

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA

SEDE QUITO

CARRERA: INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS  
NATURALES.

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de: INGENIERO EN  
BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES

TEMA:

DESCRIPCIÓN DE LA MORFOLOGÍA MICROSCÓPICA DE COMUNIDADES DE  
Nostoc sp., PROVENIENTES DE LA PARROQUIA DE PINTAG, PROVINCIA DE  
PICHINCHA.

AUTORES:

GEOVANNY DANIEL ORTEGA TAPIA

FELIPE DAVID VINUEZA LÓPEZ

TUTORA:

MARÍA FERNANDA GUEVARA GRANJA

Quito, julio 2016

### Cesión de derechos de autor

Nosotros, Geovanny Daniel Ortega Tapia, con documento de identificación N° 1714328653, y Felipe David Vinueza López, con documento de identificación N° 1717032468, manifestamos nuestra voluntad y cedemos a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que somos autores del trabajo de titulación intitulado: “Descripción de la morfología microscópica de comunidades de *Nostoc* sp., provenientes de la parroquia de Pintag, provincia de Pichincha”, mismo que ha sido desarrollado para optar por el título de: Ingenieros en Biotecnología de los Recursos Naturales, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En aplicación a lo determinado en la Ley de Propiedad Intelectual, en nuestra condición de autores nos reservamos los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia, suscribo este documento en el momento que hago entrega del trabajo final en formato impreso y digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

(f).....

Geovanny Daniel Ortega Tapia

C.I.: 171432865

(f).....

Felipe David Vinueza López

C.I.:1717032468

Quito, miércoles 19 de julio del 2016

**Declaratoria de coautoría del docente tutor/a**

Yo declaro que bajo mi dirección y asesoría fue desarrollado el trabajo de titulación:  
"Descripción de la morfología microscópica de comunidades de *Nostoc* sp.,  
provenientes de la parroquia de Pintag, provincia de Pichincha", realizado por  
Geovanny Daniel Ortega Tapia y Felipe David Vinuesa López, obteniendo un  
producto que cumple con todos los requisitos estipulados por la Universidad  
Politécnica Salesiana para ser considerados como trabajo final de titulación.

Quito, julio del 2016

(f).....

María Fernanda Guevara

C.I.: 1002454948

## **Agradecimientos**

El trabajo comunitario entre especies da como consecuencia el desarrollo del ecosistema, asegurando así la supervivencia en el entorno, este es el fruto de la asociación y comunicación entre muchos individuos al igual que numerosas horas de estudio y dedicación, el desarrollo de la investigación fue posible gracias a la colaboración de muchas personas, con el fin de aportar a la sociedad científica.

Se agradece especialmente a: la Ingeniera María Fernanda Guevara por su paciencia y oportunidad en la ejecución del estudio; nuestros padres y hermanos/as por su apoyo incondicional; el Químico Christian Larenas por su asistencia en el área estadística; los asistentes de laboratorio por facilitar los materiales requeridos en el estudio, al Ingeniero Daniel Freire por proporcionarnos las muestras empleadas y al Doctor Ever Morales por las sugerencias realizadas.

*“La victoria no está en vencer a tu enemigo sino en aprender a convivir con él”*

G. Ortega

*“La naturaleza de la vida es la verdad de la conciencia”*

F. Vinuesa

## Índice

Introducción .....	1
Capítulo 1. Marco conceptual .....	4
1.1    Cianobacterias .....	4
1.2    Pigmentos fotosintéticos.....	5
1.2.1    Clorofila $\alpha$ .....	6
1.2.2    Carotenoides.....	6
1.3    Género <i>Nostoc</i> .....	7
1.3.1    Ecología.....	9
1.3.2    Reproducción. ....	12
1.3.3    Usos.....	13
Capítulo 2. Materiales y métodos .....	16
2.1    Localización del estudio.....	16
2.2    Variables.....	16
2.3    Colección y procesamiento de muestras. ....	16
2.4    Preparación de placas y observación al microscopio. ....	17
2.5    Selección de los datos.....	17
2.6    Análisis estadístico. ....	18
Capítulo 3. Resultados y discusión. ....	19
3.1    Resultados .....	19
3.1.1    Número de heterocistos en relación a las células vegetativas.....	19
3.1.2    Diámetro de heterocistos y diámetro de células vegetativas.....	22
3.1.3    Longitud de filamento .....	23
3.1.4    Área de mucilago .....	25
Conclusiones .....	32
Recomendaciones.....	33
Referencias.....	34
Anexos .....	39

## Índice de tablas

Tabla 1 Mediciones morfológicas correspondientes a los meses de muestreo .....	27
Tabla 2 Mediciones climatológicas correspondientes a los meses de muestreo .....	28
Tabla 3 Análisis de correlación de Pearson entre el número de heterocistos vs factores climáticos en los diferentes meses de muestreo. ....	29
Tabla 4 Regresión lineal múltiple entre Precipitación, temperatura y radiación solar con respecto al número de heterocistos.....	29
Tabla 5 Análisis de correlación de Pearson entre el diámetro de heterocistos vs los factores climáticos en los diferentes meses de muestreo. ....	30
Tabla 6 Análisis de correlación de Pearson entre el diámetro de células vegetativas vs factores climáticos en los diferentes meses de muestreo. ....	30
Tabla 7 Análisis de correlación de Pearson entre la longitud de filamento vs los factores climáticos en los diferentes meses de muestreo. ....	31
Tabla 8 Análisis de correlación de Pearson entre el área de mucilago vs factores climáticos en los diferentes meses de muestreo.....	31

## Índice de figuras

Figura 1. Cuantificación de heterocistos en <i>Nostoc</i> sp. ....	20
Figura 2. Presencia de heterocistos y células vegetativas en <i>Nostoc</i> . ....	20
Figura 3. Diámetro de heterocistos de <i>Nostoc</i> sp.....	23
Figura 4. Longitud de filamento <i>Nostoc</i> sp.....	24
Figura 5. Longitud de filamentos. ....	24
Figura 6. Área de mucílago <i>Nostoc</i> sp.. ....	26

## Índice de anexos

Anexo 1. Espectro de absorción de pigmentos fotosintéticos.....	39
Anexo 2. Reproducción mediante heterocistos.....	39
Anexo 3. Fotografía de <i>Nostoc</i> sp hidratada.....	40
Anexo 4. Mapa geográfico de la zona de muestreo.....	40
Anexo 5. Distribución de la zona de muestreo.....	41
Anexo 6. Cuadrante 1 – muestra 1.....	41
Anexo 7. Cuadrante 2 – muestra 2.....	42
Anexo 8. Cuadrante 3 – muestra 3.....	42
Anexo 9. Mueatra seca de <i>Nostoc</i> sp.....	43
Anexo 10. Hidratación de <i>Nostoc</i> sp.....	43

## Resumen

En el presente trabajo se describe la morfología microscópica de comunidades de *Nostoc* sp., nativas de la parroquia de Pintag provincia de Pichincha, en función de las variables ambientales durante los meses de mayo a septiembre de 2015. En las muestras se evaluó: diámetro de células vegetativas ( $\mu\text{m}$ ), diámetro de heterocistos ( $\mu\text{m}$ ), área de mucílago ( $\mu\text{m}^2$ ), longitud de filamento ( $\mu\text{m}$ ) y número de heterocistos en relación a cien células vegetativas. Se analizaron 15 muestras tomando como referencia, la temperatura, precipitación, humedad relativa y radiación solar.

En el laboratorio cada muestra fue hidratada y colocada en placas con azul de metileno para ser observadas al microscopio. En el análisis de los datos se obtuvo de acuerdo a correlación de Pearson que, en el número de heterocistos, longitud de filamento y área de mucílago no existió correlación frente a las variables climáticas estudiadas. El diámetro de células vegetativas presentó correlación frente a la radiación solar ( $r = 0.95 / p = 0.01$ ) y con respecto a las demás variables climáticas no presentó correlación ( $p > 0.05$ ). Para el diámetro de heterocistos se demostró que, la radiación solar está correlacionada ( $r = 0.93 / p = 0.019$ ), al igual que la humedad relativa ( $r = -0,89 / p = 0.04$ ), mientras que temperatura y precipitación ( $p > 0,05$ ) no presentan correlación. En la regresión lineal múltiple se demostró la existencia de correlación entre el número de heterocistos, temperatura, radiación solar y precipitación, expresando que la variable morfológica depende de las condiciones del entorno.

## Abstract

This research describes the microscopic morphology of *Nostoc* sp., from Pintag (Pichincha), in relation to weather variables from May to September 2015. The features evaluated from the samples were: diameter of cells ( $\mu\text{m}$ ), heterocyst diameter ( $\mu\text{m}$ ), mucilage area ( $\mu\text{m}^2$ ), filament length ( $\mu\text{m}$ ) and heterocyst number in relation to one hundred vegetative cells. Fifteen samples were analyzed using as reference the temperature, precipitation, relative humidity and solar radiation.

Each sample was hydrated and settled on plates with methylene blue to be observed with a microscopy. In the data analysis, according to Pearson correlations, the heterocyst number, filament length and mucilage area do not present any correlation with the weather variables studied. Vegetative cells diameter, displayed correlation with the solar radiation ( $r = 0.95 / p = 0.01$ ) but does not present any kind of correlation with the other weather variables ( $p > 0.05$ ). The heterocyst diameter indicated that solar radiation is correlated ( $r = 0.93 / p = 0.019$ ), the same for the relative humidity ( $r = -0.89 / p = 0.04$ ), but the temperature and precipitation ( $p > 0.05$ ) do not present correlation. Multiple lineal regression shows correlation between heterocyst number vs. temperature, solar radiation and precipitation, showing that morphological variables depend on the surrounding weather conditions.

## Introducción

Las cianobacterias son organismos que han intervenido de manera directa en la formación del ecosistema terrestre y marino, debido a su capacidad para la fijación de nitrógeno y liberación de oxígeno al ambiente. Son consorcios responsables de incorporar nitrógeno a la cadena trófica y de propiciar una atmósfera ideal para los entes existentes en las etapas iniciales de la formación de la tierra, donde aparecieron los primeros organismos aeróbicos (Margulis & Sagan, 1986).

Son microorganismos que presentan una relación más cercana con las bacterias fotosintéticas oxigénicas que con las algas eucariotas y se los caracteriza por: la presencia del fotosistema PSI y PSII, utilizar al agua como fotoreductor, ser quimioautótrofos facultativos (en ciertas especies) y ser capaces de utilizar el CO<sub>2</sub> como fuente principal de carbono (Alma, Terán, & Mayra, 2010). Contienen en su estructura celular: clorofila alfa (otros también poseen clorofila beta y delta), ficobiliproteínas, glucógeno como fuente de reserva y paredes celulares compuestas por amino azúcares y aminoácidos (Robert, 2010).

La morfología de la cianobacteria *Nostoc* sp., presenta variaciones al momento que se encuentra expuesta a condiciones adversas (largos periodos de sequía, exposición directa al sol, suelos salinos, ácidos y alcalinos) o a cambios normales en las estaciones climáticas; adquiriendo así, la capacidad de ser indicadores de la calidad del agua (Mollenhauer & Bengtsson, 2015). El papel ecológico que desempeñan estos organismos foto autótrofos es de vital importancia, por el hecho de establecer relaciones con la biota que rodea su entorno y asegura la supervivencia de diversos organismos superiores (Santamría & Koch, 1990), entre ellos consta el hombre, ya que, son utilizadas como: alimento por su peculiar sabor y su contenido alto en proteína (Ponce, 2013), medicamento debido a las cualidades antioxidantes

brindadas por los carotenoides y demás pigmentos que posee (Gerrero & Miguel G, 2012), antibiótico (Rimsha, Richa, & Sheela, 2014), antiviral otorgada por cianovirina-N entre otros usos (Aguilera & Echenique, 2011).

Estos microorganismos fotosintéticos, se adaptan fácilmente a todos los ambientes debido a su morfología y a las estructuras desarrolladas con la evolución, además, pueden vivir en ambientes extremos como en los interiores de volcanes donde las temperaturas son elevadas (Rodgers & Elisabet , 1976), en los polos con temperaturas bajo cero, bajo los océanos en donde las presiones son elevadas y conviven con otros microorganismos conformando el plancton, en cuerpos acuíferos con salinidad elevada y un pH desde muy alcalinos a muy ácidos (Robert, 2010).

El conocimiento claro de la morfología de *Nostoc* sp., en el entorno nos acerca más, hacia la posibilidad de aprovechamiento de sus bondades en todo aspecto, como la formación de heterocistos cuando el medio es bajo en nitrógeno (Singh & Montgomery, 2011), obteniendo el control de la síntesis de estructuras fijadoras de nitrógeno atmosférico que, son utilizadas como biofertilizantes para diversos cultivos (Robert, 2010), formación de mucílago (exopolisacárido), para producción de biomasa con alto contenido energético utilizable por organismos fermentadores (Pérez, 2012).

*Nostoc* sp., es una Cyanobacteria que crece de manera natural en la localidad de Pintag, provincia de Pichincha y dados los diversos beneficios ya mencionados, se pretende hacer un seguimiento de la morfología microscópica, utilizando la clave de *Nostoc* (Rippka, Castenholz, & Herdman, 1979), conjuntamente con otras investigaciones relacionadas al tema, para observar las variaciones estructurales provocadas por los cambios estacionales.

El objetivo general que se desea alcanzar es describir la morfología microscópica de comunidades de *Nostoc* sp., nativas de la parroquia de Pintag, provincia de Pichincha. Para esto se obtuvieron muestras representativas de *Nostoc* sp., del sector de Pintag en la provincia de Pichincha, se contabilizó la proporción de heterocistos en relación a las células vegetativas colectadas, se midió: longitud de filamento, diámetro de células vegetativas, diámetro de heterocistos y área de mucílago.

## Capítulo 1. Marco conceptual

### 1.1 Cianobacterias

Las cianobacterias son organismos procariotas y pertenecen al dominio *Bacteria*, su organización estructural y bioquímica corresponde al de las bacterias gram – negativas. Posee características fotosintéticas similares a las algas eucariotas y plantas superiores (Loza Calvo, 2011).

Poseen un pigmento especial que les ayuda a realizar la fotosíntesis con muy poca luz, dicho pigmento es conferido por la ficobilina, además pueden adquirir colores rojizos o violetas. Sintetizan materia orgánica a partir de minerales utilizando la energía solar e introducen nitrógeno atmosférico al agua. Producen oxígeno a partir de la captación de anhídrido carbónico (gas efecto invernadero), para este proceso utiliza la clorofila *a* y otros pigmentos accesorios (Bonilla, Aubriot, & Piccini, 2013).

Existen especies con amplios rangos de tamaño, desde 0,5  $\mu\text{m}$  (*Prochlorococcus sp.*) hasta colonias macroscópicas de varios milímetros de diámetro (*Microcystis sp.*). Algunas especies presentan células diferenciadas (heterocistos) a partir de células vegetativas (Orden *Nostocales* y *Stigonematales*), en el proceso de fijación de nitrógeno por parte de los heterocistos la enzima responsable es la nitrogenasa, dichos heterocistos pueden formarse bajo condiciones ambientales deficientes en nitrógeno inorgánico disuelto (Bonilla Sylvania, 2009).

La propagación se puede dar por medio de fragmentación de los filamentos, esta se realiza en puntos frágiles generados por la muerte programada de una célula, los filamentos se dividen en pequeñas porciones que luego por fisión binaria, se multiplican hasta regenerar un filamento. Las cianobacterias poseen carotenoides que se pueden encontrar en las algas eucariotas, también poseen otros pigmentos que

son exclusivos de las cianobacterias (carotenoides glicosídicos) y cumplen funciones de protección para las altas intensidades lumínicas, actuando como antioxidantes al desviar el flujo de electrones en exceso para evitar que dañen los fotosistemas. Algunos carotenoides de las cianobacterias pueden cumplir funciones protectoras a bajas temperaturas o actuar como pigmentos accesorios de la clorofila *a* (Bonilla Sylvia, 2009).

Las cianobacterias pueden formar agrupaciones en simbiosis con organismos marinos, por la capacidad de fijar nitrógeno o la disolución de carbón orgánico, dicha capacidad se da entre organismos como esponjas, ascidias, equiueros, diatomeas dinoflageladas y protozoos. Por otro lado las diatomeas son algas unicelulares que presentan un recubrimiento conformado de sílica. Son los principales productores en el sistema acuático y muchas especies trabajan intracelularmente en simbiosis con las cianobacterias, algunas diatomeas ayudan como sustrato para las epifitas. Una caracterización genética de los heterocistos de las cianobacterias (*Calothrix rhizosolenia* y *Richelia intracellularis*) ha demostrado que viven en asociación con diatomeas dando sorprendentemente información intra y extracelularmente de los filamentos cianobacteriales (Rai, Bergman, & Rasmussen, 2003).

## **1.2 Pigmentos fotosintéticos**

Los pigmentos son compuestos que parecen estar coloreados, ya que, absorben luz de una longitud de onda particular dentro del espectro visible, por ejemplo, la coloración verdosa de las hojas es debido a que reflejan longitudes de onda verdes intermedias y contienen grandes cantidades del pigmento clorofila, que absorbe con mayor intensidad el azul y el rojo (Karp, 2009).

Los componentes encontrados en mayor cantidad en el sistema fotosintético de las Cyanobacterias son la clorofila alfa en la membrana tilacoide, carotenoides y

ficobiliproteínas, que son cromoproteínas solubles en agua emparejadas a agregados macromoleculares y a su vez están adheridas a la superficie externa de la membrana tilacoidal (Robert, 2010).

### **1.2.1 Clorofila $\alpha$ .**

Cada molécula se forma de dos partes, un anillo de porfirina que funciona en la absorción de luz y una cadena de fitol hidrófobo que mantiene la clorofila incrustada en la membrana fotosintética. En contraste de la porfirina roja de la hemoglobina que contiene hierro, la clorofila  $\alpha$  posee en su estructura magnesio (Karp, 2009). El pigmento es insoluble en agua y éter de petróleo pero soluble en alcohol, dietil éter, benceno y acetona. Contiene dos importantes bandas de absorción, una banda en la región del rojo a 663 nm y otra a 430 nm (Robert, 2010). (*Anexo 1*)

La concentración de este pigmento es utilizada para determinar la biomasa de organismos fitoplanctónicos, también sirve como indicador del grado de contaminación de ecosistemas acuáticos (Rivera, Pinilla, & Chaparro, 2005).

### **1.2.2 Carotenoides.**

Forman parte de los tetraterpenos y se caracterizan por tener una cadena de cuarenta carbonos simétrica, absorben la luz sobre todo de la región azul y verde del espectro (de 380nm – 580nm) y reflejan las longitudes de onda de las regiones del amarillo, rojo y naranja (característico de las zanahorias y naranjas así como de algunas hojas durante el otoño), se hallan ampliamente distribuidos en el mundo vegetal y algunos tienen interés por ser precursores de vitamina A. Desempeñan ciertas funciones, como: recolectores secundarios de luz durante la fotosíntesis, extraer el exceso de energía de las moléculas excitadas de clorofila y disiparlas en forma de calor. Si no hubiera absorción del exceso de energía, esta se transferiría al

oxígeno, produciendo una forma ultra reactiva de la molécula denominada oxígeno sencillo que puede destruir moléculas biológicas (Karp, 2009).

### **1.3 Género *Nostoc*.**

Las comunidades de *Nostoc* sp., frecuentemente se encuentran en aguas frescas o en hábitats terrestres. Las especies que viven en aguas frescas forman colonias macroscópicas las cuales pueden llegar hasta 8 cm de diámetro. Las especies de hábitats terrestres forman tejidos compactos y pueden situarse sobre rocas de consistencia porosa, ya que estas almacenan agua que es aprovechada por la cianobacteria (Singh Pande, 2010).

Forman consorcios celulares agrupados en filamentos con células diferenciadas, las colonias varían dependiendo de la especie, de esta manera los fenotipos responden a varias condiciones físicas, es así que, *N. flageliforme* presenta en su estructura 50 cm de longitud y 0.2-1.0 mm de diámetro (Richmond, 2004).

Presenta macrocolonias en principio esféricas, después membranosas e irregulares que pueden alcanzar varios centímetros, de color verdoso a parduzco o negruzco, dependiendo del estado de hidratación de los individuos (Aboal & Cristóbal, 2014). Las células vegetativas de *Nostoc* son subsféricas, de 4.5-6.0  $\mu\text{m}$  de diámetro alargadas y con un filamento constricto (Richmond, 2004).

Las células vegetativas se pueden diferenciar formando heterocistos, esta diferenciación es irreversible y se producen cuando existe deficiencia de nitrógeno (Loza Calvo, 2011). Los heterocistos (*Anexo 2*) que también son semiesféricos alcanzan un diámetro de hasta 7  $\mu\text{m}$  (Aboal & Cristóbal, 2014). Dichos heterocistos suelen presentarse en posición terminal o intercalar, la reproducción se da vegetativamente por medio de acinetos o heterocistos (Singh Pande, 2010).

La unión de varias cadenas forman agregados, las cuales se mantienen unidas gracias al mucílago (exopolisacárido), este se halla recubriendo a las células vegetativas y heterocistos, además permite una comunicación intercelular sin perder su funcionalidad individual. Cuando las colonias se encuentran en estado seco, parecen delgados papeles arrugados de color negro, pero al humedecerse, si los individuos están activos, cambian su forma y presentan una textura gelatinosa (*Anexo 3*). Si las condiciones de vida se vuelven desfavorables, algunos presentan características de resistencia, permaneciendo poco activos hasta que las condiciones mejoran (Rai, Bergman, & Rasmussen, 2003). Esta característica que le confiere la resistencia a la desecación está asociada con las proteínas de estrés del agua (Wsp), en *N. commune* se confirmó la secreción de dichas proteínas conjuntamente relacionadas con los glicanos extracelulares presentes en el exopolisacárido. Se caracteriza además, que al momento en que las células se encuentran desecadas las proteínas de hierro y la nitrogenasa se hallan estabilizadas (Potts, 2000).

El recubrimiento por parte del exopolisacárido juega un papel importante, ya que, protege a las células de condiciones de estrés ambiental mediante la retención de agua, además sirve para el almacenamiento de metales pesados y como defensa para los depredadores gasterópodos, insectos, etc. (Richmond, 2004). Los componentes macromoleculares del exopolisacárido están caracterizados por poseer arabinosa, ácido galacturónico, xilosa glucosa y dos componentes que aún no han sido identificados. Existen informes que el exopolisacárido contenido en *N. commune* contiene componentes granulares asociados con una red fibrilar, los cuales poseen morfológicamente algunos animales en su cartílago. La síntesis de esta estructura proteica en el colágeno es universalmente distribuido entre los metazoos, los cuales

solamente fueron posibles cuando la concentración de oxígeno era primitiva en la Tierra (Potts, 2000).

*Nostoc* sp., es una bacteria clasificada como cianobacteria por su color verde azulado y porque realiza fotosíntesis liberando como subproducto el oxígeno. Debido a su capacidad para incorporar nitrógeno de la atmósfera por parte de los heterocistos en condiciones aerobias, gracias a la enzima nitrogenasa, puede encontrarse asociada a hongos (formando líquenes) o a plantas, estableciendo una relación en la que ambos organismos se ven beneficiados (Rai, Bergman, & Rasmussen, 2003).

Las colonias de *Nostoc* sp., contienen una pigmentación que aparece en un rango de colores desde verde oscuro a negro y amarillo verdoso a rojo marrón. Las especies de *Nostoc* que son marrones son las que presentan resistencia a alta intensidad lumínica y rayos UV. Curiosamente la pigmentación marrón y la cantidad de rayos UV que absorbe el pigmento no ha sido posible observar cuando las condiciones de oxígeno son bajas (Potts, 2000).

### **1.3.1 Ecología.**

El entorno donde se desarrolla el género *Nostoc* puede variar enormemente y se han registrado diferentes zonas climáticas en las que tiene un pleno desarrollo, las cuales son: aguas oligotróficas que contienen pequeñas cantidades de minerales de consistencia arenosa y con vegetación anfibia; aguas oligotróficas alrededor de los Alpes, con un bosque templado de coníferas y de vegetación anfibia; aguas duras oligomesotróficas con vegetación bentónica<sup>1</sup> poblada por plantas del género *Chara*; lagos eutróficos con vegetación acuática y flotante como *Lemna* sp., *Potamogetonetea pectinati*, *Stratiotes aloides*, *Utricularia* sp; vegetación flotante de ribera (*Ranunculus*) en zonas planas, de colina y bosque de montaña; praderas

---

<sup>1</sup> Zona bentónica: región ecológica localizada en el nivel más bajo de un cuerpo acuífero.

calcáreas kársticas<sup>2</sup>; praderas con sustratos calcáreos; manantiales petrificados con formación de toba calcárea; vegetación casmofítica<sup>3</sup> en rocas calcáreas (Mollenhauer, Bengtsson, & Lindstrom, 2015).

*Nostoc muscurum*: se desenvuelve en regiones tipo volcánicas (Isla volcánica de Surtsey), recubiertas por gran cantidad de minerales con un clima oceánico donde las temperaturas son similares a las polares, provocadas por la corriente de Groenlandia oriental. Convive con otros organismos como *Funaria hygrometrica* (musgo) y *Anabaena variabilis*, que favorecen la fijación de nitrógeno (Rodgers & Elisabet , 1976).

*Nostoc caeruleum*: el lugar de hallazgo de esta macrocolonia de *Nostoc* es un paisaje glacial con superficies de roca madre y una dureza del agua moderada, con pH 7 o ligeramente menor y la concentración de nutrientes vegetales en el agua es baja. Esta especie vive en suspensión en columnas de agua y raramente se la encuentra en el fondo de los cuerpos acuíferos, en Suecia colonizan estanques, lagos ultraoligotrofos, oligotróficos y mesotróficos a menudo con proliferaciones excesivas (Mollenhauer, Bengtsson, & Lindstrom, 2015).

Las especies de *Nostoc* disfrutan de un rango que es predominantemente terrestre y las descripciones de los sistemas acuáticos son casi exclusivamente de agua dulce. Un entorno que claramente no parece ser colonizado por *Nostoc* es el interior de las rocas. Esto debe ser debido a alguna limitación fisiológica, a causa de otras cianobacterias, incluyendo formas heterocísticas como *Mastigocoleus testarum*, *Kyrtuthrix dulmatica* y *Scytonema endolithicum*, tampoco colonizan las rocas y sedimentos de agua dulce terrestres y localidades marinas (Potts, 2000).

---

<sup>2</sup> Relieve kárstico: relieve provocado por la meteorización de suelos calizos.

<sup>3</sup> Casmofítica: son un tipo de vegetales que viven en superficies verticales.

Una inspección superficial de los suelos pobres en nutrientes, especialmente en las zonas donde prevalece la piedra caliza, a menudo revelan las colonias apegadas de *N. commune*. Una vez secas, las colonias forman costras con la consistencia y el aspecto de las cortezas de tocino quemadas y oscuras. Estas costras se desprenden fácilmente y pueden acumularse en los huecos de rocas que se llenan periódicamente con agua de lluvia (Potts, 2000).

*Nostoc commune* es especialmente frecuente en piedra caliza o relieve kárstico tales como las de Burren en Irlanda. Guijarros de piedra caliza que se utilizan como lastre para cubrir techos de edificios universitarios, casas, así como los caminos de grava y pavimento de piedra caliza coralina en los trópicos, proporcionan las condiciones perfectas de retención de agua y desagüe para el crecimiento *Nostoc* (Potts, 2000).

Los requerimientos de pH para *Nostoc* en piedra caliza sugieren una preferencia por condiciones alcalinas, aunque una cepa de *N. microscopicum* aislado a partir de un campo de arroz en Filipinas, mostró un crecimiento óptimo en agua del grifo a un pH entre 6 y 7. *N. commune* se presenta en una variedad de hábitats, incluyendo el plancton, los suelos y arroyos de deshielo glacial, sin embargo en su mayor parte la distribución de *N. commune* parece estar determinada, como es lógico, por una persistencia de agua en estado líquido (Potts, 2000).

En los cerros Vestfold, Antártida, *N. commune* presenta una consistencia mucilaginosa y las colonias son irregularmente lobuladas, tiene una distribución escasa y dispersa, además se deseca rápidamente bajo pleno sol en suelos que pueden alcanzar temperaturas de 25 ° C. Las colonias esféricas de 1 cm de diámetro también pueden brotar de las superficies de los cojines de musgos, que proporcionan un medio para retener el agua adicional, así como el aislamiento (Potts, 2000).

Cuando una fuente de agua está disponible, algunos hábitats notables pueden ser colonizados por *Nostoc* y otras cianobacterias. *Nostoc* aunque escasa, pueden presentar consorcios notables que se desarrollan dentro de bolsas de agua generada por el sol en la cubierta de hielo de los lagos antárticos. Se ha detectado un crecimiento abundante de *N. microscopicum* a una profundidad de 25 m dentro de una cueva en Clarensandstone de las montañas de Drakensberg en South África donde las aguas de infiltración (pH 9,2) era la única fuente de humedad. Existen informes de la aparición de *Nostoc* localizados bajo 1000 m de profundidad en el Océano Índico y el Mediterráneo (Potts, 2000).

### **1.3.2 Reproducción.**

*Nostoc* sp., solo se reproduce vegetativamente y la reproducción sexual se encuentra completamente ausente. La reproducción vegetativa se lleva a cabo por diferentes mecanismos:

En la reproducción por fragmentación, las células se rompen en pequeños fragmentos ocasionados por factores mecánicos o fisiológicos. Cada fragmento tiene la capacidad de formar una nueva colonia. Mediante acinetos, durante periodos desfavorables algunas células del tricoma son transformadas a esporas resistentes o acinetos, que poseen una gran capacidad de resistencia al frío. En esta estructura se puede encontrar protoplasma, donde se almacenan alimentos. Estos acinetos resultan de la metamorfosis de las células vegetativas, probablemente gracias a una sustancia química que secretan los heterocistos (Singh Pande, 2010).

En el proceso de reproducción por heterocistos, el protoplasma de los heterocistos puede germinar formando un nuevo tricoma, esta célula germina hasta formar cuatro células nuevas la cual se da por ruptura de pared celular (*Anexo 2*) (Singh Pande, 2010). También se reproducen por hormogonia, que son secciones

cortas de filamento que contienen entre tres y diez células, capaces de generar nuevos individuos (Potts, 2000).

Estudios con *Nostoc commune* y *Nostoc muscorum* sugirieron (Potts, 2000) que la calidad espectral de la radiación incidente, así como la presencia de metabolitos excretados de identidad desconocida, influencia a cambios morfológicos incluyendo la producción de hormogonia. Las paredes celulares presumiblemente contienen componentes hidrófobos que pueden ayudar a la dispersión de las células. La causa específica de la contorsión de los filamentos no es conocida, pero seguramente refleja un cambio en las propiedades reológicas del exopolisacárido (Potts, 2000).

El exopolisacárido impone una restricción mecánica en el filamento que a medida que crece se limita el espacio más disponible. El filamento es por lo tanto probable que tenga energía adquirida más bien como un resorte en espiral de la presión impuesta desde la vaina. Colonias sésiles y la movilidad de la hormogonia fueron reconocidos como las dos principales etapas de desarrollo en el ciclo de vida de un *Nostoc sp.*, aislado de la endosimbiosis con *Geosiphon pyriforme* (Potts, 2000).

### **1.3.3 Usos**

El ciclo de vida de *Nostoc muscorum* fue manipulado como base a una patente para la detección de antibióticos anti-adhesión. La siembra de heterocistos (aparentemente por la capacidad de germinar) y el aislamiento de microcolonias derivadas de heterocistos individuales, permitió trabajar con cepas que difieren en las propiedades de motilidad de la hormogonia y la agregación. Dichos antibióticos previenen la habilidad bacteriana de adherirse, pero que no son bacteriostáticos o bactericidas, se pueden identificar a través de su interferencia con la motilidad de la hormogonia (Potts, 2000).

Stevens y Murphy (1996) enumeran varias cepas de *Nostoc* y *Anabaena* como células huésped para los productos de *Bacillus thuringiensis* sp., como plaguicida contra Díptera. Los extractos celulares de *Nostoc* y otras cianobacterias se utilizaron en un proceso de floculación, como trampa de minerales para producir una composición seca, susceptible al flujo de agua para el tratamiento de suelos. *Nostoc punctiforme* es utilizada para el tratamiento de efluentes de la industria de polifibra, que son encontradas en aguas residuales domésticas. En vista de esta características de crecimiento en un nuevo medio (BW) *Nostoc* sp., se consideró como fuente de ficobiliproteínas para la producción de colorantes naturales (Potts, 2000).

Por su capacidad de fijar nitrógeno atmosférico en condiciones aerobias por parte de sus estructuras diferenciadas (heterocistos), se les atribuye el hecho de incorporar el nitrógeno en aguas deficientes de este elemento, lo que les confiere un especial interés en temas agrícolas y de aprovechamiento de la materia orgánica (Loza Calvo, 2011).

También son usadas por sus pigmentos. Al menos dos distintos tipos de pigmentos son los que absorben UVR, los cuales se les puede localizar en el exopolisacárido de *N. commune*. Uno de ellos (pigmento amarillo), tiene las propiedades espectrales de escitonemina. La otra es una mezcla compleja que consiste en ácidos aminados con micosporina, ligados a la galactosa, glucosa, xilosa y la glucosamina, que tienen máximos de absorción a 335 y 312 nm. Ya sea solas o en combinación la escitonemina y micosporina protegen de la radiación solar incidente. La micosporina pueden constituir hasta el 10% en peso seco de colonias desecadas y cuando se rehidratan las colonias pueden perder cantidades significativas de carbono y nitrógeno celular. Por el contrario, la escitonemina no se pierde en la extracción acuosa. Una especie de *Nostoc* sp., en asociación con *Oscillatoria* spp. y

*Desulfovibrio* sp., forma capas superficiales como glóbulos negros, frecuentemente como indicador de la muerte de césped en golfos verdes de tierras altas (Potts, 2000).

Gracias a las propiedades espesantes y emulsificantes encontradas en el exopolisacárido de *Nostc* sp., se la utiliza en áreas como la industria alimenticia, cosmética y farmacéutica como vehículo por su capacidad de liberación controlada de medicamentos y en el tratamiento de aguas residuales por la quelación de metales presentes en soluciones acuosas. En la industria alimenticia los polímeros del exopolisacárido son utilizados para incrementar la suspensión en ciertas matrices y mejoran la calidad sensorial en los productos alimenticios (Pérez, 2012).

## Capítulo 2. Materiales y métodos

### 2.1 Localización del estudio.

El estudio se realizó en la provincia de Pichincha. El muestreo se ejecutó en la parroquia de Pintag, en una finca situada a 0°30'20" S y 78° 30' 15" O, a una altura entre 2800 – 2910 msnm (*Anexo 4*), dado que estudios previos (Cadena & Molina, 2013), muestran la prevalencia de *Nostoc* sp., en la localidad descrita, situado sobre la superficie del suelo entre piedras y poca vegetación.

El procesamiento de muestras y cultivos de *Nostoc* sp., se realizaron en las instalaciones de los Laboratorios de Ciencias de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana, campus el Girón.

La distribución de las macro colonias de *Nostoc* sp., se hallaron en una superficie de 45 m de altura y 28 m de base (*Anexo 5*), por lo cual se decidió trazar tres cuadrantes de 1m<sup>2</sup> (*Anexo 6, Anexo 7, Anexo 8*), la designación de los cuadrantes se realizó al azar y estos fueron mantenidos durante toda la investigación.

### 2.2 Variables.

En la identificación morfológica de *Nostoc* sp., se evaluaron cinco características importantes: número de heterocistos por cada cien células, longitud de filamento, área de mucílago, diámetro de heterocistos y diámetro de células vegetativas.

En cuanto a las variables ambientales se consideraron: temperatura, radiación solar, precipitación y humedad relativa, datos que fueron obtenidos a través de la Secretaría del ambiente, (2015).

### 2.3 Colección y procesamiento de muestras.

La investigación inició con muestreos realizados en una finca ubicada a las afueras de Pintag Provincia de Pichincha, entre los meses de mayo a septiembre del 2015. Las colonias de *Nostoc* sp., estaban situadas sobre la superficie del suelo entre

piedras y poca vegetación, formando agrupaciones celulares semejantes a membranas plegadas entre sí, presentaban un color verde pardo - negruzco, textura verrugosa - semigelatinosa y áspera (*Anexo 9*) ya que la precipitación era escasa, al contrario de un color verde intenso y de consistencia gelatinosa que se caracterizan en las estaciones lluviosas.

Las colonias se tomaron manualmente y fueron depositadas en fundas herméticas para ser transportadas a los laboratorios de Ciencias de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana campus el Girón, donde fueron pesadas aproximadamente de entre cinco y diez gramos.

En el laboratorio se procede a descartar todo el material ajeno a las macrocolonias de *Nostoc* sp., como pequeñas piedras, material vegetal e insectos muertos. A continuación las muestras fueron colocadas en tubos de ensayo con aproximadamente veinte mililitros de agua destilada (*Anexo 10*), posteriormente dichos tubos fueron puestos por 24 horas en refrigeración a 3 °C.

#### **2.4 Preparación de placas y observación al microscopio.**

Se tomó una laminilla de *Nostoc* sp., aproximadamente de dos centímetros de diámetro y se llevó al equipo Vortex a cuatro mil revoluciones por minuto durante cinco minutos, se trituró la muestra y se posicionó en el porta objetos para realizar la tinción utilizando una gota de azul de metileno, por último se colocó el cubre objetos y se observó mediante microscopía óptica, acoplada a una cámara con la ayuda del software MICROVISIBLE versión 1.12.10. Todas las muestras correspondientes a cada mes fueron analizadas en base al método descrito.

#### **2.5 Selección de los datos.**

De cada una de las muestras se caracterizaron los datos de acuerdo a la clave de *Nostoc* (Rippka, Castenholz, & Herdman, 1979), conjuntamente con otras

investigaciones relacionadas al tema, para observar las variaciones estructurales provocadas por los cambios estacionales.

## 2.6 Análisis estadístico.

Para esto se utilizó dos tipos de modelos lineales correspondientes a: Regresión lineal múltiple y la correlación estadística de Pearson. Se evaluó la existencia de correlación de las características morfológicas frente a las variaciones climáticas, determinando así, que variables presentan niveles de significancia aceptables. El programa utilizado para el análisis lineal múltiple fue R (R Core, 2013) y la fórmula utilizada para la correlación de Pearson fue:

$$r = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{N}}{\sqrt{(\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{N})(\sum y^2 - \frac{(\sum Y)^2}{N})}}$$

$X$  y  $Y$  son las variables y  $N$  representa el número de muestreos realizados, en este caso.

## Capítulo 3. Resultados y discusión.

### 3.1 Resultados

#### 3.1.1 Número de heterocistos en relación a las células vegetativas

La cantidad de heterocistos en relación a las células vegetativas, demuestra que en los meses de mayo y junio alcanzó valores de 14, 12 (*Tabla 1*), donde existió mayor precipitación y menor radiación solar proporcionada por la tabla de análisis climático (*Tabla 2*).

En el análisis de correlación de Pearson (*Tabla 3*) se demostró que los factores climáticos no presentan correlación frente a la cantidad de heterocistos, ya que en la mayoría de los casos los niveles de significancia fueron mayores a 0.05; sin embargo, para los casos de precipitación y radiación solar se registró valores con un  $p = 0.06$ , esto hace referencia a que de alguna manera influyen a la cantidad de heterocistos presentes en la muestra. En la *figura 1* se aprecia el número de heterocistos en un campo óptico y en la *figura 2* se muestra la presencia de heterocistos y células vegetativas de *Nostoc*.

Al evaluar el número de heterocistos frente a, la precipitación, temperatura y radiación solar se observó de acuerdo a la regresión lineal múltiple (*Tabla 4*) que, estas tres condiciones modifican el número de heterocistes presentes en la macrocolonia de *Nostoc* sp., ya que  $p < 0.05$  en los tres casos (precipitación, temperatura, radiación solar) y en el intercepto, además, de que el valor de  $r^2 = 0.99$ , demostrando que las tres condiciones se encuentran correlacionadas y juegan un papel importante al momento de realizar el conteo de los heterocistos en una macrocolonia (los valores tienden a acercarse más a la línea de tendencia).

Cuantificación de heterocistos en *Nostoc sp.*

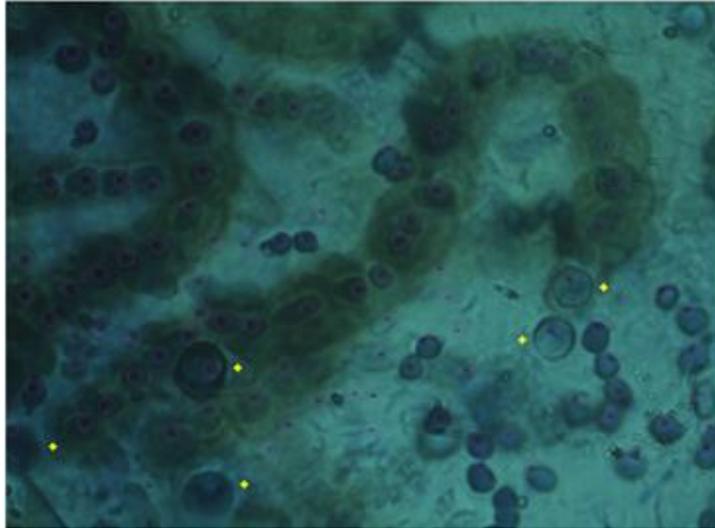


Figura 1. Presencia de heterocistos y células vegetativas de *Nostoc sp.*, heterocistos marcados con punto amarillo 

Elaborado por G. Ortega, F. Vinueza 2016.

Cantidad de heterocistos en relacion a células vegetativas.

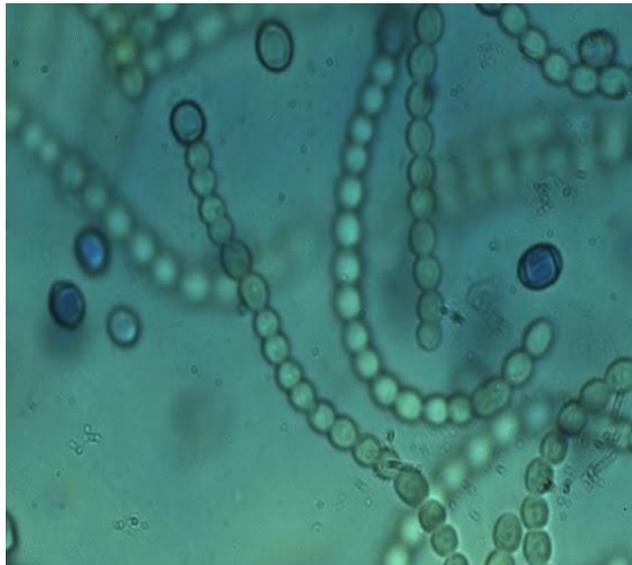


Figura 2. Presencia de heterocistos y células vegetativas en *Nostoc*.

Elaborado por G. Ortega, F. Vinueza 2016.

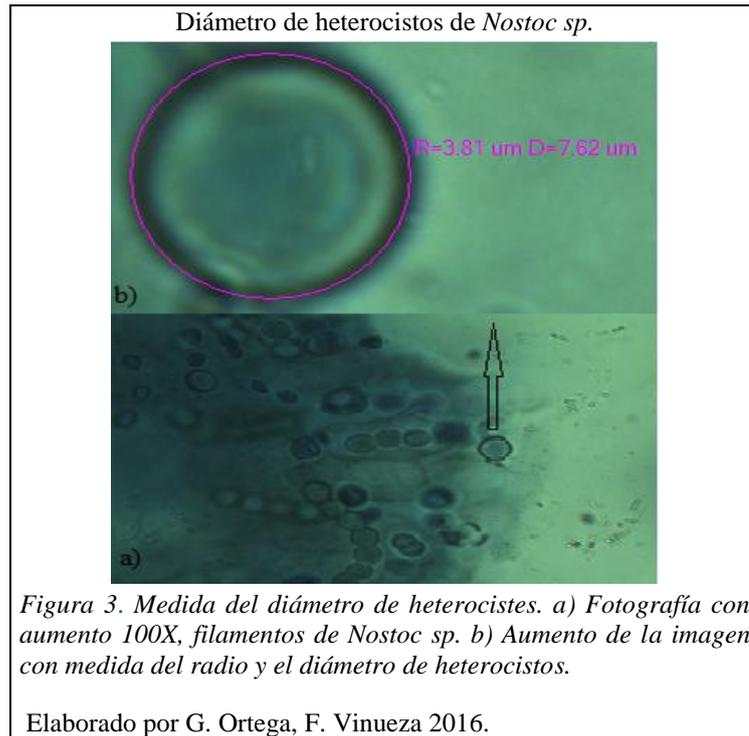
El ciclo vital de comunidades de *Nostoc* sp., se dividen en: desarrollo durante la temporada de lluvias, preparación para la sequía, supervivencia a la sequía y rehidratación asociada al aumento de propágulo (Ramírez & Roldán, 2011). Según Singh Pande (2010), una forma de reproducción por parte de la cianobacteria está asociada a la ruptura de la pared celular de los heterocistos, los cuales pueden germinar formando un nuevo tricoma (Singh Pande, 2010). Es así que, en los meses de estudio (mayo y junio) donde persistió la precipitación y la humedad relativa, la cantidad de heterocistos fue mayor. Asimismo se puede atribuir el hecho de que, las condiciones a las que se trabajó fueron en presencia de nitrógeno atmosférico, como se muestra en el estudio realizado por Pérez (2012), la carencia de nitrógeno inorgánico hace que la expresión de heterocistos sea abundante, con una frecuencia de aparición de cada 25 ó 30 células vegetativas (Pérez, 2012), bajo éste contexto la relación con células vegetativas encontradas en el estudio fue cada 40 ó 50 como se puede observar en la *figura 2*. Por lo revisado anteriormente se deduce que la cantidad de heterocistos está influenciada directamente con la cantidad de nitrógeno presente.

Por otra parte las células vegetativas se pueden diferenciar formando heterocistos, esta diferenciación ocurre cuando hay insuficiencia de nitrógeno en el sustrato (Loza Calvo, 2011), de esta manera se incorpora el nitrógeno necesario de la atmósfera, por parte de los heterocistos en condiciones aerobias. Bajo este contexto *Nostoc* sp., puede formar agrupaciones en simbiosis con organismos como: hongos (formando líquenes), plantas, también con organismos marinos como: esponjas, ascidias, equiuros, diatomeas dinoflageladas y protozoos (Rai, Bergman, & Rasmussen, 2003). En la tabla de mediciones morfológicas se puede observar que, el número de heterocistos aumenta conjuntamente con la precipitación y disminuye con

la temperatura (*Tabla 2*). La regresión lineal múltiple, nos indica como la precipitación, radiación solar y temperatura modifican el número de heterocistes presentes en la macrocolonia, lo que quiere decir que su afectación está directamente influenciada por estas condiciones. De esta manera sería posible deducir las mejores condiciones en las que la cantidad de heterocistos se vean alteradas, siendo un factor relevante si el objetivo fuese fijar nitrógeno atmosférico.

### **3.1.2 Diámetro de heterocistos y diámetro de células vegetativas.**

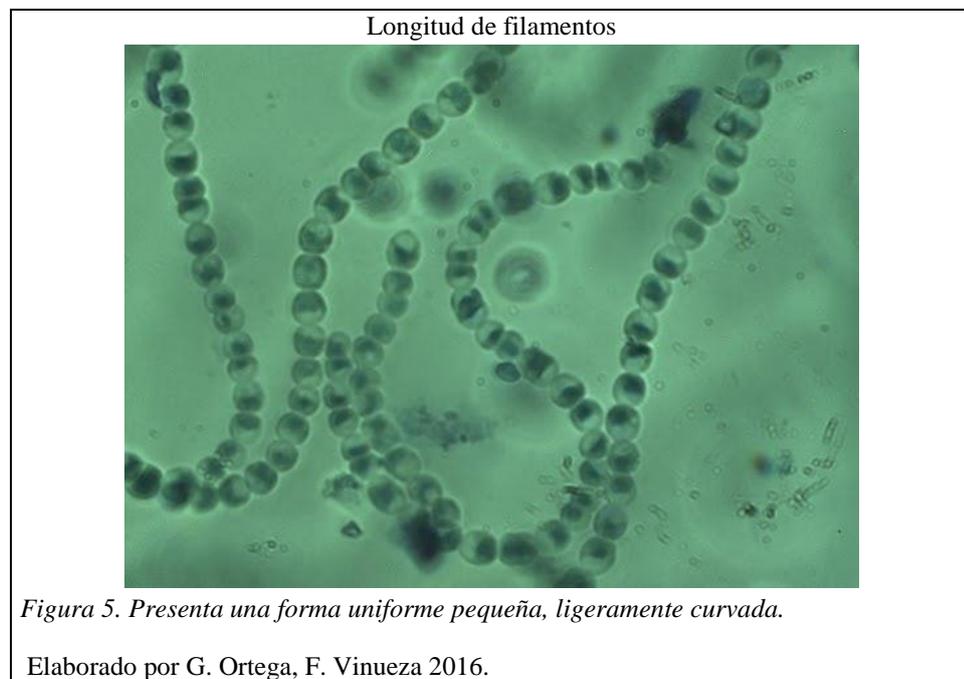
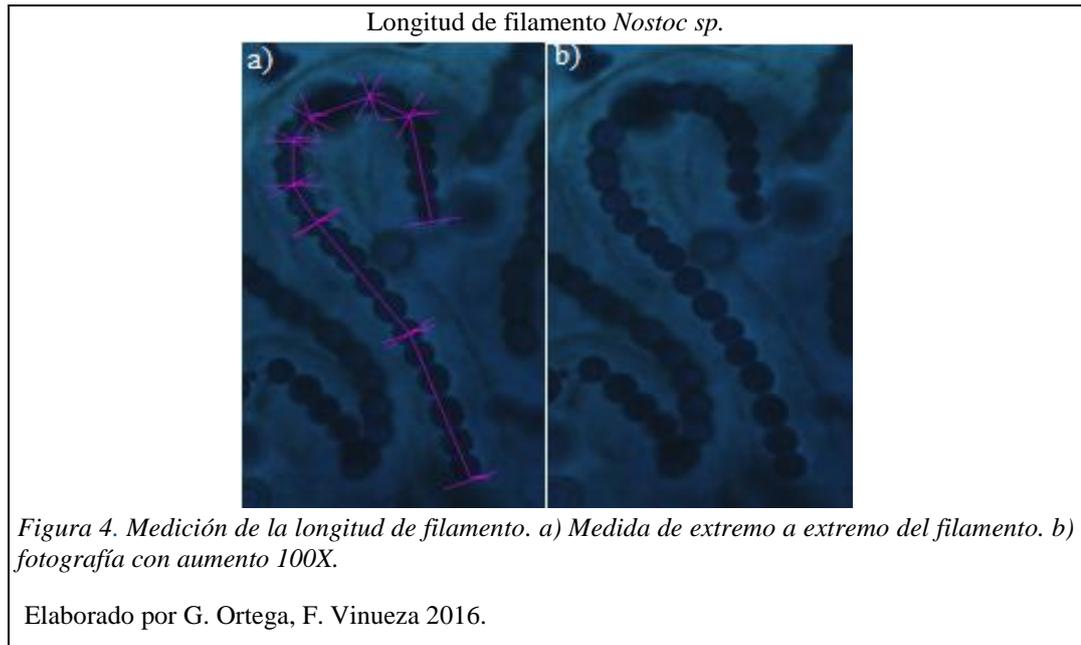
En las medidas concernientes al diámetro de heterocistos se puede identificar que, en los meses de julio y septiembre adquirieron valores superiores (*Tabla 1*), del mismo modo, en dichos meses fueron mayores las exposiciones solares y existió menor humedad relativa (*Tabla 2*). En el análisis de correlación de Pearson (*Tabla 5*) se demostró que la radiación solar está correlacionada positivamente con el diámetro de heterocistos ( $r = 0.93$ ;  $p = 0.019 < 0.05$ ) y la humedad relativa está correlacionada negativamente ( $r = -0.89$ ;  $p = 0.04 < 0.05$ ), en oposición a la temperatura ( $p = 0.17 > 0,05$ ) y precipitación ( $p = 0.06 > 0,05$ ). Esto pone de manifiesto que cuando hay una mayor radiación solar y menor humedad relativa el diámetro de heterocistos se ve alterado, adquiriendo una adaptación a las condiciones externas. En la *figura 3* se puede apreciar la mediación del diámetro de heterocistos.



### 3.1.3 Longitud de filamento

La determinación de las características morfológicas de *Nostoc sp.*, dependen en gran medida de la longitud de filamento, en la *figura 5* se aprecia esta morfología. En la *Tabla 1* se muestran los resultados, adquiriendo los mayores tamaños en los meses de mayo y agosto, al igual que para el número de heterocistos, donde hubo mayor precipitación y mayor humedad relativa (*Tabla 2*), pero las observaciones realizadas en el análisis de correlación de Pearson (*Tabla 7*) señalaron que esta variable no presentó de ninguna manera relación frente a las variables climáticas (precipitación,  $p = 0.36 > 0.05$ ; temperatura,  $p = 0.28 > 0.05$ ; radiación solar,  $p = 0.25 > 0.05$ ; humedad relativa,  $p = 0.29 > 0.05$ ). En la *figura 4* se observa la mediación de la longitud de filamento.

La técnica de montaje de las placas está directamente relacionada con la longitud de filamento observado, de manera que no permitió establecer la relación de esta variable en función de la condiciones climática analizadas.



El tipo de ecosistema en los cuales tienden a desarrollarse las colonias de *Nostoc* son factores relevantes al momento de su caracterización, ya que, como consecuencia se pueden generar estructuras más desarrolladas que otras. Con respecto a las características morfológicas observadas en *Nostoc punctiforme* por Rippka, Castenholz, & Herdman (1979) se desarrollan a una longitud aproximada de 60 –

100  $\mu\text{m}$  y además, la formación de mucílago es típicamente representativo en este género (Rippka, Castenholz, & Herdman, 1979).

Varias especies crecen en hábitats bénticos de lagos, también pueden adherirse firmemente a sustratos sólidos o sobre sedimentos formando colonias semiesféricas.

En el presente estudio que se llevó a cabo con *Nostoc* sp., la longitud de filamento alcanzó valores de 59,3 – 83,13  $\mu\text{m}$  y presenta una capa gruesa (mucílago) que rodea a un cúmulo de células vegetativas y diferenciadas. Los datos obtenidos presentan cierta igualdad con el trabajo de Rippka, Castenholz, & Herdman (1979), a pesar de que las medidas registradas por estos últimos son ligeramente mayores, posiblemente porque, las zonas de aislamiento son hábitats bentónicos donde las presiones y temperaturas son elevadas, adquiriendo así la estructura celular un mayor tamaño y diferentes componentes que le faciliten la supervivencia en un ambiente extremo.

#### **3.1.4 Área de mucilago**

La disminución acelerada de la precipitación y humedad relativa genera como consecuencia que la cianobacteria ingrese a periodo de latencia, acumulando sustancias de reserva en la pared extracelular, de esta manera en los meses de junio y julio el área del exopolisacárido fue en aumento con respecto a los demás meses (*Tabla 1; Tabla 2*). Al momento de realizar el análisis de correlación se obtuvieron los siguientes resultados (*Tabla 8*) lo que indica que el área de mucílago no está correlacionada de ninguna manera frente a las variaciones climáticas, ya que en todos los casos  $p > 0.05$  y también fueron comparados los valores de  $r$  con una tabla de  $r$  correlación y en todos los casos el área de mucílago no presenta correlación alguna con las variaciones climáticas. En la *figura 6* se observa la mediación de área de mucilago.

Área de mucílago *Nostoc* sp.

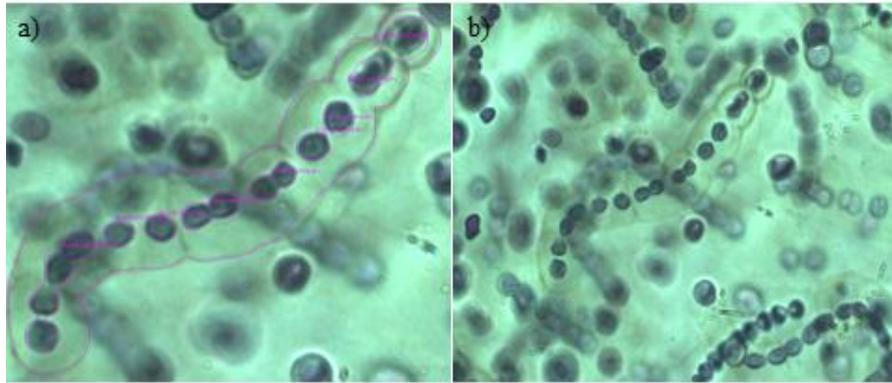


Figura 6. Medición del área de mucílago. a) Medida de la superficie del mucílago menos la superficie de las células vegetativas, generando un resultado del área abarcada por el mucílago b) Fotografía con aumento 100X, donde sobresale el mucílago (exopolisacárido).

Elaborado por G. Ortega, F. Vinueza 2016.

Durante la transición a la época de sequía, las colonias de *Nostoc* se reducen y las células forman una vaina rodeada por una película, la cual favorece la retención de agua (Ramírez & Roldán, 2011). El exopolisacárido de la cepa estudiada expresa una mayor dimensión en los meses de junio y julio, haciendo referencia a que en dichos meses la precipitación fue decayendo y la temperatura fue en aumento, por lo que se asume que la retención de agua por parte de la capa mucilaginosa es un elemento importante para la supervivencia.

**Tabla 1.**

Mediciones morfológicas correspondientes a los meses de muestreo.

	Mes de mayo			Mes de junio			Mes de julio			Mes de agosto			Mes de septiembre		
	M I	M II	M III	M I	M II	M III	M I	M II	M III	M I	M II	M III	M I	M II	M III
<b>Número de heterocistos/ cien células</b>	2	11	14	4	5	12	3	4	10	7	3	5	3	1	3
<b>Diámetro de heterocistos (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	6.52	6.47	6.5	6.99	7.13	6	7.66	7.3	6.71	7.43	6.75	6.91	7.29	8	7.45
<b>Longitud de filamento (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	76.48	83.13	79.81	69.89	77.84	70.74	62.11	88.75	60.9	59.3	113.4	74.36	67.87	67.97	69.97
<b>Área del mucílago (<math>\mu\text{m}^2</math>)</b>	437.4	822.81	702.51	790.96	844.61	508.93	679.11	653.57	334.79	472.27	690.39	554.52	637.67	729.81	580.55
<b>Diámetro de células vegetativas (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	4.18	4.11	4.66	3.68	4.13	4.34	6.06	4.60	4.36	4.30	4.90	5.31	5.64	5.66	4.86

*Nota:* Todas las mediciones fueron realizadas utilizando el programa MICROVISIBLE image analyzing software que esta incorporado en el microscopio Micros.

MI=muestra 1; M2=muestra 2; M3= muestra 3. Elaborado por G. Ortega, F. Vinuesa, 2015.

**Tabla 2.**

Mediciones climatológicas correspondientes a los meses de muestreo.

	<b>Abril-18</b>	<b>18 mayo- mayo</b>	<b>20 junio- 3 julio</b>	<b>3 julio- 5 agosto</b>	<b>5 agosto- 7 septiembre</b>
<b>Temperatura</b>	16.7	16.65	18.02	16,87	17.33
<b>Precipitación</b>	2.85	0.89	0	0.36	0
<b>Radiación solar</b>	214.58	209.11	245.63	224.39	254.77
<b>Humedad relativa</b>	70,5	65,46	48.57	59.58	53.75

*Nota:* Las unidades de medida utilizadas en el cuadro corresponden a: temperatura (°C), precipitación (mm), radiación solar ( $W/m^2$ =watts sobre metro cuadrado), humedad relativa (%). La obtención de los datos fue mediante la extracción de la medida de los valores diarios de las mediciones climatológicas (otorgadas por la Secretaría del Ambiente, 2015), obteniendo el promedio mensual de los valores, que son los detallados en la tabla. Adaptado de Secretaría del ambiente, 2015 por G. Ortega, F. Vinueza, 2010.

**Tabla 3.**

Análisis de correlación de Pearson entre el número de heterocistos vs factores climáticos en los diferentes meses de muestreo.

Meses de muestreo	Número heterocistos	Precipitación mm	Temperatura °C	Radiación solar (W/m <sup>2</sup> )	Humedad relativa (%)
Mayo	9	2.85	16.68	214.58	70.50
Junio	7	0.89	16.65	209.10	65.46
Julio	5	0.00	18.01	245.63	48.57
Agosto	5	0.36	16.87	224.38	59.58
Septiembre	2	0.00	17.33	254.76	53.74
	p=	0.060	0.335	0.063	0.107
	r=	0.86	-0.55	-0.85	0.79

**Nota:** p= Nivel de significancia. r= estadístico de prueba. Los valores en los cuales  $P > 0,05$  se rechaza hipótesis alternativa y se acepta la hipótesis nula, la variable no se encuentra asociada a ningún factor de evaluación. Elaborado por G. Ortega, F. Vinueza 2016.

**Tabla 4.**

Regresión lineal múltiple entre precipitación, temperatura y radiación solar con respecto al número de heterocistos.

	Estimate Std.	Error	t value	p
(Intercepto)	-22.40363	1.3064	-17.15	0.0371
Precipitación	1.35199	0.03652	37.02	0.0172
Temperatura	3.23262	0.09689	33.36	0.0191
Radiación solar	-0.12286	0.00296	-41.51	0.0153
Valor de r <sup>2</sup> ajustado	0.9993			

**Nota:** p= Nivel de significancia. t= estadístico de prueba. Estimate std= coeficiente de la variable predictora (Bi), en donde todos los datos se representan en la ecuación:  $\hat{Y} = A + B_1X_1 + B_2X_2 + \dots + B_nX_n$  intercepto= A; variable predictora= Xi  
Adaptado de software R, 2015 por G. Ortega, F. Vinueza, 2010.

**Tabla 5.**

Análisis de correlación de Pearson entre el diámetro de heterocistos vs los factores climáticos en los diferentes meses de muestreo.

Meses de muestreo	Diámetro de heterocistos $\mu\text{m}$	Precipitación mm	Temperatura $^{\circ}\text{C}$	Radiación solar ( $\text{W}/\text{m}^2$ )	Humedad relativa (%)
Mayo	6.49	2.85	16.68	214.58	70.50
Junio	6.70	0.89	16.65	209.10	65.46
Julio	7.22	0.00	18.01	245.63	48.57
Agosto	7.03	0.36	16.87	224.38	59.58
Septiembre	7.50	0.00	17.33	254.76	53.74
	r=	-0.89	0.71	0.93	-0.89
	p=	0.058	0.176	0.020	0.040

*Nota:* p=Nivel de significancia. r= estadístico de prueba. Los valores en los cuales  $P < 0,05$  se rechaza hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, la variable se encuentra asociada a los factores de radiación solar y humedad relativa .Elaborado por G. Ortega, F. Vinueza 2016.

**Tabla 6.**

Análisis de correlación de Pearson entre el diámetro de células vegetativas vs factores climáticos en los diferentes meses de muestreo.

Meses de muestreo	Diámetro de células vegetativas $\mu\text{m}$	Precipitación mm	Temperatura $^{\circ}\text{C}$	Radiación solar ( $\text{W}/\text{m}^2$ )	Humedad relativa (%)
Mayo	4.31	2.85	16.68	214.58	70.50
Junio	4.05	0.89	16.65	209.10	65.46
Julio	5.00	0.00	18.01	245.63	48.57
Agosto	4.83	0.36	16.87	224.38	59.58
Septiembre	5.38	0.00	17.33	254.76	53.74
	r=	-0.66	0.69	0.95	-0.81
	p=	0.219	0.190	0.011	0.092

*Nota:* p= Nivel de significancia. Los valores en los cuales  $P < 0,05$  se rechaza hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, la variable se encuentra asociada al factor radiación solar .Elaborado por G. Ortega, F. Vinueza 2016.

**Tabla 7.**

Análisis de correlación de Pearson entre la longitud de filamento vs los factores climáticos en los diferentes meses de muestreo.

Meses de muestreo	Longitud filamento ( $\mu\text{m}$ )	Precipitación (mm)	Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )	Radiación solar ( $\text{W}/\text{m}^2$ )	Humedad relativa (%)
Mayo	79.8	2.85	16.68	214.58	70.5
Junio	72.82	0.89	16.65	209.1	65.46
Julio	70.58	0	18.01	245.63	48.57
Agosto	82.35	0.36	16.87	224.38	59.58
Septiembre	68.6	0	17.33	254.76	53.74
	r=	0.53	-0.6	-0.63	0.59
	p=	0.36	0.2	0.25	0.28

*Nota:*  $p$ = Nivel de significancia,  $r$ = estadístico de prueba. Los valores en los cuales  $P > 0,05$  se rechaza hipótesis alternativa y se acepta la hipótesis nula, la variable no se encuentra correlacionada con ningún factor de evaluación. Elaborado por G. Ortega, F. Vinuesa 2016.

**Tabla 8.**

Análisis de correlación de Pearson entre el área de mucilago vs factores climáticos en los diferentes meses de muestreo.

Meses de muestreo	Área de mucilago ( $\mu\text{m}^2$ )	Precipitación (mm)	Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )	Radiación solar ( $\text{W}/\text{m}^2$ )	Humedad relativa (%)
Mayo	654.22	2.85	16.68	214.58	70.5
Junio	714.83	0.89	16.65	209.1	65.46
Julio	555.82	0	18.01	245.63	48.57
Agosto	572.39	0.36	16.87	224.38	59.58
Septiembre	649.34	0	17.33	254.76	53.74
	r=	0.4	-0.65	-0.48	0.64
	p=	0.5	0.28	0.4	0.24

*Nota:*  $p$ = Nivel de significancia,  $r$ = estadístico de prueba. Los valores en los cuales  $P > 0,05$  se rechaza hipótesis alternativa y se acepta la hipótesis nula, la variable no se encuentra correlacionada con ningún factor de evaluación. Elaborado por G. Ortega, F. Vinuesa 2016.

## Conclusiones

Las condiciones del entorno fueron ideales en cuanto a la recolección de muestras, debido a que coincidió con la etapa de transición invierno verano y el espécimen pasa de condiciones favorables a desfavorables.

Los promedios máximos registrados para cada variable de la morfología de *Nostoc* sp., fueron: número de heterocistos en relación a cien células vegetativas, 9 unidades en el mes de Mayo; diámetro de heterocistos, 7.58  $\mu\text{m}$  en el mes de Septiembre; longitud de filamento, 82.35 $\mu\text{m}$  en el mes de agosto; área del mucílago, 714.83 $\mu\text{m}^2$  en el mes de Junio y para diámetro de células vegetativas 5.39  $\mu\text{m}$  en el mes de septiembre.

El análisis de correlación de Pearson, efectuado para el diámetro de heterocistos y diámetro de células vegetativas, demostró que la radiación solar y humedad relativa afectan directamente a su desarrollo, haciendo que *Nostoc* cambie su estructura cuando las temperaturas se mantienen elevadas. En relación, a la longitud de filamento, área de mucilago y número de heterocistos, no demostraron existencia de correlación frente a la precipitación, temperatura, radiación solar y humedad relativa.

La caracterización morfológica de *Nostoc* es un indicativo de que este microorganismo es capaz de adaptarse a diferentes condiciones ambientales con las cuales pueden resistir temperaturas elevadas o bajas precipitaciones, en el caso de la cantidad de heterocistos estas condiciones son relevantes ya que se encuentran estrechamente influenciadas por: precipitación, radiación solar y temperatura, según el análisis de regresión lineal multivariado.

## **Recomendaciones**

Se sugiere trabajar con otras condiciones climáticas y observar cuál de ellas influye en la formación de mucílago, ya que por su estructura rica en polisacáridos, puede servir de gran ayuda en la industria alimenticia por su alto contenido energético y también puede emplearse para remoción de metales pesados en procesos de biorremediación.

Debido a la correlación existente entre el número de heterocistos frente a la temperatura, radiación solar y precipitación, se recomienda realizar estudios posteriores bajo condiciones del laboratorio, logrando así el control del desarrollo de heterocistos (estructuras con capacidad de fijar nitrógeno atmosférico) para posteriormente incorporar esta tecnología en los cultivos y disminuir la utilización de fertilizantes inorgánicos.

Se debería reforzar el estudio en general de las cianobacterias, porque han participado en la formación de un ecosistema ideal para los organismos aerobios y, no hay un pleno conocimiento de ello, además de que sus estructuras las vuelve resistentes a diversos climas y tienen distribución cosmopolita.

## Referencias

- Aboal, M., & Cristóbal, J. (2014). Sobre la presencia de *Nostoc commune* var. flagelliforme (Nostocaceae, Cyanophyceae) en suelos arcillosos de regiones áridas del sureste Español. *Acta Botánica Malaciana*, 157-159. Recuperado el 8 de Abril de 2015, de <http://www.tesisenred.net/handle/10803/284834>
- Aguilera, A., & Echenique, R. O. (2011). Consideraciones generales de Cianobacteria: aspectos ecológicos y taxonómicos. *Tema de Salud Ambiental*, 21-37.
- Alma, K., Terán, C., & Mayra, F. (18 de Mayo de 2010). Caracterización a nivel de laboratorio de tres cianobacterias aisladas del área foliar de *Polylepis pauta* del páramo de Papallacta mediante clave microscópica, tiempo de generación y producción de proteína según fuente de nitrógeno, luz y medio de cultivo. Quito, Pichincha, Ecuador. Obtenido de [repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/572](http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/572)
- Bonilla Sylvania. (23 de Julio de 2009). *UNESCO*. Recuperado el 1 de Diciembre de 2015, de Programa hidrológico internacional: <http://unesdoc.unesco.org/images/0021/002163/216319s.pdf>
- Bonilla, S., Aubriot, L., & Piccini, C. (8 de Enero de 2013). *Uruguay Ciencia*. Recuperado el 1 de Diciembre de 2015, de Facultad de Ciencias: <http://limno.fcien.edu.uy/pdf/UruguayCiencia001.pdf>
- Cadena, M., & Molina, D. (3 de Junio de 2013). *BIOPROSPECCIÓN DE MACROCOLONIAS DE NOSTOC SP.* Recuperado el 8 de Septiembre de 2015, de [http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev\\_abv/article/viewFile/8683/8556](http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev_abv/article/viewFile/8683/8556)

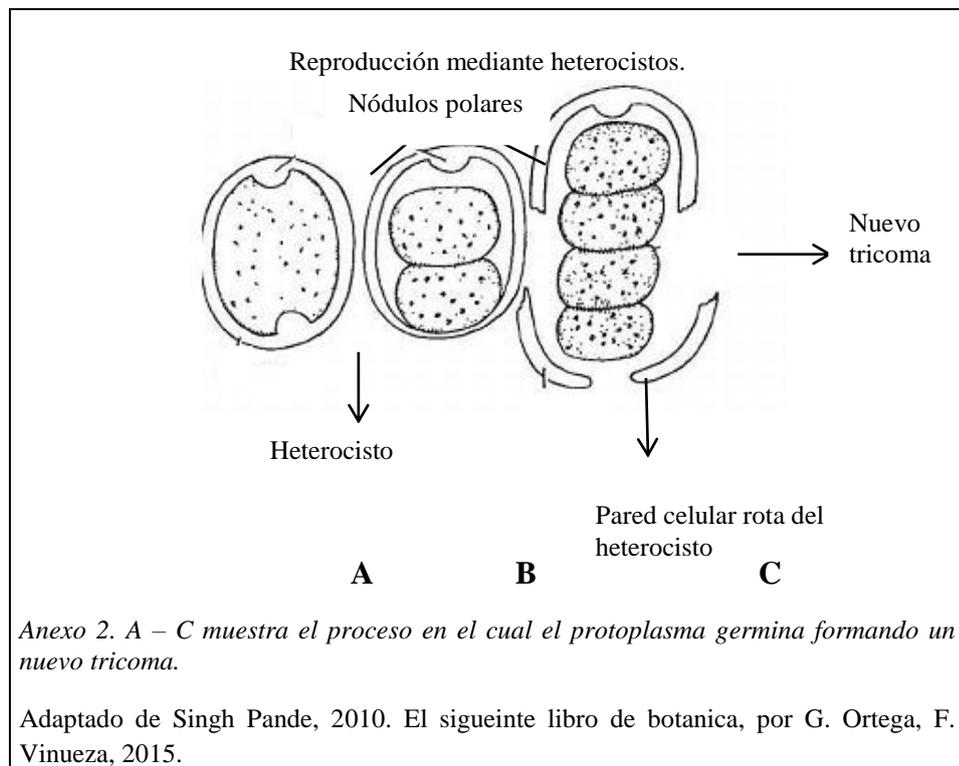
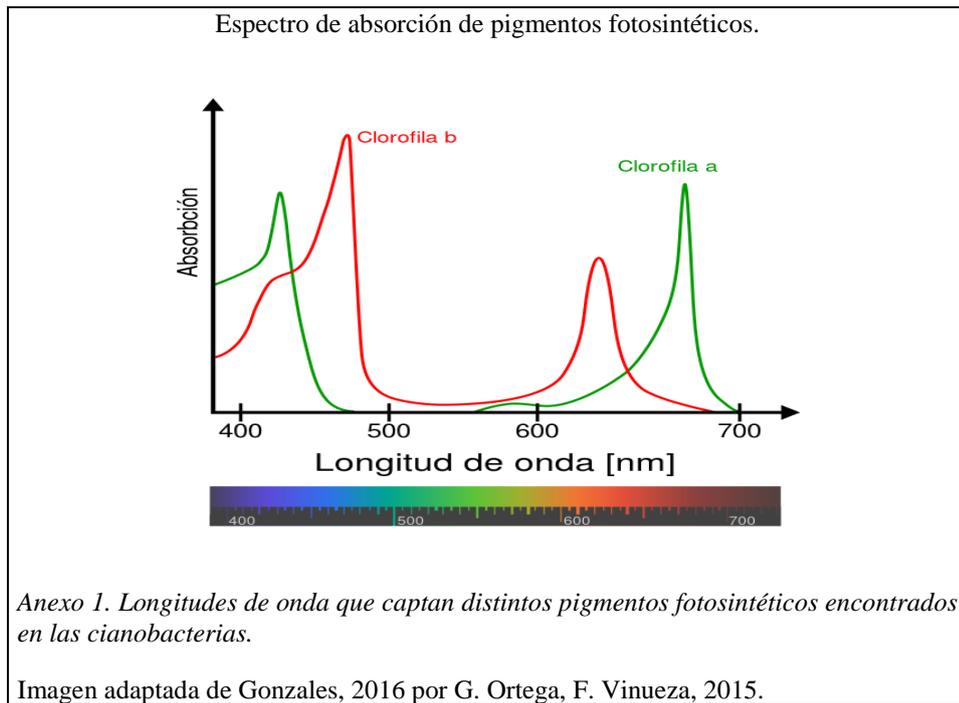
- De Philippis, R., Paperi, R., Sili, C., & Vincenzini, M. (16 de Diciembre de 2002). Assessment of the metal removal capability of two capsulated cyanobacteria, *Cyanospira capsulata* and *Nostoc PCC7936*. *Journal of Applied Phycology*, 155-160.
- Gerrero, & Miguel G, R. H. (2012). Las microalgas como productoras de pigmentos con interes comercial. *Biotechnología y aplicaciones de microorganismos pigmentados*, 215-232.
- Gerrero, M. G., Rodríguez, H., Vargas, A. M., & García Gonzalez, M. (2012). Las microalgas como productoras de pigmentos con interes comercial. *Biotechnología y aplicaciones de microorganismos pigmentados*, 215-232.
- González, C. A. (5 de mayo de 2016). *Laboratorio de botánica*. Obtenido de Laboratorio de botánica:  
<http://www.botanica.cnba.uba.ar/Pakete/6to/Fotosintesis/Fotosintesis6to.htm>
- Karp, G. (2009). *Biología celular y molecular*. Florida, Florida, Estados Unidos: MC GRAW HILL.
- Leite, C. (2007). New aerophytic morphospecies of *Nostoc* (Cyanobacteria) from São Paulo State, Brazil. *Hoehnea*, 95-101.
- Loza Calvo, V. (2011). *Biodiversidad de cianobacteria en ríos de la comunidad de Madrid. Análisis polifásico y aplicación en biomonitorización*. Madrid: Universidad de Madrid.
- Margulis, L., & Sagan, D. (1986). *Microcosmos*. Wisconsin: Libergraf.
- Mollenhauer, D., & Bengtsson, R. L. (Junio de 2015). Macroscopic cyanobacteria of the genus *Nostoc*: a neglected and endangered constituent of European inland aquatic biodiversity. *European Journal of Phycology*, 349-360.

- Mollenhauer, D., Bengtsson, R., & Lindstrom, E. A. (Junio de 2015). Macroscopic cyanobacteria of the genus *Nostoc*: a neglected and endangered constituent of European inland aquatic biodiversity. *European Journal of Phycology*, 349-360.
- Pérez, R. M. (2012). *Evaluación de los exopolisacáridos producidos por una cepa nativa de cianobacteria Nostoc sp. como sustrato en la producción de bioetanol*. Colombia, Bogota, Colombia: Universidad Nacional de Colombia.
- Pérez, R. M. (2012). Evaluación de los exopolisacáridos producidos por una cepa nativa de cianobacteria *Nostoc sp.* como sustrato en la producción de bioetanol . Bogota, Colombia.
- Ponce, E. (2013). *Nostoc*: un alimento diferente y su presencia en la precordillera de Arica. *IDESIA*, 115-118.
- Potts, M. (2000). *Nostoc*. En *The Ecology of Cyanobacteria* (págs. 469-495). Virginia: Kluwer Academic Publishers.
- R Core, t. (2013). *R-projetc: a lenguaje and environmental for statistical computing*. *R foundation for statistical computing*. Obtenido de [www.R-project.org/](http://www.R-project.org/).
- Rai, A., Bergman, B., & Rasmussen, U. (2003). *Cyanobacteria in Symbiosis*. New York: Kluwer Academy Publishers. Recuperado el Lunes de Junio de 2015
- Ramírez, M. H., & Roldán, M. (2011). Polyphasic approach and adaptative strategies of *Nostoc cf. commune* (Nostocales, Nostocaceae) growing on Mayan monuments. *Fottea*, 73-86.
- Richmond, A. (2004). *Microalgal Culture*. Oxfordshire: Blackwell Science. Recuperado el Viernes de Mayo de 2015

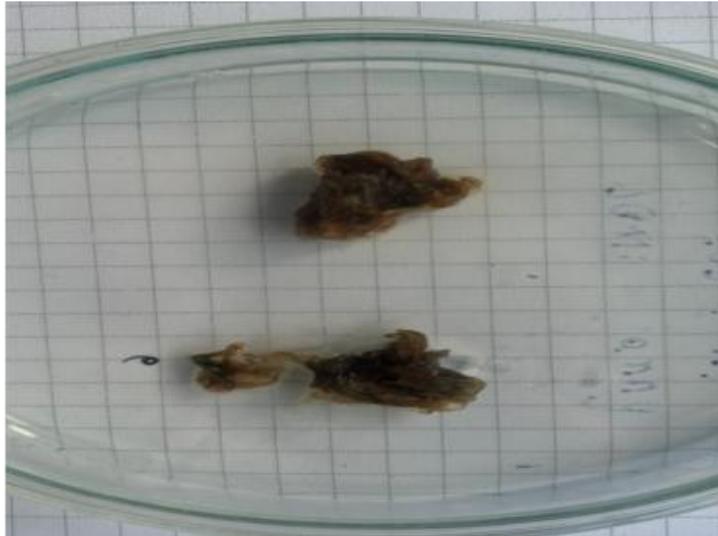
- Rimsha, R., Richa, J., & Sheela, K. (2014). Bioactive substances of cyanobacteria (Nostoc muscorum): a review. *International Journal of Pharma Sciences and Research (IJPSR)*, 320-322.
- Rippka, R., Castenholz, R., & Herdman, M. (1979). Bergey's manual sistematicbacteriology. En *Bergey's manual sistematicbacteriology* (págs. 562-600). New York.
- Rivera, C. R., Pinilla, G., & Chaparro, B. (2005). Comparación de la estimación de la clorofila a mediante métodos espectrofotométricos y fluorométricos. *Acta biológica colombiana*, 95-103.
- Robert, L. e. (2010). *Phycology*. Cambridge massachusetts: Ciencias.
- Rodgers, A., & Elisabet, H. (1976). Associations between the blue-green algae *Anabaena variabilis* and *Nostoc muscorum* and the moss *Funaria hygrometrica* with reference to the colonization of Surtsey. *Acta botánica Islánica*.
- Santamría, L., & Koch, A. (1990). Análisis comparativo de la fijación de la fijación de nitrógeno de cianobacterias aisladas del Atacazo y del Pasochoa. Quito.
- Santamría, L., & Koch, A. (1990). Análisis comparativo de la fijación de nitrógeno de cianobacterias aisladas del Atacazo y del Pasochoa. Quito.
- Secretaría del ambiente. (3 de septiembre de 2015). *Secretaría de ambiente*.  
Obtenido de Secretaría de ambiente: <http://www.quitoambiente.gob.ec/>
- Singh Pande, J. (2010). *A text book of Botany*. India: Rastogi Publication.  
Recuperado el Lunes de Junio de 2015
- Singh, S. P., & Montgomery, B. L. (2011). Determining cell shape: adaptive regulation of cyanobacterial cellular differentiation and morphology. *CELL PRESS*, 278-285.

Vieira, C., Ferreira, M., & Sérgio, C. (2012). *The Use of Briophytes for fluvial of assesment mountain streams in Portugal*. Portugal: Wiley-Black Well.

## Anexos



Fotografía de *Nostoc sp* hidratada.



Anexo 3. Macrocolonia de *Nostoc sp* hidratada después del muestreo. Presenta textura gelatinosa con una coloración verdosa.

Elaborado por G. Ortega, F. Vinueza 2016.

Mapa geográfico de la zona de muestreo.



Anexo 4. Espacio geográfico de toma de muestras sector Pintag provincia de Pichincha, situado a,  $0^{\circ}30'20''$  S y  $78^{\circ}30'15''$  O, a una altura entre 2800- 2900 msnm. Copyright de Google maps.

Adaptado de <http://www.google.com>, por G. Ortega, F. Vinueza, 2015.

Distribución de la zona de muestreo.



Anexo 5. División del terreno en cuadrantes, los cuales representan, muestra 1, muestra 2 y muestra 3.

Adaptado de Google maps por Ortega y Vinueza, 2016.

Cuadrante 1 – muestra 1.



Anexo 6. Cuadrante de 1 m<sup>2</sup>.

Fotografía tomada por Ortega y Vinueza, 08/05/2016.

Cuadrante 2 – muestra 2.



Anexo 7. Cuadrante de 1 m<sup>2</sup>.

Fotografía tomada por Ortega y Vinuesa, 08/05/2016.

Cuadrante 3 – muestra 3



Anexo 8. Cuadrante de 1 m<sup>2</sup>.

Fotografía tomada por Ortega y Vinuesa, 08/05/2016.

Muestra seca de *Nostoc* sp.



Anexo 9. Fotografía de *Nostoc* sp post muestreo.

Elaborado por G. Ortega, F. Vinueza 2016.

Hidratación de *Nostoc* sp.



Anexo 10. Muestra hidratada durante 24 horas a 3 °C.

Elaborado por G. Ortega, F. Vinueza 2016.