

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

CARRERA DE MICROBIOLOGÍA

**Análisis de diferentes medios y condiciones de cultivo en la composición del
fitoplancton, con énfasis en cianobacterias**

Disertación previa a la obtención del título de Microbióloga

ANA GABRIELA ORTEGA MONTERO

Quito, 2024

Certifico que la Disertación de grado en Microbiología de la Srta. Ana Gabriela Ortega Montero 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, 17 de marzo de 2024

DEDICATORIA

El sudor de su frente me dio de comer. Sus manos sostuvieron las mías de pequeña. Su ejemplo me ha educado, me han enseñado a ser fuerte como ustedes ante cualquier amenaza y sensible antes las injusticias. Me han enseñado entre otras tantas cosas, a caminar en este duro camino que es la vida. ¡Gracias, papás!

AGRADECIMIENTOS

-Somos de días grabados, de momentos bonitos, personas increíbles y sitios inolvidables.

Quiero agradecer, en primer lugar, a mis padres. Sin ellos, nada de esto hubiese sido posible. Gracias por ser un ejemplo de vida, de lucha y de constancia. También, quiero agradecer a mi hermano, por ser una guía; a mi abuelito, por ser mi segundo padre; y a mi ñaña, por ser mi segunda madre, por quererme, guiarme y aconsejarme.

Agradezco a mis amigos dentro y fuera de la Universidad. Gracias por tantos buenos momentos y por crear los mejores recuerdos. A Denis, por ser el mejor amigo, consejero, compañero y por toda la paciencia. A la Chiqui: nunca me había divertido tanto con alguien, como lo he hecho contigo. A la persona que más me ha acompañado en este proceso, quien nunca me dejó sola y siempre ha estado con sus palabras de aliento: gracias, Tiva, por ser la mejor amiga que me dio la vida.

Agradezco a mi directora de tesis, la PhD. Diana Astorga. Gracias por toda la paciencia, por el apoyo y por la ayuda. Mis agradecimientos también a las personas que hicieron que esta investigación fuera posible. Mi agradecimiento hacia todo el equipo profesional de la EPMAPS-Q, por el apoyo logístico en la obtención de las muestras y a la MSc. Diana Ontaneda por los consejos y la ayuda prestada para identificar los taxones. Finalmente, gracias al aval del contrato marco de acceso a recursos genéticos MAE-DNB-2019-0125-A, que hizo posible esta investigación.

TABLA DE CONTENIDOS

1. RESUMEN.....	1
2. ABSTRACT.....	2
3. INTRODUCCIÓN	3
3.1 OBJETIVOS	6
3.1.1 OBJETIVO GENERAL	6
3.1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	6
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	6
4.1 Preparación de medios de cultivo, del inóculo y establecimiento de los diferentes tratamientos a evaluar	6
4.2. Identificación de taxones fitoplanctónicos por visualización directa	8
4.3. Evaluación de la evolución en el tiempo de los taxones presentes en el cultivo en función de las condiciones ambientales simuladas	8
5. RESULTADOS	9
6. DISCUSION.....	14
6.1. Idoneidad del medio para el cultivo de organismos fotosintéticos, con énfasis en las cianobacterias.....	14
6.2. Influencia de las condiciones de incubación en la composición microalgal del cultivo mixto y sus implicaciones para el ecosistema natural	20
7. CONCLUSIONES.....	26
8. BIBLIOGRAFÍA CITADA.....	29
9. ANEXOS.....	37

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Taxones identificados en la muestra fitoplanctónica de origen.....	9
Tabla 2. Variación del pH en los medios líquidos a lo largo de la experimentación.	12
Tabla 3. Microorganismos fotosintéticos viables en medio BG11 sólido y semisólido sometido a diferentes fotoperiodos y pH.....	13

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de tratamientos a evaluar en los medios BG11 y BG11 ₀	7
--	---

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1: Soluciones stock para preparar medios.....	37
1.1 Medio BG11	37
1.2 Medio BG11 ₀	37
Anexo 2: Significancia de la prueba de T student.....	38

1. RESUMEN

Las cianobacterias, también conocidas como algas azules-verdes, son un grupo de bacterias fotosintéticas. Además de servir como indicadoras de la calidad del agua, tienen gran valor en la industria alimenticia, ambiental y farmacológica por ser fuente de sustancias de interés biotecnológico. La distribución de estos microorganismos es de tipo cosmopolita, su forma de vida es planctónica o bentónica, prefieren ambientes dulceacuícolas de aguas alcalinas a neutras con temperaturas entre 15 a 30 °C. En este estudio, se pusieron a prueba diferentes condiciones de cultivo para favorecer el crecimiento de la mayor diversidad cianobacteriana y microalgal a partir de una muestra compuesta de fitoplancton de arrastre de 0.5 m de profundidad. Tras la identificación de los taxones presentes en la muestra de procedencia, se inocularon los organismos fitoplanctónicos en 48 tratamientos. Se probaron dos medios de cultivo, BG11 y BG11₀, en tres consistencias, líquida, sólida y semisólida, dos fotoperiodos (12:12 y 18:6), tres pH (6, 7 y 10) y, exclusivamente en los medios líquidos, se probó presencia y ausencia de aireación. No se registró ningún taxon cianobacteriano en la muestra de procedencia, ni logró desarrollarse ninguno a partir de células de resistencia como los acinetos. Sin embargo, las condiciones de experimentación ensayadas permitieron cultivar todas las microalgas fitoplanctónicas de origen en medio BG11 sólido y semisólido. La diversidad microalgal estuvo distribuida en tres filos, siete familias y 11 géneros, sin diferencia entre consistencias, pero con el pH ácido como condicionante clave para la salud del cuerpo de agua natural en el contexto de cambio climático. Por ahora, los taxones presentes dan cuenta de aguas relativamente claras, de baja eutrofización y poco afectadas por actividades humanas. En cuanto a las mejores condiciones para favorecer el crecimiento algal *in vitro*, sobresalieron particularmente el medio BG11 en estado sólido, fotoperiodo 12:12 y pH alcalino.

Palabras clave: consistencia, cultivo, fitoplancton, fotoperiodo, microalgas, pH.

2. ABSTRACT

Cyanobacteria, also known as blue-green algae, are a group of photosynthetic bacteria. In addition to serving as indicators of water quality, they are of great value in the food, environmental and pharmacological industries as a source of substances of biotechnological interest. The distribution of these microorganisms is cosmopolitan, their life form is planktonic or benthic, and they prefer fresh environments of alkaline to neutral waters with temperatures between 15 to 30 °C. In this study, different culture conditions were tested to favor the growth of the greatest cyanobacterial and microalgal diversity from a composed sample of 0.5 m-depth-phytoplankton. After the identification of taxa in the source sample, phytoplanktonic organisms were inoculated in 48 treatments. Two culture media, BG11 and BG11₀, in three consistencies, liquid, solid and semisolid, two photoperiods (12:12 and 18:6), three pH (6, 7 and 10) and, exclusively in liquid media, presence and absence of aeration were tested. No cyanobacterial taxon was registered in the source sample or developed from resistance cells such as acinetes. However, the experimental conditions allowed the culture of all phytoplanktonic taxa in solid and semisolid BG11 media. The microalgal diversity was distributed in three phyla, seven families and 11 genera, without differences between consistencies, but with acid pH as a key conditioner for the health of the natural water body. For now, existing taxa refer to relatively clear waters, low eutrofication and little human disturbance. In terms of the best conditions for *in vitro* algal growth, the ones that can be pointed out are BG11 medium in solid state, 12:12 photoperiod and alkaline pH.

Keywords: consistency, culture medium, phytoplankton, photoperiod, microalgae, pH.

2. INTRODUCCIÓN

El fitoplancton es el conjunto de microorganismos acuáticos autótrofos que forman parte esencial del plancton. Está conformado por una gran diversidad microbiana, principalmente de microalgas y cianobacterias libres o asociadas, distribuidas en diferentes profundidades de la columna de agua, de acuerdo con sus preferencias y requerimientos de crecimiento (Yusuf, 2020). Las cianobacterias son microorganismos fotosintéticos de gran importancia en un ecosistema acuático (Andersen, 1992). Además, sirven como indicadores de la calidad del agua, en vista de que proliferan cuando las concentraciones de fósforo y nitrógeno aumentan, lo que provoca que la concentración de clorofila ascienda y cause eutrofización en el medio (Sánchez, 2001). La distribución de estos microorganismos es cosmopolita y su forma de vida es planctónica (suspendida en el agua) o bentónica (ligada a un sustrato) (Murdock y Wetzel, 2009).

Las cianobacterias o algas azules son procariotas aeróbicos y fotoautótrofos. Se encuentran entre los organismos más primitivos de la tierra: su origen se estima en unos 3 500 millones de años (Roset, Aguayo y Muñoz, 2001). No obstante, resalta una de sus características: la facilidad de crecimiento en ambientes naturales, que promueve su colonización de hábitats acuáticos, preferentemente de ambientes dulceacuícolas de aguas alcalinas o neutras y con temperaturas entre 15 y 30 °C, pero también en suelos.

Las cianobacterias son microorganismos fotosintéticos con una gran variabilidad morfológica y estructural, debido a que han desarrollado estrategias ecofisiológicas de adaptación a diferentes condiciones ambientales de temperatura, humedad, salinidad, irradiación solar y pH (Jonte et al., 2003). Estas deben ser tomadas en consideración a la hora de procurar su cultivo en laboratorio con fines pedagógicos o científicos. Precisamente, existe interés en el desarrollo de técnicas de cultivo de cianobacterias, pues tienen gran valor en la industria alimenticia, ambiental y farmacológica por ser fuente de sustancias de interés biotecnológico (Fuenmayor et al., 2009). Sin embargo, cada cepa y tipo de producto requiere de procesos diseñados para el incremento de la producción de biomasa (Fuenmayor et al., 2009) y la estrategia de cultivo cambia si lo que se requiere es maximizar el número de cianobacterias en cultivo mixto. En cualquier caso, requieren de una alta concentración de nutrientes, principalmente nitrógeno y fósforo (Roset et al., 2001). El problema subyace en que no todos los medios de cultivo son igual de efectivos para el desarrollo de cianobacterias

ni su crecimiento es lo suficientemente rápido como para evitar contaminaciones (Waterbury, 2006).

La luz solar es la principal fuente de energía para el crecimiento de cianobacterias. Esto se debe a que son organismos fotosintéticos, que se ubican mayormente en la zona fótica o capa de agua iluminada. Las células fitoplanctónicas permanecen expuestas a la luz necesaria para producir fotosíntesis; mientras que, en la zona oscura, las células reciben poca o casi nada de luz para su metabolismo. Hay organismos que han desarrollado mecanismos efectivos para manipular su flotabilidad de acuerdo a las necesidades que deban suplir (Janssen et al., 2000). No obstante, en laboratorio, puede asegurarse una irradiación fotosintéticamente activa adecuada (Waterbury, 2006) y una columna de agua lo suficientemente pequeña como para asegurar la distribución homogénea de la luz.

La radiación lumínica en que las cianobacterias son capaces de realizar fotosíntesis y en que su crecimiento celular es mejor está entre 400 y 700 nm, con una iluminación óptima de 11 klux (Jacob-Lopes et al., 2008). Si la cantidad de luz irradiada es insuficiente, se altera considerablemente la velocidad de crecimiento del microorganismo. No obstante, si hay exposición excesiva con alta intensidad, por largos periodos, se producirá una fotoinhibición, un fenómeno en que los fotosistemas del microorganismo se dañan e inactivan procesos de transporte celular. Una de las condiciones de laboratorio establecidas que simula lo mejor posible las condiciones del medio natural es el fotoperiodo de 12:12 horas (Waterbury, 2006).

El pH es otro de los factores que influencia el crecimiento cianobacteriano. No obstante, controlar el pH, en ciertos límites, se dificulta, pues éste se incrementa continuamente debido al consumo de carbono en la fotosíntesis. El problema es que el pH afecta la polaridad de los compuestos del medio de cultivo, así como la disponibilidad de nutrientes, dióxido de carbono, hierro y ácidos orgánicos. Puede ocurrir precipitación química de sales que contienen iones carbonato, hidroxilo y fosfato, que conducen al deterioro del medio y al posible daño celular. Las cianobacterias son únicas, dentro del gran grupo de procariotas, debido a su incapacidad de crecer a bajos valores de pH. Su crecimiento se ve completamente inhibido en hábitats con pH por debajo de 5, con óptimos entre 7,5 y cerca de 10, por lo que pueden ser consideradas como alcalófilas (Fuenmayor et al., 2009).

Los límites máximos y mínimos de dióxido de carbono necesarios no están bien definidos para el cultivo de cianobacterias en laboratorio. Sin embargo, en la práctica, se usa comúnmente aireación con 5-15% de dióxido de carbono, aunque esto varía en relación con la cepa microbiana a cultivar (Jaiswal y Kashyap, 2002). El oxígeno, en cambio, es un producto de la fotosíntesis que, cuando queda atrapado en el medio de cultivo, causa un efecto tóxico: reduce la eficiencia fotosintética y genera inhibición del crecimiento, incluso a concentraciones altas de dióxido de carbono.

Para la siembra, se han empleado los medios BG11 y BG11₀ para el crecimiento de cianobacterias no fijadoras de nitrógeno y fijadoras de nitrógeno, respectivamente. Según experimentos previos como el de Rippka (1979), Waterbury (2006) y los plasmados en Clavijo y Astorga (2021) y Tipanta (2022), ambos medios son selectivos para cianobacterias, pues favorecen nutricionalmente su crecimiento. Por otra parte, se ha comprobado que la consistencia semisólida del medio de cultivo puede favorecer el desarrollo de cianobacterias y ayudar a evadir microalgas fastidiosas (López, 2019). No obstante, no se había pretendido antes probar diferentes consistencias de medios de cultivo para comprobar su efecto en el desarrollo de comunidades cianobacterianas mixtas.

Al ser las cianobacterias microorganismos que sirven como indicadores de la calidad del agua, su estudio e identificación son relevantes para conocer el estado de los ecosistemas acuáticos y/o procurar que el agua para consumo humano o animal no resulte perjudicial para su salud o ponga en riesgo actividades como la agricultura y el consumo de alimentos derivados. El cultivo microbiano, en ese sentido, permite evaluar la reacción de los microorganismos frente al forzamiento ambiental sin incurrir en riesgos innecesarios, además de proveer material invaluable para investigación prospectiva e innovación tecnológica (Morales et al., 2013).

Por las razones antes mencionadas, esta propuesta de investigación pretendió proporcionar respuesta a las siguientes preguntas de investigación: ¿Qué medio de cultivo resulta más apto para cultivar la mayor cantidad posible de cianobacterias fitoplanctónicas y en qué consistencia? ¿Cómo afectan las condiciones de incubación al mantenimiento de la diversidad y la abundancia de taxones cianobacterianos fitoplanctónicos en cultivo? ¿Cómo

afectan los parámetros ambientales controlados al crecimiento de las cianobacterias en cultivo mixto?

3.1 OBJETIVOS

3.1.1 OBJETIVO GENERAL

Analizar el efecto de diferentes medios y condiciones de cultivo en la composición de microalgas fitoplanctónicas de agua dulce.

3.1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a. Examinar el efecto de la consistencia de los medios de cultivo BG11 y BG11₀ y las condiciones de fotoperiodo, pH y aireación en el crecimiento de microorganismos fotosintéticos en laboratorio, con énfasis en las cianobacterias.
- b. Determinar las condiciones de incubación que favorezcan el crecimiento de la mayor diversidad de microorganismos fotosintéticos fitoplanctónicos en laboratorio.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Preparación de medios de cultivo, del inóculo y establecimiento de los diferentes tratamientos a evaluar

Por asuntos de confidencialidad, seis muestras de 0.5 metros de profundidad de las que se desconocía el embalse altoandino de procedencia fueron provistas por el Laboratorio de Control de Calidad de la Empresa Pública Metropolitana de Agua y Saneamiento de Quito (EPMAPS-Q) en recipientes de vidrio ámbar de 250 ml (EPMAPS-Q, 2016). Para la determinación de la diversidad inicial, así como para la preparación del inóculo, se procedió a combinar y homogenizar cuidadosamente todas las muestras en un solo recipiente estéril para partir de una muestra compuesta.

Se evaluaron tres consistencias de los medios de cultivo: sólido, semisólido y líquido. Para la preparación del medio líquido, se confeccionarán las soluciones *stock* I (en sus dos versiones, con y sin compuestos nitrogenados), II, III y IV (Anexo 1). Los medios líquidos se obtuvieron mediante la mezcla respectiva de los *stocks*. Para preparar el medio sólido, se

utilizó una relación de 1.5-2.0% (w/v) de agar, mientras que para la preparación del medio semisólido se utilizó agar en un 5% (Morales, 2012). Se contó con un control de calidad y de capacidad de crecimiento cianobacteriano en los medios ensayados mediante la siembra de una cepa de *Nostoc* previamente identificada del cepario de microalgas de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, la que se mantuvo en cultivo monoalgal durante todo el periodo de experimentación.

Para el montaje, en el caso de los tratamientos de consistencia líquida, se colocaron 200 ml de cada medio en botellas de vidrio de 250 ml volumen y 2 ml de muestra. El método de siembra en sólido y semisólido consistió en la concentración de la biomasa mediante filtración de 3 ml de muestra con el uso de una membrana de fibra de vidrio de 0,45 μ m de poro. Se utilizó una membrana con material biológico sembrada individualmente en cada placa de medios semisólidos (Clavijo y Astorga, 2021) y sólidos como unidad experimental.

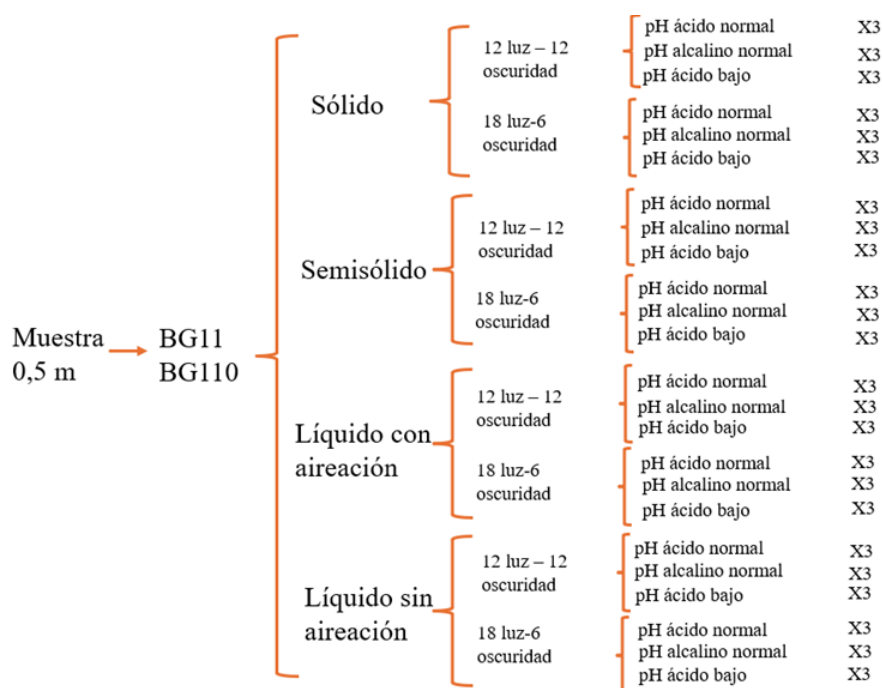


Figura 1. Esquema de tratamientos a evaluar en los medios BG11 y BG110.

Se pusieron a prueba dos fotoperíodos diferentes, uno con 12 horas de luz y 12 de oscuridad (el natural por la geolocalización ecuatorial de los sistemas acuáticos ecuatorianos [Fuenmayor et al., 2009]) y el segundo con 18 horas de luz y 6 de oscuridad, que ha resultado efectivo en experimentos previos. Además, se evaluaron tres pH, alcalino (10), ácido (6) y neutro (7). Por último, exclusivamente para los medios líquidos, se ensayaron las

condiciones con y sin aireación. Todos los tratamientos fueron examinados por triplicado. Así, se obtuvo el diseño experimental que resume la Figura 1.

4.2. Identificación de taxones fitoplanctónicos por visualización directa

Para la identificación de los taxones presentes en el ambiente previo al montaje del experimento, se procedió a la visualización directa de características microscópicas, mediante un microscopio Olympus CX21 en aumento 40X. Se fotografiaron todos los morfotipos microalgales encontrados y se registraron sus características distintivas. Con esta descripción previa conseguida, se utilizaron las claves taxonómicas como especie, género, familia, orden, clase, filo y reino y otra como forma, agrupación, flagelos, filamentos, color y el tamaño de las células vegetativas, definido mediante regla micrométrica para microscopía, con el fin de contrastarlas con las que se encuentran detalladas en fuentes científicas, principalmente en el Catálogo de microalgas y cianobacterias de agua dulce del Ecuador de Guamán-Burneo y González (2016) y la guía didáctica de López et al. (2019) para llegar a su identificación, al menos, a nivel de género.

Una vez que se obtuvo crecimiento en los medios de cultivo sólidos y semisólidos (entre cuatro a cinco semanas tras su inoculación [Clavijo y Astorga, 2021]) y en los líquidos, se procedió a la identificación de los taxones presentes tanto en suspensión como en colonias mediante visualización directa al microscopio óptico cada cinco días por el periodo de un mes. Con la información recabada, se conformó una matriz de presencia-ausencia de taxones para una comparación entre antes y después del tiempo estipulado para contrastar entre la diversidad inicial y final de cada tratamiento (Dagnino, 2014).



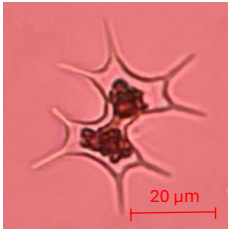
4.3. Evaluación de la evolución en el tiempo de los taxones presentes en el cultivo en función de las condiciones ambientales simuladas

Cada cinco días por un periodo de un mes, a la vez que se identificaron los taxones que permanecieron viables en cultivo, se evaluó su presencia/ausencia en los diferentes tratamientos mediante visualización de muestras frescas al microscopio óptico en el caso de medios líquidos o revisión paulatina del establecimiento de biopelícula en caja Petri para medios sólidos y semisólidos (Puyana et al., 2013).

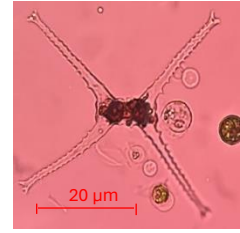
5. RESULTADOS

El inóculo inicial demostró poseer gran diversidad fotosintética (Tabla 1) en términos de número de taxones presentes: lograron identificarse 11. No obstante, no se registró ninguna cianobacteria en la muestra de procedencia, objeto original del planteamiento de este estudio. De todas maneras, no se descartó la posible existencia de taxones que pudieran desarrollarse con el tiempo, como sucedió en investigaciones precedentes (Guamán y González, 2016; López et al., 2019), a partir de acinetos o estructuras de resistencia que pudieran estar presentes en el fitoplancton.

Tabla 1. Taxones identificados en la muestra fitoplanctónica de origen.

Filo	Familia	Género	Especie	Fotografía
Charophyta	Clsteriaceae	<i>Closterium</i>	<i>gracile</i>	
	Desmidiaceae	<i>Cosmarium</i>	sp.	
		<i>Octacanthium</i>	<i>octocorne</i>	

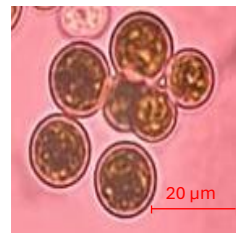
Staurastrum chaetoceras



Chlorophyta Botryococcaceae *Botryococcus braunii*



Chlorococcaceae *Chlorococcum* sp.



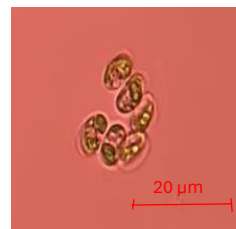
Oocystaceae *Oocystis lacustris*



Scenedesmaceae *Coelastrum pulchrum*



Comasiella arcuata



Euglenozoa Euglenaceae *Euglena* sp.



Trachelomonas volvocina



Sin embargo, no se visualizó crecimiento cianobacteriano alguno a lo largo de las tres primeras semanas de experimentación en los medios líquidos, independientemente de si el cultivo fue sometido a aireación o no. Salvo en los medios BG11₀ en los que no proliferó ningún taxón fotosintético, hubo crecimiento de ciertas microalgas mas, como no eran objeto inicial de interés de este estudio, no se llevó registro de las mismas, ni se cuantificó sus poblaciones. Por su parte, el pH se mantuvo mayormente estable a lo largo del periodo de estudio (Tabla 2).

Tras el mes de experimentación, se visualizaron los primeros indicios de lo que aparentaba ser crecimiento cianobacteriano en las placas de los medios semisólidos y sólidos. No obstante, la identificación microscópica de los taxones desarrollados descartó el crecimiento de cianobacterias. Ningún taxon fotosintético proliferó en las placas con medio BG11₀ sólido ni semisólido. No obstante, se evidenció y registró el crecimiento de taxones microalgales en el medio de cultivo BG11 en las consistencias sólida y semisólida al largo del periodo de estudio (los mismos que figuran en la Tabla 1). En total, se llegó a evidenciar el crecimiento en cultivo en placa de los 11 taxones fitoplanctónicos de la muestra de origen en los medios BG11 en estado sólido y semisólido, sin diferencias entre ellos. Estos fueron *Chlorococcum* sp., *Oocystis* sp., *Cosmarium* sp., *Octacanthium octocorne*, *Staurastrum chaetoceras*, *Botryococcus braunii*, *Comasiella arcuata*, *Euglena* sp., *Trachelomonas volvocina*, *Closterium gracile* y *Coelastrum pulchrum*, pero no todos se desarrollaron a la vez.

Tabla 2. Variación del pH en los medios líquidos a lo largo de la experimentación.

Medio	Aireación	Fotoperiodo	pH inicial	pH promedio final	Desviación estándar	Significancia de la prueba de T de student
BG11 ₀	Con	18:6	6	4,00	3,47	0,424
			7	6,93	0,11	0,423
			10	8,93	0,25	0,018
		12:12	6	2,23	3,86	0,234
			7	8,16	0,32	0,024
			10	5,16	4,48	0,203
BG11	18:6	18:6	6	7,60	0,00	0,000
			7	7,33	0,21	0,109
			10	2,53	4,38	0,098
		12:12	6	8,3	0,34	0,070
			7	7,63	0,11	0,011
			10	8,6	0,34	0,020
BG11 ₀	Sin	18:6	6	5,72	0,12	0,063
			7	5,83	0,26	0,000
			10	6,83	0,46	0,007
		12:12	6	5,58	0,13	0,032
			7	5,81	0,55	0,001
			10	7,23	0,93	0,036
BG11	18:6	18:6	6	5,74	0,07	0,024
			7	5,82	0,12	0,004
			10	7,31	1,38	0,079
		12:12	6	5,64	0,13	0,044
			7	5,73	0,28	0,000
			10	8,26	0,09	0,001

En efecto, transcurridas las primeras seis semanas, lograron identificarse *O. octocorne*, *C. arcuata*, *S. chaetoceras*, *Chlorococcum* sp., *B. braunii*, *O. lacustris*, *Cosmarium* sp. y *Euglena* sp. Para la séptima semana, había desaparecido *Euglena* sp. y para la octava semana, se hicieron evidentes, además de las anteriores, *Trachelomonas volvocina* y *Coelastrum pulchrum*. A la novena semana, volvió a evidenciarse, con claridad a *Euglena* sp., pero dejó de registrarse a *C. pulchrum*. Para la décima semana, volvieron a ser evidentes *C. pulchrum*, *T. volvocina* y *B. braunii*. Finalmente, para la semana 11, fue especialmente conspicuo el crecimiento *Closterium gracile*.

En general, la composición de los microorganismos en medio BG11 en condiciones de cultivo en placa cambió a lo largo del tiempo, a pesar de que se hicieron evidentes ciertos

consorcios estables, conformados por *S. chaetoceras*, *O. octocorne* y *Cosmarium* sp. La presencia de microalgas dependió de la presencia o no de compuestos nitrogenados en el medio de cultivo, más que de su consistencia. El medio BG11₀ no fue efectivo: no proliferaron taxones fijadores de nitrógeno que suplieran la falta de nutrientes nitrogenados para la comunidad fitoplanctónica.

Tabla 3. Microorganismos fotosintéticos viables en medio BG11 sólido y semisólido sometido a diferentes fotoperiodos y pH.

Consistencia	Sólido				Semisólido				
	18:6		12:12		6	18:6		12:12	
Fotoperiodo	7	10	7	10		7	10	7	10
pH	7	10	7	10	6	7	10	7	10
Células individuales de	X		X	X				X	
<i>Comasiella arcuata</i>									
<i>Comasiella arcuata</i>	X	X	X	X		X	X	X	X
<i>Octacanthium octocorne</i>	X	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Staurastrum chaetoceras</i>	X	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Oocystis</i> sp.	X	X	X	X			X	X	X
<i>Botryococcus braunii</i>	X	X	X	X		X	X	X	X
<i>Chlorococcum</i> sp.	X	X	X	X		X	X	X	X
<i>Cosmarium</i> sp.	X	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Euglena</i> sp.	X		X				X		
<i>Trachelomonas volvocina</i>	X		X			X		X	X
<i>Closterium gracile</i>	X		X	X	X	X		X	
<i>Coelastrum pulchrum</i>				X				X	X

X, presencia.

La visualización microscópica permitió identificar 11 taxones en cultivo, en medio BG11 exclusivamente, y en las consistencias sólida y semisólida. La diversidad microalgal estuvo distribuida en tres filos (Charophyta, Chlorophyta y Euglenozoa), siete familias (Desmidiaceae, Botryococcaeae, Closteriaceae, Scenedesmaceae, Oocystaceae, Chlorococcaceae y Euglenaceae) y 11 géneros (*Closterium*, *Cosmarium*, *Octacanthium*, *Staurastrum*, *Botryococcus*, *Chlorococcum*, *Oocystis*, *Coelastrum*, *Comasiella*, *Euglena* y *Trachelomonas*).

Los taxones que se mantuvieron presentes durante la experimentación en medios BG11 sólidos y semisólidos fueron: *Octacanthium octocorne*, *Staurastrum chaetoceros*, *Botryococcus braunii*, *Closterium gracile*, *Comasiella arcuata*, *Cosmarium* sp., *Oocystis* sp.

y *Chlorococcum* sp. A lo largo del tiempo, proliferaron tres taxones adicionales: *Euglena* sp., *Trachelomonas volvocina* y *Coelastrum pulchrum* (Tabla 3). Con mayor prevalencia, destacaron *O. octocorne*, *S. chaetoceras* y *Cosmarium* sp., presentes en nueve de los 12 tratamientos. A continuación, estuvieron presentes en ocho tratamientos *C. arcuata*, *B. braunii* y *Chlorococcum* sp. En siete tratamientos diferentes, permaneció *Oocystis* sp. En seis tratamientos, se evidenció la continuidad de *C. gracile*. En cinco tratamientos, se mantuvo *T. volvocina*. En cuatro tratamientos proliferaron células individuales de *Comasiella*. Por último, en tres tratamientos crecieron *Coelastrum pulchrum* y *Euglena* sp.

6. DISCUSION

6.1. Idoneidad del medio para el cultivo de organismos fotosintéticos, con énfasis en las cianobacterias

Once de 11 taxones fotosintéticos de la muestra fitoplanctónica de procedencia llegaron a desarrollarse en los medios de cultivo y bajo las condiciones de incubación proporcionadas. No obstante, no se observó crecimiento cianobacteriano en ningún tratamiento, a pesar de que, para garantizar que el medio de cultivo fuera idóneo para el crecimiento de cianobacterias, se utilizó un control de calidad con una cepa de *Nostoc*. De hecho, el grupo de investigación ha empleado el mismo medio para cultivar y escalar, por ejemplo, cepas de *Anabaena* sp., *Nostoc commune* y *Nostoc* sp., con muy buenos resultados (López et al., 2020; Clavijo y Astorga, 2020; Rodríguez, 2020; Jarre, 2022; Tipanta, 2022)

El medio de cultivo BG11 es un medio ampliamente utilizado para el crecimiento de cianobacterias y microalgas, debido a su composición equilibrada de nutrientes esenciales, como nitratos, fosfatos, carbonatos y sulfatos, que proporcionan una fuente de carbono, nitrógeno, fósforo, azufre y otros micronutrientes para el crecimiento de los microorganismos (Leal et al., 2001). Además, este medio contiene vitaminas y oligoelementos, lo que lo hace especialmente adecuado para el crecimiento de cianobacterias y microalgas de agua dulce (Intriago Nazareno, 2022).

Por otro lado, en un estudio realizado por Castro Tapia (2021), se evaluó el efecto del medio de cultivo BG11 en el crecimiento de la microalga *Chlamydomonas* sp. y se

encontró que este medio es adecuado para el crecimiento de la microalga en términos de su tasa de crecimiento y producción de clorofila. Además, también se demostró que la adición de ciertas sales inorgánicas al medio de cultivo, como el cloruro de calcio, puede mejorar aún más la tasa de crecimiento y la producción de biomasa algal.

En la investigación de Naranjo Luna (2019), se evaluó el efecto de diferentes medios de cultivo en el crecimiento de la cianobacteria *Spirulina platensis*: el crecimiento y la producción de biomasa son altamente dependientes del medio de cultivo utilizado. Los resultados mostraron que el más adecuado para el crecimiento de la cianobacteria es el medio Zarrouk, que contiene sales inorgánicas, carbonatos y bicarbonatos, pero no contiene nitratos ni fosfatos. Sin embargo, dicho medio de cultivo no sería idóneo para esta experimentación, dada la ausencia comprobada de fijadores de nitrógeno.

El uso de determinados medios de cultivo, como el BG11 específicamente, puede favorecer el crecimiento de ciertos taxones microalgales y se ha demostrado su eficacia en el cultivo y el mantenimiento de varias especies de cianobacterias, que eran el objetivo original de este estudio. En ese sentido, este trabajo arrojó un resultado interesante: la ausencia de cianobacterias pese al empleo de medios de cultivo idóneos para su crecimiento, que incluso han sido considerados como selectivos de este grupo de microorganismos fotosintéticos. Esto podría ser atribuido a diversos factores que convendría analizar.

Uno de los argumentos que podría justificar la falta de desarrollo cianobacteriano podría ser la competencia intra e inter-específica entre los microorganismos presentes en los medios de cultivo. Por ejemplo, Giovanni (2023) examinó el efecto de ambos tipos de competencia en el crecimiento de cianobacterias en cultivos mixtos y halló que las interacciones entre diferentes especies de cianobacterias pueden influir significativamente en su crecimiento y su abundancia.

Además, otro factor que podría explicar la ausencia de cianobacterias podría ser la adaptación de las especies a las condiciones específicas de los medios cultivo proporcionados. En efecto, existen evidencias de adaptación diferencial de microalgas a diferentes condiciones ambientales, como la intensidad de la luz y la temperatura, que demuestran que especies como *Chlorella* pueden adaptarse mejor y crecer más rápido que otras como *Staurodesmus* sp. (Martínez, 2019) o las cianobacterias. No obstante, poner en

juego la consistencia de los medios ha permitido, en investigaciones previas, que la baja competitividad en términos de velocidad de crecimiento de las cianobacterias en medios líquidos se vea aumentada en medios semisólidos en los que les resulta fácil competir con las microalgas que podrían considerarse como fastidiosas (López, 2019).

Una tercera variable que podría influir en el crecimiento y la abundancia de las cianobacterias en los diferentes medios de cultivo es la disponibilidad de nutrientes. La composición de la comunidad cianobacteriana depende, por ejemplo, del tratamiento de fertilización utilizado cuando se busca maximizar el mantenimiento de especies lacustres (Naranjo Luna, 2019). Además, la presencia de otros microorganismos también podría afectar la presencia y la abundancia de las cianobacterias en los medios de cultivo. En efecto, la presencia de otras especies de microalgas y bacterias *in vitro* puede afectar significativamente el crecimiento de cianobacterias como *Microcystis aeruginosa* (Chiclla Salazar, 2022), por ejemplo.

No obstante, los medios proporcionados han resultado efectivos incluso para reactivar cianobacterias en estado de latencia, como aquellas que dependen de acinetos para sobrellevar condiciones ambientales de contingencia (López et al., 2019). Inclusive, la falta de nutrientes nitrogenados en el medio de cultivo no ha sido impedimento para el crecimiento de taxones fijadores de nitrógeno. La ausencia de crecimiento de cianobacterias en medio BG11₀ en este estudio podría estar relacionada con diversos factores que afectaron el desarrollo y la supervivencia de estos microorganismos como, por ejemplo, la presencia de contaminantes, el control de factores ambientales críticos y las fluctuaciones poblacionales a lo largo del tiempo.

En primera instancia, debe destacarse que el medio de cultivo es uno de los factores más determinantes para la proliferación de microorganismos, incluyendo las cianobacterias. El medio debe proporcionar todos los nutrientes necesarios para un adecuado crecimiento y debe estar diseñado de forma específica para cada especie de microorganismo o grupo microbiano (Castiblanco Rodríguez y Cobos Muñoz, 2022). Por ello, la ausencia de compuestos nitrogenados del medio de cultivo BG11₀ aunado a la ausencia de microorganismos fijadores de nitrógeno que suplieran esta falencia en el fitoplancton de la muestra de procedencia, no proveyó los nutrientes necesarios para el crecimiento de cianobacterias ni microalgas, independientemente de la consistencia del medio provista.

Por otro lado, la presencia de flora acompañante pudo haber afectado la proliferación de microorganismos fotosintéticos. Al no tratarse de cultivos axénicos ni monoalgales, las microalgas y las cianobacterias vienen acompañadas por una serie de otros microorganismos del plancton, como bacterias, hongos y virus. El problema surge cuando a este conjunto microbiano se le proporcionan medios de cultivo nutritivos que fomentan más su crecimiento que el de los organismos blanco.

A veces, la flora acompañante puede resultar mejor competidora de cara al aprovechamiento de nutrientes y puede aparecer como si se tratara de contaminación en los cultivos. Esta aparente contaminación puede afectar la supervivencia y el crecimiento de los microorganismos fotosintéticos: puede desencadenar la aparición de estrés oxidativo, afectar la disponibilidad de nutrientes y generar cambios en las condiciones ambientales (Toribio Gallardo, 2021). En el caso de los medios BG110 sólidos y semisólidos, no hubo crecimiento conspicuo de flora acompañante. Muy posiblemente, sucedió algo similar en los medios líquidos, pero no se monitorearon de cerca.

La ausencia de crecimiento de cianobacterias en medios líquidos podría estar relacionada con diferentes factores que afectan la capacidad de estos microorganismos para prosperar en estas condiciones y que, por tanto, podrían haber limitado su desarrollo. La adaptabilidad, la respuesta ante el estrés, la presencia de taxones específicos, las interacciones inter e intraespecíficas y la capacidad de absorción de nutrientes son algunos de los argumentos que podrían contribuir a explicar este fenómeno.

En primer lugar, es importante destacar que las cianobacterias son microorganismos adaptables selectivamente al cultivo *in vitro*, pero que pueden sobrevivir en una amplia variedad de ambientes y condiciones climáticas naturales. Su crecimiento requiere de ciertas condiciones específicas, tales como: nutrientes adecuados, temperatura, luz y pH óptimos, además de la disponibilidad de CO₂ y O₂ en cantidades suficientes (Mendoza Vera, 2014). En este sentido, algunos estudios sugieren que las cianobacterias suelen prosperar mejor en medios sólidos y semisólidos, pues en estos se pueden almacenar más nutrientes y hay menor pérdida de gases durante el proceso de fotosíntesis (Ávalos, 2018).

En segundo lugar, se ha demostrado que la presencia de agentes de estrés tales como la acidez del medio, las altas temperaturas y la ausencia de nutrientes esenciales pueden influir en la capacidad de crecimiento y proliferación de ciertas cianobacterias, como *Anabaenopsis arnoldii* (Cumpa Velásquez, 2021). En este sentido, el pH es un factor fundamental a tener en consideración: la mayoría de las cianobacterias tienen un pH óptimo de crecimiento cercano a la neutralidad y pueden mostrar una baja capacidad de crecimiento en condiciones ácidas o alcalinas (Domínguez Gómez, 2017).

En tercer lugar, se ha descubierto que las cianobacterias pueden ser influenciadas por la interacción con otros organismos que se encuentran presentes en el medio ambiente (Jiménez Ávila, 2021). La muestra de plancton procesada en esta investigación contuvo varias especies de microalgas, cuya totalidad pudo proliferar en los medios de cultivo BG11 en estado sólido y semisólido. En los medios líquidos, hubo una mayor disponibilidad de nutrientes, lo que podría haber afectado la capacidad de las cianobacterias para absorberlos adecuadamente en vista de, por su crecimiento lento, resultan poco competitivas. Lastimosamente, no se hizo un recuento de microalgas a lo largo del tiempo en medios líquidos, pues escapaba a los objetivos originales de este estudio, centrados exclusivamente en cianobacterias.

Sin embargo, al limitar el análisis a medios BG11 sólidos y semisólidos, estas microalgas podrían haber competido con las cianobacterias por los nutrientes o haber excretado al medio sustancias que inhibieron su crecimiento. En este sentido, estudios previos sugieren que ciertas especies de microalgas, como *Peridinium*, pueden tener la capacidad de inhibir el crecimiento de cianobacterias como *Microcystis aeruginosa* al liberar compuestos tóxicos (por ejemplo, polietéres en moluscos) o mediante la competencia por los nutrientes (como en el caso de microalgas frente a bacterias aminooxidantes) (Filipigh, 2021). Así ponen en juego, además, la consistencia del medio de cultivo.

El crecimiento de las cianobacterias puede ser afectado por la viscosidad del medio y la disponibilidad de nutrientes en formas que no sean fáciles de utilizar (Aguilar Moreno, 2023). En ese sentido, la consistencia sólida representa una desventaja frente a la semisólida pues, en la segunda, los nutrientes son de más fácil acceso. La investigación de Martínez (2023), por ejemplo, demuestra que, si bien los medios sólidos pueden promover la formación de microambientes diferenciados que favorecen algas específicas adaptadas a

nichos ecológicos específicos, los medios semisólidos tienden a promover una mayor homogeneidad en la disponibilidad de nutrientes, reduciendo así la diversidad de microalgas heterogéneas.

Desde otro punto de vista, la temperatura y la luz son factores críticos que influyen en el crecimiento de los microorganismos en general y de las cianobacterias en particular. Las cianobacterias requieren de una adecuada cantidad de luz para realizar la fotosíntesis, pero niveles de luz demasiado altos pueden causar daño celular (Escobedo, 2021). Esto, *a priori*, no fue un problema en este experimento, pues los cultivos se mantuvieron a temperatura ambiente y luz fotosintéticamente activa de baja intensidad. No obstante, la temperatura también es un factor importante: las cianobacterias tienen diferentes rangos de temperatura óptima de crecimiento. Sin embargo, la temperatura no fue uno de los parámetros ambientales controlados. Precisamente este año, los cambios térmicos a lo largo del día han sido bastante marcados, lo que pudo conducir a estrés térmico durante determinadas horas del día. En este sentido, es posible que en la investigación la temperatura no haya sido la adecuada para el crecimiento de las cianobacterias.

Tras este análisis, medios *a priori* selectivos para cianobacterias como el BG11, han resultado idóneos para el cultivo de microalgas y cianobacterias (López, 2019). Si bien la presencia de otros organismos fotosintéticos y la competencia intra e inter-específica entre ellos, la adaptación a las condiciones específicas del medio y a las condiciones de incubación y la disponibilidad de nutrientes pueden ser factores importantes que afectan la presencia y la abundancia de cianobacterias en los medios de cultivo, la ausencia de taxones cianobacterianos, en este caso, no podría interpretarse sino como ausencia de cianobacterias y sus formas de resistencia en el fitoplancton de procedencia: ninguna de las consistencias del medio BG11 ni ninguna de sus dos configuraciones (con y sin compuestos nitrogenados) favoreció el crecimiento cianobacteriano. No obstante, el medio BG11 en sus estados sólido y semisólido sí permitió observar la sucesión de microalgas a lo largo del tiempo de experimentación.

Efectivamente, algo que sí fue palpable en esta investigación de la composición de microalgas fitoplanctónicas en diferentes medios y condiciones de cultivo fue la presencia de diferentes taxones en momentos diferentes a lo largo del tiempo. La composición de la población microbiana fotosintética estuvo en constante cambio en respuesta a las

condiciones de cultivo y al mismo crecimiento microbiano. Uno de los factores que puede explicar por qué algunos taxones aparecen después en los medios de cultivo es la influencia de la competencia y la interacción entre diferentes especies de microorganismos presentes en el cultivo (Fuentes et al.,2022).

Varios estudios han mostrado que la competencia por nutrientes y el estrés ambiental pueden influir en la composición de la población microbiana y en la sucesión de los taxones en el tiempo (Castillo-López y Domínguez-Ordoñez, 2019) En esta investigación, se observó la presencia de diferentes especies microalgales en los medios de cultivo en distintos momentos, lo que sugiere que la competencia entre ellas puede haber influido en el éxito y la supervivencia de los diferentes taxones. Sin embargo, destaca un consorcio claro que proliferó en la mayoría de combinaciones de condiciones de incubación: el conformado por *Octacanthium octocorne*, *Staurastrum chaetoceras* y *Cosmarium* sp. A estos, se sumaron otros tres taxones: *Comasiella arcuata*, *Botryococcus braunii* y *Chlorococcum* sp.

Adicionalmente, también es posible que la diversidad genética y la plasticidad de los microorganismos hayan influido en la sucesión de los taxones en el tiempo. Las diferentes especies y cepas de microorganismos tienen diferentes historias evolutivas y tendencias a la adaptación a las condiciones cambiantes (Martin Clemente, 2021). Pueden tener diferentes tasas de crecimiento y supervivencia, lo que puede influir en la sucesión de los taxones en diferentes momentos. Por ahora, el análisis debe limitarse a la influencia de las condiciones de incubación en la presencia/ausencia algal en los cultivos mixtos, con énfasis en las posibles implicaciones para el ecosistema de procedencia. Sin embargo, resulta importante monitorear de cerca, en investigaciones futuras, la abundancia de los diferentes taxones a lo largo del tiempo para no solo verificar presencia/ausencia, sino también establecer su frecuencia de aparición y/o el número de organismos o colonias especie-específicos.

6.2. Influencia de las condiciones de incubación en la composición microalgal del cultivo mixto y sus implicaciones para el ecosistema natural

Las condiciones de experimentación ensayadas en esta investigación permitieron cultivar 11 taxones de los 11 de la muestra de procedencia en medio BG11 sólido y semisólido. La diversidad microalgal estuvo distribuida en tres filos (Charophyta,

Chlorophyta y Euglenozoa), siete familias (Desmidiaceae, Botryococcaeae, Closteriaceae, Scenedesmaceae, Oocystaceae, Chlorococcaceae y Euglenaceae) y 11 géneros (*Closterium*, *Cosmarium*, *Octacanthium*, *Staurastrum*, *Botryococcus*, *Chlorococcum*, *Oocystis*, *Coelastrum*, *Comasiella*, *Euglena* y *Trachelomonas*). No se consiguió el desarrollo de ninguna cianobacteria en medio líquido y, en ausencia de fijadores de nitrógeno, la carencia de fuentes nitrogenadas en BG11₀ fue definitiva para que no proliferaran microalgas ni cianobacterias independientemente de la consistencia del medio.

La composición de los medios resultó un factor crítico para el crecimiento de microalgas. De hecho, se reconoce que la presencia equilibrada de nutrientes esenciales, incluidos nitrógeno, fósforo y diversos oligoelementos, es fundamental para estimular el crecimiento y la reproducción de microorganismos fotosintéticos. Los estudios muestran cómo un desequilibrio de nutrientes puede limitar la capacidad de las microalgas para crecer eficazmente en un medio líquido (Solano, 2022).

Los resultados obtenidos en la investigación corroboran que ciertos taxones microbianos tienen una mayor capacidad de adaptación a diferentes condiciones ambientales, simuladas aquí a través de la evaluación del efecto del fotoperiodo, el pH o la afinidad a fijarse y crecer sobre un sustrato. Esta adaptabilidad podría estar relacionada con la plasticidad fenotípica de las especies implicadas y una mayor capacidad para resistir y adaptarse a cambios ambientales (León de la Rocha et al., 2023).

En este experimento, destacaron particularmente el crecimiento y la persistencia de *Octacanthium octocorne*, *Staurastrum chaetoceras* y *Cosmarium* sp., las especies más prevalentes en los tratamientos analizados (nueve de los 12 ensayos en placa). La tolerancia al pH y su relación con la disponibilidad de ciertos nutrientes específicos en los medios de cultivo podrían ser algunos de los factores que favorecen el crecimiento de estas especies en medio BG11, independientemente de su consistencia.

La presencia de estos tres taxones sugiere un ecosistema acuático de aguas claras y, posiblemente, de tendencia ácida en el que los nutrientes son limitados, pero suficientes para sustentar comunidades especializadas. Según Rivero et al. (2007), son un indicador de alta calidad del agua y bajos niveles de contaminación, lo que significa que su ubicuidad en los ecosistemas acuáticos indica condiciones ambientales estables y relativamente intactas.

Así mismo, el hecho de que *Botryococcus braunii*, *Comasiella arcuata* y *Chlorococcum* sp. hayan estado presentes en ocho de los 12 tratamientos en placa podría indicar que estas especies son competidoras efectivas y poseen alta capacidad de adaptación a diferentes condiciones ambientales. Claramente, factores como la luz, la temperatura, el estado de los nutrientes y la salinidad no solo afectan a la fotosíntesis y a la productividad de la biomasa celular, sino también al patrón, la ruta y la actividad del metabolismo y la composición celular de forma dinámica. Los efectos sobre el metabolismo tienen implicaciones de largo alcance y consecuencias biotecnológicas, más todavía cuando los tres taxones pertenecen al mismo filo, comparten algunas características como el tipo de hábitat natural de aguas continentales de tendencia eutrófica y, al menos, dos de los tres son utilizados en biotecnología algal por sus beneficios para el ser humano (Zhang et al., 2011).

Estos resultados están en línea con otros estudios que han demostrado que ciertas especies pueden ser más exitosas en ambientes cambiantes y heterogéneos, gracias a una mayor adaptabilidad metabólica y una mayor plasticidad fenotípica. Por ejemplo, adaptación a la variación temporal (verano/otoño) en la cianobacteria *Rhabdoderma lineare* fue reconocida por su variación morfológica intraespecífica que refleja su plasticidad fenotípica con implicaciones ecológicas y fisiológicas (Montoya et al., 2020).

Por su parte, *Octacanthium octocorne*, *Staurastrum chaetoceras* y *Cosmarium* sp. desempeñan un papel importante en los ecosistemas acuáticos. Como productores primarios, éstas contribuyen significativamente a la producción de oxígeno a través de la fotosíntesis y forman la base de la cadena alimentaria acuática. Su presencia afecta la estructura y la función del ecosistema, incluido el ciclo de nutrientes y la dinámica de la red alimentaria. Además, debido a su sensibilidad a los cambios en la calidad del agua, pueden servir como bioindicadores eficaces para monitorear la salud ecológica de los cuerpos de agua (Cepeda et al., 2020). Su presencia indica que el ecosistema natural puede caracterizarse por una baja eutrofización, lo que indica que el ambiente tiene baja afectación por actividades humanas como el vertido de nutrientes. El estado nutricional que refleja la presencia de estas especies es, por tanto, un estado relativo de salud y equilibrio ecológico, que se estaría consiguiendo también a nivel de su cultivo *in vitro*.

La persistencia de taxones como *Comasiella arcuata*, *Botryococcus braunii* y *Chlorococcum* sp. destaca, en su lugar, la plasticidad adaptativa de ciertas especies a las condiciones de su ambiente. El primero forma parte del fitoplancton y, también, del perifiton en ecosistemas en todo tipo de estado trófico, pero prolifera particularmente en aguas eutróficas (Ramos et al., 2015). *B. braunii*, adaptable a climas tropicales, templados e incluso alpinos, tiene la capacidad de sintetizar lípidos como hidrocarburos, utilizados para su transformación química en combustibles (Banerjee, Sharma, Chisti y Banerjee, 2002; Tsarenko, 2011b). *Chlorococcum* sp. sobrevive incluso en ambientes extremos con salinidad muy alta, sequías y un rango de pH y temperatura muy variados. En condiciones de cultivo, es capaz de acumular carotenoides importantes para diversas áreas de la industria (Carvajal et al., 2013), en función del estrés ambiental al que sea sometido.

Por otro lado, el hecho de hallar en el cultivo células individuales de *Comasiella*, además de las coloniales, puede estar relacionado con ciertos factores ambientales o la propia estructura de la colonia. El hallazgo de estas células se dio en tratamientos con pH neutro o alcalino en otras y bajo ambos fotoperíodos, 12:12 y 18:6. La literatura señala que existen ciertas especies de algas que pueden sufrir cambios en su forma o estructura en respuesta a las condiciones ambientales que involucran, precisamente, pH, temperatura, luminosidad y nutrientes (Delgadillo Rodríguez, 2014).

En algunos casos, estos cambios pueden traducirse en la formación de colonias más compactas o menos efímeras que pueden tener ventajas competitivas sobre individuos solitarios (Brunet et al., 2021). No obstante, también puede ocurrir que las colonias se desintegren debido a factores como la falta de nutrientes, la ausencia de luz o la acción de depredadores (Claro, 2007). Por ello, es importante considerar que las características específicas de cada especie y sus hábitats pueden influir en la capacidad de las colonias para resistir las diferentes condiciones ambientales. En este contexto, debe analizarse la combinación de factores abióticos y bióticos que pudieron influir en las colonias de *Comasiella* y cómo estos pudieron afectar su distribución y abundancia.

Para determinar los factores que podrían haber influido en la persistencia de ciertos taxones microbianos en los diferentes tratamientos, se podría realizar un análisis comparativo de las condiciones ambientales de cada tratamiento en el que se mantuvieron presentes la mayor proporción de los taxones de origen. Por ejemplo, algunos estudios han

demostrado que el pH del medio de cultivo puede tener un impacto significativo en la diversidad y la composición de las comunidades microbianas (Massello, 2022). En el caso de los medios de cultivo BG11 utilizados en esta investigación, resultó interesante observar que la presencia de ciertos taxones se asoció con niveles particulares de pH: existió una mayor prevalencia de microalgas en los medios alcalinos y neutros que en los medios ácidos.

En medios ácidos, se evidenció el crecimiento de *Octacanthium octocorne*, *Staurastrum chaetoceras*, *Cosmarium* sp. y *Closterium gracile*, con los tres primeros de distribución cosmopolita en aguas continentales en diversos estados tróficos. En cuanto a *Cosmarium* sp. y *C. gracile*, son característicos precisamente de aguas ácidas, en ambientes oligotróficos o mesotróficos, respectivamente (López, 2019).

Así mismo, el fotoperiodo utilizado en los diferentes tratamientos también podría haber influido en la composición y la diversidad de las comunidades microbianas (Hariyo, 2020). Algunos estudios han demostrado que la duración del fotoperiodo puede influir en el crecimiento y el desarrollo de ciertas especies de fotosintéticas. Guevara Villalta y Villacreses Reyes (2018) registraron que un fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad favoreció el crecimiento monoalgal de la cianobacteria *Spirulina platensis*, mientras que Freire et al. (2016) determinaron que el fotoperiodo de 18 horas de luz y 6 horas de oscuridad promovió el crecimiento de consorcios cianobacterianos edáficos.

Sin embargo, es interesante comprobar que la presencia de los taxones de la Tabla 3 no se relaciona con un fotoperiodo particular, a excepción de *Euglena* sp. que se desarrolló solo en fotoperiodo 18:6. No se pudo observar que el fotoperiodo experimental, en este caso 18:6, influyera de manera significativa: el mismo conjunto de microorganismos se desarrolló en el fotoperiodo ambiental 12:12. Adicionalmente, la intensidad de la luz podría haber tenido un efecto significativo en el crecimiento y desarrollo de los microorganismos fotosintéticos (Hariyo, 2020). No obstante, no fue uno de los parámetros puestos a prueba en este estudio: se mantuvo constante en todos los tratamientos, por lo que se descarta que hubiera podido tener una influencia diferenciadora en la composición algal de los cultivos.

Además, la presencia de ciertos nutrientes específicos en los diferentes medios de cultivo también podría haber influido en la composición y la abundancia de los microorganismos (Verdú-Navarro et al., 2023). La disponibilidad de los nutrientes es

dependiente del medio de cultivo y del pH. La presencia de compuestos nitrogenados, por ejemplo, fue definitoria para el crecimiento microalgal. En su ausencia, ningún microorganismo fotosintético logró desarrollarse en medios sólidos o semisólidos debido a las características del fitoplancton de la muestra de procedencia: en ausencia de fijadores de nitrógeno, ningún microorganismo pudo proliferar en medio BG11₀. Sin embargo, al limitarse el análisis al medio BG11, en que sí se desarrollaron la mayoría de taxones, básicamente el pH sería el condicionante para mayor o menor disponibilidad de nutrientes. En general, los taxones fotosintéticos implicados requieren de nitrógeno y fósforo, nutrientes que estuvieron en cantidad suficiente para garantizar el crecimiento microalgal tanto en medios neutros como alcalinos, no así en los medios ácidos.

Algunos estudios han demostrado que el pH del medio de cultivo puede tener un impacto significativo en el crecimiento y la composición de las comunidades microbianas. En un estudio realizado por Jovel y Zepeda (2019), se encontró que la comunidad microbiana desarrollada en cultivo a partir del plancton de un acuífero subterráneo estaba fuertemente influenciada por las condiciones del pH del medio de cultivo, y que las especies de microorganismos presentes eran diferentes en distintos pH. En un estudio similar realizado por Rodríguez Alcocer (2023), se encontró que el pH del medio de cultivo tenía un efecto significativo en la estructura y la diversidad de la comunidad microbiana de agua dulce. En este estudio, solo el pH ácido resultó limitante para el crecimiento microalgal. Esto se vuelve particularmente interesante si se predicen cambios ambientales tendientes a la acidificación de los medios acuáticos.

Si un embalse o masa de agua se acidifica, tendrá impacto negativo en los ecosistemas acuáticos y terrestres adyacentes. La acidificación del agua puede provocar una pérdida de biodiversidad, pues se afecta directamente la supervivencia de especies sensibles. Los cambios en la composición de las especies pueden alterar el equilibrio de las redes alimentarias y reducir la calidad del hábitat, lo que provoca cambios en las poblaciones acuáticas y terrestres que dependen de estos ecosistemas para alimentarse y reproducirse (Gabriel y Cruz, 2021).

Las condiciones ambientales que pueden provocar la acidificación de embalses y masas de agua incluyen la lluvia ácida, que se produce cuando el dióxido de azufre y los óxidos de nitrógeno emitidos por actividades industriales y vehículos se combinan con el

vapor de agua de la atmósfera y caen en forma de lluvia. Otro factor contribuyente puede ser la lixiviación de los suelos ácidos adyacentes, particularmente en áreas afectadas por la minería o la deforestación, donde los minerales de sulfuro expuestos al oxígeno producen ácido sulfúrico (Gabriel y Cruz, 2021).

La acidificación también puede verse exacerbada por el cambio climático, como el aumento de las temperaturas y el cambio de las precipitaciones, que pueden alterar la química del agua y aumentar las concentraciones de dióxido de carbono en los cuerpos de agua, reduciendo así los niveles de pH. Además, la escorrentía agrícola y los desechos urbanos enriquecen los nutrientes de las masas de agua, lo que da lugar a su eutrofización. Esto deriva en el crecimiento de algas que, a medida que se descomponen, consumen oxígeno y liberan ácidos orgánicos, que provocan la acidificación (Rotondo, 2021).

Los efectos de la acidificación en los ecosistemas acuáticos son de gran alcance, multifacéticos y afectan la solubilidad y disponibilidad de metales pesados como el aluminio. En condiciones ácidas, las concentraciones de aluminio pueden alcanzar concentraciones tóxicas para los organismos acuáticos. Esto afecta no sólo a la salud y a la diversidad de los animales acuáticos, sino que también puede afectar la calidad del agua para el consumo humano y la viabilidad de actividades económicas como la pesca y el turismo en estas zonas (Rotondo, 2021).

La acidificación de embalses y masas de agua plantea graves riesgos para la salud ecológica, la biodiversidad y los servicios ecosistémicos. Prevenir y mitigar este fenómeno requiere un esfuerzo global coordinado que incluya la reducción de las emisiones contaminantes, la protección y la restauración de los hábitats naturales y la gestión sostenible de los recursos hídricos para preservar la integridad de los ecosistemas acuáticos y terrestres (Gabriel y Cruz, 2021).

7. CONCLUSIONES

Las condiciones de experimentación ensayadas en esta investigación permitieron cultivar todos los taxones de la muestra fitoplanctónica de procedencia en medio BG11 sólido

y semisólido. La diversidad microalgal estuvo distribuida en tres filos (Charophyta, Chlorophyta y Euglenozoa), siete familias (Desmidiaceae, Botryococcaeae, Closteriaceae, Scenedesmaceae, Oocystaceae, Chlorococcaceae y Euglenaceae) y 11 géneros (*Closterium*, *Cosmarium*, *Octacanthium*, *Staurastrum*, *Botryococcus*, *Chlorococcum*, *Oocystis*, *Coelastrum*, *Comasiella*, *Euglena* y *Trachelomonas*).

No se consiguió el desarrollo de ninguna cianobacteria en medio líquido, sólido o semisólido y, en ausencia de fijadores de nitrógeno, la carencia de fuentes nitrogenadas en BG11₀ fue definitoria para que no proliferaran microalgas ni cianobacterias no fijadoras de nitrógeno, independientemente de la consistencia del medio de cultivo.

La ausencia de taxones cianobacterianos pudo atribuirse a la ausencia de cianobacterias y sus formas de resistencia en el fitoplancton de procedencia, pues se comprobó la idoneidad del medio BG11 para su cultivo, pero ninguna de las consistencias del medio BG11 ni la presencia o ausencia de compuestos nitrogenados favoreció el crecimiento cianobacteriano.

En este experimento, destacaron particularmente el crecimiento y la persistencia de *Octacanthium octocorne*, *Staurastrum chaetoceras* y *Cosmarium* sp. (en nueve de 12 tratamientos), por su adaptabilidad tanto al fotoperiodo como al pH y a la capacidad de fijarse sobre un sustrato. Su proliferación en el ambiente natural da cuenta de aguas claras, con nutrientes suficientes, de posible tendencia ácida, pero, sobre todo, condiciones ambientales estables y relativamente intactas.

A continuación, destacaron también *Botryococcus braunii*, *Comasiella arcuata* y *Chlorococcum* sp. (en ocho de 12 tratamientos) por tratarse de microalgas competidoras efectivas, con alta capacidad de adaptación incluso a ambientes extremos.

La presencia de taxones en BG11 sólido y semisólido no guardó relación con un fotoperiodo o consistencia particular. El mayor condicionante para el crecimiento microalgal fue el pH. Existió una mayor prevalencia de microalgas en los medios alcalinos y neutros que en los medios ácidos. En medios ácidos, se evidenció únicamente el crecimiento de *Octacanthium octocorne*, *Staurastrum chaetoceras*, *Cosmarium* sp. y *Closterium gracile*.

Este hallazgo expone con claridad lo que podría suceder en el medio natural de continuarse con el proceso de acidificación, que puede exacerbarse por el cambio climático y las actividades antropogénicas, alterando la química del agua y la disponibilidad de nutrientes y aumentando las concentraciones de dióxido de carbono en los cuerpos de agua, con la consecuente reducción del pH. Los cambios en la composición de las especies derivadas de la acidificación de embalses u otros ambientes acuáticos alterarían el equilibrio de las redes alimentarias y reducirían la calidad del hábitat, con graves riesgos para la salud humana, la biodiversidad y los servicios ecosistémicos.

En este experimento, nutrientes como los nitrogenados resultaron indispensables cuando en el fitoplancton no se registra organismos fijadores: de lo contrario hubieran podido proliferar en el medio BG11₀.

Se recomienda que, para investigaciones futuras, se monitoree de cerca la abundancia de los diferentes taxones a lo largo del tiempo, no solo su presencia/ausencia, sino también establecer su frecuencia de aparición y/o el número de organismos o colonias especie-específicos que se desarrollen.

8. BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Aguilar, J. (2023). *Tratamiento de aguas residuales con el uso de la microalga *Chlorella vulgaris* para la remoción de materia orgánica*. Disertación de grado no publicada. Universidad Científica, Lima, Perú. Recuperado de <https://repositorio.cientifica.edu.pe/handle/20.500.12805/2828>
- Andersen, R. (1992). Diversity of eukaryotic algae. *Biodiversity & Conservation*, 1(4), 267-292.
- Arancibia, P., Cruces, C. y Sepúlveda, I. (2022). *Composición y abundancia de plancton en laguna Avendaño, Quillón para elaborar material divulgativo y colaborar con el desarrollo de conciencia ambiental sobre el recurso hídrico*. Disertación de grado no publicada, Universidad el Bio Bio, Chillán, Chile. Recuperado de <http://repobib.ubiobio.cl/jspui/handle/123456789/3935>
- Ávalos, S. V. (2018). *Introducción a las embriofitas*. UNAM, Dirección General de Publicaciones y Fomento Editorial, México, México. Recuperado de <https://books.google.com/books?hl=es&lr=&id=1wqnDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA6&dq=En+este+sentido,+algunos+estudios+sugieren+que+las+cianobacterias+suelen+prosperar+mejor+en+medios+s%C3%B3lidos+y+semis%C3%B3lidos+ya+que+en+estos+se+pueden+almacenar+m%C3%A1s+nutri>
- Banerjee, A., Sharma, R., Chisti, Y. y Banerjee, U. (2002). *Botryococcus braunii*: a renewable source of hydrocarbons and other chemicals. *Critical reviews in biotechnology*, 22(3), 245-279.
- Brunet-Ramos, S. D., Jiménez-Hernández, J., Pedraza-Garciga, J. y López-González, L. M. (2021). Consorcios de microalgas-bacterias para la purificación biológica de biogás. *Tecnología Química*, 41(2), 277-295.
- Carvajal, A., Cadena, M., Molina, D., Romero, P., Gavilánez, F. y Morales, E. (2013). Cultivo de una cepa carotenogénica de *Chlorococcum* sp. (Chlorophyta: Chlorococcales) aislada de rizosfera de Vicia faba (haba). *Acta Botánica Venezolánica*, 36(2), 309-324.
- Castiblanco, Y. y Cobos, N. (2022). *Diseño conceptual de un fotobiorreactor para la producción de hidrógeno*. Disertación de grado no publicada. Fundación Universidad de América, Bogotá, Colombia. Recuperado de <http://repository.uamerica.edu.co/handle/20.500.11839/9046>

- Castillo E. y Domínguez, M. (2019). Factores que afectan la composición microbiana ruminal y métodos para determinar el rendimiento de la proteína microbiana. Revisión. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 10(1), 120-148. Recuperado de https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-11242019000100120&script=sci_abstract&tlng=pt
- Castro Tapia, J. M. (2021). *Efecto de reguladores de crecimiento en la producción de lípidos, proteína total soluble, clorofila y carotenoides totales en cultivos de Scenedesmus acutus UTEX-72 y Chlorella vulgaris OW-01*. Disertación de grado no publicada, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, México. Recuperado de <http://repositorioinstitucional.uaslp.mx/xmlui/handle/i/7192>
- Cepeda, E., Espinoza, A., Gutiérrez, F., Lagos, M. y Neira, J. (2020). *Hidrobiología*. Universidad Pedagógica Tecnológica de Colombia. Recuperado de <https://repositorio.uptc.edu.co/handle/001/4681>
- Chiclla, A. (2022). *Floraciones algales de Microcystis aeruginosa y su relación con el nivel de eutrofización de las aguas del Humedal Albuferas de Medio Mundo-Huaura, 2019*. Disertación de grado no publicada, Universidad Nacional, Huacho, Perú. Recuperado de <http://repositorio.unjfsc.edu.pe/handle/20.500.14067/6663>
- Claro, R. (. (2007). *Diversidad de organismos. La biodiversidad marina de Cuba*. Recuperado de https://www.researchgate.net/profile/Pedro-Alcolado-2/publication/267268271_LOS_METAZOOS_-_REINO_ANIMAL_Esponjas_-_Filo_PORIFERA/links/544934ca0cf2ea654130577e/LOS-METAZOOS-REINO-ANIMAL-Esponjas-Filo-PORIFERA.pdf
- Clavijo, K. y Astorga, D. (2021). *Caracterización fenotípica de microalgas y cianobacterias del fitoplancton del embalse La Mica*. Disertación de grado no publicada, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador.
- Cumpa Velásquez, L. M. (2021). *Adaptación de rizobios y bacterias solubilizadoras de fosfato a condiciones salino-alcalinas para el desarrollo de biofertilizantes eficientes para Lotus tenuis e identificación de genes bacterianos implicados en la tolerancia a dicha condición*. Disertación de grado no publicada, Universidad Nacional de San Martín, Argentina. Recuperado de <https://digibug.ugr.es/handle/10481/70168>
- Dagnino, J. (2014). Análisis de variación. *Revista chilena de anestesia*, 43(4), 306-310.
- Delgadillo Rodríguez, I. P. (2014). *Respuestas biológicas de Scenedesmus ovalternus y Chlorella vulgaris inmovilizadas en alginato de calcio, ante diferentes concentraciones de nutrientes en condiciones de laboratorio*. Disertación de grado no publicada, Universidad Nacional de

- Colombia, Bogotá, Colombia. Recuperado de <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/74989>
- Domínguez Gómez, M. (2017). *Diseño de una planta para la producción de biofertilizante a partir de Arthrospira platensis cultivada en agua residual urbana*. Disertación de grado no publicada, Universidad de Cádiz, Cádiz, España. Recuperado de <https://rodin.uca.es/handle/10498/19543>
- Escobedo, M. J. (2021). Biomasa microalgal con alto potencial para la producción de biocombustibles. *Scientia Agropecuaria*, 12(2), 265-282. Recuperado de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S2077-99172021000200265&script=sci_arttext&tlng=en
- Filipigh, Á. A. (2021). *Valoración de un consorcio de microalgas y bacterias: comparación de métodos convencionales y nuevos métodos de extracción asistida*. Uvadoc.uva.es. Recuperado de <https://uvadoc.uva.es/handle/10324/49743>
- Freire, E., Koch, A. y Salvador, L. (2018). Evaluación del potencial biofertilizante de consorcios de cianobacterias en pasto raygrass (*Lolium multiflorum*). *Ecuador es calidad*, 4(1). Recuperado de <https://revistaecuadorestcalidad.agrocalidad.gob.ec/revistaecuadorestcalidad/index.php/revista/article/view/27>
- Fuenmayor, G., Jonte, L., Rosales-Loaiza, N. y Morales, E. (2009). Crecimiento de la cianobacteria marina *Oscillatoria* sp. MOF-06 en relación al pH en cultivos discontinuos. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 29(1), 21-25. Recuperado de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562009000100005&lng=es&tlng=es.
- Gabriel, R. y Cruz, R. (2021). *Estudio Preliminar: Inventario de Flora en Cerro las mesas en Mayaguez, Puerto Rico*. Recuperado de https://eyboricua.com/wp-content/uploads/2022/05/Inventario_Cerro_Las-Mesas.pdf
- Giovanni, A. (2023). *Crecimiento poblacional y tabla de vida de Hydra sp.(Cnidaria: Hydrozoa) alimentada con diferentes densidades de cladóceros*. Disertación de grado no publicada, Universidad Nacional Autónoma de México, México. Recuperado de <https://ru.dgb.unam.mx/bitstream/20.500.14330/TES01000847551/3/0847551.pdf>
- Guamán, M. y González, N. (2016). *Catálogo de microalgas y cianobacterias de agua dulce del Ecuador*. Laboratorio de biotecnología energética, Corporación para la investigación energética, Quito.

- Guevara Villalta, T. M. y Villacreses Reyes, M. M. (2018). *Obtención de biomasa empleando la cianobacteria arthrospira sp. con residuos de tilapia*. Disertación de grado no publicada, Universidad de Guayaquil, Facultad de Ingeniería Química, Guayaquil, Ecuador. Recuperado de <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/33446>
- Hariyo, D. (2020). *Comunidades microbianas asociadas a la remoción de fenantreno en suelo: efecto de la aplicación de Medicago sativa L. en el proceso de biorremediación*. Disertación de grado no publicada, Universidad Nacional de La Plata, Argentina. Recuperado de <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/110010>
- Intriago Nazareno, A. L. (2022). *Influencia de parámetros estresantes en la composición bioquímica de una cianobacteria aislada en la Península de Santa Elena*. Disertación de grado no publicada, Universidad Estatal Península de Santa Elena, La Libertad, Ecuador. Recuperado de <https://repositorio.upse.edu.ec/handle/46000/8078>
- Jacob-Lopes, E., C. Ferreira, T. Teixeira. 2008. Biomass production and carbon dioxide fixation by *Aphanothece microscopica* Nägeli in a bubble column photobioreactor. *Biochemical Engineering Journal*, 40, 27- 34
- Jaiswal, P. y Kashyap. A. (2002). *Isolation and characterization of mutants of two diazotrophic cyanobacteria tolerant to high concentrations of inorganic carbon*. *Microbiological Resources*, 157, 83-91.
- Janssen, M., de Winter, M., Tramper, J., Mur, L., Snel, J. y Wijffels, R. (2000). Efficiency of light utilization of *Chlamydomonas reinhardtii* under mediumduration light/dark cycles. *Journal of Biotechnology*, 78, 123- 37.
- Jarre, E. (2022). *Caracterización fenotípica de microalgas y cianobacterias del perifiton de los ríos aportantes del embalse altoandino Mogotes (Parque Nacional Cayambe-Coca), Ecuador*. Disertación de grado no publicada, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador.
- Jiménez Ávila, J. (2021). *Evaluación de la importancia del ritmo circadiano en la regulación del proceso de división celular de Anabaena sp. PCC7120*. Disertación de grado no publicada, Universidad de Chile, Santiago de Chile, Chile. Recuperado de <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/181932>
- Jonte, L., Rosales, N., Briceño, B. y Morales, E. (2003). La salinidad y la irradiancia modulan el crecimiento de la cianobacteria *Synechocystis minuscula* en cultivos discontinuos. *Multiciencias*, 3(1).
- Jovel, V. H. y Zepeda, C. H. (2019). *Caracterización de la estructura de la comunidad de microorganismos en cuerpos de agua dulce del norte de la Península de Yucatán*.

Disertación de grado no publicada. Centro de Investigación Científica de Yucatán, México. Recuperado de https://cicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1003/1624/1/PCA_M_Tesis_2019_Carrillo_Jovel_V%C3%ADctor_Hugo.pdf

- Leal, M., Ortiz, N., Mora, R. y Ruiz., G. (2001). Caracterización de la cianobacteria *Pseudanabaena galeata* a diferentes condiciones de cultivo. *Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela*, 35(3), 223-241. Recuperado de <https://produccioncientificaluz.org/index.php/boletin/article/download/3965/3964/>
- León-de la Rocha, J. F., Díaz-López, E., Bravo-Delgado, H. R., Báez-Rodríguez, I., Francisco-Francisco, N. y Morales-Ruiz, A. (. (2023). Plasticidad fenotípica del frijol bajo cuatro niveles de nitrógeno en Tehuacán. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*. Recuperado de https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-09342023000200223&script=sci_arttext
- López, K. (2019). *Identificación taxonómica de las especies de cianobacterias y microalgas del embalse Salve Faccha, perteneciente a la Red de Agua Potable Papallacta, Parque Nacional Cayambe-Coca, Cordillera Real del Ecuador*. Disertación de grado no publicada, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador.
- Martin Clemente, E. (2021). *Estudios de evolución experimental en microorganismos: análisis de la tolerancia al sulfuro en las cianobacterias *Microcystis aeruginosa* y *Oscillatoria sp.*, y de la transición unicelularidad-pluricelularidad en la levadura *Kluyveromyces lactis**. Disertación de grado no publicada, Universidad de Málaga, Málaga, España. Recuperado de <https://riuma.uma.es/xmlui/handle/10630/20967>
- Martínez, D. (2023). *Microencapsulación mediante secado por aspersion de aceite extraído de la microalga *Parachlorella kessleri* aislada de la laguna La Cocha*. Universidad Nacional Abierta y a Distancia. Recuperado de <https://repository.unad.edu.co/handle/10596/56639>
- Martínez, T. (2019). *Producción de ficocianina a partir de *Spirulina maxima* en biorreactor PBR tubular para la industria de alimentos*. Universidad de Santander, Bucaramanga, Colombia. Recuperado de <https://repositorio.udes.edu.co/bitstreams/c6270f2f-a3cb-4e1a-9256-38afba9bdd4a/download>
- Massello, F. (2022). *Procesos de remediación y recuperación de metales pesados utilizando comunidades microbianas extremófilas*. Disertación de grado no publicada, Universidad Nacional de La Plata, Argentina. Recuperado de <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/139768>

- Mendoza Vera, J. M. (2014). *Estado actual del conocimiento de la biorremediación en México*. Disertación de grado no publicada, Universidad de Chile, Chile. Recuperado de <http://tesis.ipn.mx/handle/123456789/14190>
- Montoya, H., Tarazona, R., Dávila, M. y Vela, M. (2020). Plasticidad fenotípica de la cianobacteria *Rhabdoderma lineare* (Chroococcales, Synechococcaceae) asociada con la rodofita *Porphyridium purpureum* (Porphyridiales, Porphyridiaceae) en comunidad planctónica de humedal, nuevos registros para el Perú. *Arnaldoa*, 27(3), 781-796. Recuperado de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S2413-32992020000300781&script=sci_arttext&tlng=e
- Morales, E. D., Luna, V, Navarro, L., Santana, V., Gordillo, A. y Arévalo, A. (2013). Diversidad de microalgas y cianobacterias en muestras provenientes de diferentes provincias del Ecuador, destinadas a una colección de cultivos. *Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas*, 34(1-2), 129-149.
- Murdock, J. y Wetzel, D. (2009). FT-IR Microspectroscopy Enhances Biological and Ecological Analysis of Algae. *Applied Spectroscopy Reviews*, 44(4), 335–361. doi:10.1080/05704920902907440
- Naranjo Luna, K. P. (2019). *Efectos de tres fuentes nitrogenadas sobre el crecimiento, productividad y composición bioquímica de la cianobacteria Arthrospira sp.* Disertación de grado no publicada, Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador. Recuperado de <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/39716>
- Puyana M., Acosta A., Bernal-Sotelo K., Velásquez-Rodríguez T. y Ramos F. (2015). Spatial scale of cyanobacterial blooms in Old Providence Island. *Colombian Caribbean. Universitas Scientiarum*, 20, 83-105.
- Ramos, G., Bicudo, C. y Moura, C. (2015). Scenedesmaceae (Chlorophyta, Chlorophyceae) from two areas of the Marimbus Pantanal (Baiano and Remanso. *Hoehnea*, 42(3), 549-566.
- Rippka, R., Deruelles, J., Waterbury, M. y Stainer, R. (1979). Generic assignments, strains histories and properties of pure cultures of cianobacteria. *Journal of General Microbiology*, 111, 1-61.
- Rivero, M., Campero, M., Pérez, T. y Céspedes, A. (2007). *Organismos acuáticos como indicadores de contaminación por pesticidas organofosforados*. Recuperado de https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/68263904/ORGANISMOS_ACUTICOS_COMO_INDICADORES_DE_20210723-8356-1luwiwm-libre.pdf?1627029348=&response-content-

disposition=inline%3B+filename%3DOrganismos_Acuaticos_Como_Indicadores_De.pdf&Expires=1709187344&Signature=

- Rodríguez Alcocer, G. C. (2023). *Análisis de la comunidad microbiana del Río Usumacinta, México y su relación con variables ambientales*. Disertación de grado no publicada, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador. Recuperado de <http://repositorio.puce.edu.ec/handle/22000/21535>
- Rodriguez, K. (2020). *Caracterización fenotípica de microalgas y cianobacterias del Perifiton de los ríos aportantes del embalse La Mica*. Disertación de grado no publicada, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador.
- Roset, J., Aguayo, S. y Muñoz, M. J. (2001). Detección de cianobacterias y sus toxinas. Una revisión. *Revista de toxicología*, 18(2), 65-71.
- Rotondo, L. (2021). *Impacto por hidrocarburos en el sedimento, el suelo y el agua de un embalse patagónico: empleo de microalgas como bioindicadoras de contaminación y remediación*. Disertación de grado no publicada, Universidad Nacional del Comahue, Argentina. Recuperado de <http://rdi.uncoma.edu.ar/handle/uncomaid/16291>
- Sánchez, M. (2001). Las comunidades de zooplancton de los embalses españoles. *Revista Ecosistemas*, 10(2).
- Solano, J. (2022). *Control biológico de los florecimientos de cianobacterias tóxicas mediante la actividad alelopática de plantas medicinales mexicanas*. Disertación de grado no publicada, Instituto mexicano de Tecnología del agua, México. Recuperado de <http://repositorio.imta.mx/handle/20.500.12013/2314>
- Tipanta, J. (2022). *Caracterización fenotípica de microalgas y cianobacterias del fitoplancton de los embalses Succus y Mogotes*. Disertación de grado no publicada, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador.
- Toribio Gallardo, A. J. (2021). *Aplicación de cianobacterias como agentes biofertilizantes, bioestimulantes y bioplaguicidas en etapas tempranas del desarrollo vegetal*. Disertación de grado no publicada, Universidad de Almería, Almería, España. Recuperado de <http://repositorio.ual.es/bitstream/handle/10835/12764/01.%20Tesis.pdf?sequence=1>
- Tsarenko, P. (2011b). Trebouxiophyceae. En: P. Tsarenko, S. Wasser y E. Nevo (Eds.). *Algae of Ukraine: diversity, nomenclature, taxonomy, ecology and geography*. Volume 3: Chlorophyta (pp. 61-108). Ruggell, Liechtenstein: A.R.A. Gantner Verlag.
- Verdú-Navarro, F., Weiss, J., Moreno-Cid, J. A. y Egea-Cortines, M. (2023). *Factores que afectan al crecimiento en cultivos de N. benthamiana en matraz*. Investigación Agroalimentaria para jóvenes investigadores, 53. Disertación de grado no publicada, Universidad

Politécnica de Cartagena, Cartagena, Colombia. Recuperado de <https://repositorio.upct.es/bitstream/handle/10317/12098/isbn9788417853617L.pdf?sequence=1&isAllowed=y#page=54>

- Waterbury J. 2006. The Cyanobacteria—Isolation, Purification and Identification. En M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K. Schleifer y E. Stackebrandt (Eds.). *The Prokaryotes* (pp. 1053–1073). Nueva York, Estados Unidos: Springer. doi: 10.1007/0-387-30744-3_38
- Yusuf ZH. 2020. Fitoplâncton como bioindicadores da qualidade da água do reservatório de Nasarawa, estado de Katsina, Nigéria. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 32.
- Zhang, H., Wang, W., Li, Y., Yang, W. y Shen, G. (2011). Mixotrophic cultivation of *Botryococcus braunii*. *Biomass & Bioenergy*, 35(5), 1710-1715. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2011.01.002>

9. ANEXOS

Anexo 1: Soluciones stock para preparar medios.

1.1 Medio BG11

Solución 1a (para 1 l de solución)

Reactivo	Cantidad (g)
NaNO ₃	150
MgSO ₄ · 7H ₂ O	7
CaCl ₂ · 2 H ₂ O	3,6

Solución 2 (para 1 l de solución)

Reactivo	Cantidad (g)
K ₂ HPO ₄ · 3 H ₂ O	4
EDTA	0,1
Na ₂ CO ₃	2

Solución 3 (para 1 L de solución)

Reactivo	Cantidad (g)
Ácido cítrico	0,6
Citrato de amonio	0,6

Solución 4 (para 1 L de solución)

Reactivo	Cantidad
H ₃ BO ₃	2,86 gr
MnCl ₂ · 4H ₂ O	1,81 gr
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	0,22 gr
NaMoO ₄ · 5H ₂ O	0,39 gr
CuSO ₄ · 5H ₂ O	0,8 gr
Co(NO ₃) ₂ · 6H ₂ O	0,05 gr
FeCl ₃	0,22 gr

La mezcla para un litro de medio es:

1.2 Medio BG11

Solución 1b (para 500 ml de solución) sin nitrógeno

Reactivo	Cantidad (g)
MgSO ₄ · 7H ₂ O	7
CaCl ₂ · 2 H ₂ O	3,6

Solución 2 (para 1 l de solución)

Reactivo	Cantidad (g)
K ₂ HPO ₄ · 3 H ₂ O	4
EDTA	0,1
Na ₂ CO ₃	2

Solución 3 (para 1 L de solución)

Reactivo	Cantidad (g)
Ácido cítrico	0,6
Citrato de amonio	0,6

Solución 4 (para 1 L de solución)

Reactivo	Cantidad
H ₃ BO ₃	2,86 gr
MnCl ₂ · 4H ₂ O	1,81 gr
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	0,22 gr
NaMoO ₄ · 5H ₂ O	0,39 gr
CuSO ₄ · 5H ₂ O	0,8 gr
Co(NO ₃) ₂ · 6H ₂ O	0,05 gr
FeCl ₃	0,22 gr

La mezcla para un litro de medio es:

Anexo 2: Significancia de la prueba de T student.

BG11₀ aireación, neutro 18:6

		Prueba de muestras emparejadas							
		Diferencias emparejadas					t	gl	Sig. (bilateral)
		Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio	95% de intervalo de confianza de la diferencia				
					Inferior	Superior			
Par 1	Inicial - Final	,06667	,11547	,06667	-,22018	,35351	1,000	2	,423

BG11₀ aireación, acido 18:6

		Prueba de muestras emparejadas							
		Diferencias emparejadas					t	gl	Sig. (bilateral)
		Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio	95% de intervalo de confianza de la diferencia				
					Inferior	Superior			
Par 1	Inicial - Final	2,00000	3,47707	2,00749	-6,63752	10,63752	,996	2	,424

BG11o aireación, alcalino 18:6

		Prueba de muestras emparejadas							
		Diferencias emparejadas					t	gl	Sig. (bilateral)
		Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio	95% de intervalo de confianza de la diferencia				
					Inferior	Superior			
Par 1	Inicial - Final	1,06667	,25166	,14530	,44151	1,69183	7,341	2	,018

Bg11o aireación, acido 12:12

		Prueba de muestras emparejadas							
		Diferencias emparejadas					t	gl	Sig. (bilateral)
		Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio	95% de intervalo de confianza de la diferencia				
					Inferior	Superior			
Par 1	Inicial - Final	3,76667	3,86825	2,23333	-5,84259	13,37592	1,687	2	,234

Bg11o aireación, alcalino 12:12

		Prueba de muestras emparejadas		
		Diferencias emparejadas		Sig. (bilateral)
		t	gl	

		Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio	95% de intervalo de confianza de la diferencia				
					Inferior	Superior			
Par 1	Inicial - Final	4,83333	4,48144	2,58736	-6,29919	15,96586	1,868	2	,203

Bg11o aireación, neutro 12:12

Prueba de muestras emparejadas

Diferencias emparejadas

		Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio	95% de intervalo de confianza de la diferencia		t	gl	Sig. (bilateral)
					Inferior	Superior			
Par 1	Inicial - Final	-1,16667	,32146	,18559	-1,96521	-,36813	-6,286	2	,024

BG11 aireación, alcalino 18:6

Prueba de muestras emparejadas

Diferencias emparejadas

		Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio	95% de intervalo de confianza de la diferencia		t	gl	Sig. (bilateral)
					Inferior	Superior			
Par 1	Inicial - Final	7,46667	4,38786	2,53333	-3,43339	18,36672	2,947	2	,098

BG11 aireación, acido 18:6

No se puede calcular porque el error estándar y la diferencia es cero.

BG11 aireación, neutro 18:6

		Prueba de muestras emparejadas							
		Diferencias emparejadas							
		Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio	95% de intervalo de confianza de la diferencia		t	gl	Sig. (bilateral)
					Inferior	Superior			
Par 1	Inicial - Final	-,33333	,20817	,12019	-,85045	,18378	-2,774	2	,109

BG11 aireación, neutro 12:12

		Prueba de muestras emparejadas							
		Diferencias emparejadas							
		Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio	95% de intervalo de confianza de la diferencia		t	gl	Sig. (bilateral)
					Inferior	Superior			
Par 1	Inicial - Final	-,63333	,11547	,06667	-,92018	-,34649	-9,500	2	,011

BG11 aireación, alcalino 12:12

		Prueba de muestras emparejadas							
		Diferencias emparejadas							
		Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio	95% de intervalo de confianza de la diferencia		t	gl	Sig. (bilateral)
					Inferior	Superior			

Par 1	Inicial - Final	1,40000	,34641	,20000	,53947	2,26053	7,000	2	,020
-------	-----------------	---------	--------	--------	--------	---------	-------	---	------

BG11 aireación, acido 12:12

Prueba de muestras emparejadas

		Diferencias emparejadas			95% de intervalo de confianza de la diferencia		t	gl	Sig. (bilateral)
Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio	Inferior	Superior					
Par 1	Inicial - Final	-2,30000	,34641	,20000	-3,16053	-1,43947	-11,500	2	,007

BG11o sin aireación, neutro 18:6

Prueba de muestras emparejadas

		Diferencias emparejadas			95% de intervalo de confianza de la diferencia		t	gl	Sig. (bilateral)
Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio	Inferior	Superior					
Par 1	Inicial - Final	1,17000	,02646	,01528	1,10428	1,23572	76,594	2	,000

BG11o sin aireación, acido 18:6

Prueba de muestras emparejadas

Diferencias emparejadas		t	gl	Sig. (bilateral)
-------------------------	--	---	----	------------------

		Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio	95% de intervalo de confianza de la diferencia				
					Inferior	Superior			
Par 1	Inicial - Final	,27667	,12583	,07265	-,03591	,58925	3,808	2	,063

BG11₀ sin aireación, alcalino 18:6**Prueba de muestras emparejadas**

Diferencias emparejadas

		Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio	95% de intervalo de confianza de la diferencia		t	gl	Sig. (bilateral)
					Inferior	Superior			
Par 1	Inicial - Final	3,16667	,46058	,26592	2,02252	4,31081	11,909	2	,007

BG11₀ sin aireación, acido 12:12**Prueba de muestras emparejadas**

Diferencias emparejadas

		Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio	95% de intervalo de confianza de la diferencia		t	gl	Sig. (bilateral)
					Inferior	Superior			
Par 1	Inicial - Final	,41333	,13051	,07535	,08912	,73754	5,485	2	,032

BG11₀ sin aireación, alcalino 12:12**Prueba de muestras emparejadas**

Diferencias emparejadas

t	gl	Sig. (bilateral)

		Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio	95% de intervalo de confianza de la diferencia				
					Inferior	Superior			
Par 1	Inicial - Final	2,77000	,93290	,53861	,45255	5,08745	5,143	2	,036

BG11o sin aireación, neutro 12:12

Prueba de muestras emparejadas

Diferencias emparejadas

		Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio	95% de intervalo de confianza de la diferencia		t	gl	Sig. (bilateral)
					Inferior	Superior			
Par 1	Inicial - Final	1,18667	,05508	,03180	1,04985	1,32348	37,319	2	,001

BG11 sin aireación, alcalino 18:6

Prueba de muestras emparejadas

Diferencias emparejadas

		Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio	95% de intervalo de confianza de la diferencia		t	gl	Sig. (bilateral)
					Inferior	Superior			
Par 1	Inicial - Final	2,68333	1,38536	,79984	-,75810	6,12477	3,355	2	,079

BG11 sin aireación, ácido 18:6

Prueba de muestras emparejadas

Diferencias emparejadas

		Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio	95% de intervalo de confianza de la diferencia		t	gl	Sig. (bilateral)
					Inferior	Superior			
Par 1	Inicial - Final	,25667	,07024	,04055	,08219	,43115	6,329	2	,024

BG11 sin aireación, neutro 18:6**Prueba de muestras emparejadas**

Diferencias emparejadas

		Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio	95% de intervalo de confianza de la diferencia		t	gl	Sig. (bilateral)
					Inferior	Superior			
Par 1	Inicial - Final	1,18000	,12166	,07024	,87779	1,48221	16,800	2	,004

BG11 sin aireación, neutro 12:12**Prueba de muestras emparejadas**

Diferencias emparejadas

		Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio	95% de intervalo de confianza de la diferencia		t	gl	Sig. (bilateral)
					Inferior	Superior			
Par 1	Inicial - Final	1,26667	,02887	,01667	1,19496	1,33838	76,000	2	,000

BG11 sin aireación, alcalino 12:12**Prueba de muestras emparejadas**

		Diferencias emparejadas							
		Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio	95% de intervalo de confianza de la diferencia		t	gl	Sig. (bilateral)
					Inferior	Superior			
Par 1	Inicial - Final	1,73667	,09609	,05548	1,49797	1,97537	31,304	2	,001

BG11 sin aireación, acido 12:12

		Prueba de muestras emparejadas							
		Diferencias emparejadas							
		Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio	95% de intervalo de confianza de la diferencia		t	gl	Sig. (bilateral)
					Inferior	Superior			
Par 1	Inicial - Final	,35333	,13204	,07623	,02534	,68133	4,635	2	,044