



**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y
BIOLÓGICAS
CARRERA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA MARINA**

**“EFECTO DE LOS MEDIOS BG11 Y CHU SOBRE EL
CRECIMIENTO DE *Nostoc punctiforme* CULTIVADO A
DIFERENTES CONCENTRACIONES, EN CONDICIONES DE
LABORATORIO”**

Tesis para optar el título profesional de:
BIÓLOGA MARINA

Presentado por:
Esther Dánica Echevarría López (0000-0002-7560-1834)

Asesor:
Paul Martin Baltazar Guerrero (0000-0003-4071-4772)

Lima – Perú
2021

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Lima, 24 de junio 2021.

Los integrantes del jurado de tesis:

Presidente: Dr. Héctor Alonso Aponte Ubillús
Miembro: Mg. Marie Anne Galvez Escudero
Miembro: Blga. Luzmila Rodriguez Quispe

Se reúnen para evaluar la tesis titulada:

"EFECTO DE LOS MEDIOS BG11 Y CHU SOBRE EL CRECIMIENTO DE *Nostoc punctiforme* CULTIVADO A DIFERENTES CONCENTRACIONES, EN CONDICIONES DE LABORATORIO"

Presentada por la/el estudiante/bachiller:

- Esther Dánica Echevarría López

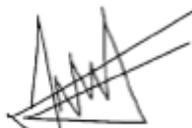
Para optar el Título Profesional de Bióloga Marina

Asesorado por: Blgo. Paul Martin Baltazar Guerrero

Luego de haber evaluado el informe final de tesis y evaluado el desempeño de la estudiante de la carrera de Biología Marina en la sustentación, concluyen de manera unánime (x) por mayoría simple () calificar a:

Tesis: Esther Dánica Echevarría López		Nota (en letras): 15 (quince)	
Aprobado ()	Aprobado - Muy buena ()	Aprobado - Sobresaliente ()	Desaprobado ()
(x)			

Los miembros del jurado firman en señal de conformidad.



Dr. Héctor Alonso Aponte Ubillús
Presidente



Blga. Luzmila Rodriguez Quispe
Miembro 2



Mg. Marie Anne Galvez Escudero
Miembro 1



Blgo. Paul Martin Baltazar Guerrero
Asesor

1 // (51) 616 7 28
informes@cientificaedu.pe
cientificaedu.pe

Dedicatoria:

A mis padres Luis Echevarría y Adi López que siempre estuvieron para apoyarme incondicionalmente en cada paso de vida, brindándome su amor, comprensión y enseñanzas, por darme la oportunidad y el sustento económico para la culminación de mis estudios universitarios. A mi abuelito Fridolyn Echevarría por su cariño, en especial a mi abuelita Judit Witting a quien guardo en mi corazón desde su partida....

A el por siempre estar presente para apoyarme...

Agradecimientos:

Programa Nacional de Innovación para la Competitividad y Productividad (INNOVATE PERÚ), la Universidad Científica del Sur (UCSUR), a la empresa Acuícola Mares del Sur (ACUISUR). A mi asesor Paul Martin Baltazar Guerrero por su apoyo en la realización de la tesis. Al igual que el Mg. Juan Carlos Francia, Lcdo. Aldo Indacochea por facilitarnos sus laboratorios y equipos. Al Dr. Wilmer Serrano Huiñocana y al Lcdo. Raúl Olaechea Alejo por el análisis de laboratorio para la identificación de la muestra. A Graciela Álvarez Bobadilla por la colaboración en campo y áreas de laboratorio. A Max Castañeda Franco por facilitar los materiales solicitados por el proyecto. Luis Fernández Ríos por su asesoría para el análisis estadístico. Henry Luis Obeso Napan, Fernando Caldas Melchor, Edgard López por la colaboración en áreas del laboratorio. A mis amigos Diego Medina Guerrero, Andrés Acuache, Natalia Sánchez, Flavia Espinoza, Joel Bravo Vargas, Keyssi Rodríguez por el apoyo y motivación.

Agradecimiento especial a mis jurados Mg. Luzmila Rodríguez Quispe, Mg. Marie Anne Gálvez Escudero y al Dr. Héctor Aponte Ubillus, quienes con sus sugerencias y comentarios llegaron hacer posible el resultado del manuscrito.

Índice

Carátula.....	1
Acta de sustentación de tesis.....	2
Dedicatoria.....	3
Agradecimientos.....	4
Resumen.....	6
Abstract.....	7
Introducción.....	8
Metodología.....	9
Obtención de muestras de <i>Nostoc</i> para cultivos.....	9
Cultivo en medio sólido (agar).....	9
Cultivo en medio líquido.....	11
Tasa de crecimiento.....	12
Ocurrencia de colonias.....	12
Análisis estadísticos.....	12
Resultados.....	12
Cultivo en medio sólido (agar).....	13
Cultivo en medio líquido.....	14
Tasa de crecimiento específico.....	16
Ocurrencia de colonias.....	17
Discusión.....	17
Conclusión.....	19
Literatura citada.....	19

Resumen

Nostoc es un recurso estacional de alto valor nutricional que crece principalmente en lagunas altoandinas de Perú, Bolivia, Ecuador y Chile. Existe escasa información de su cultivo tanto a nivel de laboratorio como en ambientes artificiales. Este estudio tuvo por objetivo determinar el crecimiento de *Nostoc punctiforme* cultivado en dos medios de cultivo (BG11 y CHU) a diferentes concentraciones preparados en líquido y sólido (agar) bajo condiciones de laboratorio. Se realizaron nueve tratamientos, cuatro con el Medio BG11 (T1-T4), cuatro con Medio CHU (T5-T8) y un control (T0). Las colonias cultivadas en medio sólido y líquido fueron evaluadas semanalmente por un periodo de 30 y 35 días respectivamente, considerando su tamaño en milímetros (mm) y peso en gramos (g). Los parámetros físico-químicos registrados en la evaluación fueron: temperatura ($19.5\pm 0.76^{\circ}\text{C}$), intensidad de luz (2000 lux), pH (8.66 ± 0.35) y oxígeno (6.93 ± 0.47 mg/L).

Palabras claves: BG11, CHU, crecimiento, cultivo, *Nostoc*.

Abstract

Nostoc is a seasonal resource of high nutritional value that grows mainly in high Andean lagoons from Peru, Bolivia, Ecuador and Chile. There is scarce information on its cultivation both at the laboratory level and in artificial environments. The objective of this study was to determine the growth of *Nostoc punctiforme* cultured in two culture media (BG11 and CHU) at different concentrations prepared in liquid and solid (agar) under laboratory conditions. Nine treatments were performed, four with BG11 Medium (T1-T4), four with CHU Medium (T5-T8) and one control (T0). Colonies grown in solid and liquid medium were evaluated weekly for a period of 30 and 35 days respectively, considering their size in millimeters (mm) and weight in grams (g). The physical and chemical parameters recorded in the evaluation were: temperature ($19.5\pm 0.76^{\circ}\text{C}$), light intensity (2000 lux), pH (8.66 ± 0.35) and oxygen (6.93 ± 0.47 mg/L). The results in liquid medium determined a greater biomass production for the T2 treatment at the end of the evaluation. In solid medium, a different growth shapes were observed between the treatments, having colonial forms in the cultures made with BG11 and filaments without envelope for the cultures with CHU Medium. It is concluded that in the solid treatments T3 and T8 obtained greater wet and dry weight, but despite this difference, statistical analysis showed no significant differences. While in liquid medium, the T2 treatment allowed a higher yield in average length (mm) and wet weight (g).

Keywords: BG11, CHU, growth, culture, *Nostoc*.

Introducción

Las colonias de las cianobacterias *Nostoc* denominadas también como “Cushuro”, “Murmuta”, “Llullusha” (Carhuapoma et al. 2015), “uvas de río”, “crespito”, “jugadores”, “yurupa”, “cochayuyo” (Herrera 2012), pueden desarrollarse tanto en biotopos acuáticos como terrestres a diferentes temperaturas, formando generalmente colonias macroscópicas costrosas en hábitats terrestres, y estructuras gelatinosas o compactas, circulares e irregulares en hábitats de agua dulce (Singh 2010); con filamentos discontinuamente enrollados y aglomerados de forma densa o suelta en su interior.

Las cianobacterias *Nostoc* son una fuente de alimento estacional y de gran valor nutricional altamente demandadas por las diversas comunidades locales (Cadena et al. 2013, Carvajal 2011). Su fácil acceso y bajo costo de adquisición en las zonas de origen han permitido que forme parte de la dieta de las familias indígenas durante siglos, principalmente en las zonas altoandinas de Perú, Chile, Ecuador y Bolivia (Ponce 2014).

En el Perú las especies del género *Nostoc* se distribuyen principalmente entre los departamentos de Amazonas, Ancash, Cajamarca, Cerro de Pasco, Cuzco, Huánuco, Junín, La Libertad, La Oroya y Puno presentando un mayor crecimiento poblacional en épocas de lluvia (Carbajal & Vicente 2015; Ponce 2014; Jurado et al. 2014).

A diferencia de China y Europa, en Sudamérica se han realizado pocos trabajos de investigación sobre cultivos que consideren en sus evaluaciones parámetros como salinidad, temperatura, pH, nutrientes, entre otros (Ponce 2014). Esta realidad no es diferente a lo que sucede en Perú, las investigaciones realizadas se han enfocado principalmente en el uso del *Nostoc* como alimento para animales (Carhuapoma et al. 2015), estudios de sus polisacáridos (Alvares et al. 2020; Rodríguez & Carrillo 2016;) y el comportamiento reológico del hidrocoloide obtenido del alga (Carbajal & Vicente 2015).

Entre los medios de cultivos utilizados para ensayos con el género *Nostoc* tenemos a los Medios CHU y BG11 que frecuentemente se emplean, siendo CHU un medio formulado para el cultivo de algas verdes, cianobacterias y diatomeas de aguas continentales (Andersen 2005, Nalewajiko et al. 1995, Chu 1942); mientras que el Medio BG11, para los cultivos de cianobacterias térmicas, de agua dulce, salobres y terrestres (Andersen 2005).

Existen algunas experiencias de cultivo realizados en laboratorio con algunas especies de *Nostoc* en los cuales se utilizó el Medio BG11 como nutrientes y se evaluaron diferentes parámetros. En el cultivo de *Nostoc flageliforme* se evaluó el efecto de la luz, bajo diferentes longitudes de onda sobre el crecimiento y rendimiento de polisacáridos (Dai et al. 2012), así como el efecto combinado de diferentes niveles de CO₂ y luz sobre su crecimiento (Gao & Yu 2000). En el cultivo de *Nostoc commune* aparte de las condiciones de laboratorio se incluyó la velocidad de agitación para evaluar su efecto sobre la morfología y su biomasa (Diao & Yang 2014). En *Nostoc muscorum* se realizó en un sistema hidropónico modificado y se evaluó su producción en biomasa (Ortiz-Moreno et al 2020). En el cultivo de *Nostoc* sp. se evaluó el efecto de diferentes concentraciones de MgSO₄·7H₂O sobre el contenido de proteína, clorofila y su biomasa (Surilayani et al. 2011).

Actualmente este recurso no cuenta con un registro que determine con exactitud su distribución geográfica (Ocaña et al. 2016). Además, se utiliza sin un adecuado control y manejo en las zonas donde crecen debido al incremento de su demanda (INAIGEM 2016), lo que podría generar disminución significativa en los bancos naturales, como sucedió en China con *Nostoc flageliforme* silvestre en el año 2000, donde se llegó a

prohibir su recolección y comercio al categorizarlo como planta protegida de Categoría II (Jia et al. 2007, Liu & Chen 2003).

Por lo expuesto anteriormente, es imprescindible determinar las condiciones óptimas para su cultivo e iniciar actividades acuícolas del recurso, por esta razón el presente trabajo tiene por finalidad determinar el crecimiento de *Nostoc punctiforme* a diferentes concentraciones de los Medios BG11 y CHU, en dos sustratos independientes (sólido y líquido) cultivado bajo condiciones de laboratorio, para poder generar información en relación a los protocolos de cultivos controlados de *Nostoc*.

Metodología

Obtención de muestras de *Nostoc* para cultivos

Se colectó las colonias de *Nostoc punctiforme* de la laguna Ututo (Fig. 1.A), localizada en Huaraz, Ancash, a los 09°51'51.1"S, 077°29'20.1"W a 4427 m.s.n.m., en el mes de octubre del 2018. Al momento de la colecta se evaluaron los parámetros ambientales del agua de la laguna, las cuales presentaron las siguientes características: 7.81 de pH, 4.58 mg L⁻¹ de oxígeno y una temperatura que varió desde los 5.17°C a 19°C registrados al inicio y final de la colecta respectivamente entre las 9 am hasta las 12 pm.

Las muestras de colonias se colectaron sin tener restricciones de tamaño o aspectos morfológicos, observando en su mayoría una forma esférica y algunas globulares e irregulares, de consistencias blandas y duras al tacto, y protegidos con una envoltura externa de color verde claro, verde oscuro, pardo oscuro, marrón oscuro y azul claro.

Las colonias se almacenaron con agua de la laguna en bolsas ziploc y se depositaron en un cooler con Gel-pak, y posteriormente se trasladaron al laboratorio de Larvicultura Experimental de la Universidad Científica del Sur. Se realizó la limpieza de todas las colonias utilizando el protocolo de Su et al. (2008), esparciendo alcohol (75%) a las colonias por un período de 30 a 60 segundos para eliminar microorganismos epífitos y enjuagándolas con agua destilada 5 veces. Las colonias limpias se colocaron en baldes con agua sin nutrientes, con aireación e iluminación (1800 lux) constante para su aclimatación durante cuatro semanas antes de realizar los cultivos en agar y en medio líquido.

Para realizar la confirmación de la especie se sembró colonias de *Nostoc* en medio sólido utilizando BG11 como fuente de nutrientes, a iluminación constante, a una temperatura de 18 ± 1°C por un periodo de 20 días. Posteriormente la cepa fue identificada mediante análisis molecular usando las secuencias de nucleótidos del gen menor ribosomal 16S RNAr. El secuenciamiento de los fragmentos parciales se realizó utilizando el método Sanger en la empresa Macrogen Inc. Corea del Sur. Las secuencias parciales fueron ensambladas utilizando el software ChromasPro v2.7 y produjo aproximadamente 1400 pares de bases, la misma que se comparó con las secuencias del repositorio GenBank del National Center of Biotechnology Institute NCBI, USA. siendo la especie *Nostoc punctiforme* la especie más cercana con un 98% de similaridad.

Cultivo en medio sólido (agar)

Se realizó el cultivo en medio sólido para lo cual se establecieron 4 tratamientos con Medio BG11, 4 tratamientos con Medio CHU y un control (Tabla 1). Cada tratamiento tuvo diferentes concentraciones de nutrientes mientras que los demás componentes fueron iguales (1.8 g de agar, una cápsula de 100 µg de vitamina B12, 100 ml de agua destilada). Luego de preparar y esterilizar el medio se dejó enfriar para incorporar la

vitamina, ya que por su naturaleza no puede ser esterilizada en la autoclave, se distribuyó en placas estériles para que solidificó y posteriormente se reservó.

Se seleccionaron las colonias de mayor tamaño, las cuales volvieron a pasar por el proceso de esterilización con alcohol (75%) anteriormente mencionado en el período de aclimatación para evitar la presencia de otras células adheridas a las envolturas (Fig. 1.B). Para asegurar la siembra de *Nostoc punctiforme* sin presencia de otras células se extrajo una gota de mucílago de las colonias con ayuda de una jeringa y se colocó una gota de muestra de cada colonia en láminas y se observó al microscopio antes de realizar la siembra. Posteriormente se realizaron los cultivos en una cámara de siembra, se colocó 0.2 ml de mucílago extraído de la colonia en la placa con el Medio (BG11 o CHU), se esparció con un asa drigalski, y se llevó a incubar a $18 \pm 1^\circ\text{C}$ e iluminación constante. Durante el cultivo se anotó la presencia o ausencia de la envoltura en los diferentes tratamientos.

Tabla 1. Tratamientos utilizados en el cultivo en medio sólido: cuatro tratamientos con Medio BG11 (T1-T4), cuatro tratamientos con Medio CHU (T5-T8) y un control (T0).

Tratamiento	Medio de Cultivo	Concentración (g/L)	Porcentaje* (%)	Peso (g) para 100 ml
T0	Control	0	0	0
T1	BG11	0.4	25	0.0407
T2	BG11	0.8	50	0.0814
T3	BG11	1.6	100	0.1627
T4	BG11	2.0	125	0.2034
T5	CHU	0.03	25	0.0031
T6	CHU	0.06	50	0.0062
T7	CHU	0.12	100	0.0123
T8	CHU	0.15	125	0.0154

* El porcentaje 100% corresponde a la cantidad (g) recomendada para las cianobacterias según el producto utilizado y sobre este valor ha variado la cantidad de nutrientes en los diferentes tratamientos.

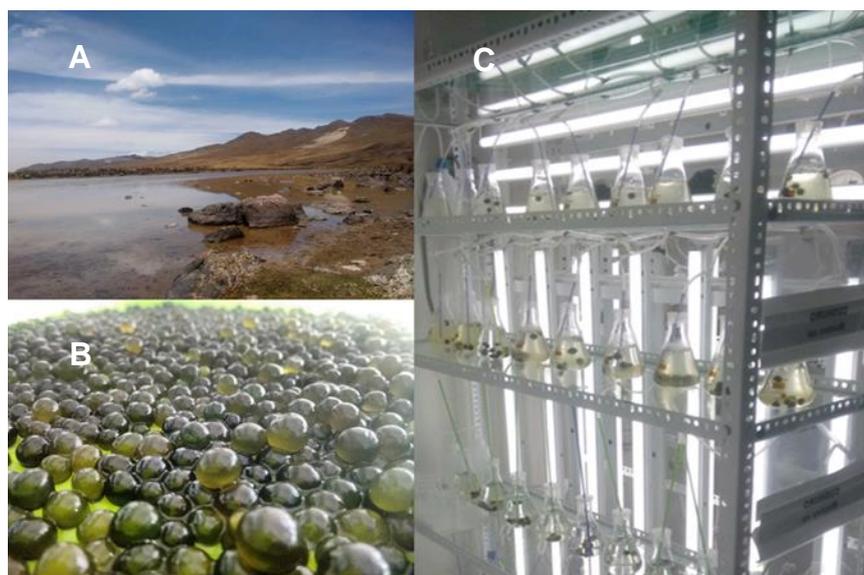


Figura 1. (A) Laguna Ututo; (B) colonias colectadas de *Nostoc punctiforme* de la laguna Ututo. (C) Sistema de cultivo de *Nostoc punctiforme* en medio líquido en matraces con luz y aireación constante en el laboratorio de Larvicultura Experimental de la Universidad Científica del Sur.

Cultivo en medio líquido

Se realizó el cultivo en medio líquido en matraces con volúmenes de 250 ml, para lo cual se utilizó agua de manantial envasada, y enriquecidas con los medios de cultivo BG11 y CHU estableciendo cuatro tratamientos por medio de cultivo y un control que se describen en la Tabla 2. Se inició cada cultivo con 10 colonias (peso promedio de 0.57 ± 0.07 g) por cada réplica, teniendo 4 réplicas por cada tratamiento. El sistema tuvo iluminación constante se utilizando focos LED los cuales fueron colocados a una distancia de 12 cm de los cultivos, para obtener una intensidad de 2000 lux (Renán et al. 2000), temperatura de 19.5 ± 0.76 °C, pH de 8.66 ± 0.35 y aireación constante por un periodo de 35 días. (Fig. 1.C).

Tabla 2. Concentración (g/L) de los Medios BG11 y CHU para el cultivo en medio líquido: cuatro tratamientos con Medio BG11 (T1-T4), cuatro tratamientos con Medio CHU (T5-T8) y un control (T0).

Tratamiento	Medio de Cultivo	Concentración (g/L)	Porcentaje* (%)	Peso (g) para 250 ml
T0	Control	0	0	0
T1	BG11	0.4	25	0.1018
T2	BG11	0.8	50	0.2035
T3	BG11	1.6	100	0.4068
T4	BG11	2	125	0.5085
T5	CHU	0.03	25	0.0078
T6	CHU	0.06	50	0.0155
T7	CHU	0.12	100	0.0308
T8	CHU	0.15	125	0.0385

* Proporciones acordadas por ensayos previos y basándonos en Cadena et al. 2013; Ortiz-Moreno et al. 2020.

Durante el periodo de cultivo se realizó el recambio total de los Medios BG11 y CHU semanalmente y se hicieron evaluaciones de los medios descartados en cada evaluación semanal siguiendo las recomendaciones de Diao & Yang (2014). Se evaluó el peso (g) y longitud total (mm) de las colonias con ayuda de una balanza analítica (marca ADAM, modelo SAB 12I) y un vernier digital (marca Ubermann) respectivamente. Conjuntamente con estas evaluaciones se tomó registro de los parámetros físico-químicos del agua como la temperatura (°C), pH, oxígeno (mg L^{-1}) con un multiparámetro (modelo YSI-Plus) y los compuestos nitrogenados como el amonio (mg/L), nitritos (mg/L) y nitratos (mg/L) fueron evaluados con tiras reactivas (Quantofix ®).

El último día de evaluación se cosechó las colonias de los cultivos en medio sólido y líquido, y se realizó el proceso de secado en una estufa a 65°C durante 72 horas (Chili Rodríguez & Terrazas 2010).

Tasa de Crecimiento

La tasa de crecimiento específico (TCE), se calculó utilizando los datos de peso húmedo en gramos registrados desde el inicio de la experimentación hasta su culminación experimental considerando el peso total de las colonias por cada replica de los tratamientos de los Medios BG11, CHU y control con una balanza analítica (marca ADAM, modelo SAB 12l) para el medio líquido durante 35 días. Se calculó con la fórmula:

$$TCE = [\ln(WF) - \ln(WI)]/t*100$$

donde: WF es peso final húmedo, WI es peso inicial húmedo, t es intervalo de tiempo transcurrido entre ambas observaciones (Méndez et al. 2019).

Ocurrencia de colonias

En los cultivos de medio líquido, se descartó y registró semanalmente el número de todas las colonias abiertas parcialmente o desintegradas totalmente (partes de envolturas sin mucílago).

Análisis estadísticos

Los datos obtenidos fueron analizados con el software R Studio 1.3.959, considerando un nivel de confianza de 0.05 para evaluar las diferencias de las variables de crecimiento del *N. punctiforme* cultivado entre los nueve tratamientos a partir de cuatro concentraciones del Medio BG11 (0.4 g/L, 0.8 g/L, 1.6 g/L y 2 g/L), cuatro concentraciones del Medio CHU (0.03 g/L, 0.06 g/L, 0.12 g/L y 0.15 g/L) y un control (0 g/L), tanto para los cultivos en medio sólido como líquido. Se realizaron las pruebas estadísticas de Normalidad y Homocasticidad las cuales fueron Jarque-Bera y Bartlett respectivamente.

El peso seco en los cultivos en medio líquido fue la única variable respuesta que no obtuvo diferencias significativas para las pruebas anteriormente mencionadas (paramétrica), por lo que se realizó la prueba de ANOVA de dos vías como *Post-hoc* la prueba de Tukey para las variables independientes: concentración (0 g/L, 0.4 g/L, 0.8 g/L, 1.6 g/L, 2 g/L, 0.03 g/L, 0.06 g/L, 0.12 g/L y 0.15 g/L) y Medio (BG11, CHU y control). Para las siguientes variables respuesta: peso húmedo, longitud total, TCE, ocurrencia de individuos en cultivo líquido y peso húmedo, peso seco en cultivo sólido respondieron a un análisis no paramétrico al cual se le aplicó la prueba Scheirer-Ray-Hare (SRH) y como comparación múltiple Kruskal-Wallis.

Resultados

Durante el periodo experimental la temperatura fue de 19.5 ± 0.76 °C, el oxígeno 6.92 ± 0.47 mg/L, pH de 8.66 ± 0.35 y los valores obtenidos para los compuestos amoniacales se describen en la Tabla 3.

Tabla 3. Promedio y desviación estándar de los compuestos nitrogenados evaluados del medio líquido para cuatro tratamientos con Medio BG11 (T1-T4), cuatro tratamientos con Medio CHU (T5-T8) y un control (T0).

Tratamiento	Medio de Cultivo	Concentración (g/L)	Porcentaje (%)	mg/LNO ⁻³	mg/LNO ⁻²	mg/LNH ⁺⁴
-------------	------------------	---------------------	----------------	----------------------	----------------------	----------------------

T0	Control	0	0	4.17 ± 1.86	0.25 ± 0.25	0.02 ± 0.10
T1	BG11	0.4	25	437.5 ± 108.25	28 ± 26.83	0.50 ± 0.38
T2	BG11	0.8	50	500 ± 0	27.5 ± 20.03	0.67 ± 0.66
T3	BG11	1.6	100	500 ± 0	49 ± 29.65	0.69 ± 0.64
T4	BG11	2	125	500 ± 0	30.4 ± 26.36	0.58 ± 0.61
T5	CHU	0.03	25	12 ± 6.78	0.33 ± 0.24	0.06 ± 0.17
T6	CHU	0.06	50	12 ± 6.78	0.43 ± 0.43	0.10 ± 0.2
T7	CHU	0.12	100	14.5 ± 10.71	0.33 ± 0.24	0.19 ± 0.24
T8	CHU	0.15	125	13 ± 7.14	0.38 ± 0.44	0.23 ± 0.25

Cultivo en medio sólido (agar)

Se observó un crecimiento diferente en los cultivos en medio sólido. En los cultivos con el Medio CHU las envolturas que forman las colonias fueron ausentes, presentando un desarrollo en forma de filamentos libres entre una estructura mucilaginosa transparente y brillante (Fig. 2.A). En los cultivos con el Medio BG11 sí se formaron envolturas dando lugar a las colonias de apariencia circular (Fig. 2.B), siendo los tratamientos T3 y T8 los que tuvieron mayor promedio de peso final, en tanto, estadísticamente ambos tratamientos no presentaron diferencia significativa con los tratamientos T2 y T7, a pesar de tener pesos inferiores a los anteriormente descritos (Tabla 4). En las placas del T0 (Tratamiento control) las colonias presentaron un crecimiento de apariencia similar a los obtenidos con el Medio BG11.

Así mismo se evidenció que al término del proceso de secado los tratamientos que registraron mayor pérdida de peso fueron los cultivos realizados con el Medio CHU (Fig. 2A), debido a la pérdida de humedad en la estructura gelatinosa que se evidencio en su crecimiento, a diferencia de lo que ocurre en el Medio BG11 donde las colonias si presentan envoltura (Tabla 4).

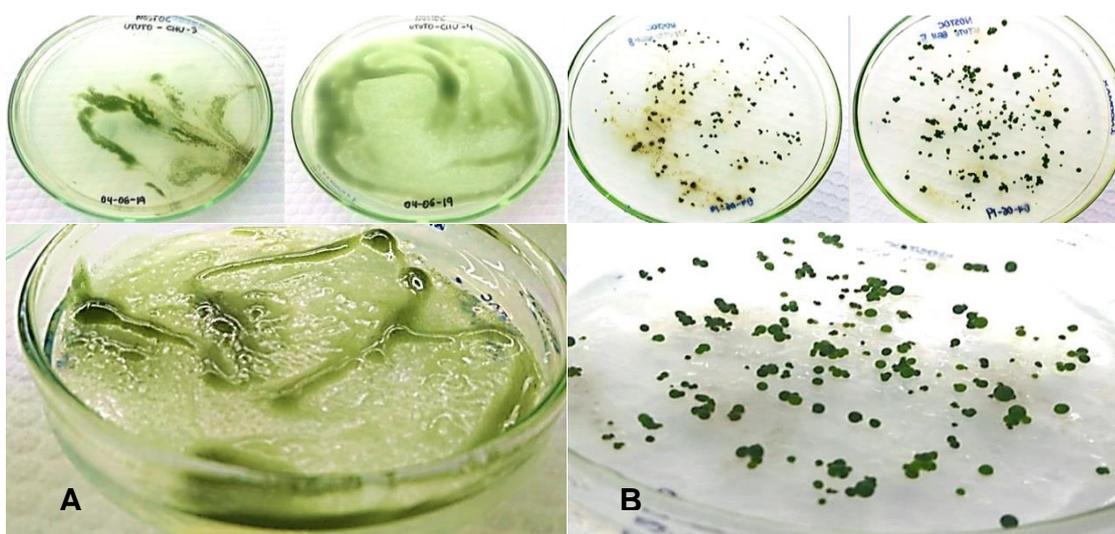


Figura 2. Cultivos en agar: (A) Filamentos de *Nostoc punctiforme* cultivados en Medio CHU; (B) Colonias de *Nostoc punctiforme* en Medio BG11.

Tabla 4. Comparación entre tratamientos de los medios de cultivo BG11 y CHU, para el peso húmedo y peso seco de *Nostoc punctiforme* cultivado en medio sólido. Las letras

indican diferencia significativa entre los nueve tratamientos por la comparación múltiple entre filas del test de Kruskal-Wallis.

Tratamiento	Medio de Cultivo	Concentración (g/L)	Porcentaje (%)	Peso Húmedo (g)	Peso Seco (g)
T0	Control	0	0	0.045 ± 0.07 ^e	0.009 ± 0.01 ^e
T1	BG11	0.4	25	0.231 ± 0.2 ^{de}	0.016 ± 0.01 ^{be}
T2	BG11	0.8	50	1.226 ± 0.59 ^{abc}	0.026 ± 0.004 ^{abc}
T3	BG11	1.6	100	2.087 ± 1.42 ^a	0.077 ± 0.07 ^a
T4	BG11	2	125	0.675 ± 0.28 ^{bcd}	0.019 ± 0.004 ^{bcd}
T5	CHU	0.03	25	0.613 ± 0.38 ^{cd}	0.016 ± 0.01 ^{de}
T6	CHU	0.06	50	0.698 ± 0.54 ^{bcd}	0.020 ± 0.02 ^{cde}
T7	CHU	0.12	100	1.611 ± 1.30 ^{ab}	0.038 ± 0.02 ^{ab}
T8	CHU	0.15	125	2.873 ± 1.48 ^a	0.056 ± 0.03 ^a

Cultivo en medio líquido

Peso húmedo

Los tratamientos que obtuvieron mayor peso húmedo al término de la evaluación fueron T2 (1.1780 ± 0.34g) y T6 (1.0595 ± 0.45g). Sin embargo, el mayor peso húmedo se registró el día 28 de evaluación en el tratamiento T2 (1.2917 ± 0.45 g) (Fig. 3). Existe diferencia significativa entre algunos tratamientos de acuerdo a la comparación múltiple del test de Kruskal-Wallis como se aprecia en la Tabla 5, siendo el T2 el que obtuvo mayor valor promedio para la variable respuesta: peso húmedo y los tratamientos T4 y T0 presentaron el menor peso.

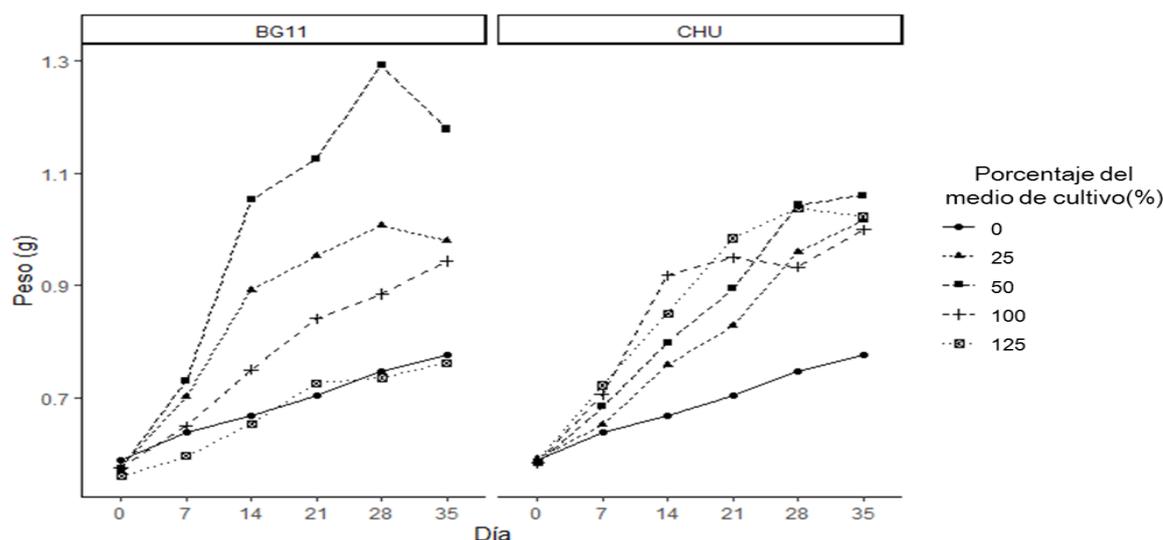


Figura 3. Peso húmedo promedio (g) de colonias de *Nostoc punctiforme* cultivados en medio líquido. T1, T2, T3 y T4 corresponden a tratamientos con medio de cultivo BG11 y sus porcentajes son 25%, 50%, 100% y 125% respectivamente; y T5, T6, T7 y T8 corresponden a tratamientos con medio de cultivo CHU y sus porcentajes son 25%, 50%, 100% y 125% respectivamente y T0 es el tratamiento control (0%), evaluados por 35 días.

Longitud total

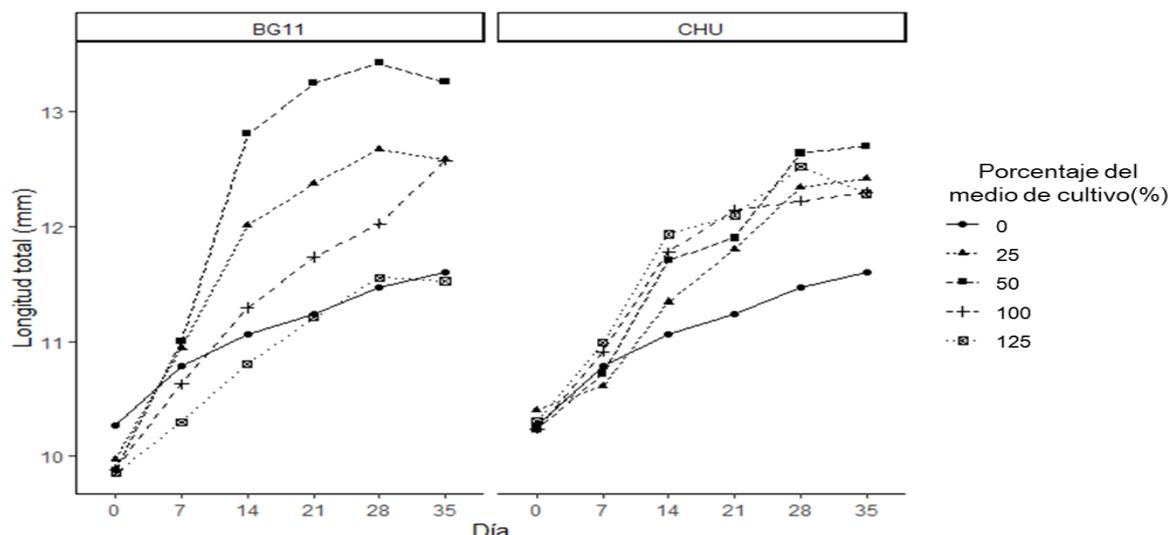


Figura 4. Longitud total promedio (mm) de colonias de *Nostoc punctiforme* de cultivos en medio líquido. T1, T2, T3 y T4 corresponden a tratamientos con medio de cultivo BG11 y sus porcentajes son 25%, 50%, 100% y 125% respectivamente; y T5, T6, T7 y T8 corresponden a tratamientos con medio de cultivo CHU y sus porcentajes son 25%, 50%, 100% y 125% respectivamente y T0 es el tratamiento control (0%), evaluados por 35 días.

Los tratamientos que obtuvieron el mayor valor promedio de longitud total fueron T2 ($13.26 \pm 1.33\text{mm}$) y T6 ($12.70 \pm 1.45\text{mm}$) que corresponden a tratamientos con medio BG11 y CHU respectivamente, y los de menor valor promedio T4 ($11.53 \pm 0.62\text{mm}$) y T0 ($11.60 \pm 0.63\text{mm}$) de los tratamientos con BG11 y control respectivamente (Fig.4) (Tabla 5). Existiendo diferencia significativa entre algunos de los tratamientos de acuerdo a la comparación múltiple del test de Kruskal-Wallis como se aprecia en la Tabla 5, siendo el tratamiento T2 el que tuvo mayor valor y el tratamiento T4 el de menor valor promedio de longitud total.

Tabla 5. Comparación entre tratamientos de los Medios de cultivo BG11 y CHU: promedio y desviación estándar de peso húmedo y longitud total de *Nostoc punctiforme* cultivado en medio líquido. Las letras indican diferencia significativa entre los nueve tratamientos por la comparación múltiple entre filas del test de Kruskal-Wallis.

Tratamiento	Medio de Cultivo	Concentración (g/L)	Porcentaje (%)	Peso Húmedo (g)	Longitud total (mm)
T0	Control	0	0	0.7766 ± 0.17^d	11.60 ± 0.62^d
T1	BG11	0.4	25	0.9799 ± 0.38^b	12.59 ± 1.30^b
T2	BG11	0.8	50	1.178 ± 0.33^a	13.26 ± 1.30^a
T3	BG11	1.6	100	0.9427 ± 0.20^{bc}	12.58 ± 0.92^{cd}
T4	BG11	2	125	0.7619 ± 0.14^d	11.53 ± 0.61^e
T5	CHU	0.03	25	1.0152 ± 0.38^{bc}	12.42 ± 1.36^{cd}
T6	CHU	0.06	50	1.0595 ± 0.44^{bc}	12.70 ± 1.42^{bc}
T7	CHU	0.12	100	0.9987 ± 0.38^{bc}	12.30 ± 1.40^{bc}
T8	CHU	0.15	125	1.0222 ± 0.54^{bc}	12.29 ± 1.61^{bc}

Peso seco

El tratamiento con ausencia de los medios de cultivo BG11 y CHU (T0) presentó el mayor valor de peso seco promedio (0.2419 ± 0.03 g), mientras que de los tratamientos enriquecidos con los medios de cultivo BG11 y CHU el tratamiento T2 presentó mayor peso promedio (0.2324 ± 0.03 g) (Tabla 6). De acuerdo a la comparación múltiple de Tukey hay diferencias entre las concentraciones, donde el tratamiento control difiere sobre las demás concentraciones y los tratamientos T2 y T6 estadísticamente no presentaron diferencia significativa con el tratamiento control.

Tabla 6. Peso seco (promedio y desviación estándar) de *Nostoc punctiforme* (g) para cultivos líquidos con los Medios BG11 y CHU por 35 días. Las letras indican diferencia significativa entre las concentraciones por comparación múltiple del test de Tukey.

Tratamiento	Medio de Cultivo	Concentración (g/L)	Porcentaje (%)	Peso Seco (g)
T0	Control	0	0	0.2419 ± 0.03^a
T1	BG11	0.4	25	0.1720 ± 0.06^b
T2	BG11	0.8	50	0.2324 ± 0.03^{ab}
T3	BG11	1.6	100	0.1877 ± 0.05^b
T4	BG11	2	125	0.1603 ± 0.01^b
T5	CHU	0.03	25	0.1763 ± 0.01^b
T6	CHU	0.06	50	0.2000 ± 0.04^{ab}
T7	CHU	0.12	100	0.1512 ± 0.06^b
T8	CHU	0.15	125	0.1707 ± 0.04^b

Tasa de Crecimiento Específico

Los tratamientos T1, T2, T3 (Medio BG11), T5, T6, T7 y T8 (Medio CHU) no tuvieron diferencia significativa siendo los tratamientos T2 y T1 los que obtuvieron una TCE superior, mientras que el tratamientos que obtuvo una menor TCE fue T0 el cual no tenía ningún medio enriquecedor seguido de T4 (tratamiento con BG11) (Fig.5).

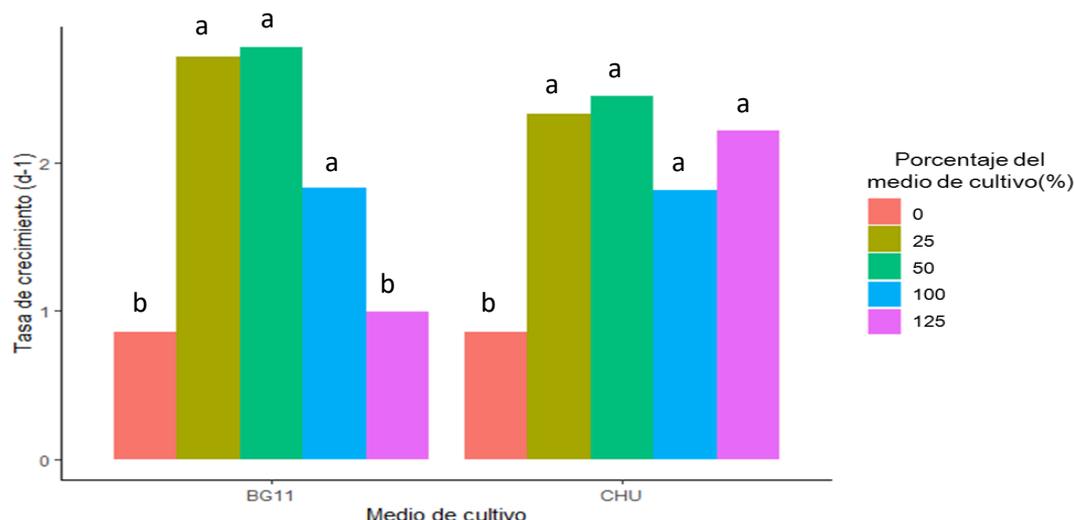


Figura 5. Tasa de crecimiento de *Nostoc punctiforme* de cultivos en medio líquido. T1, T2, T3 y T4 corresponden a tratamientos con medio de cultivo BG11 y sus porcentajes son 25%, 50%, 100% y 125% respectivamente; y T5, T6, T7 y T8 corresponden a tratamientos con medio de cultivo CHU y sus porcentajes son 25%, 50%, 100% y 125% respectivamente y T0 es el tratamiento control (0%), evaluados por 35 días. Las letras

indican diferencia significativa entre tratamientos por la comparación múltiple del test de Kruskal-Wallis.

Ocurrencia de colonias

A partir de la primera semana de evaluación se registró la disminución de las 40 colonias iniciales en ambos medios de cultivo, siendo mayor la pérdida de colonias en los cultivos del Medio CHU para los tratamientos T7 (24 colonias) y T5 (23 colonias). Mientras que las réplicas de T0, no presentaron pérdida de colonias hasta el término de la evaluación (Fig. 6).

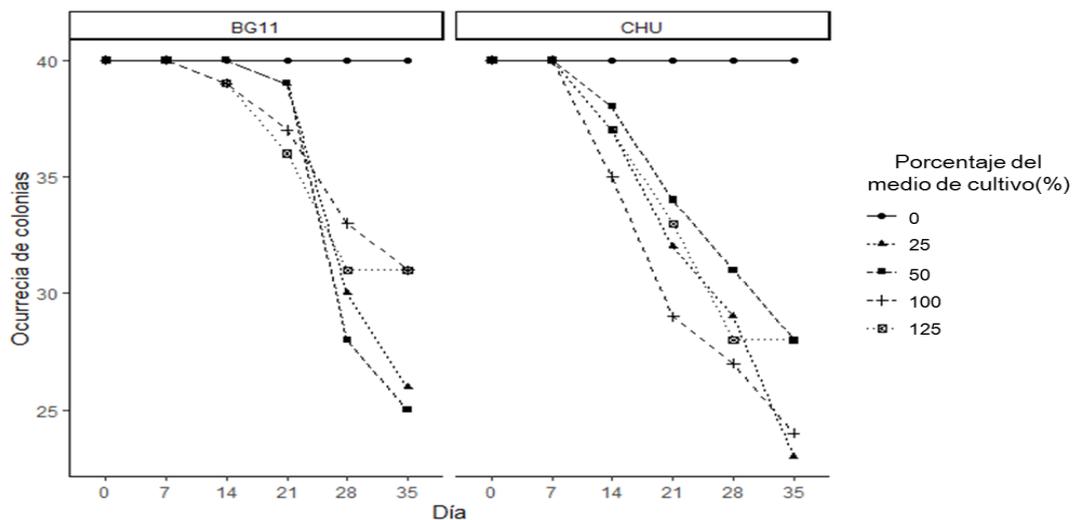


Figura 6. Ocurrencia de colonias de *Nostoc punctiforme* de cultivos en medio líquido. T1, T2, T3 y T4 corresponden a tratamientos con medio de cultivo BG11 y sus porcentajes son 25%, 50%, 100% y 125% respectivamente; y T5, T6, T7 y T8 corresponden a tratamientos con medio de cultivo CHU y sus porcentajes son 25%, 50%, 100% y 125% respectivamente y T0 es el tratamiento control (0%), evaluados por 35 días.

Discusión

En el presente estudio las condiciones de cultivo de *N. punctiforme* se mantuvieron dentro de los valores óptimos considerados para el cultivo de *Nostoc*. La temperatura registrada fue de $19.5 \pm 0.76^\circ\text{C}$ la cual se mantuvo dentro del rango óptimo, siendo $20 \pm 5^\circ\text{C}$ para los cultivos de *Nostoc* sp. según Moncayo (2017) y de $20 \pm 2^\circ\text{C}$ considerado para cultivo de *N. commune* (López-López & Serna-Hernández 1999); sin embargo, difieren de otras especies mencionadas en diferentes trabajos como: *Nostoc* sp. cultivado a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ (Alcivar Severino JC. 2020, Cadena et al. 2013); *N. muscorum* a 23°C (Ortiz-Moreno et al. 2020); *N. commune* a 25°C (Potts 2000) y a *N. verrucosum* que se halló a los 13.9°C (Krupek et al. 2008).

Dai et al (2013) en su evaluación estipularon como condición de cultivo un pH 9 para *Nostoc flageliforme*, mientras que Ortega & Vinueza (2016) mencionan que un pH 9,2 favorece la abundancia de la biomasa para *N. microscopicum*, valores que se asemejan a los registrados a lo largo del periodo de cultivo de *N. punctiforme* en el presente trabajo (8.66 ± 0.35); sin embargo, difieren con los rangos de pH (6.5 ± 0.5) establecidos para el crecimiento óptimo de *N. microscopicum* y *N. commune*, según Potts (2000).

Una característica importante que se registró en los cultivos en medio sólido fue la variación morfológica del crecimiento entre los medios, presentando la característica típica de un revestimiento exocelular (Philipidis et al. 2000) en la formación de colonias

principalmente circulares para los cultivos con el Medio BG11, como se reportó en las evaluaciones realizadas con *N. flagelliforme* por Liu & Chen (2003), que a partir de células de vida libre cultivadas en agar enriquecido con BG11 obtuvieron la formación de colonias macroscópicas. A diferencia de las colonias cultivadas con el Medio CHU en nuestro experimento que presentó un crecimiento de células vivas libres que no promovieron la formación de colonias, lo cual pudo ser causado por la ausencia de Cloruro de calcio dihidrato en el Medio CHU, siendo este componente un agente utilizado como encapsulante en la elaboración de semillas sintéticas y explantes (León-Romero et al. 2019, Standardi & Micheli 2012). Sin embargo los demás componente químicos de los medios utilizados como el citrato de amonio férrico, nitrato de sodio que eran ingredientes exclusivamente para el Medio BG11 o los componentes Nitrato de calcio, silicato de sodio y cloruro de hierro (II) que solo presentaba el Medio CHU, la ausencia o presencia de algún componente anteriormente mencionado pudo haber influido en la formación de las colonias (Echeverry-Ibagón 2015), para lo cual se debería hacer una evaluación que determine lo sugerido.

Debido al morfotipo variante que presentaron las colonias en el transcurso de las evaluaciones de los cultivos en medio líquido, se puede considerar que la longitud total no es un factor determinante de medición para nuestra evaluación, ya que al inicio se evaluaron colonias esféricas, y a lo largo de las semanas de evaluación se observaron variaciones en su forma, obteniendo colonias alargadas, planas o de formas muy complejas. Esta variabilidad registrada de las colonias también se mencionó en otros estudios como para el caso de Aboal & Cristóbal (2014), que registraron al inicio colonias de forma esférica que posteriormente terminaron en colonias membranosas e irregulares. Asimismo, dicha característica también es mencionada en trabajos de caracterización como es el caso de *Nostoc commune* que puede presentar variaciones estructurales que van desde morfologías gelatinosas, globosas, esféricas, aplanadas extendidas o aplanadas onduladas (Pereira et al. 2005), características que según Cadena et al. (2013) podrían estar relacionados a sus estadios de ciclo de vida. Cabe mencionar que en el presente estudio también se pudo observar que algunas colonias no presentaron un crecimiento paulatino, pero sí registraban un incremento de su peso en relación a las semanas anteriores.

Yu et al. (2008), realizaron cultivos en suspensión líquida de células de *Nostoc flagelliforme* sometidas a diferentes niveles de NaNO_3 y KH_2PO_4 en el Medio BG11, encontrando que el incremento de NaNO_3 (2.5 gL^{-1}) y KH_2PO_4 (0.956 gL^{-1}) aceleró el crecimiento de las células, obteniendo mayor peso seco en gramos. Siendo ambos componentes parte del Medio BG11, los cuales pudieron haber fomentado de igual forma el incremento de biomasa en nuestras evaluaciones.

Una característica importante que también influyó en el peso seco final, fueron las texturas blandas y compactas que se evidenciaron independientemente entre los tratamientos de ambos medios de cultivo (BG11-CHU), debido a que las colonias de texturas blandas retenían más líquido en su interior perdieron mayor peso húmedo luego del procesamiento de secado.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo serán datos a considerar en futuros protocolos para el cultivo en los medios sólido y líquido de *N. punctiforme*, siendo la base para cultivos a gran escala que permitan el incremento de su producción y comercialización.

Conclusión

N. punctiforme en medio sólido presentó mayor peso húmedo y seco con los porcentajes 50%, 100% y 125% de ambos medios de cultivo, siendo los tratamientos de mayor

promedio T3 y T8, los cuales corresponden al 100% y 125% respectivamente, de las concentraciones recomendadas por los medios de cultivo utilizados. A pesar de esta diferencia, el análisis estadístico no presentó diferencias significativas.

En los cultivos de medio líquido, la combinación medio de cultivo y concentración que promovió el incremento del promedio de peso húmedo y longitud fue T2, siendo este tratamiento el 50% de la dosis estándar recomendado para cianobacterias por el producto utilizado.

Los tratamientos que favorecieron el peso seco en los cultivos de medio líquido fueron T0 y T2. Sin embargo estadísticamente no presentaron diferencias significativas.

Literatura citada

Alcivar Severino JC. 2020. Caracterización bioquímica de exopolisacáridos producidos a partir de una asociación microalgal. Tesis de Titulación. Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador. <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/reduq/48662>

Andersen RA. 2005. Algal culturing techniques. Elsevier. Academic Press. pp. 435-445.

Alvarez X, Alves A, Ribeiro MP, Lazzari M, Coutinho P, & Otero A. 2021. Biochemical characterization of *Nostoc* sp. exopolysaccharides and evaluation of potential use in wound healing. Carbohydrate Polymers. 254, 117303. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117303>

Cadena M, Molina D, Carvajal A, Ontaneda D, & Morales E. 2013. Bioprospección de macrocolonias de *Nostoc* sp. en Los Andes ecuatorianos. Acta Botánica Venezolana. 36(2): 287-307. <https://www.jstor.org/stable/26611043>

Carbajal R, & Vicente W. 2015. Caracterización y cuantificación del comportamiento reológico del hidrocoloide proveniente del *Nostoc* (*Nostoc sphaericum* V.). Tesis de Maestría. Universidad Agraria la Molina, Lima, Perú. <http://repositorio.upeu.edu.pe/handle/UPEU/1612>

Carvajal Cruz GE. 2011. Ocurrencia de floraciones de cianobacterias tóxicas en cuerpos de agua dulce. Tesis de Doctorado. Universidad Nacional de la Plata, La Plata, Argentina. <https://doi.org/10.35537/10915/2702>

Carhuapoma DV, Valencia N, Mayhua P, & Sánchez AV. 2015. Niveles de harina de algas de *Nostoc commune* en el incremento de peso vivo de cuyes (*Cavia porcellus*) destetados. Revista Complutense de Ciencias Veterinarias. 9(2): 1-6. https://doi.org/10.5209/rev_RCCV.2015.v9.n2.49588

Chili Rodríguez E, & Terrazas Viza I. 2010. Evaluación de la cinética de secado y valor biológico de cushuro (*Nostoc sphaericum*). Tesis de Titulación. Universidad Nacional de Altiplano, Puno, Perú. <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/3364>

Chu, S. P. 1942. The influence of the mineral composition of the medium on the growth of planktonic algae. Part I. Methods and culture media. J. Ecol. 30: 284-325. <https://doi.org/10.2307/2256574>

Dai YJ, Li J, Wei SM, Chen N, Xiao YP, Tan ZL, & Song YJ. 2013. Effect of light with different wavelengths on *Nostoc flagelliforme* cells in liquid culture. Journal of microbiology and biotechnology. 23(4): 534-538. <https://doi.org/10.4014/jmb.1205.05037>

- Diao Y, & Yang Z. 2014. Evaluation of morphological variation and biomass growth of *Nostoc commune* under laboratory conditions. *Journal of environmental biology*. 35(3): 485. http://www.jeb.co.in/journal_issues/201405_may14/paper_06.pdf
- Echeverry-Ibagón MC. 2015. Cultivo in vitro de cianobacterias marinas bentónicas: obtención de biomasa influenciada por la adición de nutrientes. <http://hdl.handle.net/20.500.12010/1771>
- Gao KS, & Nakahara H. 1990. Effects of nutrients on the photosynthesis of *Sargassum thunbergii*. *Botanica Marina*. 33: 375–383. DOI: [10.1515/botm.1990.33.5.375](https://doi.org/10.1515/botm.1990.33.5.375)
- Gao K, & Yu A. 2000. Influence of CO₂, light and watering on growth of *Nostoc flagelliforme* mats. *Journal of Applied Phycology*. 12(2): 185-189. <https://doi.org/10.1023/A:1008123203409>
- Han PP, Shen SG, Guo RJ, Zhao DX, Lin YH, Jia SR, Yan R, & Wu YK. 2019. ROS Is a Factor regulating the increased polysaccharide production by light quality in the edible cyanobacterium *Nostoc flagelliforme*. *Journal of agricultural and food chemistry*. 67(8): 2235-2244. DOI: 10.1021/acs.jafc.8b06176
- Herrera Pérez RM. 2012. Evaluación de los exopolisacáridos producidos por una cepa nativa de cianobacteria *Nostoc* sp. Como sustrato en la producción de bioetanol. Tesis de Magister. Universidad Nacional de Colombia. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/11522>
- INAIGEM (Instituto Nacional de Investigación en Glaciares y Ecosistemas de Montaña). 2016. Informe de inspección. "Identificación de lagunas altoandinas con características para producción de Cushuro". Instituto Nacional de investigación en glaciares y ecosistemas de montaña. https://www.inaigem.gob.pe/dowloand/ecosistemas/pachacoto/Inspeccion_pachacoto_cushuro.pdf
- Jurado B, Fuertes CM, Tomás GE, Ramos E, Arroyo JL, Cáceres JR, & Ostos H. 2014. Estudio fisicoquímico, microbiológico y toxicológico de los polisacáridos del *Nostoc commune* y *Nostoc sphaericum*. *Revista Peruana de Química e Ingeniería Química*. 17(1): 15-22. <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/quim/article/view/11310>
- Krupek RA, Branco CCZ, & Peres CK. 2008. Levantamento florístico das comunidades de macroalgas da bacia do Rio das Pedras, região centro-sul do Estado do Paraná, Sul do Brasil. *Hoehnea*, pp. 189-208. <http://dx.doi.org/10.1590/S2236-89062008000200003>
- León-Romero Y, Trejo-Espino JL, Salcedo-Morales G, Trejo-Tapia G, & Evangelista Lozano S. 2019. Optimización de las condiciones de producción de cápsulas con microestacas para aumentar el tiempo de almacenamiento de la planta medicinal mexicana *Castilleja tenuiflora* (Orobanchaceae). *Acta botánica mexicana* 126: e1442. <https://doi.org/10.21829/abm126.2019.1442>
- Liu XJ, & Chen F. 2003. Cell differentiation and colony alteration of an edible terrestrial cyanobacterium *Nostoc flagelliforme*, in liquid suspension cultures. *Folia microbiológica*. 48(5): 619-626. <https://doi.org/10.1007/BF02993468>
- Li Y, & Gao K. 2004. Photosynthetic physiology and growth as a function of colony size in the cyanobacterium *Nostoc sphaeroides*. *European Journal of Phycology*. 39(1): 9-15. DOI: 10.1080/0967026032000157147
- López-López E, & Serna-Hernández JA. 1999. Variación estacional del zooplancton del embalse Ignacio Allende, Guanajuato, México y su relación con el fitoplancton y factores

ambientales. Revista de Biología Tropical. 47(4): 643-657.
https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77441999000400001

Méndez CF, Huayllahua MCG, & Grandez KN. 2019. Crecimiento y sobrevivencia en la alimentación de juveniles de arahuana *Osteoglossum bicirrhosum*. Folia Amazónica. 28(1): 123-129. <https://doi.org/10.24841/fa.v28i1.479>

Moncayo Medina AE. 2017. Caracterización morfológica, análisis proximal y análisis microbiológico de una muestra de la Cianobacteria *Nostoc* sp., recolectada en el páramo de Papallacta. Tesis de Licenciatura. Universidad Central de Ecuador, Quito, Ecuador.
<http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/9327>

Moreno MLO, Murillo LVS, & Parra KXS. 2020. Análisis de la producción de biomasa de *Nostoc muscorum* en sistema hidropónico. Orinoquía. 24(1): 23-31.
<http://doi.org/10.22579/20112629.599>

Nalewajk C, Lee K, & Olaveson M. 1995. Responses of freshwater algae to inhibitory vanadium concentrations: The role of phosphorus 1. Journal of Phycology. 31(3): 332-343. <https://doi.org/10.1111/j.0022-3646.1995.00332.x>

Ocaña D, Martel G, & Mallqui H. 2016. La reserva alimenticia en las lagunas alto andinas Cushuro (*Nostoc* sp.). Boletín Institucional N°2 del Instituto Nacional de Investigación en Glaciares y Ecosistemas de Montaña. Pp. 71-78.
https://issuu.com/inaiquem/docs/inaiquem_boletin3-a

Ortega Tapia GD, & Vinueza López FD. 2016. Descripción de la morfología microscópica de comunidades de *Nostoc* sp., provenientes de la parroquia de Pintag provincia de Pichincha. Tesis de licenciatura. Universidad Politécnica Salesiana de Ecuador.
<https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/13229>

Ortiz-Moreno ML, Solarte-Murillo LV, & Sandoval-Parra KX. 2020. Análisis de la producción de biomasa de *Nostoc muscorum* en sistema hidropónico. Orinoquía. 24(1): 23-31. <http://doi.org/10.22579/20112629.599>

Pereira I, Moya M, Reyes G, & Kramm V. 2005. A survey of heterocystous nitrogen-fixing cyanobacteria in Chilean rice fields. Gayana, Bot. 62(1): 26-32.
https://www.researchgate.net/profile/Iris_Pereira2/publication/262708044

Philippis R, Faraloni C, Margheri MC, Silim C, Herdman M, & Vicenzini M. 2000. Morphological and biochemical characterization of the exocellular investments of polysaccharide-producing *Nostoc* strains from the Pasteur Culture Collection. World Journal of Microbiology & Biotechnology. 16(1): 655-661.
<https://doi.org/10.1023/A:1008985722388>

Ponce E. 2014. *Nostoc*: un alimento diferente y su presencia en la precordillera de Arica. Idesia Arica. 32(2): 119-121. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292014000200015>

Potts M. 2000. *Nostoc*. En B.A. Whitton & M. Potts (Eds.). The Ecology of Cyanobacteria. Dordrecht, Países Bajos: Springer, pp. 465-504.
<https://www.springer.com/us/book/9780792347354>

Renán JR, Morioka LR, Ribeiro ML, Pinotti MH. 2000. Cultivo de *Nostoc* sp. em diferentes luminosidades para produção de biomassa e ficobiliproteínas. Semina: Ciências Biológicas e da Saúde, 20(2), 67-71. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0367.1999v20n2p67>

Rodríguez Carrillo SÁA. 2016. Desarrollo de Nanocompuestos obtenidos a partir de Bipolímeros de Algas *Chondracanthus Chamissoi* y *Nostoc Comune* empleando Nano Refuerzos de Almidón, Arcilla y Quitina. Tesis de Magister. Universidad Católica del

Perú, Lima, Perú.
http://repositorio.concytec.gob.pe/bitstream/20.500.12390/282/3/2016_Rodriguez_Des_arrollo-nanocompuestos-obtenidos.pdf

Singh Pande J. 2010. A text book of Botany. India: Rastogi Publication.

Standardi A, & Micheli M. 2012. Encapsulation of In Vitro-Derived Explants: An Innovative Tool for Nurseries. Protocols for Micropropagation of Selected Economically-Important Horticultural Plants. 397-418. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-074-8_31

Su J, Jia S, Chen X, & Yu H. 2008. Morphology, cell growth, and polysaccharide production of *Nostoc flagelliforme* in liquid suspension culture at different agitation rates. J. Appl. Phycol. 20: 213-217. <https://doi10.1007/s10811-007-9221-4>

Surilayani D, Chaiyanate N, & Suriyaphan O. 2011. The effect of magnesium concentration on protein and chlorophyll a content of *Nostoc* spp. reared in two cultured media. Jurnal Perikanan dan Kelautan.1(1). <http://dx.doi.org/10.33512/jpk.v1i1.844>

Yu H, Jia S, & Dai Y. 2008. Accumulation of exopolysaccharides in liquid suspension culture of *Nostoc flagelliforme* cells. Applied biochemistry and biotechnology. 160(2): 552-56. <https://doi.org/10.1007/s12010-008-8428-4>

Agradecimientos / Acknowledgments:

Se agradece al Ministerio de la Producción, al Programa Nacional de Innovación para la Competitividad y Productividad y a la empresa Acuícola Mares del Sur, quienes cofinanciaron el proyecto "Desarrollo y validación de un sistema piloto de cultivo para la producción de la microalga *Nostoc* como alimento para consumo humano, en instalaciones de invernadero basado en tecnología raceway, y en sistema ancestral "Waru-Warus" con riego tecnificado" bajo el Convenio N° 036-INN "OVATEPERU-PITEI-2017-INNOVATE-PITEI-5-P-421-168-16.

Conflicto de intereses / Competing interests:

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Rol de los autores / Authors Roles:

EDEL: realizó el estudio de campo y el experimento; escribió el primer manuscrito; realizó el análisis estadístico; GMAB: apoyo en el proceso experimental y campo; PMBG y MSCF: diseñaron el estudio, revisaron y aprobaron el manuscrito.

Fuentes de financiamiento / Funding:

El presente trabajo se realizó gracias al Programa Nacional de Innovación para la Competitividad y Productividad (INNOVATE PERÚ) con Convenio N° 036-INNOVATEPERU-PITEI-2017.

Aspectos éticos / legales; Ethics / legal:

El presente trabajo no incurrió en problemas éticos ni legales.