

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR**

**FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES**

**ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**CARRERA DE MICROBIOLOGÍA**

**Evaluación de la población de un paramecio en cultivos de *Nostoc* sp.**

**Disertación previa a la obtención del título de Licenciado en Microbiología**

**CRISTHIAN ANDRÉS MEJÍA ZURITA**

Quito, 2024

## CERTIFICACIÓN

Certifico que la Disertación de Licenciatura en Microbiología del Sr. Cristhian Andrés Mejía Zurita ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.

---

PhD. Diana Astorga García  
Directora de la Disertación  
Quito, 26 de junio de 2024

## **DEDICATORIA**

A Dios, por el apoyo constante, la fortaleza y la guía inquebrantable que he encontrado durante este camino académico.

A mi madre, Gladys Zurita, por apoyarme incondicionalmente a lo largo de toda mi trayectoria académica, sacrificándose para que pueda formarme profesionalmente, aconsejándome en cada etapa de mi vida y defendiéndome ante todas las personas que se opusieron a que siga una carrera universitaria.

A mi padre, Rolando Mejía, por siempre darme consejos, por su constante apoyo y por siempre creer en mí y enseñarme la importancia del esfuerzo y la integridad en cada paso de mi camino.

## AGRADECIMIENTOS

A mis padres, por siempre alentarme en mis estudios y nunca dejar que me rinda, incluso cuando la situación no era la mejor. Gracias por estar siempre a mi lado y por hacer de mi educación su prioridad.

A Mishel Enríquez, por su apoyo emocional, comprensión y paciencia. Gracias por ser mi constante apoyo, por estar a mi lado en los momentos difíciles y por celebrar cada logro conmigo.

A mis amigos, Sebastián Coronado, Estefany Quiroz y Misael Román, por su amistad y apoyo incondicional. Gracias por estar siempre presentes, por su compañía y por los momentos de alegría que hemos compartido.

A la PhD. Diana Astorga García, directora de la presente tesis, por su guía, apoyo y orientación a lo largo de este proyecto. Su conocimiento y dedicación han sido fundamentales para el desarrollo y culminación de este trabajo. Agradezco su paciencia, sus valiosos consejos y su compromiso con mi formación académica.

A la Mgtr. Magaly Estrella, por darme mi primera oportunidad de trabajar en un proyecto de la universidad, "Mi Primer Empleo PUCE". Su confianza en mí me permitió ganar valiosa experiencia laboral y crecer profesionalmente durante mi carrera.

A Bolívar Salas y a todo el equipo de la Sala de Preparaciones de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, por su disposición para ayudarme. Gracias por proporcionarme el material necesario para mi tesis y por sus valiosos consejos en metodología, los cuales fueron fundamentales para el desarrollo de este trabajo. Además, agradezco su ayuda y tutela durante el tiempo que colaboré con ellos en la Sala de Preparaciones.

Esta investigación se enmarca en el contrato marco de acceso a recursos genéticos MAE-DNB-2019-0125-A sin el que no hubiera sido posible la investigación presentada.

**TABLA DE CONTENIDO**

CERTIFICACIÓN.....	II
DEDICATORIA.....	III
AGRADECIMIENTOS.....	IV
1. RESUMEN.....	1
2. ABSTRACT.....	2
3. INTRODUCCIÓN.....	3
4. OBJETIVOS.....	6
4.1. OBJETIVO GENERAL: .....	6
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS: .....	6
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	6
5.1. Colecta de muestras de <i>Nostoc</i> sp.....	7
5.2. Evaluación de las características morfológicas de <i>Nostoc</i> sp. ....	8
5.3. Preparación del inóculo .....	8
5.4. Evaluación del efecto del medio de cultivo de <i>Nostoc</i> en la evolución de la población de <i>Paramecium</i> sp. ....	9
5.5. Comparación del crecimiento de <i>Paramecium</i> sp. entre tratamientos .....	10
6. RESULTADOS .....	10
7. DISCUSIÓN.....	13
8. CONCLUSIONES.....	16
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	17

**LISTA DE FIGURAS**

<b>Figura 1.</b> Recolección de muestras de <i>Nostoc</i> sp. en Papallacta. ....	7
<b>Figura 2.</b> <i>Nostoc</i> sp. morfotipo verde-rugoso recolectado en Papallacta. ....	8
<b>Figura 3.</b> Evolución de la densidad de <i>Paramecium</i> sp. en cultivos de <i>Nostoc</i> sp.....	12

**LISTA DE TABLAS**

<b>Tabla 1.</b> ....	11
----------------------	----

## 1. RESUMEN

Este estudio explora las interacciones entre *Paramecium* sp. y *Nostoc* sp. a través de un ensayo cuyo objetivo fue evaluar el crecimiento poblacional del protozoo en cultivos de la cianobacteria a escala de laboratorio. Las muestras de la cianobacteria fueron recolectadas en la vía Quito-Papallacta y sometidas a tratamientos en los que se pusieron a prueba las consistencias: sólida, semisólida y líquida y la presencia o ausencia de compuestos nitrogenados en el medio de cultivo BG11. Se monitoreó periódicamente la población de *Paramecium* sp. mediante recuentos celulares y se determinó el tratamiento que minimizó la proliferación de protozoarios. Los resultados indicaron que el medio líquido favorece el crecimiento del paramecio porque le facilita el movimiento y captura de la presa cianobacteriana. Los medios sin compuestos nitrogenados, en cambio, limitaron el desarrollo del protozoo, por lo que se consideraron adecuados para liberar a los cultivos de *Nostoc* de depredadores ciliados como *Paramecium* sp. En conclusión, la presencia de compuestos nitrogenados en el medio de cultivo de *Nostoc* sp. promueve el crecimiento del protozoo, mientras que la consistencia del medio limitó el desarrollo tanto de los protozoos como de la cianobacteria. Estos hallazgos resaltan la importancia de considerar condiciones específicas del medio ambiente en los estudios de ecología microbiana y destacan la complejidad de las interacciones entre organismos en estos sistemas, además de poner en relieve diferencias cepa específicas en el crecimiento cianobacteriano *in vitro*.

Palabras clave: cianobacteria, cultivo, *Nostoc*, *Paramecium*, protozoo.

## 2. ABSTRACT

This study explores the interactions between *Paramecium* sp. and *Nostoc* sp. An experiment was conducted in order to evaluate the population growth of the protozoan under different cultivation conditions of the cyanobacteria at the laboratory scale. Samples of the cyanobacteria were collected along the Quito-Papallacta route and exposed to treatments in which solid, semisolid and liquid consistencies and the presence or absence of nitrogen compounds were tested in the culture medium BG11. The population growth of *Paramecium* sp. was monitored periodically through cell counts to determine which treatment minimized protozoan proliferation. Results indicated that the liquid medium favored the growth of *Paramecium* sp. because it allowed easier movement and capture of the cyanobacteria; whereas media without nitrogen compounds limited protozoan development. In conclusion, the presence of nitrogen compounds in the *Nostoc* sp. culture medium promotes protozoan growth, while the medium consistency influenced its proliferation capacity as well as that of the cyanobacteria. These findings underscore the importance of considering specific environmental conditions in microbial ecology studies, highlighting the complexity of interactions among organisms in these systems, besides underlining *in vitro* strain-specific differences in cyanobacterial growth.

Keywords: cyanobacteria, culture, *Nostoc*, *Paramecium*, protozoan.

### 3. INTRODUCCIÓN

Las interacciones entre dos o más organismos son naturales y han sido investigadas en diferentes ambientes. A nivel microscópico, estas se han analizado con el objetivo de comprender si resultan beneficiosas o perjudiciales para cada microorganismo involucrado. Una de las interacciones interesantes es el pastoreo, que es el proceso en el que ciertos microorganismos se alimentan de otros para obtener nutrientes y energía (Kuosa, 1990). Esta interacción es un factor importante en la formación y el control de microalgas: los protozoos actúan como depredadores que regulan selectivamente su abundancia (Fuentes et al., 2016; Domínguez et al., 2012), pero estos microorganismos fotosintéticos pueden desarrollar estrategias de defensa para resistir al pastoreo por parte de los protozoos (Tillmann, 2004).

Las especies de *Nostoc*, por ejemplo, tienen estrategias de supervivencia que las hacen especialmente llamativas. Por ejemplo, son capaces de sobrevivir tanto en ambientes terrestres como acuáticos, debido a su tolerancia a la desecación, un estado de latencia en el que pueden permanecer por largos periodos de tiempo y del que pueden salir ilesas tan pronto tengan a su disposición agua en estado líquido (Dodds, Gudder y Mollenhauer, 1995).

Además de su capacidad de supervivencia, *Nostoc*, también conocida como cushuro, es una cianobacteria de gran importancia en distintas áreas por sus múltiples aplicaciones. Se utiliza en la agricultura por su capacidad de fijar nitrógeno del aire, mejorando la fertilidad del suelo y su estabilidad estructural. En el área farmacéutica, se emplea en la producción de compuestos bioactivos con propiedades antioxidantes y anticancerígenas. También, se usa como aditivo alimentario natural por sus propiedades espesantes y estabilizantes, y como fuente de alimento en algunas culturas por su alto contenido nutricional en aminoácidos y vitaminas B1, B2, B5 y B8 (Ponce, 2014; Corpus et al., 2021).

Sin embargo, esta característica no exime a las cianobacterias de la depredación por parte de otros microorganismos como los protozoarios. Estos son capaces de ingerirlas mediante fagocitosis, es decir, forman una vacuola alimentaria que rodea a la presa, a través de la creación de una corriente de agua que extrae partículas o, simplemente, por ataque y consumo directo (Dryden y Wright, 1987).

Para entender la naturaleza de esta interacción, existe un ejemplo peculiar. Mutalipassi et al. (2021) determinaron en su estudio que, en presencia del protozoo *Solenicola setigera*, una diatomea puede carecer de cloroplastos, lo que permite al protozoo sin cloroplastos encontrar refugio y obtener beneficios al alimentarse de los exudados que libera la diatomea. Se cree que la cianobacteria vinculada, *Synechococcus* sp., proporciona al protozoo nitrógeno reducido para su sustento.

Otro ejemplo que ocurre de forma natural en el ambiente es cuando una cianobacteria no llega a ser digerida por el protozoario que la fagocita. Esta puede incorporarse al cuerpo unicelular del que se convierte en huésped y continuar realizando la fotosíntesis y, así, leproporciona los compuestos sintetizados al primero (Martínez y Ramírez, 2011).

La interacción entre los protozoarios y las cianobacterias tiene un impacto significativo en la dinámica de la población y la producción de biomasa algal tanto en el ambiente como en el laboratorio. En el ambiente, los protozoos pueden desempeñar un papel importante al mantener el equilibrio entre la producción y el consumo de estos microorganismos en los ecosistemas acuáticos. Además, actúan como eslabones intermedios en la cadena alimentaria e, incluso, facilitan el flujo de compuestos de carbono y elementos minerales, como nitrógeno y fósforo, a través de su actividad metabólica directa e indirecta (Porter et al., 1985). En el ecosistema natural, al igual que todos los microorganismos, desempeñan un rol para mantener el equilibrio y los servicios ambientales de los ecosistemas implicados en la transferencia de nutrientes.

Sin embargo, su capacidad para regular las poblaciones de microorganismos fotosintéticos influye directamente en la producción masiva de biomasa algal y, por lo tanto, en la eficiencia de las aplicaciones industriales relacionadas (Day et al., 2012; Tillman, 2004; Zhao et al., 2021). De hecho, las poblaciones de cianobacterias y ciliados están influenciadas por la cantidad equilibrada de depredación entre ellos. Desviaciones de este equilibrio pueden llevar a aumentos o disminuciones en una de las poblaciones (Azuma et al., 2023).

Precisamente por ser la causa de la disminución de la población algal, la presencia de protozoos es una problemática por enfrentar en la obtención de biomasa algal a pequeña o gran escala. Se han diseñado métodos para controlar la propagación de protozoarios, como

el uso de filtros en estanques de canales abiertos para evitar la entrada de protozoos o el tratamiento del medio con sulfato de quitina (Erkelens et al., 2014).

El crecimiento de ciliados en medios de cultivo para microalgas filtrados es significativamente menor al que se desarrolla en medios de cultivo no tratados. Además, frente a estos organismos depredadores, las cianobacterias poseen características químicas que contrarrestaran el efecto del pastoreo, como la producción de compuestos tóxicos (Zhao et al., 2021; Urrutia et al., 2013). Como contraparte, el pastoreo de protozoos sobre cianobacterias puede resultar determinante para el control de la proliferación de algas nocivas (Wei et al., 2022), sobre todo en el ambiente.

En cualquier caso, es importante la obtención de un cultivo que contenga una única especie libre de contaminantes y de otros microorganismos (cultivo axénico) para estudiar y caracterizar sus propiedades y comportamiento, más aún si se tienen fines de bioprospección. Una estrategia eficiente y de bajo costo es la aplicación de antibióticos para eliminar una gran variedad de contaminantes o eliminar protozoarios por medio de un tratamiento de alta alcalinidad (De Moura Sena et al., 2010).

Es relevante detectar de manera temprana a los protozoarios en un cultivo algal y aplicar las medidas de control apropiadas. Existen otros métodos preventivos eficaces como los que se han aplicado a cultivos de *Nannochloropsis oculata*: la aplicación de FlowCAM en cultivos densos, que es capaz de detectar ciliados de pequeño y gran tamaño (Day et al., 2012).

A pesar de su relevancia, existe una falta de conocimiento sustancial sobre la evolución e interacción entre distintos microorganismos en cultivos monoalgales (Fuentes et al., 2016). Por ello, se busca contribuir a cerrar la brecha de conocimiento referente a cómo son la interacción y la evolución de la población del protozario ciliado con la de una cianobacteria como *Nostoc* sp. y cómo gestionar de forma óptima los cultivos monoalgales en presencia de paramecios. Así se garantizarían la rentabilidad económica y operativa en la obtención de biomasa para aplicaciones comerciales y la biomasa cianobacteriana podría convertirse en una opción competitiva en distintos mercados (Lutzu y Dunford, 2018; Escobedo y Calderón, 2021).

Por tanto, el comprender cómo la presencia y la proliferación de estos depredadores microbianos puede influir en el crecimiento de las cianobacterias puede ser clave para la producción de biomasa. Adicionalmente, podría tener implicaciones tanto en el ámbito industrial como en el ecológico, que abarcan desde la producción de biocombustibles hasta la restauración de ecosistemas acuáticos (Erkelens et al.,2014; Day et al., 2012). En este contexto, se pretendió proporcionar respuesta a una gran interrogante: ¿Cómo influyen las condiciones de cultivo de *Nostoc* sp. en el crecimiento de la población de un paramecio que se alimenta de esta cianobacteria?

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1.OBJETIVO GENERAL:**

Evaluar el crecimiento poblacional de *Paramecium* sp. en cultivos de *Nostoc* sp. a escala laboratorio.

### **4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

- Examinar el crecimiento poblacional de *Paramecium* sp. en cultivos de *Nostoc* sp. en medios de cultivo sólido, semisólido y líquido, en presencia o ausencia de compuestos nitrogenados a escala de laboratorio mediante recuento celular.
- Evaluar el tratamiento de cultivo de *Nostoc* sp. que minimice el crecimiento del protozoo.

## **5. MATERIALES Y MÉTODOS**

La investigación se centró en la evolución de la población de un paramecio en un cultivo de *Nostoc* sp., con el objetivo de comprender cómo las condiciones de incubación impactan en el crecimiento de este protozoo. También, se exploró el efecto del cultivo en un medio enriquecido con compuestos nitrogenados sobre el desarrollo de estos microorganismos. El enfoque del estudio se fundamentó en la dinámica poblacional del protozoo en presencia de *Nostoc* sp. Además, se utilizaron gráficos estadísticos para visualizar las tendencias y patrones emergentes.

### 5.1. Colecta de muestras de *Nostoc* sp.

Los muestreos se realizaron a lo largo de la vía Quito-Papallacta, dentro de los límites de la provincia de Pichincha. Las muestras se recolectaron en el punto geográfico -0.382834, -78.194232, al lado derecho de la carretera en dirección a Papallacta, pasando el puente por la vía antigua, al lado derecho de la vía y cercano a vegetación y fuentes de agua (Figura 1).



**Figura 1.** Recolección de muestras de *Nostoc* sp. en Papallacta.

Se buscaron cepas de *Nostoc* sp. que se desarrollasen sobre un sustrato terrestre, cercano a fuentes de agua o a la carretera y sobre césped. Antes de colectar las muestras, se evaluaron las características morfológicas macroscópicas de *Nostoc* sp. Estas incluyeron colonias gelatinosas con una coloración variada, desde el verde-azul al amarillo-marrón o marrón oscuro y con una forma esférica (etapa vegetativa) o irregular (Laughinghouse et al., 2019). Una vez inspeccionadas, las colonias fueron tomadas manualmente, con guantes, y

depositadas en recipientes herméticos para ser transportadas al laboratorio de Ficología de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador. En el laboratorio, se llevó a cabo la exclusión de cualquier componente ajeno a las macro-colonias de *Nostoc* sp. como piedras pequeñas, restos vegetales e insectos muertos (Cadena et al., 2013).

## 5.2. Evaluación de las características morfológicas de *Nostoc* sp.

Una vez en el laboratorio, se procedió a describir las diversas colonias obtenidas, categorizándolas según su relación con el sustrato. Esta descripción abarcó la evaluación de características como textura, color, tamaño y apariencia. Además, mediante el uso de un microscopio óptico de marca Olympus, se observaron detalladamente estructuras distintivas de las cianobacterias, tales como heterocistos, acinetos y células vegetativas. Se identificaron y clasificaron los morfotipos pertenecientes al género *Nostoc* de acuerdo a cómo se presentaron: esférico-gelatinoso (I), amorfo-gelatinoso (II), verrugoso verde (III), verrugoso negro (IV), globoso (V) y granuloso-gelatinoso (VI) (Cadena et al., 2013).

## 5.3. Preparación del inóculo

Para preparar el inóculo, se homogenizaron 62,5 g de biomasa perteneciente al morfotipo verrugoso verde (Figura 2), con 500 ml de medio BG11 (con nitrógeno) (Cadena et al., 2013). La biomasa homogenizada a utilizar pasó por una inspección previa a la siembra, para garantizar la presencia del protozoario. Además, se realizó la estandarización de su recuento mediante el uso de una cámara de Sedgewick-Rafter para determinar la cantidad inicial de protozoarios presentes en el inóculo.



**Figura 2.** *Nostoc* sp. morfotipo verde-rugoso recolectado en Papallacta.

#### **5.4. Evaluación del efecto del medio de cultivo de *Nostoc* en la evolución de la población de *Paramecium* sp.**

Se examinó, por triplicado, el efecto de medios sólido, semisólido y líquido, con y sin fuente de nitrógeno en el cultivo de *Nostoc* sp. en el crecimiento de la población de *Paramecium* sp. por un periodo de un mes. Los medios de cultivo utilizados fueron BG11 y BG11<sub>0</sub> (sin nitrógeno).

Para los tratamientos en medios sólidos y semisólidos, se dividió con un marcador la placa Petri en cuatro partes iguales. Se prepararon, así, tres placas por consistencia y medio de cultivo. En la intersección de cada caja Petri, se sembraron 200  $\mu$ l de inóculo con el uso de una micropipeta automática (Cadena et al., 2013).

Para la cuantificación de los protozoarios en medio sólido y semisólido en el tiempo, se transfirió la muestra de un cuadrante a un portaobjetos con un asa bacteriológica y se fijó con una gota de formol al 2% (Rincón et al., 2007). Esto se realizó tres veces por semana por un periodo de un mes. Además, se marcó con una “X” el cuadrante cuyo recuento ya se realizó, para evitar tomar la muestra de un cuadrante cuya población ya hubiera sido afectada. Así, se procedió al recuento por barrido de los protozoos en el tiempo.

Para los tratamientos en medio líquido, se siembra 65 ml del inóculo en cada uno de seis matraces de Erlenmeyer de 500 ml con 300 ml del medio respectivo (BG11 y BG11<sub>0</sub>). Se mantuvo a los recipientes conformados con aireación las 24 horas bajo un fotoperíodo 12:12 horas (Cadena et al., 2013).

Para la cuantificación de los protozoarios en medio líquido con una frecuencia de tres veces por semana, se colocaron 2 ml de la muestra en un tubo Eppendorf de 2 ml y se fijaron con una gota de solución de formol al 2%. Se homogenizaron sobre la cámara Sedgwick-Rafter hasta llenar la totalidad de la cámara, cuidando de no dejar burbujas de aire (CSIRO, 2023).

El crecimiento de la población de *Paramecium* sp. se monitoreó mediante el conteo periódico de los protozoarios en la misma cámara de Sedgwick-Rafter a lo largo de todo el

ensayo (Rincón et al., 2007). Los resultados fueron colocados en una hoja de cálculo en el programa Microsoft Excel para realizar las curvas de crecimiento respectivas.

### 5.5. Comparación del crecimiento de *Paramecium* sp. entre tratamientos

Para calcular el número de protozoarios en cada tratamiento y en diferentes fechas, se utilizó la ecuación:

$$\text{Densidad (células/ml)} = \frac{\text{Número de células contadas}}{\text{Número de cuadrantes barridos}} \times \frac{1000 \text{ cuadrantes}}{1}$$

Al realizar el recuento, se consideraron únicamente aquellas celdas en contacto con el borde superior y lateral izquierdos de cada cuadrante (Merino, 2024; CSIRO, 2023).

Al finalizar el ensayo, se realizó una curva de crecimiento de cada tratamiento. Los datos fueron organizados en una hoja de cálculo, con una columna para las fechas de muestreo y otra para los recuentos correspondientes. Además, se calcularon los promedios y las desviaciones estándar, para evaluar la variabilidad en los datos, su consistencia y determinar si se registraron cambios significativos a lo largo del tiempo. Ingresados los resultados en el programa Microsoft Excel, se realizó su representación gráfica para su posterior interpretación. Se utilizó el programa estadístico Python para realizar el análisis de t-student para comparar entre pares de muestras independientes.

## 6. RESULTADOS

La densidad poblacional de *Paramecium* sp. en cultivos de líquidos de *Nostoc* sp. bajo las condiciones ensayadas a lo largo del mes de experimentación consta en la Tabla 1 y la Figura 3.

En el medio de cultivo enriquecido con compuestos nitrogenados (BG11), la densidad poblacional de protozoarios registró un periodo de adaptación marcado que duró hasta el día 4, un periodo de crecimiento exponencial que se extendió hasta el día 15, momento en que alcanzó su punto máximo, con un promedio de 522.222 +/- 277.389 células/ml, partiendo de una densidad inicial de 11.111 +/- 23.570 células/ml. Sin embargo, casi inmediatamente después de alcanzar la fase estacionaria, inició la fase de declive que se

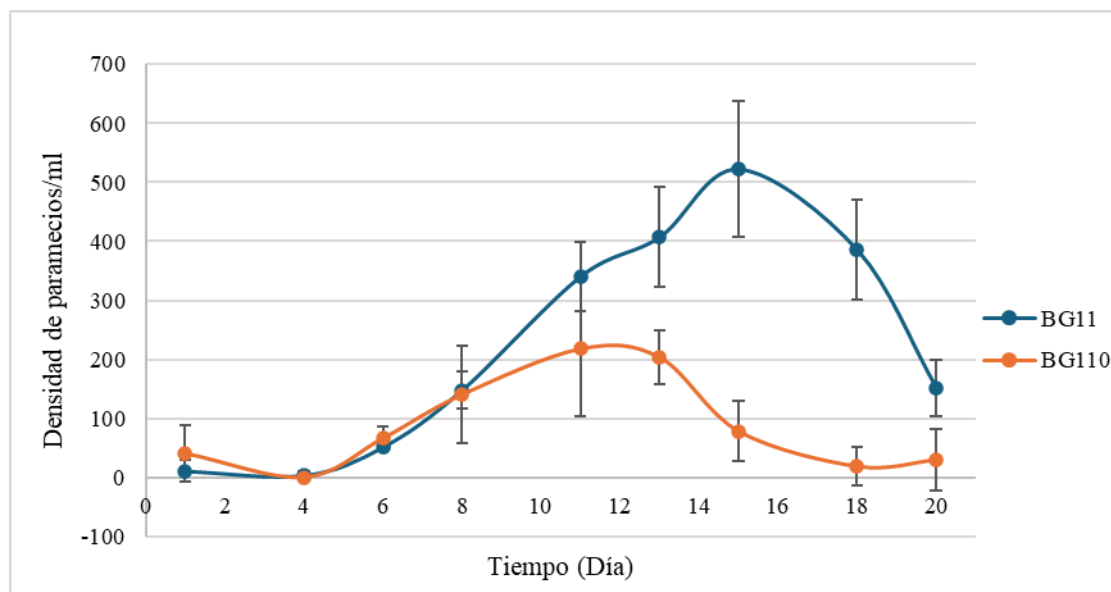
registró hasta la desaparición de *Nostoc* sp. en el día 20 con una densidad de 151.852 +/- 47.429 células/ml.

**Tabla 1.**

Densidad promedio y desviación estándar de densidad de *Paramecium* sp. (en células/ml) en cultivos líquidos de *Nostoc* sp. en medio BG11 con y sin nitrógeno.

Tiempo (Día)	BG11		BG11 <sub>0</sub>	
	Promedio de densidad poblacional (paramecios/ml)	Desviación estándar de la densidad poblacional	Promedio de densidad poblacional (paramecios/ml)	Desviación estándar de la densidad poblacional
1	11.111	19.245	40.741	46.923
4	3.704	6.415	0.000	0.000
6	51.852	6.415	66.667	19.245
8	148.148	32.075	140.741	82.087
11	340.741	59.200	218.519	114.800
13	407.407	85.007	203.704	44.905
15	522.222	115.530	77.778	51.092
18	385.185	85.007	18.519	32.075
20	151.852	47.329	29.630	51.320

En el medio de cultivo sin compuestos nitrogenados (BG11<sub>0</sub>), que partió de una densidad de 40.741 +/- 52.116 células/ml, se registró también una fase de latencia en los cuatro primeros días. La fase de crecimiento exponencial se extendió casi hasta el día 11, donde se detectó la densidad máxima de protozoarios con un promedio de 218.519 +/- 110.694 células/ml. Después del día 13, se evidenció una disminución en la población, que coincidió con el día 15 que marcó la última ocasión en que se observó *Nostoc* en el medio de cultivo y donde se registró una densidad de 77.778 +/- 51.092 células/ml.



**Figura 3.** Evolución de la densidad de *Paramecium* sp. en cultivos de *Nostoc* sp.

En lo que respecta a la comparación entre las curvas de crecimiento de *Paramecium* sp. en BG11 y BG11<sub>0</sub>, resultaron particularmente interesantes los días 13, 15, 18 y 20 en los que se hicieron evidentes diferencias altamente significativas entre ambos tratamientos ( $g_{13} = 15.743$ ,  $t_{13} = 3.032$ ,  $p_{13} = 0.008 < 0.01$ ;  $g_{15} = 16$ ,  $t_{15} = 4.618$ ,  $p_{15} = 0.0003 < 0.01$ ;  $g_{18} = 8.720$ ,  $t_{18} = 6.764$ ,  $p_{18} = 9.565 \times 10^{-5} < 0.01$ ;  $g_{20} = 13.588$ ,  $t_{20} = 3.498$ ,  $p_{20} = 0.004 < 0.01$ ). El crecimiento de *Paramecium* sp. en BG11 fue significativamente mayor que en BG11<sub>0</sub>.

Contrario a lo que sucedió en los medios líquidos, en los medios sólidos y semisólidos de BG11 y BG11<sub>0</sub>, no se registró la presencia de protozoarios a lo largo de toda la experimentación, pese a que los medios sólidos se inocularon con un promedio de  $133 \pm 120.185$  células/ml y los semisólidos con  $855 \pm 167,774$  células/ml. Debe hacerse notar que *Nostoc* sp. estuvo presente en los cultivos únicamente durante la primera semana del ensayo. Además, el inóculo inicial utilizado en el medio sólido correspondió al recuento de la muestra homogenizada en medio BG11 el día del montaje del ensayo. Con base en los resultados observados en medio sólido, se decidió evaluar la evolución de los protozoarios en medio semisólido, empleando como inóculo una alícuota de uno de los matraces del tratamiento con BG11 que presentaba mayor densidad de protozoarios ( $855 \pm 167,774$  células/ml). Sin embargo, no llegó a registrarse la presencia de protozoarios a partir del día 4 ni durante el resto de la experimentación, tanto en medio sólido como semisólido.

## 7. DISCUSIÓN

Los paramecios son organismos unicelulares ciliados, ampliamente distribuidos en diversos hábitats, tales como el agua y el suelo y, a menudo, se hallan en simbiosis con otros microorganismos (Olmo, 2003; Ñurinda, 2023). Su capacidad de moverse, esencial para la búsqueda de alimento y la exploración del entorno, se les atribuye a los cilios que recubren su cuerpo (Piedrahita, 2013). Estas estructuras les facilitan desplazarse en medios líquidos (Gállego, 2012), pero resultaron poco útiles en medios sólidos y semisólidos en este estudio.

Se pretendió evaluar el comportamiento de los paramecios en medios de cultivo de consistencias distintas para entender cómo estos organismos se adaptan a un entorno diferente y si resulta o no beneficioso para su crecimiento en el contexto de aislamiento y purificación de un cultivo cianobacteriano como el de *Nostoc* sp. Además, existía el precedente de buenos resultados de aislamiento de cianobacterias de este género mediante, precisamente, el uso de medios semisólidos, porque ganaban competitividad frente a microalgas consideradas fastidiosas (López et al., 2020). Por ello, constituía una oportunidad de comprobar cuán efectivo resultaba cambiar la consistencia del medio para intentar deshacerse del protozooario depredador de *Nostoc* sp.

El cultivo de protozoarios ciliados de vida libre a escala de laboratorio requiere condiciones específicas. Los paramecios suelen no adaptarse a los factores impuestos en ensayos *in vitro*, además de que su desarrollo depende en gran medida de una supervisión continua, por lo que supone una tarea compleja y minuciosa (Marín et al., 2017). Este hecho plantea interrogantes sobre los requisitos de este organismo para su desarrollo.

La consistencia del medio limita la captura de alimento, la eliminación de desechos o la capacidad de movilizarse, afectando negativamente al crecimiento de los paramecios (Sanabria, 2018). Esta preferencia por ambientes acuosos se corresponde con la biología conocida de los protozoarios ciliados: habitan principalmente cuerpos de agua dulce o aguas estancadas, donde las condiciones para su supervivencia y reproducción son óptimas (López, 1962). Estos factores resultaron determinantes para entender por qué no proliferaron los ciliados en los medios sólidos y semisólidos ensayados, y cómo estos afectan en su desarrollo dependiendo de las condiciones impuestas.

Los compuestos nitrogenados presentes en los medios de cultivo líquidos tienen un impacto significativo en la proliferación de protozoarios, lo que representa un desafío en la obtención de cultivos de *Nostoc* sp., debido a que los protozoarios pueden usar como fuente de alimento bacterias, algas, cianobacterias, materia orgánica e, incluso, protozoos de menor tamaño (Vargas, 1990; Aceves, 2007). El contenido de nitrógeno en el medio es crucial para el crecimiento de la cianobacteria: es esencial para la síntesis de proteínas y la tasa de crecimiento celular (Touloupakis et al., 2022).

En el medio BG11, enriquecido con compuestos nitrogenados, se proporcionó una mayor cantidad de nutrientes a los protozoarios, lo que estimuló su proliferación y resultó en una densidad de organismos mayor en comparación con el medio sin nitrógeno. Esta relación directa entre la disponibilidad de nitrógeno, el crecimiento de *Nostoc* y la proliferación de protozoarios subraya la importancia de controlar la composición del medio de cultivo para optimizar el crecimiento de la cianobacteria y minimizar la competencia de los depredadores microbianos.

El tratamiento que demostró una reducción significativa en el desarrollo de protozoarios fue el medio de cultivo BG110. Asimismo, tanto en medios sólidos como semisólidos con y sin presencia de nitrógeno, se observó una notable disminución en la población de protozoarios, lo que sugiere que estos tratamientos podrían ser adecuados para el aislamiento de cianobacterias. Se debe considerar que no se evidenciaron protozoarios en ningún recuento posterior a la fecha en la que se inoculó en medio sólido y semisólido, a pesar de que disponían de *Nostoc* como fuente de alimento hasta la primera semana del ensayo.

En su ambiente natural, algunas cianobacterias tienen un crecimiento anual lento, como *Nostoc flageliforme* (Cadena et al., 2013). Esto sugiere que, en condiciones de laboratorio, los medios sólido y semisólido pueden no ser ideales para el crecimiento de algunas cepas de *Nostoc* obtenidas del medio natural. Este pudo ser el motivo por el que la cianobacteria utilizada en este experimento no se desarrolló en las dos consistencias más firmes de los medios de cultivo.

Por otro lado, un estudio similar realizado por González et al. (2023) señaló que, al utilizar BG11 como medio de cultivo con muestras ambientales y bajo condiciones de

agitación e iluminación continua, se favorece la proliferación de microalgas, mientras que, con un fotoperíodo, aumenta la presencia de amebas, rotíferos, protozoarios y metazoos. Además, se destacó que la aireación puede contribuir a la evaporación de la muestra, lo que dificulta el crecimiento de los microorganismos. Estos hallazgos se asemejan a los del experimento realizado, en el que se utilizó un fotoperíodo 12/12, un factor que pudo haber contribuido a la proliferación de protozoarios y a la disminución de la población de *Nostoc*.

Las diferencias entre los medios BG11 y BG11<sub>0</sub> en la proliferación de protozoarios en cultivos líquidos de *Nostoc* fueron notables en fases particulares del crecimiento de los protozoos. Se observó que, en BG11, la curva alcanzó su pico máximo el día 15, con una densidad de 522.222 células/ml, mientras que, en BG11<sub>0</sub>, el pico máximo ocurrió el día 11, con una densidad máxima de 218.519 células/ml. En los días evaluados (13, 15, 18 y 20), la diferencia entre los tratamientos fue estadísticamente significativa, indicando una respuesta diferencial a los tratamientos, con un crecimiento de protozoarios mucho mayor en presencia que en ausencia de compuestos nitrogenados en el medio.

Comprender el comportamiento de los protozoarios en un cultivo de *Nostoc* podría facilitar el escalamiento de la cianobacteria. Frente a esto, se mencionan diferentes opciones para el control de la población de protozoarios. De Moura et al. (2010) señalaron la aplicación de un tratamiento de alta alcalinidad. Este puede afectar a los protozoarios y a la cianobacteria de formas diferentes. En general, los protozoarios son sensibles a cambios de pH. La mayoría prefieren un pH ligeramente ácido a neutro. Por su parte, las cianobacterias son capaces de adaptarse a un amplio rango de pH. Algunas especies pueden crecer mejor en un pH ligeramente alcalino o adaptarse a un pH más ácido (Marín et al., 2017; Unzaga y Zonta, 2023; Baldanta, 2022), con lo que la aplicación de tratamientos de alta alcalinidad no afectaría a la proliferación de la cianobacteria, pero facultaría la reducción de la población de los paramecios.

Por otra parte, se ha propuesto el uso de antibióticos, como la amoxicilina, como una estrategia eficiente y de bajo costo (Aguirre et al., 2007). El antibiótico actuaría en la inhibición de la síntesis de la pared celular y ocasionaría la destrucción de las bacterias (Calvo y Martínez, 2009), lo que disminuiría una de las fuentes de alimento de los protozoarios. Sin embargo, se ha propuesto el uso de 1 ml de antibiótico para 250 ml de medio de cultivo (Aguirre et al., 2007). El uso de antibióticos en mayor proporción puede

afectar negativamente a las bacterias asociadas con la cianobacteria, lo que afectaría a la dinámica simbiótica y, por ende, al crecimiento de *Nostoc*.

No obstante, frente a condiciones adversas, los protozoarios han desarrollado estrategias de supervivencia, como la capacidad de enquistarse (Cairns y Ruthven, 1972). Este mecanismo puede dificultar el recuento si lo que se requiere es estimar la densidad poblacional. Los protozoos, en su forma enquistada, se pueden llegar a confundir con materia orgánica u ocasionar una interpretación errónea al no detectarlos. Esto podría significar no aplicar un método de control oportuno, lo que tendría serias repercusiones si se requiere de la obtención de biomasa cianobacteriana.

Este estudio logró evaluar del desarrollo de la población de *Paramecium* sp. en cultivos de *Nostoc* sp. en diferentes medios de cultivo a escala de laboratorio. Se evidenció que en que la consistencia del medio, así como la disponibilidad de nitrógeno, influyen de manera significativa en el desarrollo de los protozoarios. El medio BG11<sub>0</sub> demostró ser más efectivo para minimizar el crecimiento del protozoo, lo que sugiere que es adecuado para el aislamiento de la cianobacteria. Además, al entender el comportamiento de los paramecios en distintas condiciones de cultivo y cómo estas influyen en el desarrollo de *Nostoc* sp. proporciona información relevante respecto a la optimización de cultivos de esta cianobacteria para investigaciones futuras.

## 8. CONCLUSIONES

*Paramecium* sp., un protozoo ciliado, no logró proliferar de forma eficaz en medio de cultivo sólido y semisólido con *Nostoc* sp. como fuente de alimento, lo que sugiere que la consistencia del medio de cultivo y la disponibilidad de nutrientes son relevantes para su desarrollo.

Los protozoarios ciliados reflejan una preferencia marcada por medios acuosos y nula adaptabilidad a medios sólidos y semisólidos, claro indicativo de su fisiología, lo que resulta beneficioso si lo que se busca es liberar al cultivo de la cianobacteria de *Paramecium* sp.

El uso de compuestos nitrogenados en el medio de cultivo (BG11) favoreció la multiplicación de los protozoarios, mientras que la ausencia de compuestos nitrogenados (BG11<sub>0</sub>) influyó significativamente en una menor proliferación de *Paramecium* sp. Esto indica la relevancia de la disponibilidad de nitrógeno para un adecuado cultivo de *Nostoc* sp. en paralelo al control de la población de los protozoarios ciliados que puedan alimentarse de la cianobacteria.

La diferencia entre las densidades poblaciones de *Paramecium* sp. entre los medios de cultivo revela la importancia de la composición del medio de cultivo para optimizar el desarrollo de la cianobacteria y minimizar la presencia de depredadores.

El medio de cultivo sin compuestos nitrogenados (BG11<sub>0</sub>) redujo la población de los protozoarios, lo que sugiere que este podría ser útil para el aislamiento de cianobacterias a escala de laboratorio.

El uso de tratamientos adicionales, como aplicación de antibióticos o de alta alcalinidad, son propuestas para el control de los depredadores de *Nostoc* sp. Sin embargo, aún se debe evaluar su efectividad o efectos secundarios en otros microorganismos presentes en muestras ambientales de la cianobacteria.

## 9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aceves, M. (2007). La cadena trófica en los sistemas de depuración biológicos: ¿Quién se come a quién?. *Tecnología del agua*, 27(285), 30-41. Recuperado de [https://www.bibliotecagbs.com/archivos/la\\_cadena\\_trofica.pdf](https://www.bibliotecagbs.com/archivos/la_cadena_trofica.pdf)
- Aguirre, N., Palacio, J., Correa, I., y Hernández, E. (2007). Ensayos de bioestimulación algal con diferentes relaciones nitrógeno: fósforo, bajo condiciones de laboratorio. *Revista Ingenierías Universidad de Medellín*, 6(11), 11-21. Recuperado de <https://dialnet.unirioja.es/download/articulo/4845726.pdf>

- Azuma, Y., Tsuru, S., Habuchi, M., Takami, R., Takano, S., Yamamoto, K., y Hosoda, K. (2023). Synthetic symbiosis between a cyanobacterium and a ciliate toward novel chloroplast-like endosymbiosis. *Scientific Reports*, 13(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-33321-w>
- Baldanta, S. (2022). *Desarrollo de herramientas biotecnológicas en cianobacterias*. Disertación doctoral, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España. Recuperado de <https://docta.ucm.es/entities/publication/0aac303b-c959-40c9-8d94-bd89435955d7>
- Cadena, M., Molina, D., Carvajal, A., Ontaneda, D. y Morales, E. (2013). Bioprospección de macrocolonias de *Nostoc* sp. en Los Andes ecuatorianos. *Acta Botanica Venezuelica*, 36(2), 287-307. <https://www.redalyc.org/pdf/862/86238659013.pdf>
- Cairns, J., y Ruthven, J. A. (1972). A test of the cosmopolitan distribution of fresh-water protozoans. *Hydrobiologia*, 39, 405-427. <https://doi.org/10.1007/BF00046653>
- Calvo, J., y Martínez, L. (2009). Mecanismos de acción de los antimicrobianos. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 27(1), 44-52. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2008.11.001>
- Corpus, A., Alcantara, M., Celis, H., Echevarria, B., Paredes, J., y Paucar, L. (2021). Cushuro (*Nostoc sphaericum*): Hábitat, características fisicoquímicas, composición nutricional, formas de consumo y propiedades medicinales. *Agroindustrial Science*, 11(2), 231-238. Recuperado de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8085154>
- CSIRO. (2023). *Recuento de células usando una cámara Sedgwick-Rafter*. Métodos y Materiales de ANACC. Disponible en: <https://research.csiro.au/anaccmethods/phycological-techniques/biomass-estimation/sedgwick-rafter/>
- Day, J., Thomas, N., Achilles-Day, U., y Leakey, R. (2012). Early detection of protozoan grazers in algal biofuel cultures. *Bioresource Technology*, 114, 715–719. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.03.015>

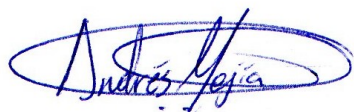
- De Moura Sena, L., Rojas, D., Montiel, E., González, H., Moret, J., y Naranjo, L. (2010). A strategy to obtain axenic cultures of *Arthrospira* spp. cyanobacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(5), 1045–1053. <https://doi.org/10.1007/s11274-010-0549-6>
- De Moura, L., Rojas, D., Montiel, E., González, H., Moret, J., y Naranjo, L. (2010). A strategy to obtain axenic cultures of *Arthrospira* spp. cyanobacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(5), 1045–1053. <https://doi.org/10.1007/s11274-010-0549-6>
- Dodds, W., Gudder, D., y Mollenhauer, D. (1995). THE ECOLOGY OF NOSTOC. *Journal of Phycology*, 31(1), 2–18. <https://doi.org/10.1111/j.0022-3646.1995.00002.x>
- Domínguez, M., Escalante, A., Folabella, A., y Zamora, Á. (2012). Selective grazing by protists upon enteric bacteria in an aquatic system. *PubMed*, 44(1), 43–48. <https://doi.org/10.1590/s0325-75412012000100009>
- Dryden, R., y Wright, S. (1987). Predation of cyanobacteria by protozoa. *Canadian Journal of Microbiology*, 33(6), 471–482. <https://doi.org/10.1139/m87-080>
- Erkelens, M., Ball, A., y Lewis, D. (2014). The influence of protozoa with a filtered and non-filtered seawater culture of *Tetraselmis* sp., and effects to the bacterial and algal communities over 10 days. *Bioresource Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.09.115>
- Escobedo, M., y Calderón, A. (2021). Biomasa microalgal con alto potencial para la producción de biocombustibles. *Scientia Agropecuaria*, 12(2), 265-282. <https://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2021.030>
- Fuentes, J., Garbayo, I., Cuaresma, M., Montero, Z., González, M., y Vílchez, C. (2016). Impact of Microalgae-Bacteria interactions on the production of algal biomass and associated compounds. *Marine Drugs*, 14(5), 100. <https://doi.org/10.3390/md14050100>
- Gállego, L. (2012). *El lenguaje de los animales*. En L. Gállego (Ed.), *Lengua y los lenguajes*. (Estudios interdisciplinarios, No. 38, pp. 27-41). Madrid: Universidad Pontificia Comillas. Recuperado de <http://digital.casalini.it/2938799>

- González, M., Rengifo, A., Marín, D., y Ramirez, L. (2023). Reconocimiento de algas, protozoos y metazoos como bioindicadores ambientales. In *Editorial UNIMAR eBooks* (pp. 207–220). <https://doi.org/10.31948/editorialunimar.208.c361>
- Kuosa, H. (1990). Protozoan grazing on pico- and nanophytoplankton in the northern Baltic Sea: direct evidence from epifluorescence microscopy. *Archiv Fur Hydrobiologie*, 119(3), 257–265. <https://doi.org/10.1127/archiv-hydrobiol/119/1990/257>
- Laughinghouse, H., Berthold, D., Marble, S., y Saha, D. (2019). Biología y Manejo de *Nostoc* (Cyanobacteria) en Viveros e Invernaderos: SS-AGR-431-Span/AG432, 4/2019. *EDIS*, 2019(2). <https://edis.ifas.ufl.edu/publication/AG430>
- López, E. (1962). Protozoarios ciliados de México II. Notas sobre la biología de *Tokophrya quadripartita* (Claparede et Lachmann, 1861) Bütschli, 1889 (Ciliata: Suctorida), en aguas dulces de México. *Revista De Biología Tropical*, 10(1), 1–10. <https://doi.org/10.15517/rev.biol.trop.1962.30407>
- López, K., Ontaneda, D. y Astorga, D. (2019). *Atlas de microalgas y cianobacterias Embalse Salve Faccha*. Quito, Ecuador: Centro de Publicaciones de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
- Lutzu, G. A., y Dunford, N. T. (2018). Interactions of microalgae and other microorganisms for enhanced production of high-value compounds. *Frontiers in Bioscience*, 23(8), 1487–1504. <https://doi.org/10.2741/4656>
- Marín, J., Rincón, N., Díaz, L., y Morales, E. (2017). Cultivo de protozoarios ciliados de vida libre a partir de muestras de agua del Lago de Maracaibo. *Impacto Científico*, 12(1), 157-170. Recuperado de <https://biblat.unam.mx/hevila/Impactocientifico/2017/vol12/no1/11.pdf>
- Martínez, A., y Ramírez, R. (2011). Relaciones dañinas, neutras o positivas: el caso de los microorganismos, los insectos y las plantas. *Elementos*, 84, 53-58.
- Merino, A. (2024). *Cuantificación de fitoplancton Sedwick Rafter*. Scribd. Recuperado de <https://es.scribd.com/document/376305876/Cuantificacion-de-Fitoplancton-Sedwick-Rafter>

- Mutalipassi, M., Riccio, G., Mazzella, V., Galasso, C., Somma, E., Chiarore, A., de Pascale, D., y Zupo, V. (2021). Symbioses of cyanobacteria in marine environments: ecological insights and biotechnological perspectives. *Marine Drugs*, 19(4), 227. <https://doi.org/10.3390/md19040227>
- Ñurinda, I. (2023). *Parásitos protozoarios de importancia en la salud pública, en ensaladas frescas preparadas en fritangas del distrito III de Managua*. Disertación licenciatura, Universidad Nacional Agraria, Managua, Nicaragua. Recuperado de <https://repositorio.una.edu.ni/4725/1/tnq03n974.pdf.pdf>
- Olmo, J. (2003). *Diversidad local y global de los protozoos ciliados de hábitats de agua dulce*. Disertación doctoral, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España. Recuperado de <https://docta.ucm.es/rest/api/core/bitstreams/b48368b8-3ef1-4d32-806a-d64376fc9995/content>
- Piedrahita, M. (2013). *Implementación y reproducción del protozoario Paramecium sp. en laboratorios de ciencias naturales de educación secundaria*. Tesis de maestría, Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia. Recuperado de <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/21124/71641851.2013.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Ponce, E. (2014). *Nostoc: un alimento diferente y su presencia en la precordillera de Arica*. *Idesia (Arica)*, 32(2), 119-121. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292014000200015>
- Rincón, N., Dupontt, J., y Díaz, L. (2007). Bacterias y protozoarios ciliados de muestras de agua de la Costa Oriental del Lago de Maracaibo. *Bol Centro Investigaciones Biol*, 41(3), 309-322. <https://produccioncientificaluz.org/index.php/boletin/article/view/79>

- Sanabria, A. (2018). *Protozoos de vida libre en Colombia: un análisis de la importancia en las ciencias limnológicas*. Disertación licenciatura, Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Bogotá, Colombia. Recuperado de <https://repository.udistrital.edu.co/bitstream/handle/11349/14964/SanabriaPulidoAlisonYisel2018.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Tillmann, U. (2004). Interactions between Planktonic Microalgae and Protozoan Grazers 1. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 51(2), 156–168. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.2004.tb00540.x>
- Touloupakis, E., Zittelli, G., Benavides, A., y Torzillo, G. (2022). Growth and photosynthetic performance of *Nostoc linckia* (formerly *N. calcicola*) cells grown in BG11 and BG110 media. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 22(4), 795–807. <https://doi.org/10.1007/s43630-022-00353-6>
- Unzaga, J., y Zonta, M. (2023). *Protozoos parásitos de importancia sanitaria: un abordaje transdisciplinar (1 ed.)*. La Plata, Argentina: Edulp.
- Urrutia, P., Agha, R., Cirés, S., Lezcano, M., Sánchez-Contreras, M., Waara, K., Utkilen, H., y Quesada, A. (2013). Effects of harmful cyanobacteria on the freshwater pathogenic free-living amoeba *Acanthamoeba castellanii*. *Aquatic Toxicology*, 130–131, 9–17. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2012.12.019>
- Vargas, R. (1990). Avances en microbiología de suelos: los protozoarios y su importancia en la mineralización del nitrógeno. *Agronomía Costarricense*, 14(1), 121-134. Recuperado de [https://www.mag.go.cr/rev\\_agr/v14n01\\_121.pdf](https://www.mag.go.cr/rev_agr/v14n01_121.pdf)
- Wei, J., Li, X., Xu, X., Xu, W., Chen, Y., Lu, Z., Yang, Z., y Huang, Y. (2022). Elevated temperature mitigates the prolonged effect of high nitrogen on *Microcystis aeruginosa* removal through mixotrophic *Ochromonas gloeopara* grazing. *Science of the Total Environment*, 820, 153267. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153267>
- Zhao, L., Zhang, Y., Geng, X., Hu, X., Zhang, X., Xu, H., Yang, G., Pan, K., y Jiang, Y. (2021). Potential to resist biological contamination in marine microalgae culture:

Effect of extracellular substances of *Nannochloropsis oceanica* on population growth of *Euplotes vannus* and other protozoa. *Marine Pollution Bulletin*, 172, 112868. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.1128>



---

**Firma de la estudiante**

Cristhian Andrés Mejía Zurita  
Quito, 26 de junio de 2024

---

**Firma del director/a de disertación**

PhD. Diana Astorga García  
Quito, 26 de junio de 2024

---

**Firma de la coordinadora de carrera**

Nombre de la coordinadora  
Quito, 26 de junio de 2024