

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN-TACNA

Facultad de Ciencias

Escuela Académico Profesional de Biología-Microbiología

**Efecto de la temperatura y nutriente en el cultivo
de *Nostoc commune* de Río Caño (Tacna)
en condiciones de laboratorio**

TESIS

PRESENTADA POR:

Br. JENNY KARINA CORDOVA QUISPE

Para optar el título profesional de:

BIOLOGO - MICROBIOLOGO

TACNA - PERU

2003

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN
FACULTAD DE CIENCIAS

TESIS N° 41.....TITULO PROFESIONAL DE BIÓLOGO-MICROBIÓLOGO

El Secretario Académico Administrativo de la Facultad de Ciencias certifica que el Consejo de Facultad ha designado como Jurado para la Sustentación de Tesis : " Efecto de la temperatura y nutriente en el cultivo de *Nostoc commune* de Río Caño (Tacna) en condiciones de laboratorio ".

El mismo que está conformado por:

Presidente : Mgr. Giovanni Aragón Alvarado
Secretario : Blgo. Victorino Delgado Tello
Miembro : Blgo . Juan Franco León

Para examinar y calificar el Trabajo de Tesis sustentado en acto público el día ..25.. de....Agosto...del dos mil tres.

Presentado por la señorita Bachiller Jenny Karina Córdova Quispe de la Escuela Académico Profesional de BIOLOGÍA-MICROBIOLOGÍA.

El Jurado Calificador, en forma secreta e individual emitió su calificativo sobre el trabajo expuesto y se procedió a obtener el promedio que arrojó el calificativo de *aprobada* por *Unanimidad* con nota de *catorce* y promedio de *bueno*.

Para ratificar lo detallado firman :


.....
PRESIDENTE


.....
SECRETARIO


.....
MIEMBRO

Tacna, 25 de Agosto del 2003

Cada día es un don especial de Dios, y si bien es posible que la vida no siempre es justa, uno no debe dejar nunca que las penas, las dificultades y las desventajas del momento envenenen la actitud y los planes que uno tiene para sí mismo y su futuro. Hay que dejar que lo que el corazón ambiciona sea el proyecto de la propia vida.

Og Mandino.

DEDICATORIA :

En agradecimiento a Dios y a los grandes amores de mi vida: a mi Madre, a Percy y a mi hermana por el gran apoyo y constante impulso que supieron darme.

AGRADECIMIENTOS

Mi agradecimiento al Dr. Severo Palacios por su apoyo en el lineamiento estadístico experimental de mi trabajo; a la Decana de la Facultad de Ciencias Agrícolas Dra. Rosario Zegarra Zegarra, por haberme permitido trabajar en el laboratorio de Biotecnología vegetal, y a los Drs. César Córdova, Haydee Montoya del área de Ficología de la UNMSM así mismo a la Dra. Carla Aguilar, representante del Perú en el área de cultivo de microalgas de IMARPE-LIMA, por sus orientaciones sobre el conocimiento de las microalgas; al profesor Alfredo Quispe del laboratorio de Química Analítica de la Facultad de Ciencias de ésta Universidad, por el apoyo que me brindó para realizar ésta Tesis.

Un especial agradecimiento a mi asesor Mgr. Roberto Castellanos Cabrera y Co-asesor Mgr. Daladier Castillo Cotrina por sus consejos y constante apoyo, para la culminación de éste trabajo.

CONTENIDO

	Pág.
Página de aprobación	<i>i</i>
Dedicatoria	<i>ii</i>
Agradecimiento	<i>iii</i>
Lista de cuadros	<i>vi</i>
Lista de anexos	<i>vii</i>

RESUMEN

I. INTRODUCCIÓN	01
Generalidades	05
Ciclo de vida	10
Composición Bromatológica de <i>Nostoc commune</i>	13
Aplicaciones e importancia	14
II. MATERIALES Y MÉTODOS	18
2.1. Muestra de estudio	18
2.2. Muestreo	18

2.3.	Identificación del alga y análisis físico químico del agua....	19
2.4.	Tratamiento de la muestra algal y cultivo para el aislamiento	19
2.5.	Experimentación	22
	Variables de la Experimentación	22
	Diseño Experimental	23
	Instalación y desarrollo de la Experimentación	24
	Evaluación de la Experimentación	25
2.6.	Determinación del máximo crecimiento y los efectos de temperatura y nutriente sobre el crecimiento algal	26
2.7.	Análisis estadístico	27
III.	RESULTADOS	28
IV.	DISCUSIÓN	35
V.	CONCLUSIONES	43
VI.	RECOMENDACIONES	44
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
VIII.	ANEXOS	50

Lista de Cuadros

Cuadro	Pág
1. Composición Bromatológica de <i>Nostoc commune</i> .	13
2. Evaluación promedio de peso húmedo a los 30 días de crecimiento de las colonias de <i>N. commune</i> , realizado en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal de agosto a octubre del 2002.	29
3. Efecto de los Factores de temperatura y nutriente en el crecimiento de las colonias de <i>N. commune</i> .	31
4. Análisis de Variancia para el peso húmedo de <i>N. commune</i> obtenidos en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal.	33
5. Evaluación de Nitrógeno total (Proteína total) de <i>N. commune</i> de cultivos de 24 °C por el método Kjeldahl, realizado en el Laboratorio de Química Analítica de FACI.	34

Lista de anexos

Anexos

1. Vista fotográfica del bofedal de Río Caño.
2. Vistas fotográficas de los estadios de *N. commune* de Río Caño.
3. Vistas fotográficas de las placas de cultivo *in vitro* (cultivo madre) de *N. commune* en proceso de aislamiento y purificación.
4. Esterilización y cultivos experimentales.
5. Microfotografías de las colonias de *N. commune* en medio MACE a temperatura de 18 °C durante el proceso de aislamiento.
6. Microfotografías de las diferentes morfologías que adopta las colonias de *N. commune*.
6. Microfotografías de colonias de *N. commune* atacadas por bacterias y en estado de desecación.
8. Microfotografías de los filamentos, células vegetativas y heterocistos de *N. commune*.

9. Medios de cultivo.
10. Determinación de Nitrógeno Total.
11. Factores físico químicos de Río Caño y Medios de cultivo.
12. Fluctuaciones de temperaturas (agosto, setiembre y octubre del 2002).
13. Evaluación de crecimiento durante los meses de cultivo.
14. Interacción y respuestas estimadas de crecimiento.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo por finalidad determinar el Efecto de los parámetros de temperatura y nutriente en el crecimiento de las colonias de *Nostoc commune*, mediante temperaturas de 18°C (temperatura baja), 24°C (temperatura alta) y fluctuaciones entre 8.6°C y 24.6°C (temperatura ambiente) y la utilización de nutrientes como MACE (baja concentración de sales), BBM sin N (alta concentración de sales sin N) y BBM (alta concentración de sales), obteniéndose el factor con mayor influencia en el crecimiento de *Nostoc commune* del bofedal de Río Caño, mediante cultivos *in vitro* de colonias monoalgales axénicos, realizados en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la UNJBG-Tacna.

Se aisló a *N. commune* por el método de la placa con agar por estría y a los 45 días de cultivo se obtuvo el crecimiento de pequeñísimas colonias las cuales se repicaron obteniéndose cultivos puros en stock con colonias de pesos similares a 0.0043 g para su debida identificación y experimentación.

Se evaluó el Efecto por el indicador de peso húmedo de las colonias y mediante un Diseño Factorial Experimental 2^k con pruebas centrales.

Se determinó también el Nitrógeno Total (proteína total) mediante el método Kjeldahl.

El mejor crecimiento se observó con el nutriente MACE (baja concentración de sales) con 0.0579 g de peso húmedo y el más pobre crecimiento con el nutriente BBM (alta concentración de sales) con 0.0298 g, en cuanto a la temperatura hubo un mejor crecimiento a 24°C (temperatura alta). El contenido promedio de Proteína Total fue más alto en el medio MACE con 25.38% y el más bajo en medio BBM sin N con 21.88%, éste último valor es un porcentaje importante ya que testifica la fijación de N atmosférico.

I. INTRODUCCIÓN

El Nostoc es una cianobacteria que puede formar colonias macroscópicas o microscópicas; en comparación a otros grupos de algas éstos son muy resistentes a condiciones ambientales severas ya que resisten extensos periodos de desecación en estado latente, siendo de esta forma un componente importante que resiste extremos hábitat (Lennihan, 1993). Por lo tanto posee las habilidades necesarias para sobrevivir en hábitat de escasos nutrientes o acostumbran a vivir sin demasiadas exigencias nutricionales ya que poseen una enorme capacidad de adaptación a condiciones ambientales cambiantes a lo largo de la evolución (Doods et al 1995).

Éstas cianobacterias han colonizado casi todos los rincones del planeta, siendo éste género conocido como uno de los mas difundidos y es común encontrarlo en hábitat terrestre y acuático; en aguas frescas, en tierras tropicales, y tanto como norte y sur de las zonas polares (Doods et al 1995).

Son fijadores de Nitrógeno atmosférico y ésta habilidad del alga puede proveer una ventaja de nitrógeno a ambientes pobres de éste elemento siendo esta especie potencialmente importante en el cultivo arrozal porque éstos fijan el N que después puede ser liberado y utilizado por las plantas, también puede jugar un papel importante en la formación del suelo y puede aumentar el N que se consume en un ambiente acuático natural y en ecosistemas terrestre (Belnap 2000).

Nostoc commune es un alga de la división Cyanophyta, las características moleculares, morfológicas y fisiológicas indican claramente que es procariota y no un alga eucariota; presenta tricomas flexibles embebidos en una sustancia mucilaginoso común denominado vaina el cual es abundante en los tricomas próximos a la superficie de la colonia y es transparente reducido a un mucílago amorfo con tricomas en la parte interna de la colonia. Generalmente las colonias macroscópicas tienen aproximadamente 6-10 cm de largo por 4-5cm de ancho y 1.5 - 2 cm de espesor; son de color azul-verdoso a verde parduzco, membranosos, laminares y foliáceos de consistencia gelatinosa cuando alcanzan el estado adulto (Aldave, 1989).

Ésta alga generalmente se divide por fisión binaria en un solo plano y comúnmente no exhiben ramificación verdadera, pero las ramificaciones

pueden ocurrir. Los heterocistos y los aquinetos son formados a partir de células vegetativas y la reproducción ocurre por tricomas cortos móviles denominados hormogonios. Los numerosos tricomas muchas veces forman agregados gelatinosos o colonias. Las características básicas son: (a) fases hormogónicas bien desarrolladas en el ciclo de vida y muchas veces mas largas o duraderas. (b) desarrollo de heterocistos terminales a partir de células hormogónicas terminales, luego del establecimiento y cese del movimiento y (c) desarrollo de aquinetos por diferenciación de una etapa intermedia de una célula vegetativa entre dos heterocistos (Doods et al 1995).

Estudios sobre el cultivo de *Nostoc* en nuestro país se han realizado de manera muy limitada entre las cuales se tiene aquellas investigaciones realizadas fuera de Tacna Aldave, (1989) y Tovar, (1996) con *Nostoc* proveniente de lugares diferentes al que se pretende investigar. Considerando ésto, entre otras razones, en la presente tesis se tuvo como finalidad evaluar los efectos de parámetros como la temperatura y nutriente en el cultivo del *Nostoc commune* de la zona alto andina de Tacna (Río Caño), para obtener datos que puedan servir de base para ser utilizadas en una posible intensificación del cultivo de ésta alga en la zona costera de Tacna; por lo cual se planteó el siguiente Problema: ¿Cuál será el efecto de la temperatura y nutriente en el

crecimiento de *Nostoc commune* en condiciones de laboratorio?, y como

Hipótesis : " A temperatura alta y a una concentración baja de nutriente se obtiene un mayor crecimiento en el cultivo de *Nostoc commune* en condiciones de laboratorio". Para ello se plantearon los siguientes objetivos:

Objetivo General :

- Determinar el crecimiento de colonias de *N. commune* en la mínima y máxima temperatura y en una concentración alta y baja de nutriente en condiciones de laboratorio.

Objetivos Específicos :

- Aislar e identificar *Nostoc commune*.
- Determinar el grado de temperatura y el tipo de nutriente que tiene un mayor efecto en el crecimiento de *Nostoc commune* a través del indicador de peso húmedo.
- Estimar el contenido proteico de *Nostoc commune*.

GENERALIDADES

Las microalgas son organismos vegetales minúsculos capaces de sintetizar compuestos orgánicos estructuralmente complejos aún partiendo de sustancias inorgánicas muy simples tales como agua, anhídrido carbónico y sustancias minerales; además éstos constituyen los elementos primarios en la producción de materia orgánica de los ecosistemas acuáticos, considerándoseles en muchos casos como indicadores biológicos de cuerpos de agua. Se encuentran distribuidos mundialmente; presentando una gran diversidad de tamaño, pigmentación, tipos de mecanismos reproductivos y tasa de producción; siendo estas comestibles por ser fuente de vitaminas, proteínas y minerales (Cabrera, 1987) (Aldave, 1971).

En Sud América se encuentra gran cantidad de cuerpos de agua dulce; y en nuestro país, los lagos dulceacuícolas en su mayoría están ubicados en la sierra peruana y albergan en sus aguas organismos que son elevadamente proteínicos (Aldave, 1983).

El Nostoc, puede presentar un taxón muy antiguo que datan desde los fósiles del periodo Pre-cámbrico tardío que se encontraron en la superficie de los sedimentos marinos y que son muy similares al Nostoc; con una antigüedad de 3.4 billones de años. Ésta alga constituye un

ejemplo de convergencia evolutiva fisiológica que les ha permitido desarrollar una gran plasticidad ecológica y colonizar variados substratos desde el Ecuador a los Polos y desde las más altas cumbres hasta el nivel del mar (Doods et al, 1995).

Nostoc es una microalga de la división Cyanophyta, un organismo colonialmente procariótico formado por tricomas, que contienen células globulares o en forma de barril, dispuestas como las cuentas de un rosario; entrecruzados, constituyendo formas coloniales esféricas, laminares o amorfas, delimitada externamente por una membrana semejante a una película. Las colonias son macroscópicas, con más de 5 cm de diámetro, presentando heterocistos intercalares y aquinetos solitarios o en serie (Acleto, 1998).

Las principales variables físicas que influyen en su cultivo son: luz, temperatura, dureza de agua, pH , potencial redox y requerimientos nutritivos (CO₂, minerales: Fe, Co, Cu, Zn, etc. y vitaminas). Pueden ser cultivadas de una especie única (cultivos monoalgales), o de varias especies juntas (cultivos plurialgales) y en condiciones estériles, evitando la contaminación bacteriana (axénicos), o no (no axénicos); pueden dividirse y crecer todas al mismo tiempo (sincrónicos) o independientemente una de las otras (no sincrónicos) (Uribe, 1997).

El éxito del cultivo de microalgas está muy influenciado por la composición química de los medios de cultivo utilizados y otros factores ambientales. Es conocido que para un crecimiento adecuado necesitan tomar del suelo cantidades importantes de macronutrientes como las sales de N, K, Ca, P, Mg y S; y micronutrientes como sales de Fe, Mn, Zn, B, Cu, Mo y Co. Se sabe también que se obtienen mejores resultados al incluir compuestos orgánicos en pequeñas cantidades, como vitamina, aminoácidos y reguladores de crecimiento.

Tenemos a continuación las sales que generalmente se emplean en los medios, según Tovar(1996) y Ward(1983) :

Macronutrientes : son los requeridos en mayor cantidad.

- Nitrógeno (N): es el elemento esencial componente de la clorofila, proteínas, ácidos nucleicos, alcaloides y aminoácidos; éste influye en el crecimiento.
- Potasio (K): necesario para la síntesis de carbohidratos, proteínas y clorofila, para la división celular.
- Fósforo (P): es un activador enzimático.

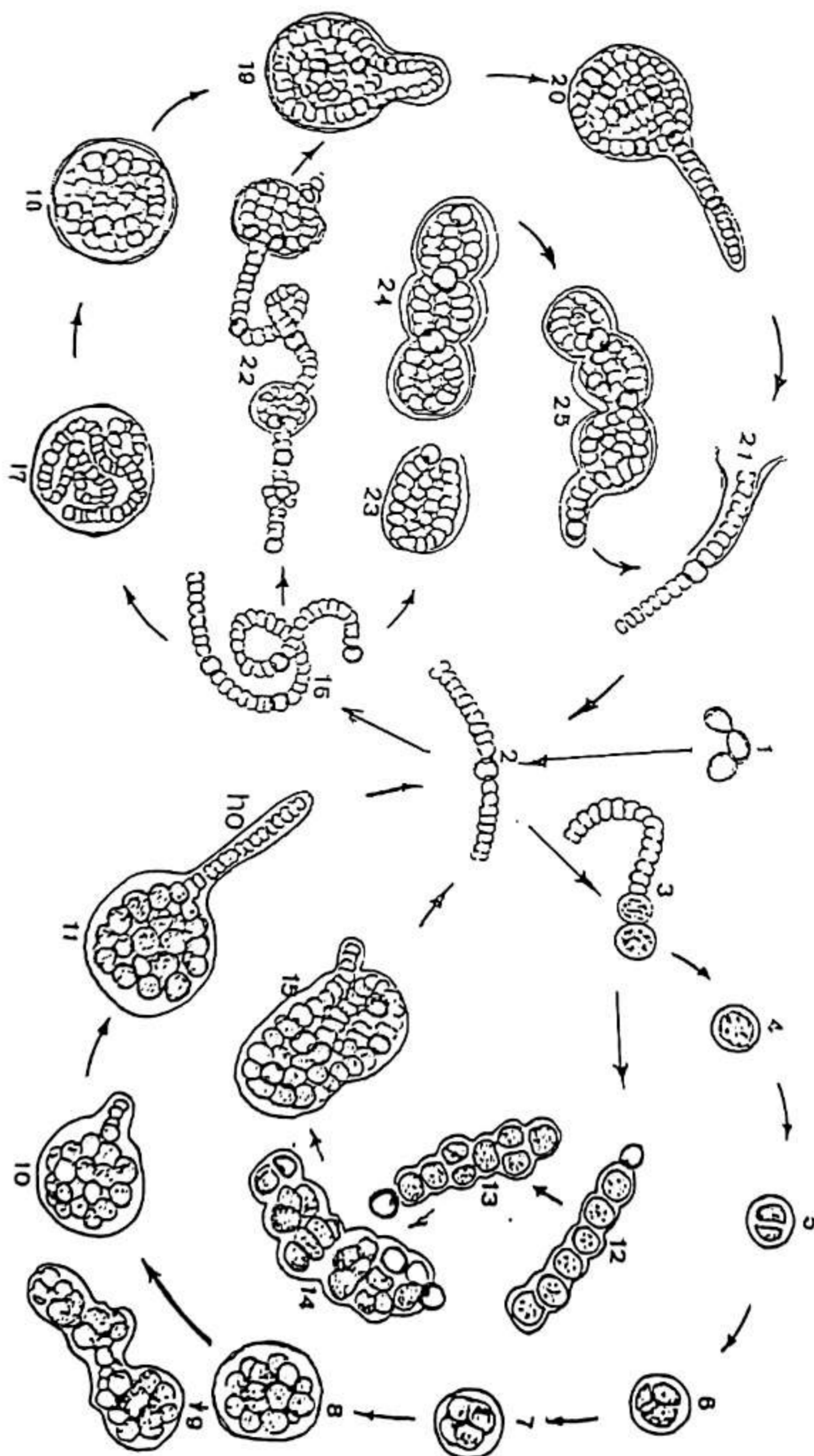
- Azufre (S): necesario porque impulsa el desarrollo radicular y el pigmento verde.
- Calcio (Ca): facilita el movimiento de carbohidratos y aminoácidos.
- Cloro (Cl): estimula la fotosíntesis.
- Magnesio (Mg): es el elemento central de la molécula de clorofila.

Micronutrientes: Éstos se necesitan en cantidades extremadamente pequeñas.

- Hierro (Fe): es requerido para la formación de precursores de la clorofila, en la conversión de energía durante la fotosíntesis y en la respiración.
- Molibdeno (Mo): se cree que participa en la conversión del nitrógeno a amonio , ayuda a la fijación del nitrógeno .
- Boro (B): necesario para el mantenimiento de la actividad meristemática, está involucrado en la síntesis de las bases nitrogenadas.

- Manganese (Mn): es un elemento esencial en la membrana del cloroplasto.
- Zinc (Zn): es un elemento vital de varias enzimas involucradas en la formación de clorofila.
- Cobalto (Co): es un elemento del complejo vitamínico B₁₂ el cual es para la fijación del nitrógeno.
- Cobre (Cu): influye en el crecimiento de la planta.

FIGURA 1. CICLO DE VIDA de *Nostoc commune* (Tovar, 1996)



En la figura observamos que se inicia a partir de un tricoma corto (1) que luego se transforma en un tricoma mas largo con algunas células diferenciadas como es el heterocisto (2).

Parte inferior de la figura :

En etapa de reproducción, las células vegetativas de los tricomas se transforman gradualmente en aquinetos llegando a constituir en determinados casos largas series de aquinetos (2,3,12). Los aquinetos pueden estar distribuidos entre los heterocistos o como estructuras libres por la desintegración de los tricomas. Los aquinetos maduros presentan un contenido granuloso, pared celular gruesa y germinan aislados o en cadenas (4,12).

Los aquinetos aislados germinan y en su inicio semejan a colonias de 2 células del género *Chroococcus*. Éstas colonias incrementan sus dimensiones por sucesivas divisiones celulares (5,6,7) formando colonias esféricas u ovoides limitadas por un delgado pero definido estuche colonial (8,9). Posteriormente éstas colonias forman proliferaciones elongadas a manera de yemas en los bordes del mucílago colonial donde se reconoció la formación de hormogonios (11)

Los aquinetos en cadena pueden germinar casi simultáneamente con divisiones sucesivas (12) seguida por una reorganización celular que origina hormogonios engrosados. Éstos hormogonios constituyen colonias jóvenes alargadas e irregulares que incrementan sus dimensiones conforme las células se dividen. De acuerdo al grado de actividad celular éstas colonias jóvenes presentan ensanchamientos y constricciones en su morfología externa. Éstas colonias formadas pueden presentar heterocistos en uno o ambos extremos (13,14,15).

Parte superior de la figura :

La proliferación de nuevas colonias en ésta especie es notable. Así tenemos la formación de colonia por enrollamiento de tricoma que segregan un mucílago en su alrededor, posteriormente las células aumentan de tamaño constituyendo colonias compactas, esféricas u ovoides (16,17,18) y luego forman proliferaciones elongadas en el borde del mucílago colonial y posterior liberación de hormogonios (19,20,21).

En otros casos sólo determinadas células vegetativas de los tricomas distanciados se dividen activamente formando colonias redondeadas u ovoides quedando entre ellas heterocistos y algunas células vegetativas dando apariencia de nudos a lo largo de los tricomas.

También se forma colonias endógenas redondeadas u ovoides en su mayoría consecutivas, en número de tres o mas seriados .éstas colonias delimitadas en algunos casos por heterocistos tienen posteriormente engrosamiento del mucílago (16,23,24) a la vez se reconocen en ellas proliferaciones alargadas a manera de yemas que constituyen los hormogonios formados por células vegetativas en división (25,21).

CUADRO 1. COMPOSICIÓN BROMATOLÓGICA de *Nostoc commune*.

COMPOSICIÓN GENERAL		MINERALES (mg/kg mat. seca)	
Humedad	98.90%	Ca	1687.00
Materia seca	1.10"	P	3719.00
Proteínas	22.50 "	Mg	2727.00
Lípidos	2.20 "	Fe	701.00
Glúcidos	6.58 "	Zn	43.38
Minerales	3.29 "	Cu	3.37
Fibras	0.80 "	Mn	55.10
		Cr	3.81
		Na	128.90
		K	11120.00
VITAMINAS (mg/kg mat. seca)		AMINO ÁCIDOS(g/kg mat. seca)	
b-caroteno	350.5	Alanina	20.67
B1 (Tiamina)	2.8	Arginina	16.48
B2 (Riboflavina)	5.3	Aspartato	27.05
B6	1.5	Glutamato	33.33
E	3.0	Cisteína	1.62
B12	15.1	Glicina	15.25
Ác. Fólico	0.0066	Histidina	3.02
Ácido Pantoténico	5.27	Isoleucina	11.69
Niacina	38.4	Leucina	23.08
Biotina	2.69	Lisina	11.49
Inositol	2772.7	Metionina	3.26
K	25.5	Fenilalanina	11.30
		Prolina	10.77
		Serina	13.79
		Treonina	13.90
		Triptófano	0.00
		Tirosina	9.17
		Valina	12.28
PIGMENTOS (g/kg mat. seca)			
Ficocianina	99.8		
Clorofila	18.4		
Carotenoides	8.28		
ÁC.GRASOS ESENC.(g/kg mat.seca)			
Linolénico	2.29		
Gamma-linolénico	0.3		

Fuente : Reportes de Investigación de *N. commune*. Litvinon, G. 1997. Ukraine-Moscú.

APLICACIONES E IMPORTANCIA

La necesidad actual de la producción de alimentos especialmente proteínas, el creciente costo de fertilizantes nitrogenados así como la necesidad de mejorar los suelos y conservar los recursos naturales constituyen factores que inducen a investigar sistemas vivientes fijadores de nitrógeno como el *Nostoc*.

N. commune a nivel mundial es conocido por sus diferentes aplicaciones: en la alimentación, medicina, cosméticos y otros. Es así que en Europa se utiliza como remedio y en Asia como artículo de comercio y alimento. Ésta alga además de ser una importante fuente de N, es una fuente potencialmente comercial para la alimentación, por sus proteínas, vitaminas como la E, C, B₁, B-caroteno etc. y para la prevención del cáncer de la mama (Aldave, 1995) (Huang, 1998).

En Latinoamérica es considerado como fuente alimenticia y fuente bioquímica por su elevado contenido proteico. En nuestro país es usado en las comidas y como medicina tradicional para la inflamación de los ojos y testículos y para la gota; también para aliviar las fétidas purgaciones, el dolor de oído y la tos y para incentivar el apetito.

Según Aldave (1989) *N. commune* posee 30 % de proteínas, un índice alto entre los productos naturales y donde su potencial nutritivo es igual al de la carne y leche de vacuno, pudiendo combatir la desnutrición proteica del poblador andino (Acleto, 1973), (Aldave, 1995).

Se encuentra en cantidades ilimitadas en numerosos lagos, lagunas, arroyos, manantiales, ríos y diversos ambientes acuáticos a todo lo largo de los andes del Perú.

Fué usado por los antiguos peruanos y españoles y se le conoce en América como: "Llullucha" término usado en Bolivia y Perú; "Yuyucho" término usado en Ecuador; "Amoxtle" en México y "Cushuro" término usado en el Perú que proviene de la voz quechua que significa crespo en alusión al cabello ensortijado o crespo de algunas personas en la región alto andina. Siendo ésta especie reportada para el departamento de Ancash, Cajamarca, Cuzco, Junín y La Libertad (Aldave, 1971; 1989).

A Nostoc se le conoce en Inglaterra como "Falden Stars", por su apariciones repentinas, en ella se presenta a *N. commune* abarcando especies como *N. articum* de las costas del Océano Ártico así como otras provenientes del Tibet y a *N. edule* abundante en los arroyos de Tartaria el cual además de ser consumido localmente también es exportado a

China. En Japón a *N. commune* se le conoce como "Nenjumo" y es utilizado en la dieta humana (Aldave, 1989).

La falta de capacidad adquisitiva de alimentos determinan el consumo de una dieta insuficiente, inadecuada, monótona y desequilibrada, ocasionando altos porcentajes de mal nutrición principalmente en los grupos de población socio-económica más deprimida, ubicados en el ámbito rural de la región andino peruana.

Teniendo en consideración a nivel mundial la búsqueda de nuevas fuentes alimenticias y materias primas no convencionales; nuestro país debe prepararse para combatir la desnutrición proteica, un grave mal que empeora cuando las grandes mayorías de nuestro Continente reciben una ración alimenticia incapaz de desarrollar todo su potencial y la producción que de ellos se podría esperar (Aldave, 1989).

El cultivo de Nostoc tiene importancia, ya que ocupa una posición basal en la pirámide alimenticia y posee la capacidad de convertir sales inorgánicas en compuestos orgánicos mediante la fotosíntesis haciéndola importante para acuicultores, biotecnólogos, ecólogos, etc.; su cultivo puede ser en forma masiva para utilizarse como suplemento en la dieta alimenticia humana, como fertilizante de tierra de cultivo o materia prima

en la obtención de productos químicos. Ésta alga puede ser obtenida directamente de poblaciones naturales o ser cultivada exitosamente para el uso industrial. Además de que conviene recordar que fue el oxígeno generado por la fotosíntesis de las algas verde azules, y posteriormente por las algas eucarióticas, mas desarrolladas, el que formó nuestra atmósfera. Actualmente, las algas realizan cerca de 50% de la fotosíntesis del planeta, lo que les ubica en una posición crucial para el mantenimiento de la vida en la tierra (Fuentes, 1999).

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. MUESTRA DE ESTUDIO.

Estuvo formado por el material algológico *Nostoc commune*, colectado de la zona alto andina de Tacna de los bofedales de Río Caño del distrito de Palca, provincia de Tacna, ubicado a 17°30' de Longitud Oeste y a 4500 msnm.

2.2. MUESTREO.

Se realizó en forma dirigida colectando directamente del cuerpo de agua y de las zonas superficiales, con ayuda de una espátula, las muestras de colonias compatibles a *N. commune* que luego se depositaron en frascos transparentes de boca ancha (Anexo 2A) y en frascos con formol al 4% para ser conservadas; se anotó las características del hábitat, forma, consistencia y mediciones de los diferentes tamaños de los especímenes y su color, se midió la temperatura del agua y su pH; también se colectó

del cuerpo de agua aproximadamente 500 ml de muestra de agua para su análisis físico químico. Las muestras fueron trasladadas inmediatamente al laboratorio de Biología de la Facultad de Ciencias de la UNJBG de Tacna para su estudio.

2.3. IDENTIFICACIÓN DEL ALGA Y ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO DEL AGUA DE RIO.

La identificación de *Nostoc commune* fué realizado por la Dra. Haydeé Montoya de la UNMSM, ella tuvo en cuenta las muestras macroscópicas (estado adulto) así como los cultivos obtenidos en el laboratorio para su debida identificación microscópica (Anexo 2E y 8A).

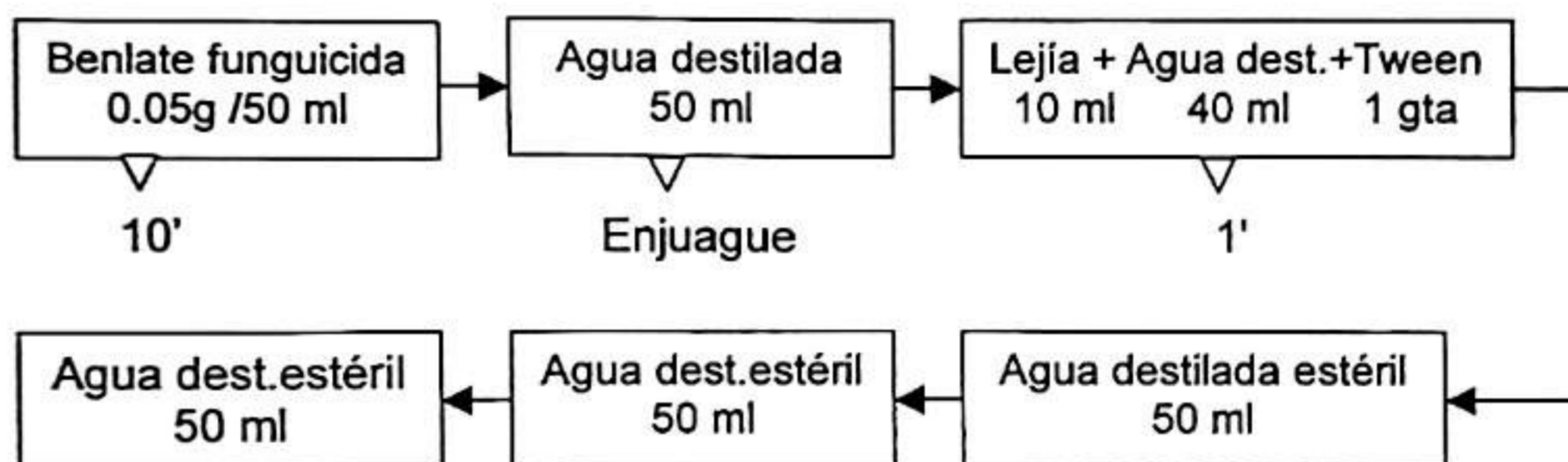
Los parámetros físico químicos que se tomaron en cuenta en el análisis del agua procedente de la zona de muestreo fueron: temperatura, pH, conductividad eléctrica y sales como: nitrato, fosfato, sulfato, cloruro y carbonato (Anexo 11).

2.4. TRATAMIENTO DE LA MUESTRA ALGAL Y CULTIVO PARA EL AISLAMIENTO de *Nostoc commune*.

En el laboratorio de Biología las muestras colectadas, fueron lavadas con chorros de agua fría, con la finalidad de remover de su

superficie materiales extraños, y luego enjuagados con agua destilada varias veces y finalmente desinfectadas considerando el siguiente esquema para la desinfección.

Esquema de desinfección :



Luego se efectuó, manualmente con un bisturí, cortes a la zona externa e interna del alga, éstos fueron posteriormente colocados y friccionados suavemente entre las superficie de dos láminas portaobjetos estériles para obtener una masa celular que enseguida fue depositada en una luna de reloj junto con gotas de agua destilada estéril para la obtención de una suspensión algal.

Posteriormente se sembró por estría un inóculo de la suspensión algal con ayuda de un asa de kohl sobre la superficie del medio MACE (30 ml), contenido en las placas petri, en forma de zig zag.

Las placas se colocaron en forma invertida en una estufa provista de un armazón con 2 fluorescentes de 20 watts que estuvieron a una distancia de 20 cm de las placas. Las placas estuvieron expuestas a una temperatura ambiente que fluctuó entre 16.4 °C y 28.6 °C entre los meses de febrero y marzo, hasta la aparición de pequeñísimas colonias a los 45 días de incubación, las cuales fueron compatibles a *Nostoc*, siendo separadas y trasladadas al laboratorio de Biotecnología Vegetal para ser purificadas mediante sucesivos cultivos de repicaje en el mismo medio de aislamiento (medio MACE), e incubadas en el cuarto de cultivo, en estantes con fluorescentes de 40 Watts y a una distancia de 40 cm de las placas en cultivo; para que finalmente los cultivos puros se identificaran (Anexo 3).

El cultivo identificado como *Nostoc commune* fue considerado como cultivo madre a partir del cual se obtuvieron por procedimientos de cultivo similar al de los pasos anteriores, los cultivos stock de colonias de *Nostoc commune* que fueron mantenidos a temperatura constante de 18 °C, éstos cultivos sirvieron para que a partir de ellos se obtengan varias colonias con pesos similares para que sean empleados en la experimentación como inóculos (Anexo 3G). Durante el proceso de aislamiento se

tomaron microfotografías de las colonias con un estereoscopio marca NIKON SH 2800 en IMARPE-Lima y microfotografías de los filamentos con un microscopio con cámara incorporada marca Beltec en el laboratorio de Botánica de la Facultad de Ciencias UNJBG-Tacna.

2.5. EXPERIMENTACIÓN.

La experimentación fué realizado entre los meses de agosto y octubre del 2002, en el laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la UNJBG, ubicado en el Centro Experimental Agrícola III "Los Pichones" con coordenadas geográficas : 17°59'33" de Latitud Sur, 70°14'22" de Latitud Oeste y de Altitud 532 msnm.

VARIABLES DE LA EXPERIMENTACIÓN

Para la experimentación se tuvo las siguientes variables:

Variables independientes :

- Temperatura: 18°C, 24°C y de ambiente (8.6°C-24.6°C).
- Nutrientes : MACE, BBM sin N y BBM

Variables dependientes:

- Crecimiento de *Nostoc commune*, considerando como indicador el peso húmedo de la colonia algal.

DISEÑO EXPERIMENTAL

Se empleó el Diseño Factorial Experimental 2^k con Pruebas Centrales, expresado en la siguiente Tabla:

Diseño a Escala Codificada				Diseño a Escala Natural		
Nº Experim.	X ₁	X ₂	Y	Temp. (°C)	Tipo de Nutriente	Crecimiento Peso (g)
1	-	-		18	MACE	
2	+	-		24	MACE	
3	-	+		18	BBM sin N	
4	+	+		24	BBM sin N	
5	0	0		amb*	BBM	
6	0	0		amb*	BBM	
7	0	0		amb*	BBM	
P. Blanco	-	0		18	Agar Agar	
	+	0		24	Agar Agar	
	0	0		amb*	Agar Agar	

* : temperatura ambiental : 8.6 °C - 24.6 °C

Signos:

valor mínimo(-); valor máximo(+) y valor centra(0)l.

Variables:

V. Independientes: X_1 = Temperatura en 3 niveles: 18°C, 24°C y ambiente (8.6 °C - 24.6 °C).

X_2 = Nutriente de 3 tipos: MACE, BBM sin N y BBM.

V. Dependiente: Y = Crecimiento del alga *N. commune* (peso húmedo).

Nutrientes:

MACE : Medio de Agua dulce para Conservación y Ensayo

BBM sin N : Medio Basal de Bold sin Nitrógeno

BBM : Medio Basal de Bold

INSTALACIÓN Y DESARROLLO DE LA EXPERIMENTACIÓN

Cada experimento se inició considerando las condiciones a que se tenía que someter según el Diseño Experimental, para lo cual sobre el medio de cultivo correspondiente (nutriente 30 ml) contenido en una placa petri se colocó en su centro el inóculo algal que consistió en una colonia del cultivo stock con un peso alrededor de 0.0043 g, luego la placa con el inóculo algal fue incubada en la estufa (cuarto de cultivo) a la temperatura correspondiente del experimento según el diseño (Anexo 4C y 4D) con una exposición diaria de 16 horas de luz blanca, proveniente de fluorescentes de 40

Watts, ubicada a una distancia de 40 cm de las placas en cultivo, y de 8 horas de oscuridad; hasta por un tiempo de un mes (30 días); luego del cual la colonia algal fue extraída de la placa para su evaluación.

Las pruebas experimentales del 1 al 4 y las pruebas centrales del Diseño Experimental fueron repetidos 3 veces y además de tener 3 réplicas el Diseño Experimental, todo ello para obtener un menor error experimental.

Se realizaron también pruebas en blanco, considerando para ello tan sólo como tipo de nutriente el agar agar sin ninguna adición de sales y colocadas a temperaturas iguales al diseño: 18°C, 24°C y temperatura ambiental; dichos resultados sirvieron como dato referencial y para el análisis de los resultados.

EVALUACIÓN DE LA EXPERIMENTACIÓN

Al término de la incubación (30 días) se determinó el peso húmedo de la colonia algal, y se trasladó en condiciones estériles hacia una balanza analítica marca Chyo jk-180 (Anexo 4B) en donde se determinó su peso húmedo. El valor del peso húmedo obtenido de la colonia algal de las repeticiones y réplicas de cada experimento y/o tratamiento del alga fueron promediados para que cada

experimento esté representado por un solo valor de peso húmedo como indicador del crecimiento y posteriormente fueron tratados los resultados del Diseño Experimental mediante el paquete del Software Statgraphics.

Se determinó también el valor de % de proteína total del alga por cada tipo de medio que fue incubada a 24 °C, para efectos de verificar y comparar el valor de % de proteína total en *Nostoc commune* dado por algunos investigadores; éste análisis fue determinada en el laboratorio de Química Analítica de la Facultad de Ciencias de la UNJBG con apoyo de la Facultad de Industrias alimentarias (Anexo 10).

2.6. DETERMINACIÓN DEL MÁXIMO CRECIMIENTO Y LOS EFECTOS DE TEMPERATURA Y NUTRIENTE SOBRE EL CRECIMIENTO ALGAL.

La determinación del máximo crecimiento de *Nostoc commune* y los efectos de la temperatura y nutriente sobre el crecimiento de la colonia algal se hizo sometiendo los datos de las Variables independientes de temperatura y nutriente y la Variable dependiente de crecimiento del alga, de cada experimento del

Diseño Estadístico de Escala Natural a un análisis en el Software STATGRAPHICS plus para window versión 4.1.

3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se hizo el Análisis de Varianza (ANVA) para determinar la confiabilidad del experimento utilizando también el Software STATGRAPHICS plus para window versión 4.1.

III. RESULTADOS

IDENTIFICACIÓN-UBICACIÓN TAXONÓMICA:

La identificación fue realizada por la Dra Haydee Montoya T. de la UNMSM, identificándose el alga obtenida de Río Caño como ***Nostoc commune***, para lo cual se tiene el conocimiento sistemático de Tovar(1996), Aldave(1989)y Doods (1995) quiénes reportan información taxonómica de ésta especie que a continuación se detalla:

***Nostoc commune* Vaucher 1803.**

Reino :	Monera
División:	Cyanophyta
Clase :	Cyanophyceae
Orden :	Hormogonales
Familia :	Nostocaceae
Género :	Nostoc
Especie:	<i>Nostoc commune</i> Vaucher

CUADRO 2. Evaluación promedio de peso húmedo a los 30 días de crecimiento de las colonias de *Nostoc commune*, realizado en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal de agosto a octubre del 2002.

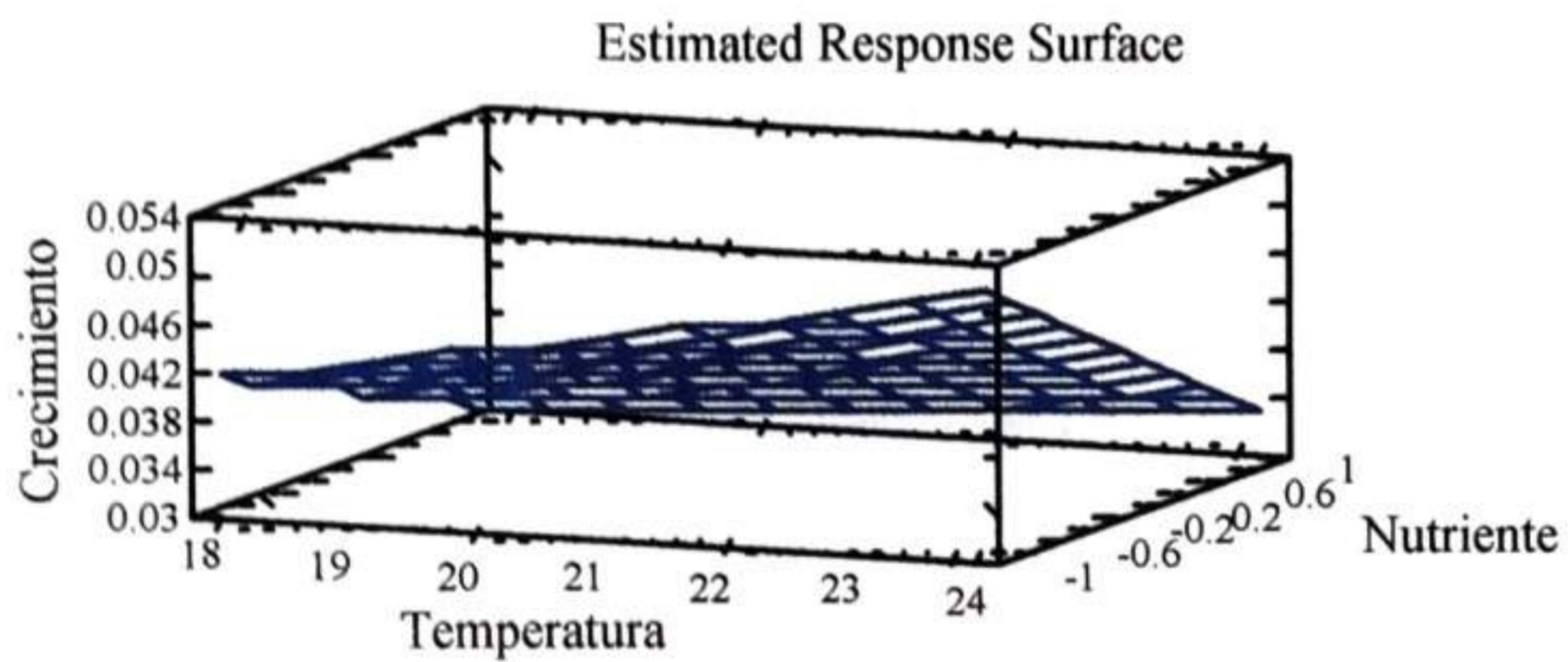
PRUEBA EXPERIMENTAL	TEMP. °C	TIPO DE NUTRIENTE	CRECIMIENTO (g)
01	18	MACE	0.0484
02	24	MACE	0.0579
03	18	BBM sin N	0.0360
04	24	BBM sin N	0.0402
05	*amb	BBM	0.0292
06	*amb	BBM	0.0298
07	*amb	BBM	0.0305
Pruebas Blanco	18	Agar Agar	0.0054
	24	Agar Agar	0.0078
	*amb	Agar Agar	0.0072

Fuente : Resultado obtenido en la parte experimental de laboratorio, reportado en peso húmedo (g) de las colonias de *N. commune*.

*amb : temperatura ambiental : 8.6°C – 24.6°C

En la evaluación del crecimiento de 30 días (promedio de 3 meses), se encontró diferentes valores para cada tipo de tratamiento y/o experimento, observándose un mayor crecimiento de las colonias en medio MACE y a temperatura de 24°C.

FIGURA 2. Efecto estimados de valores de temperatura y nutriente en el crecimiento.



Fuente: Elaboración propia. Figura proveniente del cuadro 2.

Se observa un mayor crecimiento de las colonias a medida que disminuye la concentración de sales en el tipo de nutriente y cuando se eleva la temperatura.

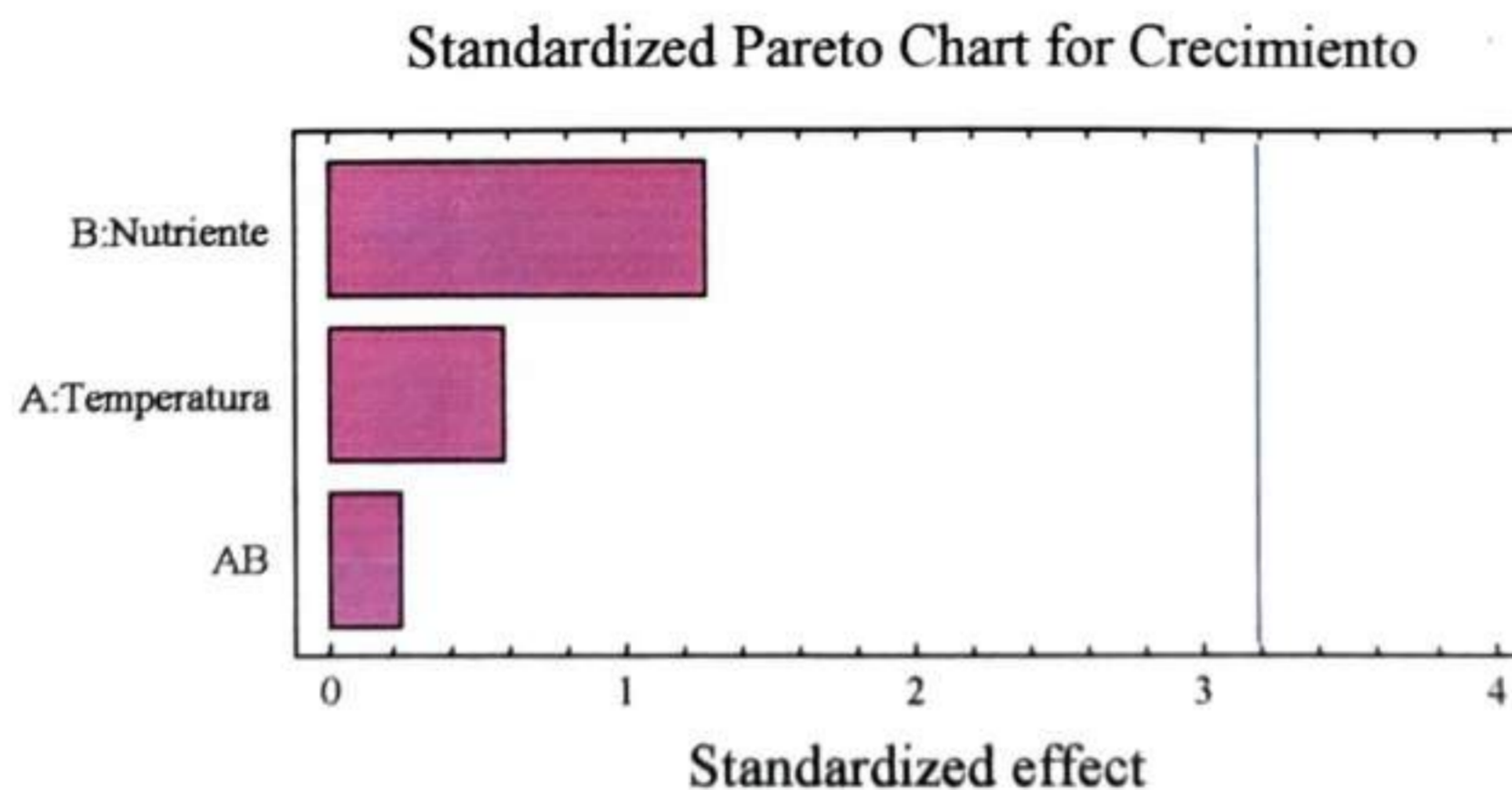
CUADRO 3. Efecto de los factores de temperatura y nutriente en el crecimiento de las colonias de *Nostoc commune*.

Promedio (crecimiento)	:	0.03890
A : Temperatura	:	0.00605
B : Nutriente	:	-0.01425
AB : Interacción	:	-0.00345

Fuente : Elaboración propia. Proveniente del cuadro 2

Para un crecimiento de 0.03890 g, según los signos se requiere aumentar la temperatura y disminuir la concentración de nutriente. El nutriente muestra una mayor pendiente (0.01425) por lo tanto es el que mas influye en el crecimiento.

FIGURA 3. Efecto de los factores de temperatura y nutriente en el crecimiento de las colonias de *Nostoc commune*.

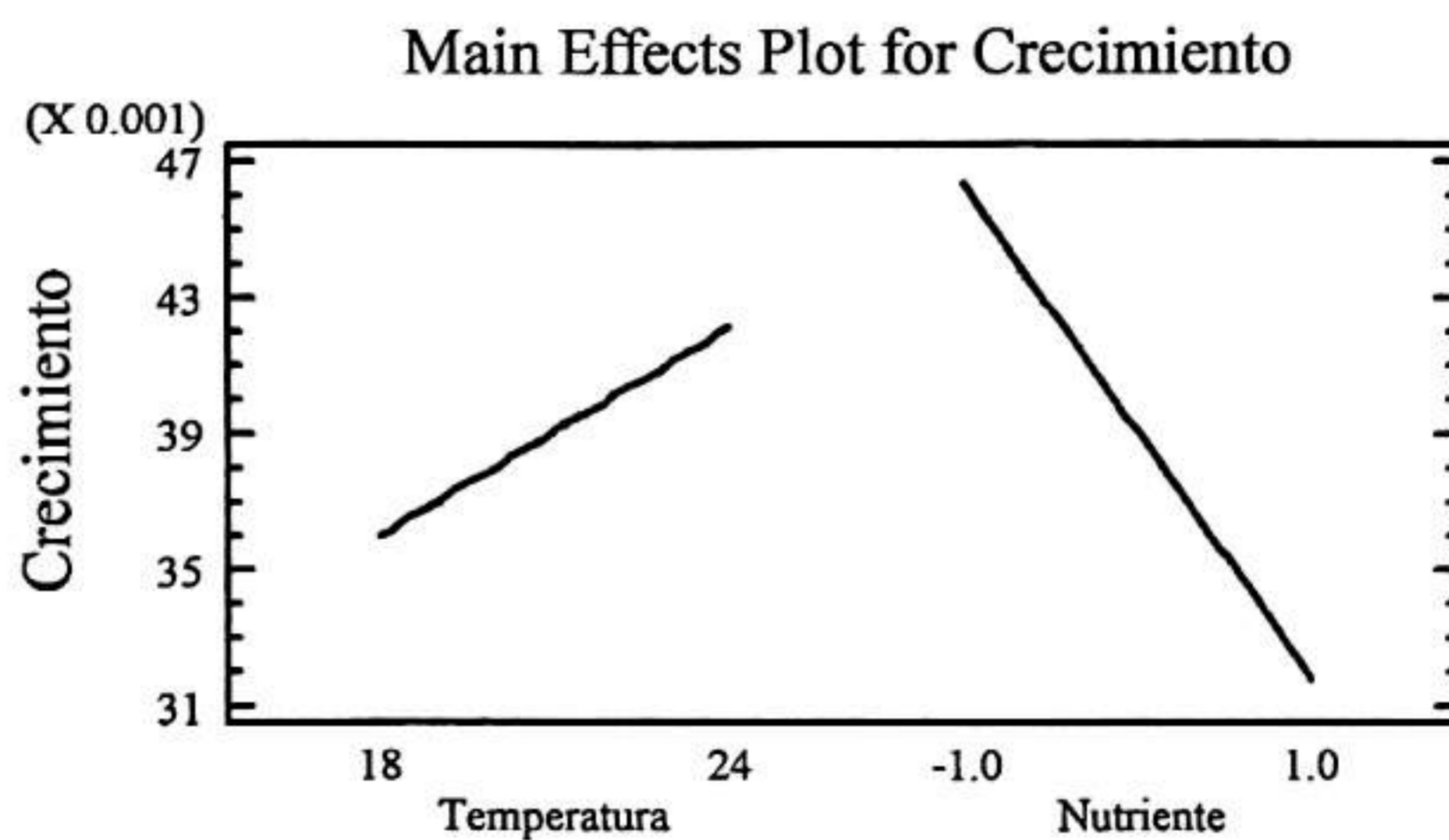


Fuente: Elaboración propia. Figura proveniente del cuadro 3.

Causa un mayor efecto la variable nutriente y menor efecto la variable temperatura.

Se encontró que los efectos de las variables independientes sobre el crecimiento de las colonias son diferentes; obteniéndose un mayor efecto con la variable nutriente y menor efecto con la variable temperatura.

FIGURA 4. Efectos principales en el crecimiento de *Nostoc commune*.



Fuente: Elaboración propia. Figura proveniente del cuadro 3.

El factor nutriente causa un mayor efecto en el crecimiento de las colonias de *N. commune* y se representa en mostrar una gradiente mas elevada que el factor temperatura.

CUADRO 4. Análisis de Variancia para el peso húmedo de *Nostoc commune* obtenidos en el Laboratorio de Biotecnología vegetal.

Factores	G. L.	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	Fc	Ft	*Sig	P-valor
A :Temperatura	1	0.0000366025	0.0000366025	0.24	10.13	*	0.6553
B :Nutriente	1	0.000203063	0.000203063	1.35	10.13	*	0.3289
AB	1	0.0000119025	0.0000119025	0.08	10.13	*	0.7966
Total Error	3	0.000450281	0.000150094				

*Sig : Nivel de significancia.

* : No significativo.

En el cuadro 4 del Análisis de Variancia se observa que los valores de F calculado de la temperatura, nutriente y la interacción de ambos es menor que la F tabular, lo que indica que no existe diferencias significativas a nivel de tratamientos, con un 95% de nivel de confianza. Su desviación standard es de 0.0122513.

Cuadro 5. Evaluación de Nitrógeno total (Proteína total) de *Nostoc commune* de cultivos de 24°C por el método Kjeldahl realizado en el Laboratorio de Química Analítica de FACL.

TIPO DE NUTRIENTE	PROTEÍNA TOTAL (mat. seca)
MACE	25.38 %
BBM sin N	21.88 %
BBM	24.50 %

Fuente : Elaboración propia.

Se observa un mayor contenido de Proteína Total en el medio MACE y una menor concentración en el medio BBM sin N.

IV. DISCUSIÓN

Para lograr el aislamiento e identificación de *Nostoc commune* se realizó una Pre instalación del experimento en el laboratorio, el día 02 de febrero del 2002 a temperatura ambiental que fluctuó entre 16.4°C- 28.6 °C, temperaturas que fueron mas elevadas con respecto a la temperatura del lugar de origen de la muestra algal (bofedal Río Caño), lo cual no favoreció inicialmente al desarrollo y crecimiento de Nostoc, sumándose a ello el uso de nutrientes artificiales (cultivo *in vitro*) todo ello influyó negativamente a su crecimiento, sufriendo una nueva adaptación a éste “nuevo hábitat”, por lo que demoró el cultivo primo inicial en dar lugar a la división de las células vegetativas. Al paso de los 45 días de cultivo se tuvo recién la aparición de pequeñísimas colonias de Nostoc las cuales fueron luego separadas; mientras que Aldave, (1989) obtiene su crecimiento entre los 7avo y 14avo días de cultivo.

Luego se instaló el experimento en el Laboratorio de Biotecnología vegetal para los continuos replicajes teniendo cuidado de no contaminarlos, para ello se usó una cámara de flujo laminar (Anexo 4A) donde finalmente se obtuvieron cultivos puros en stock, para la

identificación del alga, éstos se mantuvieron a 18 °C y en medio MACE, bajo éstas condiciones dadas se pudo lograr un stock de colonias de pesos húmedos similares de 0.0043 g para después ser enfrentadas al Diseño Experimental.

En el transcurso de la obtención de cultivos en stock, se notaron el desarrollo de colonias con variadas formas de crecimiento como lo muestra las Microfotografías del Anexo 6, tratándose de la misma especie y es que Mollenhauer (Doods et al, 1995) notó que las colonias de Nostoc colectadas en el campo muchas veces producían cultivos con diferentes tipos de morfologías coloniales al que fueron colectadas , así todos los datos basados en el morfotipo del material de campo no son necesariamente iguales a los obtenidos en el laboratorio a pesar de tratarse de la misma especie.

Así mismo Tovar (1996) menciona que para la determinación específica de las especies del género Nostoc se considera la forma de la colonia adulta, el tamaño, forma del aquineto y el hábitat, ya que éstos organismos heterocistados presentan un alto grado de polimorfismo debido a una posible influencia del ambiente natural, por lo que el aspecto morfológico de la especie estudiada demostró una gran variabilidad.

En el cuadro 2 podemos apreciar la evaluación de los pesos húmedos de las colonias, obtenidos del promedio de los 3 meses (Anexo 13). Si se compara los cuadros del anexo 13 se observa que las colonias han ido adaptándose mientras transcurría el tiempo y eso lo notamos en el segundo mes de cultivo donde el crecimiento de las colonias es mayor a comparación del primer mes y ya en el tercer mes se asemeja al crecimiento del mes anterior, adquiriéndose entonces una estabilidad en su crecimiento.

El cuadro 2 muestra que *N. commune* tuvo un mejor crecimiento en el medio MACE (baja concentración de sales) y con temperatura de 24 °C (más alto), siendo su peso húmedo más elevado que en las demás pruebas experimentales de 0.0579 g al término del mes de incubación. Éstos resultados muestran su buena adaptabilidad en cualquier ambiente, ya que su hábitat originario fue diferente a la sometida en el laboratorio; además ésta respuesta de crecimiento sugiere posibilidades de éxito en el cultivo de *N. commune* bajo diferentes condiciones ambientales con respecto a su hábitat .

También se observa en el cuadro 2 una diferencia entre los resultados de las pruebas experimentales lográndose situar como los más

óptimos en el crecimiento, en primer lugar al medio MACE a 24 °C y 18 °C, seguido por el medio BBMs sin N a 24 °C y 18 °C.

Mediante la siembra de las colonias en medios diferentes como MACE Y BBM sin N, nos confirmó un mejor crecimiento en medios de baja concentración de sales como es el medio MACE, en algunos trabajos de investigación, (Tovar, 1996) muestra que *N. commune* se desarrolla mejor en medios con ausencia de N, lo cual en el presente trabajo realizado se obtuvo resultados similares con la diferencia de probar que hay otro medio que es mucho mejor que BBM sin N y es el medio MACE, un medio de agua dulce para conservación y ensayo (Ward, 1983), así mismo se comprueba que éstas algas pueden sobrevivir sin muchas exigencias nutricionales según las pruebas en blanco realizadas.

El cuadro 3 muestra los resultados de los efectos producidos por las variables independientes de temperatura y nutriente en el crecimiento de las colonias de *N. commune* con signos positivo(+) y negativo (-); el signo positivo de la temperatura indica que debemos incrementar la temperatura y el signo negativo del nutriente bajar la concentración de sales para obtener un óptimo crecimiento, esto se explica, porque Nostoc es un alga que resiste grandes rangos de temperatura (Doods, 1995) y según la comparación de los análisis físico químico del agua de Río Caño

así como el de los medios nutritivos (Anexo 11), se puede ver que el crecimiento en su hábitat natural es de bajas concentraciones de sales, por lo tanto se requiere medios con condiciones similares al medio natural como es el caso del medio MACE.

Al efectuar el Análisis de Variancia (cuadro 4) se observa que no existe diferencias significativas a nivel de número de experimentos y/o tratamientos con un nivel de confianza o exactitud de 95%. Los valores de P (P-valor) que obtenemos son mayores de 0.05 por tanto podemos afirmar que los factores estudiados si causan un efecto en el crecimiento.

Mediante el diseño Factorial Experimental 2^k con pruebas centrales, se llegó a determinar el crecimiento de *N. commune* en la mínima y máxima temperatura así como en nutrientes de alta y baja concentración de sales y donde la temperatura no influyó notoriamente como el nutriente en su crecimiento al igual que la Interacción de ambos factores fue mínima (figura 3).

En la prueba experimental con el nutriente MACE, su efecto óptimo coincide con la respuesta favorable del indicador de peso húmedo alto de **0.0579** g y en base a ésta respuesta se puede demostrar que ésta prueba

experimental , fue el que tuvo mayor grado de efecto en el crecimiento del alga y por tanto mejor efectividad en el cultivo de *N.commune*.

De acuerdo a las diferencias observadas en el comportamiento del indicador de peso húmedo obtenidos en la evaluación del crecimiento de *N. commune*, se ha podido establecer diferencias entre los efectos de las diferentes temperaturas como es de 18 °C y 24 °C, así como los tipos de nutrientes MACE y BBM sin N, los cuales han sido probados y mostrados en la figura 1 y 4 en el cual el factor nutriente de baja concentración de sales (como un valor óptimo), es el que más influye en el crecimiento, no así ocurre con la temperatura ya que pese a que está en su valor óptimo (temperatura alta) no causa un efecto mayor o igual que el nutriente en el crecimiento de *N. commune*, ésto también queda verificado con las pruebas en blanco en donde la temperatura no es tan influyente como los nutrientes.

En el caso de las pruebas centrales el crecimiento ha sido mínimo o menor que las pruebas experimentales a pesar de haber empleado un medio nutritivo que se recomienda para su cultivo como es el Medio Basal de Bold (BBM) en cuanto a la temperatura ambiental según los resultados obtenidos en las pruebas en blanco influye de manera similar que la temperatura de 24 °C, por lo tanto las pruebas centrales han tenido una

temperatura casi óptima. Pero a pesar de ello según vemos en el crecimiento de *Nostoc* se ha manifestado en un grado tal, que no ha ocasionado una reproducción mayor, esto se explica debido a la influencia de la sobrecarga de sales en el nutriente BBM.

En cuanto a la verificación del contenido proteico de *N.commune* posee un 25.38% en el medio MACE, 21.88% en el medio BBMsinN y 24.50% en el medio BBM, resultados que difieren a los trabajos de investigación de Tovar, 1996 y Aldave, 1989 siendo muy probable esa diferencia a los diferentes medios empleados.

Los bofedales de Río Caño, ambiente de aguas continentales son formados por los desbordes del río del mismo nombre, cuyo caudal aumenta durante los meses de setiembre a febrero, constituyéndose como uno de los principales medios de producción de algas, llegando a convertirse en extensos ambientes alfombrados por estas algas. Según los análisis físico químicos del río Caño (Anexo11), los valores de la concentraciones de sales son mucho menores que el medio BBM (medio establecido para el cultivo de esta especie) en cambio ante el medio MACE la diferencia en la concentración de sales no es tan elevada.

Otro aspecto observado en éste trabajo experimental, es que el método empleado podría apoyar en los cultivos primarios en la multiplicación de las colonias para después ser trasladados a un lugar de cultivo tecnificado y en ello lograr su reproducción masiva para la obtención de materia prima elevada y ser utilizado como biofertilizantes, en la alimentación, en la medicina , etc. China Hao Jan Chu, 1988; Bilger, 1994 y Kohji, 1997.

El establecimiento de industrias en las zonas rurales proporcionarían empleo a las poblaciones locales por convertirse en una zona potencialmente productiva y en éste caso sería por la producción de Nostoc y su aplicación a la industria de alimentos para consumo humano (Paniagua, 1986).

V. CONCLUSIONES

- Se logró aislar e identificar el alga presente en los bofedales de Río Caño como *Nostoc commune*.
- Se obtuvo un mayor crecimiento de 0.0579 g de peso húmedo de las colonias de *Nostoc commune* en concentraciones bajas de nutriente que corresponde al medio MACE.
- Se obtuvo un mayor crecimiento a una temperatura alta de 24 °C.
- Causó mayor efecto en el crecimiento de *Nostoc commune* la variable nutriente y un menor efecto la variable temperatura.
- El valor promedio del contenido proteico de *Nostoc commune* fue de 25.38%.

VI. RECOMENDACIONES

- Evaluar la efectividad del cultivo de ésta alga en la industrialización como alimento y fertilizante a nivel de campos y/o pruebas pilotos experimentales.
- Estudiar los efectos de otros posibles factores influyentes en el desarrollo y crecimiento de *Nostoc commune*.
- Incentivar el cultivo y valorización de las algas nativas para las comunidades, con la colaboración de Universidades e Instituciones locales y extranjeras.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ACLETO, O. 1998. Introducción a las algas. Edit. Escuela Nueva S.A. Lima-Perú. 383 pp.
2. ACLETO, O. 1973. Las algas del Perú. Bol. Soc. Bot. VI 1 y 2.
3. ALDAVE, A. 1989. Algas. 1era ed. Edit. Libertad E.I.R.L. Trujillo-Perú. 309 pp.
4. ALDAVE A., H. Aldave. 1995. Medio Ambiente y Desarrollo Sustentable. CONCYTEC. Trujillo-Perú. 530 pp.
5. ALDAVE, A. 1971. Microalgas: Pan del futuro. Boletín de la Soc. Bot. La Libertad. Trujillo - Perú. 3(2): 151 – 157 pp.
6. ALDAVE, A. 1983. Algas Andino Peruanas como Recurso Hidrobiológico Alimentario. Texto de Ficología. Univ. Nac. Trujillo. 66 – 72 pp.
7. ALVEAL K., M. Ferrario, E. Oliveira y E. Sar. 1995. Manual de Métodos Ficológicos. 1era ed. Edit. Anibal Pinto S.A. Concepción - Chile.

8. BELNAP, J. 2000. Nitrogen fixation in biological soil crusts from southeast Utah, USA for *Nostoc commune*. *Biology and Fertility of Soils*. Vol 35, Iss 2, 128-135 pp.
9. BILGER, W. 1994. Photosynthetic activity of two developmental stages of a *Nostoc* strain (cyanobacteria) isolated from *Geosiphom pyriforme* (Mycota). Germany. *J. Pycolos* Vol 30 (2) : 225 – 230 pp.
10. BOWLER, M. and et al. 2000. Temporal variation in community composition and pigmentation of desert cyanobacterial soil crusts. *Microbial Ecology*. Vol 43, Iss 1, 13-25 pp.
11. BRAVO I., I. Ramilo, J. Franco, E. Marañón y S. Fraga. 1997. Colección de microalgas del centro Oceanográfico de Vigo. Instituto Español de Oceanografía . Madrid - España. Nº168. 32 pp
12. CABRERA S., V. Montecino. 1987. Fotosíntesis y cultivo masivo de microalgas. Edit IFOP - investigación pesquera. Santiago – Chile. Vol. 34 : 155 – 163 pp.
13. DODDS W., D. Gudder. And D. Mollenhauer 1995. The ecology of *Nostoc*. Germany. *J. Phycology*. Vol 31 (1) : 2 – 18 pp.

14. DE LA CUEVA, L. 1992. Tesis: Algas continentales y su difusión como recurso alimenticio en la crianza de cuyes y Cs. Naturales. Instituto Superior José Jiménez Borja. Tacna - Perú. 78 pp.
15. FUENTES, Ch. 1999. Temas de investigación propuestos sobre la llulluccha (Nostoc). ONG- Les Ideas Bleves (LIB) . Potosi - Bolivia. 5 pp.
16. HAO - JAN CHU and Chao - Tsi Tsang. 1988. Research and utilization of Cyanophytes in China Phycological Documentation. Vol 9: 450 – 481 pp.
17. HUANG, Z. ad et al. 1998. Studies on polysaccharides from three edible species of Nostoc (cianobacteria) with different colony morphologies. China. Vol 34 (6): 962 – 968 pp.
18. KOHJI, H. and et al. 1997. A comparison of physical properties, oxalate – oxalic acid soluble, substances, protein content, and in vitro protein digestibility of the blue-green alga *Nostoc commune* from the Philippines and Japan. Plant Foods for Human Nutrition. 50 : 287 – 294 pp.
19. LENNIHAN, R 1993. Nitrogen fixation and photosynthesis In high arctic forms of *Nostoc commune*. Bot. 72. 940-945 pp.

20. LITVINON, G 1997. Report on Investigations of *Nostoc commune* alga. Antenna Technology. Ukraine - Moscu. 7 pp.
21. PANIAGUA, J. 1986. Manual de Metodologías y Alternativas para el cultivo de microalgas. CICESE-ACUICULTURA. México. Informe especial N° 02. 93 pp.
22. PROYECTO : Cultivo experimental de Microalgas para consumo humano. (informe 1971 - 1974). Cooperación Técnica entre Perú y Alemania. Ministerio de pesquería. Dirección General de Investigación Científica y Tecnológica 87 pp
23. SATOH, K. and et al 2001. Recovery of photosynthetic systems during rewetting is quite rapid in a terrestrial cyanobacterium, *Nostoc commune*. Plant and Cell Physiology. Vol 43, Iss 2, 170-176 pp.
24. TOVAR, D. 1996. Líquenes fijadores de Nitrógeno atmosférico y sus ficobiontes en cultivo. Perú CONCYTEC – Serie ciencias No 006 / 0969 pp.
25. URIBE, E. 1997 Tecnología de cultivos de Microalgas. UCN - JICA Coquímbo – Chile. 42 pp

26. WARD, G., P. Parrish. 1983. Manual de Metodos de Investigación del medio ambiente acuático. EEUU. FAO No185. 63 pp.

REFERENCIAS DE INTERNET :

<http://www.bioimages.org.uk/HTML/T133557.HTM>

<http://www.pasteur.fr/recherche/banques/pcc/Medio.htm>

<http://www.biologie.uni-hamburg.de/b-online/e42/nostoc.htm>

elopez@alquimia.ench.ipn.mx

ANEXOS

ANEXO 1

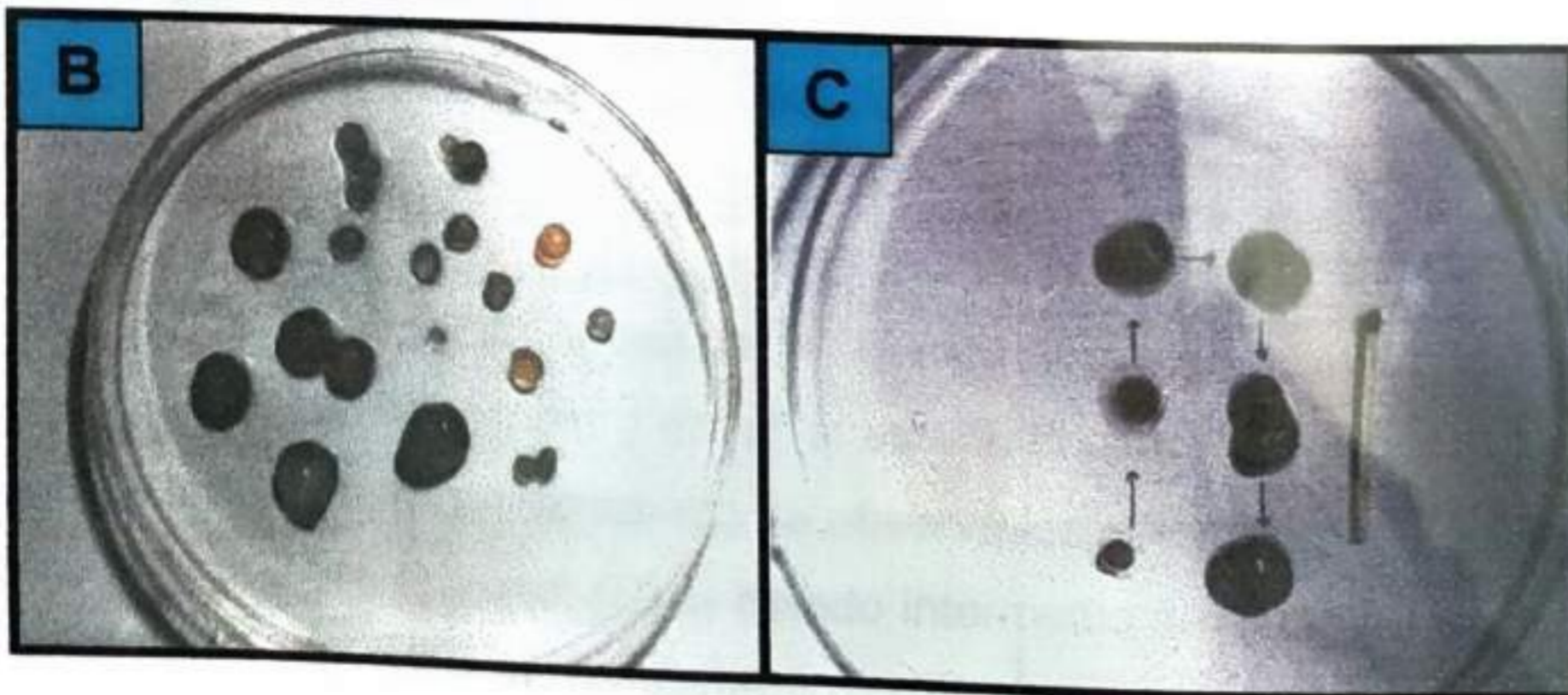
VISTA FOTOGRÁFICA DEL BOFEDAL DE RÍO CAÑO.

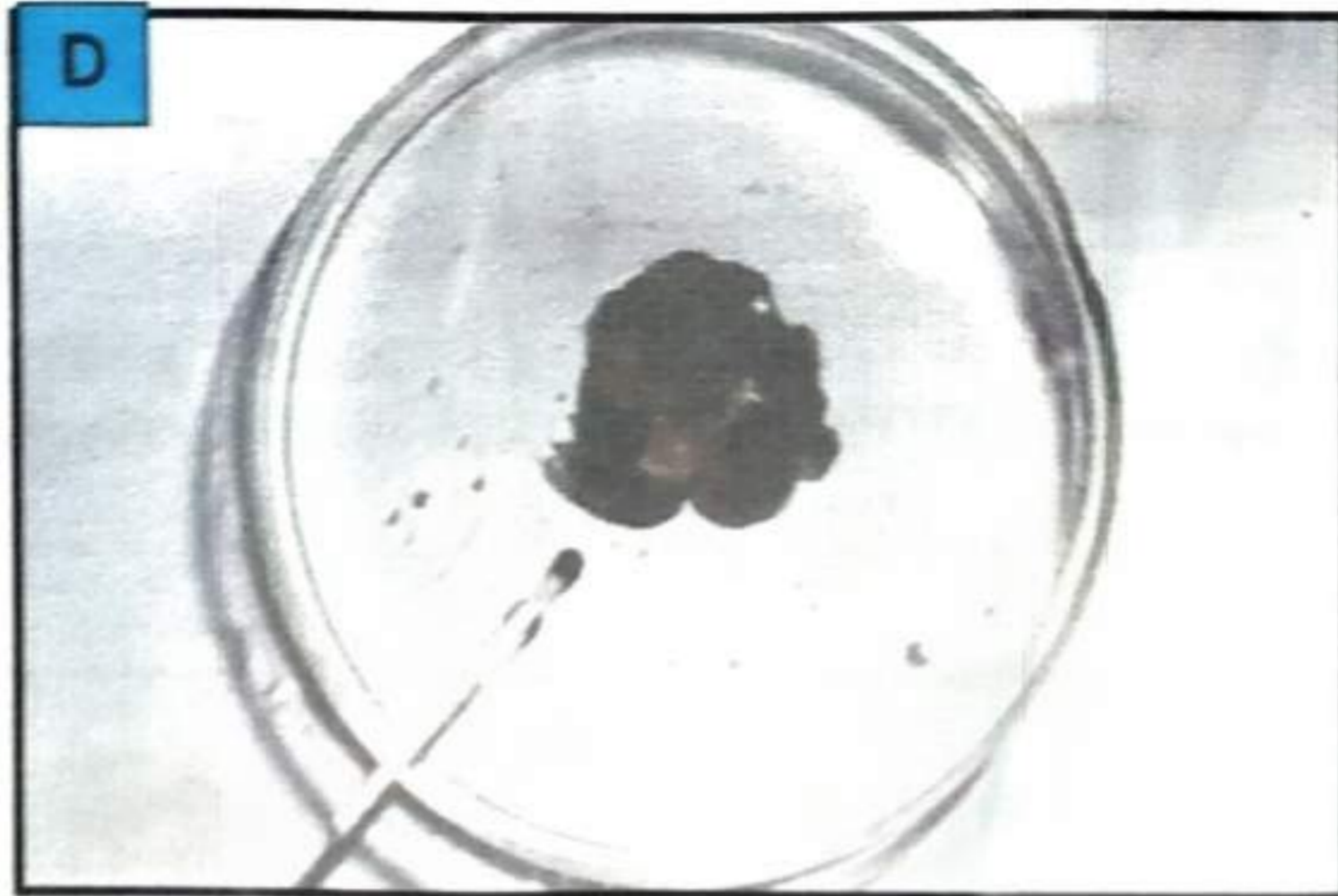


Nota : Vista panorámica del bofedal de Río Caño midiendo la temperatura.

ANEXO 2

VISTAS FOTOGRÁFICAS DE LOS ESTADÍOS DE *Nostoc commune* DE RÍO CAÑO.

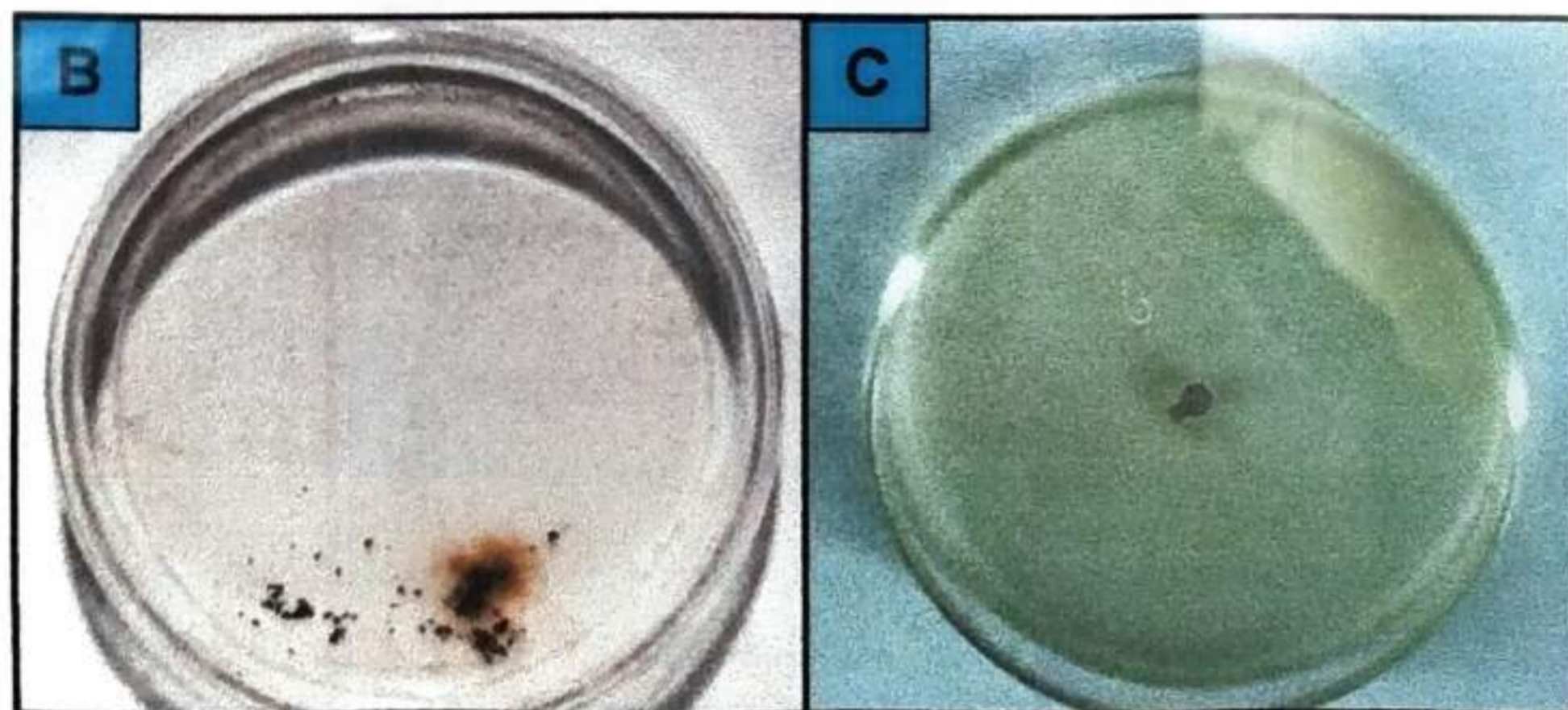
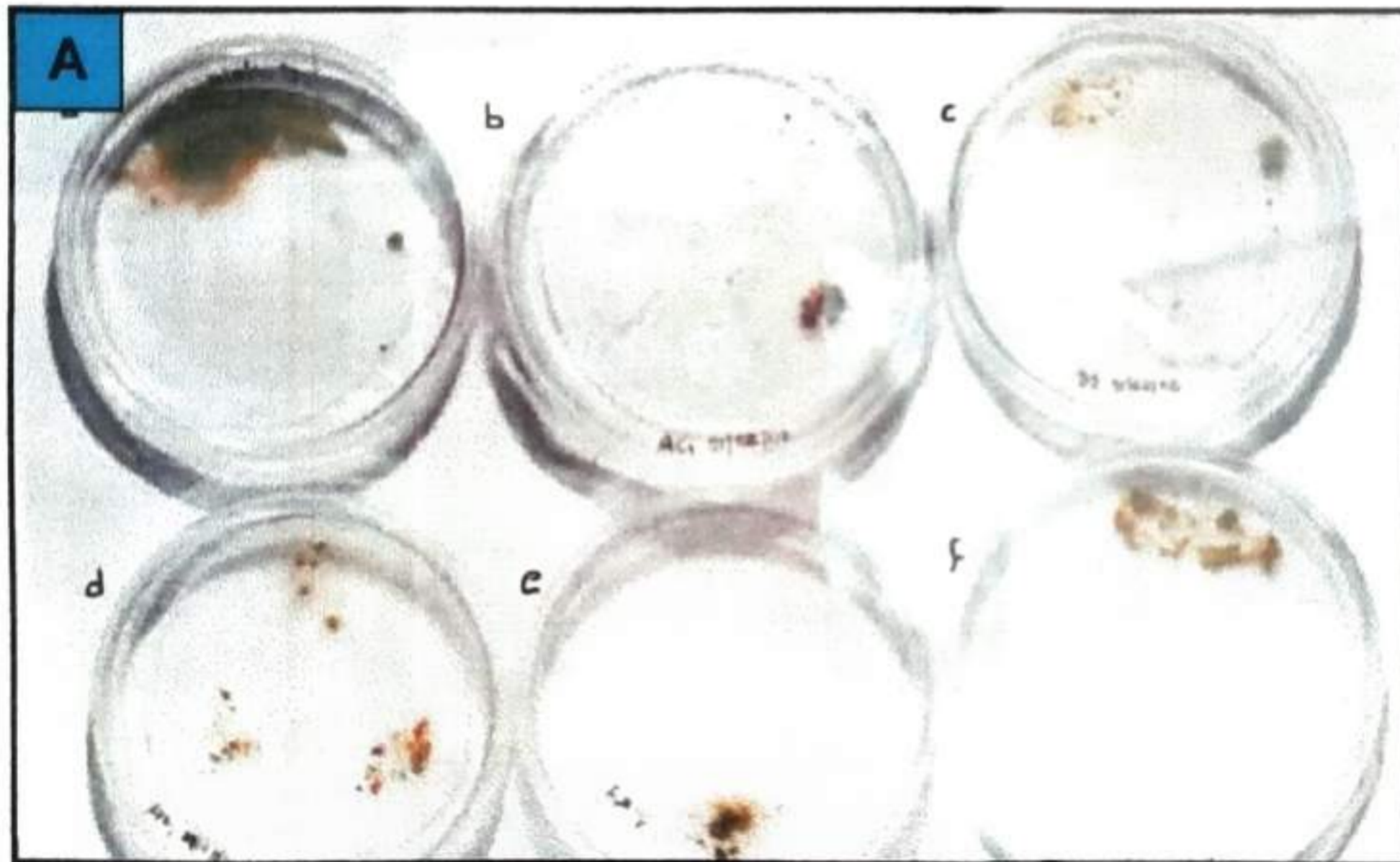


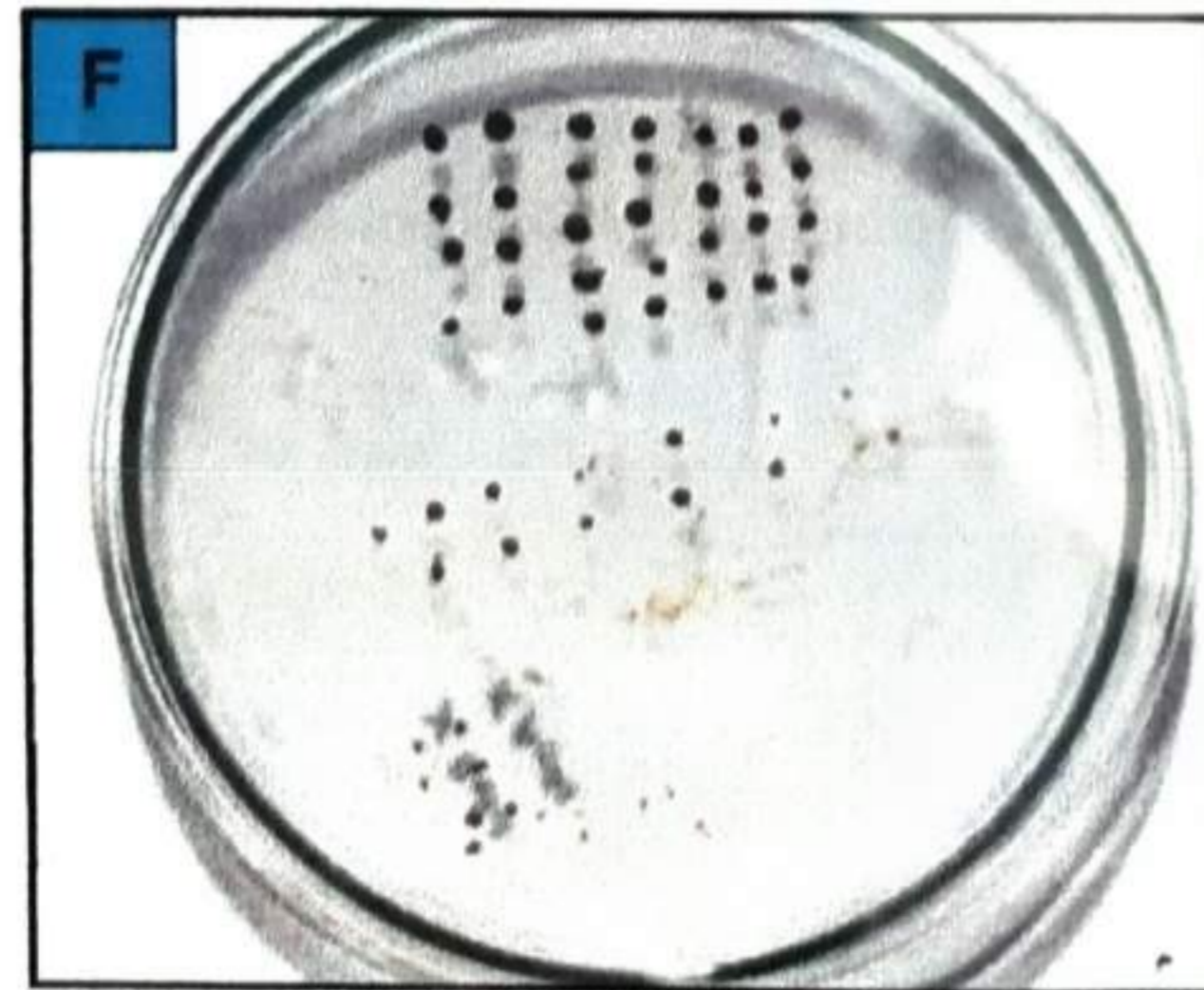


Nota : (A) se observa en el frasco "a" el estado juvenil del alga, en el frasco "b" el estado intermedio y en "c" el estado adulto. (B) se muestra el estado juvenil a mayor aumento. (C) se observa los cambios morfológicos que adopta el estado juvenil. (D) el estado intermedio a mayor aumento y en (E) el estado adulto a mayor aumento.

ANEXO 3

VISTAS FOTOGRÁFICAS DE LAS PLACAS DE CULTIVO *IN VITRO* DE *Nostoc commune* EN PROCESO DE AISLAMIENTO Y PURIFICACIÓN.







Nota : (A) placas de cultivos de primo aislamiento del alga obtenido de Río Caño. (B) se observa la placa "e" escogida entre todas a mayor aumento, a partir de ella se inicia la purificación del alga. (C) crecimiento de una colonia aislada de la placa de primo aislamiento. (D) 1^{era} generación de la colonia aislada de la placa de primo aislamiento. (E) 2^{da} generación (cultivo puro o placa madre). (F) colonias derivadas del cultivo puro para obtener un stock de colonias de pesos similares. (G) vista fotográfica de los cultivo en medio MACE y mantenidas a temperatura de 18 °C.

ANEXO 4

ESTERILIZACIÓN Y CULTIVOS EXPERIMENTALES.

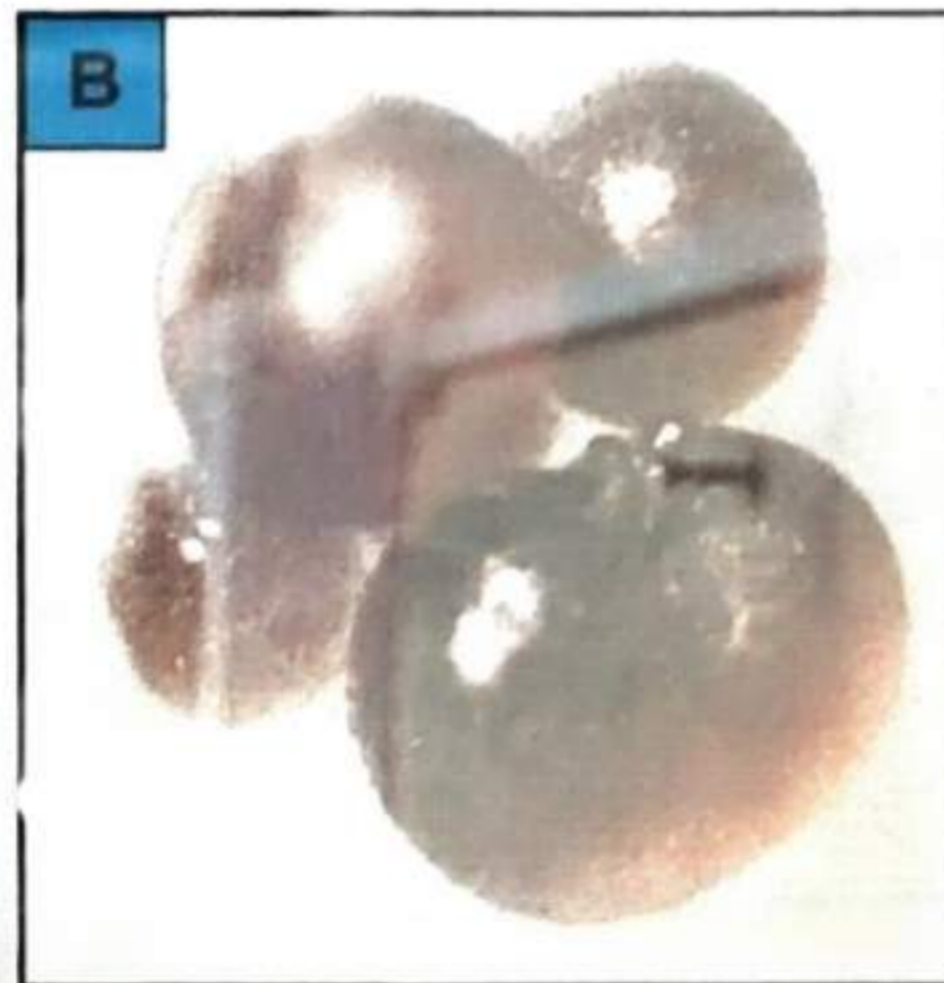
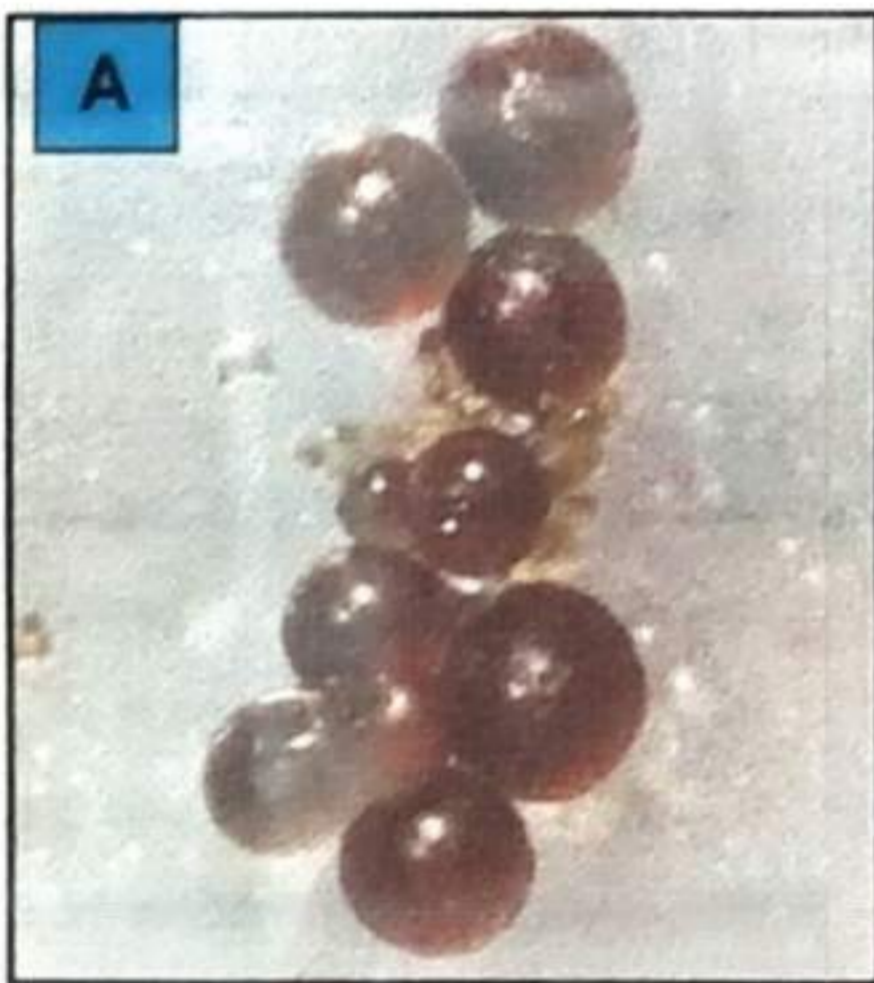


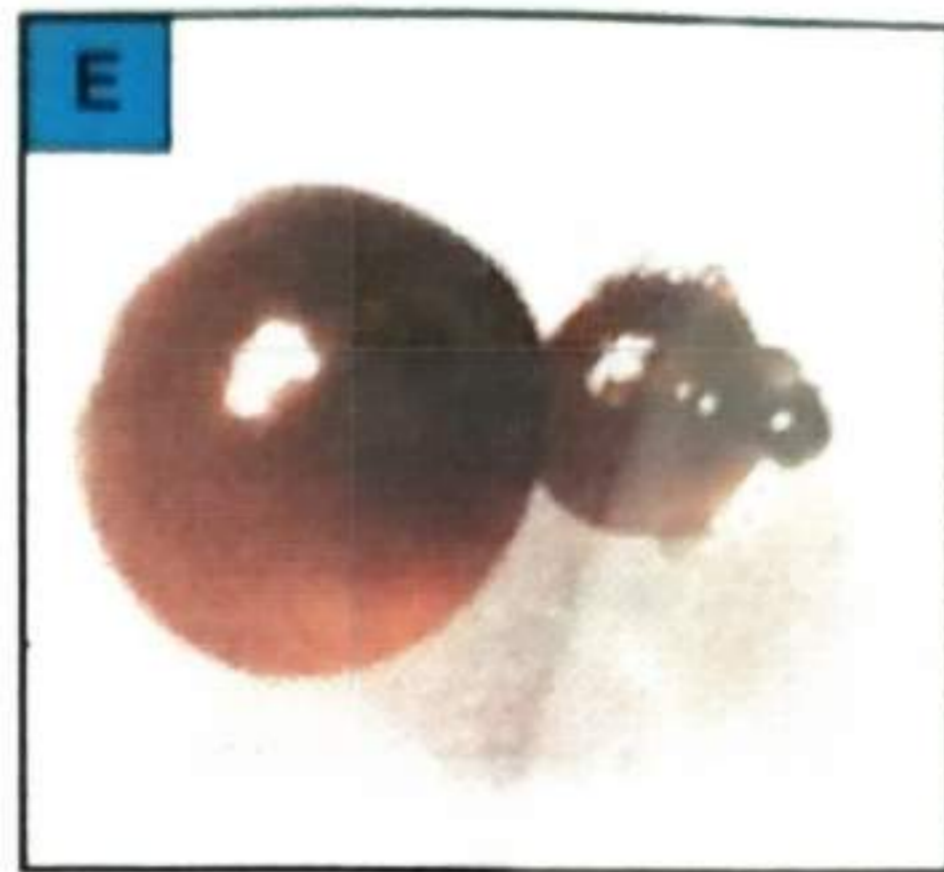


Nota : (A) equipo de cámara de flujo laminar donde se realizaron los repicajes. (B) pesaje de las colonias. (C) en el estante superior: cultivos de colonias del experimento a 24 °C, en medio MACE y BBMs sin N por triplicado. (D) cultivos a temperatura ambiente (8.6°C – 24.6 °C) de placas con medio BBM que representa a las pruebas centrales del experimento por triplicado.

ANEXO 5

MICROFOTOGRAFÍAS DE LAS COLONIAS DE *Nostoc commune* EN PROCESO DE AISLAMIENTO EN MEDIO MACE Y A TEMPERATURA DE 18 °C.

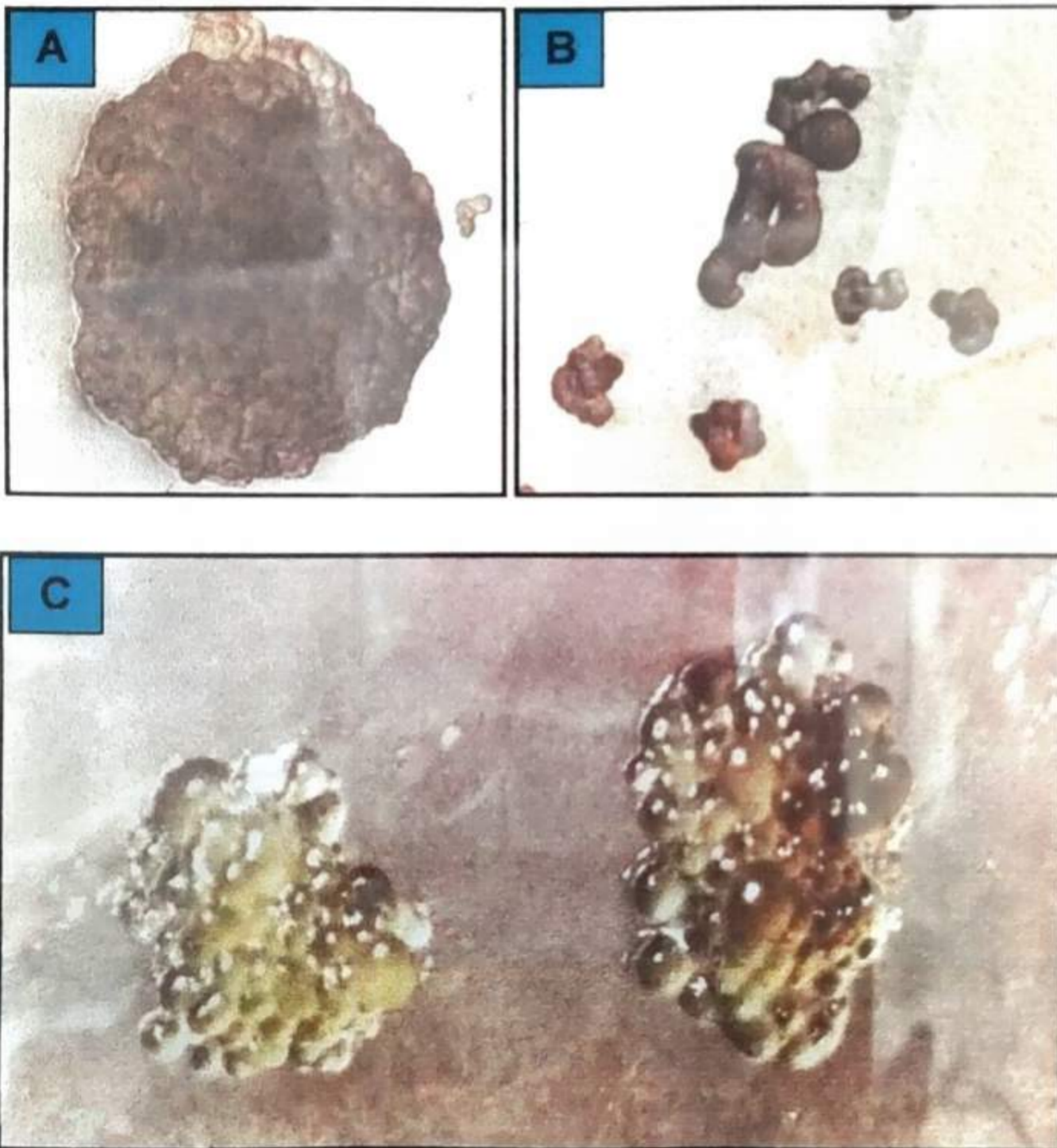




Nota : (A) grupo de colonias de formas redondeadas (45 aumentos). (B) se observa la membrana de la colonia y a través los filamentos microalgales (70 aumentos). (C) agrupación de varias colonias mostrando diferentes pigmentaciones (20 aumentos). (D) nacimiento de una colonia así como otras más pequeñas de la superficie de una colonia mayor (60 aumentos). (E) desprendimiento y/o nacimientos consecutivos de una colonia a otra (60 aumentos).

ANEXO 6

MICROFOTOGRAFÍAS DE LAS DIFERENTES MORFOLOGÍAS QUE ADOPTA LAS COLONIAS DE *Nostoc commune*.





Nota : (A) colonia tumultuosa que reúne varias colonias entrelazadas (45 aumentos). (B) colonias que muestran diferentes formas (30 aumentos). (C) aglomeración de varias colonias formando una colonia mayor (30 aumentos). (D) colonias con bordes rugosos (60 aumentos). (E) colonias de bordes lisos (60 aumentos).

ANEXO 7

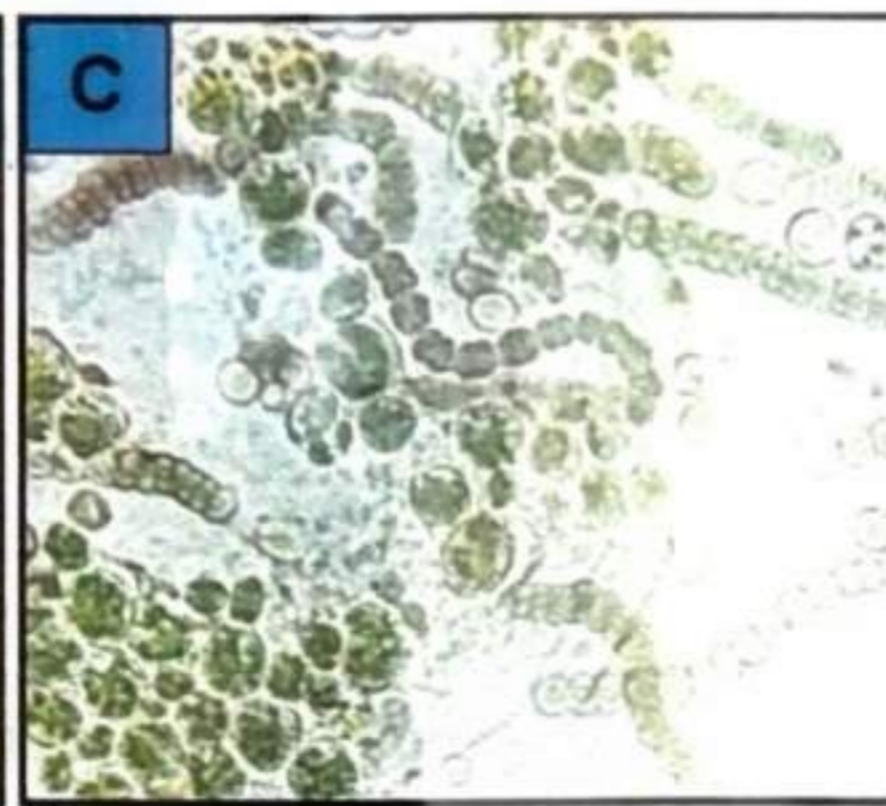
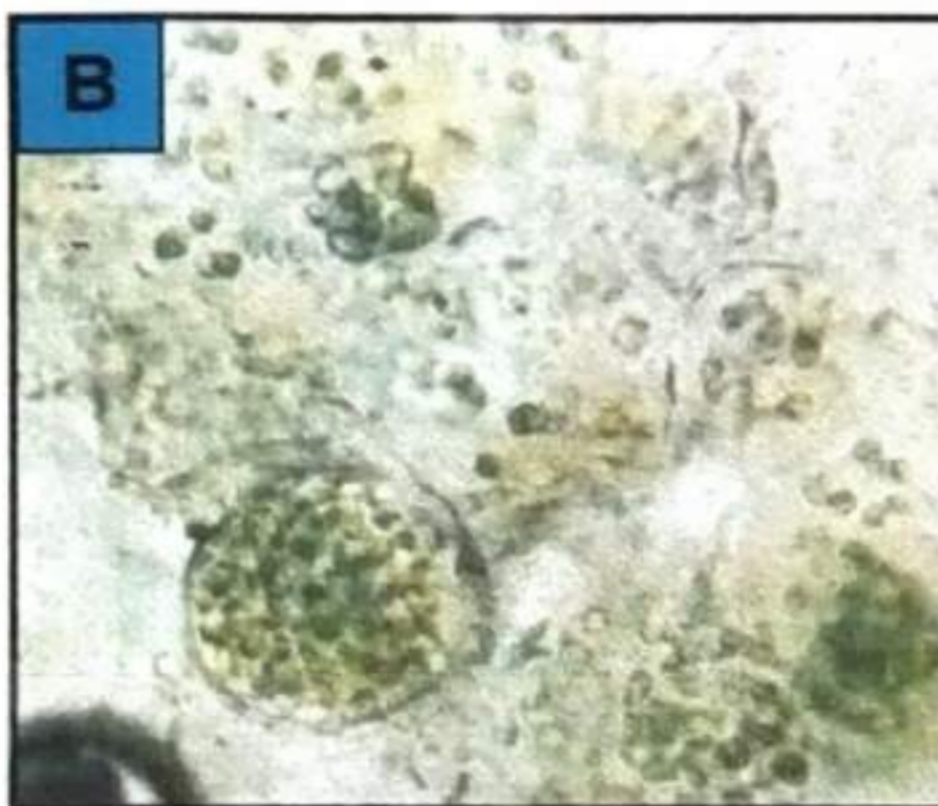
MICROFOTOGRAFÍAS DE COLONIAS DE *Nostoc commune*
ATACADAS POR BACTERIAS Y EN ESTADO DE DESECACIÓN.



Nota: (A) colonias atacadas por bacterias (60 aumentos). (B) colonias en estado de desecación y/o necrótica (45 aumentos).

ANEXO 8

MICROFOTOGRAFÍA DE LOS FILAMENTOS, CÉLULAS VEGETATIVAS Y HETEROCISTOS DE *Nostoc commune*:



Nota : (A) filamentos de células vegetativas y heterocistos de *N.commune* (400 aumentos). (B) formación de colonias por enrollamiento de tricomas para su posterior división (400 aumentos). (C) engrosamiento gradual de los tricomas para su posterior división (400 aumentos).

ANEXO 9

MEDIOS DE CULTIVO

Se prepararon soluciones stock de macro y micronutrientes con sustancias químicas inorgánicas que actúan como nutrientes, buffer y quelantes. La esterilización se realizó en autoclave por 20 minutos a 15 libras de presión y 121°C de temperatura con la finalidad de prevenir la contaminación.

MEDIO BASAL DE BOLD (BBM) (BISCHOFF y BOLD, 1964) pH 6.2

Preparación de soluciones stock en 100 ml de agua destilada de cada una con las siguientes sales :

- 2.50 g NO_3
- 0.25 g CaCl_2
- 0.75 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
- 0.75 g $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$
- 1.75 g KH_2PO_4
- 0.25 g NaCl

Luego a un matraz de 2L con 936 ml de agua destilada fueron adicionados 10 ml de cada una de las soluciones Stock y 1.0 ml de cada una de las siguientes trazas de elementos preparados como sigue :

- (1) 1g de EDTA y 0.62 g de KOH disueltos en 20 ml de agua destilada.
- (2) 0.0996 g de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ disueltas en 20 ml de agua acidificada (0.02 ml de H_2SO_4 disuelto en 20 ml de agua destilada).

(3) 0.2284 g de H_3BO_3 disuelto en 20 ml de agua destilada

(4) Las siguientes sales disueltas en 100 ml de agua destilada :

0.882 g $\text{Zn SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

0.144 g $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$

0.071 g Mo O_3

0.157 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

0.049 g $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

MEDIO BASAL DE BOLD MODIFICADO SIN NITRÓGENO (BBMsinN)

pH 6.2

Contiene todos los ingredientes del medio Basal de Bold antes indicados a excepción de la fuente nitrogenada.

MEDIO DE AGUA DULCE PARA CONSERVACIÓN Y ENSAYO (MACE)

pH 6.2

Preparación de solución madre macronutritiva stock en 100 ml de agua destilada de cada una con las siguientes sales :

2.50 g Na NO_3

0.44 g $\text{Ca Cl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

1.47 g $\text{Mg SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

0.10 g $\text{K}_2\text{H PO}_4$

1.22 g $\text{Mg Cl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

1.50 g Na HCO_2

Preparación de soluciones madre micronutritiva stock como sigue :

(1) 0.07 g Co Cl_2 en 100 ml

(2) 0.09 g Cu_4SO_2 en 10 ml (diluir 1 ml de ésta solución en 1L: solución madre)

(3) A 100 ml de agua destilada añadirle :

0.0185 g H_3BO_3

0.0613 g $\text{Mn SO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$

0.0033 g Zn Cl_2

0.0006 g $(\text{N H}_4)_6 \text{Mo}_7 \text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$

0.0160 g $\text{Fe Cl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

0.0300 g $\text{Na}_2 \text{EDTA}$

1 ml de los dos micronutrientes (1) y (2).

El medio de conservación y ensayo se prepara añadiendo 1ml de cada una de las soluciones macronutritivas y 1ml de la solución micronutritiva madre número (3) a 1 litro de agua destilada.

ANEXO 10

DETERMINACIÓN DE NITRÓGENO TOTAL (PROTEÍNA TOTAL). (Método Kjeldahl)

- Secar las muestras en una estufa a 60°C durante 24 horas.
- Pesar 0.1 g de muestra (por triplicado) e introducirla en un matraz de Kjeldahl de 30ml.
- Agregar 1 g de la mezcla catalítica (20g de sulfato de sodio anhidro) con 1g de sulfato de cobre). Luego agregar 2 ml de ácido sulfúrico concentrado.
- Colocar los matraces en el digestor, calentar y prolongar la digestión hasta la aparición de un color verde claro.
- Remover los matraces, dejarlos enfriar y agregar cuidadosamente agua destilada hasta la mitad del bulbo del matraz.
- Colocar en un erlenmeyer de 50 ml, 15 ml de ácido bórico al 2% (40g de ácido bórico en 2 litros de agua destilada).
- Agregar 7 ml de solución indicadora (450 mg de rojo de metilo y 250 ml de alcohol. Colocar el erlenmeyer debajo del tubo del condensador del aparato de destilación.
- Agregar 4 ml de hidróxido de sodio al 50%.
- Destilar hasta que se recolecte aproximadamente. 30 ml del destilado.

- Titular con ácido clorhídrico 0.1N hasta el viraje del indicador (el indicador cambia de verde a gris azul y a púrpura a medida que pasa desde un medio alcalino a neutro y ácido respectivamente).
- Realizar simultáneamente una prueba en blanco usando los mismos reactivos empleados para las muestras. Destilar y titular.

Los cálculos seguidos para determinar el porcentaje de Proteína Total fue:

- Restar los ml de HCl 0.1N gastados en la muestra menos los ml de HCl 0.1N gastados en el blanco.
- Multiplicar el resultado por 1.4, esto nos dió los miligramos de nitrógeno de un gramo de muestra.
- El producto obtenido se multiplicó por el factor 6.25 y nos dió la cantidad de proteína que hay en 1 gramo de muestra.

ANEXO 11

FACTORES FISICO QUÍMICOS

TEMPERATURA: Con termómetro de mercurio de escala 0°C a 50°C (campo).

pH: Con varillas de papel Merk en campo y con electrodos en el laboratorio.

CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA: Conductímetro de marca Hach modelo CO150.

SALES : Con el Espectrofotómetro de marca Hach modelo DR/2000.

Nitrato.- (Técnica 353 entre 0 y 4.5 mg/l). Se llenó 2 cubetas con 25 ml de muestra y agua destilada agregándose 1 sachet del reactivo NitraVer5 nitrate reagent Powder Pillow a cada cubeta, se agitó y se esperó 5min. para la lectura de NO_3^- , cuyo resultado se multiplicó por el factor 4.4.

Fosfato.- (Técnica 490 entre 0 y 2.5 mg/l). Se llenó 1 cubeta con la muestra y se agregó el reactivo PhosVer3 se agitó y se esperó 2min. para la lectura de PO_4^{3-} con previa lectura del blanco.

Sulfato.- (Técnica 680 entre 0 y 70 mg/l). Se llenó una cubeta con 25ml de muestra y se agregó el reactivo SulfaVer4, se agitó y se esperó 5min. para la lectura de SO_4^{2-} con previa lectura del blanco.

ANEXO 12

FLUCTUACIONES DE TEMPERATURA MÁXIMA, MEDIA Y MÍNIMA PARA LOS MESES DE AGOSTO, SETIEMBRE Y OCTUBRE DEL 2002 EN LA LOCALIDAD DE TACNA

Mes : agosto

Día	T° Máx. °C	T° Med °C	T° Mín. °C
01	17.4	13.30	09.2
02	19.3	14.90	10.5
03	16.9	14.15	11.4
04	17.3	14.25	11.2
05	19.4	15.20	11.0
06	17.0	14.00	11.0
07	21.2	14.95	08.7
08	19.6	15.50	11.4
09	19.0	14.80	10.8
10	18.4	14.90	11.4
11	18.0	13.30	08.6
12	19.7	15.45	1.2
13	20.0	15.25	10.5
14	21.0	15.60	10.2
15	21.2	15.70	10.2
16	20.6	15.95	11.3
17	17.1	14.30	11.5
18	16.8	14.00	11.2
19	17.7	28.50	10.8
20	19.5	15.05	10.6
21	19.8	15.20	10.6
22	21.2	15.50	09.8
23	18.4	14.10	09.8
24	18.6	14.60	10.6
25	21.6	15.50	09.4
26	24.3	17.50	10.7
27	19.7	16.15	12.6
28	16.7	14.60	12.5
29	19.1	15.65	12.2
30	16.5	14.15	11.8
31	18.0	14.50	11.0
PROM	19.06	15.37	10.76

Mes : setiembre

Día	T° Máx. °C	T° Med °C	T° Mín. °C
01	20.4	16.10	11.8
02	20.1	16.05	12.0
03	20.3	15.70	11.1
04	20.0	15.50	11.0
05	19.3	15.50	11.7
06	20.7	16.40	12.1
07	20.6	15.55	10.5
08	20.1	15.95	11.8
09	20.5	16.45	12.4
10	20.0	15.30	10.6
11	19.8	16.00	12.2
12	20.0	15.80	11.6
13	20.0	16.10	12.2
14	19.3	15.95	12.6
15	21.8	17.00	12.2
16	21.1	16.05	11.0
17	20.2	16.35	12.5
18	21.6	17.20	12.8
19	20.4	16.40	12.4
20	20.4	16.00	11.6
21	18.9	15.30	11.7
22	21.4	16.50	11.6
23	23.4	17.10	10.8
24	23.0	17.00	11.0
25	22.3	16.15	10.0
26	22.5	16.50	10.5
27	23.6	17.20	10.8
28	23.0	17.20	11.4
29	21.3	17.45	13.6
30	21.5	17.45	13.4
PROM	20.92	16.31	11.70

Fuente : Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología. Dirección Regional Tacna-Moquegua. Estación MAP-Jorge Basadre Grohmann. Latitud sur: 18°01"; Longitud oeste: 70°15"; Altitud: 560 msnm.

Cloruro.- A 50 ml de muestra, se agregó el indicador K_2CrO_4 al 5%, titulándose luego con $AgNO_3$ 0.025N.

Carbonato.- Con el indicador Fenolftaleína para ver la presencia de carbonatos; al no haber viraje de color ya no fue necesaria la titulación.

Análisis físico químico de Río Caño

pH	T° H ₂ O °C	T° Amb °C	Sales mg/l					C. electr. ms.	C. sales mg/l
			NO ⁻³	PO ₄ ⁻³	SO ₄ ⁻³	Cl ⁻	CO ₃ ⁻		
6.2	6.5-16.5	8.5-23.5	1.8	0.28	13	10.38	NE	0.23	135.22

Fuente: Análisis realizado en el laboratorio de EPS- Tacna. Febrero 2002

C. electr. : Conductividad eléctrica

C. sales : Concentración de sales

Análisis físico químico de los Medios Nutritivos empleados en el Experimento.

Medios Nutritivos	pH	NO ⁻³ mg/l	PO ₄ ⁻³ mg/l	SO ₄ ⁻³ mg/l	C. electr. ms.	C. sales mg/l
MACE	6.2	40.28	1.89	18.00	0.38	223.41
BBM sin N	6.2	-	198.00	200.00	0.53	311.60
BBM con N	6.2	189.20	198.00	200.00	0.90	529.12

Fuente: Análisis realizado en el laboratorio de EPS- Tacna. Julio 2002

ANEXO 12

FLUCTUACIONES DE TEMPERATURA MÁXIMA, MEDIA Y MÍNIMA PARA LOS MESES DE AGOSTO, SEPTIEMBRE Y OCTUBRE DEL 2002 EN LA LOCALIDAD DE TACNA POR DÍA.

Mes : agosto

Día	T ^o Máx. °C	T ^o Med °C	T ^o Mín. °C
01	17.4	13.30	09.2
02	19.3	14.90	10.5
03	16.9	14.15	11.4
04	17.3	14.25	11.2
05	19.4	15.20	11.0
06	17.0	14.00	11.0
07	21.2	14.95	08.7
08	19.6	15.50	11.4
09	19.0	14.80	10.6
10	18.4	14.90	11.4
11	18.0	13.30	08.6
12	19.7	15.45	1.2
13	20.0	15.25	10.5
14	21.0	15.60	10.2
15	21.2	15.70	10.2
16	20.6	15.95	11.3
17	17.1	14.30	11.5
18	16.8	14.00	11.2
19	17.7	28.50	10.8
20	19.5	15.05	10.6
21	19.8	15.20	10.6
22	21.2	15.50	09.8
23	18.4	14.10	09.8
24	18.6	14.60	10.6
25	21.6	15.50	09.4
26	24.3	17.50	10.7
27	19.7	16.15	12.6
28	16.7	14.60	12.5
29	19.1	15.65	12.2
30	16.5	14.15	11.8
31	18.0	14.50	11.0
PROM	19.06	15.37	10.76

Mes : setiembre

Día	T ^o Máx. °C	T ^o Mod °C	T ^o Mín. °C
01	20.4	16.10	11.8
02	20.1	16.05	12.0
03	20.3	15.70	11.1
04	20.0	15.50	11.0
05	19.3	15.50	11.7
06	20.7	16.40	12.1
07	20.6	15.55	10.5
08	20.1	15.95	11.8
09	20.5	16.45	12.4
10	20.0	15.30	10.6
11	19.8	16.00	12.2
12	20.0	15.80	11.6
13	20.0	16.10	12.2
14	19.3	15.95	12.6
15	21.8	17.00	12.2
16	21.1	16.05	11.0
17	20.2	16.35	12.5
18	21.6	17.20	12.8
19	20.4	16.40	12.4
20	20.4	16.00	11.6
21	18.9	15.30	11.7
22	21.4	16.50	11.6
23	23.4	17.10	10.8
24	23.0	17.00	11.0
25	22.3	16.15	10.0
26	22.5	16.50	10.5
27	23.6	17.20	10.8
28	23.0	17.20	11.4
29	21.3	17.45	13.6
30	21.5	17.45	13.4
PROM	20.92	16.31	11.70

Fuente : Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología. Dirección Regional Tacna- Moquegua. Estación MAP-Jorge Basadre Grohmann. Latitud sur: 18°01"; Longitud oeste: 70°15"; Altitud: 560 msnm.

Mes : octubre

Día	T° Máx. °C	T° Med °C	T° Mín. °C
01	22.7	17.75	12.8
02	21.2	16.10	11.0
03	21.3	16.75	12.2
04	22.0	17.60	13.2
05	21.5	17.35	13.2
06	22.8	18.10	13.4
07	21.3	17.30	13.3
08	22.5	17.85	13.2
09	23.0	18.50	14.0
10	23.4	18.50	13.6
11	24.6	19.40	14.2
12	23.5	18.35	13.2
13	22.1	17.65	13.2
14	24.5	19.65	14.8
15	23.4	18.20	13.0
16	23.0	18.25	13.5
17	24.6	19.60	14.6
18	24.2	19.50	14.8
19	24.0	18.40	12.8
20	22.4	18.30	14.2
21	21.5	16.75	12.0
22	23.6	18.30	13.0
23	23.8	18.90	14.0
24	23.2	18.00	12.8
25	23.6	18.30	13.0
26	21.8	16.30	10.8
27	24.0	18.10	12.2
28	22.5	18.15	13.8
29	22.8	18.50	14.2
30	23.4	18.00	12.6
31	24.6	18.45	12.3
PROM	22.99	18.09	13.19

Fuente : Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología. Dirección Regional Tacna- Moquegua. Estación MAP-Jorge Basadre Grohmann. Latitud sur: 18°01"; Longitud oeste: 70°15"; Altitud: 560 msnm.

ANEXO 13

EVALUACIÓN DE CRECIMIENTO DURANTE LOS MESES DE CULTIVO

Datos obtenidos en la evaluación del crecimiento de la colonia algal en el mes de agosto (30 días) por peso húmedo, en el laboratorio de Biotecnología Vegetal. Tacna agosto del 2002.

P. EXP	TEMP. °C	TIPO DE NUTRIENTE	PESO INICIAL (g)	PESO FINAL (g)	CRECIMIENTO (g)	PROMEDIO (g)
01	18	MACE	0.0040	0.0434	0.0394	0.0442
			0.0043	0.0494	0.0451	
			0.0044	0.0524	0.0480	
02	24	MACE	0.0040	0.0580	0.0540	0.0566
			0.0042	0.0610	0.0568	
			0.0044	0.0634	0.0590	
03	18	BBM sin N	0.0042	0.0228	0.0186	0.0203
			0.0043	0.0248	0.0205	
			0.0043	0.0260	0.0217	
04	24	BBM sin N	0.0041	0.0262	0.0221	0.0253
			0.0043	0.0290	0.0247	
			0.0045	0.0336	0.0291	
P. C.	8.6-24.3 (amb)	BBM	0.0040	0.0232	0.0192	0.0192
			0.0041	0.0256	0.0215	0.0215
			0.0041	0.0252	0.0211	0.0211

Fuente : Laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann - Tacna.

Datos obtenidos en la evaluación del crecimiento de la colonia algal en el mes de setiembre (30 días) por peso húmedo, en el laboratorio de Biotecnología Vegetal. Tacna setiembre del 2002.

P. EXP	TEMP. °C	TIPO DE NUTRIENTE	PESO INICIAL (g)	PESO FINAL (g)	CRECIMIENTO (g)	PROMEDIO (g)
01	18	MACE	0.0043	0.0552	0.0509	0.0510
			0.0043	0.0564	0.0521	
			0.0042	0.0542	0.0499	
02	24	MACE	0.0042	0.0616	0.0574	0.0580
			0.0043	0.0630	0.0587	
			0.0043	0.0622	0.0579	
03	18	BBM sin N	0.0041	0.0416	0.0375	0.0440
			0.0043	0.0516	0.0473	
			0.0043	0.0516	0.0473	
04	24	BBM sin N	0.0043	0.0534	0.0491	0.0480
			0.0043	0.0516	0.0473	
			0.0044	0.0520	0.0476	
P. C.	10-23.6 (amb)	BBM	0.0043	0.0390	0.0347	0.0347
			0.0043	0.0402	0.0359	0.0359
			0.0043	0.0384	0.0341	0.0341

Fuente : Laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann - Tacna.

Datos obtenidos en la evaluación del crecimiento de la colonia algal en el mes de octubre (30 días) por peso húmedo en el laboratorio de Biotecnología Vegetal. Tacna octubre del 2002.

P.EXP.	TEMP °C	TIPO DE NUTRIENTE	PESO INICIAL (g)	PESO FINAL (g)	CRECIMIENTO (g)	PROMEDIO (g)
01	18	MACE	0.0043	0.0540	0.497	0.0500
			0.0043	0.0530	0.0487	
			0.0043	0.0558	0.0515	
02	24	MACE	0.0042	0.0630	0.0588	0.0590
			0.0043	0.0650	0.0607	
			0.0043	0.0618	0.0575	
03	18	BBM sin N	0.0043	0.0450	0.0407	0.0436
			0.0043	0.0500	0.0457	
			0.0043	0.0486	0.0443	
04	24	BBM sin N	0.0043	0.0524	0.0481	0.0473
			0.0043	0.0524	0.0481	
			0.0044	0.0502	0.0458	
P. C.	10.8-24.6 (amb)	BBM	0.0043	0.0380	0.0337	0.0337
			0.0043	0.0364	0.0321	0.0321
			0.0043	0.0406	0.0363	0.0363

Fuente : Laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann - Tacna.

Promedio de la evaluación del crecimiento de las colonias de *Nostoc commune* de los tres meses de cultivo, realizado en el laboratorio de Biotecnología Vegetal de agosto a octubre del 2002.

PRUEBAS EXPERIM.	TEMP. °C	TIPO DE NUTRIENTE	CRECIMIENTO(g)			PROMEDIO MES (g)
			agosto	setiembre	octubre	
01	18	MACE	0.0442	0.0510	0.0500	0.0484
02	24	MACE	0.0566	0.0580	0.0590	0.0579
03	18	BBM sin N	0.0203	0.0440	0.0436	0.0360
04	24	BBM sin N	0.0253	0.0480	0.0473	0.0402
05	amb*	BBM	0.0192	0.0347	0.0337	0.0292
06	amb*	BBM	0.0215	0.0359	0.0321	0.0298
07	amb*	BBM	0.0211	0.0341	0.0363	0.0305

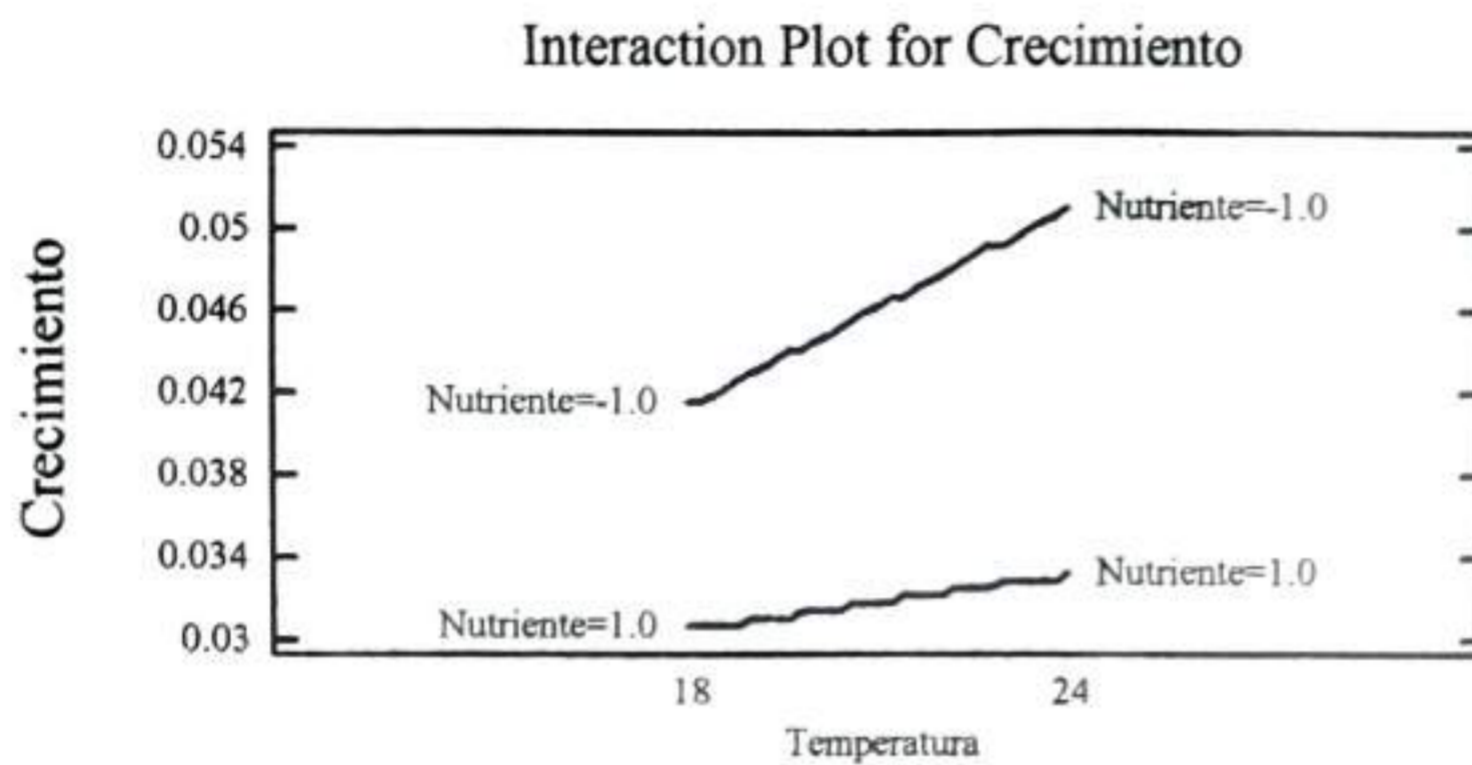
Fuente : Laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann - Tacna.

amb* : 8.6 °C-24.6°C

ANEXO 14

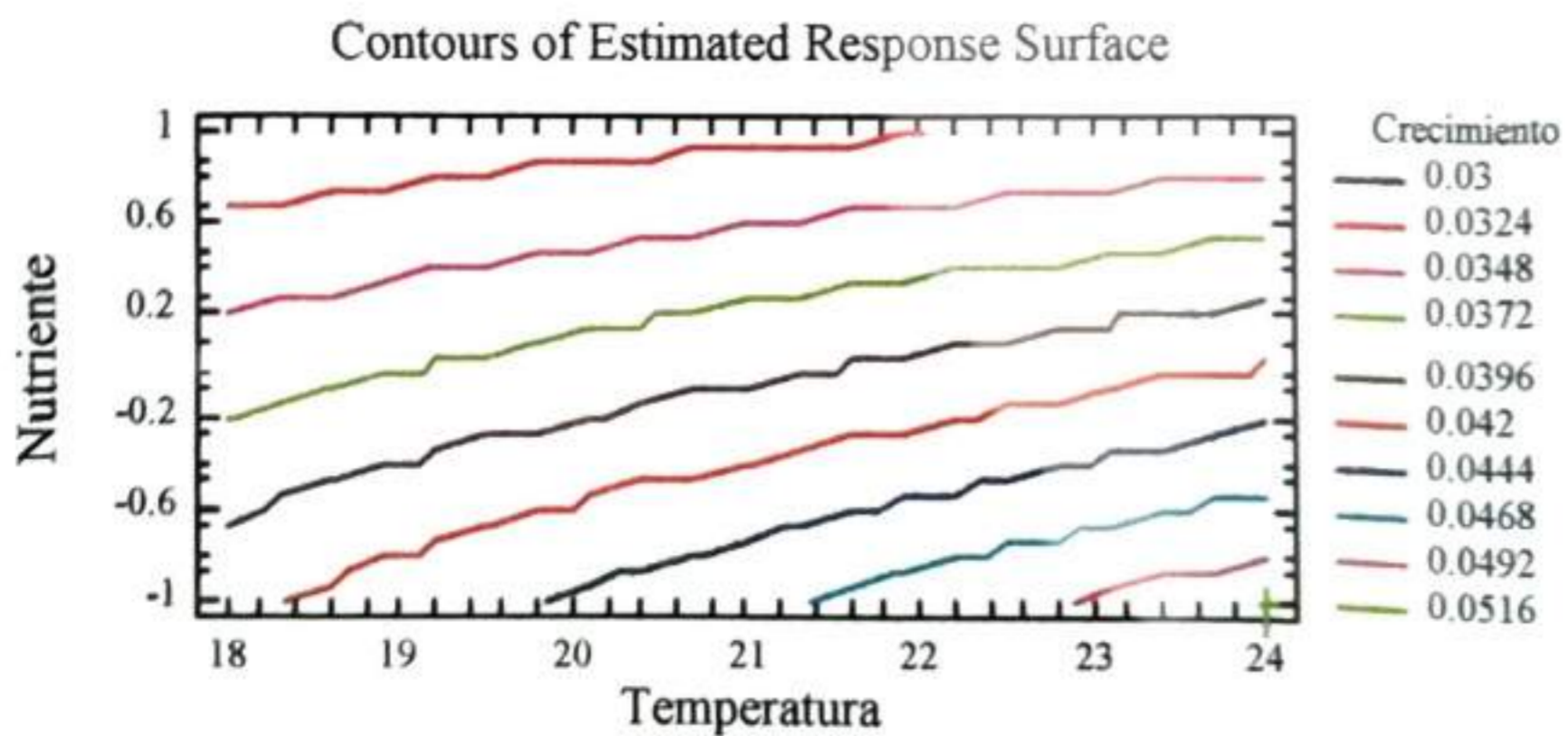
INTERACCIÓN Y RESPUESTAS ESTIMADAS DE CRECIMIENTO.

INTERACCIÓN DE FACTORES DE CRECIMIENTO.

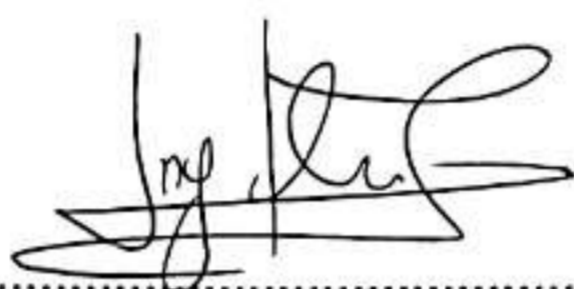


Fuente: Elaboración propia. Figura proveniente del cuadro 3

RESPUESTAS DE CRECIMIENTO ESTIMADOS EN SUPERFICIE.



Fuente: Elaboración propia. Figura proveniente del cuadro 3



.....
Br. Jenny K. Córdova Quispe.
TESISTA



.....
Mgr. Roberto Castellanos C.
ASESOR



.....
Mgr. Daladier Castillo Cotrina
CO-ASESOR