



Universidad  
Nacional  
de Loja

**Universidad Nacional de Loja**  
**Facultad Agropecuaria y Recursos Naturales Renovables**  
**Carrera de Agronomía**

**Diversidad de microalgas y cianobacterias provenientes de agua del cultivo  
de arroz del cantón Macará.**

**Trabajo de Integración Curricular,  
previo a la obtención del título de  
Ingeniera Agrónoma.**

**AUTORA:**

Jasmania del Cisne Eras Guaicha

**DIRECTOR:**

Ing. Ángel Rolando Robles Carrión PhD.

Loja – Ecuador

2024

## Certificación

Loja, 24 de agosto de 2023

Ing. Ángel Rolando Robles Carrión PhD.

**DIRECTOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR**

### **CERTIFICO:**

Que he revisado y orientado todo el proceso de elaboración del Trabajo de Integración Curricular denominado: **Diversidad de microalgas y cianobacterias provenientes de agua del cultivo de arroz del cantón Macará**, previo a la obtención del título de **Ingeniera Agrónoma**, de la autoría de la estudiante **Jasmania del Cisne Eras Guaicha**, con **cédula de identidad Nro.1105467987**, una vez que el trabajo cumple con todos los requisitos exigidos por la Universidad Nacional de Loja, para el efecto, autorizo la presentación del mismo para su respectiva sustentación y defensa.



Ing. Ángel Rolando Robles Carrión PhD.

**DIRECTOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR**

## **Autoría**

Yo, **Jasmania del Cisne Eras Guaicha**, declaro ser autora del presente Trabajo de Integración Curricular y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos, de posibles reclamos y acciones legales, por el contenido del mismo. Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja la publicación de mi Trabajo de Integración Curricular, en el Repositorio Digital Institucional – Biblioteca Virtual.



**Firma:**

**Cédula de identidad:** 1105467987

**Fecha:** 15 de enero de 2024

**Correo electrónico:** [jasmania.eras@unl.edu.ec](mailto:jasmania.eras@unl.edu.ec)

**Teléfono:** 0985141973

**Carta de autorización por parte de la autora, para consulta, reproducción parcial o total y/o publicación electrónica del texto completo, del Trabajo de Integración Curricular.**

Yo, **Jasmania del Cisne Eras Guaicha**, declaro ser autora del Trabajo de Integración Curricular denominado: **Diversidad de microalgas y cianobacterias provenientes de agua del cultivo de arroz del cantón Macará**, como requisito para optar por el título de **Ingeniera Agrónoma**, autorizo al sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que, con fines académicos, muestre la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido en el Repositorio Institucional.

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el Repositorio Institucional, en las redes de información del país y del exterior con las cuales tenga convenio la Universidad.

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia del Trabajo de Integración Curricular que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, suscribo, en la ciudad de Loja, a los quince días del mes de enero del dos mil veinticuatro.



**Firma:**

**Autora:** Jasmania del Cisne Eras Guaicha

**Cédula:** 1105467987

**Dirección:** La Argelia, Loja.

**Correo electrónico:** jasmania.eras@unl.edu.ec

**Teléfono:** 0985141973

**DATOS COMPLEMENTARIOS**

**Director de Trabajo de Integración Curricular:** Ing. Ángel Rolando Robles Carrión PhD.

## **Dedicatoria**

Dedico el presente trabajo a Dios y a la Virgen, así como a mis padres Osvaldo Eras y Doris Guaicha quienes me dieron su apoyo incondicional durante todo este trayecto, gracias a ustedes he podido culminar mis estudios universitarios sin su ayuda no hubiera sido posible, por eso reciban el presente trabajo como muestra de agradecimiento y amor hacia ustedes.

*Jasmania del Cisne Eras Guaicha*

## **Agradecimiento**

Agradezco a Dios y a la Virgen que me dieron salud, fortaleza y sabiduría, por haberme permitido llegar a culminar una etapa más en mi vida. En especial por concederme una familia maravillosa que me ama y me apoya en cada momento.

Gracias Osvaldo Eras y Doris Guaicha por ser los mejores padres, por todo su esfuerzo y dedicación que han hecho y lo siguen haciendo para educarme como una persona de valores. Ustedes han sido el mejor ejemplo de superación, humildad y sacrificio, me han enseñado a no rendirme y me han dado el valor para seguir adelante.

Gracias Angelyne Eras, por ser mi hermana y mejor amiga, por creer en mí en todo momento y motivarme constantemente.

Gracias a todos los profesores que contribuyeron a mi formación profesional durante mi estancia en la universidad, por compartir sin egoísmo sus conocimientos y experiencias. A mi director del Trabajo de Integración Curricular Ing. Ángel Robles por su paciencia y apoyo durante el desarrollo del proyecto.

Así mismo, agradezco al personal técnico del Centro de Biotecnología, en especial a la Ing. Yadira Collahuazo por guiarme y ayudarme en la investigación.

*Jasmania del Cisne Eras Guaicha*

## Índice de contenidos

<b>Portada</b> .....	<b>i</b>
<b>Certificación</b> .....	<b>ii</b>
<b>Autoría</b> .....	<b>iii</b>
<b>Carta de autorización</b> .....	<b>iv</b>
<b>Dedicatoria</b> .....	<b>v</b>
<b>Agradecimiento</b> .....	<b>vi</b>
<b>Índice de contenidos</b> .....	<b>vii</b>
Índice de tablas.....	ix
Índice de figuras.....	x
Índice de anexos.....	xi
<b>1. Título</b> .....	<b>1</b>
<b>2. Resumen</b> .....	<b>2</b>
Abstract ..	3
<b>3. Introducción</b> .....	<b>4</b>
Objetivo general ..	5
Objetivos específicos.....	5
<b>4. Marco teórico</b> .....	<b>6</b>
<b>4.1 El cultivo de arroz</b> .....	<b>6</b>
4.1.1 Taxonomía.....	6
4.1.2 Importancia.....	6
4.1.3 Producción.....	6
<b>4.2 Microalgas</b> .....	<b>7</b>
4.2.1 Definición.....	7
4.2.2 Características de las microalgas.....	7
4.2.3 Importancia.....	7
4.2.4 Clasificación.....	8
4.2.5 Modo de vida.....	9
4.2.6 Usos en la agricultura.....	10
4.2.7 Estudios científicos sobre la diversidad de microalgas.....	10
<b>4.3 Cianobacterias</b> .....	<b>11</b>
4.3.1 Definición.....	11
4.3.2 Características .....	11

4.3.3	Importancia.....	12
4.3.4	Clasificación.....	12
4.3.5	Modo de vida.....	13
4.3.6	Modo de acción.....	13
4.3.7	Usos en la agricultura.....	13
4.3.8	Estudios científicos sobre la diversidad de cianobacterias.....	14
<b>4.4</b>	<b>Técnicas microbiológicas .....</b>	<b>14</b>
4.4.1	Aislamiento de microorganismos.....	14
4.4.2	Medios de cultivo.....	15
4.4.3	Métodos para la caracterización taxonómica de microorganismos.....	15
4.4.4	Crioconservación de microorganismos.....	16
<b>5.</b>	<b>Metodología .....</b>	<b>17</b>
<b>5.1</b>	<b>Área de estudio.....</b>	<b>17</b>
5.1.1	Fase de campo.....	17
5.1.2	Fase de laboratorio.....	17
<b>5.2</b>	<b>Metodología general.....</b>	<b>17</b>
5.3	Metodología para el primer objetivo: Aislar las microalgas y cianobacterias provenientes de agua del cultivo de arroz del cantón Macará.....	18
5.4	Metodología para el segundo objetivo: Caracterizar a nivel taxonómico las microalgas y cianobacterias provenientes de agua del cultivo de arroz del cantón Macará.....	20
<b>6.</b>	<b>Resultados.....</b>	<b>23</b>
6.1	Aislamiento de microalgas y cianobacterias provenientes de agua del cultivo de arroz del cantón Macará.....	23
6.2	Caracterización a nivel taxonómico de microalgas y cianobacterias aisladas del agua del cultivo de arroz del cantón Macará.....	27
<b>7.</b>	<b>Discusión.....</b>	<b>32</b>
<b>8.</b>	<b>Conclusiones.....</b>	<b>34</b>
<b>9.</b>	<b>Recomendaciones.....</b>	<b>34</b>
<b>10.</b>	<b>Bibliografía.....</b>	<b>35</b>
<b>11.</b>	<b>Anexos.....</b>	<b>40</b>



## Índice de tablas:

<b>Tabla 1.</b>	Clasificación de las microalgas (López-Padrón et al., 2020).....	8
<b>Tabla 2.</b>	Clasificación de las microalgas de acuerdo a la presencia de pigmentos. *También presenta ficobilinas como pigmentos accesorios (Ayala, 2016).....	9
<b>Tabla 3.</b>	Fases del crecimiento y desarrollo de microalgas (Candela, 2016). ....	10
<b>Tabla 4.</b>	Composición química del medio de cultivo F/2 (Guillard, 1975).....	19
<b>Tabla 5.</b>	Composición del medio de cultivo BG11 (Rippka, 1988).....	20
<b>Tabla 6.</b>	Composición del medio de cultivo BG11 <sub>0</sub> . ....	20
<b>Tabla 7.</b>	Interpretación de los valores del índice de Shannon (Magurran, 1988).....	21
<b>Tabla 8.</b>	Interpretación para el índice de Simpson 1-D (Krebs, 1985).....	22
<b>Tabla 9.</b>	Descripción taxonómica de las microalgas y cianobacterias encontradas en el agua del cultivo de arroz del cantón Macará.....	28

## Índice de figuras:

<b>Figura 1.</b>	Taxonomía de las cianobacterias según Komárek (2016). .....	12
<b>Figura 2.</b>	Ubicación geográfica del sitio de colecta de las muestras (Loaiza, 2016). .....	17
<b>Figura 3.</b>	Crecimiento de las muestras de agua del arrozal de Macará A) en medios sólidos, en el recuadro rojo se muestran las cajas de BG11 con crecimiento; B) en medios líquidos.....	23
<b>Figura 4.</b>	Colonias obtenidas en el primer aislamiento vistas macroscópicamente. A) Colonia 1. B) Colonia 2. C) Colonia 3. D) Colonia 4. E) Colonia 5. F) Colonia 6. G) Colonia 7. H) Colonia 8. I) Colonia 9. J) Colonia 10. K) Colonia 11. L) Colonia 12. M) Colonia 13. N) Colonia 14. O) Colonia 15. P) Colonia 16.....	24
<b>Figura 5.</b>	Colonias obtenidas en el primer aislamiento vistas microscópicamente a 40 x. A) Colonia 2. B) Colonia 3. C) Colonia 4. D) Colonia 5. E) Colonia 6. F) Colonia 7. G) Colonia 8. H) Colonia 9. I) Colonia 10. J) Colonia 11. K) Colonia 12. L) Colonia 13. M) Colonia 14. N) Colonia 15. O) Colonia 16.....	25
<b>Figura 6.</b>	Colonias puras obtenidas en el segundo aislamiento vistas microscópicamente a 40 x. A) Colonia 1. B) Colonia 2. C) Colonia 3. D) Colonia 4. E) Colonia 5. F) Colonia 6. G) Colonia 7. H) Colonia 8. I) Colonia 9. J) Colonia 10. K) Colonia 11. L) Colonia 12. M) Colonia 13. N) Colonia 14. O) Colonia 15. P) Colonia 16. Q) Colonia 17. R) Colonia 18. S) Colonia 19. T) Colonia 20. U) Colonia 21. V) Colonia 22. W) Colonia 23. ....	27
<b>Figura 7.</b>	Composición porcentual de microalgas y cianobacterias aisladas del agua de arroz del cantón Macará. A) Géneros aislados en el medio BG11. B) Géneros aislados en el medio BG11 <sub>0</sub> . ....	28
<b>Figura 8.</b>	Índice de Diversidad de Shannon de la muestra de agua colectada en el arrozal del cantón Macará cultivada en dos medios de cultivo.....	31
<b>Figura 9.</b>	Índice de Dominancia de Simpson de la muestra de agua colectada en el arrozal del cantón Macará cultivada en dos medios de cultivo.....	31

## Índice de anexos:

<b>Anexo 1.</b> Colecta de muestras en el arrozal.....	40
<b>Anexo 2.</b> Medición del pH de las muestras.....	40
<b>Anexo 3.</b> Muestras etiquetadas.....	40
<b>Anexo 4.</b> Medios de cultivo empleados .....	40
<b>Anexo 5.</b> Centrifugar las muestras líquidas.....	41
<b>Anexo 6.</b> Siembra en medio sólido.....	41
<b>Anexo 7.</b> Cepas aisladas en medios líquidos .....	41
<b>Anexo 8.</b> Proceso de crioconservación de las muestras de microalgas y cianobacterias previamente aisladas.....	41
<b>Anexo 9.</b> Mapa de crioconservación de las microalgas y cianobacterias aisladas de las muestras de agua del arrozal del cantón Macará almacenadas en el Laboratorio de Microbiología Vegetal del Centro de Biotecnología de la UNL. ....	42
<b>Anexo 10.</b> Microalgas aisladas del género <i>Ecdysichlamys</i> . <b>A)</b> <i>Ecdysichlamys</i> morfotipo 1: célula solitaria. <b>B)</b> <i>Ecdysichlamys</i> morfotipo 1: duplicaciones de células jóvenes. <b>C)</b> <i>Ecdysichlamys</i> morfotipo 2: célula solitaria. <b>D)</b> <i>Ecdysichlamys</i> morfotipo 2: grupos de células. <b>E)</b> <i>Ecdysichlamys</i> morfotipo 3: célula solitaria. <b>F)</b> <i>Ecdysichlamys</i> morfotipo 3: grupos de células. ....	42
<b>Anexo 11.</b> Microalgas aisladas del género <i>Chlorella</i> sp. <b>A)</b> Célula solitaria. <b>B)</b> Grupos de células (colonia).....	43
<b>Anexo 12.</b> Microalgas aisladas del género <i>Raphidocelis</i> sp. <b>A)</b> Célula solitaria. <b>B)</b> Pequeña colonia. ....	43
<b>Anexo 13.</b> Microalgas aisladas del género <i>Closterium</i> sp. <b>A)</b> Célula solitaria. <b>B)</b> Grupos de células (colonia).....	43
<b>Anexo 14.</b> Microalga del género <i>Chlorococcum</i> sp.....	44
<b>Anexo 15.</b> Cianobacterias del género <i>Anabaena</i> sp. <b>A)</b> Filamento solitario. <b>B)</b> Agrupación de filamentos. ....	44
<b>Anexo 16.</b> Cianobacterias del género <i>Pseudanabaena</i> sp. <b>A)</b> Aglomerados. <b>B)</b> Filamentos solitarios.....	44
<b>Anexo 17.</b> Certificación de traducción del resumen .....	45

## **1. Título**

**Diversidad de microalgas y cianobacterias provenientes de agua del cultivo de arroz del cantón Macará.**

## 2. Resumen

Los arrozales son ecosistemas ricos que albergan variadas especies, entre ellas están las microalgas y cianobacterias las cuales contribuyen significativamente a la fertilización del cultivo, debido a que tienen la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico y carbono al suelo. El presente trabajo tuvo como objetivo registrar la diversidad de microalgas y cianobacterias procedentes del cultivo de arroz del cantón Macará. Las muestras de agua fueron colectadas de forma aleatoria en el arrozal y se las transportaron hasta el Laboratorio de Microbiología Vegetal para iniciar con el aislamiento donde se emplearon tres medios de cultivo: F/2, BG11 y BG11<sub>0</sub>. Las muestras fueron sembradas tanto en medios de cultivo líquidos como sólidos. Para la siembra en medios líquidos se utilizó tubos de ensayo con 10 ml de muestra madre, los cuales se mantuvieron a 20 °C con un fotoperiodo de 12 horas. Cuando tenían 14 días se centrifugó el cultivo y se sembró el pellet en medio sólido realizando la siembra por estría cruzada. Se aislaron inicialmente 15 cepas en medio BG11 sólido, donde solo se consiguió la purificación de 3. En el segundo aislamiento en medio BG11 líquido se obtuvo 23 cepas puras de las cuales 22 corresponden a microalgas y 1 a cianobacteria. Se realizó la identificación taxonómica en base a la morfología empleando claves taxonómicas donde se identificaron los géneros: *Ecdysichlamys*, *Chlorella*, *Closterium*, *Pseudanabaena* y *Raphidocelis*, y se determinó que el género con mayor presencia fue *Chlorella*. En el medio BG11<sub>0</sub> líquido se identificaron cuatro cepas, una de microalga (*Chlorococcum*) y tres de cianobacteria (2 *Pseudanabaena* y 1 *Anabaena*).

**Palabras claves:** *Microalgas, cianobacterias, diversidad, arroz, Chlorella, y Anabaena.*

## **Abstract**

Rice fields are rich ecosystems that host various species, among them are microalgae and cyanobacteria, which contribute significantly to the fertilization of the crop, because they have the capacity to fix atmospheric nitrogen and carbon to the soil. The objective of this research work was to record the diversity of microalgae and cyanobacteria from rice cultivation in the Macará canton. The water samples were collected randomly in the rice field and transported to the Plant Microbiology Laboratory to begin the isolation where three culture media were used: F/2, BG11 and BG11<sub>0</sub>. The samples were grown in both liquid and solid culture media. For seeding in liquid media, test tubes with 10 ml of mother sample were used, which were maintained at 20 °C with a photoperiod of 12 hours. When they were 14 days old, the cultivation was centrifuged and the pellet was sown on solid medium, sowing by cross-striation. 15 strains were initially isolated in solid BG11 medium, where only 3 got purified. In the second isolation in liquid BG11 medium, 23 pure strains were obtained, of which 22 correspond to microalgae and 1 to cyanobacteria. The taxonomic identification was carried out based on morphology using taxonomic keys where the genera were identified: *Ecdysichlamys*, *Chlorella*, *Closterium*, *Pseudanabaena* and *Raphidocelis*, and it was determined that the genus with the greatest presence was *Chlorella*. In the liquid BG11<sub>0</sub> medium, four strains were identified, one of microalgae (*Chlorococcum*) and three of cyanobacteria (2 *Pseudanabaena* and 1 *Anabaena*).

**Keywords:** *Microalgae, cyanobacteria, diversity, rice, Chlorella, and Anabaena.*

### 3. Introducción

El arroz (*Oriza sativa* L.) es el cultivo de mayor importancia en el mundo después del trigo y el alimento básico para la mitad de la población mundial (Escalante-Vargas, 2014). De acuerdo con la Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua la superficie sembrada y cosechada de arroz a nivel nacional para el año 2022 fue de 343 061 ha y 337 823 ha respectivamente; la mayor producción se concentra en la provincia del Guayas con el 63 %, seguido de Los Ríos y Manabí (ESPAC, 2022).

Los arrozales son catalogados como ecosistemas ricos que albergan una gran diversidad de flora y fauna en las diferentes etapas del cultivo por la presencia de agua constante (Salinas et al., 2022). Las microalgas y cianobacterias componen uno de los principales grupos de la microbiota que están presentes en los campos destinados al cultivo de arroz, los cuales contribuyen significativamente a la fertilización, debido a que tienen la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico y carbono al suelo (Vanegas y Hernández-Benítez, 2018).

Las microalgas y cianobacterias tienen varios usos y aplicaciones en campos diversos como la biotecnología, la producción de biocombustibles, la producción de sustancias bioactivas y en la agricultura como agroquímicos o bioestimulantes (Almeida-Portero, 2014). Por lo que es importante su correcta identificación y caracterización debido a su papel fundamental como productoras primarias en la cadena trófica, así como por sus potenciales usos en diferentes industrias (Bou et al., 2011). De tal manera, se pueden realizar estudios más completos relacionados con el aislamiento, conservación, identificación taxonómica y caracterización, así como también la creación de colecciones vivas de microalgas y cianobacterias que permitan la selección de cepas que pueden ser aprovechadas en diferentes campos (Morales et al., 2013).

En Ecuador, la mayoría de las investigaciones publicadas han evaluado fenómenos específicos de contaminación ambiental en torno a estos microorganismos, pero su caracterización ha sido omitida. Por otro lado, la limitada especialización en el área de Ficología en el país no facilita la confiabilidad y la disponibilidad de los resultados obtenidos mediante la información publicada (Clavijo, 2021).

El presente proyecto de investigación pretende demostrar la importancia de registrar la biodiversidad de microalgas y de cianobacterias procedentes del cultivo de arroz del cantón Macará, así como la necesidad de reportar la existencia de taxones observados, de esta manera, la diversidad encontrada puede ser de utilidad para el aislamiento de nuevas cepas que presenten un potencial bioactivo para la agricultura.

El proyecto se relaciona con el objetivo de Desarrollo Sostenible ODS 2020-2030 Vida de Ecosistemas Terrestres, ya que se enfoca en detener la pérdida de biodiversidad de los microorganismos, mediante la conservación y uso sostenible. Asimismo, tiene estrecha relación con la línea de investigación institucional “Sistemas Agropecuarios Sostenibles para la Soberanía Alimentaria” y se encuentra inmerso dentro de la línea de investigación de la carrera de agronomía “Fitomejoramiento, Biotecnología y Conservación de los Recursos Genéticos”. Adicionalmente, forma parte del Proyecto Institucional “Bioproducto mixto con microorganismos benéficos para su aplicación en cultivos hortícolas” desarrollado por la carrera de agronomía.

Bajo este contexto se pretende mediante la realización del presente proyecto investigativo resolver la siguiente interrogante: ¿Cuál es la diversidad de microalgas y cianobacterias que interactúan con el cultivo de arroz del cantón Macará?

Para el cumplimiento del propósito de la investigación, se plantearon los siguientes objetivos:

#### **Objetivo general**

Identificar la diversidad de microalgas y cianobacterias provenientes de agua del cultivo de arroz en el cantón Macará.

#### **Objetivos específicos**

- Aislar microalgas y cianobacterias provenientes de agua del cultivo de arroz del cantón Macará.
- Caracterizar a nivel taxonómico las microalgas y cianobacterias provenientes de agua del cultivo de arroz del cantón Macará.



## 4. Marco teórico

### 4.1 El cultivo de arroz

#### 4.1.1 Taxonomía

El arroz pertenece a la división *Magnoliophyta*, clase *Liliopsida*, orden *Poales*, familia *Poaceae* y tribu *Oryzaceae*. Las especies cultivadas son *Oryza sativa* L. y *Oryza glaberrima* Steud, ambas de reproducción autógama. El género *Oryza* tiene más de 24 especies silvestres que crecen en regiones inundadas, semi-sombreadas y bosques en el sureste asiático, Austria, África, Sur y Centro América (Acevedo et al., 2006).

#### 4.1.2 Importancia

Cerca del 40 % de la población mundial depende del arroz y es una gran parte de la porción calórica en la dieta humana. Entre las características de esta gramínea destacan la cantidad moderada de carbohidratos y el importante aporte de azúcares, su bajo costo y propiedades nutricionales la convierten en un componente fundamental de la seguridad alimentaria (Mendoza-Avilés et al., 2019). En Ecuador es la principal fuente alimenticia y forma parte de la dieta básica de los habitantes, los 53,2 kg por habitante de consumo anual definen la magnitud de su importancia frente a países vecinos como Colombia y Perú que consumen anualmente 40 kg y 47,4 kg por habitante, respectivamente. Además, es uno de los cultivos que aporta significativamente a la economía del país, genera miles de empleos directos e indirectos a lo largo de la cadena productiva (Viteri-Viteri y Zambrano, 2016).

#### 4.1.3 Producción

El arroz se cultiva en 100 países del globo terráqueo principalmente en Asia (China, India e Indonesia) donde producen el 60 % de la producción mundial. De los 756 millones de toneladas (t) de arroz con cáscara producidas (501 t base arroz pulido) en 2019, aproximadamente 680 t (451 t de arroz pulido) fueron cosechadas en Asia (Paredes et al., 2021).

En Ecuador, el arroz es el cultivo más extenso, ocupa más de la tercera parte de la superficie de productos transitorios del país. La producción de arroz en el 2021 fue de 1,50 millones de toneladas con una variación interanual positiva del 12,55 %. En el país existen variedades de arroz como INIAP-17, cuyo rendimiento puede superar los 4 000 kg ha<sup>-1</sup> en condiciones experimentales óptimas de manejo. Sin embargo, aún es bajo si se le compara con el obtenido en países como Brasil bajo condiciones experimentales similares, donde se obtienen 7 000 kg ha<sup>-1</sup> (Zambrano et al., 2019).

En Macará se producen 5 896,8 kg ha<sup>-1</sup> rendimiento que supera la media a nivel nacional que es de 4 989,6 kg ha<sup>-1</sup>, la mayor parte son agricultores que disponen entre dos a cuatro

hectáreas de cultivo de arroz. En el cantón existen unos 400 cultivadores de este grano y juntos producen 130 000 qq al año (Quito, 2017).

## **4.2 Microalgas**

### **4.2.1 Definición**

Son microorganismos eucariotas unicelulares o multicelulares, autótrofos, heterótrofos o mixotróficos, capaces de convertir la energía solar y sintetizar compuestos de carbono mediante la fijación del CO<sub>2</sub> (Colorado et al., 2013).

### **4.2.2 Características de las microalgas**

- Se caracterizan por suplir la demanda energética diaria mediante la recepción de energía lumínica en un régimen de fotoperiodos de luz y oscuridad. Durante la fase lumínica producen ATP y NADPH, en cambio en ausencia de luz sintetizan moléculas esenciales para el crecimiento (Ayala, 2016).
- Su tamaño varía entre 1 µm y 2 mm de diámetro y se encuentran ampliamente distribuidas en los diversos ecosistemas acuáticos (Ayala, 2016).
- Su diversidad es tan grande que se calcula la existencia de más de 100 000 especies, de las cuales 40 000 han sido identificadas (Ayala, 2016).

### **4.2.3 Importancia**

Reciclan eficientemente contaminantes desde medios líquidos y gaseosos, y los incorporan a su metabolismo para generación de biomasa. Para producir un kg de biomasa seca necesitan como mínimo 1,88 kg CO<sub>2</sub>. Por lo tanto, las microalgas son una opción importante para mitigar el CO<sub>2</sub> debido a que son los mayores biofijadores del planeta. También, se emplean para el tratamiento de aguas residuales para eliminar metales pesados o compuestos tóxicos orgánicos (Santos et al., 2014).

En los años 50 comenzaron a cultivar microalgas en forma masiva para obtener lípidos y proteínas, y poder reemplazar a las proteínas animales y vegetales convencionales para consumo directo del ganado y del ser humano. Las microalgas poseen concentraciones de nutrientes poco comunes, las cuales son superiores a las observadas en cualquier especie de planta superior. El contenido en proteína de algunas algas es por término medio 65 % en base seca de la biomasa algal, superior al de otros alimentos naturales. Representan una importante reserva de ácidos grasos, omega-3 y de aceites vegetales, algunas de ellas pueden producir 136 900 litros de aceite por ha (Colorado et al., 2013).

#### 4.2.4 Clasificación

Las microalgas se pueden dividir en cinco grupos (Tabla 1).

**Tabla 1.** Clasificación de las microalgas.

Tipo de microalga	Características
<b>Filo-pirrófitas (dinoflagelados)</b>	En su mayoría son unicelulares, que tienen dos flagelos de longitud distinta. La célula se encuentra desnuda o va provista de una cubierta más o menos dura. Presentan forma de vida parasitaria o depredadora.
<b>Filo-crisófitas</b>	Conocidas como algas amarillas, son organismos unicelulares o pluricelulares que se reúnen en colonias. Su característica principal es la presencia de cromatóforos con pigmentos de color amarillo que les confieren un aspecto dorado. Son de morfología variable con flagelos y sin ellos y en algunos casos se mueven por rizópodos. Siempre se reproducen vegetativamente.
<b>Filo-euglenófitas</b>	Algas de estructura muy sencilla, cuya característica más significativa es la presencia de una mancha de pigmento fotosensible. Disponen de uno o dos flagelos, lo que les permite cambiar su forma y se multiplican por división longitudinal.
<b>Filo-bacilariofitas (diatomeáceas)</b>	Son las conocidas diatomeas. Son formas solitarias que forman colonias estrelladas.
<b>Cianofíceas</b>	Conocidas como algas verde-azules (cianobacterias), son un tipo de bacterias fotosintetizadoras. Pueden resistir condiciones extremas de salinidad, temperatura y pH, porque producen envolturas mucilaginosas que las aíslan del medio ambiente externo cuando ocurren cambios bruscos.

**Fuente:** (López-Padrón et al., 2020).

De acuerdo a la presencia o ausencia de pigmentos, las microalgas pueden ser clasificadas en tres grandes grupos: aquellos que presentan clorofila a y b (algas verdes/*Chlorophytes*), las que presentan clorofila a y ficobilinas (algas rojas/*Rhodophytes*) y las que tienen clorofila a y c (algas pardas-amarillas/*Chromophytes*), las últimas al ser un grupo polifilético se encuentra subdividido en cuatro taxones: *Haptophytas*, Dinoflagelados, *Cryptophytas* y algas heterocontas o *Xanthophytas* (Tabla 2) (Ayala, 2016).

**Tabla 2.** Clasificación de las microalgas de acuerdo con la presencia de pigmentos. \*También presenta ficobilinas como pigmentos accesorios.

	<b>Microalgas</b>
<b>Clorofila a y b</b>	<i>Chlorophytes</i> <i>Chlorarachniophytes</i> <i>Euglenophytes</i>
<b>Clorofila a y ficobilinas</b>	<i>Rhodophytes</i> <i>Glaucophytes</i>
<b>Clorofila a y c</b>	<i>Cryptophytes*</i> <i>Haptophytes</i> <i>Heterokont algae</i> <i>Bacillariophytes</i> <i>Chrysophytes</i> <i>Dictyochophytes</i> <i>Eustigmatophytes</i> <i>Pelagophytes</i> <i>Phaeothamniophytes</i> <i>Raphidophytes</i> <i>Synurophytes</i> <i>Xhantophytes</i>

**Fuente:** (Ayala, 2016).

#### 4.2.5 *Modo de vida*

Las microalgas están presentes en todos los cuerpos de agua como: lagos, estanques, ríos y mares. Además, se encuentran en el suelo y en la mayoría de ambientes terrestres incluso en aquellos con condiciones extremas, lo que les permite crear ciertas características para adaptarse a una gran cantidad de ambientes (Guamán y González, 2016).

Las microalgas se reproducen comúnmente de forma vegetativa o asexual en la que una célula forma dos células vegetativas hijas idénticas por división celular. Otros tipos de reproducción asexual ocurren por fragmentación o por la producción de esporas, llamadas zoosporas si poseen flagelo y aplanosporas o autoesporas si no son flageladas. Por otro lado, la reproducción sexual involucra la combinación de gametos, de dos organismos de la misma especie, que tienen generalmente diferentes morfologías y dimensiones (isogamia, anisogamia, oogamia según la especie) (Braidá et al., 2015).

En la tabla 3 se puede evidenciar las cinco fases principales en cuanto al crecimiento y desarrollo de las microalgas.

**Tabla 3.** Fases del crecimiento y desarrollo de microalgas.

Fase	Duración	Características
<b>Inducción</b>	1 – 3 días	Comienza la absorción de nutrientes por parte de las células, además del proceso de adaptación al medio ambiente en el que se han desarrollado. En este estado, las células no tienden a dividirse, debido a que no existe todavía un contexto apropiado para este proceso, pues aún es necesario que se den ajustes en cuanto a las condiciones bioquímicas de los cultivos.
<b>Exponencial</b>	4 días	Se inicia cuando las células ya han logrado adaptarse, durante esta fase la división celular es mucho más rápida que en el resto de las fases.
<b>Estacionaria</b>		La población algal se vuelve constante, sin llegar a aumentar. Su duración tiende a ser demasiado corta como para ser perceptible.
<b>Declinación relativa del crecimiento</b>	1 – 2 días	Durante esta fase disminuye la división celular, pues se dan factores desfavorables en los cultivos, además de agotamiento de los nutrientes, desajustes en el pH, disminución de irradiaciones solares, entre otros.
<b>Muerte</b>		Por el aumento en el número de bacterias, hongos y espumas presentes en el cultivo, las condiciones comienzan a hacerse cada vez más desfavorables para el desarrollo de microalgas. Se produce, pues, la muerte del cultivo.

**Fuente:** (Candela, 2016).

#### 4.2.6 Usos en la agricultura

Se han utilizado como biofertilizantes y bioestimulantes en el mundo, para aumentar el crecimiento y el rendimiento de las plantas. Existen aproximadamente 50 000 tipos diferentes de especies de microalgas presentes en océanos y agua dulce (lagos, estanques y ríos), entre estas especies, solo 30 000 han sido estudiadas. Numerosas investigaciones indican que las microalgas contienen algunas sustancias que promueven el crecimiento de las plantas, como las auxinas, citoquininas, betaínas, aminoácidos, vitaminas y poliaminas. Proveen recursos promisorios como ácidos grasos, esteroides, carotenoides, polisacáridos, y pueden contener cantidades importantes de giberelinas y brasinoesteroides. Los aminoácidos contenidos en las microalgas son un bioestimulante con efectos positivos sobre el crecimiento de las plantas y el rendimiento de los cultivos, además pueden contribuir a mitigar las lesiones causadas por el estrés abiótico. Las microalgas además pueden estar compuestas por micro y macronutrientes, especialmente N, P y K por lo que podría considerarse como un fertilizante orgánico de liberación lenta (Pérez-Madruga et al., 2020).

#### 4.2.7 Estudios científicos sobre la diversidad de microalgas

Morales et al. (2013) estudiaron la diversidad, identificación y aislamiento de microalgas y cianobacterias a partir de muestras de aguas continentales, termales, salobres y lodos; colectadas en sectores de las provincias del Carchi, Guayas, Imbabura, Pichincha y Santa Elena (Ecuador). De 194 muestras evaluadas, fueron aislados el 43,81 % de microalgas y cianobacterias; donde los taxones más susceptibles de ser aislados son: *Chlorella*,

*Desmodesmus* y *Leptolyngbya*. En cambio, se mantuvo el 56,19 % como consorcios o cultivos mixtos de microalgas y cianobacterias, de los cuales se cuantificaron 14 cultivos solo con cianobacterias, 40 solo entre microalgas y 55 mixtos (31 y 18 taxones de microalgas y cianobacterias, respectivamente). Los taxones más frecuentes en los consorcios microalga-microalga fueron: *Chlorella* sp., *Desmodesmus* sp., *Navicula* sp.; en los cianobacteria-cianobacteria: *Leptolyngbya* sp., *Calothrix* sp., *Nostoc* sp. y en los microalga-cianobacteria: *Leptolyngbya* sp., *Navicula* sp., *Chlorella* sp., *Desmodesmus* sp. y *Calothrix* sp.

En otra investigación sobre las microalgas que habitan en cuerpos de agua acidófilos, someros al interior del Parque Katalapi en Chile. Se identificaron 80 taxones basados en atributos morfológicos, donde el grupo *Streptophyta-Zygnematophyceae* fue el más abundante con dominancia de *Desmidiaceae* (47 especies), seguido por *Cyanobacteria* (14), *Euglenophyceae* (12), *Chlorophyta-Chlorophyceae* (5), y *Dinophyceae* y *Ochrophyta-Raphidophyceae* con un taxón cada grupo. Los géneros con el mayor número de especies fueron *Cosmarium* (12), *Closterium* (11) y *Staurastrum* (8) (González et al, 2019).

### **4.3 Cianobacterias**

#### **4.3.1 Definición**

Son llamadas cianófitas o algas azul-verdes, representan una de las formas de vida más antiguas del planeta. Son organismos fotoautótrofos procariontes, lo que significa que utilizan la luz como fuente de energía y fijan dióxido de carbono como única fuente de carbono (López-Cortés et al., 2018).

#### **4.3.2 Características**

- Las cianobacterias poseen pigmentos fotosintéticos como la clorofila a, carotenoides y las ficobilinas (presentes solo en cianobacterias y algunas algas, compuestas por aloficocianinas o ficocianinas responsables de concederles el color azul que las caracteriza) (Ayala, 2016).
- La fuente principal de reserva de carbono es el glucógeno, el cual lo acumulan mediante el ciclo oxidativo de las pentosas fosfato en el que interviene la enzima Rubisco (esencial para la fijación de carbono inorgánico) (Ayala, 2016).
- La fijación de nitrógeno atmosférico lo realizan mediante la enzima nitrogenasa localizada en los heterocistos o lo incorporan a su metabolismo en forma de ion amonio (Ayala, 2016).

- La mayoría de las cianobacterias presentan una vaina mucilaginosa en su membrana externa, la cual está constituida por polisacáridos y representa una ventaja evolutiva contra la desecación, además de favorecer la formación de agregados celulares (Ayala, 2016).

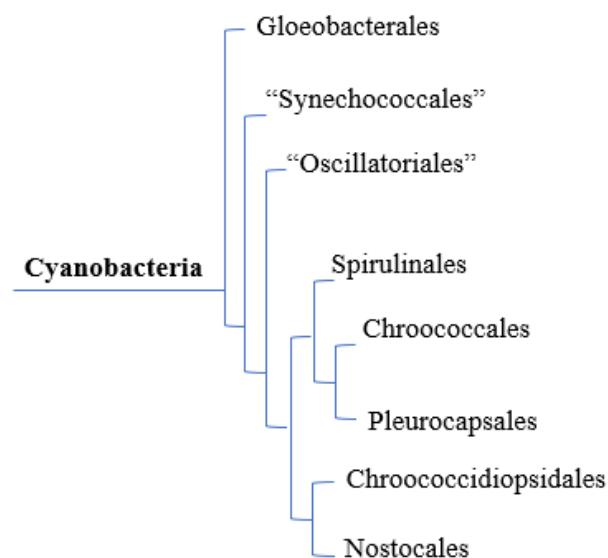
### 4.3.3 Importancia

Son un importante eslabón del ecosistema global, y contribuyen con más del 30 % del oxígeno liberado a la atmósfera cada año. Su capacidad de incorporar CO<sub>2</sub> al ciclo de Calvin, pero también mediante otros procesos mediados por otras enzimas, implica que son unos organismos que pueden ser utilizados para secuestrar CO<sub>2</sub> de la atmósfera (Peleato, 2011). Son reconocidas por ser indicadoras de cambios en las condiciones ambientales asociadas a elevadas concentraciones de fosfatos y amonio y altas temperaturas (Estrada y Menjívar, 2013).

Por otro lado, las cianobacterias constituyen una fuente excelente de aminoácidos, vitaminas, enzimas y ácidos grasos poliinsaturados, por lo que son utilizadas como suplemento dietario. Un ejemplo de ello es el género *Nostoc* que es utilizado en comunidades nativas de Tailandia, Perú, Bolivia, China, Ecuador, Fiji, Java, Japón, Mongolia y Siberia, donde se aprecian sus grandes propiedades nutricionales y su alto contenido proteico. Asimismo, la biomasa cianobacteriana se emplea para la alimentación de peces, crustáceos, aves de corral y ganado (Rosso y Giannuzzi, 2011).

### 4.3.4 Clasificación

Las cianobacterias son un grupo muy heterogéneo, y responde más a criterios didácticos que sistemáticos. En la figura 1 se puede apreciar la clasificación de estas.



**Figura 1.** Cladograma de la clasificación taxonómica de las cianobacterias según Komárek (2016).

#### **4.3.5 *Modo de vida***

Las cianobacterias son únicas en tener una distribución cosmopolita que va desde las pozas termales hasta las regiones árticas. Por lo tanto, las cianobacterias colonizan océanos, ríos, suelos, pozas termales y también se encuentran en simbiosis con hongos y plantas lo que demanda de una gran variabilidad para adaptarse a factores ambientales diversos (Rivas, 2005). La adaptación a distintos hábitats se debe a la capacidad que tienen estos organismos de diferenciar sus células vegetativas en células altamente especializadas. Un ejemplo de ello es la formación de heterocistos en ausencia de ion amonio, este tipo de célula les permite fijar con alta eficiencia el N atmosférico. De la misma forma, pueden dar lugar a la formación de acinetos cuando las condiciones ambientales son hostiles, estas estructuras de resistencia les permiten sobrevivir largos períodos hasta que las condiciones ambientales favorezcan su germinación. Así mismo, la formación de hormogonios (estructuras móviles) contribuyen en la dispersión y reproducción de estos microorganismos (Ayala, 2016).

#### **4.3.6 *Modo de acción***

Son los únicos procariontes que realizan una fotosíntesis oxigénica (que libera oxígeno), en la que los dos procesos de la fotosíntesis están conectados en serie. Muchas de las especies de cianobacterias de vida libre y simbiontes de líquenes fijan nitrógeno atmosférico y pueden ser contribuyentes significativos en muchos ecosistemas. Sin embargo, las tasas de fijación de nitrógeno están limitadas por la disponibilidad de agua y la pérdida de este por la volatilización y desnitrificación, que es un proceso microbiano que transforma los nitratos ( $\text{NO}_3$ ) en nitrógeno gaseoso y que involucra al menos tres pasos enzimáticos. La actividad fotosintética de las cianobacterias y su eventual capacidad de fijar nitrógeno atmosférico incrementan el contenido de C y N del suelo, influyendo probablemente en los ciclos biogeoquímicos locales de esos nutrientes (López-Cortés et al., 2018).

#### **4.3.7 *Usos en la agricultura***

El uso de cianobacterias en la agricultura presenta múltiples ventajas, pues son capaces de producir reguladores de crecimiento como auxinas, ácido indolacético, citoquininas y giberelinas, así como de aumentar la disponibilidad de fósforo por medio de la emisión de ácidos orgánicos, la producción de fosfatasas extracelulares, y algunas de fijar nitrógeno. Producen una amplia variedad de metabolitos secundarios con actividad antiviral, antibacterial y antifúngica. Las cianobacterias han sido tradicionalmente utilizadas en Asia como fertilizantes naturales en campos de arroz, ya sea en forma de vida libre o en simbiosis con una especie de un helecho llamado *Azolla* (Salazar et al., 2020). En Ecuador, por ejemplo, se ha



demostrado que la especie *Spirulina platensis* es un sustrato apto para la elaboración de biofertilizantes con aplicabilidad en cultivos, sin embargo, al ser de las pocas especies investigadas en el país, su precio se eleva 25 por ciento más en la venta de mercado (Basilio, 2021).

#### **4.3.8 Estudios científicos sobre la diversidad de cianobacterias**

Hernández-Benítez et al. (2018) realizaron un estudio para conocer la diversidad de cianobacterias de cultivos de arroz de la Guajira en Colombia, donde llevaron a cabo aislamientos en medio BG11. Mediante observación microscópica identificaron las siguientes cianobacterias: *Gloeocapsa* sp, *Chlorella* sp, *Scenedesmus quadricauda*, *Scenedesmus obliquus*, *Anabaena* sp, *Chroococcus* sp, *Aphanocapsa* sp, *Microcystis* sp, *Pseudoanabaena* sp, *Golenkinia* sp, *Oscillatoria limosa*, *Oscillatoria amphibia*, *Spirogyra* sp y *Oedogonium* sp.

Dey et al. (2010) reportaron la presencia en cultivos de arroz de la India 58 taxones, 19 cianobacterias eran formadoras de heterocistos y 39 no formadoras de heterocistos. La cianobacteria más abundante fue *Oscillatoria chalybea* (9,90 %) seguida por *Oscillatoria subbrevis* (8,96 %), *Phormidium purpurascens* (8,49 %), *Cylindrospermum muscicola* (8,01 %), *Oscillatoria clorina* (8,01 %), *Anabaena constricta* (5,66 %), *Oscillatoria princeps* (5,18 %) y *Oscillatoria animalis* (4,71 %).

Mediante observaciones microscópicas Srivastava et al. (2009) encontraron que las comunidades de cianobacterianas en arroz pertenecían a los géneros *Anabaena*, *Nostoc*, *Aulosira*, *Cylindrospermum*, *Gloeotrichia*, *Rivularia* y *Tolypothrix* del orden *Nostocales*; *Oscillatoria*, *Lyngbya* y *Phormidium* de las *Oscillatoriales*; *Fischerella* y *Hapalosiphon* de *Stigonematales*; y *Aphanothece* y *Gloeothece* de los *Chroococcales*.

### **4.4 Técnicas microbiológicas**

#### **4.4.1 Aislamiento de microorganismos**

En los diferentes ambientes los microorganismos crecen en poblaciones mixtas y complejas que contienen varias especies, y dan origen a cultivos mixtos cuando un inóculo es transferido a un medio de cultivo. Es imposible estudiar adecuadamente un único tipo de microorganismo en un cultivo mixto, por lo cual se hace necesario obtener uno o varios cultivos puros para caracterizar ya sea una o varias especies que contenga el inóculo (Rivas-Zúñiga y Giraldo, 2021).

Hay varios métodos de aislamiento entre los generales se incluye la dilución seriada de la muestra en medio líquido o sólido, el estriado en agar; los métodos intermedios usan una

micropipeta de vidrio para separar células, y entre los muy especializados se encuentra la citometría de flujo (Vilchis et al., 2016).

#### **4.4.2 Medios de cultivo**

Un medio de cultivo es un conjunto de nutrientes, factores de crecimiento y otros componentes que crean las condiciones necesarias para el desarrollo de los microorganismos. La diversidad metabólica de los microorganismos es muy amplia por ello, la variedad de medios de cultivo es también muy grande. Los medios de cultivo se clasifican de la siguiente manera (Berríos y Ilabaca, 2018):

- **Medios selectivos:** permiten crecer un solo tipo de microorganismos, inhibe el desarrollo de otros.
- **Medios diferenciales o indicadores:** permite identificar una actividad metabólica por cambio de estado o color de un determinado microorganismo.
- **Medios de transporte:** traslada muestras biológicas y las mantiene viables.
- **Medios enriquecidos:** proporciona nutrientes, condiciones ambientales y favorecen el desarrollo de un microorganismo en particular.

#### **4.4.3 Métodos para la caracterización taxonómica de microorganismos**

Los métodos para determinar la identificación taxonómica pueden ser con base en su morfología y/o su información genética por análisis moleculares (Bou et al., 2011).

##### ➤ **Características microscópicas**

El estudio microscópico en fresco y tras tinción revela la forma, la manera de agruparse, la estructura de las células y su tamaño. Las tinciones son el primer paso, y ocasionalmente el único para la identificación bacteriana. Las tinciones más utilizadas e imprescindibles son la del azul de metileno y la de Gram. Estos son algunos de los términos utilizados para preparaciones teñidas (Bou et al., 2011):

- Tinción: uniforme, irregular, unipolar, bipolar, etc.
- Forma: cocos, bacilos, cocobacilos, filamentosos, bacilos curvos, etc.
- Cápsula: presente o ausente.
- Endosporas: ovales, esféricas, terminales, subterminales.
- Tamaño: cortos, largos, etc.
- Bordes laterales: abultados, paralelos, cóncavos, irregulares.
- Extremos: redondeados, puntiagudos.
- Disposición: parejas, cadenas, tétradas, racimos, etc.
- Formas irregulares: variación en forma y tamaño, ramificados, fusiformes, etc.

### ➤ **Características macroscópicas**

La morfología de las colonias es fundamental en la identificación preliminar y para la diferenciación de los microorganismos. Para la observación morfológica es preferible examinar colonias de cultivos frescos crecidas en medios no selectivos. En la identificación es muy importante el aislamiento en cultivo puro, ya que esta debería estar compuesta por un solo tipo de microorganismos y procedería de una única célula. Las colonias de una única especie, cuando crecen en medios específicos y bajo condiciones idóneas, se describen por sus características de tamaño, forma, consistencia y a veces por su color (Bou et al., 2011).

#### ***4.4.4 Crioconservación de microorganismos***

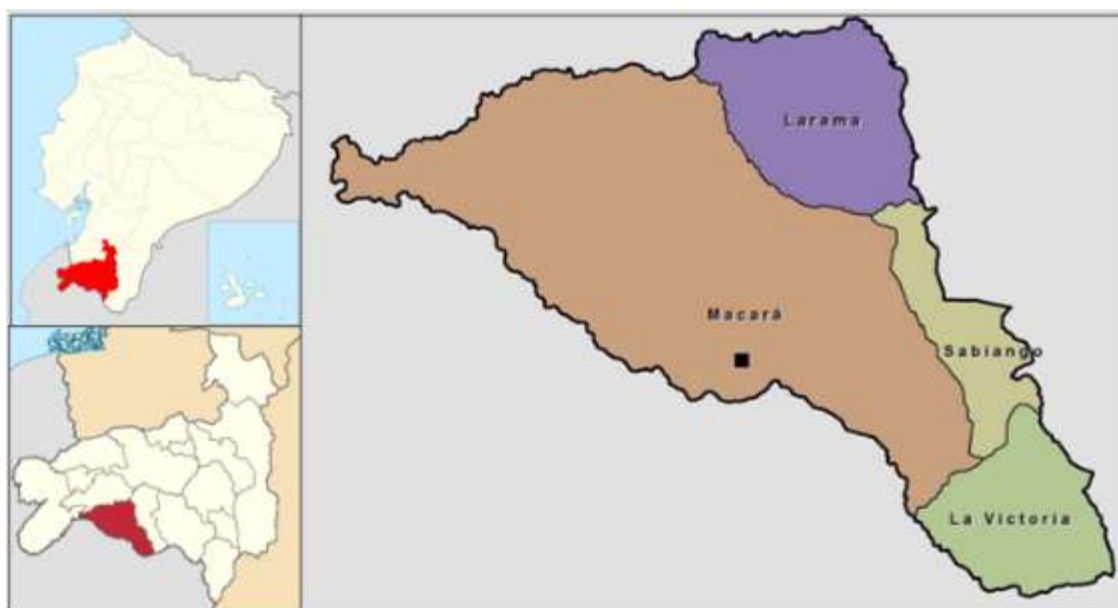
La técnica consiste en congelar células o tejidos a temperaturas generalmente entre  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  (ultracongelación) y  $-190\text{ }^{\circ}\text{C}$  (nitrógeno líquido), lo que permite reducir el metabolismo celular hasta el punto de prácticamente anularlo. Los microorganismos antes de ser congelados son suspendidos en un agente crioprotector, el cual ayuda a mejorar su supervivencia en comparación a si son suspendidos solo en agua. La criopreservación presenta ventajas sobre otros métodos de preservación, por ejemplo, se puede aplicar a la mayoría de los géneros microbianos, reduce el riesgo de contaminación y permite la mantención de los microorganismos a largo plazo (Castro y Ocares, 2020).

## 5 Metodología

### 5.1 Área de estudio

#### 5.1.1 Fase de campo

Las muestras de agua fueron colectadas de un cultivo de arroz del cantón Macará, ubicado al filo de la carretera Panamericana a  $4^{\circ} 23' 4''$  de latitud sur,  $79^{\circ} 57' 28''$  de longitud oeste, y a una altitud de 448 m.s.n.m (Figura 2). En Macará predominan los suelos del orden taxonómico inceptisoles (poco desarrollados) con un 48,62 % mientras que los alfisoles (suelos con horizonte superficial claro, generalmente pobre en materia orgánica o de poco espesor) se encuentran en menor proporción, 31,96 %. El clima del cantón Macará es ecuatorial mesotérmico semihúmedo, con precipitaciones que fluctúan entre 600 mm hasta 1 200 mm anuales, la temperatura mínima es de  $25,5^{\circ}\text{C}$  y máxima de  $30,4^{\circ}\text{C}$  y con una humedad del 68,7 % (Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal del cantón Macará, 2021).



**Figura 2.** Ubicación geográfica del sitio de colecta de las muestras (Loaiza, 2016).

#### 5.1.2 Fase de laboratorio

Se realizó en el laboratorio de Microbiología Vegetal del Centro de Biotecnología de la Universidad Nacional de Loja, el cual está ubicado en la parroquia Punzara, al sur de la ciudad de Loja. Geográficamente se encuentra en las siguientes coordenadas: latitud  $04^{\circ} 03' 74''$  S, longitud  $79^{\circ} 20' 46''$  O y altitud de 2 134 m. s .n. m (Asunción, 2022).

### 5.2 Metodología general

La presente investigación es del tipo no experimental debido a que no se manipuló ninguna variable, pues el estudio se basó en caracterizar la diversidad de microalgas y cianobacterias encontradas en el cultivo de arroz. Por otro lado, tiene un enfoque cualitativo

porque se observaron las características morfológicas de los microorganismos para su caracterización taxonómica. En cuanto al alcance de la investigación, es descriptivo debido a que se describieron los caracteres físicos de las microalgas y cianobacterias.

### **5.3 Metodología para el primer objetivo: Aislar las microalgas y cianobacterias provenientes de agua del cultivo de arroz del cantón Macará.**

#### **Colección y transporte de las muestras**

Las 20 muestras de agua fueron colectadas de forma aleatoria en el arrozal, se tomó 50 ml de agua superficial por muestra y se depositó en recipientes de polipropileno estériles; se les etiquetó de acuerdo con el sitio de colecta, las coordenadas, la fecha de recolección y el pH que fue medido utilizando tiras de pH (Anexo 1, 2 y 3). Una vez recolectadas las muestras de agua fueron homogenizadas, en total se colectó 1000 ml de muestra madre, luego se la transportó hasta el Laboratorio de Microbiología Vegetal del Centro de Biotecnología de la Universidad Nacional de Loja para su procesamiento.

#### **Siembra y aislamiento de muestras en medios de cultivos líquidos y sólidos**

Para el aislamiento se emplearon tres medios de cultivo: F/2 (Tabla 4), BG11 completo (Tabla 5), BG11<sub>0</sub> (Tabla 6), este último se diferencia del medio BG11 completo por la ausencia de nitrógeno en el stock 1, el resto de los componentes son los mismos y se colocaron en las mismas proporciones (Anexo 4). Para la siembra en medios líquidos se utilizaron tubos de ensayo con 10 ml de la muestra madre y el medio en las proporciones correspondientes a 10 ml de volumen final, se realizaron cinco repeticiones de cada medio. Luego se les colocaron tapones de algodón a los tubos y se mantuvieron a una temperatura de 20 °C con fotoperíodo de 12 horas luz dado por lámparas led de luz blanca y 12 horas de oscuridad. Se les dio vórtex todos los días a cada tubo.

A los 14 días cuando los medios líquidos presentaron crecimiento microbiano se realizó la siembra en medios sólidos en cajas de Petri con 6 repeticiones de cada medio, para ello se tomó 1 000 µl de cada muestra proveniente de los tubos y se los colocaron en microtubos previamente etiquetados, luego fueron llevados a la centrífuga durante 5 minutos a 13 000 rpm (Anexo 5). Después se eliminó el sobrenadante, con una micropipeta se tomó el pellet y se lo depositó en la caja de Petri con el medio respectivo y con un asa bacteriológica se esparció la muestra, realizando la siembra por estría cruzada (Anexo 6). Se sometieron las cajas a 20 ° C con fotoperíodo de 12 horas luz y 12 horas oscuridad, cada día fueron monitoreadas para determinar los cambios y la existencia en cuanto a la población. Después del periodo de incubación, se examinó macro y microscópicamente la morfología. Una vez identificadas las

diferentes morfologías coloniales y celulares se obtuvieron los cultivos puros de cada uno de los microorganismos, para ello se sembró una colonia bien aislada de cada tipo en un tubo con medio nutritivo y se incubó (Anexo 7).

**Tabla 4.** Composición química del medio de cultivo F/2.

Componente	Solución madre	Cantidad	Concentración molar en el medio final
NaNO <sub>3</sub>	75 g/L dH <sub>2</sub> O	1 ml	8,82 x 10 <sup>-4</sup> M
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> O	5 g/L dH <sub>2</sub> O	1 ml	3,62 x 10 <sup>-5</sup> M
NaSiO <sub>3</sub> 9H <sub>2</sub> O	30 g/L dH <sub>2</sub> O	1 ml	1,06 x 10 <sup>-4</sup> M
<i>Solución de metales traza</i>			
Componente	Solución primaria	Cantidad	Concentración molar en el medio final
FeCl <sub>3</sub> 6H <sub>2</sub> O	---	3,15 g	1,17 x 10 <sup>-5</sup> M
Na <sub>2</sub> EDTA 2H <sub>2</sub> O	---	4,36 g	1,17 x 10 <sup>-5</sup> M
CuSO <sub>4</sub> 5H <sub>2</sub> O	9,8 g/L dH <sub>2</sub> O	1 ml	3,93 x 10 <sup>-8</sup> M
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> 2H <sub>2</sub> O	6,3 g/L dH <sub>2</sub> O	1 ml	2,60 x 10 <sup>-8</sup> M
ZnSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	22,0 g/L dH <sub>2</sub> O	1 ml	7,65 x 10 <sup>-8</sup> M
CoCl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O	10,0 g/L dH <sub>2</sub> O	1 ml	4,20 x 10 <sup>-8</sup> M
MnCl <sub>2</sub> 4H <sub>2</sub> O	180,0 g/L dH <sub>2</sub> O	1 ml	9,10 x 10 <sup>-7</sup> M
<i>Solución de vitaminas</i>			
Tiamina - HCl (vit. B1)	---	200 mg	2,96 x 10 <sup>-7</sup> M
Biotina (vit. H)	1,0 g/L dH <sub>2</sub> O	1 ml	2,05 x 10 <sup>-9</sup> M
Cianocobalamina (vit. B12)	1,0 g/L dH <sub>2</sub> O	1 ml	3,69 x 10 <sup>-10</sup> M

**Fuente:** (Guillard, 1975).

**Tabla 5.** Composición del medio de cultivo BG11.

Reactivo	Cantidad (g)	Volumen (ml)
<i>Stock I (para 1 L)</i>		
NaNO <sub>3</sub>	150	10 ml/L
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	7	
CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	3,6	
<i>Stock II (para 1L)</i>		
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> · 3H <sub>2</sub> O	4	10 ml/L
EDTA	0,1	
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	2	
<i>Stock III (para 1L)</i>		
Ácido cítrico	0,6	10 ml/L
Citrato de sodio	0,64	
<i>Stock IV (para 1 L)</i>		
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	2,86	1 ml/L
MnCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O	1,81	
ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0,22	
NaMoO <sub>4</sub> · 5H <sub>2</sub> O	0,39	
CuSO <sub>4</sub> · 5H <sub>2</sub> O	0,8	
Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	0,05	
FeCl <sub>3</sub>	0,22	

Fuente: (Rippka, 1988).

**Tabla 6.** Composición del medio de cultivo BG11<sub>0</sub>.

Reactivo	Cantidad (g)	Volumen (ml)
<i>Stock I (para 1 L)</i>		
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	7	10 ml/Litro
CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	3,6	

#### 5.4 Metodología para el segundo objetivo: Caracterizar a nivel taxonómico las microalgas y cianobacterias provenientes de agua del cultivo de arroz del cantón Macará.

Se tuvo en cuenta la morfología de las muestras en las cuales existía crecimiento microalgal, se tomó 1 gota de cada muestra para depositarla directamente sobre un portaobjetos. Se observó en microscopio de luz a magnificación 10X, 40X y 100X y se hizo un registro fotográfico con ayuda del programa Microcam de cada una de las muestras para posteriormente poder usar las claves de clasificación taxonómica: Bicudo y Menezes (2006) para microalgas y cianobacterias, Komárek y Comas (1984) para microalgas.

#### Índices de diversidad: Shannon y Simpson

Uno de los índices más utilizados para cuantificar la biodiversidad específica es el de Shannon, también conocido como Shannon-Weaver. El índice refleja la heterogeneidad de una comunidad sobre la base de dos factores: el número de género presentes y su abundancia relativa (Pla, 2006). Para estimar el índice de Shannon de las microalgas y cianobacterias en

cada uno de los medios de cultivo empleados se calculó la abundancia proporcional de cada género, es decir se determinó la proporción o frecuencia de cada género previamente identificado en relación con el total de géneros identificados en cada medio de cultivo. Se utilizó la siguiente fórmula para calcular el valor:

$$H = - \sum (p_i * \ln(p_i))$$

Donde:

H es el índice de Shannon.

$\Sigma$  representa la suma.

$p_i$  es la abundancia proporcional del género i.

$\ln(p_i)$  es el logaritmo natural de  $p_i$ .

La interpretación de este índice se la hizo en base a lo sugerido por Magurran (1988), quien indica que los valores menores a 1,5 se consideran como de diversidad baja, los valores entre 1,6 a 3 como de diversidad media y los valores iguales o mayores a 3,1 como de diversidad alta (Tabla 7).

**Tabla 7.** Interpretación de los valores del índice de Shannon.

Valores	Interpretación
0,1 - 1,5	Diversidad baja
1,6 - 3,0	Diversidad media
3,1 - 4,5	Diversidad alta

**Fuente:** (Magurran, 1988).

Así mismo, se determinó el Índice de diversidad de Simpson, que es una medida de dominancia que enfatiza el rol de los géneros más comunes y refleja mejor la riqueza de géneros. En el presente trabajo se utilizó el valor de la expresión 1-D, para expresar este índice, siendo:

$$D = \sum P_i^2$$

Donde:

D = Valor de Simpson.

$\Sigma$  = Sumatoria

$P_i^2$  = Proporción de individuos elevada al cuadrado

Al utilizar la forma 1-D, la interpretación se expresa que a mayores valores de 1-D, la diversidad será mayor, y a menores valores, la diversidad del sitio será menor (Tabla 8).



**Tabla 8.** Interpretación para el índice de Simpson 1-D.

<b>Valores</b>	<b>Interpretación</b>
0,00-0,35	Diversidad baja
0,36-0,75	Diversidad media
0,76-1,00	Diversidad alta

**Fuente:** (Krebs, 1985).

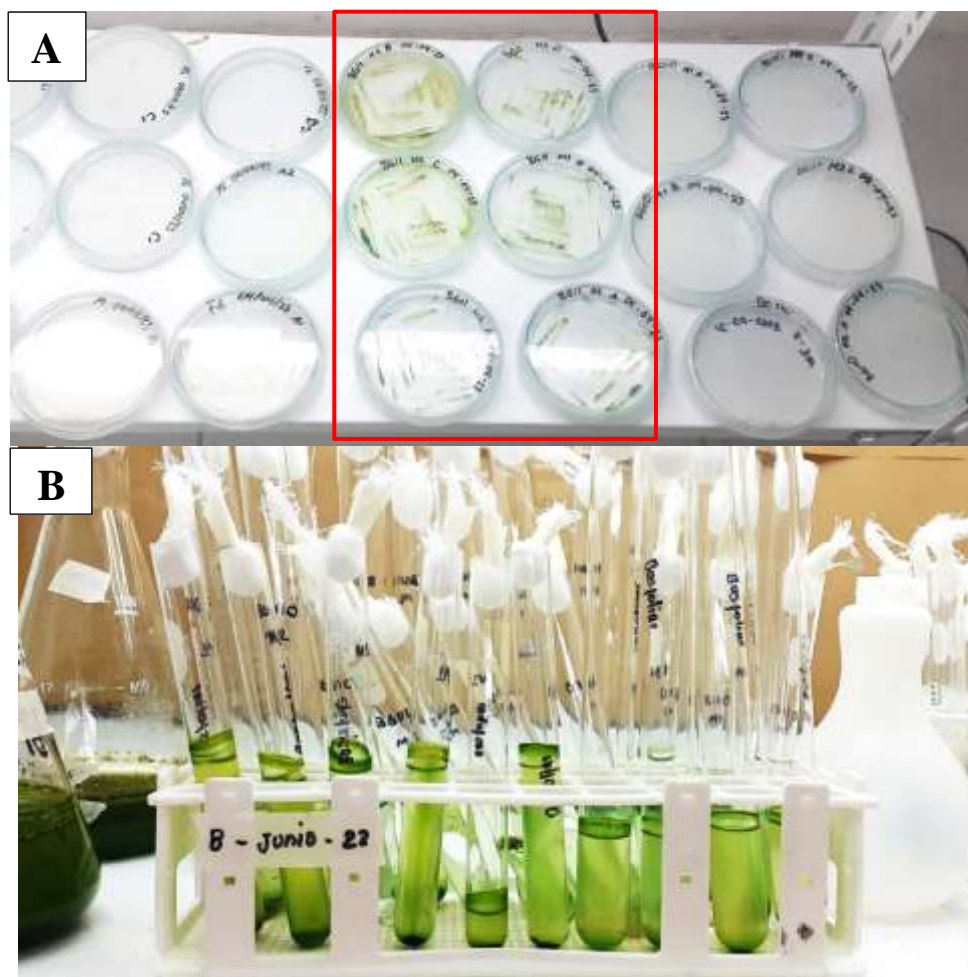
### **Crioconservación de microorganismos**

El protocolo de crioconservación que se empleó consistió en la adición de 500 µl de la muestra cultivada en medio líquido más 500 µl del crioprotector (glicerol 20 % v/v). Las muestras fueron almacenadas en crioviales los mismos que fueron colocados en una caja de poliestireno previamente etiquetada. Los cultivos se mantuvieron a temperatura ambiente por 10 minutos antes de iniciar el proceso de congelamiento a -80 °C (Anexo 8 y 9).

## 6 Resultados

### 6.1 Aislamiento de microalgas y cianobacterias provenientes de agua del cultivo de arroz del cantón Macará.

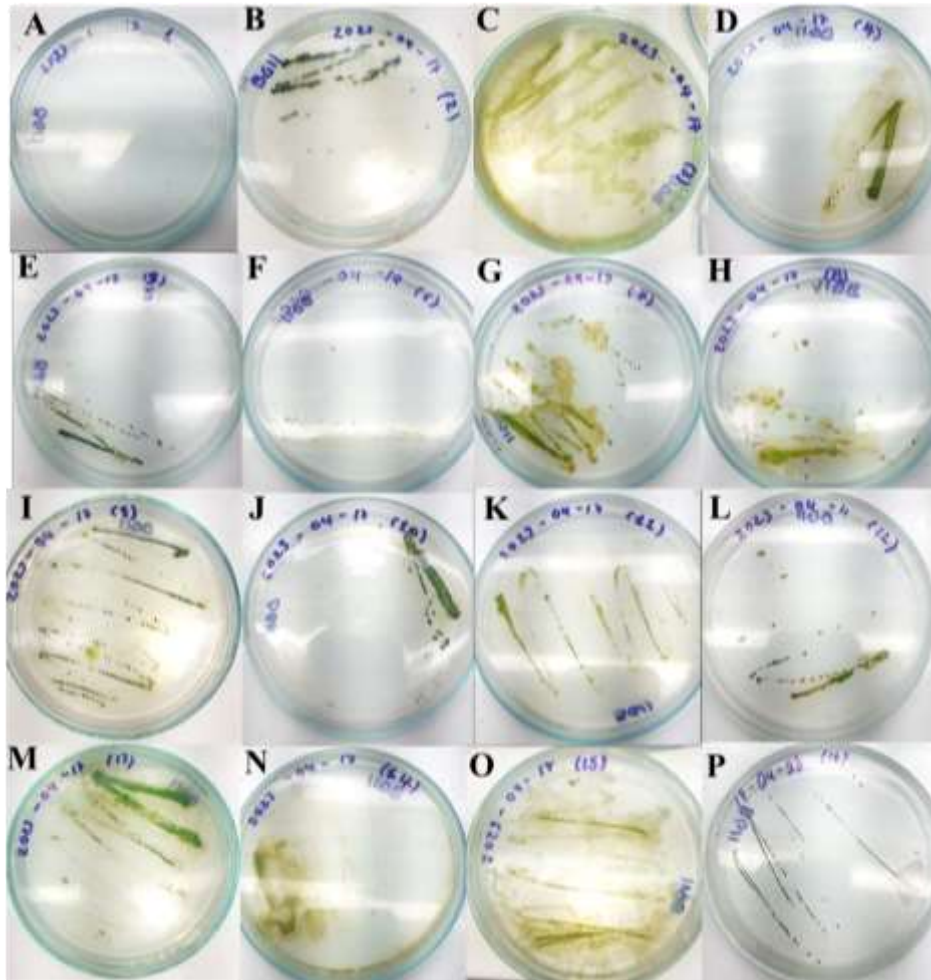
De las muestras que fueron sembradas en medios sólidos, no se evidenció crecimiento en el medio F/2 ni en el BG11<sub>0</sub> (Figura 3A). En medio líquido sí se presentó crecimiento microalgal en todas las repeticiones del medio BG11, y del BG11<sub>0</sub> solo se observó crecimiento en 2 de las 10 repeticiones realizadas, mientras que en el F/2 no hubo crecimiento (Figura 3B).



**Figura 3.** Crecimiento de las muestras de agua del arrozal de Macará A) en medios sólidos, en el recuadro rojo se muestran las cajas de BG11 con crecimiento; B) en medios líquidos.

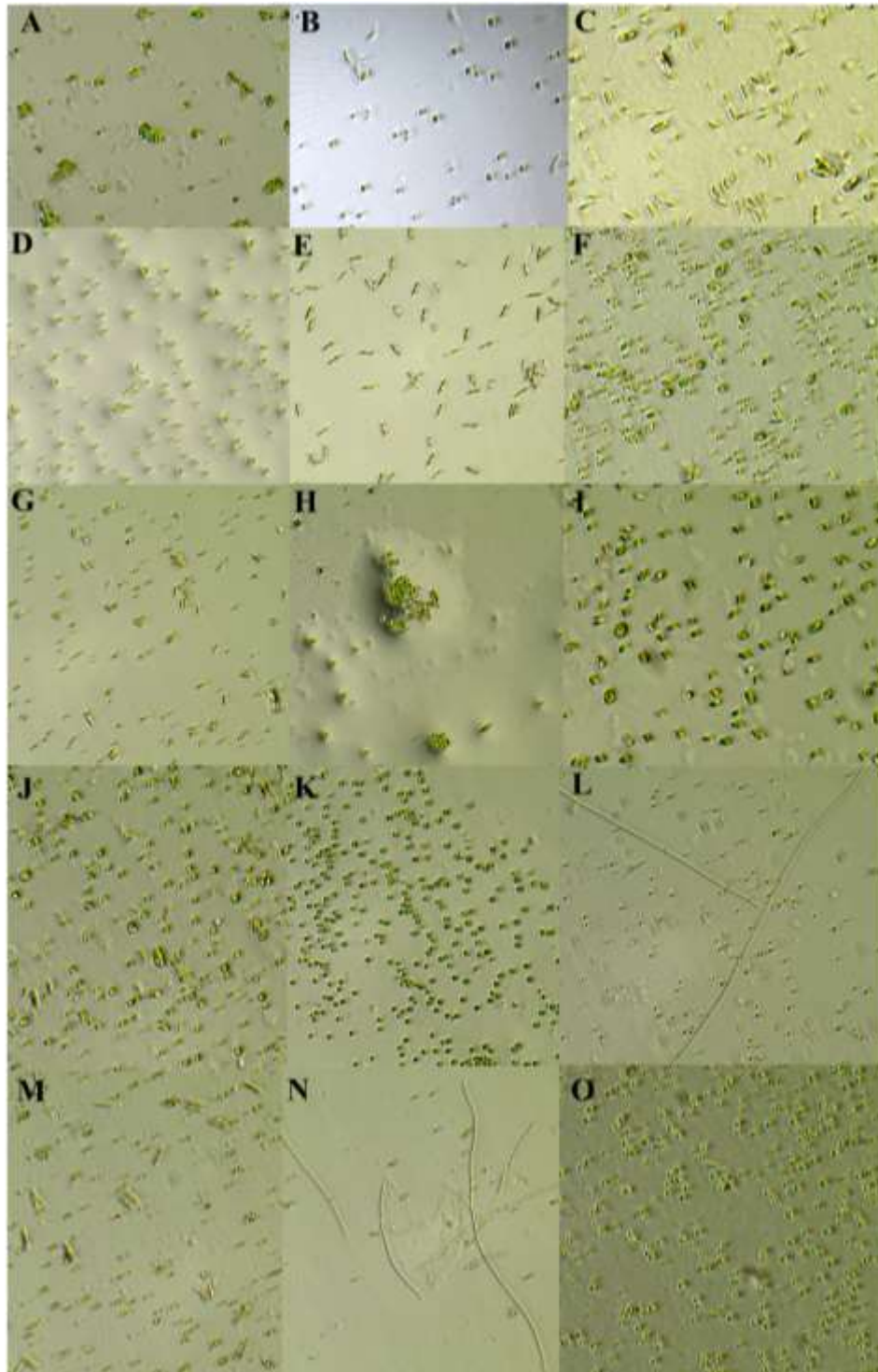
Después de múltiples resiembras en el medio BG11 sólido, se obtuvo el primer aislamiento donde se seleccionaron las colonias más evidentes y definidas a partir de las cuales se iba a aislar. Se encontraron 16 colonias visibles, las cuales fueron sembradas en medio BG11 sólido. A los 15 días después de haber realizado la siembra de las colonias, se observó crecimiento microbiano en 15 de las 16 cajas de Petri que contenían cada colonia, la caja identificada como colonia 1 no presentó crecimiento de ningún tipo (Figura 4A). Las características macroscópicas observadas en las distintas cajas se relacionaron a las diferencias

encontradas en el color de las muestras: en la colonia 2 (Figura 4B) se observó el color verde oscuro uniforme en todo el cultivo al igual que en las colonias 5 (Figura 4E), 10 (Figura 4J) y 16 (Figura 4P). Sin embargo, la colonia 10 presentó un halo amarillento alrededor de la colonia al igual que las colonias 4 y 9 (Figura 4D, 4I). Las colonias con tonalidades verdes-amarillas fueron: 3, 6, 7, 8, 11, 12, 13 y 14 (Figura 4C, 4F, 4G, 4H, 4K, 4L, 4M, 4N). La colonia 15 presentó color verde amarillento con apariencia enmarañada (filamentos enredados) (Figura 4O)



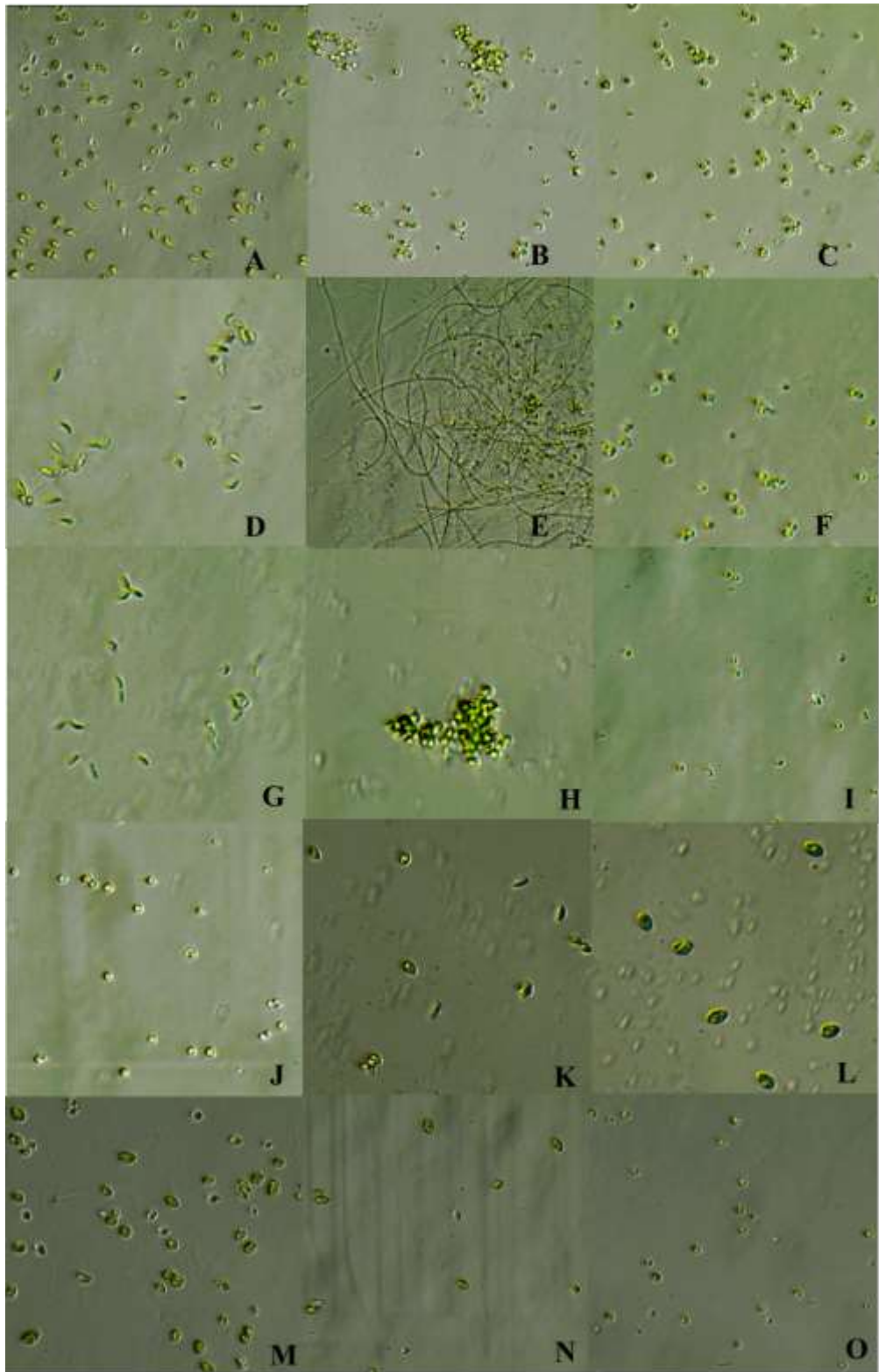
**Figura 4.** Colonias obtenidas en el primer aislamiento vistas macroscópicamente. A) Colonia 1. B) Colonia 2. C) Colonia 3. D) Colonia 4. E) Colonia 5. F) Colonia 6. G) Colonia 7. H) Colonia 8. I) Colonia 9. J) Colonia 10. K) Colonia 11. L) Colonia 12. M) Colonia 13. N) Colonia 14. O) Colonia 15. P) Colonia 16.

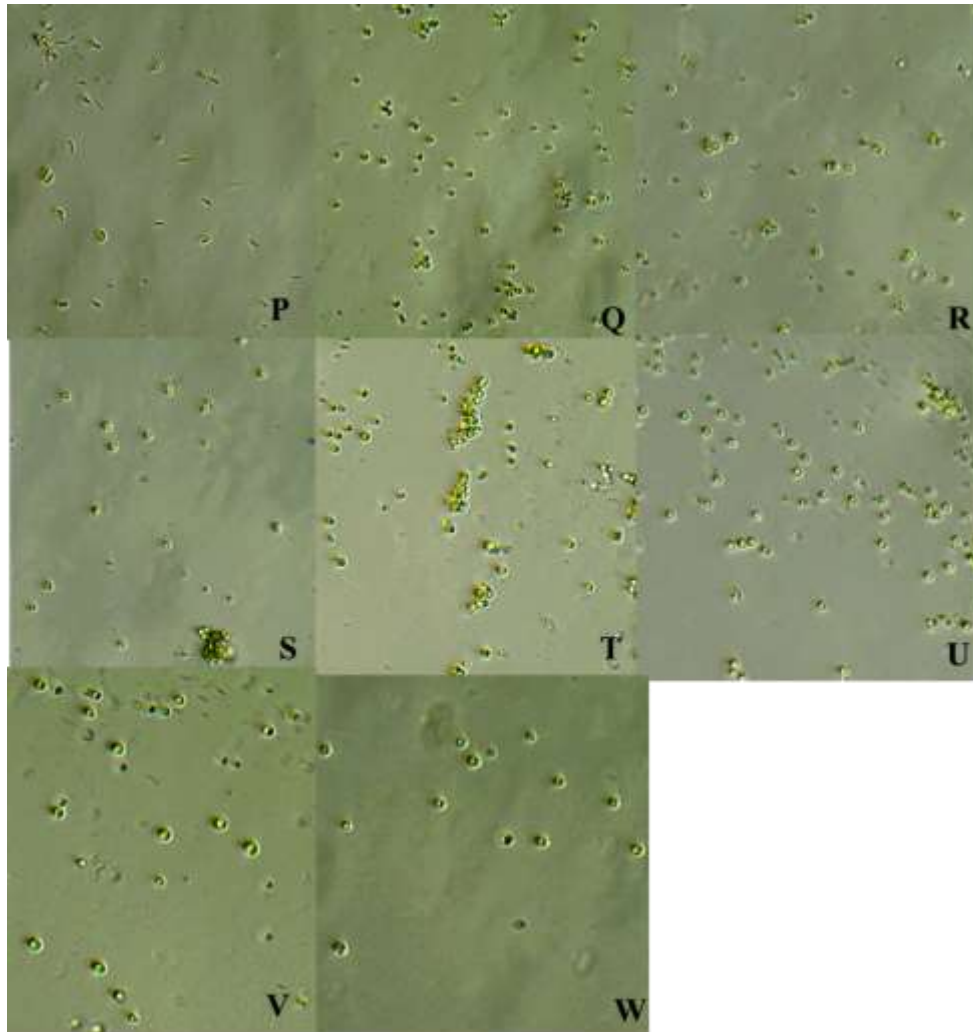
Mediante la observación microscópica a 40X de los 15 aislados se determinó que de todas las colonias solo se consiguió la purificación de tres las cuales se registraron como colonias 2, 5 y 12 (Figura 5A, 5D, 5K).



**Figura 5.** Colonias obtenidas en el primer aislamiento vistas microscópicamente a 40 x. A) Colonia 2. B) Colonia 3. C) Colonia 4. D) Colonia 5. E) Colonia 6. F) Colonia 7. G) Colonia 8. H) Colonia 9. I) Colonia 10. J) Colonia 11. K) Colonia 12. L) Colonia 13. M) Colonia 14. N) Colonia 15. O) Colonia 16.

A partir de las 15 cepas se realizó un segundo aislamiento en medio líquido BG11 donde se obtuvieron 23 cepas puras, las cuales fueron observadas a magnificación de 40 X (Figura 6).



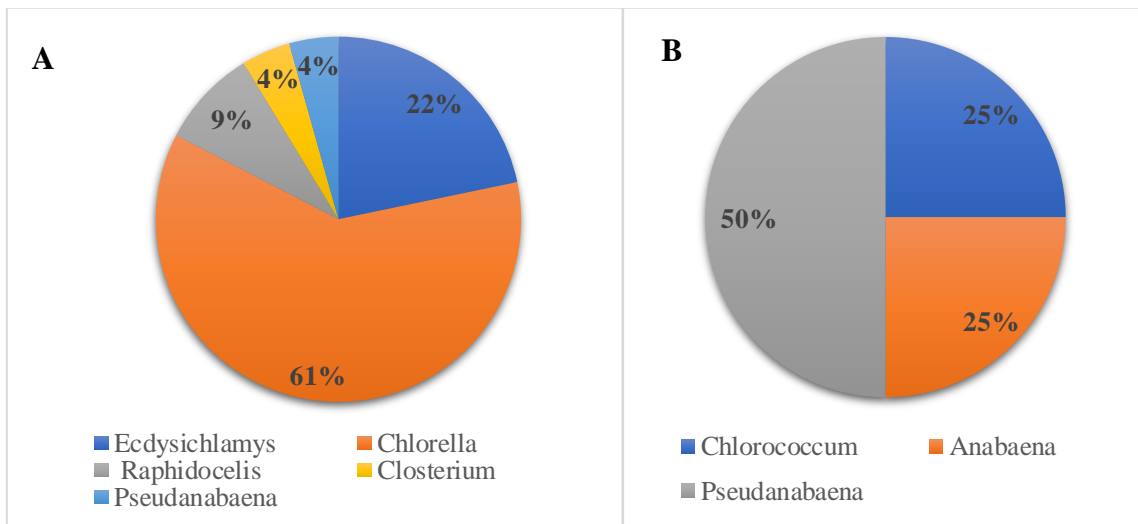


**Figura 6.** Colonias puras obtenidas en el segundo aislamiento vistas microscópicamente a 40 x. A) Colonia 1. B) Colonia 2. C) Colonia 3. D) Colonia 4. E) Colonia 5. F) Colonia 6. G) Colonia 7. H) Colonia 8. I) Colonia 9. J) Colonia 10. K) Colonia 11. L) Colonia 12. M) Colonia 13. N) Colonia 14. O) Colonia 15. P) Colonia 16. Q) Colonia 17. R) Colonia 18. S) Colonia 19. T) Colonia 20. U) Colonia 21. V) Colonia 22. W) Colonia 23.

## 6.2 Caracterización a nivel taxonómico de microalgas y cianobacterias aisladas del agua del cultivo de arroz del cantón Macará.

Se encontró una gran diversidad de morfologías de células pertenecientes a distintos tipos de microalgas y cianobacterias. Mediante la observación microscópica y las claves taxonómicas fue posible identificar la división a la que pertenecían las cepas aisladas en el medio BG11 las cuales fueron: *Chlorophyta*, *Charophyta* y *Cyanophyta*. De la división *Chlorophyta* se identificaron 21 aislados pertenecientes a los géneros: *Ecdysichlamys* (5), *Chlorella* (14) y *Raphidocelis* (2). En el caso del género *Ecdysichlamys* se identificaron 3 morfotipos distintos. De la división *Charophyta* se encontró 1 aislado del género *Closterium*, al igual que la división *Cyanophyta* de la que se identificó 1 aislado correspondiente al género *Pseudanabaena*. En el medio BG11<sub>0</sub> se observaron microorganismos de las divisiones

*Chlorophyta* y *Cyanophyta*, correspondientes a los géneros *Chlorococcum* (1), *Pseudanabaena* (2) y *Anabaena* (1) (Figura 7).



**Figura 7.** Composición porcentual de microalgas y cianobacterias aisladas del agua de arroz del cantón Macará. A) Géneros aislados en el medio BG11. B) Géneros aislados en el medio BG110.

En la tabla 9 se presenta la descripción taxonómica de las diferentes especies identificadas.

**Tabla 9.** Descripción taxonómica de las microalgas y cianobacterias encontradas en el agua del cultivo de arroz del cantón Macará.

Género	Especie	Medio de cultivo	Descripción
<i>Ecdysichlamys</i>	<i>Ecdysichlamys</i> morfotipo 1	BG11 líquido	Células solitarias, rara vez en grupos irregulares, ovoides, fusiformes o ampliamente elipsoidales, ± asimétricas con los engrosamientos apicales verrugosos en uno o ambos polos de las células, sin envolturas mucilaginosas distintivas. Posee un cloroplasto, parietal, con margen ondulado y con un pirenoide. Pared celular gruesa y firme (Anexo 10A y 10B). <b>Largo:</b> 9 – 12 µm <b>Ancho:</b> 4 – 9,5 µm
	<i>Ecdysichlamys</i> morfotipo 2	BG11 líquido	Células solitarias, en grupos o en colonias, ovoides, fusiformes o elipsoidales, obtusamente puntiagudas en uno o ambos extremos, generalmente con engrosamientos de la pared celular verrugosos. Cloroplasto único, parietal con margen ondulado, con un pirenoide. Pared celular gruesa, firme, ligeramente laminar en las células viejas, a veces un poco distante de las células hijas (Anexo 10C y 10D). <b>Largo:</b> 7,5 -13,7 µm <b>Ancho:</b> 5 - 10 µm
	<i>Ecdysichlamys</i> morfotipo 3	BG11 líquido	Células solitarias o en grupos, fusiformes, elípticas u ovales, asimétricas, en uno o ambos polos obtusamente puntiagudas o con un pequeño engrosamiento verrugoso, sin envolturas mucilaginosas. Cloroplasto único, parietal, con margen ondulado y con un pirenoide (Anexo 10E y 10F). <b>Largo:</b> 7,8 - 10 µm <b>Ancho:</b> 2,5 - 5 µm
<i>Chlorella</i>	<i>Chlorella</i> sp.	BG11 líquido	Células esféricas, elipsoidales u ovoides, pero también pueden ser reniformes o algo asimétricas. La pared celular es delgada. Cloroplasto único, pero raramente pueden aparecer dos. El pirenoide no siempre presente (Anexo 11). <b>Largo:</b> 4- 7,7 µm <b>Ancho:</b> 3,5 - 5 µm
<i>Raphidocelis</i>	<i>Raphidocelis</i> sp.	BG11 líquido	Individuos unicelulares solitarios o formando pequeñas colonias. La célula es lunada, tiene los ápices puntiagudos. La pared celular está cubierta de gránulos diminutos distribuidos más o menos uniformemente por su superficie. Los cloroplastos son laminares, parietales, no llenan toda la célula y carecen de pirenoide (Anexo 12). <b>Largo:</b> 5,4 - 7 µm <b>Ancho:</b> 1,9 – 2,5 µm

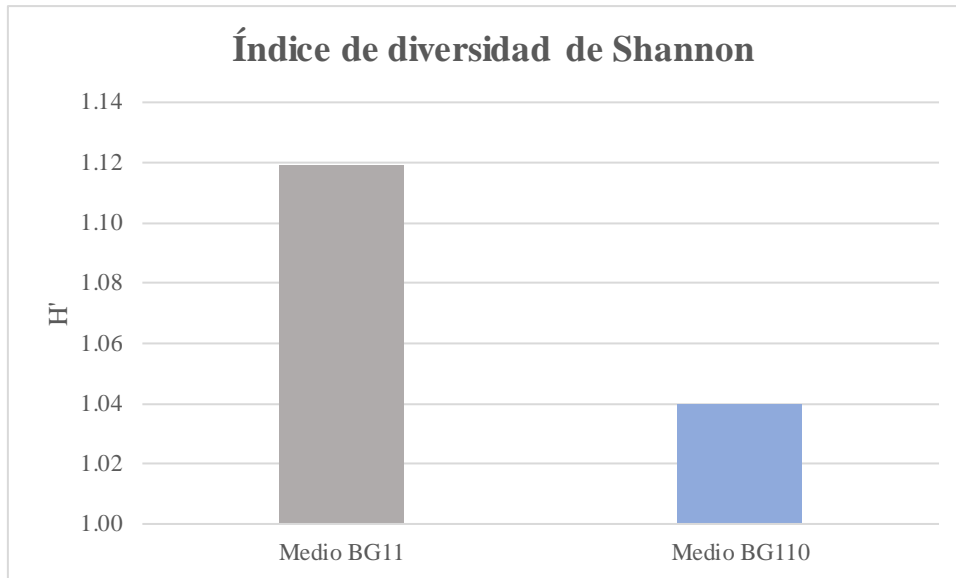


<i>Closterium</i>	<i>Closterium</i> sp.	BG11 líquido	Sus células son rectas, fusiformes, arqueadas o lunadas, con ápices que se adelgazan progresivamente en grado variable y sin constricción en la parte media de la célula. En el ápice se encuentra una vacuola con gránulos de calcio. Presenta cloroplastos axiales. Los pirenoides existentes son numerosos (1- 10), dispuestos en una serie longitudinal pero también pueden aparecer dispersos por todo el plástido. Su pared celular es lisa o con estrías longitudinales (Anexo 13). <b>Largo:</b> 7,4 - 12 $\mu\text{m}$ <b>Ancho:</b> 2,1 – 2,4 $\mu\text{m}$
<i>Chlorococcum</i>	<i>Chlorococcum</i> sp.	BG11 <sub>0</sub> líquido	Células esféricas, solitarias o a veces en agregaciones. El mucílago es fino y a veces no es evidente. El cloroplasto tiene forma de copa (Anexo 14). <b>Largo:</b> 19,786 $\mu\text{m}$ <b>Ancho:</b> 19,744 $\mu\text{m}$
<i>Anabaena</i>	<i>Anabaena</i> sp.	BG11 <sub>0</sub> líquido	Presenta filamentos solitarios, en agrupaciones libres, o en tapetes. Posee células cilíndricas o en forma de barril, separadas por constricciones en la pared celular. Presenta tricomas profundos o ligeramente sinuosos. Los heterocitos son siempre intercalares, solitarios (no forman cadenas) y se presentan a intervalos más o menos regulares a lo largo del tricoma (Anexo 15).
<i>Pseudanabaena</i>	<i>Pseudanabaena</i> sp.	BG11 y BG11 <sub>0</sub> líquido	Filamentos solitarios o aglomerados en forma de finos tapetes, rectos o curvados, sin vaina, con células cilíndricas, siempre más largas que anchas (Anexo 16). <b>Ancho:</b> 1-3,5 $\mu\text{m}$

**Nota:** las descripciones de cada aislado se basan en las guías de Bicudo y Menezes (2006), Komárek y Comas (1984).

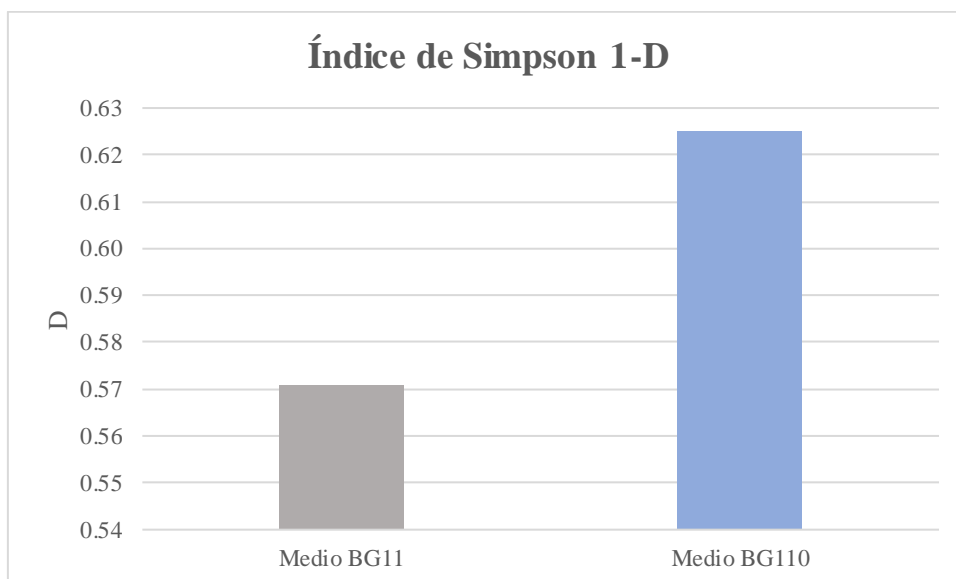
### Diversidad: Shannon y Simpson

En la figura 8 se muestra el índice de Shannon para los dos medios de cultivo donde se evidenció crecimiento microalgal, en el medio BG11 se determinó un índice de 1,12 lo que denota una muy baja diversidad, al igual que en el medio BG11<sub>0</sub> donde se obtuvo un valor de 1,04.



**Figura 8.** Índice de Diversidad de Shannon de la muestra de agua colectada en el arrozal del cantón Macará aislada en dos medios de cultivo.

El índice de Simpson mostró que en el medio BG11 se obtuvo un valor de 0,57 y 0,63 en el medio BG11<sub>0</sub>, cuyos valores se encuentran en el rango de 0,36-0,75 lo que se interpreta como diversidad media, es decir existe una mayor probabilidad de dominancia de una sola especie, de tal manera que para el medio BG11 se encontró que el género con mayor dominancia era *Chlorella* y en el caso del medio BG11<sub>0</sub> fue *Pseudanabaena* (Figura 9).



**Figura 9.** Índice de dominancia de Simpson de la muestra de agua colectada en el arrozal del cantón Macará aislada en dos medios de cultivo.

## 7 Discusión

Se lograron aislar 23 cepas puras en medio BG11 donde se identificaron 22 cepas de microalgas y 1 cepa correspondiente a cianobacteria. Este resultado se contrasta con el obtenido por Vidal et al. (2018) quienes aislaron 15 microalgas provenientes de seis fincas arroceras con plantas en estado vegetativo del departamento de la Guajira-Colombia en los municipios de Fonseca y Distracción. Al igual que el presente estudio utilizaron el medio BG11 y un fotoperiodo 12:12. Por otra parte, Giraldo (2012) en su estudio observó 13 géneros en las muestras naturales obtenidas de un cultivo hidropónico de plantas halófitas, de los cuales solo cuatro fueron aislados. Todas las cepas se aislaron en cuatro medios de cultivo: F/2, AM, GPM y extracto de suelo, donde solo observó crecimiento algal en los experimentos realizados con medio GPM. Las muestras fueron incubadas en cámara de cultivo a 25 °C y fotoperiodo 16:8 luz: oscuridad durante cuatro semanas. Por lo tanto, difiere con los resultados obtenidos en la investigación en cuanto al número de cepas aisladas; posiblemente se debe a los medios de cultivo y al fotoperiodo empleado en ambas investigaciones, sin embargo, se corrobora de esta manera que el medio F/2 no es apto para el crecimiento de microalgas de agua dulce.

Por otro lado, en la presente investigación se encontró que las cepas de microalgas y cianobacterias aisladas correspondían a las divisiones *Chlorophyta*, *Charophyta* y *Cyanophyta*, siendo *Chlorophyta* la de mayor abundancia. Estas divisiones corresponden en su mayoría a las identificadas por Forastier et al. (2017) donde determinaron un total de 6 grupos taxonómicos en todos los sitios estudiados: *Cyanophyta*, *Chlorophyta*, *Bacillariophyceae*, *Dinophyta*, *Cryptophyta* y *Euglenophyta*. Entre estos el taxón *Cyanophyta* fue el mejor representado en los 5 campos con arroz muestreados en la Provincia de Corrientes (Argentina), seguido de los taxones *Chlorophyta* y *Bacillariophyceae*. Así mismo, Pereira et al. (2000) realizaron un estudio taxonómico de ciertos grupos de algas en algunos arrozales de Chile provenientes de 15 localidades, donde analizaron un total de 31 muestras colectadas en enero de 1997 y determinaron un total de 40 taxones: 5 *Cyanophyta*, 11 *Euglenophyta*, 6 *Chlorophyta*, 16 *Zygnematophyceae* y 2 *Charophyta*. Por lo tanto, con base en la información obtenida se determina que en los campos de arroz predominan las microalgas y cianobacterias pertenecientes a las divisiones *Chlorophyta*, *Charophyta* y *Cyanophyta*, esto se justifica en base a lo expuesto por Guamán y González (2016) donde mencionan que las *Chlorophytas* y *Cyanophyta* son los grupos más diversos de algas que se encuentran en aguas dulces o en ambientes terrestres, en aguas quietas y ríos con poco movimiento cuando los nutrientes, luz y temperatura son altos como son los arrozales, debido a los mecanismos de resistencia y adaptación.

En cuanto a los géneros que se identificaron en las muestras provenientes del arrozal de Macará fueron los siguientes: *Ecdysichlamys*, *Chlorella*, *Raphidocelis*, *Closterium*, *Pseudanabaena* aislados en el medio BG11. En el medio BG11<sub>0</sub> se observaron los géneros *Chlorococcum*, *Pseudanabaena* y *Anabaena*. Hernández-Benítez et al. (2018) realizaron un estudio para conocer la diversidad de cianobacterias de cultivos de arroz de la Guajira en Colombia donde llevaron a cabo aislamientos en medio BG11. Mediante observación microscópica identificaron las siguientes cianobacterias: *Gloeocapsa* sp, *Chlorella* sp, *Scenedesmus quadricauda*, *Scenedesmus obliquus*, *Anabaena* sp, *Chroococcus* sp, *Aphanocapsa* sp, *Microcystis* sp, *Pseudoanabaena* sp, *Golenkinia* sp, *Oscillatoria limosa*, *Oscillatoria amphibia*, *Spirogyra* sp y *Oedogonium* sp. De los géneros registrados en la presente investigación tres de ellos como son *Chlorella*, *Chlorococcum* y *Anabaena* presentan antecedentes y evidencias científicas de sus usos potenciales en diferentes sistemas agrícolas, con respecto a los demás géneros existe poca información. Varios estudios realizados demuestran que el género *Chlorella* es un agente formador de suelos, gracias a la producción de polisacáridos y sustancias mucilaginosas que le proveen de minerales y ayudan a estructuración, además ha mostrado efectos positivos en la germinación, el aumento del volumen de las raíces, la estimulación de la síntesis de clorofilas y la acumulación de carotenoides (Ortiz-Moreno et al., 2019). Las cianobacterias del género *Anabaena* sp. son formadoras de heterocistos lo que les confiere la capacidad fijadora de nitrógeno. Prasanna et al. (2012), reportan incrementos en el rendimiento de arroz del 19 % empleando como inoculante la cianobacteria *Anabaena* sp. ellos determinaron que promovió la germinación y el crecimiento de las plantas de arroz economizando entre 40 kg – 80 kg ha<sup>-1</sup> de N, además se mejoró componentes de la calidad del suelo como la retención de carbono y la actividad de la fosfatasa alcalina y deshidrogenasa. El género *Chlorococcum* puede ser utilizado como alternativa para utilizar las aguas residuales después de un tratamiento primario y secundario. Debido a que son eficientes en la reducción de contaminantes y en la producción de biomasa para diversos fines. Además, varias especies de *Chlorococcum* son productoras de carotenoides ( $\beta$ -caroteno, luteína, cantaxantina, zeaxantina, astaxantina) bajo condiciones extremas (López, 2016).

## 8 Conclusiones

- Se aislaron inicialmente 15 cepas de microalgas y cianobacterias en el medio BG11 sólido, debido a que en los demás medios empleados no existió crecimiento. En el segundo aislamiento en medio BG11 líquido se obtuvieron 23 cepas puras de las cuales 22 corresponden a microalgas y 1 cepa a cianobacteria. En el medio BG11<sub>0</sub> líquido hubo un crecimiento escaso de material microalgal donde se identificaron cuatro cepas, una de microalga y tres de cianobacteria.
- Se caracterizó taxonómicamente hasta el nivel de género, y se determinó que las microalgas y cianobacterias aisladas en el medio BG11 corresponden a los géneros: *Ecdysichlamys*, *Chlorella*, *Closterium*, *Pseudanabaena* y *Raphidocelis*. El género con mayor presencia fue *Chlorella*, seguido de *Ecdysichlamys* y *Raphidocelis*. Las cepas observadas en el medio BG11<sub>0</sub> líquido pertenecen a los géneros *Chlorococcum*, *Pseudanabaena* y *Anabaena*.
- Según el índice de Shannon se determinó que en la muestra recolectada del arrozal del cantón Macará existe una baja diversidad, lo cual se lo corroboró con el índice de Simpson donde se estableció que existe dominancia de un solo género, es decir que hubo mayor presencia de *Chlorella* y *Pseudanabaena*, en el medio BG11 y BG11<sub>0</sub> respectivamente.

## 9 Recomendaciones

- Aumentar las áreas y los momentos de muestreo tomando en cuenta las diferentes etapas del cultivo de arroz.
- Utilizar herramientas de identificación más específicas como marcadores moleculares para caracterizar las microalgas y cianobacterias a nivel de especie.
- Evaluar consorcios con cianobacterias-microalgas que fueron aisladas en esta investigación para determinar su viabilidad y su potencial biofertilizante.

## 10 Bibliografía

- Acevedo, M. A., Castrillo, W. A. y Belmonte, U. C. (2006). Origen, evolución y diversidad del arroz. *Agronomía Tropical*, 56(2), 151-170.
- Almeida, M. E. (2014). Evaluación como acondicionador de suelo y a nivel de laboratorio, de un consorcio previamente seleccionado de microalgas y cianobacterias con predominio de *Calothrix* sp [BachelorThesis, Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE. Carrera de Ingeniería en Biotecnología]. <http://repositorio.espe.edu.ec/jspui/handle/21000/8556>
- Asunción, E. J. (2022). Aislamiento y caracterización morfológica, bioquímica y fisiológica de microorganismos rizosféricos provenientes de suelos agrícolas de la provincia de Loja [BachelorThesis, Universidad Nacional de Loja]. <https://dspace.unl.edu.ec/handle/123456789/25655>
- Ayala, S. (2016). Clasificación taxonómica de microalgas presentes en un consorcio microbiológico que biorremedia el efluente de una planta de sacrificio de bovinos y porcinos [Tesis Doctoral, Universidad de los Andes]. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.4203.1764>
- Basilio, H. (2021). Microalgas: Alternativa sustentable para desarrollo agrícola. <https://noticiasncc.com/cartelera/articulos-o-noticias/12/16/microalgas-alternativa-sustentable-para-desarrollo-agricola/>
- Berríos, C. S. y Ilabaca, R. G. (2018). Manual de microbiología. Ediciones UC.
- Bou, G., Fernández-Olmos, A., García, C., Sáez-Nieto, J. A. y Valdezate, S. (2011). Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 29(8), 601-608. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2011.03.012>
- Braida, V., Campot, M. P., Nervi, E. y Tartaglia, C. (2015). Aplicaciones del cultivo de microalgas en arquitectura sustentable [Tesis de grado en licenciatura en biotecnología, Universidad ORT Uruguay]. <https://dspace.ort.edu.uy/handle/20.500.11968/3175>
- Candela, R. (2016). Las microalgas y el tratamiento de aguas residuales: Conceptos y aplicaciones. Una revisión bibliográfica [Tesis Doctoral, Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiente].
- Castro, J. y Ocares, Y. (2020). Conformación de colecciones de cultivos microbianos. *Instituto de Investigaciones Agropecuarias*, 428. <https://biblioteca.inia.cl/handle/20.500.14001/6945>

- Clavijo, K. A. (2021). Caracterización fenotípica de microalgas y cianobacterias del fitoplancton del embalse La Mica [Bachelor Thesis, PUCE - Quito]. <http://repositorio.puce.edu.ec:80/handle/22000/18504>
- Colorado, M., Moreno, D. y Perez, J. (2013). Desarrollo, producción y beneficio ambiental de la producción de microalgas. La experiencia en La Guajira, Colombia. *Ambiente y Desarrollo*, 17(32), Article 32.
- Dey, H., Tayung, K. N. y Bastia, A. (2010). OCCURRENCE OF NITROGEN-FIXING CYANOBACTERIA IN LOCAL RICE FIELDS OF ORISSA, INDIA. *Ecoprint: An International Journal of Ecology*, 17. <https://doi.org/10.3126/eco.v17i0.4120>
- Escalante-Vargas, I. (2014). Cianobacterias en un cultivo de arroz (*Oryza sativa* L) en Cuautla, Morelos [Master's thesis, Colegio de Postgraduados]. <http://colposdigital.colpos.mx:8080/xmlui/handle/10521/2286>
- ESPAC. (2022). Cultivos transitorios - Superficie y producción. Recuperado 10 de mayo de 2023, de [https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas\\_agropecuarias/espac/espac\\_2022/PPT\\_%20ESPAC\\_%202022\\_04.pdf](https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas_agropecuarias/espac/espac_2022/PPT_%20ESPAC_%202022_04.pdf)
- Estrada, R. y Menjívar, R. (2013). Rol ecológico de las cianobacterias y su presencia en los ríos Torola, Titihuapa y Jiboa de El Salvador. *Carlos Estrada Faggioli*, 5.
- Forastier, M. E., Martínez, F. S., Franceschini, M. C. y Iglesias, M. C. (2017). Relevamiento de cianobacterias en campos de arroz (*Oryza sativa* L.) de la Provincia de Corrientes. *Agrotecnia*, 25, 15. <https://doi.org/10.30972/agr.0252452>
- Giraldo, A. (2012). Aislamiento y caracterización de microalgas formadoras de tapetes microbianos asociados a un cultivo hidropónico de plantas halófitas [Master's thesis, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria].
- Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal del cantón Macará. (2021). PLAN DE DESARROLLO TURÍSTICO DEL CANTÓN MACARÁ 2021-2023. Recuperado 21 de mayo de 2023, de [https://amevirtual.gob.ec/wp-content/uploads/2021/01/PLAN-DE-DESARROLLO-TURISTICO-MACARA-\\_compressed.pdf](https://amevirtual.gob.ec/wp-content/uploads/2021/01/PLAN-DE-DESARROLLO-TURISTICO-MACARA-_compressed.pdf)
- González, M., Inostroza, I., Conforti, V. y Ascencio, E. (2019). Diversidad taxonómica de microalgas en cuerpos dulceacuícolas someros y acidófilos del sur de Chile. *Gayana. Botánica*, 76(2), 189-207.
- Guamán, M. y González, N. (2016). Catálogo de microalgas y cianobacterias de agua dulce del Ecuador. *Laboratorio de biotecnología energética, Corporación para la investigación energética*. Quito, Ecuador.

- Hernández-Benítez, R., Liñan-Montero, K., Cabrera-Rodríguez, Á., Rojas-Ortega, J., Araujo-Vidal, D., Figueroa-Galvis, I. y Vanegas, J. (2018). Diversidad de Microalgas Asociadas a Zonas Costeras: Estudio Caso La Guajira, Caribe. En *Potencial biotecnológico de microalgas en zonas áridas*. Servicio Nacional de Aprendizaje. <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/136449>
- Komárek, J. (2016). Review of the cyanobacterial genera implying planktic species after recent taxonomic revisions according to polyphasic methods: State as of 2014. *Hydrobiologia*, 764(1), 259-270. <https://doi.org/10.1007/s10750-015-2242-0>
- López, I. Y. (2016). Análisis de efectividad de *Chlorococccum littorale* y *Scenedesmus* sp. en biorremediación de aguas residuales (Doctoral dissertation, Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana, 2016.).
- López-Cortés, A., Maya-Delgado, Y., Troyo-Diequez, E. y Landa-Hernandez, L. (2018). Cianobacterias criptobióticas: Una alternativa de agricultura orgánica. *Cianobacterias criptobióticas: una alternativa de agricultura orgánica*. <http://dspace.cibnor.mx:8080/handle/123456789/2138>
- López-Padrón, I., Martínez-González, L., Pérez-Domínguez, G., Reyes-Guerrero, Y., Núñez-Vázquez, M. y Cabrera-Rodríguez, J. A. (2020). Las algas y sus usos en la agricultura. Una visión actualizada. *Cultivos Tropicales*, 41(2). [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0258-59362020000200010&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0258-59362020000200010&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
- Mendoza, H. E., Loor, Á. C. y Vilema, S. F. (2019). El arroz y su importancia en los emprendimientos rurales de la agroindustria como mecanismo de desarrollo local de samborondón. *Revista Universidad y Sociedad*, 11(1), 324-330.
- Morales, E. D., Luna, V., Navarro, L., Santana, V., Gordillo, A. y Arévalo, A. (2013). Diversidad de microalgas y cianobacterias en muestras provenientes de diferentes provincias del Ecuador, destinadas a una colección de cultivos. *Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas: REMCB*, 34(1-2), 129-149. <https://doi.org/10.26807/remcb.v34i1-2.240>
- Ortiz-Moreno, M. L., Sandoval-Parra, K. X. y Solarte-Murillo, L. V. (2019). *Chlorella*, un potencial biofertilizante?. *Orinoquia*, 23(2), 71-78.
- Paredes, M., Becerra, V. y Donoso, G. (2021). 100 años del cultivo del Arroz en Chile: En un contexto internacional : 1920-2020. Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA). <https://bibliotecadigital.ciren.cl/handle/20.500.13082/33189>



- Peleato, M. L. (2011). Las cianobacterias: Cooperación versus competencia. *Zaragoza: REAL ACADEMIA DE CIENCIAS EXACTAS, FÍSICAS, QUÍMICAS Y NATURALES DE ZARAGOZA*. Obtenido de <http://www.raczar.es/webracz/ImageServlet>.
- Pereira, I., Reyes, G. y Kramm, V. (2000). CYANOPHYCEAE, EUGLENOPHYCEAE, CHLOROPHYCEAE, ZYGNEMATOPHYCEAE Y CHAROPHYCEAE EN ARROZALES DE CHILE. *Gayana. Botánica*, 57(1), 29-53. <https://doi.org/10.4067/S0717-66432000000100003>
- Pérez-Madruga, Y., López-Padrón, I. y Reyes-Guerrero, Y. (2020). Las algas como alternativa natural para la producción de diferentes cultivos. *Cultivos Tropicales*, 41(2). [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0258-59362020000200009&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0258-59362020000200009&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
- Pla, L. (2006). Biodiversidad: Inferencia basada en el índice de Shannon y la riqueza. *Interciencia*, 31(8), 583-590. [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0378-18442006000800008&lng=es&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442006000800008&lng=es&tlng=es).
- Prasanna, R., Joshi, M., Rana, A. Shivay, Y. S. y Nain, L. (2012). Influencia de la coinoculación de bacterias-cianobacterias en el rendimiento de los cultivos y el secuestro de C – N en el suelo bajo cultivos de arroz. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28, 1223–1235. <https://doi.org/10.1007/s11274-011-0926-9>
- Quito, C. (2017). Manejo orgánico del cultivo de arroz en ladera en el cantón Macará provincia de Loja [BachelorThesis, Universidad Nacional de Loja]. <https://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/18685/1/Tesis%20Lista%20Cesar.pdf>
- Rivas, E. P. (2005). BIODIVERSIDAD DE CIANOBACTERIAS. *Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada*, 72.
- Rivas-Zúñiga, S. y Giraldo, C. (2021). Manual práctico de microbiología básica. Editorial Universidad del Cauca.
- Rosso, L. y Giannuzzi, L. (2011). Factores ambientales y antropogénicos que afectan la formación de floraciones de cianobacterias y cianotoxinas. En *Cianobacterias como determinantes ambientales de la salud*. Ministerio de Salud de la Nación. <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/112456>
- Salazar, C., Cardona, Y., Osorio, L. y Porras, L. (2020). Efecto de un Consorcio de cianobacterias sobre la obtención de biomasa vegetal de la gulupa (*Passiflora edulis* f. *Edulis sims*) bajo condiciones de campo en el municipio de Marinilla—Antioquia.

- Hechos Microbiológicos*, 11(1 y 2), Article 1 y 2.  
<https://doi.org/10.17533/udea.hm.v11n1a02>
- Salinas, P., Núñez, K., Ortiz, F., Zárate, G., Mendoza, M. y Weiler, A. (2022). Medium and large-sized mammals in rice-fields of the Misiones and Itapúa departments, Paraguay. *Reportes científicos de la FACEN*, 13(1), 10-19.  
<https://doi.org/10.18004/rcfacen.2022.13.1.10>
- Santos, A. M., González, Y. y Martín, C. (2014). Uso y aplicaciones potenciales de las microalgas. *Revista: Anales de Mecánica y Electricidad*, 91 (1), 20-28.  
<https://repositorio.comillas.edu/xmlui/handle/11531/4927>
- Srivastava, A., Bhargava, P., Kumar, A., Rai, L. y Neilan, B. (2009). Molecular characterization and the effect of salinity on cyanobacterial diversity in the rice fields of Eastern Uttar Pradesh, India. *Saline Systems*, 5, 4. <https://doi.org/10.1186/1746-1448-5-4>
- Vanegas, J. y Hernández-Benítez, R. (2018). POTENCIAL BIOTECNOLOGICO DE LAS MICROALGAS EN ZONAS ARIDAS (Primera Edición). *Servicio Nacional de Aprendizaje-SENA*.
- Vidal, D., Benítez, R. y Guerrero, J. (2018). Efecto de la Inoculación de Cianobacterias en Cultivos de Interés Comercial en Zonas Semiáridas de La Guajira—Colombia. *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales*, 5(1), Article 1.  
<https://doi.org/10.23850/24220582.889>
- Vilchis, M., Virgen, M., López-Fuerte, F., Arredondo-Vega, B. y Murugan, G. (2016). ¿Conservar fitoplancton vivo? Cepario de microalgas del CIBNOR. *Recursos Naturales y Sociedad*, 2, 40-55. <https://doi.org/10.18846/renaysoc.2016.02.02.02.0003>
- Viteri, G. I. y Zambrano, C. E. (2016). Comercialización de arroz en Ecuador: Análisis de la evolución de precios en el eslabón productor-consumidor. *Revista Ciencia y Tecnología*, 9(2), 11-17.
- Zambrano, C. E., Andrade-Arias, M. S. y Carreño-Rodríguez, W. V. (2019). Factores que inciden en la productividad del cultivo de arroz en la provincia Los Ríos. *Revista Universidad y Sociedad*, 11(5), 270-277.

## 11 Anexos



**Anexo 1.** Colecta de muestras en el arrozal



**Anexo 2.** Medición del pH de las muestras



**Anexo 3.** Muestras etiquetadas



**Anexo 4.** Medios de cultivo empleados



**Anexo 5.** Centrifugar las muestras líquidas



**Anexo 6.** Siembra en medio sólido.



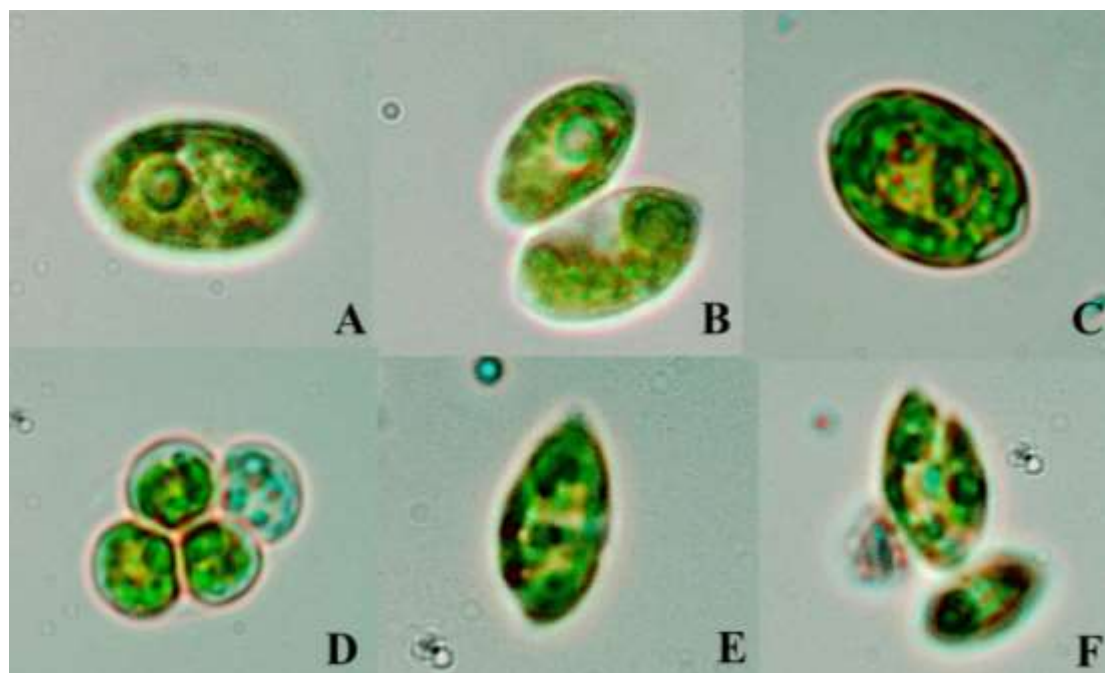
**Anexo 7.** Cepas aisladas en medios líquidos



**Anexo 8.** Proceso de crioconservación de las muestras de microalgas y cianobacterias previamente aisladas.

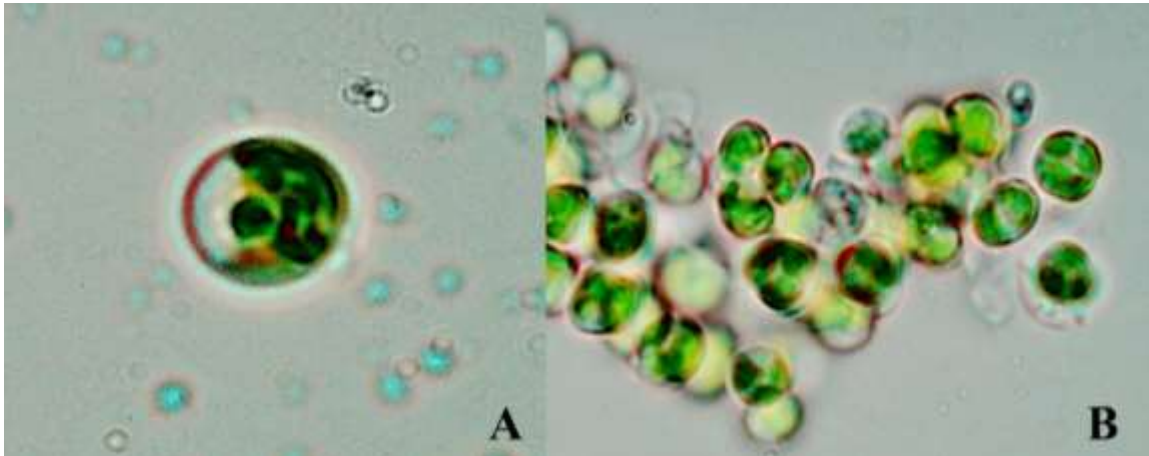
Género	Número	Repeticiones				
<i>Ecdysichlamys</i> morfotipo 1	1	A	B	C	D	E
<i>Chlorella</i> sp.	2	A	B			
<i>Chlorella</i> sp.	3	A	B	C	D	
<i>Closterium</i> sp.	4	A	B	C	D	E
<i>Pseudanabaena</i> sp.	5	A	B	C	D	E
<i>Chlorella</i> sp.	6	A	B	C	D	
<i>Raphidocelis</i> sp.	7	A	B	C	D	
<i>Chlorella</i> sp.	8	A	B	C	D	
<i>Chlorella</i> sp.	9	A	B	C	D	
<i>Chlorella</i> sp.	10	A	B	C	D	
<i>Ecdysichlamys</i> morfotipo 3	11	A	B	C	D	
<i>Ecdysichlamys</i> morfotipo 1	12	A	B	C		
<i>Ecdysichlamys</i> morfotipo 1	13	A	B	C	D	
<i>Ecdysichlamys</i> morfotipo 2.	14	A	B	C	D	
<i>Chlorella</i> sp.	15	A	B	C	D	
<i>Raphidocelis</i> sp.	16	A	B	C	D	
<i>Chlorella</i> sp.	17	A	B	C	D	
<i>Chlorella</i> sp.	18	A	B	C	D	
<i>Chlorella</i> sp.	19	A	B	C		
<i>Chlorella</i> sp.	20	A	B	C	D	
<i>Chlorella</i> sp.	21	A	B	C	D	
<i>Chlorella</i> sp.	22	A	B	C		
<i>Chlorella</i> sp.	23	A	B	C	D	

**Anexo 9.** Mapa de crioconservación de las microalgas y cianobacterias aisladas de las muestras de agua del arrozal del cantón Macará almacenadas en el Laboratorio de Microbiología Vegetal del Centro de Biotecnología de la UNL.

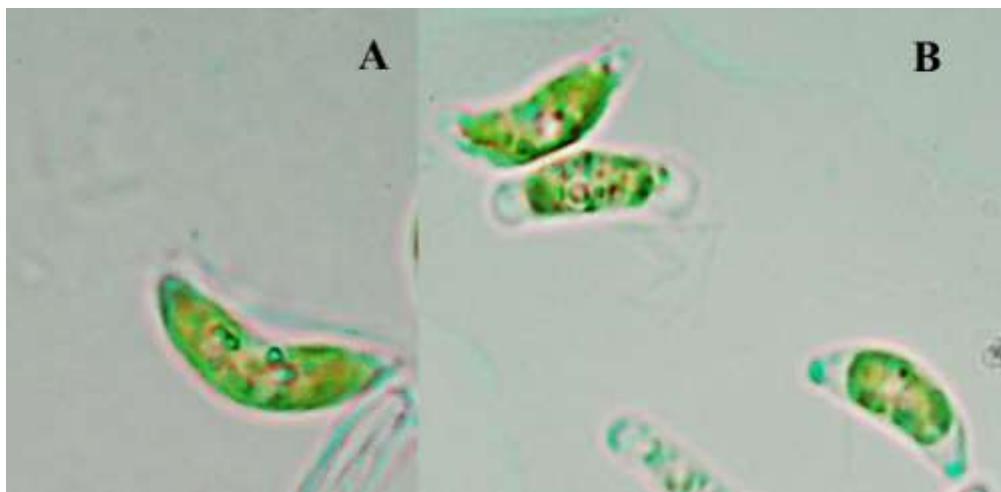


**Anexo 10.** Microalgas aisladas del género *Ecdysichlamys*. **A)** *Ecdysichlamys* morfotipo 1: célula solitaria. **B)** *Ecdysichlamys* morfotipo 1: duplicaciones de células jóvenes. **C)** *Ecdysichlamys* morfotipo

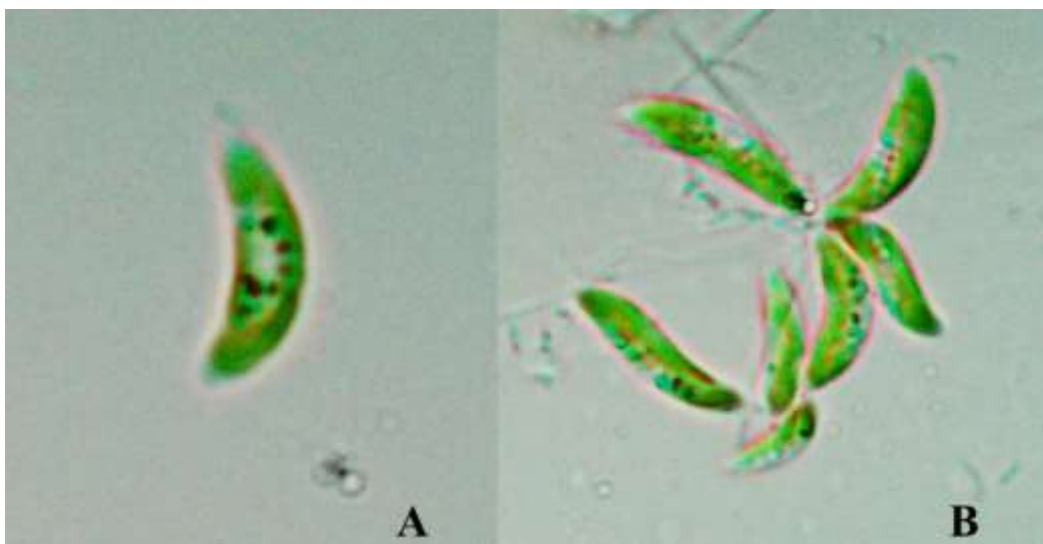
2: célula solitaria. **D)** *Ecdysichlamys* morfotipo 2: grupos de células. **E)** *Ecdysichlamys* morfotipo 3: célula solitaria. **F)** *Ecdysichlamys* morfotipo 3: grupos de células.



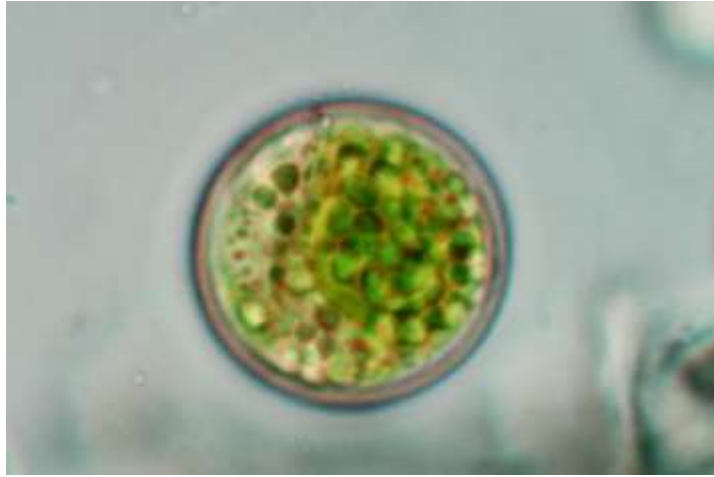
**Anexo 11.** Microalgas aisladas del género *Chlorella* sp. A) Célula solitaria. B) Grupos de células (colonia).



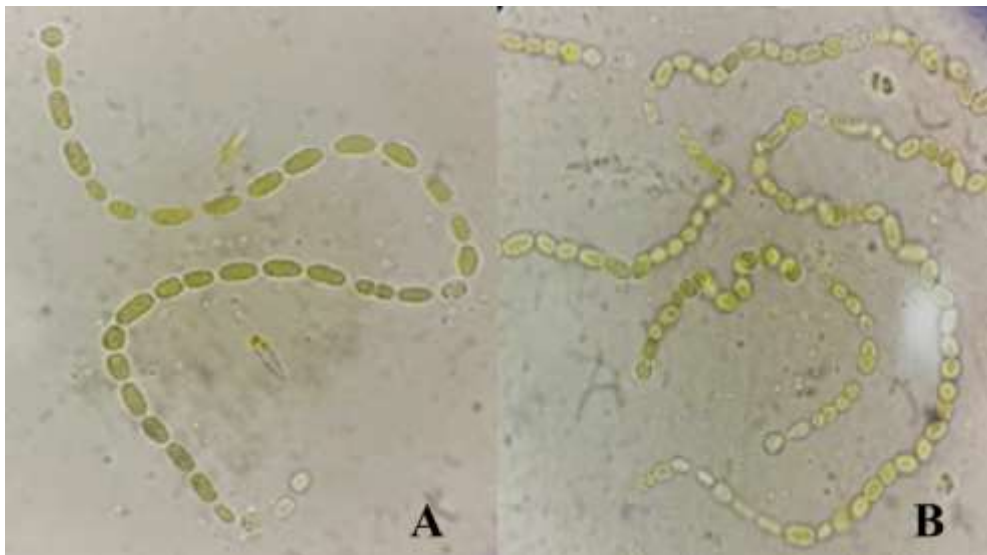
**Anexo 12.** Microalgas aisladas del género *Raphidocelis* sp. A) Célula solitaria. B) Pequeña colonia.



**Anexo 13.** Microalgas aisladas del género *Closterium* sp. A) Célula solitaria. B) Grupos de células (colonia).



**Anexo 14.** Microalga del género *Chlorococcum* sp.



**Anexo 15.** Cianobacterias del género *Anabaena* sp. A) Filamento solitario. B) Agrupación de filamentos.



**Anexo 16.** Cianobacterias del género *Pseudanabaena* sp. A) Aglomerados. B) Filamentos solitarios.

Lic. Alexander Masache Escobar, Mgs

0987216493

[alexander.masache@educacion.gob.ec](mailto:alexander.masache@educacion.gob.ec)

Loja - Ecuador

Loja, 15 de enero del 2024

El suscrito, Alexander Masache Escobar, Mgs, **DOCENTE EN EL ÁREA DE INGLÉS**  
(registro de la SENESCYT número: 1031-2023-2668502), a petición de la parte interesada y en forma  
legal

### **CERTIFICA:**

Que la traducción del resumen del documento adjunto, solicitado por la señorita: **Jasmania del Cisne Eras Guaicha** con cédula de ciudadanía No **1105467987**, cuyo tema de investigación se titula: *"Diversity of microalgae and cyanobacteria coming from water of rice cultivation in the Macará canton."* ha sido realizado y aprobado por mi persona, Alexander Masache Escobar, Mgs. docente en la enseñanza del inglés como lengua extranjera.

El apartado del Abstract es una traducción textual del Resumen aprobado en español.

Particular que comunico en honor a la verdad para los fines académicos pertinentes, facultando al portador del presente documento, hacer uso legal.



-----  
**Lic. Alexander Masache Escobar, Mgs.**  
**English Professor**

**Anexo 17.** Certificación de traducción del resumen