de la intensidad de luz [8][11][12]. Esto contribuye directamente a exacerbar la productividad de los pastos marinos y el declive de los corales del Arrecife Mesoamericano [1][12], así como generar lixiviados tóxicos como el sulfuro de hidrógeno (H_2S) [13][14], que es un riesgo para los ambientes marinos cercanos a la costa y para las comunidades costeras que dependen del turismo. El H_2S es tóxico para los humanos en niveles de 0 a 10 ppm [13][15], y en algunas zonas costeras de Quintana Roo, específicamente Puerto Morelos, estudios han demostrado niveles de H_2S superando 5 ppm, con picos de hasta 100 ppm bajo las pilas de sargazo en descomposición [16][17]. A pesar de representar un desafío ambiental significativo,

el alga *Sargassum* presenta una oportunidad de valorización poco explotada [18]. Por consiguiente, el presente trabajo argumenta la utilización de algas *Sargassum* como un recurso auxiliar dentro de la restauración de arrecifes, como estrategia para la resolución de una problemática bimodal de las costas caribeñas.

De los factores enumerados previamente que contribuyen al declive de los arrecifes, el cambio climático se presenta como la amenaza más grave para el correcto funcionamiento de los ecosistemas arrecifales. Actualmente, la National Oceanic and Atmospheric Administration (NOAA) ha confirmado que los arrecifes están experimentando el cuarto evento mundial de blanqueamiento de coral en la historia, el cual está relacionado con la elevada intensidad tanto de estrés térmico, como su frecuencia [19]. Durante la redacción de esta tesis, ya se había previsto que, con un aumento superior a 1.5°C por encima de los niveles preindustriales, los arrecifes coralinos en todo el planeta sufrirían una reducción de entre el 70 y el 90% [20]; umbral que, a la fecha de finalización de este trabajo, ha sido superado. Copernicus Climate Change Service, un programa de observación terrestre de la Unión Europea, demostró que en enero de 2025, la temperatura media global del aire superó en 1.75°C contra el promedio preindustrial de 1850-1900 [21].

El incremento sostenido de la temperatura sobre la atmósfera ha provocado un aumento progresivo de la temperatura del mar. Un aumento de 1-2°C de la temperatura del océano puede desencadenar eventos de blanqueamiento masivo, dado que los corales ya viven dentro de sus límites térmicos máximos [22]. El blanqueamiento de coral es una respuesta al estrés térmico y es la respuesta del fin de la relación simbiótica del alga zooxantela y el coral [23]. Existe una mayor probabilidad de eventos de blanqueamiento a medida que las temperaturas se acercan

a los 30°C y una probabilidad extremadamente baja de que los corales (incluyendo a los más resilientes) puedan soportar temperaturas del agua entre los 31 y 34°C [24].

El Sistema de Información y Análisis Marino-Costero (SIMAR), una plataforma desarrollada por la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO), proporciona datos cruciales sobre la temperatura superficial del mar y estrés térmico asociado. En la Figura 1 se puede observar el nivel de alerta del blanqueamiento del 1 octubre de 2025 (Figura 1b) y su comparación con hace 25 años (Figura 1a). El panorama actual es alarmante: según la escala de clasificación de alerta, con un máximo de 8 niveles, el Mar Caribe exhibe predominantemente un nivel de alerta 6, lo que indica un blanqueamiento y mortalidad moderada.

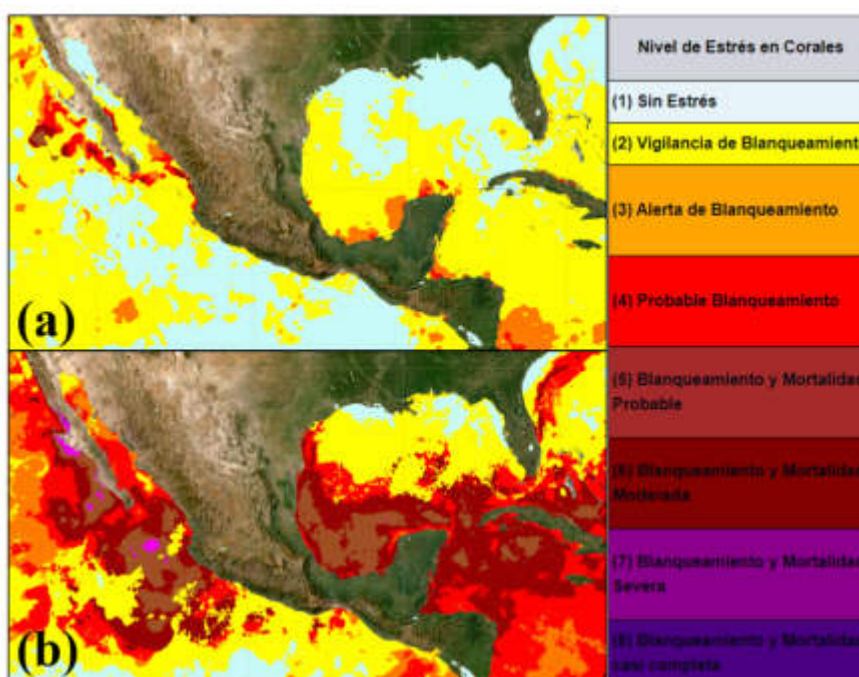


Figura 1 Alerta de blanqueamiento de corales por satélite (a) 1 de octubre del 2000 y (b) 1 de octubre del 2025, SIMAR [25].

Según los registros nocturnos en una de las boyas del SIMAR ubicada en Playa del Carmen (20.617259,-87.0193), en los años 2023-2025 se han presentado temperaturas por encima de 29°C (el umbral de tolerancia máximo de los arrecifes de coral [26]). En los meses de mayo a noviembre de dicho periodo, hubo temperaturas que llegaron hasta 30.8°C, ver Figura 2.



Figura 2 Análisis de la temperatura de la superficie del mar en boyas ubicadas en Playa del Carmen (20.617259,-87.0193) desde el 1 de octubre del 2022 al 7 de marzo del 2026 [25].

Las evidencias más recientes apuntan a que los arrecifes de coral están experimentando la crisis más profunda de su historia geológica reciente; por lo que la ventana de trabajo para su conservación y restauración se va cerrando de forma perentoria, de lo cual se extiende la importancia de este trabajo como esfuerzo de conservación.

1.2 Los Corales y el Fenómeno del Blanqueamiento

Para abordar más a detalle el blanqueamiento coralino, nos interesa aquí realizar una primera parada en la biología del organismo que lo padece: el coral. Los arrecifes de coral son ecosistemas submarinos diversos formados por pequeños pólipos de coral. Son miembros del Reino Animal, clasificados en el Filo Cnidaria (también incluye a las anémonas de mar y las medusas) y la clase Anthozoa, que viven en colonias y construyen exoesqueletos protectores al secretar estructuras de carbonato de calcio [27], Figura 3. Una característica única compartida por todos los cnidarios es la presencia de numerosas cápsulas urticantes llamadas nematocistos que se utilizan tanto para capturar presas como para defensa [28].

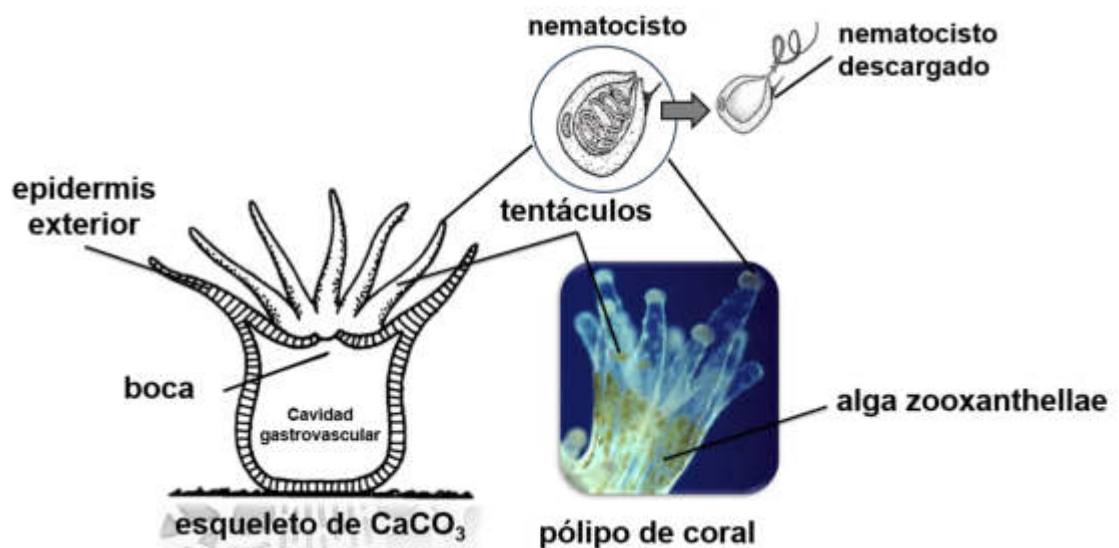


Figura 3 Pólipo de coral, adaptado [28].



Figura 4 Clasificación taxonómica de los corales, adaptado [26].

Hay cuatro subclases de corales: Hydrozoa (corales de fuego), Octocorallia (corales blandos y gorgonias), Hexacorallia (corales pétreos) y Anthipatharia (corales negros) [26] (Figura 4). Hexacorallia es la clase de corales utilizadas con mayor frecuencia en proyectos de restauración coralina, mientras que los corales de fuego se evitan por su difícil manejo debido a sus dolorosas picaduras al manipularlos, y los corales negros no se utilizan debido a su hábitat en aguas profundas, lo que dificulta su acceso y manipulación (los corales zooxantelados no se encuentran por debajo de los 65 m) [29]. La presente investigación incluyó al coral *Diploria labyrinthiformis* (o coral cerebro ranurado), un hexacoral común en el Caribe Mexicano, que puede ser encontrado entre los 4.6 y 15 metros de profundidad en las laderas externas de los arrecifes (mar abierto). Es un coral pétreo masivo y semi esférico conocido por sus valles serpenteantes y su relación simbiótica con las algas zooxantelas [26]. Pertenece al orden Scleractinia y a la familia Mussidae.

Los corales son los animales multicelulares más longevos del planeta. Pueden alcanzar edades de más de 4000 años [30]. Los arrecifes de coral más antiguos en la Tierra se formaron hace aproximadamente 535 millones de años, mientras que los primeros parientes de los corales actuales se desarrollaron en el sur de Europa hace unos 240 millones de años, en el periodo Mesozoico [27]. Esta gran longevidad y estabilidad evolutiva a través de millones de años no es casualidad; los corales han desarrollado mecanismos celulares muy plásticos, entre los cuales se encuentran poblaciones de células madre, y permiten la resistencia al envejecimiento celular con capacidad regenerativa de tejidos dañados similar a la de las células madre en organismos más complejos [30] lo que podría explicar la morfología y fisiología conservadas desde la era de los dinosaurios. Paradójicamente, la longevidad asociada a sus células pluripotentes resultan insuficientes frente a la crisis climática actual. A pesar de sus mecanismos de regeneración celular y adaptación, los corales enfrentan un desafío sin precedentes debido a la velocidad e intensidad de los cambios antropogénicos en su entorno [31] poniendo en riesgo la supervivencia de estos ecosistemas milenarios.

Para que los pólipos de coral puedan sobrevivir, necesitan una temperatura del agua entre 21-29°C. A temperaturas más bajas, las especies pueden sobrevivir, pero no crecen a una tasa suficiente para construir arrecifes [26], y a temperaturas mayores del umbral mencionado, se induce el blanqueamiento; fenómeno bioquímico que se explica más a detalle en el siguiente párrafo. Es fundamental establecer que no solo la temperatura es relevante; el movimiento y la claridad del agua son vitales para los corales; el primero refresca el suministro de alimento

planctónico y oxígeno, mientras que la claridad permite el paso de luz necesaria para la fotosíntesis de las zooxantelas (o *zooxanthellae*). Las zooxantelas son algas unicelulares que yacen en relación simbiótica con corales pétreos y viven dentro del tejido de los pólipos de coral en la capa de gastrodermis y suministran al coral con energía [26].

Los corales pétreos construyen arrecifes a través del mecanismo de secreción de su matriz orgánica esquelética de aragonita (CaCO_3) [32] donde las zooxantelas son cruciales dado a que transforman CO_2 y H_2O en glucosa ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$) y oxígeno, lo que el coral posteriormente metaboliza, mediante la respiración aerobia, en adenosín trifosfato (ATP) [33]. El ATP (producido gracias a los simbioses) acelera significativamente el crecimiento del coral y su producción de CaCO_3 , y proporciona hasta el 90% de la energía de los corales [27]. Esto ilustra cómo la energía y la tasa de calcificación de corales con simbioses está primordialmente ligada a la actividad fotosintética de las zooxantelas. Sin embargo, la dependencia con el simbiote no es del todo absoluta. El pólipo de coral, a partir del momento en que desarrolla tentáculos (que poseen nematocistos, Figura 3), puede hacer captura de zooplancton desde los 8 días de vida, con la capacidad de inmovilizar, envolver e ingerir nauplios de *Artemia*, creando una ruta adicional de obtención de nutrientes que responde a necesidades energéticas de los corales, sobre todo, en condiciones de estrés o baja irradiancia de luz [34]. A pesar de la complementariedad de ambas estrategias, el crecimiento del coral es lento, entre un centímetro y una pulgada al año para la mayoría de las especies pétreas, y se encuentra condicionado por el alto coste energético que tiene la biomineralización [26].

Es indispensable abarcar el blanqueamiento coralino para entender mejor tanto la causa raíz del fenómeno y su efecto, como la relación con el presente trabajo. Se conoce como blanqueamiento a la pérdida de color que ocurre cuando los corales expulsan las zooxantelas, y dado que los pigmentos fotosintéticos de las zooxantelas proporcionan la mayor parte de la coloración a los corales, su pérdida vuelve el tejido prácticamente transparente (Figura 5). Lo que trae como consecuencia que el blanco del esqueleto de carbonato de calcio sea visible a través del tejido despigmentado y posteriormente, ocurre la muerte de coral [22]. Durante el estrés térmico, la fotosíntesis en las zooxantelas se ve afectada, lo que genera una acumulación de energía de excitación de sus células, que al no ser disipada adecuadamente a través de los procesos fotoquímicos normales, resulta en la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés, ver reacciones en Tabla 1). Estas son especies altamente reactivas, que culminan en la expulsión de las algas zooxantelas del coral huésped y consecuente blanqueamiento [35].

Tabla 1 ROS implicadas en la disrupción de la simbiosis del coral y zooxantela [35].

Reacción	Especie	Nombre	Daño principal
$O_2(g) + \text{energía} \rightarrow {}^1O_2(g) \text{ (excitación)}$	1O_2	Oxígeno singlete	Membranas celulares
$O_2(g) + e^- \rightarrow O_2^{\bullet-} \text{ (redox)}$	$O_2^{\bullet-}$	Superóxido	Proteínas y enzimas
$2O_2^{\bullet-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2(l) + O_2(g) \rightarrow OH^- + OH^{\bullet}$	$OH^{\bullet}$	Radical hidroxilo	Lípidos, proteínas, ADN

Después de la pérdida del simbiote, empieza un colapso metabólico severo en el que se pierden alrededor del 50% de los ácidos grasos saturados del coral y el

75% de los lípidos, en muchas ocasiones, provocando la muerte del coral al agotar su reserva energética [36]. Al ser colonizados por algas indeseables después de la muerte de los pólipos de coral, las superficies arrecifales pasan de ser acumuladores lentos de CaCO_3 (aragonita) a ser cicladores diarios de carbonato de calcio con poca o ninguna acreción neta a largo plazo; es decir, la estructura arrecifal (el esqueleto) no se desmorona instantáneamente, pero deja de acumularse y, a largo plazo, se erosiona progresivamente [37].



Figura 5 Blanqueamiento de coral del género *Diploria* y secciones con mortalidad.
Foto tomada por el autor en Octubre 2024 en Grenada, Caribe (12.0500° N,
61.7667° W) a 10 m de profundidad, con temperatura del agua a 33°C.

En condiciones normales (pH estable, agua oligotrófica, buena oxigenación y circulación de agua), a medida que los corales mueren, sus esqueletos muertos se recubren con algas coralinas costrosas (ACC, del inglés crustose coralline algae o

CCA) [3]. En condiciones post-blanqueamiento (como en la Figura 5) y otros factores que desequilibran el sistema (nutrientes por escorrentías y/o descomposición de tejidos, temperaturas elevadas), los esqueletos de los corales se colonizan con algas filamentosas oportunistas y bacterias [38], impidiendo el asentamiento de ACC, las cuales por ser calcáreas, tienen una tasa de crecimiento más lenta. Se reporta una tasa de crecimiento entre 0.11- 0.16 y 2.0 mm año⁻¹ de acreción vertical y crecimiento horizontalmente, respectivamente [39], mientras que las algas tapete (turf algae en inglés), las algas marinas oportunistas más comunes, crecen entre 0.36 - 0.44 mm cada tres semanas, en promedio alrededor de 6.9 mm año⁻¹, lo que significa que las macroalgas pueden fácilmente superar a los corales en velocidad de crecimiento, y pueden transformar una comunidad de arrecifes dominada por corales en una comunidad dominada por macroalgas (puede apreciarse también en el fondo y los alrededores de la Figura 5); indicando enfermedades y degradación de los corales [40].

La relevancia ecológica de lo antes mencionado es por el tipo de sustrato por el que muestran preferencia las larvas de coral. Dado que los corales tienen un ciclo de vida bifásico, compuesto por larvas móviles al principio de su ciclo de vida, se ha observado que los corales en su fase larval tienen preferencia por asentarse en zonas con ACC, la cual actúa como sitio de asentamiento inductivo para las larvas de coral [41]. Algunos metabolitos, como ácidos grasos, glicoglicerolípidos y polisacáridos en las paredes celulares de ciertas especies de ACC pudieran desencadenar el asentamiento de coral al contacto [41][42] o ser atraídas tanto por los químicos de las algas coralinas, como por las biopelículas microbianas epifíticas (como sucede en la ACC *T. prototypum*), que podrían producir huellas metabolómicas e inducir a nivel

bioquímico el asentamiento de larvas [44]. El desplazamiento ecológico hacia algas tapete, algas filamentosas u otras algas oportunistas afecta negativamente al arrecife al inhibir el asentamiento de juveniles de coral (como *Acropora* sp.) e inducir enfermedades de los corales, como la enfermedad de la banda negra [40].

La serie de procesos descrita anteriormente (que inicia con el colapso de la simbiosis coral-*zooxanthellae* debido al estrés térmico, seguido de la posible interrupción de la sucesión bentónica a ACC, el cambio a dominancia hacia algas filamentosas y, por consiguiente, la pérdida de las señales inductoras del reclutamiento larval) suponen un contexto de degradación ecosistémica donde la recuperación natural del arrecife queda comprometida. Este trabajo de tesis presenta una intervención biotecnológica como una posible vía de complemento de los esfuerzos de conservación clásicos, que propone el desarrollo de un recubrimiento biomimético que reproduzca la mineralogía de la ACC. Su objetivo es incrementar la preferencia de la larva de coral, al tiempo que se limita la bioincrustación por organismos que puedan obstaculizar su supervivencia (como algas filamentosas), para su aplicación en módulos de restauración artificial. Así, al asemejar las condiciones químicas que el ecosistema degradado no es capaz de generar, el recubrimiento intenta restituir artificialmente una parte del ciclo de la sucesión bentónica y de crear las condiciones adecuadas para el reclutamiento coralino ante un sustrato artificial.

1.3 Restauración de Corales: Materiales y Métodos

Los arrecifes artificiales (AA) se han utilizado desde la década de los años 1960 para la investigación, la restauración ecológica y con objetivos socio-culturales (para incrementar el turismo y/o con fines artísticos), sin embargo, a partir de la década de los 2000, se ha consolidado como una estrategia frecuente en respuesta al acelerado declive de los corales. La cantidad de arrecifes artificiales ha aumentado cardinalmente: se ha reportado la implementación de una cifra mayor a 12,000 en 2010 (cada implementación siendo de área mayor a 0.25 m²) contra únicamente 2,200 arrecifes artificiales instalados en 1960 [45]. Entre los arrecifes artificiales identificados en la literatura [46], los materiales más utilizados a nivel global han sido: concreto, neumáticos y acero, siendo el concreto uno de los materiales más utilizados debido a su bajo costo y su versatilidad; y el más usado en Norteamérica [45][46].

Inicialmente se pensó que los AA compuestos de los materiales mencionados en el párrafo anterior eran una solución prometedora para rehabilitar los ecosistemas de coral. Sin embargo, tras décadas de observación e investigación científica rigurosa, se ha generado mayor conciencia pública sobre los efectos adversos de estos materiales para la aplicación que se pretenden. Diversos estudios [47][48][49][50][51] han revelado que, contrario a las expectativas iniciales, los AA tradicionales generan más daños que beneficios para los ecosistemas marinos. El concreto, por ejemplo, tiene un pH inicial incompatible con los corales (>12) alterando el equilibrio de los ecosistemas coralinos, los neumáticos a pesar del hecho

confirmado de baja eficiencia de reclutamiento de corales son un problema de generación de microplásticos con el paso del tiempo, y el acero favorece la proliferación de especies invasoras por su contenido de hierro.

Es relevante estudiar las especies de coral pétreas y su reclutamiento para el avance de los respectivos esfuerzos de conservación [52]. En este ámbito, en la investigación se han usado materiales como la cerámica, el concreto o la terracota con el fin de observar patrones de reclutamiento de coral en arrecifes artificiales [53]. La mayor parte de trabajos de desove de coral se enfocan en corales hermafroditas los cuales tienen liberación sincronizada de gametos en 1-3 noches al año [54]. Y, a pesar que el reclutamiento de coral en AA ha avanzado durante los últimos años, se han identificado obstáculos y retos. Uno de los retos más difíciles de resolver es la persistente baja supervivencia de coral en los arrecifes artificiales, lo que hace prioritario mejorar la eficiencia de retención de corales, con el fin de alcanzar mejores resultados al escalar un proyecto de esta índole [55].

En este punto se vuelve esencial la comprensión de los mecanismos de reproducción de los corales, con el objetivo de entender mejor las causas de la baja supervivencia, dado a que diferentes modalidades de reproducción tienen diferentes retos. Los corales se pueden reproducir por métodos sexuales o asexuales (fragmentación y gemación) [56]. La propagación asexual (mediante fragmentación) se ha utilizado ampliamente para producir rápidamente corales para trasplante, mientras que la propagación sexual (o reproducción *in vitro*), a pesar de requerir más pasos e instalaciones adicionales, ofrece un gran potencial debido a recombinación

genética y una expectativa de un mayor potencial de adaptación a entornos que cambian rápidamente con el cambio climático [57]. Se ha demostrado que ejemplares reclutados mediante reproducción asistida presentan significativamente un menor blanqueamiento (en general, alrededor del 10 % menos afectación) que poblaciones de coral de adultos silvestres, juveniles silvestres, y corales de propagación fragmentada, presentando un blanqueamiento (entre 60 % y 100 %, según la especie), siendo importante mencionar que el listado siguiente es en orden descendiente de resistencia al blanqueamiento: corales de reproducción asistida, seguido de pequeñas colonias de propagación por fragmentación, y finalizando con adultos silvestres [57]. Si bien la restauración de los corales por sí sola no es una solución directa al cambio climático, ayuda a ganar tiempo para tomar acciones contra la degradación ambiental y sembrar corales potencialmente más resilientes [57].

Las primeras semanas posteriores al asentamiento se consideran una etapa crucial para los corales, ya que son altamente vulnerables a la mortalidad causada por macroalgas, la actividad microbiana y otros factores asociados como la aclimatación [58][59]. Aunque en el párrafo anterior se estableció que los corales por reproducción asistida tienen generalmente una mejor tolerancia a altas temperaturas (y, por consiguiente, menor afectación por blanqueamiento), la ventana entre el reclutamiento larvario y su establecimiento como colonia juvenil a lo largo del tiempo se caracteriza por tener una mortalidad extremadamente alta, siendo un cuello de botella en el proceso de restauración [59][60]. Por ejemplo, la tasa promedio de supervivencia de los corales trasplantados (por fragmentación) de la familia Acroporidae es de 30-66% [62][63], mientras que en reproducción sexual asistida en

Acropora palmata la supervivencia es de 1.76% a tres meses de asentamiento (cuidado *ex situ* en acuario) [64]. La supervivencia post-asentamiento en la familia Acroporidae varía entre especies: los promedios de supervivencia a tres meses en *A. tenuis*, *A. awi*, *A. echinata* y *A. subglabra* son de 16%, 6.9%, 2.5% y 0.9%, respectivamente (datos de resultados de fertilización realizada en laboratorio y transferidos al mar post-asentamiento) [61]. Incluso, la supervivencia puede ser menor para corales más jóvenes; corales de dos semanas de edad tienen tasas de supervivencia menores a 0.1% después de su traspaso al océano, en las especies *A. palmata*, *D. labyrinthiformis*, *O. annularis*, *O. faveolata*, *P. strigosa* [65]. Si bien la supervivencia después del asentamiento en poblaciones de propagación sexual puede ser tan escasa como ~1% para algunos especímenes de tres meses de edad, esta alta mortalidad temprana parece más ser un mecanismo de selección natural de individuos más fuertes, que una limitación del procedimiento de fertilización empleado en el laboratorio. Esto se apoya en que los reclutas que permanecen en sistemas controlados (*ex situ* en acuario) durante cerca de cuatro años tienen tasas de supervivencia al trasplante del 100% posteriormente [65], lo que sugiere que la mortalidad temprana es un proceso de selección natural. Sin embargo, hay autores que sostienen que el reclutamiento juvenil puede verse inhibido, en parte, por condiciones bentónicas adversas, como por ejemplo la cobertura de macroalgas [66].

1.4 La Bioincrustación Marina y la Remoción Mecánica

Como ya se hecho referencia anteriormente, la rehabilitación de corales puede verse limitada por la competencia con algas incrustantes, la cual se reconoce como la principal amenaza para la supervivencia de corales post-asentamiento,

debido a la proliferación excesiva y la dominancia competitiva por los recursos (luz y espacio) [67][68][69]. Otros mecanismos de daño alga-coral incluyen la formación de barreras físicas, toxicidad alelopática (dimetilsulfoniopropionato o DMSP), especies reactivas de oxígeno (ROS), agotamiento de oxígeno y disbiosis del microbioma coral [1][7][70][71][72].

A lo largo de los subcapítulos anteriores, se abordó cómo esto es un desafío inmediato para el reclutamiento de corales tanto en estructuras naturales (el esqueleto de coral muerto en condiciones ecológicas sanas sería colonizado mayoritariamente por ACC y posteriormente naturalmente por juveniles de coral, siendo la ACC también afectada por el cambio climático y por ende, menos ACC disponibles para reclutamiento y más algas filamentosas no aptas para reclutamiento de corales), y en sustratos artificiales.

La bioincrustación marina es más compleja que solo la presencia de algas (Figura 6); es una colonización gradual de superficies sumergidas por biopelículas microbianas, que producen la secreción de sustancias poliméricas extracelulares (EPS, por sus siglas en inglés), seguida de la adhesión de algas y, finalmente, la formación de una capa de organismos micro y macro colonizadores [73]. Aunque los AA proporcionan un sustrato para el reclutamiento de larvas de coral y otras especies, el crecimiento y la acumulación intensos de organismos incrustantes (incluso en acuarios) requieren esfuerzos de limpieza intensivos [58][74], dado a que el proceso de incrustación biológica en un sustrato artificial se puede completar en su totalidad en 1-2 meses [68].

Dicha actividad de mantenimiento de los materiales usados como sustratos o AA requiere de una actividad continua de remoción de la bioincrustación no deseada, para la cual se utilizan pequeños cepillos manuales y se realiza con una frecuencia ya sea semanal o mensual (aunque la frecuencia de las intervenciones puede variar dependiendo de la región, cantidad de radiación solar, cantidad de contaminantes en el agua, etc. si dichos factores contribuyen a aumentar la cobertura algal en los AA) y son uno de los componentes de mayor costo operativo de los programas de rehabilitación coralina, dado que cada salida de limpieza requiere equipamiento y además mano de obra especializada de buceo [75].

Por lo tanto, para contrarrestar dicha competencia algal y para que los esfuerzos de rehabilitación de corales puedan tener mayor éxito, hacen falta estrategias de manejo innovadoras y adaptativas [76], motivo por el cual, se propone en este trabajo de tesis un recubrimiento que reduce temporalmente el fenómeno de la bioincrustación sin afectación coralina.

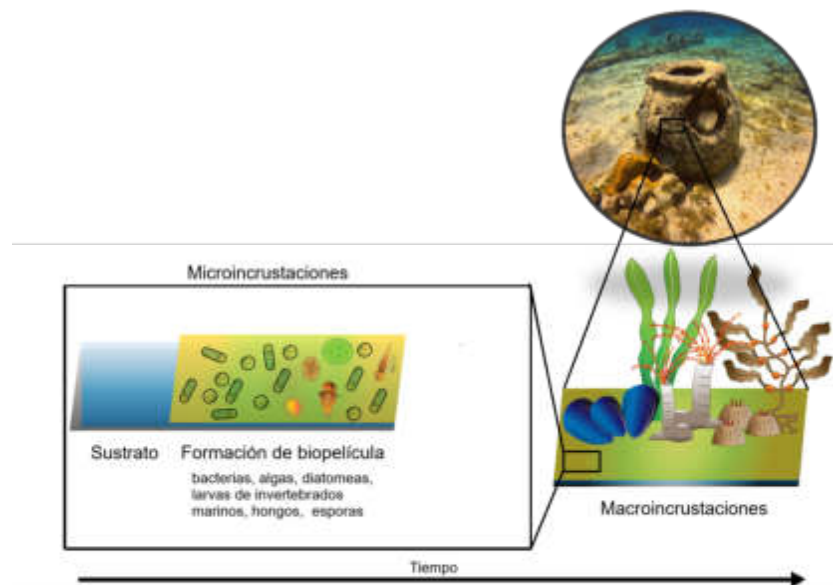


Figura 6 Crecimientos biológicos e incrustación en sustrato, adaptado [77].

1.5 El Sustrato Ideal para Corales: las Algas Coralinas Costrosas (ACC)

Dado que los corales tienen un ciclo de vida bifásico, compuesto por larvas móviles al principio de su ciclo de vida, se ha observado que las larvas tienen preferencia por asentarse en zonas arrecifales con algas coralinas costrosas (ACC), Figura 7, un alga roja calcárea que actúa como sitio de asentamiento inductivo para las larvas de coral [41].

Las ACC son algas rojas calcificantes (familias Corallinaceae, Hapalidiaceae y Sporolithaceae) que sirven como sustrato principal de asentamiento para las larvas de coral, especialmente en corales del género *Acropora* [78], proporcionando señales químicas esenciales que desencadenan la preferencia y la fijación de las larvas [41][79][80].

Dado a que en este trabajo se intenta replicar sintéticamente la ACC, es relevante mencionar las características de la misma. Los primeros 100-500 mm superiores en la ACC son capas rosadas de tejido fotosintéticamente activo [81]. Al mismo tiempo, la composición mineralógica de las ACC se caracteriza por calcita con alto contenido de magnesio ($>73\%$) y aragonita ($<27\%$), existiendo variación entre familias [82][83]. Por ejemplo, la familia Corallinaceae tiene $96.7\% \pm 3.4\%$ de calcita alto magnesio, $2.7\% \pm 1.5\%$ de aragonita y $0.6\% \pm 0.6\%$ de dolomita, con un contenido de $19.9\% \pm 3.5\%$ de magnesio en la calcita [83]. Dicha estructura compuesta de diferentes fases de carbonato de calcio tiene de forma de placas y/o agujas de tamaños entre 20-100 nm [84]. Así mismo, están compuestas generalmente por ácidos grasos como el ácido eicosapentaenoico (EPA), 31.4%, ácido palmítico,

28.8% y ácido esteárico, 6.3% [85], sin embargo, pudiera tener variaciones dependiendo de la especie.

Una de las prácticas para mejorar el reclutamiento de coral es tener sustratos de AA pre-acondicionados en el océano para lograr una colonización natural por parte de las algas coralinas costrosas (que en ecosistemas sanos) requiere de al menos 3-5 meses [86] sin embargo, este proceso de acondicionamiento puede ser largo, laborioso y puede provocar la proliferación de organismos no deseados, como algas filamentosas [87]. Esto crea una demanda de topologías especializadas que puedan promover el asentamiento y la supervivencia, para mejorar la eficiencia de este proceso [88].

En este trabajo se realizó la síntesis de fases de carbonato de calcio (CaCO_3) para imitar la naturaleza calcárea de las ACC, mientras que el agente antiincrustante decorando el recubrimiento de CaCO_3 evita la bioincrustación algal indeseada.

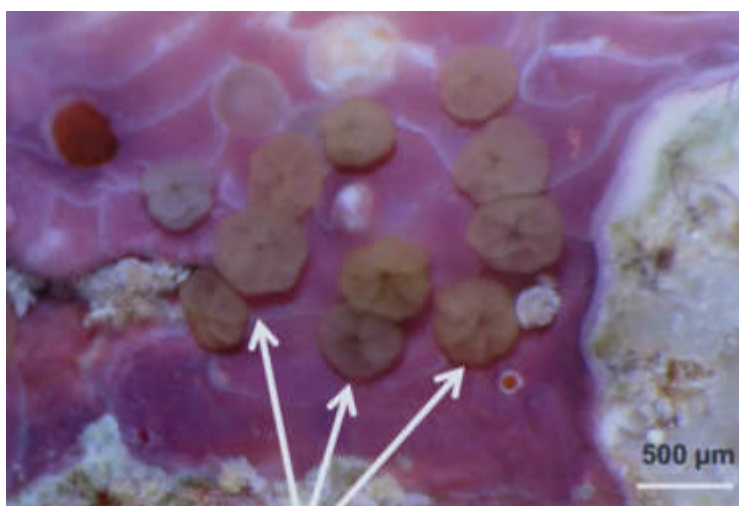


Figura 7 Asentamiento de larvas del coral *Acropora millepora* de 10 días de edad sobre el alga coralina incrustante (ACC) *Titanoderma cf. tessellatum*, adaptado [44].

CAPÍTULO 2

ANTECEDENTES

En el capítulo 1.4 se describe sobre el mecanismo de la bioincrustación y sus afectaciones a los corales en arrecifes artificiales. A continuación pasamos a los agentes antiincrustantes primero de manera general de la industria marítima y luego en específico, agentes antiicrustantes probados específicamente con corales para incrementar la efectividad en los esfuerzos de rehabilitación.

2.1 Agentes Antiincrustantes en la Industria Marítima

Los primeros vestigios de intentos de combatir las bioincrustaciones indeseables datan de hace aproximadamente 2000 años, con operaciones navales y revestimientos metálicos, pero se ha descubierto que estos materiales interactúan electroquímicamente con el agua de mar, aceleran la corrosión y acortan la protección contra las incrustaciones [89]. Se tiene un amplio uso de biocidas antiincrustantes en la industria marítima, debido a que la bioincrustación genera mucha resistencia hidrodinámica; puede incrementar hasta un 40% más de consumo de combustible de los transportes marítimos [90], siendo los más comunes tributilo de estaño (TBT), sulfatos de cobre, óxidos de cobre y la diclorooctilisotiazolinona (DCOIT) presentados en la Tabla 2.

En la última década, la investigación científica del control de la

bioincrustación marina ha mostrado un aumento en cuanto al número de publicaciones, con un total de 160 artículos de investigación y 90 patentes en la temática desde 2004 hasta 2024, donde China lidera la producción científica de la temática con el 28.9%, seguido por Estados Unidos (9.83%), Reino Unido (8.74%), Portugal (8.19%) e India (7.65%), lo que se correlaciona con la magnitud de sus industrias navales y acuáticas [91].

Debido a la complejidad de los mecanismos de la bioincrustación, gran parte de la investigación citada en el párrafo anterior se centra en estudios a nivel laboratorio, con falta de estudios comparativos sobre el rendimiento a largo plazo, la durabilidad y la ecología, así como no se ha completado estudios efectivos con agentes antiincrustantes con nuevos materiales como recubrimientos nanoestructurados, superficies biomiméticas y compuestos naturales que tengan resultado comparables a los usados comercialmente [91]. Aunque el control de las bioincrustaciones en estructuras navales e industriales goza de popularidad y tiene un largo historial de investigaciones, su aplicación directa en el contexto de la restauración arrecifal es totalmente incompatible con los objetivos ecológicos a los que aspiran las intervenciones de rehabilitación de corales; los recubrimientos de antibioincrustación convencionales permitidos (Tabla 2) contienen biocidas como el cobre y la isotiazolona halogenada, cuya toxicidad resulta incompatible con la supervivencia del coral y sus fotosimbiontes (zooxantelas) y generan alteraciones endocrinas y genéticas en especies no objetivo.

Tabla 2 Algunos de los agentes antiincrustantes industriales sintéticos utilizados en la industria marina.

Categoría	Agente	Mecanismo principal	Usos	Toxicidad	Ref.
Sintético comercial	Tributil estaño (TBT)	Biocida de amplio espectro	Prohibido su uso desde 2008	0.001 µg/L para peces	[92]
Sintético comercial	CuO y CuSO ₄	Biocida de amplio espectro	Introducidos en 1990	100 µg/L para peces	[93][94]
Sintético comercial	DCOIT (4,5-dicloro-2-n-octil-isotiazolona)	Inhibición de asentamiento larval y microbiano	Producto comercial común: SEA-NINE ^T M 211N	280 µg/L para peces	[42]

A pesar de ser escasas, existen investigaciones de agentes antiincrustantes en forma de recubrimientos sobre sustratos diseñados para interacción con corales, las cuales se presentan en la Tabla 3.

El análisis conjunto de los estudios evaluados en la Tabla 3 anterior muestra una tendencia clara en la investigación de agentes antibioincrustantes para restauración coralina orientada progresivamente a la preferencia por recubrimientos poliméricos de base de silicona; con agentes activos como el polidimetilsiloxano (PDMS) y fluoropolímero de silicona, como alternativa no biocida.

Tabla 3 Estudios de recubrimientos antiincrustantes evaluados en el contexto de rehabilitación de corales.

Categoría	Agente	Sustrato usado	Especie de coral	Resultado	Año y Ref.
Parafina	Parafina con base de epoxi, CoralCare	Terracotta	<i>Acropora</i> spp.	Reduce formación bacteriana 35-41% en 39 días, aumenta supervivencia de corales al 70%	2014 [95]
Nanopartículas (NP)	NP de dióxido de cerio (CeO_{2-x})	Cemento	<i>A. tenuis</i>	Baja eficiencia. Actividad antiincrustante únicamente 2% después de 37 días	2022 [7]
Biocida sintético	DCOIT (4,5-dicloro-2-n-octil-isotiazolona)	Cemento	<i>A. tenuis</i>	Alta eficiencia, 61-63% de sustrato libre después de 37 días. Limitante: letargia de larvas (velocidad de nado reducida en su totalidad).	2022 [7]
Polimérico	Sol-gel basado en silicona	Cemento	<i>A. tenuis</i>	Baja eficiencia antiincrustante, 11-17% después de 37 días	2022 [7]
Polimérico	Polidimetilsiloxano (PDMS) SYLGARD 184	Sustratos de arena de aragonita	<i>Stylophora pistillata</i>	Reducción de hasta 70% en cobertura algal en 12 semanas (84 días)	2025 [96]
Polimérico	Polidimetilsiloxano (PDMS) Hempasil 77300 (silicona)	Cerámica (95% alúmina)	<i>A. millepora</i>	Reducción del 85-93% de cobertura algal en 8 semanas, y 80-85% en 20 semanas	2025 [59]
Polimérico	Intersleek	Cerámica	<i>A.</i>	Reducción del	2025

	1001 (fluoropolímero de silicona),	(95% alúmina)	<i>millepora</i>	80-90% de cobertura algal en 8 semanas, y 70-75% en 20 semanas	[59]
Polimérico	Parafina con base de epoxi, CoralCare	Cerámica (95% alúmina)	<i>A. millepora</i>	Reducción del 52-73% de cobertura algal en 8 semanas, y 45-50% en 20 semanas	2025 [59]

Montalvo-Proano *et al.* han desarrollado los recubrimientos más efectivos hasta el momento usando Hempasil 77300 (PDMS), que ha demostrado consistentemente los mejores resultados, alcanzando una reducción del 85-93% de cobertura algal durante las primeras 8 semanas. El producto Intersleek 1001 (fluoropolímero), demostró resultados intermedios equiparables, con 80-90% de reducción de bioincrustación total a las 8 semanas, considerada como la segunda opción válida de la Tabla 3 [59]. Esta convergencia, orientada hacia las siliconas como material de elección antiincrustante, tiene que ver con su energía superficial extremadamente baja y buena flexibilidad mecánica [97], con tensiones superficiales que oscilan entre 25.7 mN/m (hidrofóbicas, que repelen moléculas polares) y 72.8 mN/m (hidrofilicas, que impiden la adhesión de proteínas) inhibiendo la adhesión bacteriana mientras mantienen la viabilidad celular [98]. Como referencia, el teflón (politetrafluoroetileno o PTFE) tiene una tensión superficial de 20 mN/m [99], relativamente cercano al PDMS.

A pesar de que la investigaciones con recubrimientos de PDMS han mostrado su eficacia para prevenir la bioincrustación sin toxicidad directa observable a los

reclutas de coral [59][96], los procesos de degradación por abrasión mecánica, radiación UV y estrés mecánico prolongado en condiciones de campo pudieran generar micropartículas poliméricas. Se ha corroborado la existencia de PDMS en la superficie del mar empleando espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) en muestras del Mar Mediterráneo, evidenciando que este polímero tiene la capacidad de flotar por su baja densidad ($0.96 - 0.97 \text{ g/cm}^3$) [100]. Los organismos que tendrían interacción cercana con la degradación de PDMS (hipotéticamente de un recubrimiento para rehabilitación de corales) incorporarán micropartículas, acumulando polímeros sintéticos con efectos potencialmente perjudiciales.

Por lo tanto, la aplicación a escala de recubrimientos de PDMS sobre sustratos de arrecife artificial para ecosistemas coralinos puede constituir un riesgo de toxicidad a largo plazo, y por este motivo, se evalúan alternativas de agentes antibioincrustantes ecológicos y biodegradables para este trabajo.

2.2 Algas *Sargassum* Como Agentes Antiincrustantes

Algunos organismos marinos como plantas acuáticas, tiburones, ballenas y corales blandos, entre otros, pueden permanecer libres de incrustaciones a pesar de estar sumergidos constantemente, y esto ha inspirado estudios para imitar su estructura epidérmica para crear revestimientos antiincrustantes biomiméticos [101].

Las algas del género *Sargassum* han demostrado tener propiedades antiincrustantes prometedoras y esta sección resume los hallazgos clave de investigaciones que examinan diferentes especies de *Sargassum* y sus componentes bioactivos. Estudios previos han demostrado que las especies de *Sargassum* pueden contener varios compuestos bioactivos como ácidos grasos, fenoles, esteroides,

hidroquinonas, entre otros, con actividad antibacteriana comprobada [102][103].

Algunos de estos estudios que anteceden este trabajo se pueden resumir en la Tabla 4.

Tabla 4 Propiedades antibacterianas y antiincrustantes de especies de *Sargassum* y sus compuestos en publicaciones con respaldos empíricos.

Espece	Actividad antibacteriana	Efectos antiincrustantes	Ref.
<i>Sargassum muticum</i> (extracto)	Activo contra <i>Chromobacterium violaceum</i> CV017	Efectivo contra diatomeas (<i>Cylindrotheca closterium</i>) y larvas de <i>Bugula neritina</i>	[101] [102]
<i>Sargassum cf. latifolium</i> (extracto)	Activo contra <i>C. violaceum</i> CV017	Efectivo contra diatomeas (<i>C. closterium</i>) y larvas de <i>B. neritina</i>	[101]
<i>Sargassum ilicifoliae clade</i> (extracto)	Activo contra <i>C. violaceum</i> CV017	Efectivo contra diatomeas (<i>C. closterium</i>) y larvas de <i>B. neritina</i> .	[101]
<i>Sargassum horridum</i> (extracto)	Activo contra 11 bacterias formadoras de biopelículas (gram-positivas y gram-negativas), en pintura.	Inhibe la adhesión bacteriana y la actividad de la enzima fenoloxidasa. 39.9% de sustrato libre después de 40 días, no tóxico para <i>Artemia franciscana</i>	[104]
<i>Sargassum granuliferum</i> (ácidos grasos)	Activo contra 5 cepas de bacterias marinas (<i>V. mimicus</i> , <i>V. parahaemolyticus</i> , <i>V. alginolyticus</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>B. subtilis</i>)	Inhibe la actividad de la enzima fenoloxidasa, relacionada con la incrustación. Ácido hexadecanoico mostró la actividad más fuerte comparado con otros ácidos.	[105]
<i>Sargassum vulgare</i> (glicolípidos)	Activo contra <i>P. irgensii</i> y <i>H. marina</i> .	Efectivo contra microalgas.	[106]
<i>Sargassum plagiophyllum</i> (extracto)	Sin actividad antibacteriana en <i>P. aeruginosa</i> . Inhibición en <i>C. violaceum</i>	Antibiofilm potente. Formulación al 5% superó pinturas comerciales	[107]

<i>Sargassum fluitans</i> III (extracto)	Actividad bactericida contra <i>S. fodinae</i> y <i>S.</i> <i>warneri</i> .	No evaluado directamente. Primeros en reportar cumarinas (5.88%) y antocianinas (7.99%) en sargazo.	[108]
--	---	---	-------

Los estudios presentados en la Tabla 4 contribuyen con respaldos empíricos que demuestran que las diferentes especies del género *Sargassum* presentan metabolitos con una actividad antiincrustante reproducible en ensayos tanto en laboratorio como en ensayos *in situ*, con efectos desde inhibir la formación de biopelícula bacteriana hasta evitar el asentamiento de macroincrustantes.

De dichos estudios se deduce que los metabolitos responsables de la actividad antiincrustante pudieran ser ácidos grasos de los sargazos y otros compuestos cuya actividad produce la interrupción del quórum bacteriano e inhibición de forma directa de la adhesión bacteriana en superficies sumergidas.

La elección del extracto de *Sargassum* como componente funcional del recubrimiento biomimético desarrollado en este trabajo de tesis ocurre en base a tres criterios convergentes que resultan de los estudios citados en la Tabla 4; primero, la actividad antiincrustante ha sido previamente verificada en diversas especies con diversos contextos geográficos, lo que sugiere, que dicha actividad sería una característica propia del género y menos dependiente de condiciones ambientales específicas; segundo, a diferencia de los biocidas tradicionales, tales como el óxido de cobre, los extractos de *Sargassum* poseen muy baja o nula toxicidad hacia organismos no objetivo (como especificado para *Sargassum horridum* en la Tabla 4), como lo demuestran con pruebas del crustáceo modelo *Artemia franciscana*, en los

que no se ha registrado mortalidad estadísticamente significativa en dicho estudio. Y por último, la disponibilidad abundante de biomasa de sargazo en el Caribe, sobre todo las costas de Quintana Roo, representa una oportunidad de valorización de un residuo, lo que le otorga a este biomaterial una ventaja estratégica en términos de sostenibilidad, circularidad, bajo costo y adecuación regional frente al contexto de restauración arrecifal del Caribe mexicano en la que se encuadra esta investigación.

Por ello, el extracto de *Sargassum* spp. se empleó en conjunto con nanopartículas de carbonato de calcio sintetizadas a partir de biomasa de *Sargassum* spp. para el recubrimiento de placas como arrecifes artificiales cerámicos impresos en 3D, para inhibir la bioincrustación indeseada de macroalgas.

2.3 Contribución Científica

Hasta donde se tiene conocimiento, este es el primer método de arrecife artificial que utiliza nanopartículas sintetizadas a partir de *Sargassum* spp., adicionado de extracto de *Sargassum* spp., para tener un recubrimiento bioinspirado en las ACC, lo cual no se ha explorado anteriormente.

Así mismo, no está reportado el estudio del sargazo pelágico del Caribe para inhibir la bioincrustación de algas, así como no se ha explorado el uso de arcilla potásica para restauración de corales.

Al desarrollar un proceso sustentable, basado en principios de economía circular y con potencial de escalamiento, esta investigación representa un avance significativo para la rehabilitación sostenible de los ecosistemas de arrecifes de coral.

2.4 Hipótesis

Los recubrimientos en sustratos cerámicos con nanopartículas de CaCO_3 con extractos de *Sargassum* spp. inhibirán el crecimiento de macroalgas y permitirán la restauración de arrecifes de coral.

En la Figura 8 se conceptualiza la hipótesis de este trabajo.

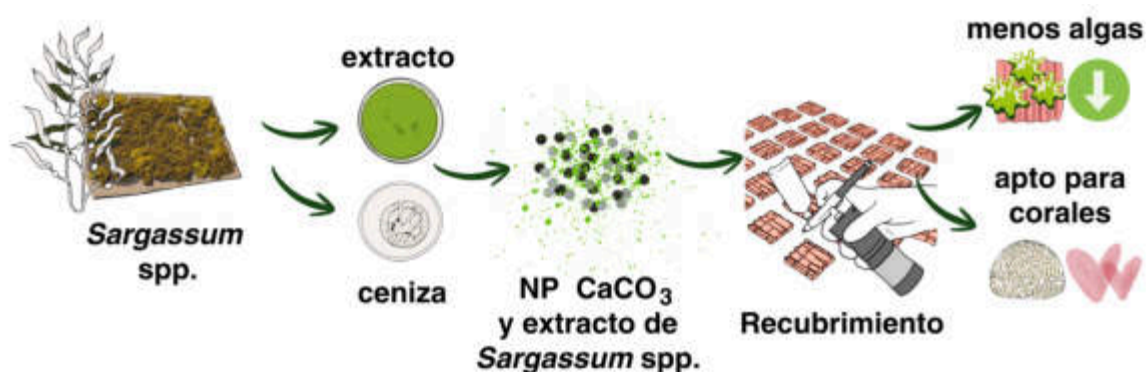


Figura 8 Hipótesis gráfica de este trabajo de tesis.

2.5 Objetivo General

Desarrollar placas cerámicas impresos en 3D recubiertos con nanopartículas de CaCO_3 biomiméticas de ACC recubiertas con extractos y ácidos grasos derivados de algas *Sargassum* spp., que biomimericen la morfología y función de las algas coralinas costrosas (ACC) y presenten actividad antiincrustante frente a macroalgas indeseadas.

2.6 Objetivos Específicos

1. Recolectar algas *Sargassum* y preparar extractos.
2. Analizar los extractos mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS, por sus siglas en inglés).
3. Determinar la actividad antibacteriana y anti-incrustante *in vitro* de extractos y ácidos grasos.
4. Realizar pruebas de toxicidad en *Artemia franciscana*.
5. Realizar pruebas mecánicas en el material cerámico (usado para impresión 3D).
6. Usar deposición química para crear el recubrimiento antiincrustante usando nanopartículas de CaCO_3 con los extractos y/o ácidos grasos en las placas cerámicas.
7. Caracterizar las placas recubiertas con nanopartículas para verificar la presencia de calcita-aragonita en el recubrimiento.
8. Evaluar la compatibilidad del material para larvas de coral, instalar prototipos de arrecifes y monitorear su desempeño.

En la Figura 9 se hace una referencia gráfica a los objetivos específicos descritos.



Figura 9 Objetivos específicos de este trabajo de tesis.

2.7 Metas Científicas

- Generar nuevo conocimiento sobre revestimientos antiincrustantes sustentables y aptos para su uso durante esfuerzos más efectivos de rehabilitación de corales.
- Publicar al menos un artículo científico, y un artículo de divulgación.

2.8 Metas Académicas

- Participar en una conferencia nacional y una internacional.
- Realizar una estancia de investigación.
- Generar una tesis doctoral.
- Divulgar los resultados obtenidos.

CAPÍTULO 3

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Análisis Geoespacial de Condiciones Oceanográficas Mediante el Supercomputador CINECA

Para conocer las condiciones de potenciales sitios de restauración, así como anticipar escenarios de riesgo que ponen en peligro los esfuerzos de rehabilitación de corales, se determinaron las circunstancias oceanográficas que experimentan los arrecifes del Caribe Mexicano. Para ello, se midió la temperatura de la superficie del mar, el oleaje y patrones de corriente usando la plataforma de análisis geoespacial CINECA (en colaboración con la Universidad de Bologna, la UNESCO y las Naciones Unidas). Se estudió geoespacialmente a lo largo de un sector de la costa de Playa del Carmen, (Quintana Roo) de 4.6 km de extensión (20.627246°N, -87.069218°O), incluyendo tramos considerados críticos en erosión de las playas, tales como Playa El Recodo, Playa Fundadores y Xcalacoco. El análisis oceanográfico se realizó utilizando tres conjuntos de datos principales obtenidos del Servicio Marino de Copernicus (Copernicus Marine Service):

- **Análisis de la temperatura superficial del mar:** El conjunto de datos de reanálisis físico global multianual (producto: GLOBAL_MULTIYEAR_PHY_001_030) [109] proporcionó datos de

altura de la superficie del mar, temperatura, salinidad y corrientes que abarcan desde 1993 hasta 2024.

- **Caracterización de la dinámica de las olas:** Las condiciones de oleaje se caracterizaron utilizando el conjunto de datos de reanálisis de oleaje global multianual (producto: GLOBAL_MULTIYEAR_WAV_001_032) [110], que incluyó altura, periodo (1, 5, 10, 25 y 50 años) y dirección de oleaje significativos en el mismo rango temporal.
- **Patrones de corriente:** Las condiciones oceánicas se evaluaron mediante el producto de análisis y pronóstico de física oceánica global (producto: GLOBAL_ANALYSISFORECAST_PHY_001_024) [111], con datos de velocidades de corrientes a -10 m de profundidad para caracterizar la dinámica del transporte de sedimento que experimentan los arrecifes en dichas profundidades.

El procesamiento de datos correspondiente a los datos oceanográficos se llevó a cabo en el supercomputador de alto rendimiento CINECA por medio de Scripts Python ejecutados en cuadernos Jupyter. El dominio de análisis se prescribió como un recuadro limitante de $2^{\circ} \times 2^{\circ}$ con centro en Playa el Recodo, que ha sido delimitado usando la herramienta geoespacial bboxfinder (<http://bboxfinder.com>), una herramienta de libre acceso para la delimitación geoespacial.

3.2 Recolección, Liofilizado y Obtención de Extractos

Una vez caracterizadas las condiciones oceanográficas del sitio de estudio, se procedió a la colecta del material biológico. Se recolectaron algas marinas presuntamente del género *Sargassum* en base a características morfológicas en Playa del Carmen (Playa El Recodo), con dirección específica: Calle 1 Nte. 281, Gonzalo Guerrero, 77720 Playa del Carmen, Q.R, el 13 de octubre de 2023. La recolección fue manual y se tomaron muestras de diferentes áreas directamente de la playa para asegurar representatividad. Es importante notar que no era temporada de arribo de sargazo. Las muestras no se lavaron con agua dulce para evitar la ruptura osmótica de las células, se refrigeraron durante 48 horas después de la recolección y fueron transportadas por avión. Este proceso se realizó para mantener la integridad celular y facilitar la identificación posterior.

Las muestras fueron sometidas a un proceso de liofilización utilizando el equipo ModulyoD Thermofisher FR Drying V24V-431097. Durante este proceso, se estableció una temperatura de -52°C , manteniendo un vacío de 648 mbar para eliminar el agua sin dañar la estructura de las muestras. Posteriormente, los extractos se prepararon utilizando un proceso de maceración secuencial [112][113], en el cual el material vegetal fue extraído con una mezcla de cloroformo y metanol en una proporción de 1:1 (método Folch). Se realizaron tres extracciones, utilizando un total de 1000 mL del solvente, con intervalos de 48 horas entre cada extracción. Este procedimiento se llevó a cabo utilizando el Rotavapor Vertical IKA RV10 Digital. La elección de esta combinación de solventes se realizó con el objetivo de maximizar la

extracción de compuestos polares y no polares presentes en el material vegetal. El cloroformo (solvente apolar), permite la extracción de compuestos lipofílicos, mientras que el metanol facilita la disolución de metabolitos polares [114]. Esta estrategia de extracción dual es efectiva para obtener un amplio espectro de metabolitos que pueden ser de interés en estudios posteriores. Así mismo, el Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR) otorgó 1 kg de *Sargassum horridum* liofilizado, el cual se usó para hacer extracciones y comparar resultados.

A diferencia de las muestras empleadas en las pruebas preliminares de ensayos biológicos, que no se lavaron para evitar su ruptura osmótica, posteriormente se recolectaron muestras de *Sargassum* spp. desde lancha, a 2 km de la marina de Puerto Morelos el 3 de marzo del 2025. Dichas muestras se lavaron con agua de la llave y posteriormente con agua destilada, y se utilizaron para la síntesis del recubrimiento. Esto fue con el objetivo de evitar la contaminación del sargazo con arena y otros contaminantes no deseados como lo fue en las muestras colectadas en la orilla de la playa anteriormente.

3.3 Ensayos Biológicos para Determinar Actividad Antibacteriana y Actividad Antiicrustante *in vitro*

Los ensayos biológicos preliminares a la síntesis del recubrimiento biomimético se realizaron en el Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR). Se evaluó la inhibición del crecimiento bacteriano y la formación de

biopelículas utilizando el método de microdilución en placa [104]. Para esto, se seleccionaron diez cepas bacterianas formadoras de biopelículas, aisladas de una muestra de bioincrustación marina recolectada en septiembre de 2023 por el CICIMAR, Figura 10.

Las cepas incluyeron:

Bacterias Gram-negativas:

- *Alteromonas alba*
- *Alteromonas stellipolaris*
- *Rugeria atlanticus*
- *Vibrio ulleungensis*
- *Vibrio diazotrophicus*
- *Vibrio mediterranei*
- *Pseudoalteromonas fuliginea*

Bacterias Gram-positivas:

- *Antarcimicrobium lutem*
- *Bacillus subtilis*
- *Bacillus pumilus*



Figura 10 Muestra de bioincrustación, tomada en septiembre de 2023 por el CICIMAR, para su posterior aislamiento bacteriano. Fotos hechas durante estancia de investigación en el CICIMAR.

Preparación del inóculo: Se preparó medio de cultivo sin agar utilizando peptona de carne, extracto de levadura y agua de mar filtrada (malla de 10 micras) y esterilizada (120°C y 15 lb/in^3 lb de presión, en autoclave Market Forge, Sterilmatic). Para la estandarización del inóculo bacteriano, se ajustó la densidad óptica de los cultivos bacterianos a 1.0 a 585 nm utilizando un espectrofotómetro Merck SQ 118 (protocolo estandarizado del laboratorio del CICIMAR). Se preparó una suspensión bacteriana diluyendo 100 μL del cultivo ajustado en 9.9 mL de caldo marino estéril (para 1:100).

Compuestos evaluados: Extractos de sargazos y de algas rojas, ácido eicosapentaenoico EPA y ácido palmítico (ácidos grasos), a las concentraciones de 1000, 500, 100, 50, 10, y 1 $\mu\text{g/mL}$ en caldo marino estéril. Se incluyó sulfato de cobre (CuSO_4) como control positivo, evaluado a las mismas concentraciones.

Ensayo de microdilución y mediciones: Se utilizaron microplacas de 96 pocillos Costar 3596 96-well esterilizadas previamente con UV (15 minutos en Sentinel Gold

Microprocessor control system biosafety cabinet), Figura 11. En cada pocillo se dispensaron 100 μ L de la suspensión bacteriana preparada, 100 μ L de la dilución correspondiente de compuesto de prueba y se incluyeron controles negativos (caldo marino sin inocular) y positivos (CuSO_4).

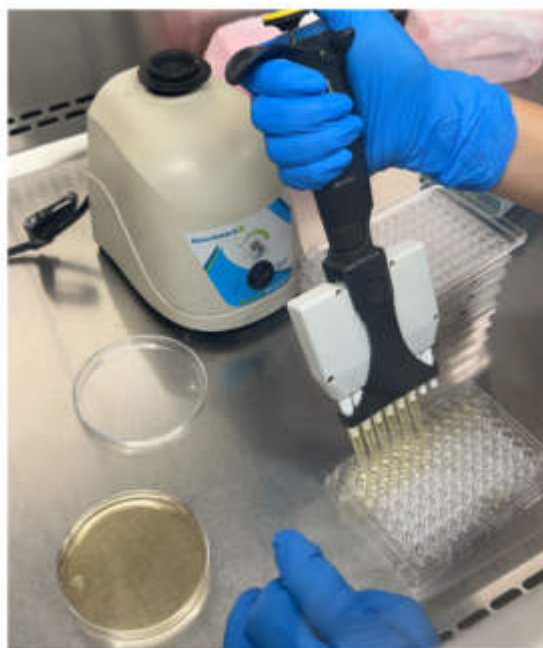


Figura 11 Llenado de microplacas con concentraciones de cada extracto o compuesto en concentraciones de 1000, 500, 100, 50, 10, y 1 $\mu\text{g/mL}$, por sextuplicado ($n=6$).

Las microplacas se incubaron a 35°C durante 48 horas. Se realizaron lecturas de densidad óptica a 585 nm utilizando un lector de microplacas Tecan Infinite M1000 Pro a las 24 y 48 horas. Posteriormente, se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para cada compuesto y cepa bacteriana.

Evaluación de formación de biopelículas: Después de 48 horas, se retiró el sobrenadante y se realizó un lavado con agua. Se fijaron las células con metanol

durante 15 minutos y se tiñeron las biopelículas con cristal violeta (0.2%) durante 10 minutos, Figura 12. Tras el secado, se resuspendió en ácido acético al 33% y se realizaron lecturas de absorbancia en el Lector de Microplacas Tecan Infinite M1000 Pro y se determinó el % de inhibición de biopelícula, usando la fórmula (1).

$$\text{Inhibición (\%)} = [(DO_{585 \text{ nm}} \text{ C} - DO_{585 \text{ nm}} \text{ T}) / DO_{585 \text{ nm}} \text{ C}] * 100 \quad (1)$$

Donde $DO_{585 \text{ nm}} \text{ C}$ es la densidad óptica a 585 nm para el control y $DO_{585 \text{ nm}} \text{ T}$ es la densidad óptica a 585 nm para el tratamiento.

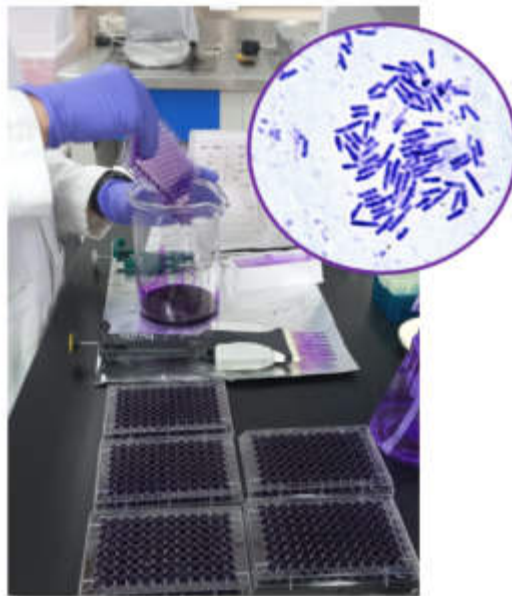


Figura 12 Preparación de muestra para cuantificación de formación de biopelícula.

3.4 Toxicidad en *Artemia franciscana*

Para evaluar la toxicidad de los extractos en *Artemia franciscana*, se realizó el protocolo adaptado por el Laboratorio de Microbiología de CICIMAR, IPN [104]. Se prepararon diluciones seriadas de los extractos en metanol para obtener las siguientes concentraciones finales: 1500, 1000, 500, 100, 10, 1 µg/mL y se colocaron en una placa de costar estéril de 24 pozos (ref 3738) de poliestireno.

Se hidrataron 0.5 g de quistes de *Artemia franciscana* durante 30 minutos, se desinfectaron con cloro 10% (20 segundos) y benzal 3% (15 segundos), y se incubaron en baño maría a 30°C durante 24 horas con luz y aireación constante. Se transfirieron 10-12 nauplios de *Artemia franciscana* a cada pozo de la placa, completando el volumen hasta 3 mL con agua de mar esterilizada. Las placas se incubaron a 30°C durante 48 horas, realizando conteos de organismos vivos y muertos a las 24 y 48 horas con un microscopio óptico con un aumento 6-10x Stemi SV 11. El diseño experimental incluyó triplicados para cada concentración de extracto, un control negativo con agua de mar esterilizada.

Para el análisis de datos, se calculó el porcentaje de mortalidad en cada concentración y se determinó la LC₅₀ (concentración letal media, que matará al 50% de los sujetos de prueba en una sola exposición de tiempo) [115] permitiendo así evaluar cuantitativamente la toxicidad de los extractos probados, Figura 13.

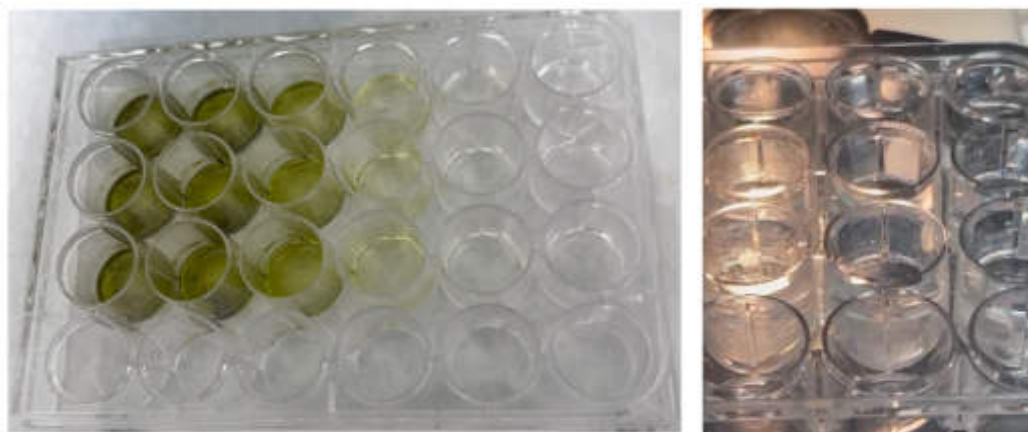


Figura 13 Placas para evaluación de toxicidad en *Artemia franciscana* y cuantificación de LC_{50} .

3.5 Perfil de Ácidos Grasos Mediante GC-MS

Para identificar la composición de los ácidos grasos de *Sargassum* spp., se utilizó cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS). Se seleccionó una muestra representativa de *Sargassum* (especies recolectadas de *S. natans* y *S. acinarium* desde lancha, a 2 km mar adentro del puerto en Puerto Morelos) en aguas abiertas, para reducir posibles variables de contaminación costera.

La extracción se realizó siguiendo el protocolo descrito en la sección 3.2 y posteriormente se evaporó bajo flujo de nitrógeno, seguida de metilación durante la noche con CH_3OH/HCl (98:2, v/v) a $50^{\circ}C$, siguiendo el método de Bazes *et al.* [116] de preparación de muestra para extractos de sargazo. Tras el enfriamiento, se añadieron 30 mL de hexano al metilato y se agitó en un vórtex.

La fase orgánica superior se recolectó para su análisis mediante GC-MS. Para el análisis se utilizó un cromatógrafo de gases Agilent Technologies 7890B

conectado a un espectrómetro de masas 5977A. El programa de temperatura se configuró a 60°C (isotérmico durante 2 min), con un aumento gradual de 150°C a 10°C/min y de 300°C a 5°C/min. Las temperaturas del inyector y la interfaz se fijaron en 250°C. Se inyectó 1 µL de muestra (relación de división 10:1, disolvente durante 3 minutos y flujo de gas He de 1 mL/min) en la columna capilar Agilent 190915-433UI (30 m x 250 mm x 0.25 µm). Cada muestra se analizó por triplicado y se utilizó la base de datos Wiley10/NIST11 para la identificación de picos de ácidos grasos.

En la Figura 14 se muestra un resumen gráfico del proceso de recolección del sargazo y obtención de extractos (sección 3.2), ensayos biológicos con bacterias (sección 3.3), toxicidad en *Artemia franciscana* (sección 3.4) y perfil de ácidos grasos (sección 3.5).

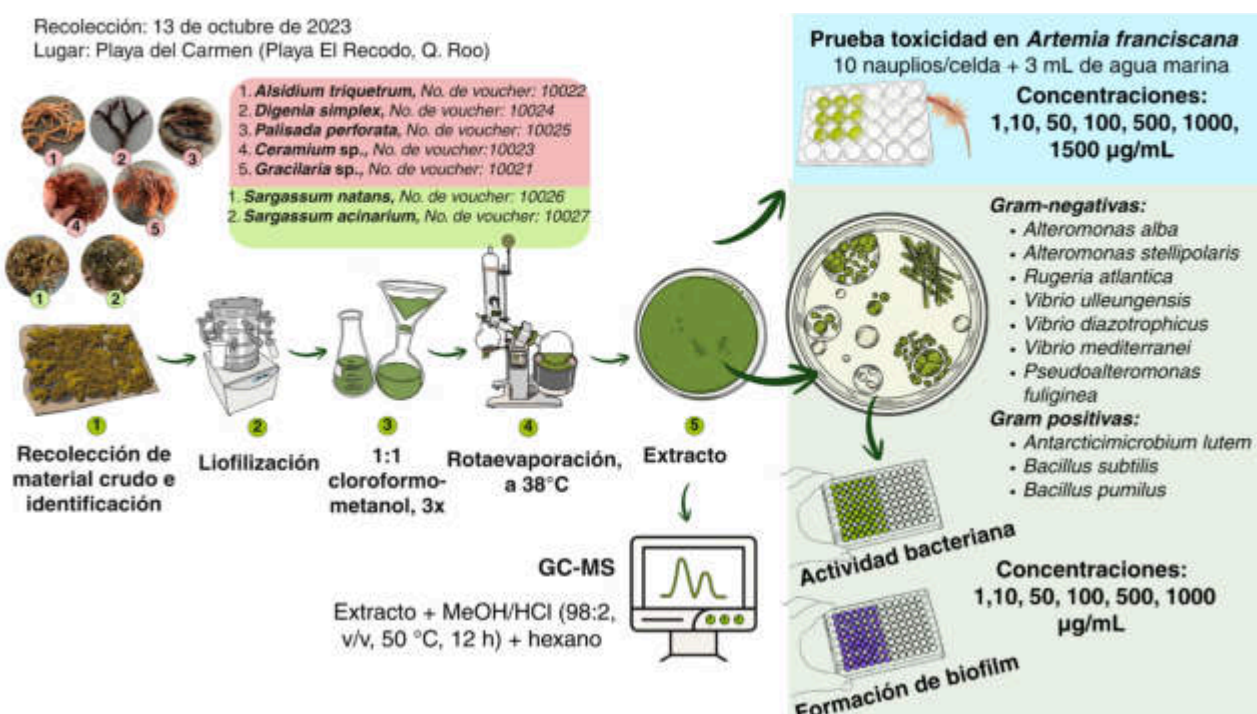


Figura 14 Resumen gráfico de la metodología empleada en las secciones 3.2-3.5.

A continuación, se muestra un resumen gráfico de la metodología empleada en las secciones 3.6 - 3.10, Figura 15 para mostrar conceptualmente la síntesis del recubrimiento biomimético sobre el sustrato cerámico.

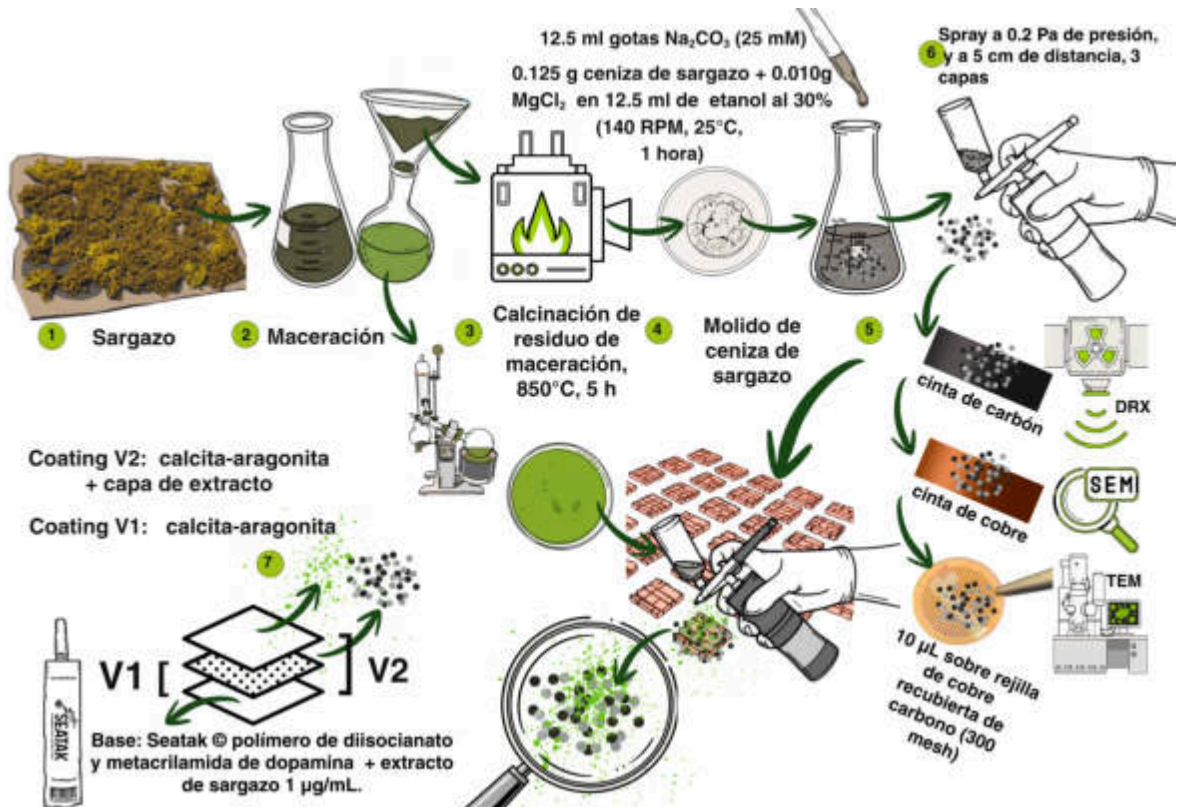


Figura 15 Resumen gráfico de la metodología empleada en las secciones 3.6-3.10.

3.6 Síntesis y Caracterización de NP para el Recubrimiento

Antiincrustante

La síntesis de las NP de carbonato de calcio (para asemejar las fases cristalinas de la ACC) se hizo a partir de ceniza de sargazo, obtenida de biomasa de sargazo post-maceración o post-extracción, para lograr una mayor circularidad de los residuos del proceso.

Por lo tanto, se inició con la caracterización de la ceniza de sargazo por SEM-EDS (Microscopía Electrónica de Barrido con Espectroscopía de Energía Dispersiva, por sus siglas en inglés) y Difracción de Rayos X (XRD, por sus siglas en inglés) para ajustar la cantidad de magnesio (Mg) deseada para la posterior síntesis de partículas en base a la relación Mg/Ca de la ceniza inicial.

La síntesis se realizó con 0.125 g de ceniza de *Sargassum* spp. (post-extracción) ajustado a una relación molar Mg/Ca de 0.15, añadiendo 0.010 g de $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ en 3.75 mL de etanol y 8.75 mL de agua destilada. Seguido de la adición gota a gota de 12.5 mL de una solución de Na_2CO_3 de 25 mM, bajo agitación constante, logrando una concentración final de etanol del 30% (v/v).

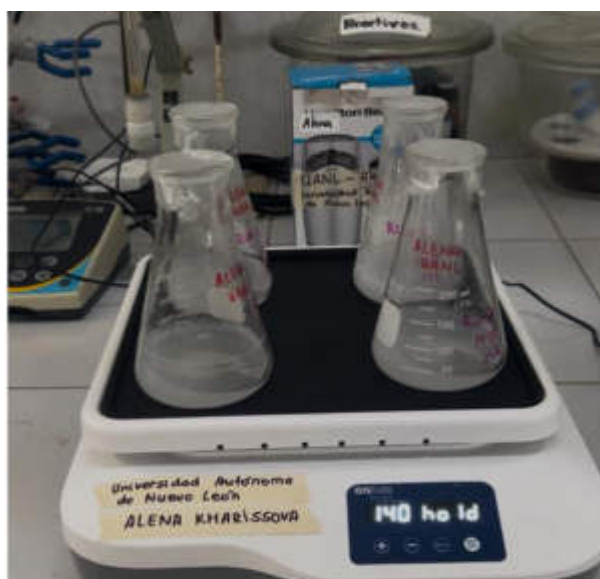


Figura 16 Ceniza de sargazo usada como precursor para síntesis de CaCO_3 .

La mezcla se agitó a 140 rpm (Figura 16) durante 1 hora a temperatura ambiente, con base en el diagrama de fases reportado por Sand *et al.* [117] para la cristalización de CaCO_3 en mezclas de agua-alcohol para calcita-aragonita, y se realizó la deposición sobre el material cerámico (la preparación del material cerámico está descrito más a detalle en la sección 3.8). La caracterización de fases se realizó con un tiempo de envejecimiento de un mes, para promover la estabilización cristalográfica y reducir las fases metaestables en carbonato de calcio.

Posteriormente, se aplicaron tres capas por deposición a una cinta de cobre (para SEM-EDS) y cinta de carbón (para XRD) por pulverización utilizando un sistema de aerosol a 0.2 Pa y a 5 cm de distancia de la muestra.

Para llegar a esta fórmula se realizó un diseño de experimentos con cinco factores; factor (1) relación Mg/Ca (siendo nivel bajo 0.15 y nivel alto 0.30), factor (2) concentración de etanol (siendo nivel bajo 30% v/v y nivel alto 50% v/v), factor (3) concentración de Na_2CO_3 (siendo nivel bajo 25 mM y nivel alto 50 mM), factor (4) tiempo de agitación de la solución (siendo nivel bajo 1 h y nivel alto 24 h), factor (5) número de capas (siendo nivel bajo 1 capa y nivel alto 3 capas).

Las muestras se analizaron con el Difractómetro D8 Advance de Bruker AXS Company, con radiación $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$, 40 kV, 40 mA) con ángulos de difracción de $2\theta = 10^\circ$ a 80° a 0.02 grados/paso (1 segundo por paso). La determinación de la fase y las proporciones de ambos polimorfos se completó utilizando el refinamiento de Rietveld y el software MAUD. Se utilizó un microscopio electrónico de barrido (SEM-EDS, por sus siglas en inglés) TESCAN VEGA 3 Bruker Nano AXS Microanalysis con detectores XFlash SDD y eFlashEBSD para estudiar las micropartículas obtenidas mediante la síntesis. Las NP se visualizaron con un microscopio electrónico de transmisión (TEM, por sus siglas en inglés) utilizando un microscopio JEM-2200FS a 200 kV para determinar su tamaño. Las muestras se realizaron mediante deposición de una suspensión diluida sobre rejillas de cobre recubiertas con carbón amorfo. Las micrografías del TEM se obtuvieron en modo "*bright field*" (BF-TEM), en el que el contraste de masa/espesor permite distinguir las nanopartículas del sustrato de soporte. El análisis de tamaño de partícula fue llevado a cabo a partir de las imágenes digitales con el software ImageJ. Se realizó así mismo el patrón de difracción de electrones de área seleccionada (SAED, por sus siglas en inglés) de las nanopartículas sintetizadas para confirmar la fase del carbonato de calcio.

3.7 Análisis de Muestras de ACC Natural por SEM-EDS y XRD

Se obtuvieron muestras a través de la UNAM Unidad Académica de Sistemas Arrecifales de *Neogoniolithon* sp. (ACC) obtenida en Puerto Morelos Quintana Roo, para comparar la composición mineral del polimorfo Mg-calcita/aragonita contra su análogo natural. Muestras de la ACC se analizaron mediante SEM-EDS y XRD. La determinación de la fase y las proporciones de ambos polimorfos se determinó como completada utilizando el refinamiento de Rietveld y el software MAUD. Los equipos de caracterización usados fueron enlistados en las secciones anteriores.

3.8 Caracterización del Sustrato Cerámico Base

3.8.1 Materiales

Se utilizó arcilla agrícola roja obtenida del proveedor *Zeolitech* BK-100, malla 100, tamaño de partícula 0.05-1.17 mm (ficha técnica en Apéndice A). Se adjunta en Anexos la ficha técnica de la arcilla. El biocarbón empleado fue donado por el proveedor *Rubis CO₂* para las pruebas. Se usó una mezcla de arcilla con 27% agua por peso.

3.8.2 Sinterizado de Muestras

Se prepararon ocho tipos de muestras, variando el contenido de biochar y las condiciones de tratamiento térmico:

- Clay-1000: 0% biochar, sinterizado a 1000°C
- Clay-1100: 0% biochar, sinterizado a 1100°C
- Clay-1200: 0% biochar, sinterizado a 1200°C
- Biochar-1000: 20% biochar, sinterizado a 1000°C
- Biochar-1100: 20% biochar, sinterizado a 1100°C
- Biochar-1200: 20% biochar, sinterizado a 1200°C
- EM-Biochar 1: 20% biochar, sinterizado con horno electromagnético a 36 minutos (2.45 GHz)
- EM-Biochar 2: sinterizado con horno electromagnético a 42 minutos (2.45 GHz)

La incorporación de biochar se limitó al 20% en peso para mantener la integridad estructural de las muestras, basándose en mezclas preliminares que indicaron que porcentajes mayores la mezcla ya no mostraba suficiente plasticidad para impresión 3D, el cual sería parte del procesamiento del material cerámico.

Para las muestras tratadas en horno mufla Felisa FE-360, se aplicaron las siguientes rampas de temperatura:

Para llegar a la temperatura de 1000°C:

- 850°C: 20°C/min durante 43 minutos
- 950°C: 5°C/min durante 20 minutos
- 1000°C: 2°C/min durante 25 minutos, manteniendo la temperatura por 2 horas

Para llegar a la temperatura de 1100°C:

- 950°C: 20°C/min durante 48 minutos
- 1050°C: 5°C/min durante 20 minutos
- 1100°C: 2°C/min durante 25 minutos, manteniendo la temperatura por 2 horas

Para llegar a la temperatura de 1200°C:

- 1050°C: 20°C/min durante 53 minutos
- 1150°C: 5°C/min durante 20 minutos
- 1200°C: 2°C/min durante 25 minutos, manteniendo la temperatura por 2 horas

3.8.3 Ensayo de Compresión

Se realizaron pruebas de compresión por sextuplicado usando el equipo Instron 5900, siguiendo la norma ASTM C109/C109M [118]. Las muestras se prepararon cortando cubos de 40 mm x 30 mm x 30 mm (± 5 mm) de los ladrillos de arcilla utilizando un cortador (equipo Minitom Struers). Las superficies se pulieron para asegurar caras paralelas y lisas. Se usaron 5 especímenes por tipo de muestra, con registro continuo de carga y desplazamiento. Los parámetros de velocidad de

carga fueron de 1 mm/min. Se calculó el esfuerzo compresivo dividiendo la carga por el área de sección transversal inicial de la muestra. La deformación compresiva se midió mediante el seguimiento del desplazamiento del cabezal en relación con su posición inicial, Figura 17.

Se repitió el ensayo de compresión después de someter las muestras a un proceso de absorción de agua. Para ello, se utilizó un equipo ISOVACCUUM 200-CC, descrito en la siguiente sección.



Figura 17 Pruebas de compresión bajo la norma ASTM C109/C109M.

3.8.4 Ensayo de Absorción de Agua y Porosidad

El ensayo de absorción de agua y porosidad se basó en la norma NMX-C422-ONNCCE-2002 (Losetas cerámicas esmaltadas y sin esmaltar para piso y muro - especificaciones y métodos de prueba), sección 10 (Método para determinar la absorción de agua en losetas cerámicas esmaltadas y sin esmaltar). Esta norma sería el análogo de la norma ASTM C373 [119] (Método de prueba estándar para la absorción de agua, densidad aparente, porosidad aparente y gravedad específica aparente de productos de cerámica blanca cocida).

Para ello, las muestras se pesaron en seco. Posteriormente, se colocaron las muestras en el equipo de saturación de agua a 10 kPa durante 30 minutos, y luego se dejaron en agua a presión ambiente durante 48 horas, ver Figura 18. Después, cada muestra se transfirió en un recipiente con agua a un contenedor de agua más grande (sin exposición al aire previamente a este paso) para medir su peso suspendido y el peso húmedo (retirando con un paño el exceso de agua previamente pesado y con el doble de su peso en agua), como se muestra en la Figura 19.

Se calcularon los porcentajes de absorción de agua (ecuación 2) y porosidad aparente utilizando las fórmulas proporcionadas en la norma (ecuación 3).

$$\% \text{ de absorción de agua} = [(W - D) / D] \times 100 \quad (2)$$

$$\text{Porosidad aparente (\%)} = [(W - D) / (W - S)] \times 100 \quad (3)$$

Donde W es el peso húmedo después del proceso de vacío en agua, D es el peso seco de la muestra y S es el peso suspendido de la muestra completamente sumergida en agua.

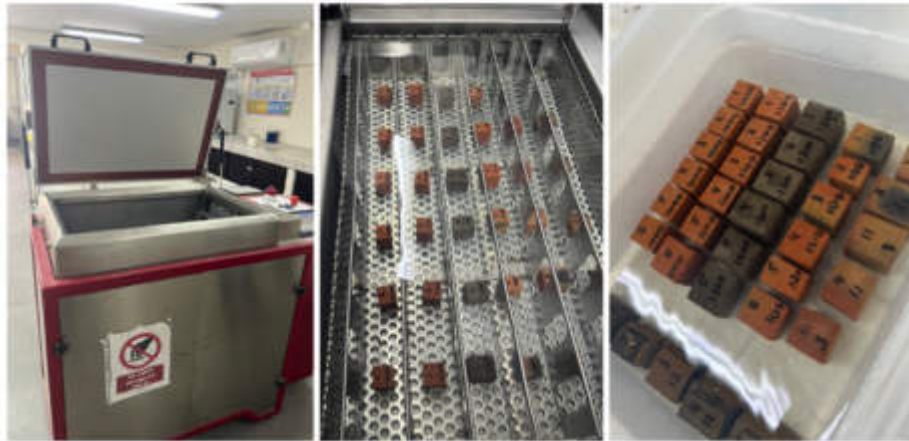


Figura 18 Saturación de agua siguiendo la norma NMX-C422-ONNCCE-2002.



Figura 19 Medición de peso para cálculo de absorción de agua y porosidad, siguiendo la norma NMX-C422-ONNCCE-2002.

3.8.5 Análisis de Contracción y Pérdida de Masa

Se evaluó la contracción y pérdida de masa de las muestras en diferentes etapas del procesamiento: recién fabricadas, después del secado (a 70°C), después del tratamiento térmico. Para esto, se marcó en una superficie rectangular puntos a 5 cm de distancia diagonal en las muestras para medir la contracción lineal.

3.9 Impresión 3D de Placas Cerámicas

Se imprimieron en 3D placas cerámicas a partir de una mezcla de arcilla roja potásica *Zeolitech* (BK-100, malla 100, tamaño de partícula 0.05-1.17 mm) con 27% de agua por peso, utilizando una boquilla de 8 mm y una altura de capa de 5 mm. La velocidad de impresión fue 30 mm/s.

El software usado para el diseño de las placas fue Rhino7; el rebanado en capas (*slicing*, por su término en inglés) fue hecho en PrusaSlicer, y se imprimió con el software RepetierHost, en una impresora de impresión 3D para cerámica Corexy-clay, de la marca Possible Ideas.

Tras el secado de la estructura durante 7 días, se realizaron uniformemente canales ranurados paralelos (5 mm de profundidad x 5 mm de espesor x 5 cm de altura) con una esmeriladora en las zonas intercapa en una sola orientación para mejorar la complejidad de la superficie. Posteriormente, se realizaron corte de ~5 x 5 cm para la obtención de placas y se sometieron a sinterización en un horno de mufla a 1100°C (proceso de calentamiento de Clay-1100, de la sección 3.8.2) en atmósfera ambiente (Figura 20).

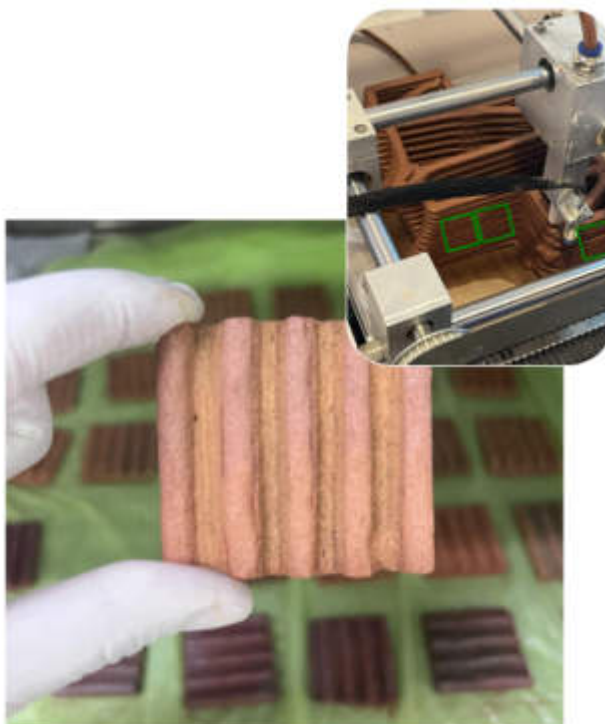


Figura 20 Impresión 3D de placas con crestas y canales.

El análisis de la composición de la fase cristalina se realizó mediante XRD y la composición química y el tamaño de poro con SEM-EDS.

3.10 Aplicación de Recubrimiento a las Placas por Pulverización

Posterior a la caracterización del sustrato cerámico, se aplicaron capas por deposición al sustrato impreso en 3D de partículas de calcita-aragonita-NP (obtenidas en la sección 3.6). Se utilizó el método de pulverización utilizando un sistema de aerosol a 0.2 Pa y a 5 cm de distancia de la muestra, como se muestra en la Figura 21, en dos variaciones diferentes.

La variación 1 (recubrimiento V1), contenía la siguiente configuración:

- **Capa 1:** Adhesivo comercial SeaTak™, diisocianato ($C_{15}H_{10}N_2O_2$) y dopamina metacrilamida ($C_{12}H_{15}NO_4$) (imitando adhesivo de mejillón) diluido en cloroformo (1:5), con 1 $\mu\text{g/mL}$ de extracto de sargazo.
- **Capa 2:** Solución de micro y nanopartículas a partir de sargazo.

La variación 2 (recubrimiento V2), contenía la siguiente configuración:

- **Capa 1:** Adhesivo comercial SeaTak™, diisocianato ($C_{15}H_{10}N_2O_2$) y dopamina metacrilamida ($C_{12}H_{15}NO_4$) (imitando adhesivo de mejillón), diluido en cloroformo (1:5), con 1 $\mu\text{g/mL}$ de extracto de sargazo.
- **Capa 2:** Solución de micro y nanopartículas a partir de sargazo.
- **Capa 3:** 1 $\mu\text{g/mL}$ de extracto de sargazo diluido en metanol.



Figura 21 Aplicación de recubrimiento biomimético de ACC en placas de arcilla roja impresas en 3D.

3.11 Disposición de Residuos

Los residuos se dispusieron conforme a la normativa, en los contenedores asignados en los laboratorios de la FCQ, UANL.

Tabla 5 Disposición de residuos.

Residuo	Contenedor
Hexano	Colector C (tóxico e inflamable)
Cloroformo	Colector E (muy tóxico, solvente halogenado)
Metanol	Colector C (tóxico e inflamable)
Etanol	Colector C (tóxico e inflamable)
Extractos	Contenedor verde (residuo industrial)
Vidrio con solventes	Contenedor rojo (vidrio impregnado)
Cloruro de magnesio	Colector B (sólidos inorgánicos, sales inorgánicas)
Residuo de arcilla	Contenedor verde (residuo industrial)
Carbonato de sodio	Colector B (sólidos inorgánicos, sales inorgánicas)

3.12 Ensayo con Corales *Diploria labyrinthiformis in vitro*

En la Figura 22 se muestra el resumen gráfico del proceso del ensayo *in vitro* con corales y arrecifes artificiales con el recubrimiento biomimetizando las algas ACC. La recolección de gametos de *Diploria labyrinthiformis* se realizó mediante buceo en el Parque Nacional Arrecife Puerto Morelos (sitio Cuerno de Alce; 20.906150N, 86.838830W, Quintana Roo, México), durante el desove registrado el

20 de julio de 2025, a partir de las 19:12 hrs hora local (IDs de colonias parentales = 261 y 353), Figura 23. Este proceso fue organizado por el equipo del Instituto de Ciencias Marinas y Limnología, Unidad Académica Sistemas Arrecifales, de la Universidad Nacional Autónoma de México en Puerto Morelos, liderado por la Dra. Anastazia Bazanak.

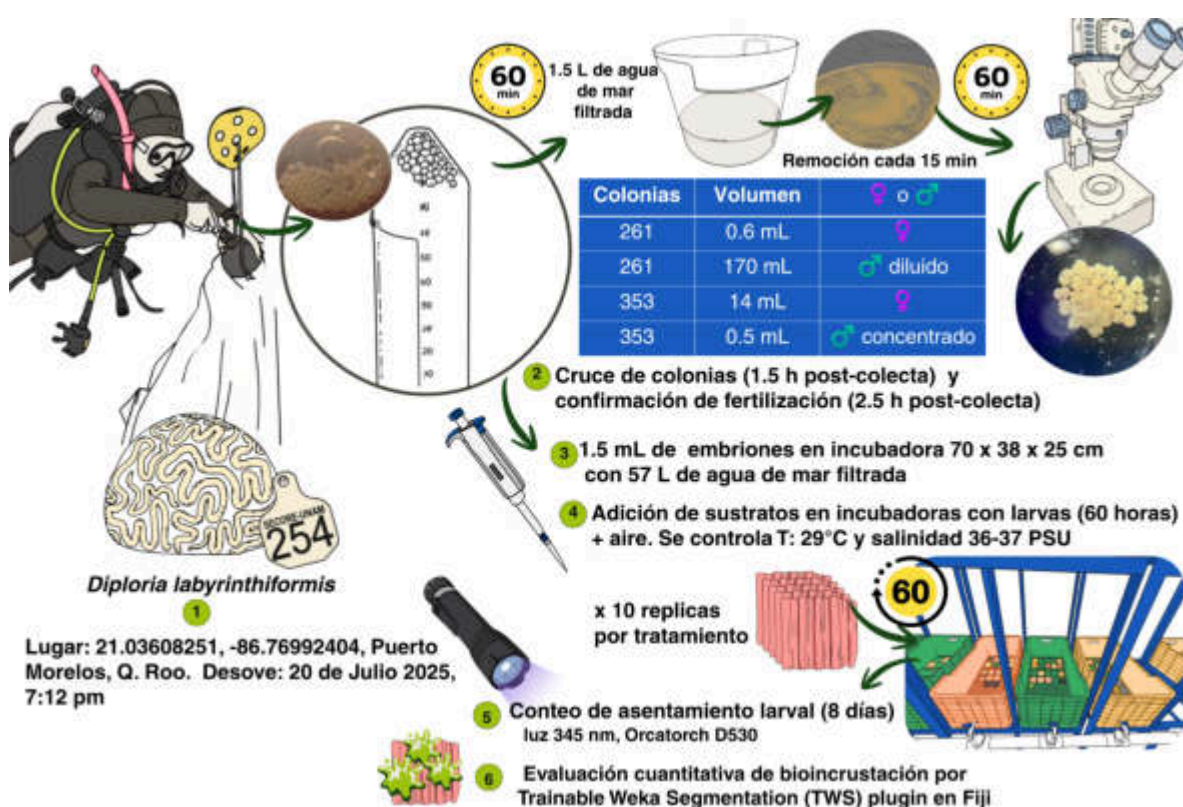


Figura 22 Resumen gráfico de la metodología empleada en las secciones 3.12 y 3.13.

Después de la fertilización cruzada *in vitro*, 1.5 mL de embriones concentrados se transfirieron a incubadoras de 70 cm x 38 cm x 25 cm de 57 L, manteniendo una temperatura del agua de $29 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$, una salinidad de 36-37‰ (partes por mil) y una oxigenación suave continua con difusores de burbuja fina para una aireación homogénea. Se añadieron las placas para asentamiento impresas en 3D

de arcilla a las incubadoras 60 horas después de la fertilización (Figura 24), 10 réplicas recubiertas y 10 de control por incubadora (muestras V1 y V2 y su respectiva incubadora con muestras de control), con un área total de asentamiento de $\sim 2100 \times 18 \text{ cm}^2$ por incubadora, o $\sim 105 \times 4 \text{ cm}^2$ por sustrato (incluyendo las caras superior e inferior y los cuatro bordes laterales).

El asentamiento de larvas de *Diploria labyrinthiformis* se determinó mediante identificación visual (bajo luz azul, 345 nm, Orcatorch D530) utilizando un contador, 8 días después de la colocación de placas, contabilizando los corales juveniles asentados en la cara frontal, caras laterales y cara posterior. Se repitió el conteo de pólipos a las 15 semanas y 32 semanas.

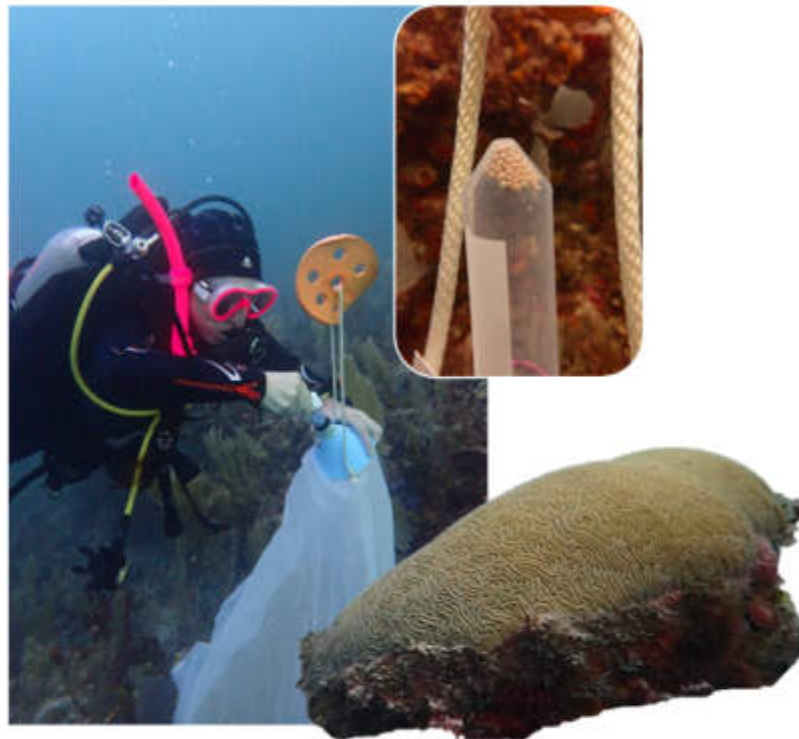


Figura 23 Colecta de gametos de coral *Diploria labyrinthiformis* en Puerto Morelos.



Figura 24 Colocación de placas en incubadoras con larvas 60 horas después de fertilización.

Tras el periodo de asentamiento larvario de 8 días, todas las placas cerámicas se retiraron de la incubadora de asentamiento y se colocaron en tanques de almacenamiento más grandes con flujo continuo y luz solar natural en tanques de 400 L, a 45 cm del fondo del tanque (y 15 cm de la superficie del agua), encima de una rejilla de plástico, Figura 25. Las muestras se colocaron cerca de fragmentos de concreto con bioincrustaciones (acondicionados durante 3 meses en aguas costeras abiertas y cepillados antes de su introducción en el tanque), colonizados por organismos bioincrustantes típicos, como algas coralinas incrustantes, algas filamentosas y microbios asociados, para asegurar la exposición a un inóculo de propágulos de organismos bioincrustantes que se asemejaba a las comunidades de bioincrustación presentes de forma natural en los arrecifes artificiales del Caribe mexicano.

Encima del tanque se colocó un panel de policarbonato para reducir la radiación de luz y se midió la irradiación de luz con el instrumento Underwater Quantum Flux de Apogee Instruments. Se controló la alimentación, temperatura entre 26-27°C, y salinidad entre 36-38 ‰.

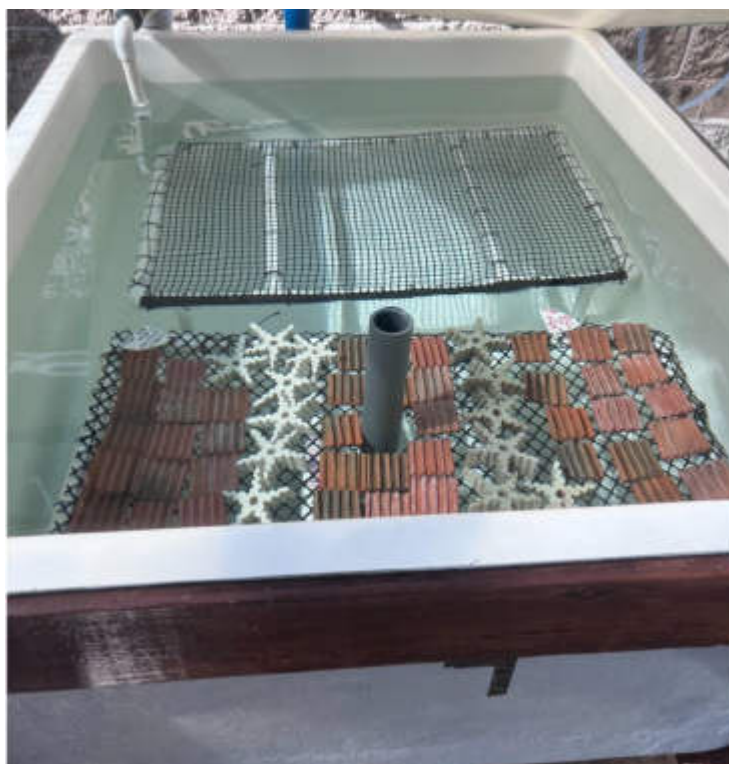


Figura 25 Tanque para monitoreo de pólipos de coral.

La alimentación de los corales fue según el protocolo del laboratorio, usando 0.1 mL de alimento líquido Coralamino Brightwell Aquatics y 1 mL de alimento líquido Koralle de Brightwell Aquatics, dos veces por semana, y tres veces por semana 0.75 g de nauplios de *Artemia salina* por L, eclosionada 24 h antes a 27-28°C.

3.13 Cuantificación de la Bioincrustación *ex situ*

Para la cuantificación de la intensidad de la bioincrustación, se fotografiaron los tratamientos de sustrato cerámico, tanto recubiertos como sin recubrimiento, después de 70 días de monitoreo. Se tomó una imagen estandarizada de la superficie superior de cada sustrato a una distancia fija de una cámara Olympus Tg5 para mantener una escala uniforme entre las réplicas. La variación de la luz se minimizó tomando todas las fotografías el mismo día y en el mismo lugar, a una distancia constante de una fuente de luz artificial, colocada verticalmente sobre la muestra. El intervalo de monitoreo de 70 días se seleccionó deliberadamente para investigar el monitoreo extendido (la literatura previa indica intervalos de 37 a 39 días, por Roepke *et al.* y Tebben *et al.*, respectivamente [7][95].

Posteriormente, se utilizó el complemento Trainable Weka Segmentation (TWS) en Fiji (programa de procesamiento de ImageJ) para clasificar las imágenes en sus respectivas clases utilizando modelos de clasificación de imágenes basados en aprendizaje automático. La metodología utilizada para analizar las imágenes se adaptó del Manual del Usuario de Trainable Weka Segmentation [7][120]. Cada imagen de sustrato se dividió en cinco clases de imagen: (1) incrustaciones de algas (algas verdes y pardas), (2) incrustaciones de gusanos serpúlidos, (3) sustrato sin recubrimiento, (4) reclutas de coral y fondo. Se entrenó el programa vía *machine learning* (aprendizaje automático) en TWS seleccionando un mínimo de 10 regiones de interés por clase en cada imagen para la identificación morfológica en base a

fotografías. Después del proceso de clasificación por medio de aprendizaje automatizado descrito anteriormente, la imagen segmentada pixelada de 8 bits resultante se analizó utilizando el histograma, que enumeraba el recuento de los píxeles para cada clase de color. Finalmente se calculó el porcentaje de área de cada clase para un análisis posterior, eliminando el fondo asociado.

Se consideraron los valores estadísticamente significativos de $p < 0.05$. En la comparación de medias entre dos grupos independientes, se utilizó la prueba t de Student.

CAPÍTULO 4

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación, se presentan los resultados y la discusión en el orden de subcapítulos, siguiendo el capítulo anterior. Se empieza con los resultados del análisis geoespacial y validación de condiciones oceanográficas mediante el supercomputador CINECA con el objetivo de evidenciar el contexto local de los arrecifes de Quintana Roo, México y la interconexión con factores de cambio climático, causante del estrés de los ecosistemas, y factores fuera del error humano que pudieran afectar el desempeño de rehabilitación de corales; tanto en el marco de monitoreo de este trabajo, como para consideraciones en trabajos posteriores.

4.1. Resultados de Análisis Geoespacial de Condiciones Oceanográficas

4.1.1 Tendencias de la Temperatura Superficial del Mar

El análisis de los datos satelitales de la temperatura superficial del mar se realizaron usando los datos existentes hasta el año 2023 y reveló una preocupante aceleración del calentamiento oceánico. Incluso en época de invierno (Figura 26), en diciembre las temperaturas superficiales del mar oscilaron entre 27 y 31°C durante el periodo de análisis, con una frecuencia creciente de superaciones del umbral de blanqueamiento de coral de 29°C.

A una profundidad de 10 metros (correspondiente a la ubicación del sistema arrecifal mesoamericano), el periodo 2014-2021 (Figura 27) evidenció un calentamiento gradual de $0.0357^{\circ}\text{C/año}$. En contraste, durante 2022 y 2024 (Figura 28) se observa una aceleración significativa del calentamiento, aproximadamente cuatro veces, alcanzando $0.157^{\circ}\text{C/año}$, en la zona de Playa el Recodo (una de las playas que además es de las más afectadas en Quintana Roo por erosión costera).

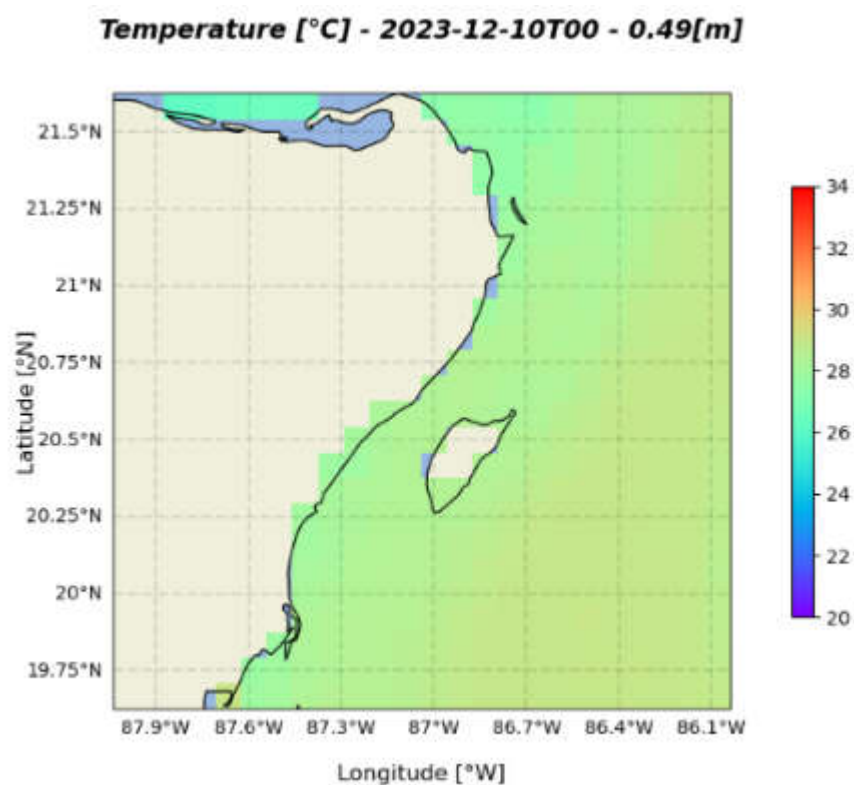


Figura 26 Temperatura de la superficie del mar a profundidad de medio metro, en Diciembre 2023.

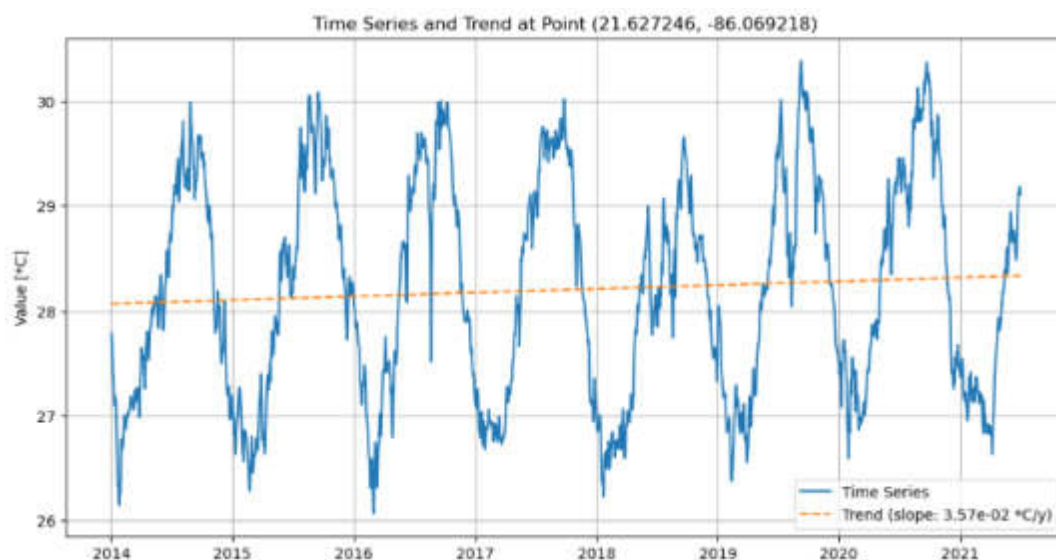


Figura 27 Variaciones de temperatura desde 2014 hasta 2021 en Playa el Recodo, Quintana Roo, con un calentamiento gradual de $0.0357^{\circ}\text{C/año}$.

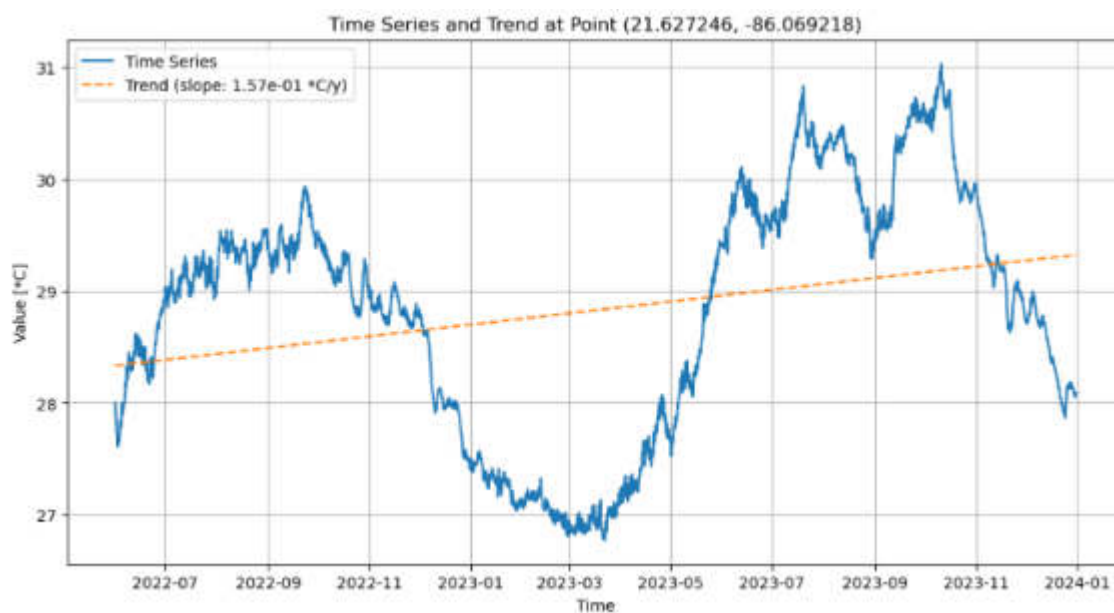


Figura 28 Variaciones de temperatura desde 2022 hasta 2024 en Playa el Recodo, Quintana Roo, con un calentamiento gradual de $0.157^{\circ}\text{C/año}$.

En los últimos meses del 2023 se registraron temperaturas sostenidas superiores a 30°C durante los meses de mayor esplendor (Figura 28), lo que representa un estrés térmico importante para el ecosistema del Arrecife

Mesoamericano de esa zona. La aceleración del calentamiento sugiere que la degradación de los arrecifes de coral se intensificará a lo largo del tiempo. Esto también podría exacerbar la erosión costera debido a la pérdida de la atenuación natural de las olas por el declive arrecifal.

4.1.2 Altura del Oleaje y Eventos Extremos

Se analizó la altura de las olas (Significant Wave Height, SWH por sus siglas en inglés) de 1993 a 2020 (Figura 29). El promedio (en metros) se muestra en la Figura 29a, la desviación estándar en la Figura 29b y los puntos máximos de este periodo en la Figura 29c, siendo más vulnerable la zona de Playa del Carmen y Puerto Morelos, en comparación por ejemplo con Cozumel y Cancún.

En todo caso, a nivel de la zona de Quintana Roo, la altura de ola promedio es de $1.12 \text{ m} \pm 0.51 \text{ m}$, y una mediana de $1.05 \text{ m} \pm 0.51 \text{ m}$. Se observa un rango que abarca un mínimo de 0.08 m hasta un máximo de 8.21 m de altura de olas (siendo el máximo consistente con el huracán Dean en 2019), con el 95% de la altura de olas entre 0.41 m y 2.03 m en la zona de Playa del Carmen. Estos resultados ayudan a planificar mejor la ubicación de posibles arrecifes artificiales en la zona, y tomar en cuenta la altura de las olas (y su respectiva energía cinética del mar en eventos extremos preexistentes) para anticipar los esfuerzos sobre el material, así como potenciales afectaciones sobre la infraestructura costera.

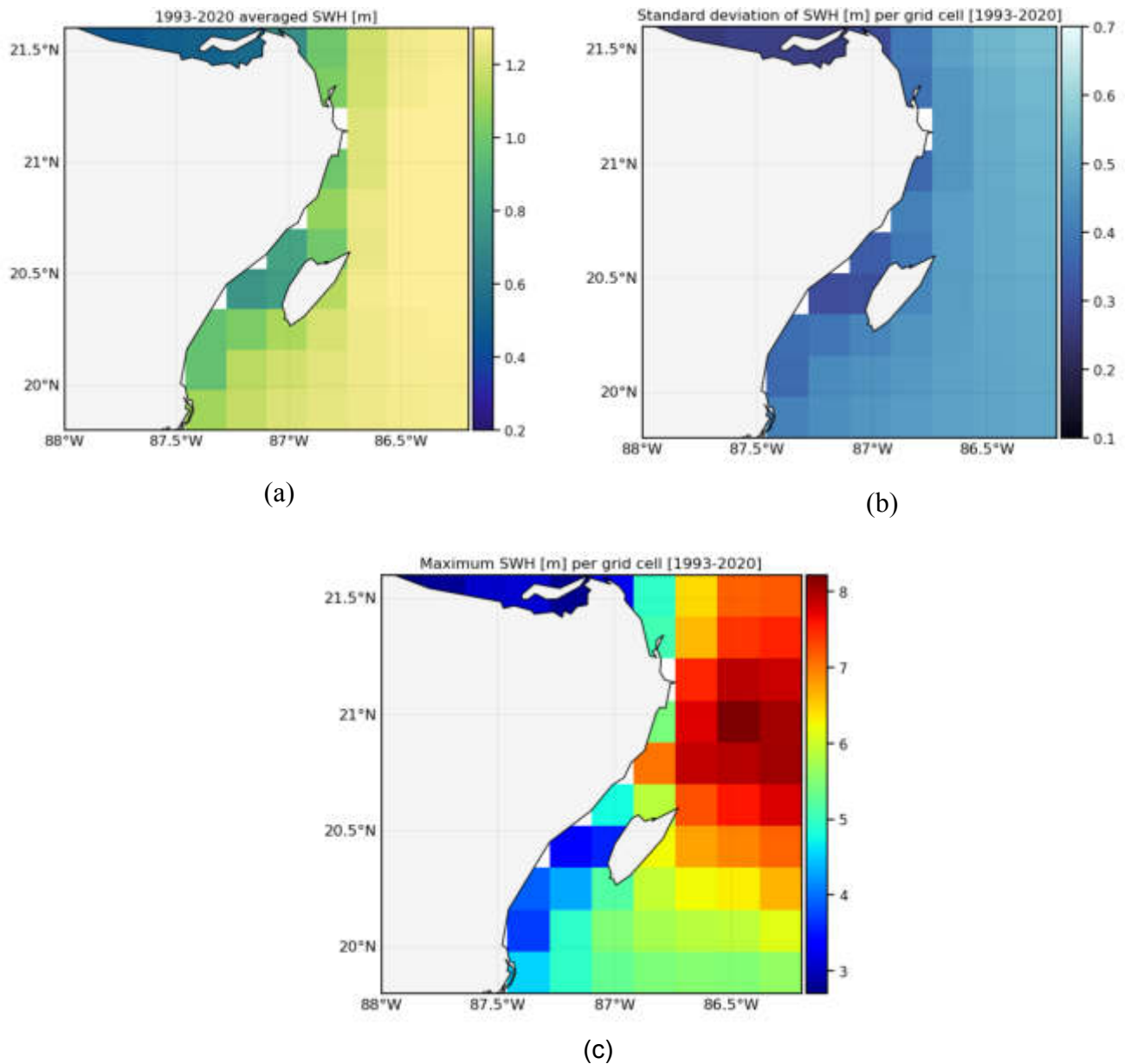


Figura 29 Análisis de altura de las olas (SWH) de 1993-2020 (a) SWH media en m, (b) desviación estándar en m y (c) SWH máxima en m por celda de la cuadrícula.

La altura de las olas (SWH) presenta una media de 1.12 ± 0.51 m y una mediana de 1.05 ± 0.51 m, indicando condiciones de oleaje relativamente consistentes. Las alturas de las olas oscilan entre 0.08 m y un máximo de 8.21 m, con el 95 % de las observaciones entre 0.41 y 2.03 m (Figura 30).

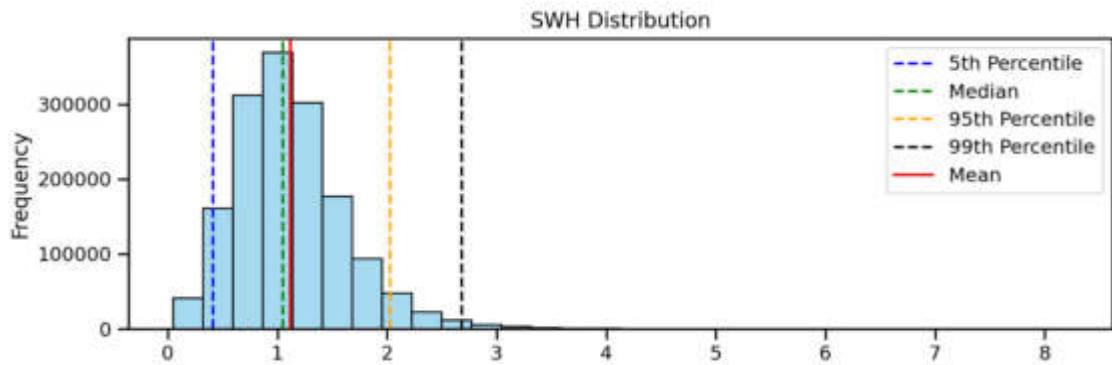


Figura 30 Distribución de altura de las olas (SWH) en metros, de 1993-2020 en base a frecuencia.

Un periodo de retorno, mostrado en la Figura 31, es el tiempo promedio entre eventos de determinada intensidad o magnitud (como el huracán Dean del año 2019 impactando Quintana Roo) que pudieran afectar la zona costera. En este contexto particular, ilustra la probabilidad de ocurrencia de determinada altura de ola máxima a lo largo de los años en la zona de Playa del Carmen.

En la Figura 31 se puede apreciar que en el periodo de un año, puede haber al menos un evento donde la altura de ola máxima sea de aproximadamente 1.8 m a partir de la fecha del cálculo (abril 2025). En un periodo de 5 años, se puede anticipar la llegada de una ola de aproximadamente 5 m, con 20% de probabilidad en cada año dado que transcurre. En un periodo de 10 años, se anticipa al menos un evento de altura de ola de aproximadamente 7 m, con 10% de probabilidad en cada año dado que transcurre. En 25 años (con 4% de probabilidad en cada año dado que transcurre) se puede pronosticar un evento donde la altura de ola máxima sea de ~10 m. En 50 años (con 2% de probabilidad en cada año dado que transcurre) se puede pronosticar un evento donde la altura de ola máxima supere los 10 m. Esto es

importante para su respectiva consideración por potenciales riesgos para posteriores trabajos de diseño de arrecifes artificiales e infraestructura terrestre.

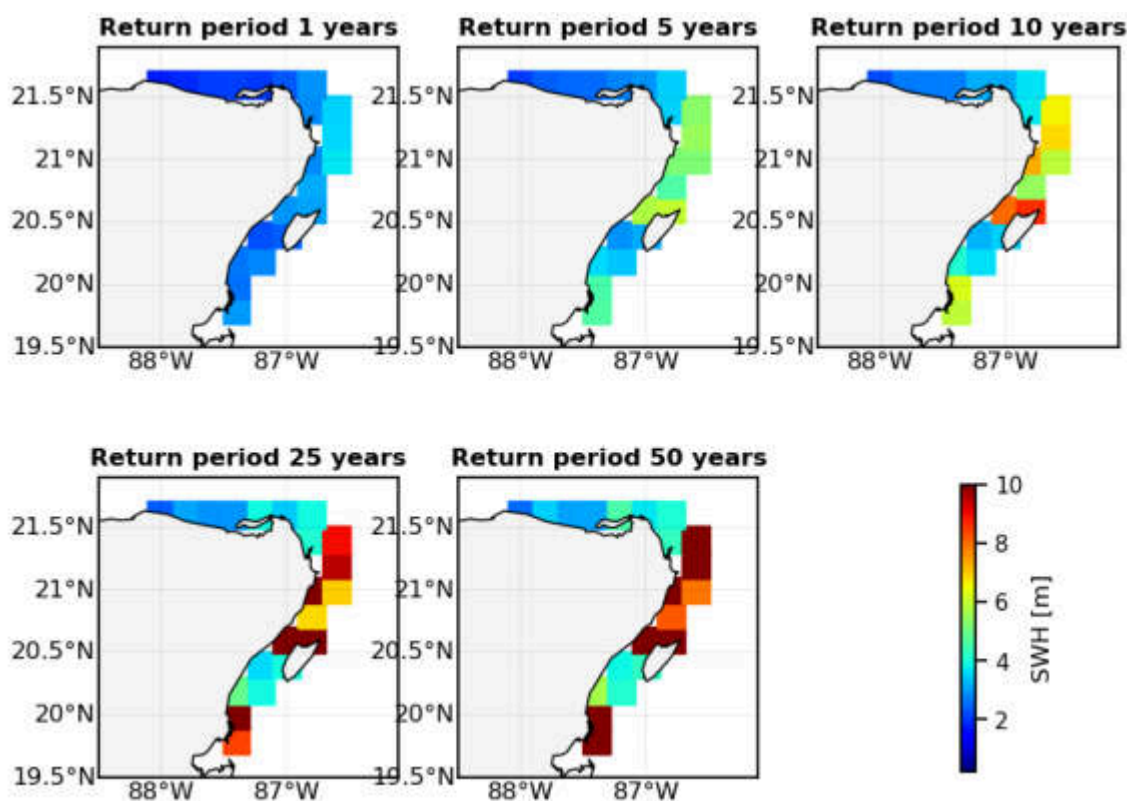


Figura 31 Análisis del periodo de retorno de las alturas de ola significativas extremas (SWH) para la región de estudio, predicción de la SWH máxima para periodos de retorno de 1, 5, 10, 25 y 50 años.

4.1.3 Patrones de Corrientes y Dinámica de Sedimentos

El análisis de la velocidad de las corrientes a ~10 metros (el dato satelital de profundidad más cercano a 10 m era 9.57 m) de profundidad, la profundidad donde se pueden encontrar arrecifes del Arrecife Mesoamericano, reveló velocidades moderadas que oscilan entre 0 y 1.25 m/s, con una dirección de flujo predominante

noreste-suroeste (Figura 32). Se observaron velocidades más altas en zonas mar adentro, mientras que las zonas costeras mostraron patrones de circulación influenciados por las características batimétricas y la estructura del arrecife.

La configuración batimétrica existente entre la isla de Cozumel y Playa del Carmen crea un corredor natural que influye en la dinámica de las olas en Playa del Carmen. Este paso estrecho induce el efecto Venturi [121], en el que la constricción del ancho por donde fluyen las corrientes aumenta la velocidad del fluido y puede amplificar la energía de las olas incidentes, intensificando potencialmente los impactos costeros durante las tormentas.

Estos patrones tienen dos implicaciones cruciales para tanto la gestión costera como para arrecifes artificiales instalados en la zona; primero: la dirección y la velocidad del flujo influyen en la eficacia de los proyectos de rehabilitación de playas, ya que la arena colocada a las playas en el sistema se transporta rápidamente aguas abajo en lugar de mantenerse en las zonas objetivo, contribuyendo a la erosión costera de la zona. Segundo, el sedimento arrastrado de playas rehabilitadas puede acumularse encima del Arrecife Mesoamericano, sino un factor adicional de barrera mecánica que contribuye a la mortalidad de los corales.

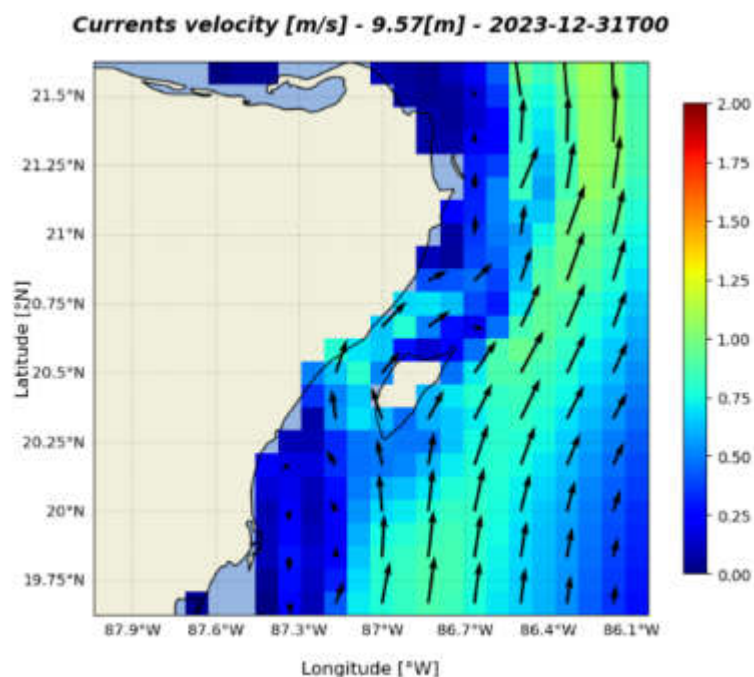


Figura 32 Velocidad y dirección de la corriente superficial a 9.57 m de profundidad (31 de diciembre de 2023).

Las secciones 4.1.1 - 4.1.3 de este estudio demuestran la importancia de incorporar los productos satelitales de la oceanografía operacional en el entendimiento de condiciones marinas. El conjunto de datos del Servicio Marino Copernicus proporcionaron información sobre varios peligros: el calentamiento del océano, la altura del oleaje y los patrones de las corrientes que, de manera conjunta, determinan la vulnerabilidad costera de Quintana Roo. La serie de tiempo de 10 años para la cual se analizó las series (2014-2024) fue capaz de demostrar la tendencia de la aceleración del calentamiento (pues se incrementó la tasa de calentamiento cuatro veces en dicho periodo de tiempo) mostrando las variables que indirectamente tendrían efecto en la rehabilitación de corales, como el estrés térmico, y por consiguiente, la cantidad de colonias de corales parentales reproductivas disponibles.

La exposición constante pero intensa a condiciones desfavorables permite sugerir que las colonias progenitoras existentes en Puerto Morelos y zonas adyacentes poseen características fisiológicas y genéticas asociadas a una mayor tolerancia térmica, por lo que se considera que sería la fuente idónea de gametos de coral para este trabajo. Recolectar material reproductivo en esta área, no solo aumentaría las probabilidades de la descendencia con mayor resiliencia y adaptabilidad frente a los cambios climáticos, sino que también estaría fundamentado por un criterio asociado a la información oceanográfica satelital, con lo cual se podría sugerir que los organismos provenientes de la recombinación genética de colonias parentales de la zona estarán mejor adaptados a las condiciones ambientales extremas pronosticadas para dicha región.

Respecto a la altura de oleaje y predicciones de eventos de alta intensidad (tormentas, huracanes), saber esto ayuda a planificar el diseño del sustrato cerámico a utilizar, dándole preferencia a sustratos más pequeños en contraste con estructuras artificiales grandes, considerando el esfuerzo variable al que estará sometido el material durante la vida útil bajo el agua, debido a que se pronostican eventos extremos en la zona.

En cuanto a patrones de corriente, la zona de Quintana Roo tiene patrones de corriente altas, por lo tanto es preferible replicar un microhábitat después de las pruebas de fertilización *in vitro* con corales y la posterior colocación de sustratos en el océano, posicionando los arrecifes artificiales en zonas de sombra hidrodinámica (grietas en el arrecife, áreas laterales del arrecife no expuestas o zonas de sotavento,

de baja energía de corriente) en la zona de Puerto Morelos, donde la velocidad de la corriente es relativamente baja, para disminuir la resistencia hidrodinámica en los corales recién trasplantados y por consiguiente, reducir el factor del nivel de estrés.

En este sentido, respecto al material base usado, la resistencia mecánica de la arcilla potásica sinterizada toma un sentido crítico adicional; conservar la integridad estructural de los sustratos a las fuertes fuerzas de arrastre en los momentos de máxima corriente.

Dicho esto, se procede a usar gametos de coral provenientes de Puerto Morelos en la región de 20.9 N, 86.8 W, y regresarlos al mar después de 8 meses a la misma zona, en las placas pequeñas de arrecifes artificiales.

4.2 Obtención de Extractos a Partir de Macroalgas

De las muestra de sargazo recolectada, se identificaron 7 macroalgas y se obtuvieron 78 extractos de dichas algas recolectadas. Se obtuvo una muestra de 1.4 kg, siendo 1010 g de macroalgas rojas y 407 g de *Sargassum* spp. La identificación fue realizada por el Dr. Sergio Salcedo, quién ingresó las muestras al Herbario de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León, donde se asignaron números de voucher para referencia futura.

Las muestras se etiquetaron como S1, S2 (para *Sargassum*) y A1, A2, A3, A4, A5 (para diferentes especies de algas rojas) (Figura 33).



Figura 33 Identificación de los 7 tipos de algas de la mezcla recolectada y su número de voucher.

La cantidad obtenida de extractos y su respectivo rendimiento de extracción se aprecia en la Tabla 6 y Figura 34. Es importante mencionar que se agregó el *Sargassum horridum* como comparación, proveniente de Baja California.

Tabla 6 Peso de muestras en húmedo, biomasa liofilizada y peso del extracto.

Algas	Peso de biomasa húmeda (g)	Peso de biomasa seca (g)	Extracto (g)	Rendimiento (%)
<i>S. horridum</i>	1997.4	308.0	15.7	15.30% $\pm$ 0.3%
<i>S. natans</i>	172.5	26.6	4.0	15.04% $\pm$ 0.2%

<i>S. acinarium</i>	234.1	36.0	5.3	14.72% $\pm$ 0.7%
<i>Ceramium</i> sp.	174.7	23.6	3.1	13.14% $\pm$ 0.5%
<i>Gracilaria</i> sp.	59.5	7.41	0.7	9.45% $\pm$ 0.6%
<i>A. triquetrum</i>	444.4	55.21	6.2	11.23% $\pm$ 0.8%
<i>D. simplex</i>	57.5	7.17	0.7	9.76% $\pm$ 0.5%
<i>P. perforata</i>	253.5	31.44	3.7	11.77% $\pm$ 0.4%

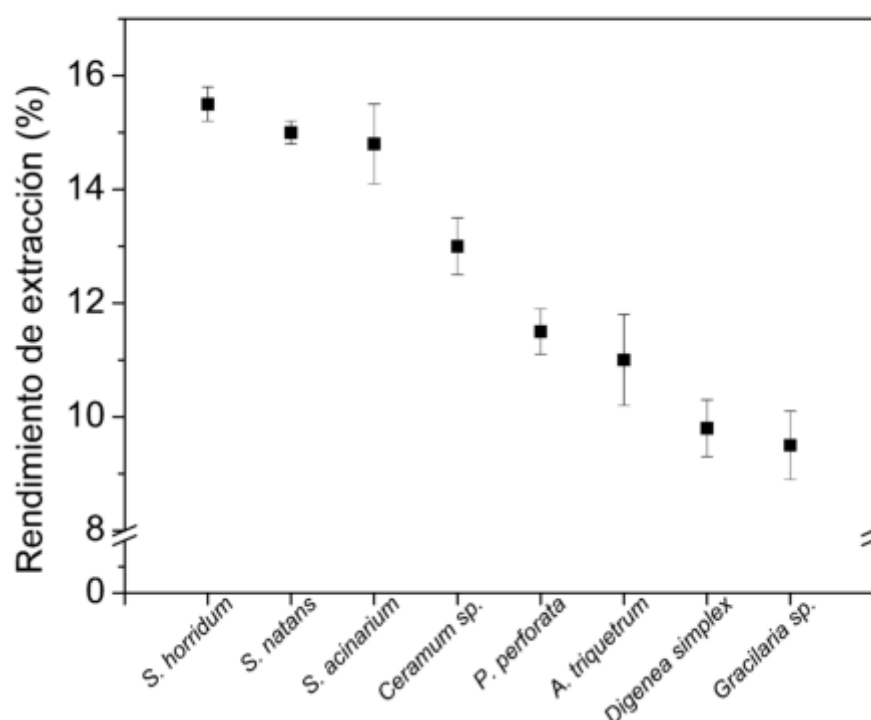


Figura 34 Rendimiento (%) de extracción para algas Rhodophyta y *Sargassum*.

Los rendimientos de extracción de las tres especies *Sargassum* fueron mayores, 15.1 ± 0.36 %, en comparación con las macroalgas rojas, 10.96 ± 0.22 %. Entre las especies de *Sargassum* analizadas, *S. horridum* mostró el mayor rendimiento de extracción (15.30 ± 0.3 %), seguido de cerca por *S. natans* (15.04 ± 0.2 %) y *S. acinarium* (14.72 ± 0.7 %). Las macroalgas rojas presentaron una

variabilidad mucho mayor en el rendimiento, con *Ceramium* sp. produciendo el mayor rendimiento ($13.14 \pm 0.5 \%$) y *Gracilaria* sp. el menor ($9.45 \pm 0.6 \%$).

Los resultados nos indican que el sargazo constituye una materia prima más idónea en el contexto de la extracción de lípidos, ya que, además de presentar un mayor rendimiento promedio, también se caracteriza por tener un comportamiento más conveniente que las macroalgas rojas identificadas, en la dirección de convertirse en una fuente más previsible y más eficiente desde el punto de vista del procesamiento a escala.

Una posible respuesta a la mayor producción de lípidos del *Sargassum* podría ir asociada a la retención de los mismos durante la flotabilidad que manifiesta. En otro sentido, las macroalgas rojas, debido a encontrarse en condiciones bentónicas durante su comienzo de descomposición, podrían desencadenar una mayor movilización o pérdida de lípidos por la presión del ambiente.

4.3 Ensayos Biológicos *in vitro*

A continuación se presentan los ensayos biológicos realizados con bacterias y toxicidad en *Artemia franciscana*.

4.3.1 Microdilución en Microplaca para Evaluar Actividad Antibacteriana

En la Tabla 7 se puede observar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI, en inglés). Mulaudzi *et al.*[122] propusieron una clasificación de la actividad inhibitoria basada en los siguientes valores para interpretar resultados: actividad

antibacteriana fuerte (CMI < 500 µg/mL), moderada (CMI entre 500 y 1500 µg/mL), y débil (CMI > 1500 µg/mL). Según Mulaudzi *et al.*, la CMI es la concentración más baja en la cual un agente antimicrobiano inhibe completamente (> 95% en 24 horas) el crecimiento de un microorganismo.

Se agregaron también a las pruebas ácidos grasos comerciales; ácido eicosapentanoico (EPA) y el ácido palmítico, para comprobar o descartar si dichos ácidos grasos son más efectivos por sí solos en comparación con el extracto íntegro.

Los resultados del estudio de la actividad antibacteriana muestran que todos los extractos CMI superior >1000 µg/mL para todas las cepas bacterianas evaluadas. Se consideró que el no tener una inhibición bacteriana completa es un resultado favorable para la aplicación de este trabajo en placas para arrecifes artificiales, pues la ausencia de una fuerte actividad inhibitoria a concentraciones bajas indica que estos compuestos no eliminarán poblaciones bacterianas por daño celular, lo cual es crucial para mantener el equilibrio ecológico en el ambiente marino.

Tabla 7 Actividad antibacteriana (Valores de CMI en µg/mL).

Muestras	<i>Aa</i>	<i>Al</i>	<i>Ra</i>	<i>As</i>	<i>Vu</i>	<i>Vd</i>	<i>Vm</i>	<i>Pf</i>	<i>Bs</i>	<i>Bp</i>
<i>S. horridum</i>	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
<i>S. natans</i>	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
<i>S. acinarium</i>	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
<i>Ceramium</i> sp.	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
<i>Gracilaria</i> sp.	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
<i>A.triquetrum</i>	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000

<i>D. simplex</i>	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
<i>P. perforata</i>	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
Ácido eicosapentaenoico	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
Ácido palmítico	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
CuSO ₄	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000

Los acrónimos de las bacterias en la Tabla 6 son identificadas como a continuación: *Alteromonas alba* (Aa), *Alteromonas stellipolaris* (As), *Rugeria atlanticus* (Ra), *Vibrio ulleungensis* (Vu), *Vibrio diazotrophicus* (Vd), *Vibrio mediterranei* (Vm), *Pseudoalteromonas fuliginea* (Pf), *Antarcticimicrobium lutem* (Al), *Bacillus subtilis* (Bs), *Bacillus pumilus* (Bp).

4.3.2 Microdilución en Microplaca para Evaluar Actividad Antiincrustante

A pesar de los valores de CMI relativamente altos que indican un bajo efecto antibacteriano, los extractos de los sargazos y algas rojas mostraron una considerable actividad antibiopelícula (Figura 35 y Fig 36). Si bien el grado de actividad antiincrustante de estos extractos varió considerablemente entre las cepas bacterianas, todos los extractos exhibieron una curva dosis-respuesta inversa para la mayoría de las bacterias, mostrando una menor inhibición con concentraciones más altas del extracto. Por lo tanto, esto sugiere que una dosis mayor del extracto podría

interferir con los mecanismos de desarrollo de biopelículas en la mayoría de las cepas analizadas.

Las especies de *Sargassum* (*S. horridum*, *S. natans* y *S. acinarium*) demostraron una reducción de la eficacia inversamente relacionada a la concentración. *S. horridum*, *S. natans* y *S. acinarium* fueron particularmente efectivas contra *Bacillus subtilis* (Gram-negativa), *A. stellipolaris* a 1 µg/mL, seguido de *B. pumilus* (Gram-negativa) a concentraciones entre 50 y 100 µg/mL y medianamente buen efecto con alrededor de 45-50% de inhibición en *A. alba* (Gram-negativa), a 1 µg/mL (Figura 35). Las algas rojas mostraron un patrón inverso de eficiencia-concentración similar al de *Sargassum* spp., (Figura 36). Mientras las macroalgas rojas y los sargazos inhiben bien algunas bacterias a concentraciones <10 µg/mL.

El sulfato de cobre (CuSO₄) en la Figura 35d, tuvo un bajo grado de inhibición a concentraciones más bajas (<10 µg/mL) y con efectos apreciables en concentraciones más altas (>50 µg/mL), mostrando la respuesta más fuerte a 1000 µg/mL, particularmente contra *A. lutem*, *P. fuliginea*, *V. ulleungensis*, *R. atlanticus*, *V. diazotrophicus*, *V. mediterranei*, *B. subtilis* y *B. pumilus*. Sin embargo, ninguna de las cepas bacterianas analizadas logró la erradicación completa del biofilm (100 % de inhibición) en ninguna concentración, incluida la más alta probada (1000 µg/mL) para el control.

Se realizó la prueba usando ácido palmítico y ácido eicosapentaenoico (EPA) de la misma manera que en la sección anterior, para comprobar o descartar si dichos ácidos grasos son más efectivos por sí solos en comparación con el extracto íntegro en el contexto de efectividad antiincrustante. Dichos ácidos grasos muestran un

resultado semejante al de los sargazos y macroalgas rojas, teniendo buena respuesta en *Bacillus subtilis*, *A. stellipolaris*, *B. pumilus*, *A. alba* y *Pseudoalteromonas fuliginea* (Figura 37).

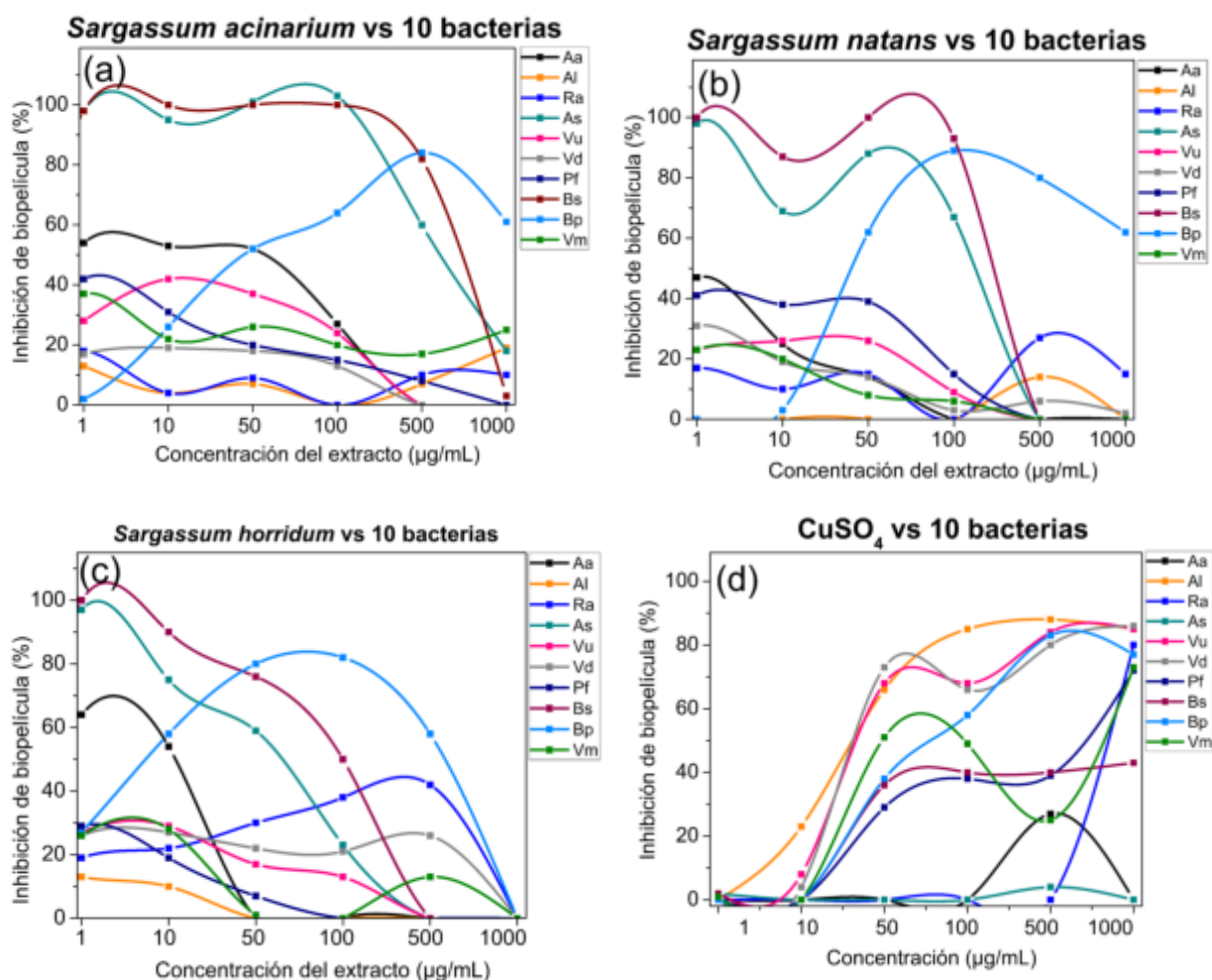


Figura 35 Actividad antiincrustante de los extractos de sargazos y control (a) *Sargassum acinarium*, (b) *Sargassum natans*, (c) *Sargassum horridum*, (d) control, después de 48 h.

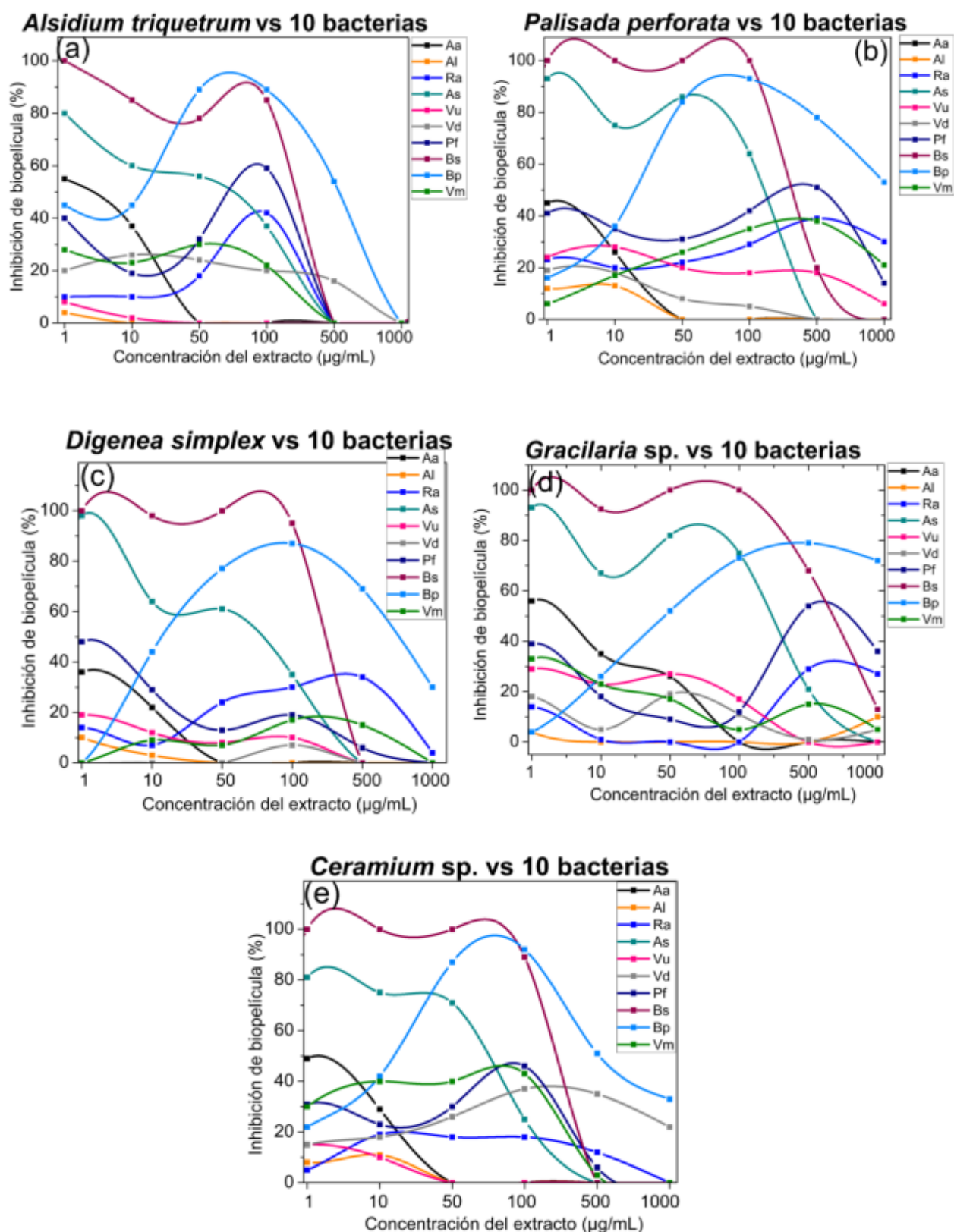


Figura 36 Actividad antiincrustante de macroalgas rojas (a) *A. triquetrum* (b) *P. perforata* (c) *D. simplex* (d) *Gracilaria* sp. (e) *Ceramium* sp. después de 48 h.

Los acrónimos de las bacterias en las Figuras 35, 36 y 37 son identificadas como a continuación: *Alteromonas alba* (Aa), *Alteromonas stellipolaris* (As), *Rugeria atlanticus* (Ra), *Vibrio ulleungensis* (Vu), *Vibrio diazotrophicus* (Vd), *Vibrio mediterranei* (Vm), *Pseudoalteromonas fuliginea* (Pf), *Antarctimicrobium lutem* (Al), *Bacillus subtilis* (Bs), *Bacillus pumilus* (Bp).

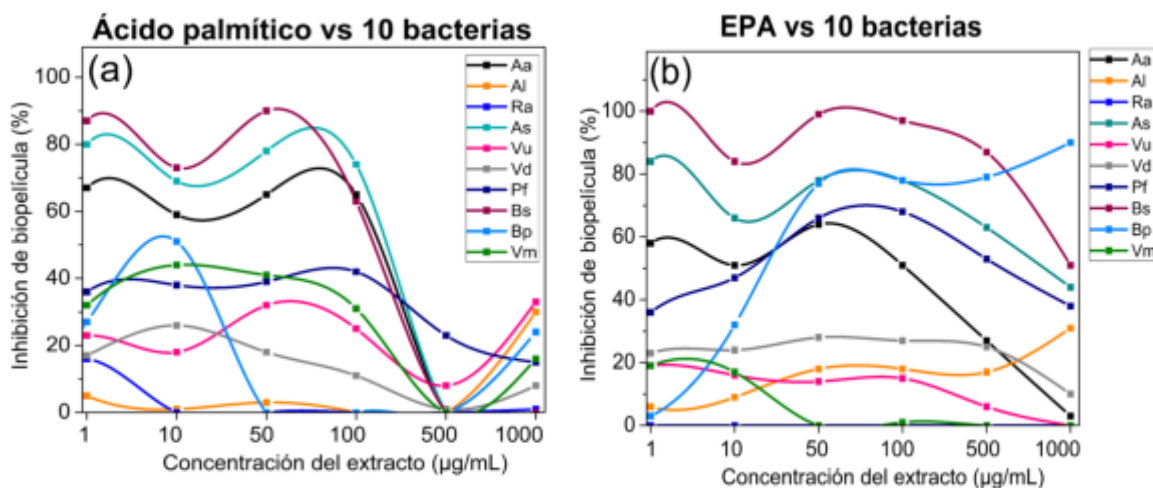


Figura 37 Actividad antiincrustante de ácidos grasos (a) ácido palmítico (b) ácido eicosapentaenoico (EPA) después de 48 h.

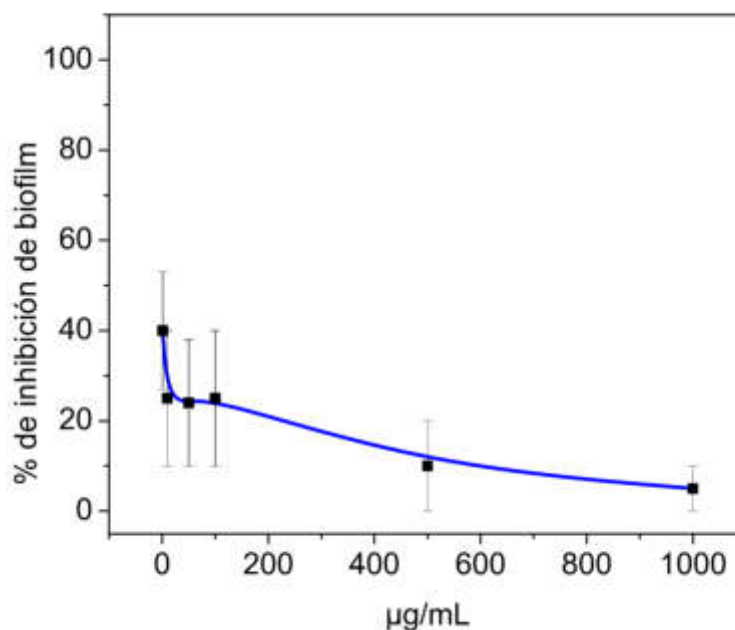


Figura 38 Inhibición de biopelícula promedio (de 7 algas), por concentración.

El efecto antiincrustante contra los extractos de macroalgas rojas (*A. triquetrum*, *P. perforata*, *D. simplex*, *Gracilaria* sp., *Ceramium* sp.) y sargazos *Sargassum acinarium* y *Sargassum natans* de la muestra de Quintana Roo (excluyendo *S. horridum* por no ser proveniente de la región) muestra un efecto promedio mayor a 1 $\mu\text{g/mL}$ para la inhibición de biopelículas (Figura 38). Esto nos aporta que se puede usar una concentración tan baja como 1 $\mu\text{g/mL}$ y tener el máximo de eficiencia posible, dentro de los límites de esta investigación.

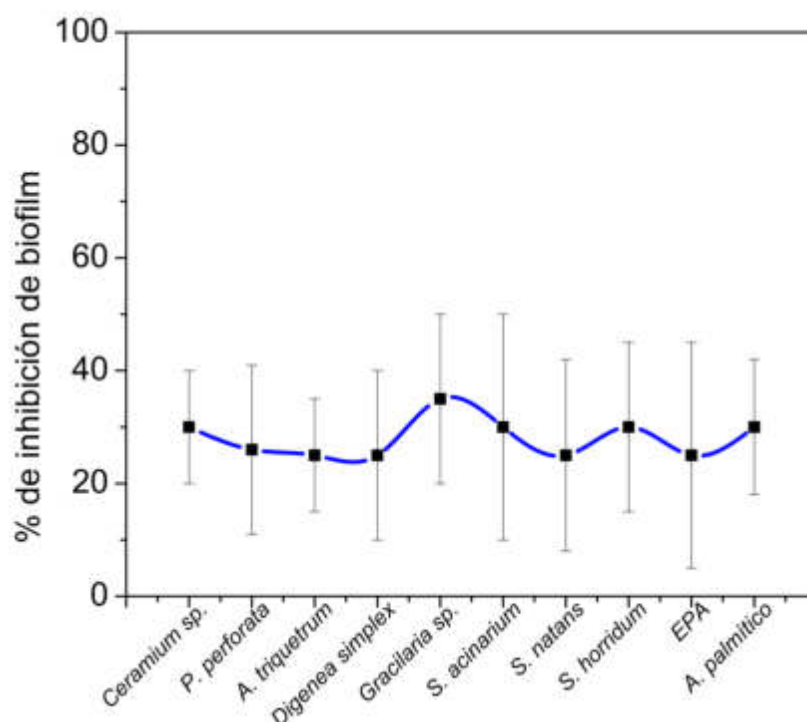


Figura 39 Inhibición de biopelícula promedio, por tipo de alga.

La variabilidad promedio en la inhibición entre diferentes extractos se puede observar en Figura 39. El análisis estadístico mostró una homogeneidad en la actividad inhibitoria a nivel de 1 $\mu\text{g/mL}$; los extractos no muestran diferencias significativas en la inhibición de la incrustación ($p = 0.9399$) entre sí, en la

concentración más efectiva, 1 µg/mL (mostrado anteriormente en la Figura 38). Esto nos indica que a nivel práctico y/o industrial, no es necesario aislar las macroalgas rojas de los sargazos cuando éstas aparecen como inclusiones en esta materia prima, pues no existe diferencia significativa en la efectividad antiincrustante al removerlas del sistema. La falta de diferencia significativa entre las muestras de extracto y los ácidos grasos probados (EPA y ácido palmítico) demuestran que es posible el uso de mezclas de sargazo pelágico (mezclas de sargazos entre sí, incluso con inclusiones de algas rojas) para efectos antiincrustantes, lo que puede optimizar el proceso de producción de extracto a mayores escalas y reducir pasos industriales como la separación de algas por especie y posterior refinación de ácidos grasos específicos, minimizando residuos en el procesamiento (como lo sería desechar de algas no aptas), potencialmente reduciendo costos de operativos.

La actividad inhibitoria promedio sobre la biopelícula mostró un patrón heterogéneo, no mostrando una relación de sensibilidad hacia Gram positivas o Gram negativas para las cepas ensayadas (Figura 40). En el grupo de las bacterias Gram positivas, *B. subtilis* mostró casi una inhibición total (100%), mientras que las cepas de *B. pumilus* y *A. luteum* dieron valores residuales, por debajo del 10% de inhibición. Algo similar sucedió con las bacterias Gram negativas, donde se encontró un amplio rango de respuestas con valores bajos para las cepas de *R. atlanticus* y *V. diazotrophicus* (14 y 17%, respectivamente), un rango intermedio en las especies de *V. mediterranei* y *V. ulleungensis* (20-22%) y *P. fuliginea* (~40%) y, de manera notoria, el máximo se observó en *A. alba* (~49%), y en la especie *A. stellipolaris* (~91 %), lo cual se asemeja bastante a la inhibición total obtenida para la especie de *B. subtilis*.

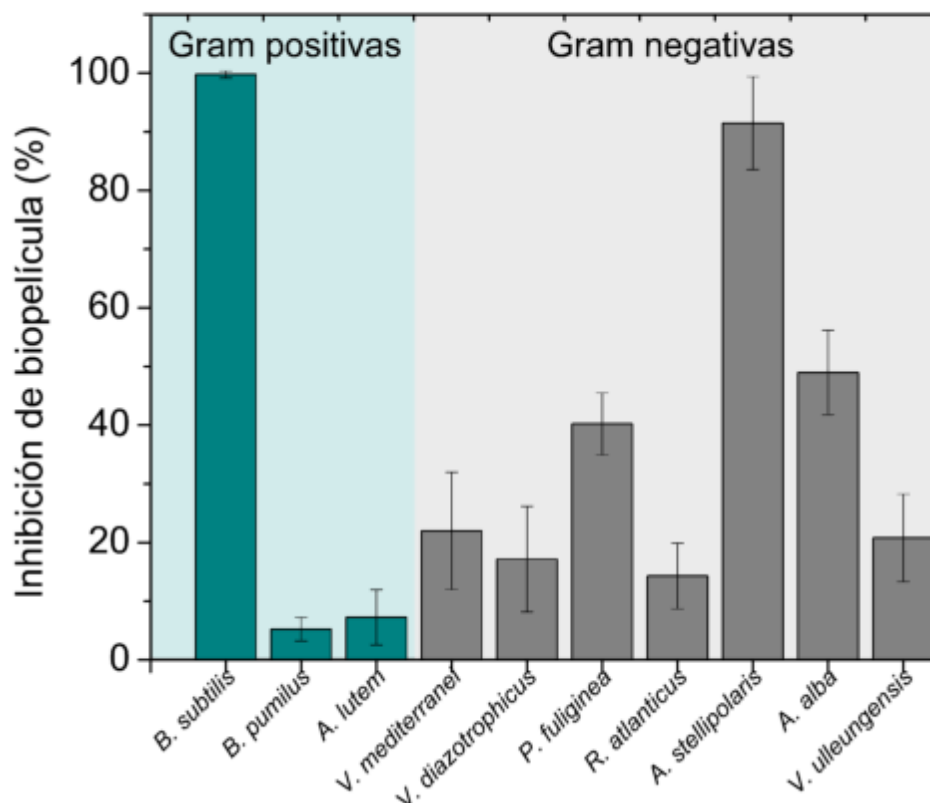


Figura 40 Inhibición de biopelícula promedio, por cepa bacteriana.

Los extractos de *Sargassum* y algas rojas Rhodophyta demuestran potencial como agentes antiincrustantes. Los extractos no muestran mucha eficacia bactericida (sección 4.3.1), pero demuestran la inhibición de la formación de biopelícula bacteriana, que es el primer paso del proceso del posterior establecimiento de organismos incrustantes. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Pinteus *et al.*[102], quienes también observaron inhibición de biopelícula bacteriana con extractos de *Sargassum muticum*, concluyendo que dicha especie de sargazo inhibe la formación de biopelículas bacterianas marinas sin afectar directamente la viabilidad de células bacterianas y/o ser un compuesto citotóxico.

Otro hallazgo importante de la presente sección es la observación de una mejor capacidad antiincrustante a bajas concentraciones de extracto sobre concentraciones altas. Un comportamiento semejante fue descrito por Rillig *et al.* [123], en el cual el organismo ensayado demuestra resiliencia por hormesis, proceso por el cual se desarrolla un mecanismo de protección en presencia de diversos factores de estrés (como un ambiente tóxico) a dosis más altas en comparación con niveles más bajos; en otras palabras, como mecanismo compensatorio.

En el contexto de la formación y el desarrollo de biopelículas, se cree que bajas concentraciones de extracto ($<10\text{ }\mu\text{g/mL}$) de sargazo pueden tener efectos sobre los procesos de detección de quórum (del inglés *quorum sensing* y/o adhesión superficial) mientras que las concentraciones más altas podrían estimular efectos de recuperación y, posterior a eso, formación de biopelícula [124]. Por ejemplo, se puede apreciar el efecto de recuperación en la Figura 35 y 36 alrededor de $500\text{ }\mu\text{g/mL}$ en la mayoría de las muestras. Este hallazgo es relevante para utilizar pequeñas cantidades de extractos de macroalgas como agentes activos en la fórmula de recubrimiento en las secciones posteriores, sin llegar al efecto de la hormesis, lo cual también reduce costos de producción de dichos recubrimientos a mayor escala.

Sin embargo, debemos tener en cuenta las limitaciones del modelo experimental usado; considerando que los ensayos realizados fueron en pocillos de laboratorio (sistema cerrado) que no reproduce las condiciones dinámicas del ambiente marino, donde existe un recambio continuo de agua e iría reduciendo progresivamente la concentración local del extracto, o su efecto antiincrustante. Por lo tanto, se considera la concentración determinada como efectiva ($1\text{ }\mu\text{g/mL}$) debe de ser un valor de referencia para las pruebas *in vitro* con corales y habría que realizar

ajustes después de pruebas *in situ* dependiendo del régimen hidrodinámico al que estaría expuesto el sustrato cerámico con el recubrimiento de extracto de sargazo, y considerar su efecto en esas condiciones. En este sentido, la contraposición entre las condiciones controladas de laboratorio contra la dinámica real (tanto en pruebas en acuarios o integrado a un sistema arrecifal) se considera una limitación que debe ser tratada en estudios de validación *in situ* para el reajuste de la concentración necesaria para obtener mejores resultados del extracto en trabajos posteriores y aplicaciones en campo.

A pesar de haber tenido una respuesta heterogénea, los extractos funcionaron considerablemente mejor contra la bacteria Gram positiva *B. subtilis* y la bacteria Gram negativa *A. stellipolaris*. Para el caso de la bacteria Gram positiva *B. subtilis*, pudiera ser explicada por la estructura de la pared celular; las bacterias Gram positivas, a pesar de tener un peptidoglicano más grueso, carecen de membrana externa como las bacterias Gram negativas que tienen una barrera adicional a la permeabilidad. Por lo tanto, el peptidoglicano expuesto de las bacterias Gram positivas es más susceptible a los compuestos bioactivos de los extractos. Este patrón ya lo ha reportado Stebbing *et al.* [124], quienes encontraron que los polisacáridos y ácidos grasos de algas rojas tienen un mayor efecto sobre bacterias Gram positivas formadoras de películas, lo que concuerda con que la bacteria más susceptible haya sido *B. subtilis* en este trabajo. Stebbing *et al.* atribuyen la mayor efectividad a una facilidad de penetración a la pared celular de las bacterias Gram positivas. Sin embargo, dado que algunas bacterias Gram negativas, en particular *A. stellipolaris* y *A. alba*, en este trabajo también mostraron sensibilidad a los extractos de sargazo y algas rojas, es posible que existan más factores adicionales, aparte de la simplicidad

estructural de las paredes de las cepas bacterianas, responsables de la respuesta bacteriana ante extractos con actividad anticrustante.

En todo caso, los resultados indican que la susceptibilidad a la inhibición de biopelícula no depende exclusivamente de la naturaleza del revestimiento de la célula, sino de factores específicos de cada cepa e incluso genes asociados de la producción de EPS que pudieran ser afectados con los extractos.

Por lo tanto, en base a los resultados obtenidos en esta sección, se utilizó una mezcla de extracto de sargazo (*S. natans* y *S. acinarium* en la proporción que aparece en las agregaciones de sargazo en aguas abiertas en la región de Puerto Morelos), tanto para el recubrimiento usado con corales en la sección 4.7 y su respectivo análisis por GC-MS en la sección 4.4.

4.3.3 Toxicidad en *Artemia franciscana*

Artemia franciscana es un crustáceo de amplio uso como organismo modelo en bioensayos de toxicidad, debido a la brevedad de su ciclo de vida, su facilidad de cultivo en laboratorio y su gran sensibilidad frente a un amplio rango de compuestos bioactivos, lo cual lo convierte en un sistema adecuado para la evaluación inicial de la toxicidad.

En la Tabla 8 se determinó la concentración letal media (LC₅₀) del extracto frente a nauplios de *A. franciscana* como un parámetro que permite determinar de forma cuantitativa el umbral de toxicidad aguda de la muestra [115].

Tabla 8 Concentración letal LC₅₀ para la *Artemia franciscana*.

Muestra	LC ₅₀ (µg/mL)
<i>S. horridum</i>	>1500
<i>S. natans</i>	>1500
<i>S. acinarium</i>	>1500
<i>Ceramium</i> sp.	>1500
<i>Gracilaria</i> sp.	>1500
<i>A.triquetum</i>	>1500
<i>Digenea simplex</i>	>1500
<i>Palisada perforata</i>	>1500
Ácido eicosapentaenoico	>1500
Ácido palmítico	>1500
CuSO ₄	6.21

Para todos los extractos y ácidos grasos evaluados, los resultados mostraron un LC₅₀ superior a 1500 µg/mL (la concentración más alta probada fue 1500 µg/mL), indicando que las concentraciones usadas no fueron tóxicas para el crustáceo. Sin embargo, el sulfato de cobre (CuSO₄), comúnmente presente en pinturas antiincrustantes, presentó un LC₅₀ considerablemente menor, 6.21 µg/mL, destacando como un compuesto tóxico entre los evaluados. Es importante señalar que las pinturas antiincrustantes típicamente contienen entre 2.5-40% de CuSO₄ en peso [125], lo que se traduce en concentraciones desde 30,000 µg/mL hasta 480,000 µg/mL de CuSO₄. Esto indica la importancia de considerar cuidadosamente la

toxicidad de los componentes en las formulaciones de pinturas antiincrustantes y su potencial impacto en organismos marinos como *A. franciscana*.

Sánchez-Lozano *et al.* [104] reporta hallazgos similares de toxicidad en *Artemia franciscana* en extractos de *Sargassum horridum* en concentraciones iguales y menores de a 1500 µg/mL, mientras recalcan la eficacia del extracto de sargazo para aplicaciones antiincrustantes. Esto demuestra el uso factible de la concentración ya preestablecida anteriormente de <10 µg/mL (efectiva para efectos antiincrustantes) y como segura para su uso con la vida marina.

4.4 Perfil de Ácidos Grasos Determinado Mediante GC-MS

Dado a que previamente se estableció que no existe una diferencia significativa en la efectividad de bioincrustación entre especies de macroalgas, se trabajó con la mezcla de dos especies pelágicas de *Sargassum* (*S. natans* y *S. acinarium*). A partir de la muestra compuesta, se extrajo la fracción lipídica, la cual fue sometida a transesterificación. Posteriormente, se aislaron los ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME, por sus siglas en inglés) y se analizaron por Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (GC-MS).

Los componentes principales del perfil de ácidos grasos se determinaron por sus áreas relativas de intensidad de los picos en el cromatograma. La Figura 41 muestra el cromatograma de corriente iónica total (TIC) de la fracción lipídica transesterificada aislada de la mezcla de *Sargassum*. El orden de la separación en la columna de los ácidos grasos identificados se verificó adicionalmente comparando los tiempos de retención de las muestras analizadas y se comparó con datos de análisis de GC-MS de estándares de referencia de FAME de la base de datos NIST

(Instituto Nacional de Normas y Tecnología, por sus siglas en inglés, National Institute of Standards and Technology) (Tabla 8).

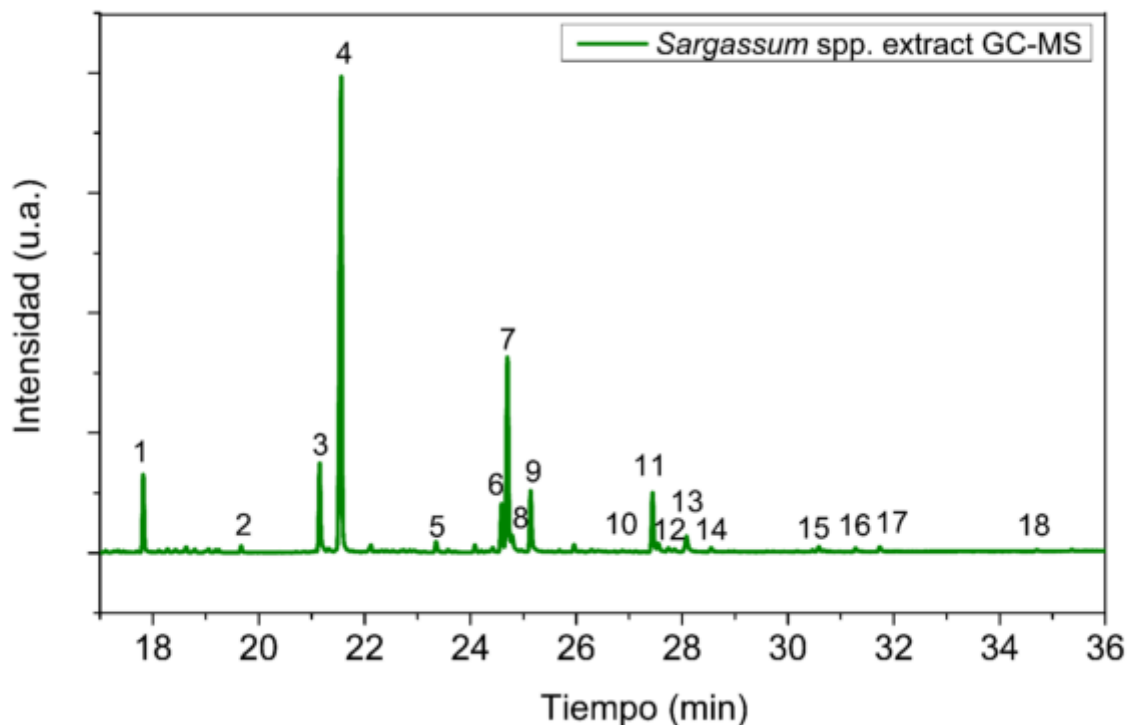


Figura 41 Cromatograma GC-MS de ésteres metílicos de ácidos grasos del extracto compuesto de *Sargassum* spp. pelágico.

En la muestra compuesta de *Sargassum* analizada (Figura 41), los picos más intensos corresponden a los ésteres metílicos del ácido palmítico ($25.85 \pm 2.41\%$), ácido oleico ($9.38 \pm 0.90\%$), ácido palmitoleico ($4.02 \pm 0.37\%$) y ácido esteárico ($3.12 \pm 0.17\%$), con contribuciones menores de ácidos araquidónico y linoleico. Se identificaron un total de 18 ácidos grasos, incluyendo ácidos grasos saturados (C14:0 a C24:0), ácidos grasos monoinsaturados (C16:1, C18:1, C20:1, C22:1) y ácidos grasos poliinsaturados (C18:2, C20:4 ω -6, C22:6 ω -3).

Tabla 9 Análisis de ácidos grasos mediante GC-MS de extracto compuesto de *Sargassum* spp. pelágico.

Pico	Tiempo	Nombre común	Nombre compuesto (IUPAC)	Núm. de lípidos	Fórmula	% Área del pico
1	17.818	Ácido mirístico	Ácido tetradecanoico	C14:0	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	2.97 ± 0.29
2	19.667	Ácido pentadecílico	Ácido pentadecanoico	C15:0	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	0.30 ± 0.04
3	21.151	Ácido palmitoleico	Ácido 9-hexadecenoico	C16:1	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	4.02 ± 0.37
4	21.556	Ácido palmítico	Ácido hexadecanoico	C16:0	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	25.85 ± 2.41
5	23.350	Ácido margárico	Ácido heptadecanoico	C17:0	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	0.56 ± 0.06
6	24.586	Ácido linoleico	Ácido 8,11-octadecadienoico	C18:2	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	2.26 ± 0.21
7	24.700	Ácido oleico	Ácido <i>cis</i> -9-octadecenoico	C18:1	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	9.38 ± 0.90
8	24.788	Ácido petroselínico	Ácido <i>trans</i> -9-octadecenoico	C18:1	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	1.08 ± 0.08
9	25.138	Ácido esteárico	Ácido octadecanoico	C18:0	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	3.12 ± 0.17
10	26.872	Ácido nonadecílico	Ácido nonadecanoico	C19:0	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	0.17 ± 0.01
11	27.442	Ácido araquidónico	<i>cis</i> -5,8,11,14-ácido eicosatetraenoico	C20:4ω-6	C ₂₀ H ₃₂ O ₂	2.84 ± 0.42
12	27.553	Ácido eicosapentaenoico (EPA)	<i>trans</i> -5,8,11,14-ácido eicosatetraenoico	C20:4ω-6	C ₂₀ H ₃₀ O ₂	0.57 ± 0.01
13	28.083	Ácido gondoico	Ácido 11-eicosenoico	C20:1ω-9	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	1.19 ± 0.08

14	28.548	Ácido araquídico	Ácido eicosanoico	C20:0	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	0.25 ± 0.01
15	30.585	Ácido docosahexaenoico (DHA)	4,7,10,13,16,19-docosahexaenoico	C22:6ω-3	C ₂₂ H ₃₂ O ₂	0.28 ± 0.04
16	31.278	Ácido erúcico	Ácido 13-docosenoico	C22:1	C ₂₂ H ₃₂ O ₂	0.29 ± 0.04
17	31.737	Ácido behénico	Ácido docosanoico	C22:0	C ₂₂ H ₄₄ O ₂	0.30 ± 0.02
18	34.706	Ácido lignocérico	Ácido tetracosanoico	C24:0	C ₂₄ H ₄₈ O ₂	0.10 ± 0.01

El patrón de ácidos grasos de la Tabla 9 (y Figura 41) coincide con lo reportado por Milledge *et al.* [12] previamente sobre *Sargassum* spp. pelágico del Caribe, quienes encontraron ácidos grasos saturados, ácidos grasos poliinsaturados y ácidos grasos monoinsaturados en cantidades de 37%, 29% y 19%, respectivamente. La gran proporción de ácido palmítico (C16:0) coincide con lo reportado por Plouguerné *et al.*[106] y Schwartz *et al.* [101], quienes señalan que los ácidos grasos C16, C18 y C19 son los principales contribuyentes a efectos inhibidores de la incrustación en *Sargassum vulgare* y *S. muticum*, respectivamente. Pinteus *et al.* [102] concluye que el ácido palmítico (C16) y otros ácidos grasos de cadena media (C14-C18) son los responsables de las propiedades antiincrustantes en *Sargassum* spp. y atribuye el efecto antiincrustante a la interrupción de la integridad de la membrana bacteriana (como en bacterias Gram positivas), la obstrucción de las vías de señalización de detección de quórum, y su posterior efecto en la inhibición de la adhesión de proteínas a la superficie debido a la alteración en la síntesis de la matriz del biofilm, el efecto buscado por este trabajo para evitar la colonización de bacterias en arrecifes artificiales.

Como se evidencia en el capítulo 4.3, el mecanismo de inhibición de biopelícula (sección 4.3.2) no es a causa de un efecto bactericida (4.3.1) ni de toxicidad general (4.3.3), por lo tanto, está respaldado por compuestos bioactivos que generan una interferencia de señales químicas de fijación. Estos resultados son consistentes a lo planteado por autores citados anteriormente, quienes sostienen que la actividad antiincrustante se debe principalmente a la presencia del ácido palmítico (C16) y otros ácidos grasos de cadena media (C14-C18).

Sin embargo, hay que aclarar que esta generalización debe entenderse restringida a los sargazos usados, dado que una limitante de este estudio consistió, precisamente, en no haber analizado las macroalgas rojas (Rhodophyta), las cuales tendrían un perfil fitoquímico diferente, cuya evaluación se plantea como eje de investigación futura.

4.5 Recubrimiento Antiincrustante: SEM-EDS, XRD, TEM, y su Comparación con ACC de Campo

Durante la extracción de especies de *Sargassum* utilizadas en este trabajo para la sección anterior, se obtuvieron volúmenes elevados de biomasa residual. Por ejemplo, en la muestra compuesta de las dos especies pelágicas de *Sargassum* (*S. natans* y *S. acinarium*) usadas en el GC-MS y en las posteriores secciones, 6.72 gramos de biomasa residual (peso en seco) eran producidos por cada gramo de extracto (*S. natans* y *S. acinarium*). Con el objetivo de maximizar el aprovechamiento de la materia prima vegetal mientras se minimiza el impacto ambiental asociado al descarte, la biomasa remanente fue valorizada como fuente de

calcio y magnesio como precursor de las micro y nanopartículas de calcita-aragonita, como réplica sintética de la ACC.

En primera instancia, se realizó un análisis por SEM y XRD de las cenizas de sargazo mixto, con el fin de entender el nivel de ajuste que habría que realizar para llegar a la síntesis que asemeje las partículas de la ACC. Se compararon cenizas derivadas del sargazo antes de realizar la extracción y posterior a su extracción, con el objetivo de ver si existían cambios significativos en la composición química con el tratamiento. La microscopía electrónica de barrido de las cenizas de sargazo reveló morfologías de partículas irregulares, predominantemente estructuras aglomeradas en forma de escamas. La partícula promedio de sargazo sin extracción fue de $3.24 \pm 0.54 \mu\text{m}$ (Figura 42a). Las cenizas de sargazo posteriores al macerado mostraron una morfología comparable al de las muestras sin extracción, aunque ligeramente mayor y con mayor variación, de tamaño de $4.57 \pm 2.19 \mu\text{m}$, lo que indica que la extracción no necesariamente altera la morfología del producto de calcinación (Figura 42b).

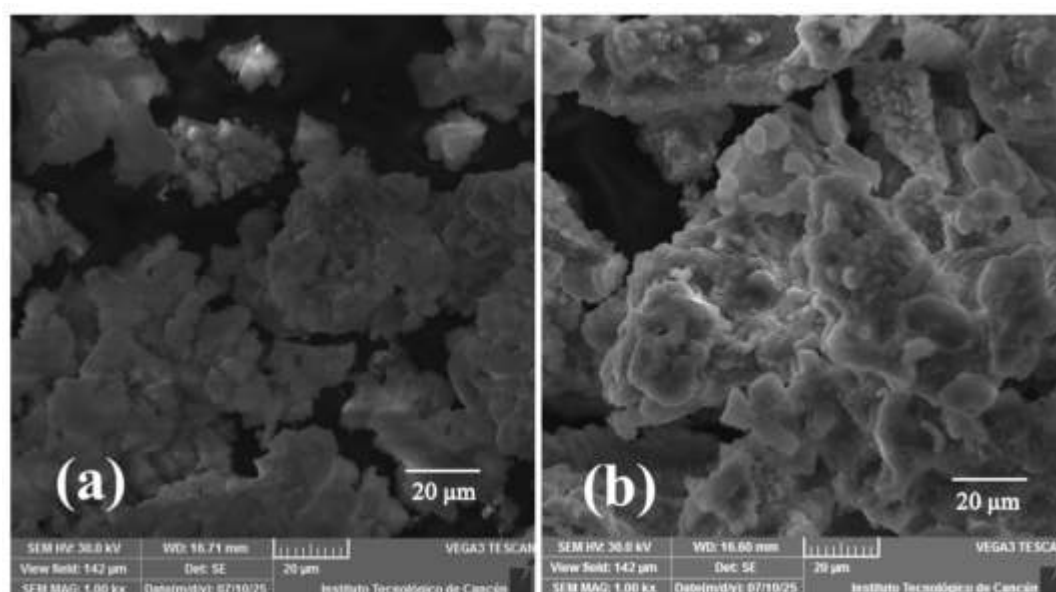


Figura 42 Caracterización SEM de ceniza de sargazo: (a) ceniza de sargazo sin extracción y (b) ceniza de sargazo post-extracción.

La composición elemental de la biomasa original y la biomasa residual (tras la extracción) (Figura 43) no presentó diferencias estadísticamente significativas (t-test pareado, $p = 0.70$). A pesar de que se aprecia una tendencia de reducción en el contenido de oxígeno posterior al proceso de extracción, la similitud compositiva valida ambos métodos de tratamiento como precursores viables para la síntesis de carbonato de calcio. Sin embargo, el método de la estrategia sostenible (que usa biomasa post-extracción), produce un $17 \% \pm 5.2 \%$ más de ceniza por unidad de biomasa que el sargazo sin extracción, debido a que contiene menor cantidad materia orgánica, reduciendo la cantidad de materia volátil que pudiera generarse durante la sinterización, lo que demuestra una transformación más eficiente de la biomasa en productos funcionales en lugar de residuos del proceso.

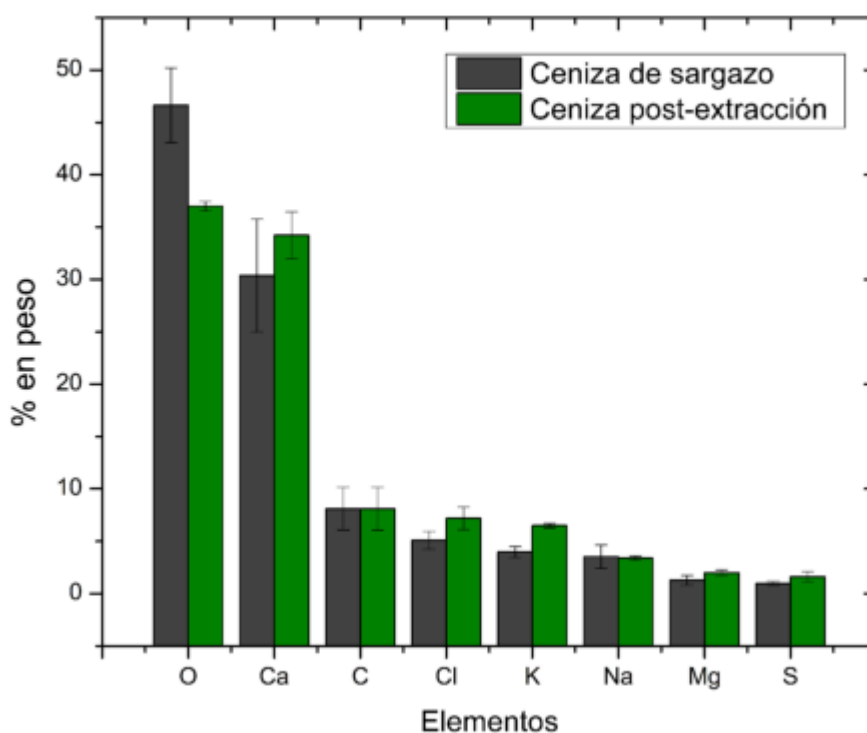


Figura 43 SEM-EDS de sargazo sin extracción (gris) y post-extracción (verde).

Se realizó un análisis de XRD (con refinamiento de Rietveld) que reveló la composición de la fase cristalina de la ceniza de *Sargassum* spp. (muestra mixta) de manera cuantitativa, posterior a la extracción (Figura 44). La fase dominante fue óxido de calcio, CaO (COD ID: 1011095) con $45.4\% \pm 5.9\%$, seguido por cloruro de sodio, NaCl (COD ID: 96-100-0042) con $21.1\% \pm 3.7\%$, cloruro de potasio, KCl (COD ID: 96-900-9734) con $19.1\% \pm 4.1\%$, minoritariamente carbonato de calcio, CaCO₃ (COD ID: 9000095) con $7.3\% \pm 3.2\%$ y óxido de magnesio, MgO (COD ID: 1000053) presente en la muestra en cantidades de $7.1\% \pm 2.2\%$. El COD es la base de datos cristalográfica abierta “Crystallography Open Database”, por sus siglas en inglés.

La presencia de CaCO₃ en las cenizas, junto con fases sustanciales de CaO y MgO, confirma la viabilidad de este material como fuente de calcio y magnesio para la síntesis de fases de carbonato como calcita con alto contenido de Mg y aragonita. Si bien el *Sargassum* se lavó previamente por triplicado, aún se pueden encontrar sales de haluro (NaCl y KCl) en las cenizas. Se recomienda su eliminación mediante lavados adicionales para evitar interferencias con las reacciones de carbonatación posteriores durante la síntesis de partículas. Sin embargo, como su aplicación de la posterior síntesis de partículas es para aplicaciones marinas, la presencia de sales de haluro no se considera una inclusión que pudiera afectar las propiedades del recubrimiento.

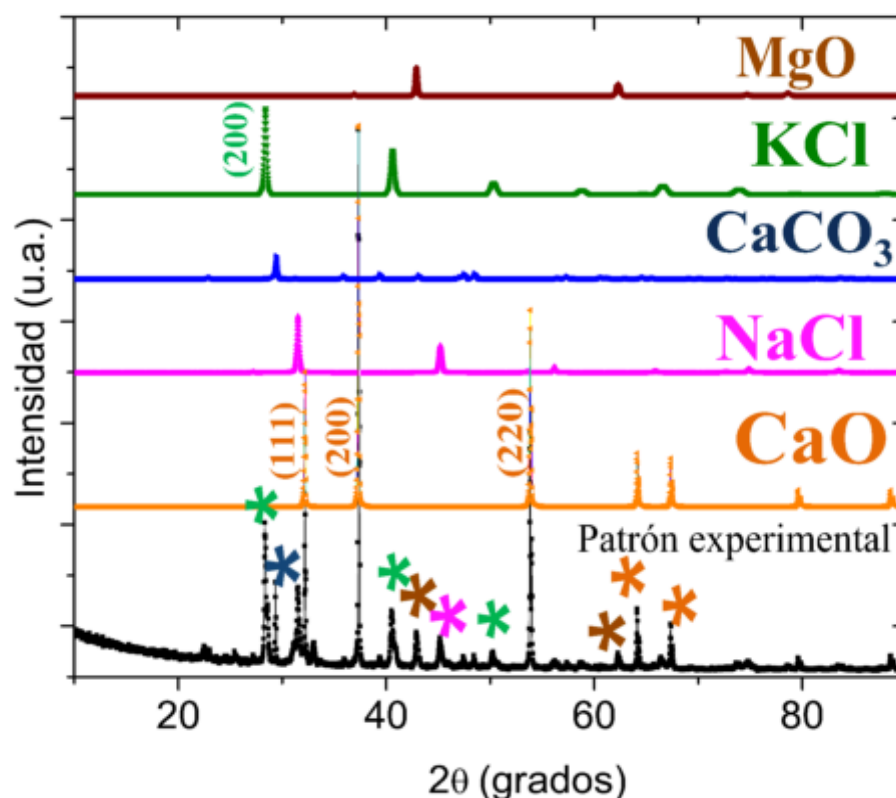


Figura 44 Caracterización por XRD de ceniza de *Sargassum* post-extracción (a) patrón experimental con identificación de la fases principales (b) refinamiento de Rietveld y fases ajustadas.

Posterior a la síntesis de partículas usando la mezcla de *Sargassum* spp. como precursor, el respectivo ajuste con MgCl_2 y el proceso gota a gota usando Na_2CO_3 descrito en la metodología de la sección 3.6, el análisis SEM reveló la coexistencia de dos estructuras polimórficas distintas correspondientes a las fases de aragonita y calcita (Figura 45a y 45b) con un solo método de síntesis. Los cristales de aragonita encontrados exhibieron una morfología acicular, característica con cristales ramificados alargados, en forma de flor, de tamaño promedio de $5.97 \pm 0.48 \mu\text{m}$ de diámetro (Figura 45a). Los cristalitos en forma de aguja tienen patrones radiales, consistentes con el sistema cristalino ortorrómbico de la aragonita reportado en

estudios previos como Abdollahpour *et al.* [126] quienes obtuvieron morfologías aciculares semejantes de tamaños menores a 20 μm y Nguyen *et al.* [127] con cristales de aragonita de tamaño promedio alrededor de $\sim 5 \mu\text{m}$.

Las partículas de calcita alta en magnesio mostraron una geometría romboédrica bien definida con dimensiones medias de $1.22 \pm 0.10 \mu\text{m}$ (Figura 45b), aproximadamente cinco veces más pequeñas que las estructuras de aragonita. Las morfologías observadas están acorde a la configuración cristalográfica de calcita establecida con Nguyen *et al.* [127], aunque las obtenidas en este trabajo son de mucho menor tamaño (la calcita alto magnesio de Nguyen *et al.* son de aproximadamente $\sim 50 \mu\text{m}$ por ser una síntesis hidrotermal a 184°C por 40 horas, mientras la síntesis de este trabajo fue sin adición de temperatura y con tiempo de síntesis de 1 hora en etanol al 30%). Sin embargo, Levenstein *et al.* [128] ha utilizado calcita de 1-3 μm en sustratos cerámicos en su trabajo para restauración de corales (sin hacer una mimetización de la ACC) con resultados efectivos, lo que valida este tamaño de partícula para dicha aplicación. Adicionalmente a las micropartículas, durante el mismo método de síntesis, se encontraron además nanopartículas. Las imágenes TEM (como la Figura 45c) mostraron un rango de tamaño de partícula de 2.6 a 13.0 nm, con una media de $3.61 \pm 0.44 \text{ nm}$.

A partir del análisis realizado con TEM en modo de difracción de electrones, en modo de patrón de difracción (200 kV, longitud de la cámara de 150 cm) se obtuvo una distancia medida de 3.3 nm^{-1} en el espacio recíproco que, de la relación $d = 1/g$, corresponde a un espaciado real de $d = 0.303 \text{ nm}$ ($3.03 \text{ \AA}$). Esa distancia corresponde a la del plano cristalográfico (104) de la calcita (CaCO_3), lo cual se corrobora con los mapeos elementales de EDS que muestran que el calcio (Ca), carbono (C) y oxígeno

(O), que son los elementos de mayor abundancia en la estructura, lo que es consistente con la composición química de la calcita (Figura 46).

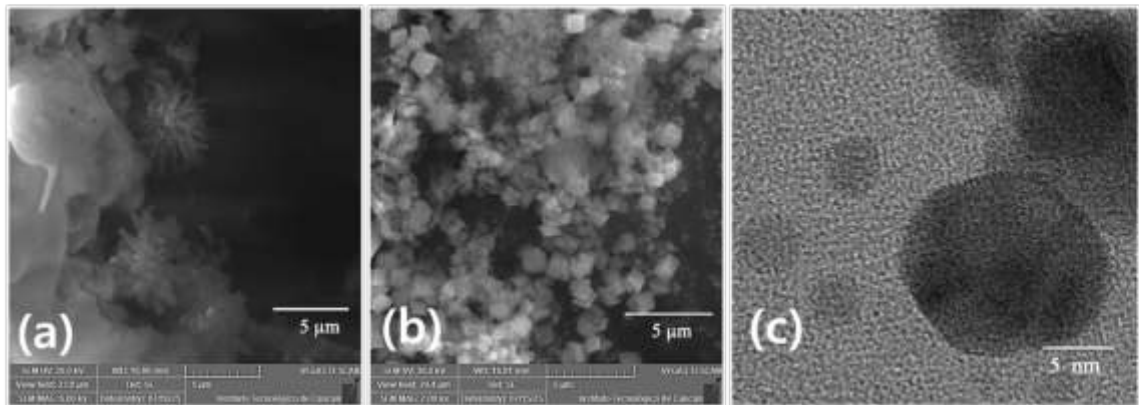


Figura 45 Imagen SEM que muestra cristales de aragonita (a) y calcita con alto contenido de Mg (b) en el recubrimiento biomimético. Imagen TEM (c) de nanopartículas en el recubrimiento.

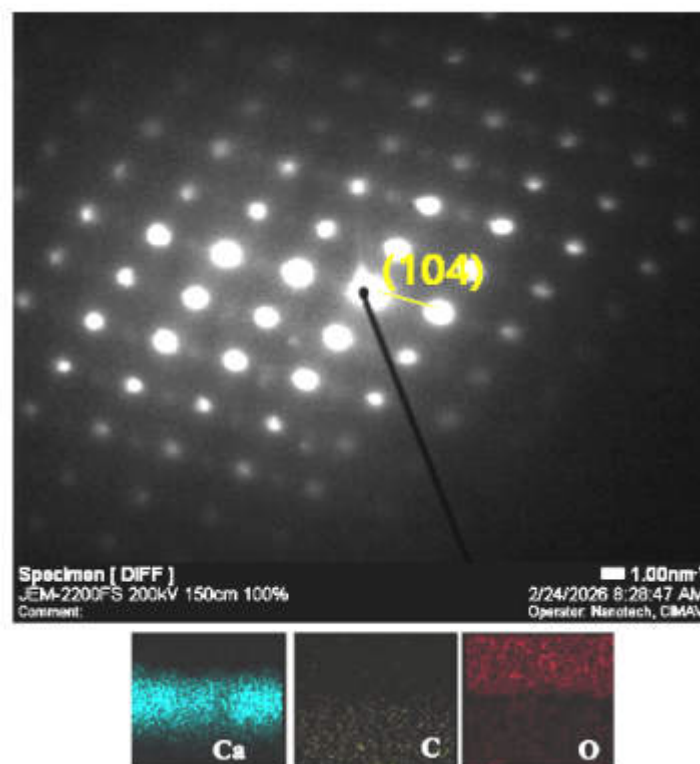


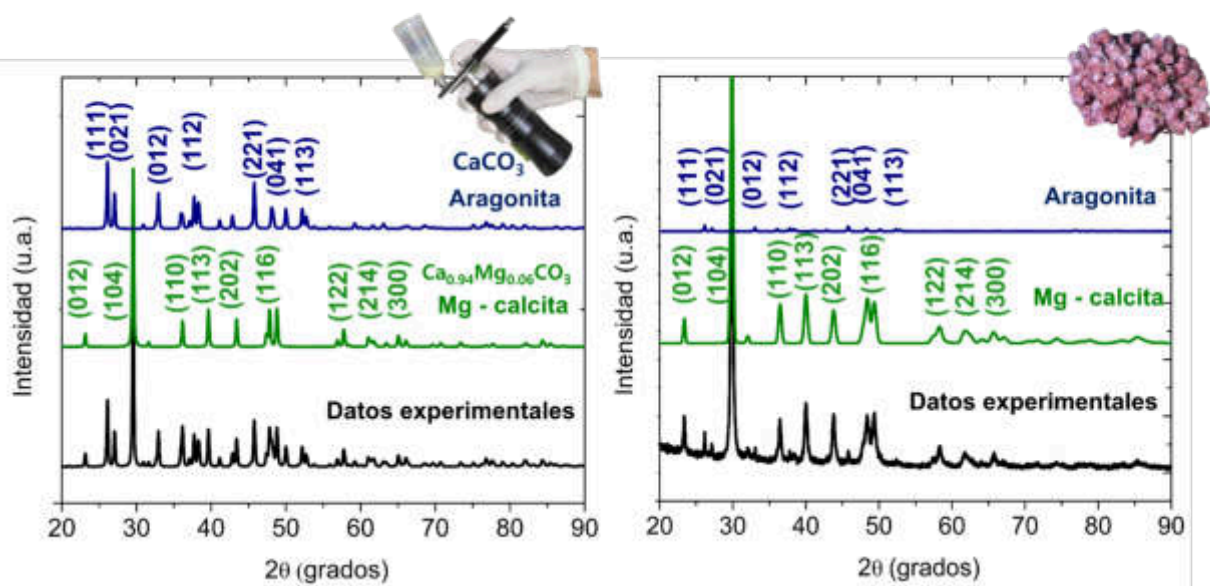
Figura 46 Imagen TEM en modo de patrón de difracción, mostrando el plano cristalográfico (104).

La Figura 47a muestra el patrón de difracción de rayos X con los resultados del refinamiento de Rietveld para partículas de calcita-aragonita, con gran similitud a la Figura 47b, donde se presentan los resultados de las fases de calcita-aragonita de una ACC obtenida de campo de la especie *Neogoniolithon* sp., utilizada como modelo representativo para la replicación.

Dado a que el XRD de los datos experimentales en la Figura 47a fue medido en cinta de carbón, y mostró una intensidad relativamente baja de calcita y aragonita (por ser un recubrimiento muy fino), por lo tanto, se optó por restar el resultado amorfo del fondo de cinta de carbón puro a los datos experimentales, y obtener los datos de la imagen únicamente correspondientes al recubrimiento, con el objetivo de discernir mejor la presencia de ambas fases.

Se identificaron dos polimorfos distintos de carbonato de calcio: Mg-calcita ($\text{Ca}_{0.94}\text{Mg}_{0.06}\text{CO}_3$, línea verde) COD 96-721-4218 como la fase dominante, siendo el $99.63 \pm 2.8\%$ del material cristalino, y aragonita (CaCO_3 , línea azul) como una fase menor presente en $<1\%$, $0.37\% \pm 0.3\%$, modelada utilizando la entrada de COD 96-901-5449.

El EDS de *Neogoniolithon* sp. y las micro y nanopartículas sintetizadas de ceniza de *Sargassum* spp. exhiben exactamente los mismos elementos constituyentes, siendo los más abundantes oxígeno (O), carbono (C) y calcio (Ca). En contraste, los elementos de menor cantidad en la muestra constituyen el cloro (Cl), sodio (Na), potasio (K), azufre (S) y magnesio (Mg), tanto en las partículas sintéticas como en el ACC natural (Figura 48).



En la Figura 49 se pueden apreciar las posibles estructuras cristalinas de calcita ($\text{Ca}_{0.94}\text{Mg}_{0.06}\text{CO}_3$) (Figura 49a), con simetría romboédrica, donde la estructura de algunos iones Ca^{2+} (azul) permite una sustitución limitada de Mg^{2+} ; y aragonita (CaCO_3) (Figura 49b) con simetría ortorrómbica, estructuras obtenidas usando el software Vesta.

Los iones Mg^{2+} , a pesar de tener un radio iónico pequeño (0.72 Å frente a 1.00 Å para Ca^{2+} , dato calculado en Vesta), desestabilizan preferentemente la estructura de la calcita mediante distorsión de la red. Se postula que la formación preferencial de aragonita ocurre en regiones de mayor concentración de Mg^{2+} , ya que dada la coordinación de nueve ligandos existentes de la aragonita para el Ca^{2+} , excluye la integración del Mg^{2+} ; el ion Mg^{2+} induce una tensión reticular lo suficientemente fuerte que desajusta la estructura de la calcita en la red de carbonato, induciendo la precipitación de aragonita como vía cinéticamente más favorecida [126].

Por el contrario, en las regiones donde la concentración de Mg^{2+} es más baja, la red de calcita puede acomodar la sustitución parcial de Mg^{2+} . A pesar de tener una distancia menor en el enlace Ca y O, respecto a la aragonita (Ca-O = 2.346 Å para calcita y Ca-O = 2.661 Å para aragonita, verificados en Vesta), al tener seis ligandos pueden, es compatible con un catión más pequeño y puede acomodar mejor el ion de Mg^{2+} sin desestabilizar la estructura. Por lo tanto, la incapacidad de incorporar el ión Mg^{2+} en la estructura de la red cristalina de aragonita posiblemente es el mecanismo dominante responsable dicha morfología irregular en forma de aguja, ya que la tensión reticular localizada en presencia de alto magnesio promueve un crecimiento asimétrico del cristal.

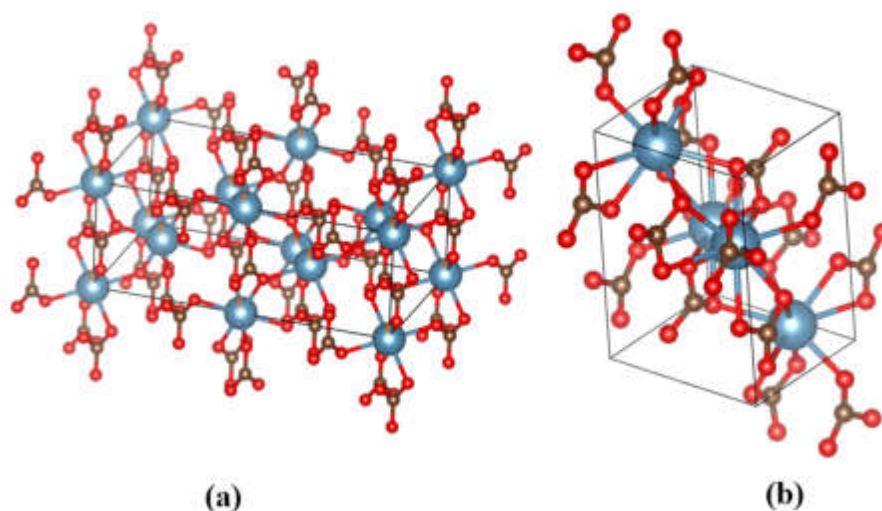


Figura 49 Estructuras de (a) calcita ($\text{Ca}_{0.94}\text{Mg}_{0.06}\text{CO}_3$), con simetría romboédrica (b) aragonita (CaCO_3) con simetría ortorrómbica, donde los iones Ca^{2+} son azules, el carbono es café y las esferas rojas son oxígeno. Software Vesta.

Es relevante mencionar que, a medida que se agrega más tiempo de síntesis y más alcohol etílico en la mezcla, se produce más cantidad de calcita. En la Figura 50 se puede observar una muestra con mayormente calcita, en condiciones de síntesis 50% etanol y 24 horas de síntesis, con un tamaño de estructura promedio de $1.41 \pm 0.49 \mu\text{m}$.

En lo que se refiere a las ACC, *Neogoniolithon* sp. presentó dimensiones promedio de poro de $7.41 \pm 1.52 \mu\text{m}$ (Figura 51). Los resultados de XRD y refinamiento de Rietveld para esta alga calcárea, mostrados en la Figura 47b, el espécimen de *Neogoniolithon* sp. natural exhibe una composición mineralógica de $96.49\% \pm 1.8\%$ Mg-calcita (COD ID: 967214218) y $3.5\% \pm 0.5\%$ aragonita (COD ID: 96-901-5449).

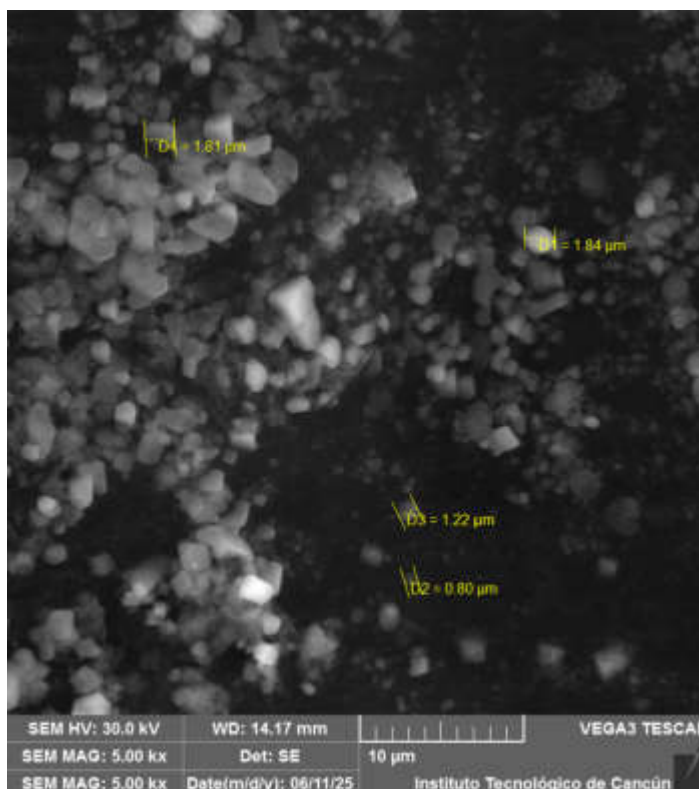


Figura 50 Imagen SEM de la formación al 100% de Mg-calcita utilizando etanol al 50% y un tiempo de agitación vigorosa de 24 horas.

Esto es consistente con los resultados de Carvalho *et al.* [83], quién concluye que las familias de ACC pertenecientes a Corallinaceae (como *Neogoniolithon* sp.) tienen un promedio de $96.7\% \pm 3.4\%$ Mg-calcita y $2.7\% \pm 1.5\%$ aragonita con un pequeño porcentaje de dolomita $< 0.6\%$. Este estudio biomimetizó con éxito la composición mineralógica de *Neogoniolithon* sp. como lo reportaron Carvalho *et al.* ($99.3\% \pm 0.3\%$ Mg-calcita y $0.7\% \pm 0.1\%$ aragonita), alcanzando $99.63\% \pm 2.8\%$ Mg-calcita y $0.37\% \pm 0.3\%$ aragonita en los resultados de síntesis en base a ceniza de sargazo, resumido en la Tabla 10.

Los resultados de este trabajo replican la mineralogía de *Neogoniolithon* sp. natural previamente caracterizado, demostrando la efectividad del método y no

tienen diferencia significativa contra lo reportado en la literatura ni contra el *Neogoniolithon* sp. obtenido de campo (Tabla 11).

Una de las hipótesis que pudiera explicar por qué la ACC natural de Puerto Morelos mostró un contenido de aragonita ligeramente mayor a los resultados en la Tabla 10 pudiera ser explicado por el contenido de epibiontes, visibles como estructuras ovaladas en la Figura 51a, que podrían mineralizarse principalmente como aragonita [129] y, por lo tanto, incrementar el resultado de la aragonita en la muestra *Neogoniolithon* sp. Con vistas a próximas investigaciones, de tener lugar, podría ser relevante instaurar un protocolo de limpieza todavía más exhaustivo, como el lavado mediante ultrasonido (sonicación), para eliminar los epibiontes adheridos y reducir, así, la interferencia en la fase de determinación de la cuantificación.

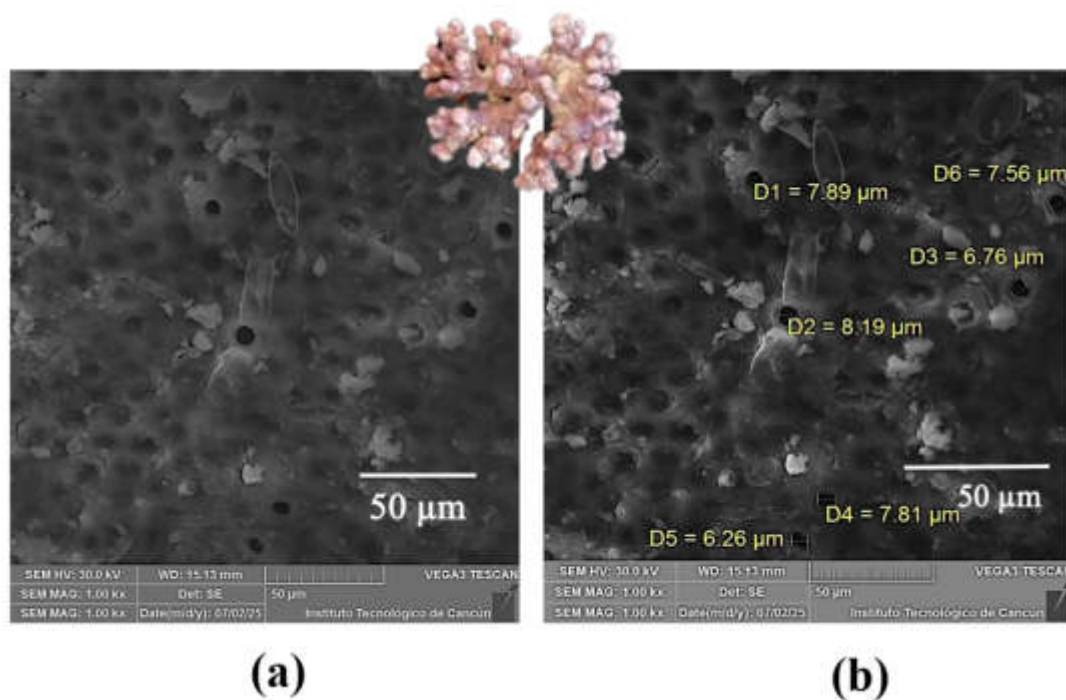


Figura 51 SEM de la superficie del rodolito natural *Neogoniolithon* sp. (a) superficie porosa con epibiontes (b) con mediciones de diámetro de poro.

Tabla 10 Resultado de calcita-aragonita en ACC analizada, síntesis de partículas y ACC de la literatura.

Fuente	Mg-calcita	Aragonita
<i>Neogoniolithon</i> sp. Puerto Morelos	96.49% $\pm$ 1.8%	3.5% $\pm$ 0.5%
Promedio ACC en familias Corallinaceae [83]	96.7% $\pm$ 3.4 %	2.7% $\pm$ 1.5 %
<i>Neogoniolithon</i> sp. literatura [83]	99.3% $\pm$ 0.3 %	0.7% $\pm$ 0.1 %
ACC sintética (este trabajo)	99.63% $\pm$ 2.8%	0.37% $\pm$ 0.3%

Tabla 11 Prueba t de ACC sintética vs ACC naturales.

Fuente	Valor t Mg-calcita	Valor p Mg-calcita	Resultado	Valor t Aragonita	Valor p Aragonita	Resultado
ACC sintética vs ACC Puerto Morelos	1.68	0.17	No signif.	1.64	0.18	No signif.
ACC sintética vs ACC promedio en familias <i>Corallinaceae</i> [83]	1.08	0.34	No signif.	1.14	0.32	No signif.
ACC sintética vs <i>N. sp.</i> literatura [83]	0.20	0.86	No signif.	0.20	0.85	No signif.

En este trabajo se encontró que una concentración de etanol al 30% y una velocidad de agitación de 140 revoluciones por minuto (rpm) durante una hora de síntesis es un régimen adecuado para sintéticamente replicar la ACC a partir de ceniza de sargazo (resultando en 99% de calcita, <1% de aragonita). Dichas condiciones no han sido reportadas previamente en la literatura. Por ejemplo, el estudio de referencia usado para este trabajo, Sand *et al.* [117], reporta una síntesis

con duración de una hora y agitación a 140 rpm a concentraciones de etanol del 10% obteniendo como resultado principalmente vaterita y 50% de etanol (50:48 vaterita-aragonita). Sin embargo, Sand *et al.* utilizaron como precursores CaCl_2 y Na_2CO_3 y su estudio no incluye iones de magnesio, elemento relevante para este trabajo. A pesar de usar Na_2CO_3 gota a gota en este trabajo como el método usado por Sand *et al.*, contrario a ellos, la fuente de calcio (y mayormente de magnesio) de este trabajo se obtuvo de la ceniza de sargazo. Además, se agregó MgCl_2 adicional para llegar a una razón $\text{Mg}/\text{Ca} = 0.15$, una razón cercana a las ACC [83], lo que hace el método distinto frente a los ya citados previamente. Sumado a esto, nuestro sistema contenía iones adicionales (K^+ , Na^+ , SO_4^{2-}), por lo que se propone que estas condiciones pudieran haber influido en el sistema para llegar a un resultado que se obtuvo; una cinética preferida hacia la calcita (a diferencia de los resultados de Sand *et al.*)

A pesar de eso, nuestros resultados también son consistentes con los encontrados por Abdollahpour *et al.* [27], quienes reportan a $\text{Mg}/\text{Ca} = 0.2$ la presencia de 75 % de calcita de alto magnesio y un 25 % de aragonita, mientras que una relación $\text{Mg}/\text{Ca} > 1$ suprime las fases de calcita alta en magnesio en favor de la aragonita por el mecanismo descrito anteriormente, en el cual, a mayor contenido de iones de magnesio, se desestabilizan la estructura reticular de la calcita debido a la diferencia en el radio iónico del magnesio, mientras que a relaciones Mg/Ca más bajas, se favorece la formación de calcita de alto magnesio. Para Abdollahpour *et al.*, la aragonita se forma preferentemente en condiciones de alta concentración de Mg^{2+} , ya que en ese caso existe un elevado grado de desajuste cristalográfico entre el radio iónico del Mg^{2+} y el tamaño de la cavidad de coordinación del CaCO_3 , en tanto que el

Mg^{2+} es incapaz de incorporarse a la estructura e inducir el proceso de nucleación de aragonita como fase alternativa (este mecanismo se confirmó con el software Vesta y se describió anteriormente).

En esta investigación, la relación Mg/Ca es moderada; siendo $Mg/Ca = 0.15$. En dichas condiciones, la concentración de Mg^{2+} es suficientemente elevada como para conseguir la incorporación parcial de este ión en la red de calcita la cual no llega a los contenidos críticos para que se active una nucleación abrupta de aragonita como fase mayoritaria, ya que la fracción de aragonita nunca alcanzó $> 0.4\%$ para las condiciones de estudio. Por lo tanto, la relación Mg/Ca es una variable importante que más determina el control polimórfico del sistema biomimético desarrollado, y se evidenció que es más relevante que la influencia de la concentración del solvente (etanol) y el tiempo de agitación indicadas para sistemas puros (sin Mg).

Por lo tanto, se establece la siguiente relación, donde ϕ_{arag} es la fracción de aragonita en % (ecuación 4):

$$\uparrow Mg/Ca \Rightarrow \uparrow \phi_{arag} \quad (4)$$

Las partículas de Mg-calcita de $\sim 1\mu m$ se formaron bajo condiciones de moderada supersaturación (exceso de iones) en el medio acuoso, donde la concentración local de Mg^{2+} fue suficiente para ser incorporada parcialmente en la red cristalina, lo que probablemente limitó su crecimiento en la dirección de la escala micrométrica, a diferencia de la aragonita. Mientras tanto, los cristales de aragonita de $\sim 5\mu m$, que se nuclearon en zonas de baja supersaturación (pocos iones extra en la solución) pero de alta concentración relativa de Mg^{2+} , donde el ion Mg^{2+} fue excluido

de la estructura de aragonita, permitiendo un crecimiento menos restringido y por tanto micropartículas de mayor tamaño.

Además del proceso de nucleación de aragonita y Mg-calcita, coexistió una fase de carbonato de calcio en la forma de nanopartículas redondas las cuales ya habíamos abordado anteriormente (Figura 45c). Dicha existencia de tres poblaciones de partículas con características diferentes pueden ser explicadas por la existencia de gradientes locales de supersaturación que se generan en el método usado en este trabajo que consiste en realizar la adición gota a gota del carbonato de sodio (Na_2CO_3). Las nanopartículas de forma esférica de alrededor de 3 nm corresponden a una intensa nucleación de un gran número de núcleos de tamaño nanométrico. Estudios como el de Liendo *et al.* [130] indican que iones en la solución, como Cl^- , SO_4^{2-} , Na^+ , K^+ y Mg^{2+} pueden afectar el mecanismo de nucleación y crecimiento del CaCO_3 (dichos cinco iones están presentes en nuestro sistema). Por tanto, la inhibición del crecimiento cristalino por adsorción de los iones en los sitios activos en la superficie de los nanocristales pudo haber sido el motivo por el cual se estabilizó la nucleación en dimensiones nanométricas, impidiendo su coalescencia en partículas de tamaño micrométrico. En suma, la heterogeneidad morfológica observada en esta sección corresponde a la variabilidad iónica de gradientes de concentración derivada de los precursores y de la adición dosificada de gota a gota de Na_2CO_3 .

Se sugiere que la síntesis de múltiples tamaños partículas, mediante el método de síntesis único desarrollado en este trabajo, ocurre en el siguiente orden :

1. La nucleación de las NP de calcita es inmediatamente al caer la gota, mientras la solución está en alta saturación y alto contenido de iones.
2. La precipitación de Mg-calcita, al reducirse la saturación del medio acuoso de alto a moderado, posterior a la formación de NP.
3. La cristalización de aragonita en solución de baja saturación y alto contenido de Mg^{2+} , debido al agotamiento de iones de Ca^{2+} de los dos pasos anteriores, lo que aumenta la concentración de Mg/Ca en el medio, superando el umbral necesario para nuclear aragonita.

El recubrimiento heterogéneo formado por estos tres tipos de partícula se utilizaron para recubrir el sustrato cerámico y realizar la prueba con larvas de coral más adelante en la sección 4.7.

4.6 Caracterización de Sustrato Cerámico Base

A continuación se describe la morfología, composición y características mecánicas del material utilizado como base para el reclutamiento de larvas de coral. Dicho material cerámico fue recubierto con el ACC sintética caracterizada en la sección anterior.

4.6.1 SEM y XRD del Sustrato Cerámico

Al comparar el material cerámico impreso en 3D usado como base con lo encontrado en la naturaleza por las larvas de coral para su asentamiento, las algas ACC, podemos determinar que existe una similitud a nivel morfológico. El análisis por SEM del cerámico usado como base muestra un tamaño de poro de 9.19 ± 1.52

μm (Figura 52a), lo cual es semejante al *Neogoniolithon* sp. analizado, con dimensiones promedio de poro de $7.41 \pm 1.52 \mu\text{m}$ (Figura 52b).

Levenson *et al.* han notado que las larvas de coral tienen preferencias de asentamiento en superficies con porosidad de una magnitud menor al tamaño de la larva; por ejemplo, las larvas plánulas de *Diploria labyrinthiformis*, miden unos $300 \mu\text{m}$ de diámetro, lo que se señala es que tendrían sensibilidad hacia superficies con porosidad de alrededor de $30 \mu\text{m}$ [128]. Otros autores sugieren que un sustrato con poro entre $< 1\text{-}15 \mu\text{m}$ es apto para el asentamiento de larvas de coral [131]. Dada a que la porosidad inicial del material post-sinterizado es compatible con la literatura y entra en el rango $< 30 \mu\text{m}$, se estima tener buenos resultados de reclutamiento de coral incluso sin el recubrimiento de calcita-aragonita-NPs.

En cuanto a la composición química del cerámico sinterizado, al realizar el análisis por XRD (Figura 53), se encontró una cantidad predominante de anortita $\text{CaAl}_2\text{O}_8\text{Si}_2$ (COD ID:90000362) con $60.8\% \pm 5.2\%$ de la composición total. La segunda fase más abundante encontrada fue α -cuarzo SiO_2 (COD ID: 1011097) con $38.5\% \pm 3.2\%$ y magnetita $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-K}_2\text{O}$ (COD ID: 1011084), como fase minoritaria detectada con $<1\%$. En la Tabla 12 se muestra la composición mineralógica de la arcilla potásica sinterizada desarrollada en este trabajo contra la arcilla roja ladrillera convencional reportada en la literatura.

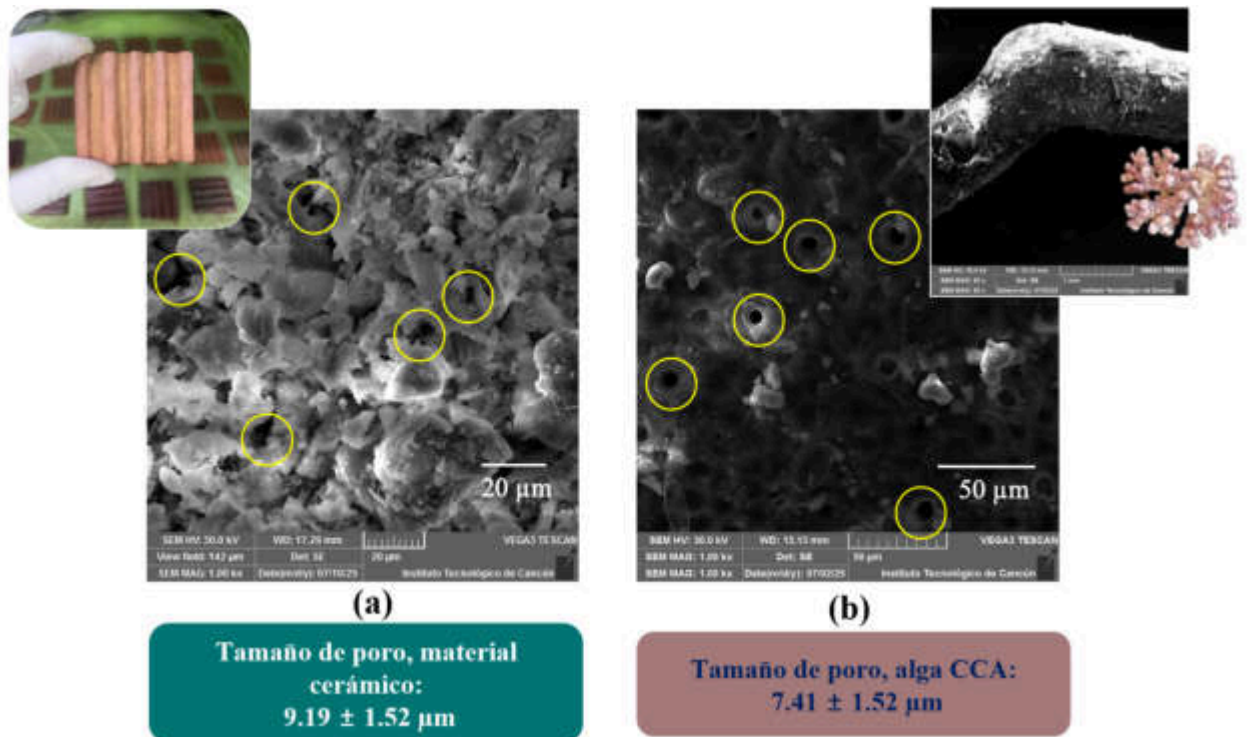


Figura 52 SEM de (a) arcilla sinterizada muestra Clay-1100 (b) *Neogoniolithon* sp. y sus respectivos tamaños de poro promedio.

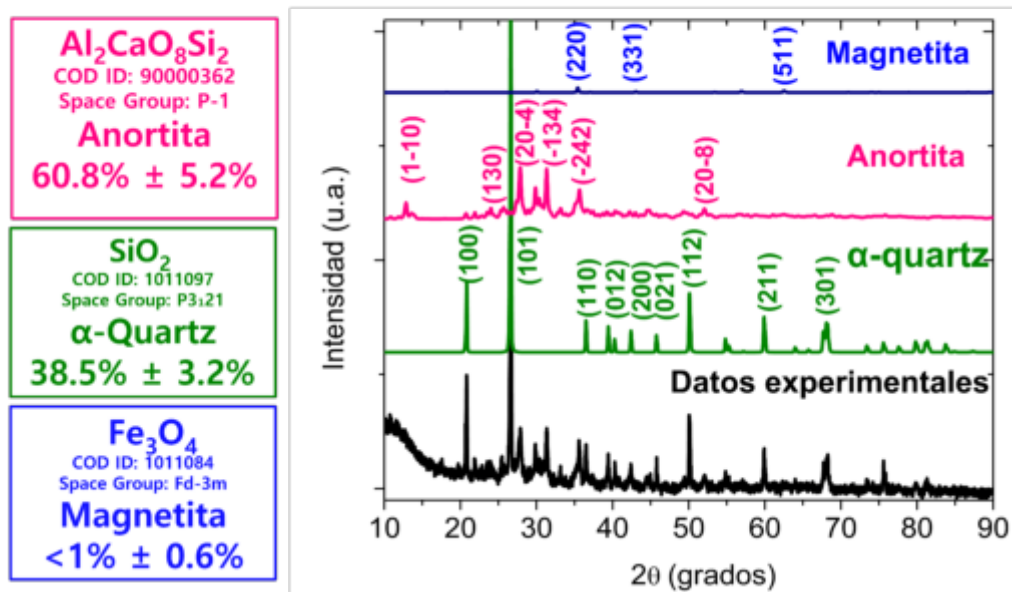


Figura 53 XRD del sustrato cerámico con el patrón experimental con la identificación de la fases de α -cuarzo, anortita y magnetita a través del refinamiento de Rietveld.

Como se describió anteriormente, la fase predominante de la arcilla potásica sinterizada es la anortita, la cual contiene calcio, un microelemento importante para los corales pétreos, fase de la cual carece la arcilla ladrillera convencional. Además, la anortita representa una ventaja importante contra un ladrillo de construcción convencional para su utilización como sustrato arrecifal dado a que la anortita es insoluble en agua a pH 8 (en equilibrio con el agua de mar) y está presente principalmente en la corteza oceánica y en los flujos de lava submarina [132].

Tabla 12 Diferencia mineralógica entre arcilla potásica roja utilizada y arcilla roja ladrillera.

Fase mineral	Fórmula	Arcilla potásica sinterizada	Arcilla roja ladrillera [133]
Anortita	$\text{CaAl}_2\text{Si}_2\text{O}_8$	60.5%	NA
Cuarzo	SiO_2	38.5%	20-55%
Magnetita	Fe_3O_4	0.5%	NA
Hematita	Fe_2O_3	NA	5-6%
Mullita	$3\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{SiO}_2$	NA	10-20%
Otras fases	Al_2O_3 CaO	NA	20-30%, 1-5%

Las dos arcillas comparten la fase de cuarzo (SiO_2), como fase estructural que otorga la resistencia mecánica, pero en distintas proporciones; 38.5% en la arcilla potásica sinterizada frente a 20-55% en la arcilla ladrillera. En cuanto a la fases de hierro, la arcilla potásica sinterizada contiene magnetita (Fe_3O_4 , 0.5%), mineral presente en depósitos de lava y basalto [134] y dicho mineral aporta hierro como

micronutriente esencial benigno, ya que además el hierro Fe(III) es un elemento clave en la simbiosis de los corales, por su sustento en la fotosíntesis; en el agua de mar, la mayor parte del Fe disuelto es Fe(III), el cual es mayormente absorbido por los simbioses fotosintéticos (por ejemplo, las zooxantelas) lo cual regula el proceso fotosintético en los corales a través de su actividad como cofactor en proteínas implicadas en el proceso de fotosíntesis, así como en el transporte de electrones y enzimas que eliminan las especies reactivas de oxígeno [135]. Mientras tanto, la arcilla ladrillera presenta la hematita (Fe_2O_3), con hierro en una proporción mayor al de la arcilla potásica (alrededor de 5-6%), la cual, si bien puede representar una fuente directa de Fe(III), altas concentraciones de esta especie que puedan provocar una eutrofización en el medio marino, y conllevar al crecimiento desmesurado de algas y microorganismos que podrían competir con el coral por espacio y recursos, causando el efecto adverso que se busca en este trabajo.

Volviendo a la fase mayoritaria encontrada en el cerámico con arcilla potásica, la anortita siendo un feldespato rico en calcio, puede ser una fuente estable de iones Ca^{2+} en la superficie del sustrato y podría proporcionar una química superficial favorable para el reclutamiento de larvas de coral incluso en ausencia de recubrimientos bioactivos adicionales (calcita-aragonita-NP), debido a que la anortita podría crear un microhábitat naturalmente enriquecido en calcio para la biomineralización de los corales en etapa temprana y su crecimiento posterior al asentamiento por sus características mineralógicas similares a las de un sustrato duro natural disponible en el fondo marino.

4.6.2 Ensayo de Compresión en Seco y en Húmedo

Las pruebas de compresión se realizaron con la finalidad de explorar la integridad mecánica máxima del sustrato cerámico dadas las condiciones de carga a las que pueden estar sujetas las placas (corrientes, esfuerzos de compresión durante la instalación en el océano vía atornillamiento al arrecife). Los datos obtenidos en la máquina universal, fuerza y desplazamiento, fueron convertidos a estrés sobre deformación utilizando las dimensiones de cada muestra. Para el estrés (σ), se utilizó la ecuación (5), donde F es la fuerza y A es el área seccional [136]:

$$\sigma = F/A \quad (5)$$

La deformación (ε) se calculó utilizando (6), donde representa el cambio en las dimensiones o el desplazamiento (Δx) sobre la dimensión original de altura (x) [136].

$$\varepsilon = \Delta x/x \quad (6)$$

Las curvas de esfuerzo sobre deformación obtenidas se pueden observar en la Figura 54. En la Tabla 13, se presenta un promedio (n=6) de la resistencia última a la compresión, la cual representa el esfuerzo máximo o carga que el material puede soportar antes del fallo completo del material.

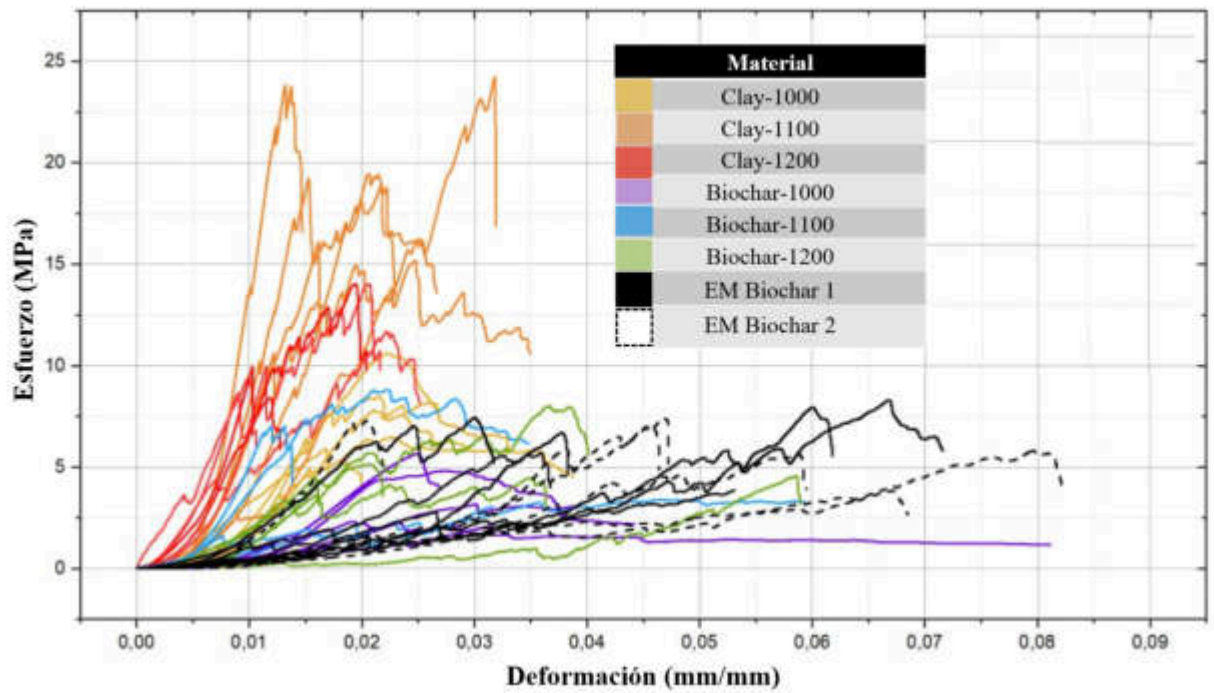


Figura 54 Curvas de esfuerzo deformación para 8 fórmulas (n=6).

Tabla 13 Promedio de resistencia a la compresión del cerámico de base.

Muestras	Resistencia a la compresión (MPa)
Clay-1000	7.87 ± 1.85
Clay-1100	19.54 ± 3.68
Clay-1200	11.50 ± 2.54
Biochar-1000	3.56 ± 2.80
Biochar-1100	5.56 ± 2.80
Biochar-1200	5.32 ± 1.51
EM-Biochar 1	6.60 ± 1.67
EM-Biochar 2	6.15 ± 1.38

De acuerdo con el ensayo de compresión, el material más apto para soportar las cargas fue Clay-1100, arcilla sinterizada a 1000°C, con una resistencia a la compresión de 19.54 ± 3.68 MPa (marcada en verde en la Tabla 13). Los resultados se compararon con los resultados de resistencia a compresión con los criterios establecidos para la resistencia de ladrillo de arcilla en la norma ASTM C62-17 [137], la cual establece que para el grado para meteorización moderada de ladrillos de construcción (condiciones exteriores no extremas) la resistencia mínima a la compresión promedio es de 17.2 MPa (de la resistencia a compresión de una media de cinco unidades de ladrillos de arcilla) y 20.7 MPa para meteorización severa. Por lo tanto, desde la perspectiva de la norma ASTM C62, la muestra (que sería aplicada bajo el agua y en condiciones de corriente y esfuerzos) que mostró mayor resistencia a la compresión Clay-1100 no es apta para su uso como material estructural, por lo tanto, se procede a hacer estudios con larva de coral en placas pequeñas no estructurales. Entre las limitaciones del actual estudio, la resistencia a la compresión se determinó a partir de los especímenes cúbicos siguiendo la norma ASTM C109, que no es la que corresponde estrictamente al método normalizado ASTM C67 para unidades ladrillos y materiales arcillosos, por lo que la comparación con los parámetros de ASTM C62 se considera a modo de referencia.

Inicialmente, se planteó la adición del biocarbón de sargazo al material cerámico como una estrategia para incrementar la sostenibilidad y circularidad del proceso y darle otro uso adicional a la biomasa generada en la etapa post-extracción. Sin embargo, tras los resultados de las muestras sinterizadas en horno eléctrico (Biochar-1000, Biochar-1100 y Biochar-1200) y del horno electromagnético (muestras EM-biochar 1 y EM-biochar 2) y la obtención de resultados de muy baja

resistencia a la compresión, se descartó el uso del sargazo como biocarbón dentro del material cerámico base, con el fin de no debilitar su desempeño mecánico.

Debido a que la aplicación del material tiene una finalidad para uso subacuático, es importante realizar la misma prueba de compresión después de que el material haya sido puesto en agua (Figura 55), como fue descrito en la metodología de la sección 3.8.4. Los promedios de las resistencias a la compresión máxima de las muestras saturadas en agua se muestran en la Tabla 14.

Tanto en la Figura 54 (resistencia a la compresión en seco) y Figura 55 (resistencia a la compresión después de saturación de agua) podemos observar un patrón de comportamiento del material similar al de la resistencia última a la compresión en seco: las muestras de arcilla potásica sinterizada a 1100°C tienen valores más altos, mientras que las muestras de arcilla con 20% de biocarbón tienen valores más bajos. La resistencia en las muestras saturadas en agua se reduce en promedio un 3.29 ± 2.58 MPa, lo que equivale a $34.75\% \pm 12.14\%$ de decremento de resistencia a la compresión en dichas condiciones.

La prueba t (Student) mostró diferencias estadísticamente significativas entre la resistencia a la compresión en muestras en seco y sus respectivos valores después de saturación de agua ($t = 5.914$, $p = 0.002 < 0.05$), por lo que se rechaza la hipótesis nula de igualdad entre tratamientos con un nivel de confianza del 95%, concluyendo que si existe una diferencia significativa entre la resistencia a la compresión en seco contra muestras después de saturación en agua. Esto supone que habría una reducción sustancial en propiedades mecánicas al exponer el material al agua, sin consideración de esfuerzos cíclicos adicionales en forma de corrientes y otras

presiones aplicadas que podrían incrementar aún más dicha diferencia entre los dos tratamientos.

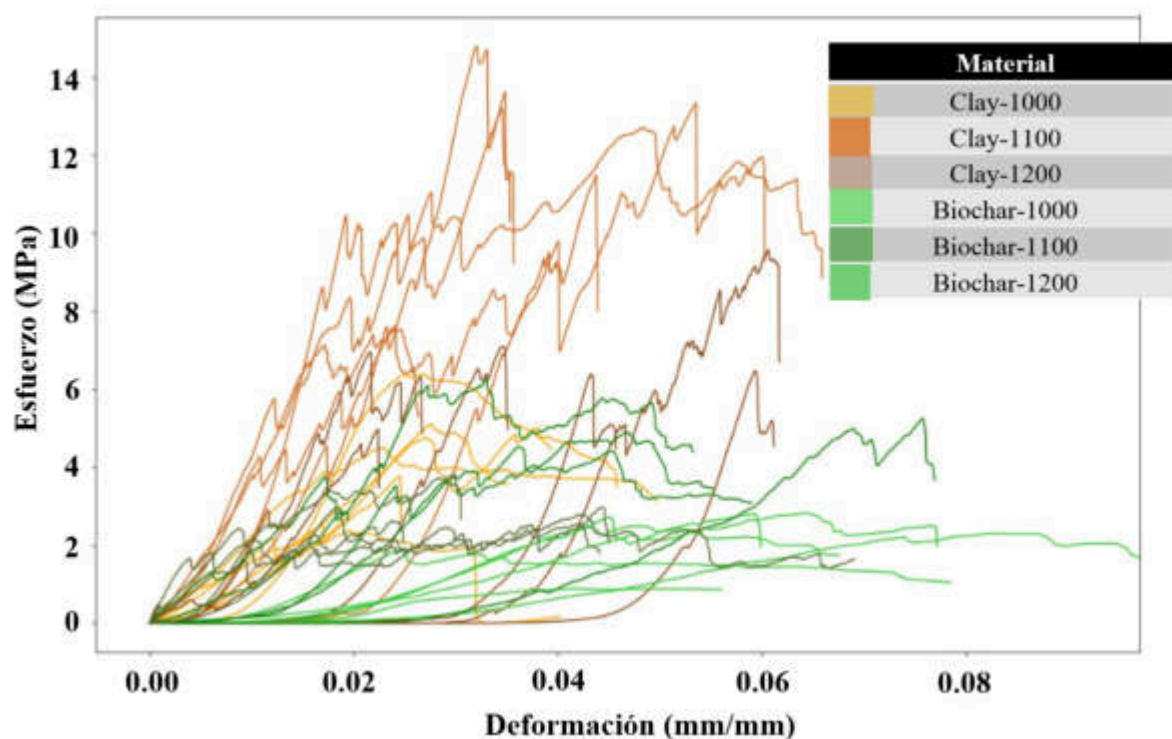


Figura 55 Curvas de esfuerzo sobre deformación para las diferentes muestras después de saturación de agua.

Tabla 14 Promedios de resistencia última por tipo de muestra para pruebas de compresión después de saturación de agua.

Muestras	Resistencia última a la compresión (MPa)
Clay-1000	4.53 ± 1.42
Clay-1100	11.92 ± 2.28
Clay-1200	6.82 ± 1.64
Biochar-1000	2.5 ± 0.453
Biochar-1100	4.88 ± 0.915
Biochar-1200	2.96 ± 0.577

A pesar de que la resistencia en seco del ladrillo de arcilla bajo la norma ASTM C62-17 no cumple con el mínimo para la categoría de meteorización severa, se considera que el material Clay-1100 es apto para uso subacuático en su forma de placas de 5 x 5 cm, que no van a estar sometidas a esfuerzos severos, como estructuras de arrecifes artificiales más grandes. Estudios como por ejemplo L. Ma *et al.* [138] afirman que el esqueleto de coral (CaCO_3) usado para colonizarse por ACC *post mortem*, tiene una baja resistencia a la compresión, 9.91 MPa, y se asocia este resultado a su alta porosidad ($48.51 \pm 5.43 \%$).

Por lo tanto, el material analizado en este trabajo ha tenido una resistencia promedio 11.92 ± 2.28 MPa (muestra Clay-1100 en la Tabla 14) que incluso después de saturación de agua es mayor a la del esqueleto de coral natural (esto es relevante porque el esqueleto remanente de coral tras su muerte es frecuentemente colonizado primero por ACC y luego por larvas de coral, por lo tanto, es un sustrato común de colonización que se puede usar de referencia).

A pesar de que una mayor resistencia estructural sería más deseable para las placas realizadas en este trabajo (usando las condiciones de procesamiento para Clay-1100) dado a que una mayor resistencia incrementa la estabilidad física del material ante la acción de las corrientes y posibles cargas hidrodinámicas, se debe tener en cuenta que excesos en la resistencia pueden estar asociados a menor tamaño de poro. Recordemos que el dicho parámetro (tamaño de poro) es determinante para el asentamiento de larvas de corales, como descrito anteriormente en la sección 4.6.1.

4.6.3 Ensayo de Absorción de Agua y Porosidad

A continuación se presentan los resultados promedio de porosidad aparente promedio y absorción de agua de las distintas fórmulas de material cerámico.

Tabla 15 Porcentaje de porosidad aparente promedio y absorción de agua de los 6 tratamientos de muestra (n=6).

Muestras	% de porosidad aparente	% de absorción de agua
Clay-1000	22.03 % $\pm$ 0.90%	25.24% $\pm$ 0.97%
Clay-1100	13.23% $\pm$ 1.01%	25.78% $\pm$ 1.50%
Clay-1200	11.02% $\pm$ 0.76%	18.39% $\pm$ 1.13%
Biochar-1000	51.89% $\pm$ 0.95%	57.21% $\pm$ 0.62%
Biochar-1100	35.97% $\pm$ 0.84%	47.16% $\pm$ 0.65%
Biochar-1200	29.99% $\pm$ 2.13%	42.77% $\pm$ 1.97%

La Figura 56 y 57 muestran la interacción del factor de contenido de biocarbón en absorción de agua y porosidad. La línea azul muestra la cerámica con biocarbón al 20% a diferentes temperaturas (tratamientos Biochar-1000, Biochar-1100, Biochar-1200) y en verde cerámica libre de biocarbón (arcilla sin biocarbón de sargazo). Con base en los resultados proporcionados en la Tabla 15 y la Figura 56 se puede deducir que el porcentaje de porosidad disminuye a medida que

aumenta la temperatura de sinterizado para ambos tratamientos (con y sin biocarbón).

La porosidad mostró un comportamiento inverso a la temperatura para ambos tipos de tratamientos (con y sin biocarbón), comportamiento que se debe a que el aumento de la temperatura favorece la densificación del material. De los resultados se deduce que a 1000°C la energía térmica no fue suficiente para lograr un estado de fusión de los bordes de grano de arcilla por lo que vemos la tendencia a altos valores de porosidad de ~52% y ~22% para dicha temperatura para las muestras con y sin biocarbón, respectivamente. Al aumentar la temperatura a 1100°C y 1200°C, se facilitó la progresiva eliminación de los poros entre las partículas y una disminución en la porosidad de ~40% y ~55%, respectivamente para 1100°C y 1200°C, sin biocarbón, y ~30% y ~43% con biocarbón a la misma temperatura.

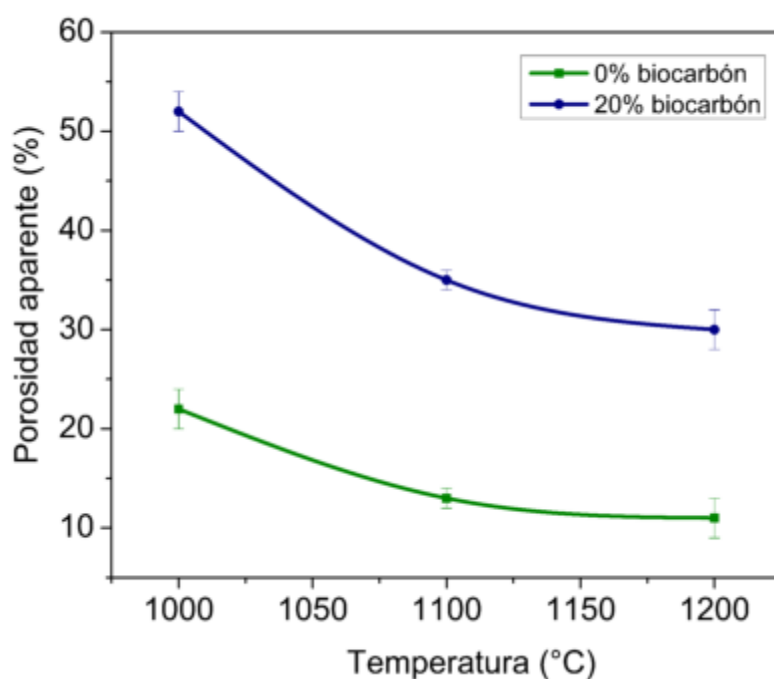


Figura 56 Contenido de biocarbón en la arcilla y su porcentaje (%) de porosidad con la temperatura de sinterizado.

Las temperaturas de sinterizado más altas dan como resultado materiales más densos y menos porosos, lo que resulta en una menor absorción de agua (Figura 57). Se observa que los porcentajes de absorción de agua para las muestras de biocarbón son más altos en comparación con las muestras de cerámica sin el biocarbón de sargazo, siguiendo una tendencia similar al porcentaje de porosidad. Con esto se puede sugerir que a mayor porosidad se produce una mayor capacidad de absorción de agua.

De igual manera, el efecto de mayor absorción de agua en muestras que presentan mayor porosidad puede explicarse por el hecho que el carbón (del biocarbón de sargazo) se pierde en un ambiente oxidativo, provocando la liberación de CO_2 durante la sinterización.

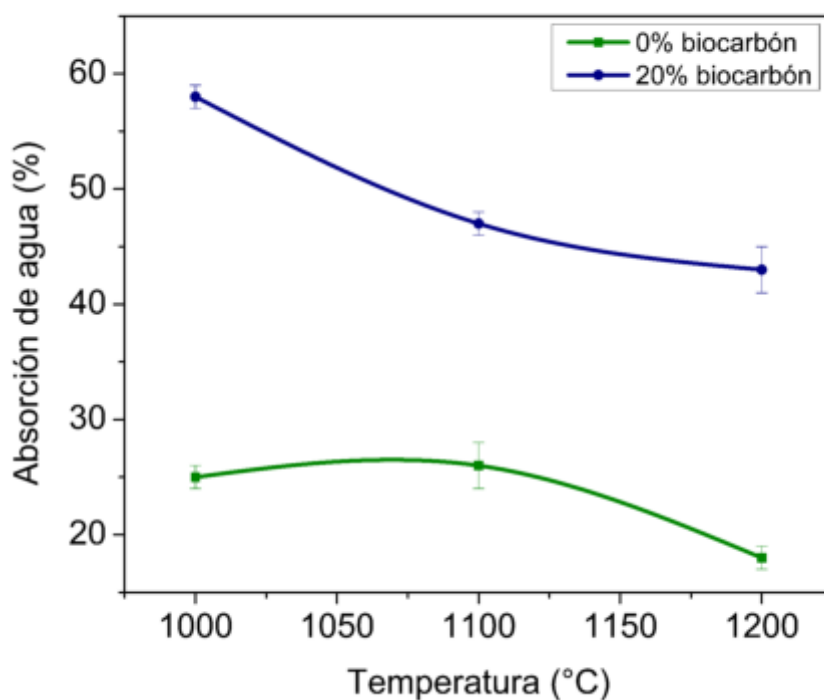


Figura 57 Contenido de biocarbón en la arcilla y su absorción de agua (%) con la temperatura de sinterizado.

Existe un ligero incremento en absorción de agua entre las temperaturas de 1000°C (~25%) y 1100°C (~26%) que luego se transforma en una importante reducción a 1200°C (~18%). Este comportamiento en las muestras sin biocarbón (curva verde en la Figura 57) puede explicarse por la reorganización microestructural asociada a la transición de fases a 1100°C (la formación de anortita como fase dominante) que pudiera generar por espacios intergranulares que incrementa a esa temperatura la accesibilidad del agua a los poros internos. No obstante, al superponerse las barras de error de ambos puntos no se puede descartar la posibilidad de que la diferencia entre ambos puntos de 1000°C y 1100°C pueda ser también debido a una variabilidad propia del experimento.

En resumen, esta sección nos aporta que las temperaturas de sinterizado más altas dan como resultado materiales más densos y menos porosos, lo que resulta en una menor absorción de agua. En términos de porosidad, las muestras aceptables serían Clay-1000, Clay-1100, Clay-1200, Biochar-1100, Biochar-1200, ya que son menores al dato de referencia de la porosidad del esqueleto de coral, $48.51 \pm 5.43\%$ [138]. Sin embargo, se prosigue a darle preferencia a la muestra Clay-1100 como fórmula final para el recubrimiento por tener una mejores propiedades mecánicas (resistencia a la compresión) y por su porosidad aparente viable, $13.23\% \pm 1.01\%$. Dicha muestra responde al balance entre las propiedades de porosidad y resistencia mecánica, ya que esta combinación hace al cerámico pertinente para una potencial colonización marina por larvas de coral, mientras conserva propiedades estructurales aptas para las condiciones hidrodinámicas marinas.

4.6.4 Análisis de Contracción y Pérdida de Masa

Para realizar impresión 3D con cerámica, es relevante conocer el encogimiento que presenta la pieza impresa después del sinterizado, para tener dicha consideración en el diseño del modelo. En la Tabla 16 se puede observar el promedio de pérdida y encogimiento de peso del material en cuerpo verde (seco pero sin tratamiento térmico) y sinterizado.

Tabla 16 Promedio de pérdida y encogimiento de peso (n=5).

Muestras	% de pérdida de peso (cuerpo verde)	% de pérdida de peso (sinterizado)	% de encogimiento (secado)	% de encogimiento (sinterizado)
Clay-1000	27.39% $\pm$ 2.33%	33.27% $\pm$ 0.92%	7.78% $\pm$ 1.57%	9.07% $\pm$ 1.82%
Clay-1100	28.90% $\pm$ 1.76	33.56% $\pm$ 0.10%	7.98% $\pm$ 1.42%	13.14% $\pm$ 0.47%
Clay-1200	29.29% $\pm$ 0.77%	32.68% $\pm$ 0.22%	8.91% $\pm$ 1.06%	8.12% $\pm$ 2.05%
Biochar-1000	35.13% $\pm$ 0.52%	45.25% $\pm$ 0.41%	5.03% $\pm$ 0.60%	7.38% $\pm$ 0.96%
Biochar-1100	33.58% $\pm$ 1.46%	43.69% $\pm$ 1.08%	4.97% $\pm$ 0.15%	12.94% $\pm$ 0.34%
Biochar-1200	35.47% $\pm$ 1.27%	44.15% $\pm$ 1.52%	6.23% $\pm$ 0.06%	13.60% $\pm$ 0.78%

Es posible observar en la Figura 58 que las muestras con el biocarbón pierden consistentemente más peso que las muestras de arcilla sin dicho aditivo, en todas las temperaturas ensayadas. De esta manera se confirma también la volatilización del carbón durante el proceso de sinterización, lo cual es un efecto indeseado.

Aunque inicialmente la adición de biocarbón de sargazo se planteó como una alternativa para incrementar la sustentabilidad del proceso y darle un tercer uso

adicional al sargazo en este trabajo (siendo el primero como extracto, para el efecto antiincrustante y la ceniza de sargazo como precursor de micro y nanopartículas), la volatilización del carbón del biocarbón de sargazo durante la sinterización del cerámico y la consecuente producción de CO_2 resultaron en la desestimación de dicha alternativa, al comprometer el balance ambiental del proceso, pues pone el riesgo que el producto final tenga una huella de carbón más elevada (habría que realizar un análisis de ciclo de vida formal como trabajo a futuro para poder corroborar cuantitativamente dicho impacto en el potencial de calentamiento global).

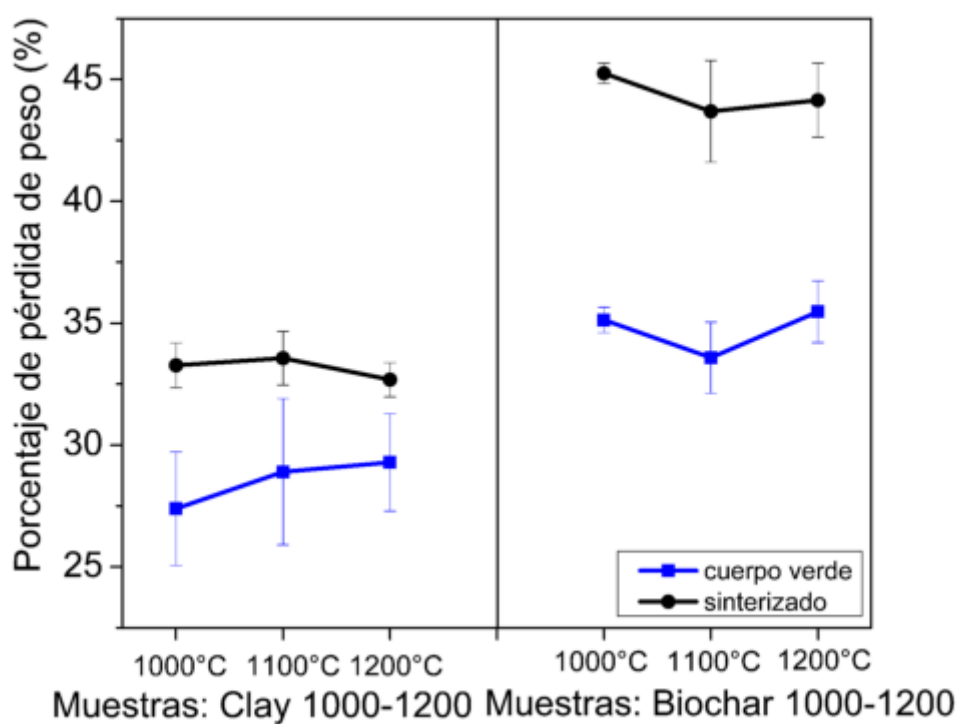


Figura 58 Porcentaje (%) de pérdida de peso del cerámico cuerpo verde y sinterizado.

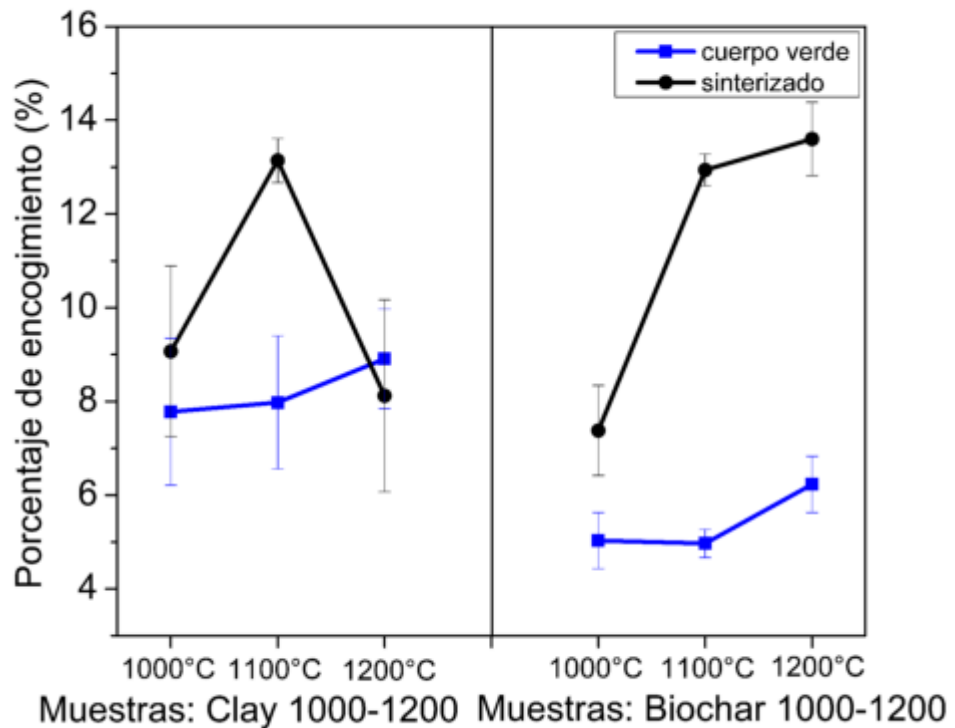


Figura 59 Porcentaje (%) de pérdida de encogimiento del cerámico cuerpo verde y sinterizado.

En la Figura 59 podemos observar el encogimiento de las muestras y notar que el cerámico con biocarbón se encoge menos que el cerámico sin dicho aditivo de sargazo durante el secado, posiblemente por que el carbón absorbe parte del agua de la mezcla y actúa como un espaciador que contrarresta la contracción.

Se observa que el encogimiento durante la sinterización tiene un patrón distinto al encogimiento del cuerpo verde; el cerámico de arcilla sin biocarbón evidencia un pico a 1100°C (con $13.14\% \pm 0.47\%$) y posteriormente una caída a 1200°C. En el caso del cerámico con biocarbón, a 1200°C aumenta aún más el encogimiento que durante las temperaturas menores. Esto coincide exactamente con el comportamiento distinto de la absorción de agua para la arcilla a 1100°C, por lo cual, podemos sugerir que la transformación de las fases a los 1100°C conlleva una

reorganización microestructural notoria. La reducción del encogimiento en Clay-1200 se puede deber a la aparición de fases vítreas por encima de los 1100°C, que limitan la contracción adicional durante el sinterizado.

Contrario a la muestra Clay-1200, la muestra Biochar-1200 tuvo más porosidad y posiblemente menos proporción de fase vítrea generada (al contener 20% menos arcilla), por ende el aumento del encogimiento en Biochar-1200 (contrario a Clay-1200) posiblemente se atribuye al efecto prevaleciente del colapso de los macroporos generados por la combustión del carbón, resultando en una contracción volumétrica más notoria.

Basado en el resultado de las pruebas, se seleccionó el cerámico Clay-1100°C para realizar el recubrimiento de ACC sintético desarrollado (y mostrado en la sección 3.5) para posteriormente ser ensayado con corales *Diploria labyrinthiformis*. Los resultados con larvas de coral se describen en la siguiente sección 4.7.

4.7 Ensayo de Placas con Corales *Diploria labyrinthiformis in vitro*

4.7.1 Asentamiento Larval

Se ensayaron dos recubrimientos diferentes como se describió en la sección 3.12 en incubadoras distintas.

La variación 1, recubrimiento V1, en la incubadora 1 consistió en la siguiente configuración:

- **Capa 1:** Adhesivo comercial SeaTak™, diisocianato ($C_{15}H_{10}N_2O_2$) y dopamina metacrilamida ($C_{12}H_{15}NO_4$) (imitando adhesivo de mejillón) diluido en cloroformo (1:5), con 1 $\mu\text{g/mL}$ de extracto de sargazo.
- **Capa 2:** Solución de micro y nanopartículas a partir de sargazo.

La variación 2, recubrimiento V2, en la incubadora 2 consistió en la siguiente configuración:

- **Capa 1:** Adhesivo comercial SeaTak™, diisocianato ($C_{15}H_{10}N_2O_2$) y dopamina metacrilamida ($C_{12}H_{15}NO_4$) (imitando adhesivo de mejillón), diluido en cloroformo (1:5), con 1 $\mu\text{g/mL}$ de extracto de sargazo.
- **Capa 2:** Solución de micro y nanopartículas a partir de sargazo.
- **Capa 3:** 1 $\mu\text{g/mL}$ de extracto de sargazo diluido en metanol.

En resumen, el recubrimiento V2 es idéntico al V1 con la excepción que tiene una capa de extracto de sargazo en su superficie.

Transcurridos los 8 días de la colecta y fertilización de gametos de la especie de coral *D. labyrinthiformis*, se realizó un conteo de reclutas de coral por sustrato cerámico (Figura 60).

Se obtuvieron los siguientes resultados:

Para la incubadora 1, las muestras de control tuvieron un promedio de 165.2 ± 69.1 larvas de coral y 453.4 ± 221.8 larvas para las muestras de recubrimiento V1 (con una superficie expuesta de calcita-aragonita-NP, extracto de *Sargassum* spp. dentro del polímero base). Esto se traduce a 1.57 ± 0.66 reclutas cm^{-2} y 4.32 ± 2.12 reclutas cm^{-2} , respectivamente.

En la segunda incubadora, se observaron 259.2 ± 119.4 larvas de coral en promedio en las muestras de control, mientras que 486.0 ± 162.9 en el recubrimiento V2 (capa superior de extracto de *Sargassum* spp. sobre calcita-aragonita-NP), que son 2.47 ± 1.14 reclutas cm^{-2} y 4.63 ± 1.56 reclutas cm^{-2} , respectivamente. Estos resultados se resumen en la Tabla 17.

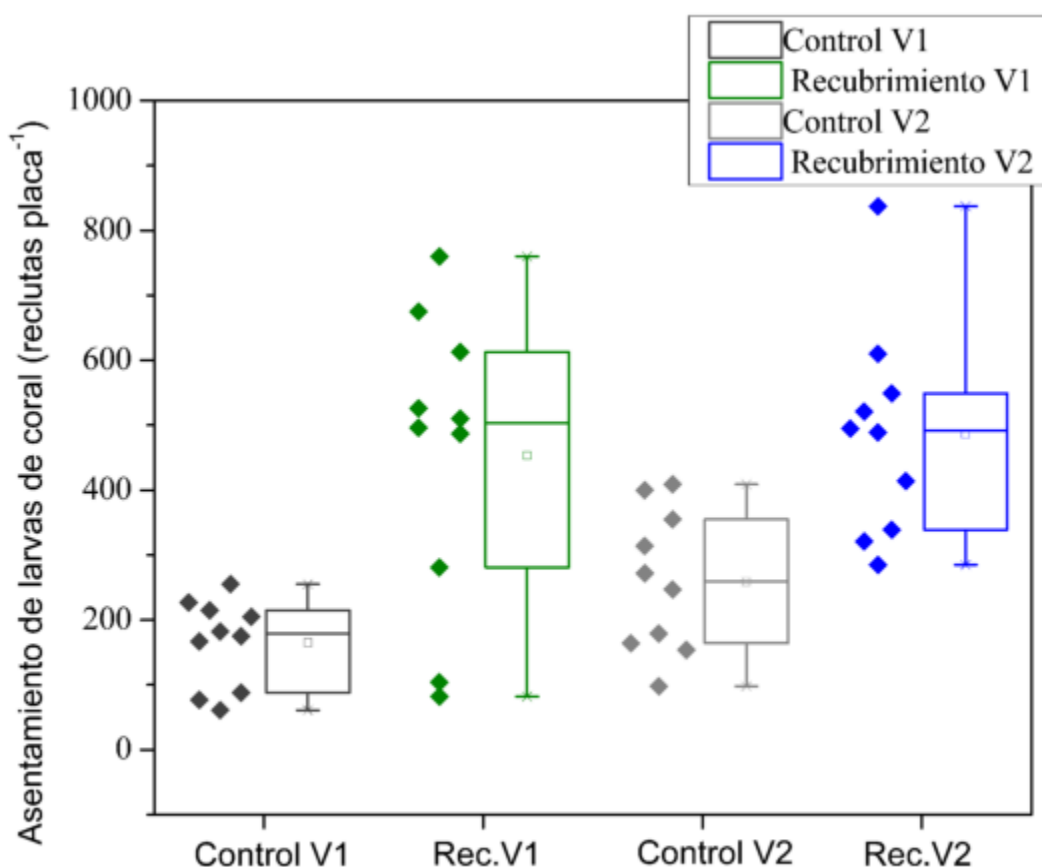


Figura 60 Asentamiento de coral por sustrato (todas las caras), por tratamiento, 8 días después de la fertilización *in vitro* del coral (n=10).

Las placas recubiertas V1 y V2 muestran un asentamiento de coral consistentemente mayor, con una diferencia significativa respecto a las muestras de control (confirmado para ambas incubadoras con una prueba t, con un valor $p = 0.0022$ para la incubadora 1 y $p = 0.0025$ para la incubadora 2, ambos $p < 0.05$). Los

juveniles de coral asentados mostraron preferencia por asentarse en los canales ranurados de la cara frontal y en las juntas entre capas (cara posterior), ver Figura 61.

Tabla 17 Asentamiento larval en placas con diferentes tratamientos.

Muestra	Larvas de coral / sustrato (promedio)	Larvas de coral cm⁻² (promedio)
Control V1	165.2 ± 69.1	1.57 ± 0.66
Recubrimiento V1	453.4 ± 221.8	4.32 ± 2.12
Control V2	259.2 ± 119.4	2.47 ± 1.14
Recubrimiento V2	486.0 ± 162.9	4.63 ± 1.56

Esto nos aporta que hubo alrededor del doble más asentamiento en el recubrimiento V1 y V2 en comparación con sus respectivos controles (cerámico de arcilla sin recubrimiento), lo cual indica que ambos recubrimientos cumplieron con el objetivo de incrementar el asentamiento larval y, además, la preferencia a asentarse por parte de la larva de coral es una prueba indirecta que el recubrimiento no es tóxico para corales y que existe un mecanismo de señalización que indica a la larva de coral que los recubrimientos de ACC biomiméticos son más deseables para su asentamiento.

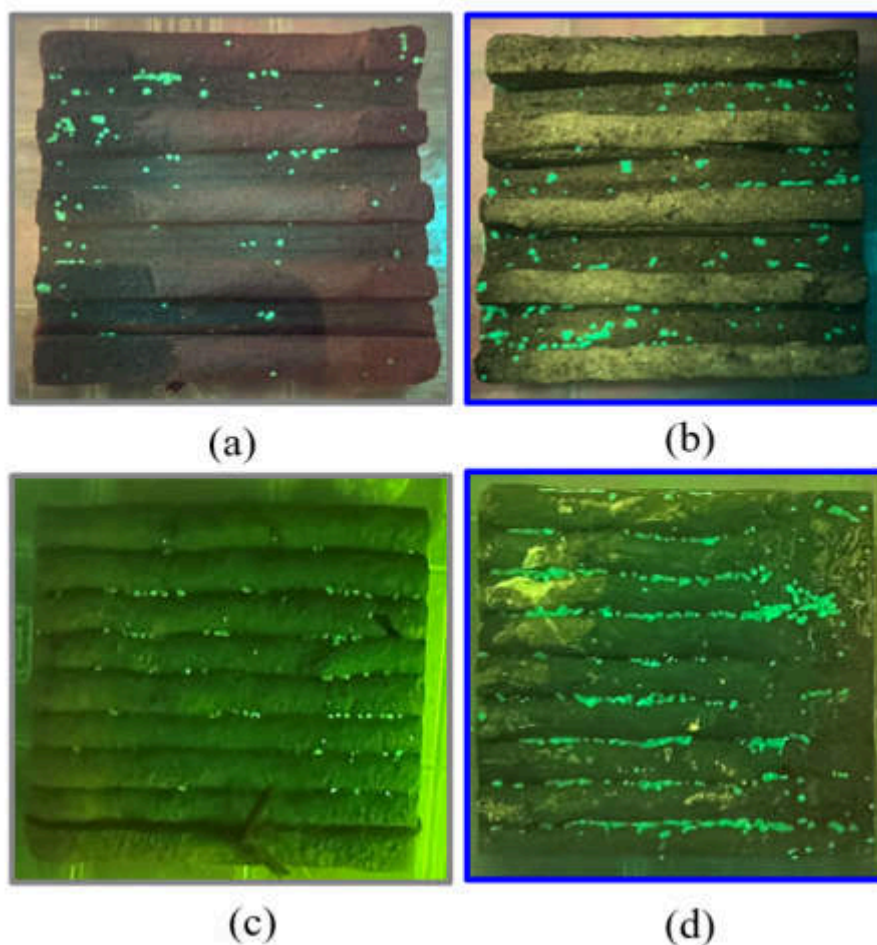


Figura 61 Placas 8 días después de la fertilización *in vitro* (a) cara frontal Control V2 (b) cara frontal recubrimiento V2 (c) cara posterior Control V2 (d) cara posterior recubrimiento V2.

4.7.2 Cuantificación de la Bioincrustación *ex situ*

Después del conteo del asentamiento larval a los 8 días post-fertilización, se trasladaron las placas de las incubadoras a los acuarios (metodología en la sección 3.13) y se midió, de manera cuantitativa, el nivel de bioincrustación en base al color de los píxeles (Figura 62) usando el software Fiji y el plugin Trainable Weka Segmentation. Las condiciones de los acuarios fueron las siguientes: el promedio de

la temperatura del agua del acuario registrada en los 70 días fue de $26.8^{\circ}\text{C} \pm 0.98^{\circ}\text{C}$, salinidad de 37.7 ± 2.0 ppt. La irradiación de luz solar a nivel de los corales fue de $267.6 \pm 14.0 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ y $3,044.5 \pm 2.5 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ fuera del acuario.

En la Tabla 18 se puede observar que el recubrimiento V1 (con una superficie expuesta de calcita-aragonita) tuvo el nivel más alto de acumulación de bioincrustaciones después de 70 días de exposición, $98.47 \% \pm 0.20 \%$ (más alto que el control), mientras que el recubrimiento V2 (calcita-aragonita + una capa superficial de extracto de *Sargassum* spp.) tuvo la menor cantidad de crecimiento algal, con únicamente $22.74 \% \pm 4.14\%$. Esto demuestra que el recubrimiento de extracto de algas usado en V2 proporciona cierto nivel de protección antiincrustante, reduciendo en 72.8% aproximadamente la bioincrustación de algas en contraste con su respectivo control, en un periodo de tiempo de 70 días (Figura 63).

A pesar de ambos tratamientos ser viables para tener un alto reclutamiento de larvas de coral, al recubrimiento V2 se le puede atribuir un efecto de actividad antiincrustante, mientras que al recubrimiento V1, a pesar de mostrar una preferencia para el asentamiento de larvas de coral satisfactoria, tuvo un efecto indiscriminado sobre las algas incrustantes. Por lo tanto, el recubrimiento que aumenta el asentamiento de larva de coral y, simultáneamente, ayuda a combatir la bioincrustación indeseada resulta ser el recubrimiento V2, en donde el asentamiento se puede atribuir a la mineralogía similar de las ACC, mientras que la baja cobertura algal se debe a los metabolitos del extracto de sargazo sobre bacterias formadoras de biopelícula.

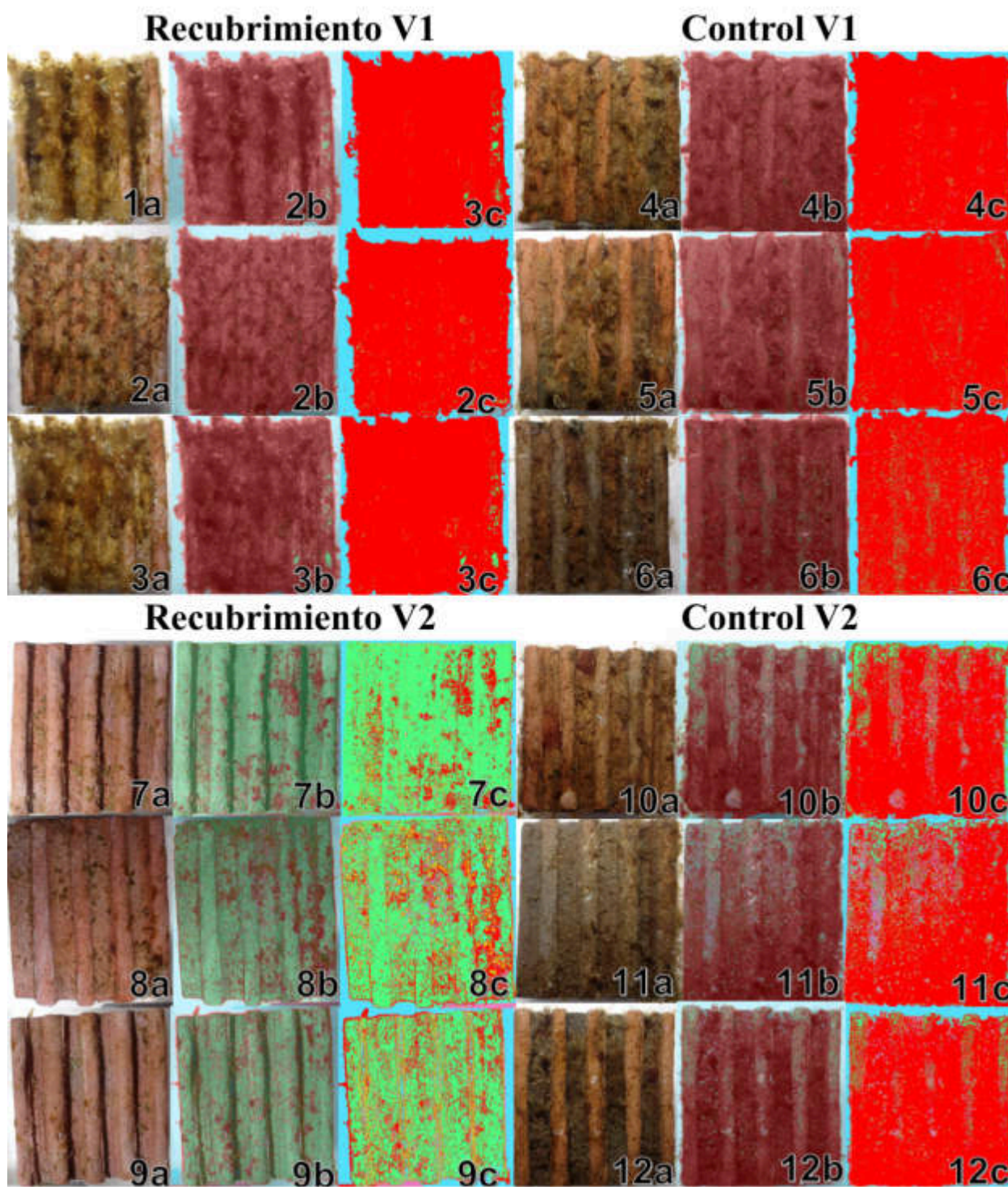


Figura 62 Placas V1 (1a, 2a y 3a), controles sin recubrimiento (4a, 5a y 6a), placas con recubrimiento V2 (7a, 8a y 9a) y controles sin recubrimiento (10a, 11a y 12a) después de 70 días en los acuarios, y su respectiva segmentación de análisis por color (imágenes b y c): sustrato libre (verde), incrustaciones de algas (rojo), incrustaciones de gusanos serpúlidos (violeta), reclutas de coral (amarillo), fondo (azul y rosa).

Tabla 18 Colonización promedio por clase en placas, utilizando la herramienta Trainable Weka Segmentation.

Tratamiento	Bioincrustación por algas	Bioincrustación por serpúlidos	Sustrato sin recubrir	Reclutas de coral
Control V1	94.92% $\pm$ 2.38%	0.71% $\pm$ 0.20%	3.34% $\pm$ 1.79%	1.04% $\pm$ 0.41%*
Recubrimiento V1	98.47% $\pm$ 0.20%	0.12% $\pm$ 0.02%	1.03% $\pm$ 0.16%	0.38% $\pm$ 0.18%*
Control V2	83.53% $\pm$ 3.12%	4.57% $\pm$ 0.92%	9.29% $\pm$ 2.18%	2.58% $\pm$ 0.25%*
Recubrimiento V2	22.74% $\pm$ 4.14%	3.52% $\pm$ 1.38%	67.33% $\pm$ 6.87%	6.41% $\pm$ 1.51%

***Nota:** Es importante señalar que la tasa de colonización de coral en estas placas podría haber sido subestimada en los marcados (*), ya que el crecimiento excesivo de algas podría haber encubierto a algunos corales juveniles durante la cuantificación de la intensidad de la bioincrustación por fotografía.

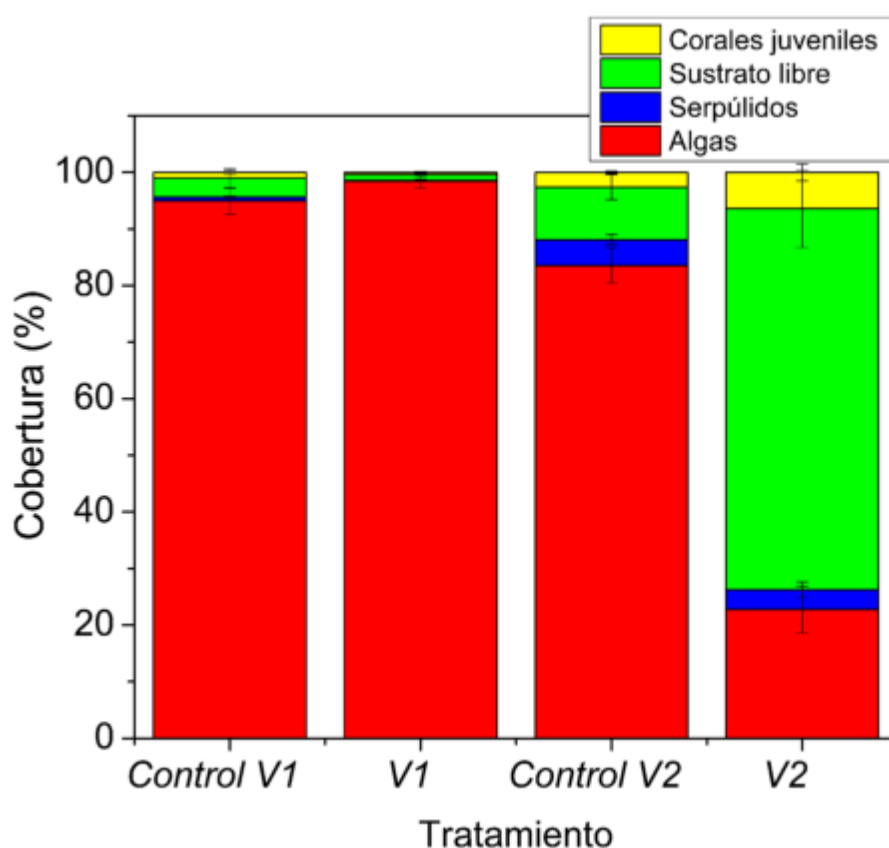


Figura 63 Colonización promedio en placas con recubrimientos V1, V2 y sus respectivos controles.

Tabla 19 Comparación de agentes antiincrustantes probados en corales con la literatura.

Referencia	Agente	Reducción algal	Tiempo
Tebben <i>et al.</i> [95]	Parafina/epoxi (CoralCare)	35–41%	39 días
Roepke <i>et al.</i> [7]	NP CeO ₂	~2%	37 días
Roepke <i>et al.</i> [7]	DCOIT	63%	7 días
Karimi <i>et al.</i> [96]	PDMS SYLGARD 184	70%	12 semanas
Este estudio (V2)	CCA biomimética	72.8%	10 semanas
Montalvo <i>et al.</i> [59]	PDMS Hempasil	93%	8 semanas

En la Tabla 19 se puede observar el resultado de este trabajo comparado con trabajos de bioincrustantes probados con corales de la literatura y la reducción algal contra su respectivo control. Los hallazgos del estudio actual indican que el recubrimiento de ACC biomimética (recubrimiento V2) logró una reducción algal de un 72.8% en 10 semanas, lo que la hace una alternativa competitiva en relación con los agentes que se encuentran en la literatura. Nuestro trabajo llegó a una reducción algal superior de formulaciones comerciales a base de parafina/epoxi (CoralCare), que reportaron reducciones algales de 35- 41% en 39 días (estudio realizado por Tebben *et al.*). Así mismo, se tuvo un resultado sobresaliente en comparación con NP de CeO₂, cuya reducción en 37 días fue de aproximadamente 2% (Roepke *et al.*). El recubrimiento V2 también resultó superior a la DCOIT, cuyo valor de reducción fue de 63%, pero en un período de tiempo menor (dicho estudio manejó únicamente

7 días de ensayo). Si se compara el presente trabajo con el recubrimiento PDMS SYLGARD 184 (reportado por Karimi *et al.*) se observa un desempeño ligeramente superior, ya que dicho trabajo tiene una reducción de un 70 % en 12 semanas, manteniendo en común casi el mismo tiempo de prueba. De los recubrimientos comparados en la Tabla 19, el recubrimiento con mejores resultados es el PDMS Hempasil de Montalvo *et al.*, con una reducción algal de 93% en 8 semanas. Por lo tanto, el resultado de respuesta a la bioincrustación de V2 se encuentra entre el PDMS SYLGARD 184 y el PDMS Hempasil.

A pesar de que ambos materiales comerciales con los que podemos comparar el V2 son PDMS, su diferencia radica en que SYLGARD 184 (fabricado por Dow) pero no fue desarrollado como pintura antiincrustante a nivel comercial, sino más bien, como elastómero. Por otra parte, el Hempasil si fue desarrollado como recubrimiento antiincrustante comercial (Hempel), con aditivos de hidrogel, lo que dificulta más su adhesión que la silicona simple.

Por otra parte, es relevante considerar que los PDMS, que últimamente se emplean recubrimientos antiincrustantes destinados a aplicaciones marinas, están considerados como Sustancias Extremadamente Preocupantes (SVHC, por sus siglas en inglés) por su persistencia, potencial de bioacumulación en organismos acuáticos y porque suponen un riesgo para los ecosistemas marinos. Por este motivo, el recubrimiento biomimético V2 que se ha desarrollado en este estudio representa una alternativa con una base biológica y menos tóxica, lo que le otorga un valor añadido desde el punto de vista ambiental.

A pesar de esto, es interesante indagar en cómo los agentes PDMS logran su efecto. Esto se pudiera relacionar con su baja energía superficial (alrededor de 22

mJ/m²) debido a que reducen la unión de hidrógeno e interacciones polares, incluyendo proteínas encargadas del inicio de la formación de biopelícula en organismos incrustantes [90]. Se ha reportado en la literatura que la calcita tiene una energía superficial de 120 mJ/m², la aragonita 150 mJ/m² y la calcita con Mg²⁺ puede llegar a tener 500 mJ/m² [139]. Por lo tanto, energías superficiales tan altas favorecen tanto el asentamiento de larvas de coral, como lo hace también susceptible a la colonización de organismos incrustantes, efecto observable en V1.

En cambio, el recubrimiento V2 (aparte de tener calcita-aragonita) tiene el activo antiincrustante en forma de extracto de sargazo, que debido posiblemente a los ácidos grasos saturados y monoinsaturados de cadena media (C14 -C18) que contienen, discutido previamente en la sección 4.4, actúan por diferentes mecanismos sobre los organismos incrustantes reduciendo su adhesión, posiblemente comprometiendo la integridad de la membrana celular de las bacterias formadoras de biopelículas, alterando su permeabilidad y funcionalidad de secreción de sustancias poliméricas extracelulares, sin comprometer las señales de asentamiento de las larvas (se demostró anteriormente que el recubrimiento V2 alcanzó su mayor valor en dicho tratamiento 4.63 ± 1.56 reclutas cm⁻² contra 2.47 ± 1.14 reclutas cm⁻² del tratamiento control).

Por lo tanto, se propone que el efecto antiincrustante pudiera ser también debido a la energía superficial, pues a pesar de la calcita y aragonita tener una alta energía libre superficial (como mencionado anteriormente), la capa externa de sargazo en V2 (que contiene mayormente ácido palmítico) tendría alrededor de 28 mJ/m² [140], según los valores del ácido palmítico de la literatura; siendo semejante a la de los polímeros PDMS.

Al final de la duración del ensayo, 35 semanas (224 días), el porcentaje de cobertura con bioincrustación algal había alcanzado prácticamente el 100% en todas las placas, incluidos los que habían sufrido la aplicación del recubrimiento V2, lo que obligó a realizar una limpieza manual de las placas mediante cepillado de los mismos para evitar la mortalidad de los corales reclutados. En este sentido, es posible que si bien el extracto de *Sargassum* spp. contiene componentes activos con evidencia de una actividad considerable antiincrustante, su efecto se minimiza a lo largo del tiempo, posiblemente a causa de la lixiviación que sufre el extracto con el paso del tiempo y/o debido a la degradación debido a las condiciones de inmersión o luz UV prolongada.

Finalmente, se considera pertinente discutir el mecanismo de preferencia del asentamiento de los corales observado en la sección 4.7.1 para los recubrimientos V1 y V2 evaluados. A pesar de tener claro que el extracto de sargazo (en el recubrimiento V2) se correlaciona con el mecanismo de disminución de bioincrustación algal indeseada, los ácidos grasos del sargazo (también presentes en la ACC, como el ácido palmítico, el ácido esteárico y otros ácidos grasos de cadena larga) no pueden ser el factor clave que indujo el asentamiento larval, dado a que V1 no contiene el extracto, ni tiene presencia de ningún ácido graso asociado a dicha capa. Por lo que cabría mencionar que la baja energía superficial que facilitan los ácidos grasos no fue el mecanismo causante de la inducción de la larva de coral al material.

Por otra parte, la dimensión de partícula del recubrimiento tampoco se considera determinante. Las ACC tienen cristales de tamaño de entre 20-200 nm

[84], sin embargo, en este trabajo obtuvimos partículas de aragonita $\sim 6\ \mu\text{m}$, calcita alta en magnesio de $\sim 1\ \mu\text{m}$ y nanopartículas de calcita $< 13\ \text{nm}$, lo cual es distinto al tamaño de partícula que la ACC convencionalmente presenta en la naturaleza. Sin embargo, se cree que el tamaño bimodal (tanto de NP como micropartículas) del sistema pudiera aportar ventajas: por ejemplo, las NP al tener una relación superficie/volumen alto, pudiera mejorar la señalización química, mientras que las micropartículas calcita-aragonita pueden rugosidad, lo que podría favorecer la adhesión mecánica y mejorar el anclaje físico de las larvas de coral durante el asentamiento.

Con base en lo anterior, se propone que el mecanismo de preferencia de asentamiento está mediado por una señal mineralógica del sustrato, o en otras palabras, la larva de coral identifica la identidad cristalográfica de los polimorfos de carbonato de calcio (calcita y aragonita) y/o la razón de componentes de dichas fases, como calcio y magnesio. Las larvas de los corales, como animales cnidarios, presentan la existencia de células sensoriales ciliadas que de manera activa exploran la superficie del sustrato antes de asentarse, las cuales responderían a cambios en la concentración de iones Ca^{2+} y Mg^{2+} en conjunto con el medio interfacial. La detección de estas señales iónicas podría estar mediada por dos mecanismos receptores, aquellos de unión a los canales de potencial de receptor transitorio (Transient Receptor Potential o TRP, por sus siglas en inglés) y/o aquellos receptores sensores de calcio extracelular (CaSR, Calcium Sensing Receptor). Está reportado en la literatura que los canales TRP en los corales, sobre todo TRPV5 y TRPV6, sensan y transportan Ca^{2+} para su calcificación y tienen la capacidad de reconocer no sólo

las concentraciones absolutas de Ca^{2+} y Mg^{2+} , sino las razones molares específicas entre ambos [141].

Según este mecanismo propuesto, la disolución parcial o la superficie iónica de la capa superficial del recubrimiento permitiría activar dichos canales, de tal forma que se desencadenaría la despolarización de la célula sensorial del cilio y se generaría una señal eléctrica intracelular que el sistema nervioso difuso del cnidario interpretaría como un estímulo positivo para el asentamiento larval (Figura 64).

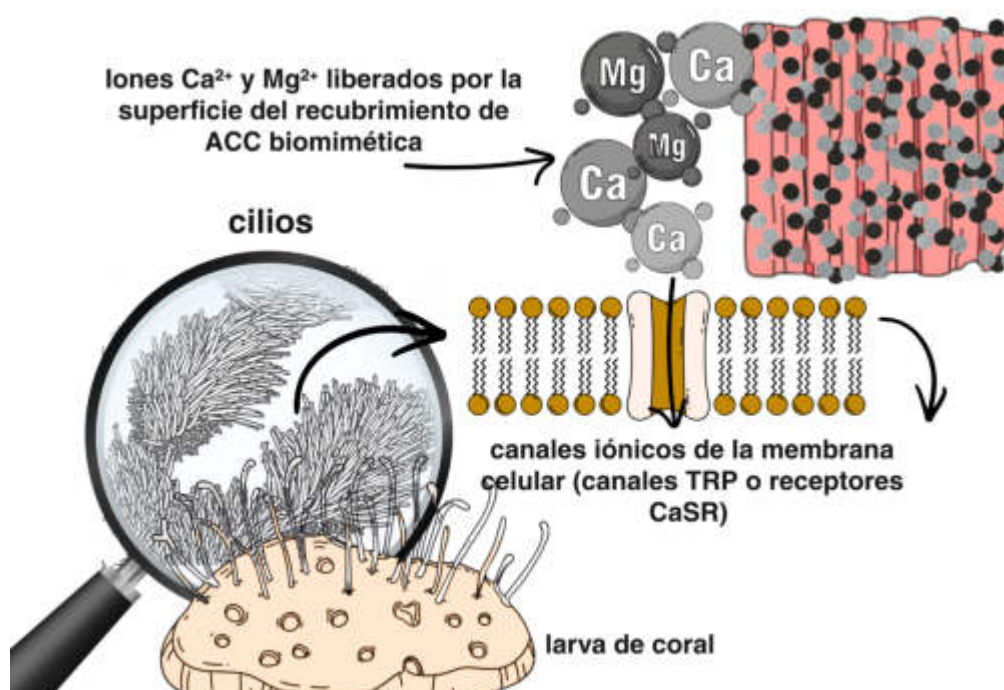


Figura 64 Mecanismo propuesto de detección de señal mineralógicas de calcita-aragonita a través de cilios por larvas de coral durante el asentamiento.

Cabe señalar que el mecanismo promotor de asentamiento de larvas de coral sobre ACC propuesto en este trabajo, relacionado a la composición mineralógica, no ha sido reportado en la literatura hasta el momento. La explicación de la literatura está vinculada hacia la existencia de una biopelícula bacteriana que cubre la

superficie de la ACC, la cual serviría de señal inductora del asentamiento. En este modelo, las bacterias del género *Pseudomonas* y otros microorganismos asociados producen metabolitos bioactivos, destacando el ácido γ -aminobutírico (GABA), a los que la larva de coral tendría sensibilidad y desencadenaría una respuesta de asentamiento y metamorfosis [142][143][144]. De esta forma, la señal de asentamiento vendría dada por un reconocimiento de tipo químico-bacteriano y no de tipo mineralógico. Por lo tanto, la práctica usual de restauración de corales *in vitro* es usar sustratos acondicionados en agua de mar por alrededor de tres meses, para que la superficie de asentamiento del sustrato arrecifal contenga dicha película bacteriana y se de un mejor asentamiento [145]. Sin embargo, este trabajo cuestiona y desafía que la señal de asentamiento se deba a metabolitos provenientes de una biopelícula bacteriana.

Como mencionado anteriormente, en el presente estudio se observó un reclutamiento de *D. labyrinthiformis* exitoso tanto al recubrimiento V1 y V2, ambos sustratos sin pre-acondicionamiento previo en el mar, lo que significa que no contenían la biopelícula bacteriana que buscan otros trabajos en la literatura para inducir el asentamiento. Esto abre la puerta a la existencia de nuevos mecanismos de reconocimiento entre los que la composición iónica o mineralógica del sustrato podría jugar un papel importante. Por lo tanto, nuestro trabajo, al lograr una composición mineralógica controlada, desafía la exclusividad del dogma bacteriano relacionado al asentamiento para inducir el reclutamiento de coral y abre una línea de investigación hasta ahora no reconocida formalmente en la literatura: el relevante papel de la composición mineralógica o fisicoquímica como factor inductor del

asentamiento de larvas de coral, como un campo de estudio emergente y prometedor con importante impacto positivo para la rehabilitación de corales.

Beneficios adicionales que tendría el recubrimiento desarrollado (V2) es la posibilidad de prescindir del acondicionamiento de los sustratos artificiales en el mar durante meses, fase en la que típicamente se favorece que la biopelícula bacteriana se sitúe en las superficies de los sustratos artificiales para promover el asentamiento larvario (que en este trabajo dicha película bacteriana se considera un efecto desfavorable pues promueve el desarrollo de bioincrustación algal que afecta los corales juveniles). La eliminación de esta fase supondría ser un beneficio operativo en proyectos de restauración de corales al reducir los tiempos y los costes de la preparación de los sustratos. Asimismo, al eliminar el tiempo de exposición en el medio marino, se disminuiría la colonización de especies no objetivo que podrían contaminar los sistemas experimentales con patógenos, enfermedades y/o depredadores de larvas de coral, contribuyendo así a mejorar el control y la reproducibilidad de los ensayos. Sumando los factores que pudieran afectar un experimento de restauración de corales *ex situ*, se espera que este recubrimiento pueda promover una mayor supervivencia temprana: menos competencia por el espacio y mayores tasas de supervivencia. Además, dicho recubrimiento se podría aplicar a distintos materiales (cerámicos, hormigón, estructuras impresas en 3D, etc.) lo que expande las posibilidades de diseño en el ámbito de los sustratos de restauración. En todo caso, más allá de las ventajas técnicas mencionadas, la aportación de este trabajo abre panoramas hacia sustratos de restauración de corales más versátiles y escalables, en un momento en el cual la recuperación de arrecifes resulta imprescindible para la salud de los océanos.

CAPÍTULO 5

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Los resultados obtenidos en esta investigación permiten dar el cumplimiento satisfactorio a la hipótesis planteada y cumplir con los ocho objetivos específicos satisfactoriamente:

1. Se recolectaron y procesaron exitosamente las especies de *S. natans* y *S. acinarium*, obteniendo extractos crudos para su evaluación biológica y química.
2. Los extractos de *Sargassum* spp., sus ácidos grasos y las macroalgas rojas identificadas como inclusiones en la muestra de sargazo se clasificaron como no tóxicos, confirmando el perfil de seguridad ambiental de los compuestos propuestos en *Artemia franciscana*.
3. Los extractos de *Sargassum* spp. demostraron actividad antiincrustante selectiva contra bacterias marinas formadoras de biopelícula, destacando *B. subtilis* con casi un 100% de inhibición, seguido de *A. stellipolaris*, *A. alba*, a niveles tan bajos como 1 µg/mL de concentración de extracto, con un patrón de dosis-respuesta inversa.

4. Se identificaron en el extracto de *Sargassum* spp. ácidos grasos C14-C24, con presencia mayoritaria de ácido palmítico, oleico, y el esteárico, con un perfil similar a ACC, sustentando el objetivo biomimético.

5. Las pruebas mecánicas para el sustrato cerámico base validan al material para su uso como plataforma funcional para reclutamiento de coral; tanto a nivel de la porosidad, tamaño de poro y resistencia a la compresión. El material usado como base es más resistente que el esqueleto de coral incluso en condiciones de saturación de agua.

6. Se sintetizaron exitosamente nanopartículas de CaCO_3 y micropartículas de calcita y aragonita en un único proceso, confirmando el uso del sargazo como materia prima para obtención de nano y micro partículas de carbonato de calcio.

7. Los análisis de XRD confirmaron una composición Mg-calcita y aragonita, replicando la composición mineralógica de ACC naturales *Neogoniolithon* sp. con fidelidad.

8. Las placas cerámicas impresas en 3D con recubrimientos biomimético V2 de calcita-aragonita derivadas de sargazo de forma simultánea inhiben la bioincrustación algal (72.8% en 70 días) mientras favorecen el reclutamiento larval de coral, validando al sargazo como materia prima en la rehabilitación de arrecifes. Las muestras recubiertas con V1 mostraron preferencia por el asentamiento de larvas de coral, pero con un efecto indiscriminado sobre las algas incrustantes.

Con base a los resultados obtenidos, se recomienda para trabajos futuros incrementar la concentración de extracto de sargazo (por ejemplo 10-20 µg/mL en lugar de 1 µg/mL), sin llegar al efecto de hormesis, para tanto ampliar el impacto en las especies bacterianas, como para compensar la posible pérdida de extracto en las condiciones hidrodinámicas marinas, potencial lixiviación y potencialmente prolongar la actividad antiincrustante.

Así mismo, se recomienda evaluar la estabilidad del extracto, particularmente bajo luz UV y estudiar los componentes bioactivos que pudieran reducir la eficacia antiincrustante en el tiempo, así como estudiar la adición de agentes fotoprotectores al extracto, como aditivos TiO₂. Nuevas investigaciones deberán tener en cuenta las estrategias de liberación controlada de activos antiincrustantes (como el extracto de *Sargassum* spp.) de forma que se retarde la pérdida del efecto, con soluciones como por ejemplo la microencapsulación (en hidrogel o quitosano) para una liberación controlada y sostenida en el tiempo.

Por último, se recomienda funcionalizar la superficie cerámica para tener enlaces covalentes entre el material base y los cristales calcita-aragonita-NP y/o realizar una deposición hidrotérmica directamente sobre la superficie. Así mismo, funcionalizar también las partículas de calcita-aragonita y las NP del recubrimiento con grupos químicos que anclen covalentemente los compuestos del extracto para protegerlos de la lixiviación y fotodegradación, y unir los compuestos del extracto de sargazo con enlaces éster o amida más estables que una simple adsorción física.

REFERENCIAS

- [1] C. Mora, N. A. J. Graham, M. Nyström, “Ecological limitations to the resilience of coral reefs,” *Coral Reefs*, vol. 35, no. 4, pp. 1271–1280, Dec. 2016, doi: 10.1007/s00338-016-1479-z.
- [2] O. Hoegh-Guldberg, L. Pendleton, A. Kaup, “People and the changing nature of coral reefs,” *Reg. Stud. Mar. Sci.*, vol. 30, p. 100699, Jul. 2019, doi: 10.1016/j.rsma.2019.100699.
- [3] O. Hoegh-Guldberg, E. S. Poloczanska, W. Skirving, and S. Dove, “Coral Reef Ecosystems under Climate Change and Ocean Acidification,” *Front. Mar. Sci.*, vol. 4, p. 158, May 2017, doi: 10.3389/fmars.2017.00158.
- [4] D. Beatty, C. Clements, F. Stewart, M. Hay, “Intergenerational effects of macroalgae on a reef coral: major declines in larval survival but subtle changes in microbiomes,” *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, vol. 589, pp. 97–114, Feb. 2018, doi: 10.3354/meps12465.
- [5] M. Mata-Lara, J. R. Garza-Pérez, A. Aranda-Fragoso, P. Salles Afonso De Almeida, “Social alienation and environmental decline in a coral reef: Challenges to coastal management in the Mexican Caribbean,” *Ocean Coast. Manag.*, vol. 155, pp. 30–39, Apr. 2018, doi: 10.1016/j.ocecoaman.2018.01.032.
- [6] T. D. Eddy, V. W. Y. Lam, G. Reygondeau, J. F. Bruno, Y. Ota, W. W. L. Cheung, “Global decline in capacity of coral reefs to provide ecosystem services,” *One Earth*, vol. 4, no. 9, pp. 1278–1285, Sep. 2021, doi: 10.1016/j.oneear.2021.08.016.
- [7] L. K. Roepke, D. Brefeld, U. Soltmann, C. J. Randall, A. P. Negri, A. Kunzmann, “Antifouling coatings can reduce algal growth while preserving coral settlement,” *Sci. Rep.*, vol. 12, no. 1, p. 15935, Sep. 2022, doi: 10.1038/s41598-022-19997-6.
- [8] I. W. Hendy, K. Woolford, A. Vincent-Piper, O. Burt, M. Schaefer, S. M. Cragg, P. Sanchez-Navarro, F. Ragazzola, “Climate-driven golden tides are reshaping coastal communities in Quintana Roo, Mexico,” *Clim. Change Ecol.*, vol. 2, p.

- 100033, Dec. 2021, doi: 10.1016/j.ecochg.2021.100033.
- [9] M. Wang, C. Hu, B. B. Barnes, G. Mitchum, B. Lapointe, J. P. Montoya, “The great Atlantic *Sargassum* belt,” *Science*, vol. 365, no. 6448, pp. 83–87, Jul. 2019, doi: 10.1126/science.aaw7912.
- [10] M. Schling, R. Guerrero Compeán, N. Pazos, A. Bailey, K. Arkema, M. Ruckelshaus, “The economic impact of *Sargassum*: Evidence from the Mexican coast,” *Ecol. Econ.*, vol. 241, p. 108877, Mar. 2026, doi: 10.1016/j.ecolecon.2025.108877.
- [11] M. Deleja, J. R. Paula, T. Repolho, M. Franzitta, M. Baptista, V. Lopes, S. Simao, V. F. Fonseca, B. Duarte, Rui Rosa, “Effects of Hypoxia on Coral Photobiology and Oxidative Stress,” *Biology*, vol. 11, no. 7, p. 1068, Jul. 2022, doi: 10.3390/biology11071068.
- [12] J. J. Milledge, S. Maneein, E. Arribas López, D. Bartlett, “*Sargassum* Inundations in Turks and Caicos: Methane Potential and Proximate, Ultimate, Lipid, Amino Acid, Metal and Metalloid Analyses,” *Energies*, vol. 13, no. 6, p. 1523, Mar. 2020, doi: 10.3390/en13061523.
- [13] J. A. Domínguez-Maldonado, R. Tapia-Tussell, E. Olguin-Maciél, K.J. Azcorra-May, E. Sauri-Duch, G. Rivera-Muñoz, G. Lizama-Uc, S. E. Solís-Pereira, “Biotic and abiotic interactions during the decomposition of *Sargassum* spp. from the Mexican Caribbean,” vol. 24, no. 3, 2025.
- [14] T. M. Silva. T. Moraes Silva, D. Waked, A. Clara Bastos, G. Leandro Gomes, J. G. Veras Closs, F. Gustavo Tonin, J. Adriano Rossignolo, K. do Valle Marques, M. Matera Veras “A custom, low-cost, continuous flow chamber built for experimental *Sargassum* seaweed decomposition and exposure of small rodents to generated gaseous products,” *Heliyon*, vol. 9, no. 8, p. e18787, Aug. 2023, doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e18787.
- [15] D. Resiere, H. Mehdaoui, J. Florentin, P. Gueye, T. Lebrun, A. Blateau, J. Viguier, R. Valentino, Y. Brouste, H. Kallel, B. Megarbane, A. Cabie, R. Banydeen, R. Nevriere., “*Sargassum* seaweed health menace in the Caribbean: clinical characteristics of a population exposed to hydrogen sulfide during the 2018 massive stranding,” *Clin. Toxicol.*, vol. 59, no. 3, pp. 215–223, Mar. 2021, doi: 10.1080/15563650.2020.1789162.

- [16] R. E. Rodríguez-Martínez, E. G. Torres-Conde, J. Rosellón-Druker, N. Cabanillas-Terán, U. Jáuregui-Haza, “The Great Atlantic *Sargassum* Belt: Impacts on the Central and Western Caribbean—A review,” *Harmful Algae*, vol. 144, p. 102838, Apr. 2025, doi: 10.1016/j.hal.2025.102838.
- [17] R. Rodríguez-Martínez, M. A. Gómez Reali, E. Torres-Conde, M. N. Bates, Temporal and spatial variation in hydrogen sulfide (H₂S) emissions during holopelagic *Sargassum* spp. decomposition on beaches, *Environmental Research*, Volume 247, 2024, Aug. 2024, doi: 10.1016/j.envres.2024.118235.
- [18] A. Fagundo-Mollineda, Y. Freile-Pelegrín, R. M. Vásquez-Elizondo, E. Vázquez-Delfín, D. Robledo, “*Sargassum*: Turning Coastal Challenge into a Valuable Resource,” *Biomass*, vol. 6, no. 1, p. 9, Jan. 2026, doi: 10.3390/biomass6010009.
- [19] K. Zeng, S. He, P. Zhan, “Inevitable global coral reef decline under climate change-induced thermal stresses,” *Commun. Earth Environ.*, vol. 6, no. 1, p. 827, Oct. 2025, doi: 10.1038/s43247-025-02790-4.
- [20] IPCC, 2023: Climate Change 2023: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Core Writing Team, H. Lee, J. Romero (eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland.,” Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC), Jul. 2023. doi: 10.59327/IPCC/AR6-9789291691647.
- [21] *Surface air temperature for January 2026*. Copernicus Climate Change Service/C3S/ECMWF. [Online]. Disponible en: <https://climate.copernicus.eu/surface-air-temperature-january-2026#>
- [22] P. Marshall and H. Schuttenberg, *A Reef Manager's Guide to Coral Bleaching*. Townsville, Australia: Great Barrier Reef Marine Park Authority, 2006.
- [23] R. van Woesik, T. Shlesinger, A. G. Grottoli, R. J. Toonen, R. Vega Thurber, M. E. Warner, A. M. Hulver, L. Chapron, R. H. McLachlan, R. Albright, E. Crandall, T. M. DeCarlo, M. K. Donovan, J. Eirin-Lopez, H. B. Harrison, S. F. Heron, D. Huang, A. Humanes, T. Krueger, J. S. Madin, D. Manzello, L. C. McManus, M. Matz, E. M. Muller, M. Rodriguez-Lanetty, M. Vega-Rodriguez, C. R. Voolstra, J. Zaneveld, “Coral-bleaching responses to climate change across biological scales,” *Glob. Change Biol.*, vol. 28, no. 14, pp. 4229–4250, Jul. 2022,

doi: 10.1111/gcb.16192.

- [24] S. Sully, D. E. Burkepile, M. K. Donovan, G. Hodgson, R. Van Woesik, “A global analysis of coral bleaching over the past two decades,” *Nat. Commun.*, vol. 10, no. 1, p. 1264, Mar. 2019, doi: 10.1038/s41467-019-09238-2.
- [25] Conabio, *SIMAR*. [Online]. Disponible en:
<https://simar.conabio.gob.mx/explorer/?geodat=coral-unep>
- [26] P. Humann, N. DeLoach, *Reef Coral Identification: Florida, Caribbean, Bahamas*, Third Edition. New World Publications, 2019.
- [27] H. A. El-Naggar, “Human Impacts on Coral Reef Ecosystem,” *Natural Resources Management and Biological Sciences*, IntechOpen, 2021. doi: 10.5772/intechopen.88841.
- [28] P. Humann and N. DeLoach, *Reef Creature Identification: Florida, Caribbean, Bahamas*, 3rd ed. Jacksonville, FL: New World Publications, 2013.
- [29] Y. Benayahu, T. C. L. Bridge, P. L. Colin, R. Liberman, C. S. McFadden, O. Pizarro, M. H. Schleyer, E. Shoham, B. T. Reijnen, M. Weis, J. Tanaka, “Octocorals of the Indo-Pacific,” in *Mesophotic Coral Ecosystems*, vol. 12, Y. Loya, K. A. Puglise, and T. C. L. Bridge, Eds., in *Coral Reefs of the World*, vol. 12. , Cham: Springer International Publishing, 2019, pp. 709–728. doi: 10.1007/978-3-319-92735-0_38.
- [30] R. S. Petralia, M. P. Mattson, P. J. Yao, “Aging and longevity in the simplest animals and the quest for immortality,” *Ageing Res. Rev.*, vol. 16, pp. 66–82, Jul. 2014, doi: 10.1016/j.arr.2014.05.003.
- [31] O. Hoegh-Guldberg, “The Impact of Climate Change on Coral Reef Ecosystems,” in *Coral Reefs: An Ecosystem in Transition*, Z. Dubinsky and N. Stambler, Eds., Dordrecht: Springer Netherlands, 2011, pp. 391–403. doi: 10.1007/978-94-007-0114-4_22.
- [32] G. D. Stanley, “The evolution of modern corals and their early history,” *Earth-Sci. Rev.*, vol. 60, no. 3–4, pp. 195–225, Feb. 2003, doi: 10.1016/S0012-8252(02)00104-6.
- [33] T. Toyofuku, M. Y. Matsuo, L. J. de Nooijer, Y. Nagai, S. Kawada, K. Fujita, G. J. Reichart, H. Nomaki, M. Tsuchiya, H. Sakaguchi, H. Kitazato, “Proton pumping accompanies calcification in foraminifera,” *Nat. Commun.*, vol. 8, no.

- 1, p. 14145, Jan. 2017, doi: 10.1038/ncomms14145.
- [34] V. R. Cumbo, T.-Y. Fan, P. J. Edmunds, “Scleractinian corals capture zooplankton within days of settlement and metamorphosis,” *Coral Reefs*, vol. 31, no. 4, pp. 1155–1155, Dec. 2012, doi: 10.1007/s00338-012-0940-x.
- [35] A. Curran, S. Barnard, “What is the role of *zooxanthellae* during coral bleaching? Review of *zooxanthellae* and their response to environmental stress,” *South Afr. J. Sci.*, vol. 117, no. 7/8, Jul. 2021, doi: 10.17159/sajs.2021/8369.
- [36] C. Liu, Y. Zhang, L. Huang, X. Yu, Y. Luo, L. Jiang, Y. Sun, S. Liu, H. Huang, “Differences in Fatty Acids and Lipids of Massive and Branching Reef-Building Corals and Response to Environmental Changes,” *Front. Mar. Sci.*, vol. 9, p. 882663, May 2022, doi: 10.3389/fmars.2022.882663.
- [37] M. Romanó de Orte, D. A. Koweeek, T. Cyronak, Y. Takeshita, A. Griffin, K. Wolfe, A. Szmant, R. Whitehead, R. Albright, K. Caldeira, “Unexpected role of communities colonizing dead coral substrate in the calcification of coral reefs,” *Limnol. Oceanogr.*, vol. 66, no. 5, pp. 1793–1803, May 2021, doi: 10.1002/lno.11722.
- [38] A. López-Pérez, R. Granja-Fernández, E. Ramírez-Chávez, O. Valencia-Méndez, F. A. Rodríguez-Zaragoza, T. González-Mendoza, A. Martínez-Castro, “Widespread Coral Bleaching and Mass Mortality of Reef-Building Corals in Southern Mexican Pacific Reefs Due to 2023 El Niño Warming,” *Oceans*, vol. 5, no. 2, pp. 196–209, Apr. 2024, doi: 10.3390/oceans5020012.
- [39] C. Lai, A. Nazir, T. Liu, Y. Tseng, Y. Iizuka, J. Shiao, “Growth Rate in Cultured Crustose Coralline Algae of the Genus *Phymatolithon* and *Sporolithon* From Taiwan,” *Mar. Ecol.*, vol. 45, no. 6, p. e12839, Dec. 2024, doi: 10.1111/maec.12839.
- [40] J. Titioatchasai, A. Darakrai, S. Phetcharat, J. Mayakun, “Effects of Elevated Temperatures and Nutrient Enrichment on Microbial Communities Associated with Turf Algae Under Laboratory Culture,” *Oceans*, vol. 6, no. 4, p. 68, Oct. 2025, doi: 10.3390/oceans6040068.
- [41] H. Jorissen, P. E. Galand, I. Bonnard, S. Meiling, D. Raviglione, A. L. Meistertzheim, L. Hédouin, B. Banaigs, C. E. Payri, M. M. Nugues, “Coral

- larval settlement preferences linked to crustose coralline algae with distinct chemical and microbial signatures,” *Sci. Rep.*, vol. 11, no. 1, p. 14610, Jul. 2021, doi: 10.1038/s41598-021-94096-6.
- [42] V. Ferreira, M. D. Pavlaki, R. Martins, M. S. Monteiro, F. Maia, J. Tedim, A. M. V. M. Soares, R. Calado, S. Loureiro, “Effects of nanostructure antifouling biocides towards a coral species in the context of global changes,” *Sci. Total Environ.*, vol. 799, p. 149324, Dec. 2021, doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.149324.
- [43] J. Tebben, C. A. Motti, N. Siboni, D. M. Tapiolas, A. P. Negri, “Chemical mediation of coral larval settlement by crustose coralline algae,” *Sci. Rep.*, vol. 5, no. 1, p. 10803, Jun. 2015, doi: 10.1038/srep10803.
- [44] L. A. Gómez-Lemos, C. Doropoulos, E. Bayraktarov, G. Diaz-Pulido, “Coralline algal metabolites induce settlement and mediate the inductive effect of epiphytic microbes on coral larvae,” *Sci. Rep.*, vol. 8, no. 1, p. 17557, Dec. 2018, doi: 10.1038/s41598-018-35206-9.
- [45] E. Higgins, A. Metaxas, R. E. Scheibling, “A systematic review of artificial reefs as platforms for coral reef research and conservation,” *PLOS ONE*, vol. 17, no. 1, p. e0261964, Jan. 2022, doi: 10.1371/journal.pone.0261964.
- [46] L. A. Ramm, J. H. Florisson, S. L. Watts, A. Becker, J. R. Tweedley, “Artificial reefs in the Anthropocene: a review of geographical and historical trends in their design, purpose, and monitoring,” *Bull. Mar. Sci.*, vol. 97, no. 4, pp. 699–728, Oct. 2021, doi: 10.5343/bms.2020.0046.
- [47] R. M. Macieira, L. A. S. Oliveira, G. C. Cardozo-Ferreira, C. R. Pimentel, R. Andrades, J. L. Gasparini, F. Sarti, D. Chelazzi, A. Cincinelli, L. C. Gomes, T. Giarrizzo, “Microplastic and artificial cellulose microfibers ingestion by reef fishes in the Guarapari Islands, Southwestern Atlantic,” *Mar. Pollut. Bull.*, vol. 167, p. 112371, Jun. 2021, doi: 10.1016/j.marpolbul.2021.112371.
- [48] M. Renzi, T. Romeo, C. Guerranti, G. Perra, S. Canese, P. Consoli, S. E. Focardi, C. Berti, M. Sprovieri, S. Gherardi, D. Salvaggio, L. Giamita, V. Esposito, P. Battaglia, S. Giacobbe, F. Andaloro, “Are shipwrecks a real hazard for the ecosystem in the Mediterranean Sea?,” *Mar. Pollut. Bull.*, vol. 124, no. 1, pp. 21–32, Nov. 2017, doi: 10.1016/j.marpolbul.2017.06.084.
- [49] S. Rist, J. Le Du-Carrée, K. Ugwu, C. Intermite, A. Acosta-Dacal, O.

- Pérez-Luzardo, M. Zumbado, M. Gómez, R. Almeda, “Toxicity of tire particle leachates on early life stages of keystone sea urchin species,” *Environ. Pollut.*, vol. 336, p. 122453, Nov. 2023, doi: 10.1016/j.envpol.2023.122453.
- [50] R. L. Sherman, R. E. Spieler, “Tires: unstable materials for artificial reef construction,” in *Environmental Problems in Coastal Regions VI*, Rhodes, Greece: WIT Press, May 2006, pp. 215–223. doi: 10.2495/CENV060211.
- [51] Q. Xu, T. Ji, Z. Yang, Y. Ye, “Preliminary investigation of artificial reef concrete with sulphoaluminate cement, marine sand and sea water,” *Constr. Build. Mater.*, vol. 211, pp. 837–846, Jun. 2019, doi: 10.1016/j.conbuildmat.2019.03.272.
- [52] D. Semeraro, M. Mastrodonato, M. V. Guglielmi, M. Mercurio, C. Pierri, G. Corriero, C. Nonnis Marzano., “Reproductive cycle of reef-building scleractinians from a Mediterranean mesophotic coral reef,” *Coral Reefs*, vol. 45, no. 1, pp. 327–339, Feb. 2026, doi: 10.1007/s00338-025-02715-9.
- [53] C. Monchanin, R. Mehrotra, E. Haskin, C. M. Scott, P. Urgell Plaza, A. Allchurch, S. Arnold, K. Magson, B. W. Hoeksema, “Contrasting coral community structures between natural and artificial substrates at Koh Tao, Gulf of Thailand,” *Mar. Environ. Res.*, vol. 172, p. 105505, Dec. 2021, doi: 10.1016/j.marenvres.2021.105505.
- [54] A. T. Banaszak, K. L. Marhaver, M. W. Miller, A. C. Hartmann, R. Albright, M. Hagedorn, P. L. Harrison, K. R. W. Latijnhouwers, S. Mendoza Quiroz, V. Pizarro, V. F. Chamberland, “Applying coral breeding to reef restoration: best practices, knowledge gaps, and priority actions in a rapidly-evolving field,” *Restor. Ecol.*, vol. 31, no. 7, p. e13913, Sep. 2023, doi: 10.1111/rec.13913.
- [55] S. Mendoza Quiroz, A. T. Banaszak, M. L. McGonigle, A. R. Bickel, J. R. Guest, M. W. Miller, “Influence of attachment techniques on coral seeding unit deployment cost and performance,” *Restor. Ecol.*, vol. 33, no. 8, p. e70090, Nov. 2025, doi: 10.1111/rec.70090.
- [56] D. del C. Alicea Segarra, I. Bejarano Rodríguez, B. M. Soler Figueroa, Los Arrecifes de Coral: Manual para Estudiantes, Publicación núm. UPRSG-E-277. Puerto Rico: Universidad de Puerto Rico, 2016.
- [57] M. W. Miller, S. Mendoza Quiroz, L. Lachs, A. T. Banaszak, V. F. Chamberland, J. R. Guest, A. N. Gutting, K. R. W. Latijnhouwers, R. I. Sellares-Blasco, F.

- Viridis, M. F. Villalpando, D. Petersen, “Assisted sexual coral recruits show high thermal tolerance to the 2023 Caribbean mass bleaching event,” *PLOS ONE*, vol. 19, no. 9, p. e0309719, Sep. 2024, doi: 10.1371/journal.pone.0309719.
- [58] S. T. Szedlmayer and D. R. Miller, "A Comparison of Fish and Epibenthic Assemblages on Artificial Reefs with and without Copper-Based, Anti-Fouling Paint," SEDAR74-RD10, Nov. 2020.
- [59] J. Montalvo-Proano, F. Flores, A. Severati, A. P. Negri, “Fouling release coatings reduce colonisation of coral seeding devices,” *Sci. Rep.*, vol. 15, no. 1, p. 24023, Jul. 2025, doi: 10.1038/s41598-025-08268-9.
- [60] J. L. Matthews, N. Bartels, H. Kish, L. La Motta, M. P. Padula, D. J. Hughes, Z. J. Crane, C. Humphrey, N. Boulotte, C. Roper, M. J. H. van Oppen, J. B. Raina, D. J. Suggett, “Sterols are key to coral larvae survival, swimming capacity, and thermal tolerance,” *Commun. Biol.*, vol. 8, no. 1, p. 1494, Oct. 2025, doi: 10.1038/s42003-025-08965-1.
- [61] G. Suzuki, W. Okada, Y. Yasutake, S. Kai, Y. Fujikura, I. Tanita, H. Yamashita, T. Hayashibara, W. Ando, K. Nogami, M. Fudo, “Interspecific differences in the post-settlement survival of *Acropora* corals under a common garden experiment,” *Fish. Sci.*, vol. 84, no. 5, pp. 849–856, Sep. 2018, doi: 10.1007/s12562-018-1230-5.
- [62] M. A. M. Mahmoud, M. A. Dar, H. N. M. Hussein, M. E. A. El-Metwally, M. M. Maaty, M. Y. Omar, M. R. Seraj, T. A. A. Mohammed, “Survivorship and growth rates for some transplanted coral reef building species and their potential for coral reef rehabilitation in the Red Sea,” *Egypt. J. Aquat. Biol. Fish.*, vol. 23, no. 2, pp. 183–193, Apr. 2019, doi: 10.21608/ejabf.2019.30291.
- [63] L. Boström-Einarsson, R. C. Babcock, E. Bayraktarov, D. Ceccarelli, N. Cook, S. C. A. Ferse, B. Hancock, P. Harrison, M. Hein, E. Shaver, A. Smith, D. Suggett, P. J. Stewart-Sinclair, T. Vardi, I. M. McLeod, “Coral restoration – A systematic review of current methods, successes, failures and future directions,” *PLOS ONE*, vol. 15, no. 1, p. e0226631, Jan. 2020, doi: 10.1371/journal.pone.0226631.
- [64] S. Mendoza Quiroz, A. U. Beltrán-Torres, M. V. Grosso-Becerra, D. Muñoz Villareal, R. Tecalco Rentería, A. T. Banaszak, “Long-term survival, growth, and

- reproduction of *Acropora palmata* sexual recruits outplanted onto Mexican Caribbean reefs,” *PeerJ*, vol. 11, p. e15813, Aug. 2023, doi: 10.7717/peerj.15813.
- [65] E. Bayraktarov, A. T. Banaszak, P. Montoya Maya, J. Kleypas, J. E. Arias-González, M. Blanco, J. Calle-Triviño, N. Charuvi, C. Cortés-Useche, V. Galván, M. A. García Salgado, M. Gnecco, S. D. Guendulain-García, E. A. Hernández Delgado, J. A. Marín Moraga, M. F. Maya, S. Mendoza Quiroz, S. Mercado Cervantes, M. Morikawa, G. Nava, V. Pizarro, R. I. Sellares-Blasco, S. E. Suleimán Ramos, T. Villalobos Cubero, M. F. Villalpando, S. Frías-Torres, “Coral reef restoration efforts in Latin American countries and territories,” *PLOS ONE*, vol. 15, no. 8, p. e0228477, Aug. 2020, doi: 10.1371/journal.pone.0228477.
- [66] R. Díaz-Talamantes, E. Pérez-Cervantes, L. Álvarez-Filip, “Juveniles reveal natural recovery potential of Caribbean coral species after a widespread disease die-off,” *Commun. Earth Environ.*, vol. 6, no. 1, p. 1010, Dec. 2025, doi: 10.1038/s43247-025-02975-x.
- [67] D. L. Gil-Agudelo, C. E. Cintra-Buenrostro, J. Brenner, P. González-Díaz, W. Kiene, C. Lusic, H. Pérez-España, “Coral Reefs in the Gulf of Mexico Large Marine Ecosystem: Conservation Status, Challenges, and Opportunities,” *Front. Mar. Sci.*, vol. 6, p. 807, Jan. 2020, doi: 10.3389/fmars.2019.00807.
- [68] Y. Gu, L. Yu, J. Mou, D. Wu, M. Xu, P. Zhou, Y. Ren, “Research Strategies to Develop Environmentally Friendly Marine Antifouling Coatings,” *Mar. Drugs*, vol. 18, no. 7, p. 371, Jul. 2020, doi: 10.3390/md18070371.
- [69] L. S. Jevne, S. Forbord, Y. Olsen, “The Effect of Nutrient Availability and Light Conditions on the Growth and Intracellular Nitrogen Components of Land-Based Cultivated *Saccharina latissima* (Phaeophyta),” *Front. Mar. Sci.*, vol. 7, p. 557460, Oct. 2020, doi: 10.3389/fmars.2020.557460.
- [70] P. S. Kench, E. P. Beetham, T. Turner, K. M. Morgan, S. D. Owen, Roger. F. McLean, “Sustained coral reef growth in the critical wave dissipation zone of a Maldivian atoll,” *Commun. Earth Environ.*, vol. 3, no. 1, p. 9, Jan. 2022, doi: 10.1038/s43247-021-00338-w.
- [71] M. M. Nielsen, D. Krause-Jensen, B. Olesen, R. Thinggaard, P. B. Christensen,

- A. Bruhn, “Growth dynamics of *Saccharina latissima* (Laminariales, Phaeophyceae) in Aarhus Bay, Denmark, and along the species’ distribution range,” *Mar. Biol.*, vol. 161, no. 9, pp. 2011–2022, Sep. 2014, doi: 10.1007/s00227-014-2482-y.
- [72] K. A. Johns, M. J. Emslie, A. S. Hoey, K. Osborne, M. J. Jonker, A. J. Cheal, “Macroalgal feedbacks and substrate properties maintain a coral reef regime shift,” *Ecosphere*, vol. 9, no. 7, p. e02349, Jul. 2018, doi: 10.1002/ecs2.2349.
- [73] D. Liu, H. Shu, J. Zhou, X. Bai, P. Cao, “Research Progress on New Environmentally Friendly Antifouling Coatings in Marine Settings: A Review,” *Biomimetics*, vol. 8, no. 2, p. 200, May 2023, doi: 10.3390/biomimetics8020200.
- [74] S. Shafir, S. Abady, B. Rinkevich, “Improved sustainable maintenance for mid-water coral nursery by the application of an anti-fouling agent,” *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, vol. 368, no. 2, pp. 124–128, Jan. 2009, doi: 10.1016/j.jembe.2008.08.017.
- [75] E. G. Knoester, M. H. Groenendijk, A. J. Murk, R. Osinga, “Some like it dirty: Less frequent nursery cleaning can reduce reef restoration costs with limited negative effects on coral performance,” *Ecol. Eng.*, vol. 201, p. 107209, Apr. 2024, doi: 10.1016/j.ecoleng.2024.107209.
- [76] A. Comte, L. H. Pendleton, “Management strategies for coral reefs and people under global environmental change: 25 years of scientific research,” *J. Environ. Manage.*, vol. 209, pp. 462–474, Mar. 2018, doi: 10.1016/j.jenvman.2017.12.051.
- [77] P. Vuong, A. McKinley, P. Kaur, “Understanding biofouling and contaminant accretion on submerged marine structures,” *Npj Mater. Degrad.*, vol. 7, no. 1, p. 50, Jun. 2023, doi: 10.1038/s41529-023-00370-5.
- [78] M. A. Abdul Wahab, S. Ferguson, V. K. Snekkevik, G. McCutchan, S. Jeong, A. Severati, C. J. Randall, A. P. Negri, G. Diaz-Pulido, “Hierarchical settlement behaviours of coral larvae to common coralline algae,” *Sci. Rep.*, vol. 13, no. 1, p. 5795, Apr. 2023, doi: 10.1038/s41598-023-32676-4.
- [79] G. Diaz-Pulido, S. D. Melvin, S. Ferguson, A. Severati, P. C. Doll, S. Uthicke, A. P. Negri, M. A. Abdul Wahab, “Species-specific metabolomic profiles of coral reef coralline algae and their influence on the larval settlement of corals and

- crown-of-thorns starfish,” *Sci. Rep.*, vol. 16, no. 1, p. 409, Dec. 2025, doi: 10.1038/s41598-025-29875-6.
- [80] M. M. Littler and D. S. Littler, "The Nature of Crustose Coralline Algae and Their Interactions on Reefs," *Smithsonian Contributions to the Marine Sciences*, no. 39, pp. 199–212, 2013.
- [81] G. Diaz-Pulido, M. C. Nash, K. R. N. Anthony, D. Bender, B. N. Opdyke, C. Reyes-Nivia, U. Troitzsch, “Greenhouse conditions induce mineralogical changes and dolomite accumulation in coralline algae on tropical reefs,” *Nat. Commun.*, vol. 5, no. 1, p. 3310, Feb. 2014, doi: 10.1038/ncomms4310.
- [82] E. Bergstrom, J. Lahnstein, H. Collins, T. M. Page, V. Bulone, and G. Diaz-Pulido, “Cell wall organic matrix composition and biomineralization across reef-building coralline algae under global change,” *J. Phycol.*, vol. 59, no. 1, pp. 111–125, Feb. 2023, doi: 10.1111/jpy.13290.
- [83] R. T. de Carvalho, G. M. Rocha, C. S. Karez, R. G. Bahia, R. C. Pereira, A. C. Bastos, L. T. Salgado, “Global assessment of coralline algae mineralogy points to high vulnerability of Southwestern Atlantic reefs and sp. beds to ocean acidification,” *Sci. Rep.*, vol. 12, no. 1, p. 9589, Jun. 2022, doi: 10.1038/s41598-022-13731-y.
- [84] D. Fragoso, F. Ramírez-Cahero, A. Rodríguez-Galván, R. Hernández-Reyes, A. Heredia, D. Rodríguez, M. Aguilar-Franco, L. Bucio, V. A. Basiuk, “Characterization of the CaCO₃ biomineral in coralline red algae (*Corallinales*) from the Pacific coast of Mexico,” *Cienc. Mar.*, vol. 36, no. 1, Mar. 2010, doi: 10.7773/cm.v36i1.1606.
- [85] J. I. Kang, I. M. P. Benliro, I. J. Lee, J. Y. Choi, J. Joo, Y. S. Choi, D. S. Hwang, Y. K. Hong, “Viability, Fatty acid composition, and structure of the coralline alga *Corallina pilulifera*,” *Bot. Sci.*, vol. 92, no. 1, pp. 103–109, Mar. 2014, doi: 10.17129/botsci.24.
- [86] R. Mariath, R. R. Rodriguez, M. A. O. Figueiredo, “Succession of crustose coralline red algae (*Rhodophyta*) on coralline reefs exposed to physical disturbance in the southwest Atlantic,” *Helgol. Mar. Res.*, vol. 67, no. 4, pp. 687–696, Dec. 2013, doi: 10.1007/s10152-013-0354-3.
- [87] Z. A. Quinlan, M. J. Bennett, M. G. I. Arts, M. Levenstein, D. Flores, H. M.

- Tholen, L. Tichy, G. Juarez, A. F. Haas, V. F. Chamberland, K. R. W. Latijnhouwers, M. J. A. Vermeij, A. W. Johnson, K. L. Marhaver, L. W. Kelly, “Coral larval settlement induction using tissue-associated and exuded coralline algae metabolites and the identification of putative chemical cues,” *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.*, vol. 290, no. 2009, p. 20231476, Oct. 2023, doi: 10.1098/rspb.2023.1476.
- [88] C. J. Randall, C. Giuliano, A. J. Heyward, A. P. Negri, “Enhancing Coral Survival on Deployment Devices With Microrefugia,” *Front. Mar. Sci.*, vol. 8, p. 662263, May 2021, doi: 10.3389/fmars.2021.662263.
- [89] W. Tian, H. Jin, L. Tian, “Ideas Inspired by Nature to Combat Marine Biofouling and Corrosion,” *Coatings*, vol. 12, no. 10, p. 1434, Sep. 2022, doi: 10.3390/coatings12101434.
- [90] J. A. Callow, M. E. Callow, “Trends in the development of environmentally friendly fouling-resistant marine coatings,” *Nat. Commun.*, vol. 2, no. 1, p. 244, Mar. 2011, doi: 10.1038/ncomms1251.
- [91] V. R. S. de Souza, C. F. Alves, L. F. de Lucena, L. C. C. Silva, E. de Albuquerque Xavier, C. J. G. da Silva Jr., A. Converti, R. L. Gouveia, L. A. Sarubbo, “Strategies for Biofouling Control: A Review from an Environmental Perspective of Innovation and Trends,” *Coatings*, vol. 15, no. 10, p. 1185, Oct. 2025, doi: 10.3390/coatings15101185.
- [92] L. Tian, Y. Yin, W. Bing, E. Jin, “Antifouling Technology Trends in Marine Environmental Protection,” *J. Bionic Eng.*, vol. 18, no. 2, pp. 239–263, Mar. 2021, doi: 10.1007/s42235-021-0017-z.
- [93] A. S. Adeleye, E. A. Oranu, M. Tao, A. A. Keller, “Release and detection of nanosized copper from a commercial antifouling paint,” *Water Res.*, vol. 102, pp. 374–382, Oct. 2016, doi: 10.1016/j.watres.2016.06.056.
- [94] A. Gondikas, K. Mattsson, M. Hassellöv, “Methods for the detection and characterization of boat paint microplastics in the marine environment,” *Front. Environ. Chem.*, vol. 4, p. 1090704, Jan. 2023, doi: 10.3389/fenvc.2023.1090704.
- [95] J. Tebben, J. R. Guest, T. M. Sin, P. D. Steinberg, T. Harder, “Corals Like It Waxed: Paraffin-Based Antifouling Technology Enhances Coral Spat Survival,”

- PLoS ONE*, vol. 9, no. 1, p. e87545, Jan. 2014, doi: 10.1371/journal.pone.0087545.
- [96] Z. Karimi, I. Flores, S. Kolle, S. Kundu, E. Walton, L. Badder, N. Levy, D. B. Berry, D. Schar, J. Levy, J. Aizenberg, D. Wangpraseurt, “Mitigating Algal Competition with Fouling-Prevention Coatings for Coral Restoration and Reef Engineering,” *ACS Sustain. Chem. Eng.*, vol. 13, no. 16, pp. 5808–5817, Apr. 2025, doi: 10.1021/acssuschemeng.4c07508.
- [97] K. S. Klokova, S. N. Ardabevskaia, U. S. Andropova, T. D. Vu, S. A. Milenin, F. V. Drozdov, A. M. Muzafarov, “Anti-fouling System Based on PDMS and Polyhexamethylene Guanidine for the Protection of Marine Vessels,” *J. Inorg. Organomet. Polym. Mater.*, Sep. 2025, doi: 10.1007/s10904-025-04025-7.
- [98] F. Shen, J. Liu, L. Cai, H. Shi, H. Liu, Y. Zhao, Y. Wu, X. Chen, S. Wu, D. Wang, “Reversible polydimethylsiloxane coatings for Anti-Fouling and lubrication of medical metals,” *Chem. Eng. J.*, vol. 516, p. 163934, Jul. 2025, doi: 10.1016/j.cej.2025.163934.
- [99] N. Zainal Abidin, H. Hashim, S. I. Zubairi, “Surface Characterization of Polytetrafluoroethylene (PTFE) Substrate after Oxygenated Plasma Treatment towards Potential Food Processing Application,” Jul. 27, 2022, *MATERIALS SCIENCE*. doi: 10.20944/preprints202207.0416.v1.
- [100] A. Giannattasio, V. Iuliano, G. Oliva, D. Giaquinto, C. Capacchione, M. T. Cuomo, S. W. Hasan, K. H. Choo, G. V. Korshin, D. Barceló, V. Belgiorno, A. Grassi, V. Naddeo, A. Buonerba, “Micro(nano)plastics from synthetic oligomers persisting in Mediterranean seawater: Comprehensive NMR analysis, concerns and origins,” *Environ. Int.*, vol. 190, p. 108839, Aug. 2024, doi: 10.1016/j.envint.2024.108839.
- [101] N. Schwartz, S. Dobretsov, S. Rohde, P. J. Schupp, “Comparison of antifouling properties of native and invasive *Sargassum* (*Fucales*, *Phaeophyceae*) species,” *Eur. J. Phycol.*, vol. 52, no. 1, pp. 116–131, Jan. 2017, doi: 10.1080/09670262.2016.1231345.
- [102] S. Pinteus, M. F. L. Lemos, C. Alves, J. Silva, R. Pedrosa, “The marine invasive seaweeds *Asparagopsis armata* and *Sargassum muticum* as targets for greener antifouling solutions,” *Sci. Total Environ.*, vol. 750, p. 141372, Jan.

- 2021, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.141372.
- [103] P. Máximo, L. Ferreira, P. Branco, P. Lima, A. Lourenço, “Secondary Metabolites and Biological Activity of Invasive Macroalgae of Southern Europe,” *Mar. Drugs*, vol. 16, no. 8, p. 265, Aug. 2018, doi: 10.3390/md16080265.
- [104] I. Sánchez-Lozano, C. J. Hernández-Guerrero, M. Muñoz-Ochoa, C. Hellio, “Biomimetic Approaches for the Development of New Antifouling Solutions: Study of Incorporation of Macroalgae and Sponge Extracts for the Development of New Environmentally-Friendly Coatings,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 20, no. 19, p. 4863, Sep. 2019, doi: 10.3390/ijms20194863.
- [105] K. Bakar, H. Mohamad, J. Latip, H. S. Tan, and G. M. Herng, "Fatty Acids Compositions of *Sargassum granuliferum* and *Dictyota dichotoma* and Their Anti-Fouling Activities," *Journal of Sustainability Science and Management*, vol. 12, 2017.
- [106] E. Plouguerné, L. M. de Souza, G. L. Sasaki, C. Hellio, R. Trepos, B. A. P. da Gama, R. C. Pereira, E. Barreto-Bergter, “Glycoglycerolipids From *Sargassum vulgare* as Potential Antifouling Agents,” *Front. Mar. Sci.*, vol. 7, p. 116, Mar. 2020, doi: 10.3389/fmars.2020.00116.
- [107] M. Gazali, N. Ismail, J. Saidin, K. Bakar, J. Y. F. Siong, “Antibiofilm and Antifouling Properties of *Sargassum plagiophyllum* (C. Agardh, 1824) Extract,” *J. Multidiscip. Appl. Nat. Sci.*, vol. 5, no. 3, pp. 1109–1130, Sep. 2025, doi: 10.47352/jmans.2774-3047.302.
- [108] P. Lambert, P. Lambert, F. Radouani, M. S. Ahmed, P. Salvin, C. Roos, M. Lebrini, “Extract from *Sargassum fluitans* III: A Promising Valuable resource of Anti-bacterial metabolites,” *Adv. Biochem. Biotechnol.*, vol. 9, no. 1, Apr. 2024, doi: 10.29011/2574-7258.010118.
- [109] European Union-Copernicus Marine Service, “Global Ocean Physics Reanalysis.” Mercator Ocean International, 2018. doi: 10.48670/MOI-00021.
- [110] European Union-Copernicus Marine Service, “Global Ocean Waves Reanalysis WAVERYS.” Mercator Ocean International, 2019. doi: 10.48670/MOI-00022.
- [111] European Union-Copernicus Marine Service, “Global Ocean 1/12° Physics

- Analysis and Forecast updated Daily.” Mercator Ocean International, 2016. doi: 10.48670/MOI-00016.
- [112] D. Nocado Mena, “Aislamiento y caracterización de los constituyentes de las hojas de *Cissus incisa*, determinación de su actividad antibacteriana, citotóxica y mecanismo de acción del compuesto más activo” Ph.D. dissertation, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, México, Dec. 2019.
- [113] D. Nocado-Mena, M. Y. Ríos, M. Á. Ramírez-Cisneros, L. González-Maya, J. N. Sánchez-Carranza, M. D. R. Camacho-Corona, “Metabolomic Profile and Cytotoxic Activity of *Cissus incisa* Leaves Extracts,” *Plants*, vol. 10, no. 7, p. 1389, Jul. 2021, doi: 10.3390/plants10071389.
- [114] M. J. Zarrinmehr, E. Daneshvar, S. Nigam, K. P. Gopinath, J. K. Biswas, E. E. Kwon, H. Wang, O. Farhadian, A. Bhatnagar, “The effect of solvents polarity and extraction conditions on the microalgal lipids yield, fatty acids profile, and biodiesel properties,” *Bioresour. Technol.*, vol. 344, p. 126303, Jan. 2022, doi: 10.1016/j.biortech.2021.126303.
- [115] D. Singh, K. Yadav, K. Nath, and S. P. Trivedi, “Estimation of median lethal concentration (LC₅₀) and it’s criteria.” *Res. Environ. Life Sci.*, 11(12) 322-324, 2018.
- [116] A. Bazes, A. Silkina, P. Douzenel, F. Faÿ, N. Kervarec, D. Morin, J. P. Berge, N. Bourgougnon, “Investigation of the antifouling constituents from the brown alga *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt,” *J. Appl. Phycol.*, vol. 21, no. 4, pp. 395–403, Aug. 2009, doi: 10.1007/s10811-008-9382-9.
- [117] K. K. Sand, J. D. Rodriguez-Blanco, E. Makovicky, L. G. Benning, and S. L. S. Stipp, “Crystallization of CaCO₃ in Water–Alcohol Mixtures: Spherulitic Growth, Polymorph Stabilization, and Morphology Change,” *Cryst. Growth Des.*, vol. 12, no. 2, pp. 842–853, Feb. 2012, doi: 10.1021/cg2012342.
- [118] “ASTM C109/C109M-20, Standard Test Method for Compressive Strength of Hydraulic Cement Mortars (Using 2-in. or [50-mm] Cube Specimens),” *ASTM Int.*, no. 2020.
- [119] “ASTM C373-18, Standard Test Methods for Determination of Water Absorption and Associated Properties by Vacuum Method for Pressed Ceramic

- Tiles and Glass Tiles and Boil Method for Extruded Ceramic Tiles and Non-tile Fired Ceramic Whiteware Products,” *ASTM Int.*, 2018.
- [120] I. Arganda-Carreras, V. Kaynig, C. Rueden, K. W. Eliceiri, J. Schindelin, A. Cardona, H. S. Seung, “Trainable Weka Segmentation: a machine learning tool for microscopy pixel classification,” *Bioinformatics*, vol. 33, no. 15, pp. 2424–2426, Aug. 2017, doi: 10.1093/bioinformatics/btx180.
- [121] F. D. Şcheaua, "Theoretical approaches regarding the Venturi effect," *Hidraulica*, no. 3, pp. 1–8, 2016, ISSN 1453-7303.
- [122] R. B. Mulaudzi, A. R. Ndhlala, M. G. Kulkarni, J. F. Finnie, J. Van Staden, “Antimicrobial properties and phenolic contents of medicinal plants used by the Venda people for conditions related to venereal diseases,” *J. Ethnopharmacol.*, vol. 135, no. 2, pp. 330–337, May 2011, doi: 10.1016/j.jep.2011.03.022.
- [123] M. C. Rillig, A. Lehmann, and M. Bi, “Hormesis as a Hidden Hand in Global Environmental Change?,” *Environ. Sci. Technol.*, vol. 59, no. 6, pp. 2887–2890, Feb. 2025, doi: 10.1021/acs.est.5c01101.
- [124] A. R. D. Stebbing, “Tolerance and hormesis—increased resistance to copper in hydroids linked to hormesis,” *Mar. Environ. Res.*, vol. 54, no. 3–5, pp. 805–809, Sep. 2002, doi: 10.1016/S0141-1136(02)00119-8.
- [125] V. J. Datta, "Marine anti-fouling paints," U.S. Patent 4,482,652, Nov. 13, 1984.
- [126] M. Abdollahpour, F. Heberling, D. Schild, R. Rahnemaie, “Magnesium Coprecipitation with Calcite at Low Supersaturation: Implications for Mg-Enriched Water in Calcareous Soils,” *Minerals*, vol. 12, no. 2, p. 265, Feb. 2022, doi: 10.3390/min12020265.
- [127] A. Nguyen, R. Gabitov, A. Jimenez, A. Dygert, J. Varco, A. Pérez-Huerta, A. Migdisov, V. Paul, B. Kirkland, P. Dash, “Retaining Geochemical Signatures during Aragonite-Calcite Transformation at Hydrothermal Conditions,” *Minerals*, vol. 11, no. 10, p. 1052, Sep. 2021, doi: 10.3390/min11101052.
- [128] M. A. Levenstein, K. L. Marhaver, Z. A. Quinlan, H. M. Tholen, L. Tichy, J. Yus, I. Lightcap, L. W. Kelly, G. Juarez, M. J. A. Vermeij, A. J. W. Johnson, “Composite Substrates Reveal Inorganic Material Cues for Coral Larval Settlement,” *ACS Sustain. Chem. Eng.*, vol. 10, no. 12, pp. 3960–3971, Mar.

- 2022, doi: 10.1021/acssuschemeng.1c08313.
- [129] O. Vinn, “The Role of Aragonite in Producing the Microstructural Diversity of Serpulid Skeletons,” *Minerals*, vol. 11, no. 12, p. 1435, Dec. 2021, doi: 10.3390/min11121435.
- [130] F. Liendo, M. Arduino, F. A. Deorsola, S. Bensaid, “Nucleation and growth kinetics of CaCO₃ crystals in the presence of foreign monovalent ions,” *J. Cryst. Growth*, vol. 578, p. 126406, Jan. 2022, doi: 10.1016/j.jcrysgro.2021.126406.
- [131] V. F. Chamberland, D. Petersen, J. R. Guest, U. Petersen, M. Brittsan, M. J. A. Vermeij, “New Seeding Approach Reduces Costs and Time to Outplant Sexually Propagated Corals for Reef Restoration,” *Sci. Rep.*, vol. 7, no. 1, p. 18076, Dec. 2017, doi: 10.1038/s41598-017-17555-z.
- [132] G. K. Ustunisik, R. L. Nielsen, D. Walker, “The Missing Magmas of MOR: Insights From Phase Equilibrium Experiments on Plagioclase Ultraphyric Basalts,” *Geochem. Geophys. Geosystems*, vol. 23, no. 1, p. e2021GC009943, Jan. 2022, doi: 10.1029/2021GC009943.
- [133] N. Kandymov, S. Korpayev, S. Durdyev, R. Myratberdiyev, L. Gurbanmyradova, “Manufacturing of Fired Clay Bricks for Internal Walls with Dolomite Residue as a Secondary Material,” *Buildings*, vol. 13, no. 12, p. 3065, Dec. 2023, doi: 10.3390/buildings13123065.
- [134] J. T. Ovalle, N. L. La Cruz, M. Reich, F. Barra, A. C. Simon, B. A. Konecke, M. A. Rodriguez-Mustafa, A. P. Deditius, T. M. Childress, D. Morata, “Formation of massive iron deposits linked to explosive volcanic eruptions,” *Sci. Rep.*, 2018.
- [135] W. Dellisanti, Q. Zhang, C. Ferrier-Pagès, and M. Kühl, “Contrasting effects of increasing dissolved iron on photosynthesis and O₂ availability in the gastric cavity of two Mediterranean corals,” *PeerJ*, vol. 12, p. e17259, Apr. 2024, doi: 10.7717/peerj.17259.
- [136] F. P. Beer, E. R. Johnston, J. T. DeWolf, D. F. Mazurek, *Mechanics of Materials*, 6th ed. New York: McGraw-Hill, 2011.
- [137] C15 Committee, *Specification for Building Brick (Solid Masonry Units Made From Clay or Shale)*. doi: 10.1520/C0062-17.
- [138] L. Ma, J. Wu, M. Wang, L. Dong, H. Wei, “Dynamic compressive properties of

- dry and saturated coral rocks at high strain rates,” *Eng. Geol.*, vol. 272, p. 105615, Jul. 2020, doi: 10.1016/j.enggeo.2020.105615.
- [139] M. Boon, W. D. A. Rickard, A. L. Rohl, F. Jones, “Stabilization of Aragonite: Role of Mg^{2+} and Other Impurity Ions,” *Cryst. Growth Des.*, vol. 20, no. 8, pp. 5006–5017, Aug. 2020, doi: 10.1021/acs.cgd.0c00152.
- [140] T. Xu, V. Rodriguez-Martinez, S. N. Sahasrabudhe, B. E. Farkas, S. R. Dungan, “Effects of Temperature, Time and Composition on Food Oil Surface Tension,” *Food Biophys.*, vol. 12, no. 1, pp. 88–96, Mar. 2017, doi: 10.1007/s11483-016-9466-z.
- [141] A. Méndez-Reséndiz, G. E. Rangel-Yescas, M. Benítez-Angeles, T. Rosenbaum, L. D. Islas, “A novel TRPV5/6-like channel from a scleractinian coral,” *PLOS One*, vol. 20, no. 10, Oct. 2025, doi: 10.1371/journal.pone.0332671.
- [142] X. Yang, X. Wang, L. Peng, S. Dobretsov, J.-L. Yang, and X. Liang, “Bacterial-derived γ -aminobutyric acid (GABA) regulates larval settlement and metamorphosis of *Mytilus coruscus*,” *Biofouling*, vol. 42, no. 2, pp. 136–147, Feb. 2026, doi: 10.1080/08927014.2025.2603451.
- [143] M. Moeller, S. Nietzer, P. J. Schupp, “Neuroactive compounds induce larval settlement in the scleractinian coral *Leptastrea purpurea*,” *Sci. Rep.*, vol. 9, no. 1, p. 2291, Feb. 2019, doi: 10.1038/s41598-019-38794-2.
- [144] Y. Song, Z. H. Cai, Y. M. Lao, H. Jin, K. Z. Ying, G. H. Lin, J. Zhou, “Antibiofilm activity substances derived from coral symbiotic bacterial extract inhibit biofouling by the model strain *Pseudomonas aeruginosa* PAO 1,” *Microb. Biotechnol.*, vol. 11, no. 6, pp. 1090–1105, Nov. 2018, doi: 10.1111/1751-7915.13312.
- [145] A. C. Turnlund, I. Vanwonterghem, E. S. Botté, C. J. Randall, C. Giuliano, L. Kam, S. Bell, P. O'Brien, A. P. Negri, N. S. Webster, M. Lurgi, “Linking differences in microbial network structure with changes in coral larval settlement,” *ISME Commun.*, vol. 3, no. 1, p. 114, Dec. 2023, doi: 10.1038/s43705-023-00320-x.

APÉNDICES

APÉNDICE A

FICHA TÉCNICA DE LA ARCILLA POTÁSICA UTILIZADA

Descripción

Beneficios

Nombre comercial: BK - Arcilla Roja Potásica
Fórmula: $(K,Na)(Al,Mg,Fe)_2(Si_{2.1}Al_{0.9})O_{10}(OH)_2$

La arcilla potásica es una alternativa mineral rica en magnesio, calcio, potasio y azufre, que al ser de baja solubilidad es un nutriente de lenta liberación para las plantas. Funciona en todo tipo de cultivos e incluso bajo condiciones desfavorables en suelos desgastados, ya que los enmienda.

Composición química

ELEMENTO	SÓLIDO %	SOLUBLE %
Carbono (C)	3.64	8.93
Nitrógeno (N)	3.66	3.10
Sodio (Na ₂ O)	0.38	10.39
Magnesio (MgO)	2.73	4.59
Aluminio (Al ₂ O ₃)	16.43	ND
Silicio (SiO ₂)	63.28	0.42
Fósforo (P ₂ O ₅)	0.28	ND
Potasio (K ₂ O)	3.26	5.01
Azufre (SO ₃)	0.35	26.92
Calcio (CaO)	6.22	3.34
Hierro (FeO)	5.96	ND
Titanio (Ti)	0.42	ND

*El análisis en base soluble muestra el porcentaje real aprovechable por la planta, la cual toma sus nutrientes gracias a las diferentes cargas de cada elemento; es decir, por medio del intercambio catiónico, el cual para tener lugar requiere los nutrientes en solución.

Propiedades físico-químicas

Color: Violáceo.
Humedad: 5% máximo.
CIC: 39.84 meq/100 gr
Dureza: 3.5 Moh's
Solubilidad: INSOLUBLE (>0.01%)

Presentación

Mallas disponibles:
BK-006: malla 4x10 (tamaños de 2 a 5mm)
BK-018: malla 10x30 (tamaños de 0.6 a 2m)
BK-100: malla 30x100 (0.1 a 0.6mm - polvo)

Envase: costal de polipropileno de 50 kg.

- Es completamente natural.
- No saliniza ni desgasta los suelos.
- Es de larga vida, pues se asimila lentamente.
- Es compatible con todo tipo de fertilizantes químicos y orgánicos.
- Se puede aplicar en todo tipo de suelos y climas.
- Es óptimo para todo tipo de cultivos, ya que contiene micronutrientes que complementan la nutrición.

Recomendaciones

Suelos arcillosos	200kg/Ha
Suelos francos	250kg/Ha
Suelos arenosos	300kg/Ha

Además de la textura del suelo, esta dosis dependerá en gran parte del contenido de potasio, magnesio, calcio y azufre de los suelos, así como del pH y el CIC (Capacidad de Intercambio Catiónico), ya que en ocasiones existen altos contenidos de ciertos nutrientes en los suelos, que sin embargo la planta no puede aprovechar debido a que están bloqueados por exceso de otros elementos, o por un nivel de pH inadecuado. Es por esto que se recomienda siempre en medida de lo posible trabajar con análisis de suelos para un óptimo desempeño del producto.

En mezclas físicas se pueden adicionar de 150 a 250 kg por tonelada.

Precauciones

No ingerir. Emplear equipo adecuado para manejo del producto: soporte lumbar para carga, mascarilla contra polvo y lentes de seguridad cerrados. No es corrosivo ni tóxico, sin embargo por la naturaleza de la molienda es muy volátil. En caso de contacto con los ojos, lave con abundante agua. Mantener sobre tarimas y a salvo del sol, altas temperaturas, intemperie y humedad. Desechar el empaque en un lugar adecuado, procurando cuidar los cuerpos de agua cercanos.