



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS

**Efecto del nitrógeno en el ciclo de vida, la morfología y el
crecimiento de *Nostoc sphaericum* Vaucher,
Cyanoprokaryota de un humedal tropical**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

**MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGÍA AMBIENTAL)**

P R E S E N T A

ITZEL BECERRA ABSALÓN

DIRECTOR DE TESIS: DRA. ROSA LUZ TAVERA SIERRA

MÉXICO, D.F.

MAYO, 2006



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

*Una cosa he aprendido a lo largo de mi vida:
Toda nuestra ciencia contrastada con la realidad
es primitiva e infantil, pero aun así,
es lo más preciado que poseemos.
Milan Kundera.*

*Estamos todos dominados por una concepción anquilosada sobre lo que es importante
y lo que es irrelevante, fijamos la vista angustiados sobre lo que es importante,
mientras que lo irrelevante, disimuladamente y a nuestras espaldas,
extiende sus guerrillas que al fin y sin que nos percatemos,
cambian el mundo y nos cogen desprevenidos.
Milan Kundera.*

A mi familia con mucho cariño, sin ellos nunca hubiera llegado a ser lo que soy hoy.

A Oscar por su amor, que le da sentido a todos mis esfuerzos, esperanzas y planes de vida.

A las comunidades indígenas que nos están enseñando a maravillarnos de lo irrelevante e imperceptible y de esta forma aparentemente simple están cambiando el mundo...

A todos los compañeros que intentamos sinceramente entender y llevar a la practica la ya conocida frase de "mirar abajo y a la izquierda".

AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue posible por las becas brindadas por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y la Dirección General de Estudios de Posgrado (DGEP).

A la Dra. Rosa Luz Tavera Sierra por apoyarme en mi formación académica, por compartir sus experiencias y conocimientos en la elaboración de la tesis, pero sobretodo por la dedicación y comprensión que me ha brindado durante estos casi 10 años de trabajar juntas.

Al Dr. Eberto Maldonado por invitarme al proyecto de investigación en la Reserva Ecológica El Edén y con esto introducirme el maravilloso mundo de las algas

Al Dr. A Gómez-Pompa por su amable invitación para realizar este trabajo en la Reserva Ecológica El Edén y al personal de la reserva por su apoyo en la realización del trabajo de campo.

A la Dra. Ana luisa Anaya y al Dr. Eberto Maldonado por formar parte de mi comité tutorial y ayudarme a darle forma a este trabajo de investigación con sus sugerencias y conocimientos.

Al Dr. Gustavo Montejano Zurita y al Dr. Víctor Rivera por la revisión de este manuscrito y sus comentarios que fueron muy valiosos para el resultado final de la tesis.

A la M. en C. Miriam Bojorge García porque nos apoyamos y aprendimos juntas durante los dos años que duró la maestría.

A la bióloga Rocía Ramírez Rodríguez y de nueva cuenta a la M en C Miriam Bojorge García por su accesoria en la utilización de los paquetes estadísticos.

A Enrique, Javier, Jenny, Mariana, Rocio, Miriam, Oscar, Gustavo y todos los compañeros que conforman el laboratorio de ficología por compartir ese pequeño espacio y que logran con sus pláticas y amistad que sea agradable la convivencia día con día.

A Oscar por hacer ameno el trabajo en el laboratorio, por su compañía, por su comprensión, pero sobre todo por su amor.

CONTENIDO

Introducción	1
1. De los humedales a <i>Nostoc sphaericum</i>	1
2. El estudio ecofisiológico del perifiton	2
3. Diagnósis del género y la especie	3
4. Distribución del género y la especie	6
5. Ecología del género y la especie	7
Definición del problema de estudio	9
Objetivos y Metas	10
Área de estudio	11
Material y Métodos	14
1. En el campo	14
2. En el laboratorio	14
2.1 Cultivos mixtos, cultivos unialgales y resiembras para experimentos controlados	14
2.2 Caracterización taxonómica y ciclo de vida de <i>Nostoc sphaericum</i>	15
2.3 Efecto de diversas concentraciones de nitrógeno y del extracto algal sobre la biomasa de los talos de <i>Nostoc sphaericum</i>	16
Resultados	17
1. Caracteres morfológicos de los filamentos y las células e identificación de la especie	17
2. Ciclo de vida de <i>Nostoc sphaericum</i> en el perifiton	19
3. Ciclo de vida en cultivo, efecto de los tratamientos de nitrógeno y del extracto algal	23
4. Variación de las células vegetativas de <i>Nostoc sphaericum</i>	33
5. Efecto de los tratamientos de nitrógeno y extracto algal en la biomasa (clorofila <i>a</i> $\mu\text{g l}^{-1}$) de los talos de <i>Nostoc sphaericum</i>	40

Discusión	43
1. Diagnósis de <i>Nostoc sphaericum</i>	43
2. Ciclo de vida de <i>Nostoc sphaericum</i>	43
3. Efectos del nitrógeno y la presencia de otras algas en el ciclo de vida	46
4. Efecto del nitrógeno y la presencia de otras algas en las células vegetativas y en el crecimiento del talo	47
Conclusión	50
Literatura citada	51
Anexo I. Proliferación y aislamiento de las especies del perifiton	53
Anexo II. Medios de cultivo BG0, BG16:1, BG11	56
Anexo III. Análisis descriptivo de los datos sometidos a Pruebas de ANOVA	57
Anexo IV. Curva de crecimiento de <i>Nostoc sphaericum</i> en cultivo	59

RESUMEN

En estudios previos del humedal de la Reserva Ecológica de El Edén se observó que existen cambios en la composición de especies del perifiton. (Becerra-Absalón 2002, Becerra-Absalón & Tavera 2003), por lo que el objetivo principal de este trabajo fue investigar la influencia de algunos factores como las concentraciones de nutrimentos y la interacción de las poblaciones que conforman la comunidad sobre el desarrollo de especies aisladas, para entender a que se deben los cambios en la composición del perifiton.

Se escogió trabajar con *Nostoc sphaericum* debido al desarrollo selectivo que tiene dentro del humedal, que sugiere una posible competencia entre algas heterocitasas (fijadoras de nitrógeno).

Las condiciones de cultivo mostraron que la hipótesis de que los nutrimentos y la presencia de otras algas influyen sobre el crecimiento de *Nostoc sphaericum* fue correcta, pues permitió proponer un patrón de desarrollo para su ciclo de vida y su permanencia en la comunidad claramente regulado por variaciones en la concentración de nitrógeno y de un extracto de perifiton. El patrón que hemos propuesto explica algunas de las causas que modulan las variaciones del ciclo de vida a nivel específico y señala algunas de las causas que controlan la composición de especies en el humedal estudiado. Así mismo, la introducción de dos concentraciones de un extracto preparado a partir del perifiton manifestó que la composición de especies en este humedal podría estar regulada también por interacciones de competencia entre especies, controlada por efectos inhibitorios.

ABSTRAC

Several changes in the species composition of periphyton were registered in previous studies of wetlands from El Edén Ecological Reserve. The main objective of this work was to search for some factors like antibiotic interactions between the populations that conform the community, or influence of nitrogen concentrations, that may explain those changes.

We decided to work with *Nostoc sphaericum* due to the selected spatial development that it has into the wetland, which suggest a possible competition between the heterocitous algae (nitrogen fixers) that conform the periphyton.

Culture conditions showed that the hypothesis that nutrients and antibiotic interactions have an effect on the growing of *N. sphaericum*, was correct, and allowed to propose a development pattern for its life cycle and vegetative development of some phases, as clearly regulated by changes in the nutrient concentrations as well as the near presence of other algae.

The pattern proposed explains some causes that modulate variations in life cycle to specific level for the genus, but also indicate to some causes controlling species composition in the studied wetland.

The introduction in cultures of two concentrations of an extract prepared with periphyton, gave evidence to support the idea that composition of species may be also regulated by competition among species, controlled by inhibitory effects (antibiosis).

INTRODUCCIÓN

1. De los humedales a *Nostoc sphaericum*.

Los humedales son sistemas de transición entre lo terrestre y acuático con características muy variables en cuanto a tamaño, ubicación, hidrología y origen. Estas particularidades hacen que existan varias definiciones de humedal, pero lo importante de estos sistemas es que en algún momento los suelos se saturan de agua o se inundan para ser considerados humedales.

En términos generales podemos decir que los humedales son ambientes sujetos a inundaciones permanentes o periódicas, con suelos saturados de agua lo suficiente para alterar las propiedades químicas, físicas y biológicas del suelo es decir que se formen suelos hídricos (Tiner 1999; Kadlec & Knight 1996; Hejny & Segal 1998).

Dentro de la definición de humedal entran muchos ecosistemas muy diversos como pantanos, manglares, estuarios y zonas de inundación en tierras bajas o a las orillas de lagos y ríos. En México algunos de los lugares que pueden ser considerados humedales son las lagunas de Guerrero Negro, La laguna de Términos, Sian Ka'an, Cuatro Ciénegas, Humedales del Delta del río Colorado, La Reserva de la Biosfera La Encrucijada, los pantanos de Centla, Ría Lagartos y las zonas de inundación a lo largo de los ríos Usumacinta y Grijalva (Olmsted 1993).

El estudio de los humedales ha adquirido mucho interés porque recientemente se reconoció que estos son ecosistemas con características propias, considerados como una transición entre lo acuático y lo terrestre (Kadlec & Knight 1996 y Vymazal 1995) y diferentes a otros cuerpos de agua continentales, por ejemplo en las propiedades del suelo y la alta productividad primaria neta que los caracteriza.

En el estado de Quintana Roo, el humedal de la Reserva Ecológica El Edén, presenta sustratos calcáreos. Los suelos, aunque son muy someros, son ricos en vegetación y profusamente cubiertos de crecimientos algales (Novelo & Tavera 1999) que son un grupo clave en el establecimiento de las comunidades vegetales porque participan en el flujo de nutrimentos del ecosistema (Carlton & Wetzel 1988; Kadlec & Knight 1996).

En este humedal se están estudiando las comunidades algales de distintos ecosistemas: sabana tinal, bosque subcaducifolio y selva baja caducifolia. Estas zonas se eligieron por diferencias en la vegetación, en los tiempos de humectación, en el tipo de suelo y la cobertura vegetal (Novelo & Tavera 1999, Becerra-Absalón 2002, Becerra-Absalón & Tavera 2003, Vargas 2002, Vargas-Ramos & Novelo 2003). En todos ellos los crecimientos algales sobre el suelo

(perifiton) son abundantes. El perifiton del cual se aisló *Nostoc sphaericum* Vaucher está formado por múltiples especies, principalmente cianoprocariontes (Becerra-Absalón & Tavera *op. cit.*, Novelo & Tavera *op. cit.*). Este perifiton pertenece a la zona de tinal. Los tintales son selvas bajas dominadas por el palo tinto (*Haematoxylon campechianum*) y se caracterizan porque el periodo de inundación es muy corto y esto parece afectar a la comunidad algal (Becerra-Absalón 2002, Becerra-Absalón & Tavera 2003).

N. sphaericum y posiblemente otras especies del mismo género se desarrollan de manera selectiva en el humedal, pues suelen ser dominantes fuera del tinal, en otros sectores del mismo humedal como en la zona anegable de la selva baja caducifolia, donde el perifiton no crece (Novelo & Tavera 2003); esto sugiere una posible limitante por nutrientes y/o una posible competencia temporal y espacial entre las algas que conforman la comunidad perifítica. En vista de que el objetivo general del presente trabajo es analizar algunos factores que influyen en la composición y dominancia de las especies del perifiton del tinal, *N. sphaericum* constituyó un organismo doblemente interesante para cumplir ese objetivo, por lo que fue seleccionado para desarrollar este estudio.

2. El estudio ecofisiológico del perifiton

El desarrollo de las algas en un hábitat determinado es una expresión a las condiciones ambientales. Los estadios vegetativos son los más frecuentes en la naturaleza porque la multiplicación por estructuras de perenación, la reproducción y la formación de estructuras especializadas son respuestas a condiciones ambientales muy específicas y suelen ser adaptaciones al desarrollo vegetativo del alga. Debido a esto es que los estudios ecofisiológicos en las algas son muy importantes porque permiten estudiar los caracteres fenológicos, fisiológicos, morfológicos o genéticos que parecen más relevantes para el éxito de cualquier especie en un hábitat determinado (Raven et al. 1986, Mackenzie et al, 1998). Además permiten controlar algunas variables para reconocer respuestas específicas a ciertos estímulos, esto es muy difícil hacerlo *in situ*, sobre todo en comunidades complejas como es el perifiton, es por esto que en los estudios ecofisiológicos en algas generalmente se trabaja con poblaciones aisladas (cultivos). Al trabajar con poblaciones aisladas ¿cómo podemos evaluar el impacto que tienen las poblaciones con las que interactúa *Nostoc sphaericum*?, resolver esta pregunta fue importante para el desarrollo de este

trabajo debido a que los resultados que se obtengan de él, servirán como herramienta para interpretar que está pasando con especies que tienen características parecidas a *Nostoc sphaericum* en este humedal. Se consideró que un extracto del perifiton permitiría evaluar cual es la influencia de las otras poblaciones sobre *Nostoc sphaericum*, debido a que una respuesta a las interacciones entre especies de microorganismos es la producción de metabolitos secundarios que generan cambios químicos en el ambiente. Anaya (2003) menciona que estos metabolitos secundarios pueden ser estimulantes (actúan como factores de crecimiento) o inhibitorios (tienen efectos antibióticos).

3. Diagnóstico del género y la especie.

Nostoc sphaericum fue descrito por primera vez por Vaucher en 1803. Posteriormente el género *Nostoc* fue redefinido por Bornet & Flahault en 1886. La referencia inmediata es Geitler (1932) que retoma la diagnosis del género así como a la mayoría de las especies de *Nostoc* antes descritas. La diagnosis está basada principalmente en la morfología del talo, pero actualmente se hace hincapié en la citología y la historia de vida (Mollenhauer 1988). Los estudios de campo comparativos han sacado a la luz explicaciones en la variación de una considerable cantidad de formas de crecimiento tales como forma de la célula, dimensiones de las células, formación y liberación de hormogonios, formación de heterocitos, formación de acinetos, tipo de vainas gelatinosas, vacuolas de gas, etc. (Mollenhauer 1988).

La diagnosis actual del género *Nostoc* (Mollenhauer 1988) es la siguiente: cianoprocariontes con ciclo de vida heteromorfo. Las células se dividen para formar un tricoma uniseriado, la forma de las células es esférica o elipsoidal. Las células vegetativas sólo son capaces de dividirse en un plano perpendicular al longitudinal, o polar al eje celular, es decir que generalmente no exhiben ramificaciones verdaderas (Castenholz 1989) aunque dicha ramificación puede ocurrir (Dodds *et al.* 1995). Los tricomas mantienen el mismo ancho a todo lo largo.

Numerosos tricomas frecuentemente forman agregados gelatinosos o colonias aparentemente de 2 tipos: Algunas especies de *Nostoc* forman una colonia con una película firme y otras forman colonias holgadas (Dodds *et al.* 1995). También pueden estar en condiciones naturales en la forma de tricomas solos (Dodds *et al. op. cit.*).

Los heterocitos tienen la misma forma que las células vegetativas, pero normalmente son más grandes. Se forman primariamente en las terminaciones de los hormogonios cuando estos terminan

la fase móvil. Secundariamente, en posición intercalar a lo largo del tricoma. Formados por transformación de células vegetativas, los mismos heterocitos inhiben la formación de otros en las células vecinas. La efectividad de las sustancias inhibitorias que generan los heterocitos va disminuyendo mientras más lejanas están las células vegetativas del heterocito. A la distancia bajo la cual la formación de un nuevo heterocito es suprimida se llama distancia crítica y esta es característica de especie (Mollenhauer 1988).

Cuando hay acinetos presentes, tienen forma más o menos elipsoidal y menos variación en la forma que la que tienen los heterocitos. Los acinetos también se derivan de la transformación de células vegetativas, pero esta transformación es distinta principalmente porque se forman desde la parte media del tricoma hacia los extremos, pueden estar entre 2 heterocitos (Mollenhauer 1988).

Los tricomas pueden formar hormogonios por fragmentación pero según Dodds *et al.* (1995) no es una característica sistemática definitiva debido a que en cultivo es muy frecuente que *Nostoc* pierda la habilidad de formarlos.

Bornet & Flahault (1886-1888) dividen a las especies de *Nostoc* en secciones por el tipo de condiciones ambientales en las que crecen. *Nostoc sphaericum* se encuentra en la sección VI que contiene a las algas terrestres sumergidas intermitentemente; que es justo la condición en la que crecen las algas del perifiton del tinal. La descripción que hacen Bornet & Flahault (1886-1888) y que es retomada por Geitler (1932) de la especie es la siguiente: el talo libre globoso, 1-15 mm de diámetro posteriormente plegado tuberculado irregularmente, grueso, algunas veces hasta de 6 a 7 cm en diámetro, verde olivo, amarillo o pardo violáceo, con una capa interna firme, tricomas flexuosos, densamente intrincados o entremezclados. Tricomas de 4 raramente 5 μm de ancho, células esféricas comprimidas o con forma de barril, heterocitos de 4 a 6 μm de ancho, subesféricos; acinetos ovales de 5(4-6) μm de ancho y 7(6-8) μm de largo, gruesos y de color pardo, pero Desikachary (1959) proporciona intervalos de medidas más amplios para las células vegetativas, los heterocitos y los acinetos, para incluir dentro de *N. sphaericum* a una población de Courtallum, India. Las células de la especie de Courtallum miden de 3.9-5.2 (6) μm de ancho y hasta 10.5 μm de largo; heterocitos de 5.2-6.6 μm de diámetro y los acinetos 5.2-7.9 (9.2) μm de ancho y 11.8-19.7 μm de largo. No hay registro de sinonimias para la especie.

Otro aspecto que últimamente ha adquirido importancia en la diagnosis de las especies de *Nostoc* es el ciclo de vida, porque se ha demostrado que las especies de *Nostoc* tienen capacidades fisiológicas que son desconocidas para otras Nostocales (Komárek & Agnanostidis 1989).

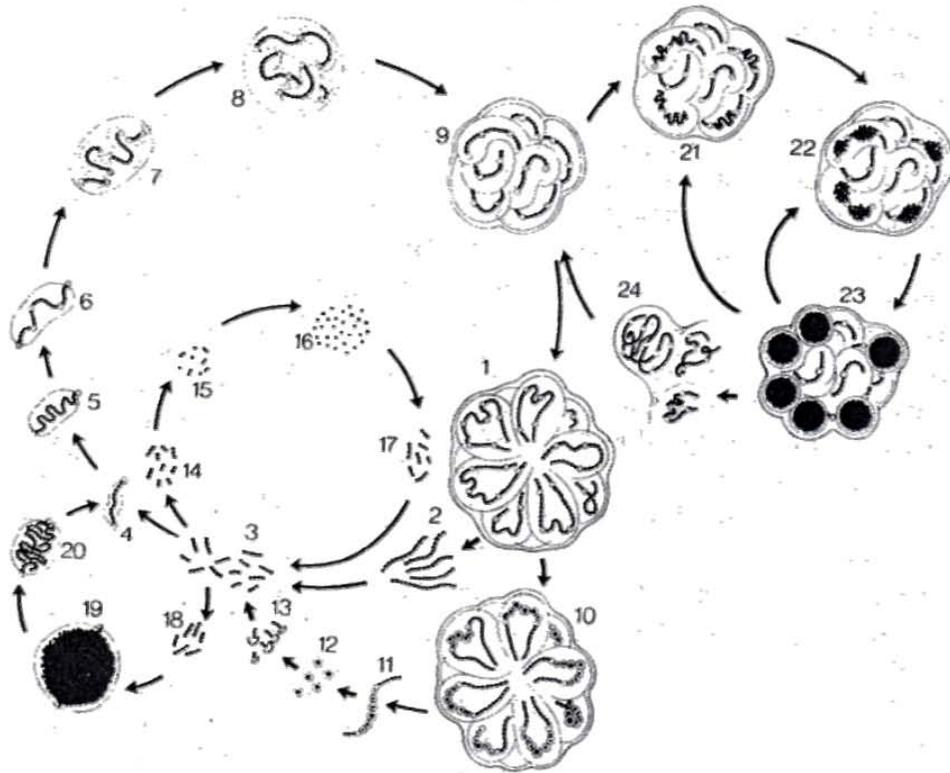


Fig.1. Esquema de los estados del ciclo de vida en el género *Nostoc* compilado por estudios de campo y laboratorio Mollenhauer 1988). 1-9. El ciclo de vida de *N. pruniforme*. 1) Talo maduro; 2) desintegración de tricomas y formación de hormogonios largos, estas fases son planctónicas libres; 3) pueden fragmentarse para formar hormogonios cortos, esto incrementa el número de propágulos; 4) cuando la movilidad se detiene, el hormogonio comienza a enquistarse; 5) las capas superiores de la envoltura celular se transforman en una vaina gelatinosa, cuando esta toma agua por imbibición se expande, sólo las dos células terminales están libres de la envoltura gelatinosa y se convierten en heterocitos; 6) la vaina es dura y firme en el comienzo y se resiste a la extensión longitudinal provocada por el crecimiento del tricoma. Esto resulta en pliegues del tricoma causando que las paredes transversales se obliquen. Cuando la imbibición procede y la vaina comienza a suavizarse, el tricoma se alisa y forma curvas en donde aparecen heterocitos intercalares; 7) algunas veces los fragmentos de los tricomas dentro de la envoltura mucilaginosa forman su propia vaina; 8) cuando esta vaina aumenta más y más alrededor de los tricomas se forma un sincenobio; 9) crece y se hace más grande. 10 – 24: Ciclos de otras especies de *Nostoc*. 10) Forma acinetos, algunas especies sólo pueden formarlos en talos maduros; 11) los acinetos aparecen primero entre 2 heterocitos, el resto del tricoma es transformado progresivamente en dirección centrifuga (detalle); 12) cuando los acinetos se forman el tricoma se desintegra. Los acinetos actúan como propágulos y estructuras de resistencia al mismo tiempo; 13) los acinetos germinan y se desarrollan hormogonios cortos; 14-17: Formación de células solas. Algunas veces continúa la fragmentación de los hormogonios solos formando células solas que son una forma especial de propágulo. Después comienzan a dividirse y forman hormogonios cortos. 18-20: Talo con células densamente empaquetadas, el arreglo del tricoma no es detectable; 19) los tricomas se enredan en el talo juvenil, las células se dividen y los paquetes se hacen más densos, puede ser un estado de transición o un estado final; 20) los paquetes pueden soltarse posteriormente. 21-24: Estado de proliferación; 21) el talo (9) en lugar de formar filamentos maduros, porciones de tricomas se comportan como si hubieran pasado por una fase hormogonial y crecen de una manera viz; por pliegues u ondulaciones en la vaina madre; 22-24: Esto resulta en excrescencias y han sido llamadas fases de proliferación. Algunas especies se multiplican exclusivamente por separación de fases de proliferación del talo.

Estas capacidades están relacionadas con las condiciones ecológicas que son las que regulan la formación de hormogonios móviles con o sin aerotopos, la formación de fases aseriadas, la formación de micro y macro colonias, la reproducción a través de gemación o la fragmentación de colonias (Mollenhauer 1988, Dodds *et al.* 1995, Potts 2000). Mollenhauer (1988) propone que se podrían relacionar estas características con la perturbación por actividad humana en contraste con lo que se observa en hábitats naturales, e incluso plantea que se pueden monitorear extinciones locales de algunas especies de *Nostoc* (Mollenhauer *et al.* 1999).

En la literatura consultada, el ciclo de vida de *Nostoc sphaericum*, no ha sido descrito, sin embargo Mollenhauer (1988) hace un esquema de los ciclos de vida que se han registrado para varias especies del género *Nostoc* (Fig. 1).

4. Distribución del género y la especie

Las especies de *Nostoc* siempre habitan biotas de agua dulce como lagos, ríos o corrientes superficiales tanto como capas de agua extremadamente delgadas que cubren rocas o partículas de suelo, que se observan más bien húmedos que como cuerpos de agua (Mollenhauer 1988) y son considerados más bien como sistemas terrestres o aerofíticos. Las colonias han sido reportadas desde hábitats extremadamente fríos como los Valles de la Antártica (Potts 2000, Baker 1967) y el Ártico (Dodds *et al.* 1995), en ambientes templados (Bazan *et al.* 2003), ambientes tropicales (Desikachary 1959) y hasta en los suelos calientes desérticos alrededor del mundo (Dodds *et al. op. cit.*, Johansen 1993). Los humedales que se inundan estacionalmente son muy apropiados para *Nostoc* debido a su habilidad de resistir la desecación (Dodds *et al.* 1995). La mayoría de las especies de *Nostoc* están asociadas con el bentos aunque existen algunas que pueden formar masas planctónicas (Dodds *et al.* 1995).

Nostoc sphaericum está registrada para ambientes que van desde regiones polares (lagos de la Antártica, Baker 1967), regiones alpinas (Alpes Austria, Reisingl 1964) regiones templadas (Las Pampas Argentina, Bazan *et al.* 2003) y tropicales (Reserva forestal Courtallum, Desikachary 1959) y habrá que preguntarnos si realmente una especie puede ser cosmopolita o si es un problema taxonómico. El problema de la ubicuidad de *Nostoc sphaericum* no solo es que se haya registrado para diferentes latitudes sino que además está registrada en ambientes distintos como ríos (Aboal & Llimona 1989), sobre plantas acuáticas especialmente carofíceas y briofitas (Aboal 1988), en madera

sumergida (Whitford 1943), en el aire (Schlichting 1969), el suelo (Reisigl 1964) y ahora en el humedal del tinal que es un ambiente que fluctúa de acuático a terrestre.

5. Ecología del género y la especie.

Dentro de las características ecológicas más importantes en las especies de *Nostoc* encontramos un fenómeno de sucesión que se presenta en todos los hábitats donde crecen estas especies (Mollenhauer 1988). Esta sucesión en hábitats terrestres está relacionada con su habilidad para soportar la desecación por meses o años y recobrar completamente la actividad metabólica dentro de horas o días después de la rehidratación (Dodds *et al.* 1995). Este fenómeno de sucesión fue observado con anterioridad en *Nostoc sphaericum* que se encuentra en el tinal, cuando los tricomas o los talos se observaron durante los meses de agosto a noviembre del 2000 que corresponden a la estación de lluvias (Becerra-Absalón 2002; Becerra-Absalón & Tavera 2003).

Mollenhauer (1988) menciona que la mayoría de las especies del género *Nostoc* tienen un poder competitivo pequeño ya que crecen lentamente y tienen medios bastante ineficientes de dispersión, es posible que *Nostoc sphaericum* comparta estas características y quizá por esto crece mejor en zonas del humedal donde no crece el perifiton como en la zona de la selva baja caducifolia (Novelo & Tavera 2003). Estas especies poco competitivas crecen mejor en ambientes limitados por nutrientes, pues en ellos pueden desplazar a otras especies; debido a la habilidad que tienen para fijar nitrógeno atmosférico que puede darles ventajas en los ambientes pobres en nitrógeno (Dodds *et al.* 1995, Waterbury 2001); pero análisis previos de los nutrientes que hay en el suelo del tinal nos indican que el nitrógeno y el fósforo son abundantes (Novelo & Tavera 2003), por lo que es posible que esto también influya en el crecimiento de *Nostoc sphaericum* que lo hace ser inconspicuo dentro del perifiton.

La fijación de nitrógeno se lleva a cabo principalmente en los heterocitos, aunque puede ocurrir en talos de cianoprocariontes no heterocitosas (Waterbury 2001), esto fue observado particularmente en el perifiton de los humedales de El Edén. (Vargas 2002, Vargas & Novelo 2003).

Las especies de *Nostoc* son capaces de usar una variedad de recursos de nitrógeno incluyendo nitrógeno inorgánico (NO_3^- , NO_2^- y NH_4^+), aminoácidos y N_2 gaseoso. Varios factores influyen la tasa de fijación de nitrógeno, como por ejemplo las temperaturas altas que incrementan esta actividad; asimismo la limitación de fósforo provoca una menor eficiencia para competir por el amonio (Dodds *et al.* 1995).

Las especies de *Nostoc* son considerablemente diversas y juegan un papel importante en las redes tróficas (Mollenhauer 1988), en la formación de suelo y en el incremento de la reserva de nitrógeno en los ecosistemas acuáticos y terrestres (Dodds *et al.* 1995).

Los ciclos de vida también están influenciados por las condiciones ambientales, por ejemplo las células de *Nostoc* pueden diferenciarse en 4 direcciones: células vegetativas, heterocitos, acinetos u hormogonios. El ciclo de las células vegetativas (dividirse y crecer) se mantiene constante cuando los nutrientes son suficientes. Mollenhauer (1988) menciona que la cantidad de nitrógeno en el sustrato es un regulador de la formación de heterocitos, en específico una limitación de nitrógeno induce la diferenciación de heterocitos, mientras que la limitación de fosfatos induce la diferenciación de acinetos y diversos cambios ambientales inducen la formación de hormogonios (Meeks *et al.* 2002). Aunque a nivel específico las limitaciones o estímulos debidos a factores ambientales son variables, el estudio de los ciclos de vida en general ha sido muy útil para entender tanto aspectos taxonómicos como el papel ecológico y las relaciones que tienen las especies de *Nostoc* con su ambiente.

DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

Hay especies de algas que crecen de manera inconspicua dentro del perifiton del tinal y sólo presentan un crecimiento importante en determinadas condiciones ambientales; *Nostoc sphaericum* es una de ellas. Estas especies que muchas veces no son tomadas en cuenta en los estudios ecofisiológicos podrían proporcionar información importante sobre la comunidad: ¿Será posible que estas especies indiquen condiciones extremas o muy poco frecuentes? ¿El estudio de estas especies nos permitiría reconocer condiciones repetitivas? y ¿qué tanto las características o propiedades de las especies como abundancia, morfología, reproducción y desarrollo en el hábitat, se ajustan a las fluctuaciones ambientales? Estas preguntas nos llevaron a proponer el estudio ecofisiológico de *Nostoc sphaericum* como una vía para interpretar el comportamiento del perifiton en el humedal de la Reserva.

De acuerdo a observaciones y estudios previos en los humedales de la Reserva Ecológica El Edén, suponemos que el nitrógeno pudiera ser uno de los factores que influyen en el desarrollo del perifiton, en especial de estas especies inconspicuas. Otro factor más que consideramos importante son las interacciones entre las especies, sobre todo de competencia o facilitación que pensamos pueden verse reflejadas al incorporar un extracto del perifiton a cultivos específicos.

El conocimiento del ciclo de vida de *Nostoc sphaericum* y de los factores que lo regulan, son muy importantes debido a las alteraciones constantes a las que está sujeto el hábitat. Por lo que un aspecto básico de este trabajo fue la reconstrucción del ciclo de vida que se hizo a partir de las observaciones tanto en condiciones naturales como en los diferentes tratamientos en cultivo. Además se midieron el tamaño de las células, el porcentaje de división celular y la biomasa (clorofila *a*), que se propusieron como indicadores para evaluar las condiciones en que *Nostoc sphaericum* se desarrolló mejor.

OBJETIVOS Y METAS:

Los objetivos generales son:

1. Analizar si el nitrógeno está influyendo en la composición y dominancia de las especies del perifiton del tinal
2. Analizar si existen interacciones temporales y espaciales (competencia o facilitación) entre las algas, que estén influyendo en la composición y dominancia del perifiton del tinal.

Las metas que se quieren alcanzar son:

1. Medir y observar el efecto que tienen las variaciones de nitrógeno en los medios de cultivo sobre la biomasa (clorofila *a*), en la morfología del talo, en el ciclo de vida y en la morfología y el porcentaje de división de las células vegetativas de *Nostoc sphaericum*.
2. Medir la respuesta de *Nostoc sphaericum* a la presencia y abundancia de otras algas en el perifiton a través de modificaciones en biomasa (clorofila *a*), en la morfología del talo, en el ciclo de vida y en la morfología y el porcentaje de división de las células vegetativas.
3. Comparar la morfología del talo, el ciclo de vida y la morfología de las células vegetativas de *Nostoc sphaericum* en condiciones naturales y en cultivo, con los diversos tratamientos (efecto del nitrógeno y el extracto algal) a los que serán sometidas.

ÁREA DE ESTUDIO

Esta investigación se enfoca al estudio de un punto en el tinal ($21^{\circ}13' 01.1''$ N; $87^{\circ}11'48.8''$ O), que se encuentra considerado dentro de los humedales de La Reserva Ecológica El Edén.

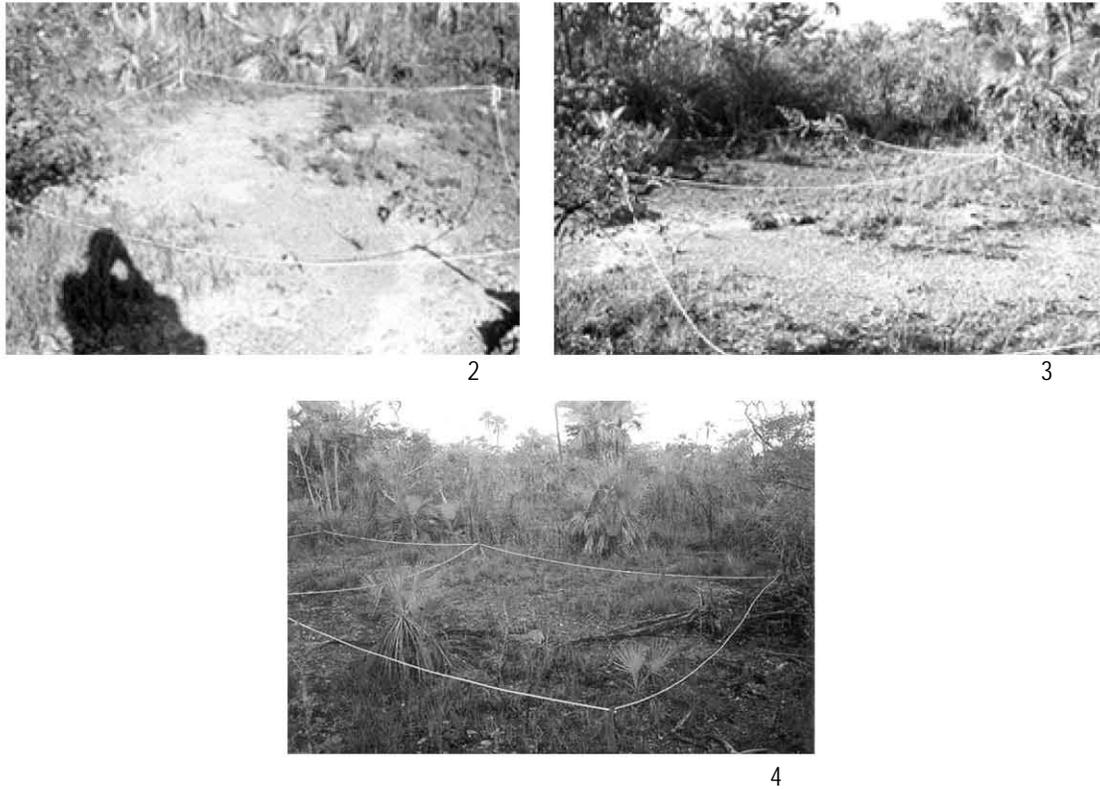
La vegetación dominante es *Haematoxylon campechianum* L. (Leguminosae) y la vegetación co-dominante es: *Erithroxylon confusum* Britt (Erythroxylaceae), *Acoelorrhaphe wrightii* (Sw.) Wendl. ex Becari (Palmae) y *Jacquinia aurantiaca* Aiton (Theophrastaceae), al principio de lluvias también son abundantes algunas ciperáceas y gramíneas (Becerra-Absalón 2002, Becerra-Absalón & Tavera 2003).

El dosel en el tinal es abierto, debido a esto el perifiton se encuentra expuesto a una radiación solar constante. El suelo es somero de 5 a 10 cm de profundidad, de color blanco, tiene poca materia orgánica y el granulado es fino. En el tinal, el nivel del agua alcanza como máximo 16 cm de profundidad, la anegación dura como máximo 3 meses y es intermitente, por lo que podemos hablar de que estacionalmente se presenta un periodo seco y un periodo de anegación (Becerra-Absalón 2002, Becerra-Absalón & Tavera 2003).

El perifiton en el tinal estuvo compuesto de una costra gris (tramas de tricomas) y por debajo de esta se encuentran unas hojuelas integradas por colonias mucilaginosas de una especie del orden Chroococcales. En la costra predominaron especies de cianoprocariontes filamentosas como *Stigonema dendroideum* Frémy, *Schizothrix violacea* Gardner, *Scytonema* sp., *Microcoleus* sp., *Tolypothrix* sp., *Hydrocoleum* sp., *Hassallia* cf. *byssoidea* Hassall ex Bonet & Flahault y *Petalonema* cf. *densum* (Braun.) Migula, así como especies del orden Chroococcales. *Nostoc sphaericum* se aisló de la costra que conforma el perifiton del tinal (Becerra-Absalón 2002, Becerra-Absalón & Tavera 2003).

Durante el periodo de secas en el tinal estudiado, el único aporte de agua es el rocío de las madrugadas que se condensa sobre la costra (Fig. 2). Cuando comienza el periodo de lluvias, éstas son cortas y esporádicas por lo que el sustrato absorbe este aporte casi en su totalidad manteniéndose húmedo, pero no llega a su saturación, de manera que, sobre todo en las zonas expuestas, el perifiton se humecta y se seca constantemente (Fig. 3). Cuando la lluvia se hace frecuente y por varias horas, tanto el suelo como el perifiton se mantienen húmedos las 24 horas hasta que llega un momento que se saturan de agua y el terreno se anega. Cuando termina el periodo de lluvias (Fig. 4), tanto la costra como el suelo guardan humedad por varias semanas

(Becerra-Absalón 2002, Becerra-Absalón & Tavera 2003). De acuerdo con los cambios de humectación, el aspecto del perifiton varía a lo largo del año (Fig. 5).



Figs. 2-4. Apariencia de la zona de recolección en el tinal de la reserva ecológica El Edén. 2) En abril (temporada seca), 3) Agosto (Principio de lluvias), 4) Noviembre (Fin de lluvias).

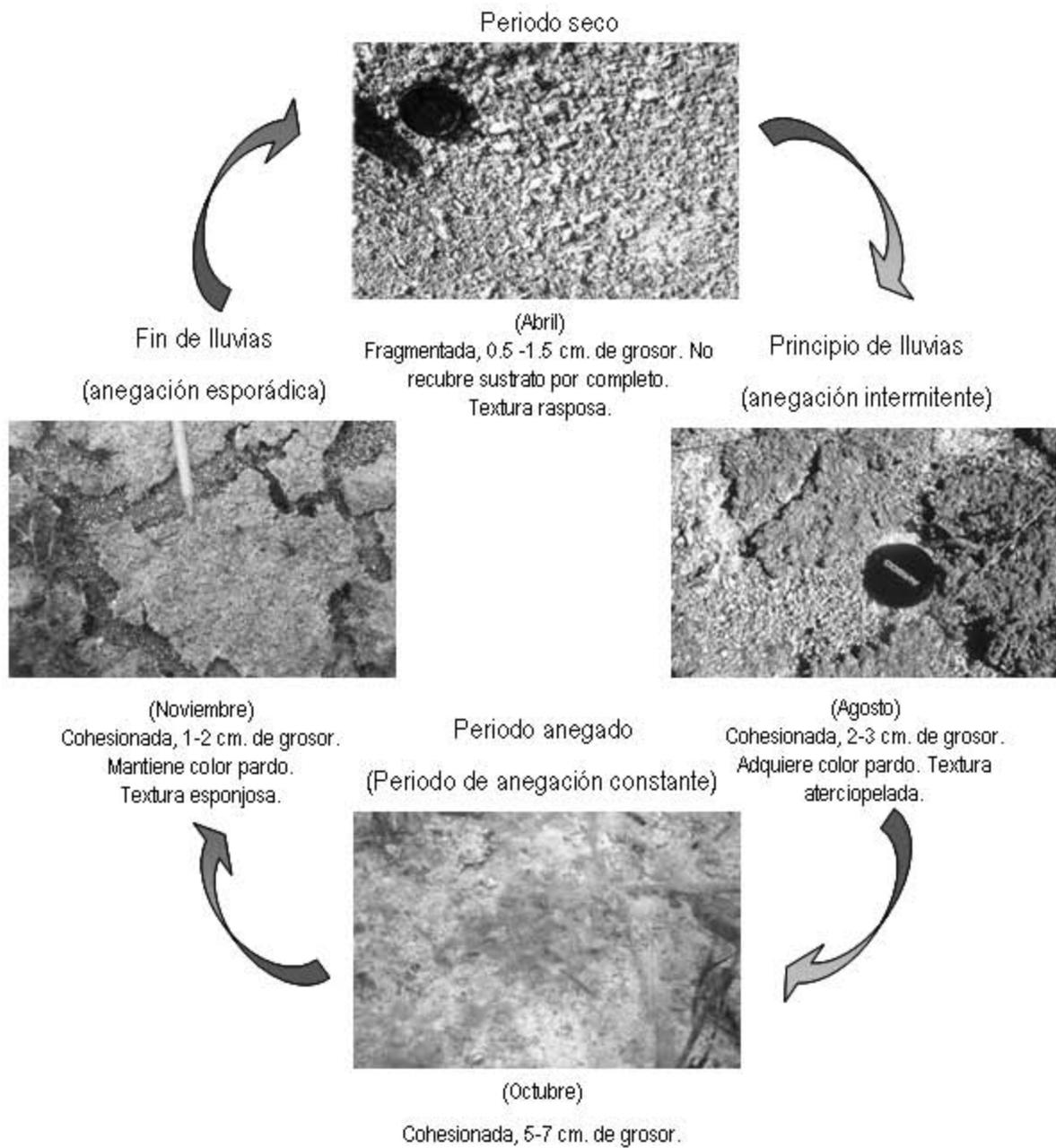


Fig. 5. Esquema y fotos donde se muestran los cambios en apariencia del perifiton en el tinal (Esquema modificado de Becerra-Absalón 2003).

MATERIAL Y MÉTODOS

1. En el campo

Se realizaron dos salidas de campo al tinal en la Reserva Ecológica de El Edén, Quintana Roo, una en el periodo seco (agosto 2002) y otra en el periodo anegado (noviembre 2002). En cada salida se recolectó una muestra viva de perifiton (costra y hojuelas) en una caja de petrí desechable de 100 x 15 mm, esta muestra fue utilizada para sembrar porciones del crecimiento algal en cultivos. En una bolsa de plástico de 17 cm x 15 cm se recolectó perifiton, para obtener extractos de la costra algal. Ambas muestras se trasladaron al laboratorio en una hielera para mantenerlas frescas.

2. En el Laboratorio

2.1 Cultivos mixtos, cultivos unialgales y resiembras para experimentos controlados.

Se obtuvieron cultivos mixtos para facilitar el aislamiento de tricomas de *Nostoc sphaericum*. Con micropinzas se tomaron pequeños segmentos del perifiton que se sembraron en cajas de petri desechables de 60 x 15 cm con diferentes medios sólidos: Bold Basal, Allen y BG0 (Cyanosite, 2005). Posteriormente de estos 3 medios se seleccionó el que permitió un mejor crecimiento de *Nostoc sphaericum* para continuar con los experimentos controlados (ver anexo I).

Los cultivos unialgales de *Nostoc sphaericum* se obtuvieron aislando con micropipetas de vidrio tricomas de los cultivos masivos y sembrándolos en cajas de petri con medio BG0 sólido (Cyanosite, 2005, ver anexo II). Estos cultivos unialgales se mantuvieron por resiembras (cada 3 meses aproximadamente) de porciones del crecimiento tomadas con pinzas finas.

Para evaluar el efecto de diferentes concentraciones de nitrógeno en el ciclo de vida, así como caracteres diagnósticos y crecimiento de los talos de *Nostoc sphaericum*, se hicieron cultivos unialgales en medio sólido (cajas de petri) resemebrando 5 tricomas de 15 células en promedio, en cada caja de petri, separando los tricomas varios milímetros entre si. Para estas resiembras se utilizó como base el medio de cultivo BG (Cyanosite, 2005), combinándolo con 3 diferentes tratamientos de nitrógeno: 0 g NaNO₃ (BG0), 0.52 g l⁻¹ NaNO₃ (BG16:1) y 1.5 g l⁻¹ NaNO₃ (BG11). El medio BG16:1 es una variante elaborada por nosotros que utilizó una proporción de 16 partes de nitrógeno por 1 de fósforo que es la proporción Redfield como el óptimo teórico, propuesta por Reynolds (1984) para otras comunidades algales. Las concentraciones de nitrógeno y fósforo para elaborar este medio se calcularon a partir de las mediciones de estos nutrimentos en el tinal estudiado. Como se mencionó, el medio BG16:1 tiene como recurso de nitrógeno 0.52 g de NaNO₃ y

de fósforo 0.04 g K₂HPO₄, de manera que el medio BG quedó modificado en sus concentraciones originales (ver anexo II).

Para observar si el perifiton pudiera tener un efecto alelopático (antibiosis) sobre el crecimiento de *Nostoc sphaericum*, que se sobreponga o se sume al efecto de otros factores ambientales, se utilizó un extracto de perifiton que incluye a todos los organismos presentes en la costra, es decir algas, hongos, bacterias, etc. Los extractos se obtuvieron macerando en un mortero 16 g de costra en 1 litro de medio (BG0, BG16:1 y BG11). Estos extractos se filtraron 2 veces utilizando el sistema aséptico Sterifil de 47 mm de Millipore y filtros de nitrocelulosa (GSWP) de 0.22 µm de poro, para esterilizar. De estos extractos base se hicieron diluciones al agregar el agar (al 1 %) para que quedaran concentraciones de 25 y 50 por ciento.

Los cultivos se mantuvieron en una cámara de ambiente controlado Sanyo a 30 °C, 37.3 mmol cm.⁻² s⁻¹ de luz y 12 - $\overline{12}$ horas de fotoperiodo.

2.2 Caracterización taxonómica y ciclo de vida de *Nostoc sphaericum*

Para hacer la caracterización taxonómica y la observación del ciclo de vida de *Nostoc sphaericum* en condiciones naturales, se utilizaron muestras de herbario de recolecciones realizadas de 1999 a 2000. Las observaciones se hicieron en un microscopio óptico Olympus BX51 equipado con una cámara digital Olympus mod. Dp-12.

Para observar el efecto de las diversas concentraciones de nitrógeno y del extracto algal en el ciclo de vida y en los caracteres diagnósticos de *Nostoc sphaericum* (largo, ancho, color, forma de las células vegetativas, heterocitos y acinetos), se hicieron preparaciones semipermanentes de los crecimientos en los diferentes tratamientos cada semana durante 10 semanas. Las preparaciones se observaron en el mismo equipo arriba mencionado.

Se tomaron fotografías (con el equipo arriba mencionado) y se hizo un registro gráfico (Fig. 46) de la caracterización y observación del ciclo de vida tanto en condiciones naturales como en los diferentes tratamientos.

Las medidas de las células (largo y ancho) tanto de los cultivos como en las muestras de perifiton, se obtuvieron por medio de análisis de fotografías a 80x, con el programa SigmaScan Pro 4.0, tomadas a tricomas de cultivos con 4 semanas de incubación y a tricomas de talos de perifiton obtenidos de muestras de herbario. De cada medio y cada tratamiento se midieron 50 células de diferentes tricomas (ver anexo III).

También se evaluó el efecto de las diversas concentraciones de nitrógeno y el extracto algal sobre el porcentaje de división celular de los tricomas de *Nostoc sphaericum* en cultivo. Este porcentaje se obtuvo de la siguiente manera: número de células en división x 100 ÷ Total de células del tricoma. De cada medio se contaron el número de células en división y el total de células de cada uno de 50 tricomas.

Se utilizaron 2 ANOVAS de una vía y Pruebas de Tukey (comparaciones múltiples) para analizar los resultados del largo, ancho y porcentaje de división celular y un análisis de regresión para observar si hay una relación entre el largo y la división celular con el paquete estadístico SPSS Versión 11. Los datos se normalizaron transformándolos con logaritmo natural.

Para la determinación de la especie se consultaron a los siguientes autores Geitler (1932), Bornet & Flahault (1886-1888), Desikachary (1959).

2.3 Efecto de diversas concentraciones de nitrógeno y del extracto algal sobre la biomasa de los talos de *Nostoc sphaericum*

Para evaluar el crecimiento de los talos de *Nostoc sphaericum* se midió la biomasa como clorofila *a* en $\mu\text{g l}^{-1}$ (Sladeckova 1962 y Weitzel 1979). Se sembraron 3 cajas de cada tratamiento con 5 hormogonios en cada caja, permitiendo el crecimiento hasta las semanas octava a décima, que previamente se reconocieron como el tiempo entre la fase exponencial y la estabilización de crecimiento de los talos (anexo IV). Entre estas semanas se tomaron submuestras para las determinaciones de clorofila *a*, procesando los crecimientos de una caja (5 crecimientos por semana), hasta cumplir 10 semanas de incubación.

La concentración de clorofila *a* en $\mu\text{g l}^{-1}$ se midió con un fluorómetro Turner 10-AU. El método de extracción de clorofila *a* utilizado fue publicado por United States Environmental Protection Agency (USEPA 1997) como método 445.0, Kit óptico 10-040, que no requiere acidificación de las muestras.

Para analizar los datos se transformaron con logaritmo natural y se utilizaron pruebas de Tukey (comparaciones múltiples) y una prueba de ANOVA de una vía con el paquete estadístico SPSS Versión 11.

RESULTADOS

1. Caracteres morfológicos de los tricomas y las células e identificación de la especie

En cultivo, *N. sphaericum* presentó tricomas ondulados que pueden estar laxamente entremezclados o muy entremezclados dependiendo de la fase del ciclo de vida (Figs. 18-19) o de las concentraciones de nitrógeno. En concentraciones altas de nitrógeno (BG11) los tricomas se observaron más entremezclados que en concentraciones bajas (Tabla 2). Los tricomas también variaron en su longitud, en condiciones naturales generalmente fueron cortos (Figs.10, 12), al igual que en cultivo con concentraciones óptimas (BG 16:1) y altas (BG11) de nitrógeno, así como con la adición de extracto algal, en donde también hubo una gran producción de hormogonios (Tabla 2, Figs. 38, 39).

Las células vegetativas en condiciones naturales midieron 4.2-6.3 μm de largo y 4.1-6.7 μm de ancho mientras que en cultivo 3.3-7.2 μm de largo y 3.5-6.4 μm de ancho (Tabla 2). La forma de las células en cultivo no varió de la observada en condiciones naturales, pues en ambas fueron subesféricas o con forma de barril. Aunque sí se observó que las células se alargaban cuando crecían en medios con concentraciones óptimas o altas de nitrógeno (ver promedios del tamaño de las células vegetativas en Tabla 2). La variación en el tamaño de las células se analiza cuantitativamente más adelante.

Los heterocitos fueron esféricos o subesféricos en condiciones naturales (Figs.8, 9), en donde midieron de 4.7-7.8 μm de largo y 5.2-6.7 μm de ancho (Tabla 2). En cultivo también fueron esféricos o subesféricos (Figs.19, 20) pero midieron 3.2-12.4 μm de diámetro (Tabla 2).

Los heterocitos no fueron observados en condiciones óptimas (BG16:1), ni en altas concentraciones de nitrógeno (BG11), durante todo el tiempo que se mantuvieron los cultivos. Los heterocitos tuvieron mucha variación en el tamaño en el medio BG0 (Tabla 2).

Los acinetos fueron cilíndricos, gruesos y de color pardo con ornamentaciones en su cubierta exterior (Figs. 7, 30-31, 47). En el perifiton midieron 9.1-19.4 μm de largo y 8.6-9.3 μm de ancho y en cultivo midieron 5.9-10.1 μm de largo y 5.6-9.6 μm de ancho (Tabla 2). Los acinetos fueron observados en condiciones naturales durante todo el ciclo hidrológico pero principalmente en los periodos de fin de lluvias y secas. En cultivo sólo fueron observados en talos viejos (Fig. 29) que se presentaron cuando el cultivo se mantuvo durante un periodo largo (aproximadamente 16 semanas).

Tabla 2. Descripción de la apariencia de los tricomas dentro de las colonias y de la morfología y morfometría de las células (vegetativas, heterocitos y acinetos).

	Tricomas	Células			
		Vegetativas		Heterocitos	
		forma	tamaño (μm)	Forma	tamaño (μm)
Condiciones naturales	Tricomas cortos ondulados, pocos tricomas en una colonia, laxamente entremezclados o muy entremezclados dependiendo la fase del ciclo de vida	Subesféricas o con forma de barril.	L= 4.2 - 6.3 A= 4.1 - 6.7	Esféricos a subesféricos	L= 4.5-7.8 A= 5.2-6.7
BG0	Tricomas muy largos, ondulados entremezclados	Subesféricas o con forma de barril.	L= 3.3 (4.2) 6.2 A= 3.7 (4.1) 4.7	Esféricos, subesféricos	3.2 – 12.4
BG0 25% extracto	Tricomas cortos, ondulados, entremezclados, muchos hormogonios	Subesféricas o con forma de barril.	L= 3.2 (4.1) 4.9 A= 3.7 (3.7) 4.2	Esféricos a subesféricos	4.3 - 5.1
BG0 50% extracto	Tricomas cortos entremezclados, muchos hormogonios	Subesféricas o con forma de barril.	L= 3.3 (4.8) 6.1 A= 4.3 (4.8) 4.4	Esféricos a subesféricos	5.9 - 6.8
BG16:1	Tricomas cortos entremezclados	Subesféricas o con forma de barril.	L= 3.9 (4.7) 6.1 A= 3.4 (4.2) 4.7	Ausentes	
BG16:1 25% extracto	Tricomas muy cortos entremezclados, muchos hormogonios.	Subesféricas o con forma de barril.	L= 3.3 (4.3) 5.6 A= 3.4 (4.1) 4.6	Ausentes	
BG16:1 50% extracto	Tricomas muy cortos entremezclados, muchos hormogonios	Subesféricas o con forma de barril.	L= 4.3 (5.7) 7.2 A= 4.8 (5.5) 6.2	Ausentes	
BG11	Tricomas cortos muy entremezclados	Subesféricas o con forma de barril.	L= 3.3 (4.6) 5.7 A= 3.7 (4.3) 5	Ausentes	
BG11 25% extracto	Tricomas muy cortos muy entremezclados, muchos hormogonios	Subesféricas o con forma de barril.	L= 3.6 (5.2) 6.5 A=3.9 (5.3) 6.4	Ausentes	
BG11 50% extracto	Tricomas muy cortos muy entremezclados, muchos hormogonios.	Subesféricas o con forma de barril.	L= 3.7 (4.8) 6 A= 3.5 (4.6) 5.5	Ausentes	

Cuando se especifica que los heterocitos estuvieron ausentes se debe a que se revisaron varias preparaciones durante las diez semanas de cultivo y no fueron observados.

Los acinetos fueron observados en el perifiton principalmente en los periodos de fin de lluvias y seco, en cultivo sólo en talos viejos, en ambos casos su forma fue cilíndrica y sus medidas: en perifiton: L= 9.1 – 19.4 μm , A= 8.6 – 9.3 μm y en cultivo: L= 5.9 – 10.1 μm , A= 5.6 – 9.6 μm .

2. Ciclo de vida de *Nostoc sphaericum* en el perifiton.

Los talos se formaron a partir del inicio de las lluvias, cuando el perifiton se humedeció (Figs. 6; 48:2- 5,12). Antes de eso sólo pudimos encontrar acinetos o alguna colonia aislada con una vaina muy gruesa de color pardo oscuro (Fig. 6:4,12; 7; 11). Los acinetos se observaron en todos los periodos del ciclo hidrológico y germinaron en hormogonios (Figs. 6:2; 8) que fueron liberados al perifiton y al suelo, donde desarrollaron un heterocito terminal y posteriormente se envolvieron en una vaina firme (Fig. 9). El hormogonio creció dentro de la vaina hasta formar una colonia con 1 o varios tricomas (formados por fragmentación). En uno de los extremos de la vaina, se observó atrapado, lo que originalmente fue el heterocito terminal del hormogonio (Figs. 6:3; 10).

Los tricomas crecieron hasta abarcar completamente la vaina, se entremezclaron de tal forma que no se pudo apreciar su arreglo. La vaina fue muy gruesa de color pardo amarillento (Fig. 6:4; 11). Posteriormente se formó una colonia con varios tricomas en su interior (Figs. 6:5;12). Todas las fases anteriores formaron crecimientos debido a la agregación de colonias (estuvieron presentes todos los diferentes tipos de colonias arriba descritos), estos crecimientos fueron microscópicos y llegaron a medir de 12 a 80 μm de diámetro.

La mayoría de estos talos en el periodo de lluvias crecieron dentro del perifiton de manera inconspicua; sólo se observaron crecimientos de gran tamaño (claramente apreciables a simple vista) durante el mes de noviembre (Figs. 13; 14). Estos talos macroscópicos estuvieron formados por una gran cantidad de mucílago y hormogonios (Fig. 6:2). En algunas zonas del talo, el mucílago se observó difluente, con los hormogonios dispersos dentro de él (Fig. 8). Pero en otras zonas, se observó la consistencia del mucílago más firme y se observó a los hormogonios rodeados por una vaina (Fig. 9).

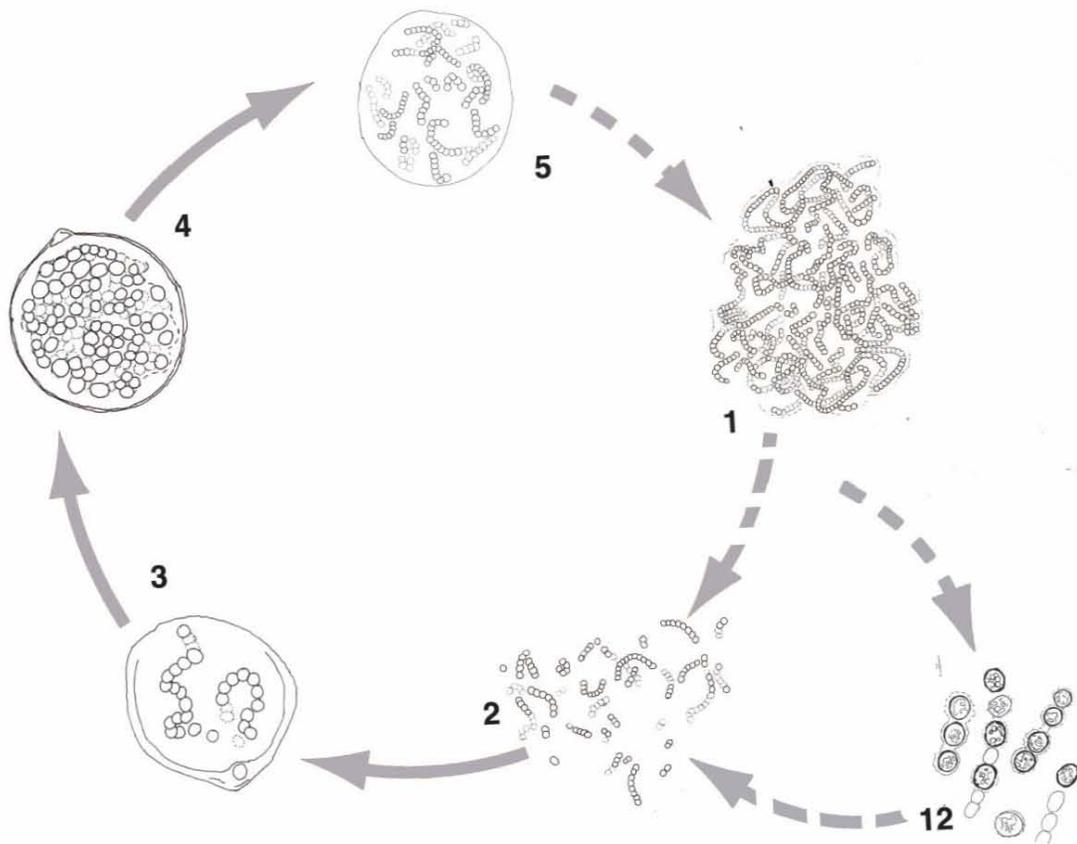
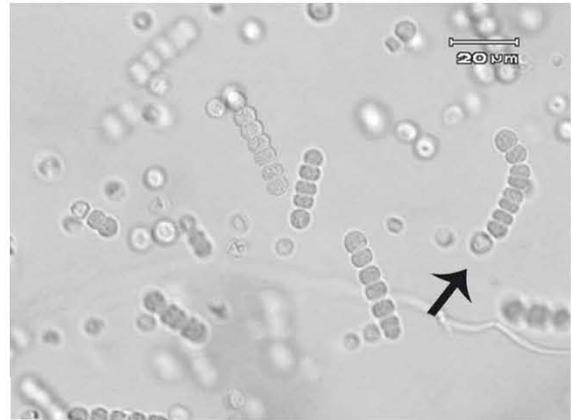


Fig. 6. Ciclo de vida de *Nostoc sphaericum* en el perifiton del tinal: 1) Talo maduro, con muchos tricomas, esta fase no fue observada en las muestras del perifiton, pero si había talos grandes con muchos hormogonios adentro, por lo que se piensa que tiene que haber una fase similar; 2) desintegración de tricomas y formación de hormogonios largos y cortos; 3) tricomas dentro de una colonia con una vaina gruesa, firme y amarillenta; 4) colonia con células densamente empaquetadas, el arreglo de los tricomas no es detectable, la vaina es muy gruesa de color café amarillento; 5) los paquetes pueden soltarse posteriormente y los tricomas fragmentarse, la vaina es difluente ligeramente coloreada de amarillo; 12) formación de acinetos sobre todo al final de la época de lluvias y permanencia de estos durante el periodo seco; En condiciones naturales no se observaron acinetos dentro de colonias, ni la formación de hormogonios a partir de un acineto, pero el paso de la fase 1 a la 12 y por último a la fase 2 es una interpretación hecha a partir de lo observado en cultivo (Fig. 15).



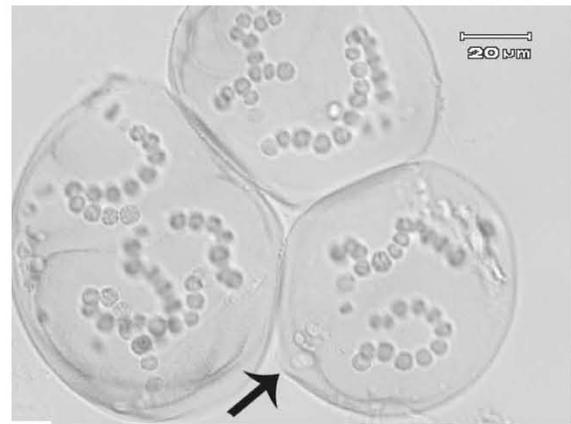
7



8



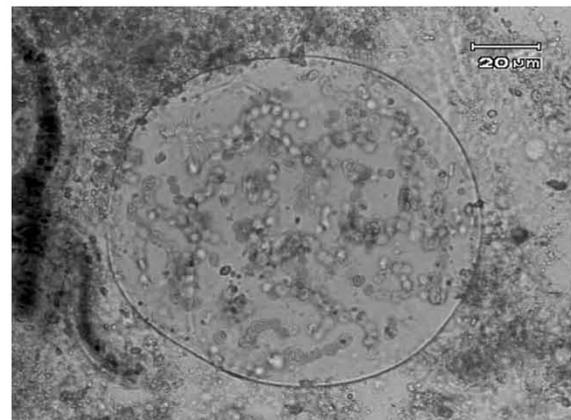
9



10

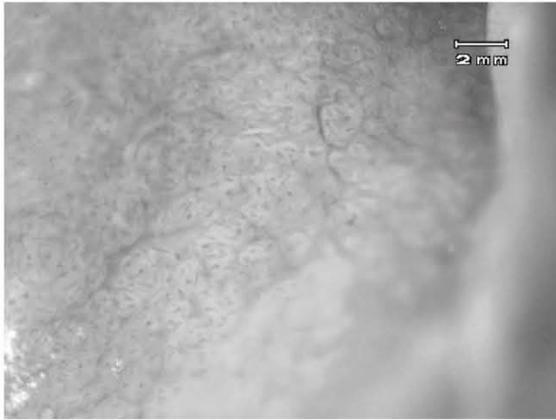


11



12

Figs. 7-12 Fotos del ciclo de vida de *Nostoc sphaericum* en el perifiton: 6) acinetos; 7) hormogonios; 8) hormogonios envueltos en una vaina (la flecha señala un heterocito terminal); 9) colonia con tricomas cortos (la flecha señala el heterocito terminal atrapado en la vaina); 10) colonia con células muy empaquetadas (la flecha señala el heterocito terminal atrapado en la vaina; 11) colonias con tricomas y hormogonios



13



14

Figs. 13-14. Fotos del talo en el perifiton: 13) vista del talo en donde se observa que está formado por múltiples colonias; 14) el talo con mucilago difluente y hormogonios inmersos en él.

3. Ciclo de vida en cultivo, efecto de los tratamientos de nitrógeno y del extracto algal

El ciclo de vida en cultivo estuvo conformado por un mayor número de fases que las observadas en condiciones naturales (arriba descritas).

En ambos casos los talos estuvieron formados por colonias subesféricas, pero en el perifiton hubo pocos tricomas dentro de las colonias, mientras que en cultivo las colonias tuvieron una gran cantidad de tricomas.

El ciclo de vida en cultivo (Fig. 15:1,2,6-9,12, y 42:1,10-11,13) fue reconstruido a partir de observaciones de todos los tratamientos, porque de manera general *N. sphaericum* presentó las mismas fases de desarrollo en todos los cultivos.

El ciclo de vida en cultivo se desarrolló de la siguiente manera: a partir de un hormogonio se formó una colonia con 1 tricoma, con una vaina hialina y difluente (Figs. 15:2,6-7; 16; 17).

Esta colonia creció debido al aumento de tamaño de la vaina y a la formación de tricomas por fragmentación; en esta etapa los tricomas se observaron laxamente mezclados (Figs. 15:8; 8) o muy entremezclados dentro de las colonias (Figs. 15:8; 19; 20). La forma de la colonia fue de esférica a subesférica (Figs. 15:8; 21; 22).

La colonia subesférica pudo subdividirse en varias colonias y/o se pudieron formar yemas muy pequeñas (Figs. 15:9; 23; 24); ambas le dieron la apariencia rugosa a los talos (Fig. 25). Tanto las yemas como las colonias que se formaron, generalmente permanecieron unidas entre sí por pequeñas uniones entre las vainas y algunos filamentos. De esta forma el talo (de forma esférica a subesférica) pudo alcanzar en 2 meses y medio 15 mm de diámetro en promedio y posteriormente hasta 2 cm de diámetro (Figs. 15:1; 26).

Los tricomas dentro de estas colonias macroscópicas se fragmentaron hasta formar hormogonios que fueron liberados en el medio (Figs. 15:2; 27). Estos hormogonios formaron crecimientos (como se describe en los párrafos anteriores) alrededor del talo subesférico (Figs. 15:6-8). Estos crecimientos aumentaron de tamaño y se fundieron entre sí para formar un crecimiento radial y aplanado de aproximadamente 6 cm de diámetro (Fig. 28).

El mucílago de los talos viejos se volvió difluente y liso y no se pudieron observar yemas en la superficie (Fig. 29). Además fue en estos talos en los que las células de los tricomas se diferenciaron en acinetos (Figs. 15:12; 30 - 31).

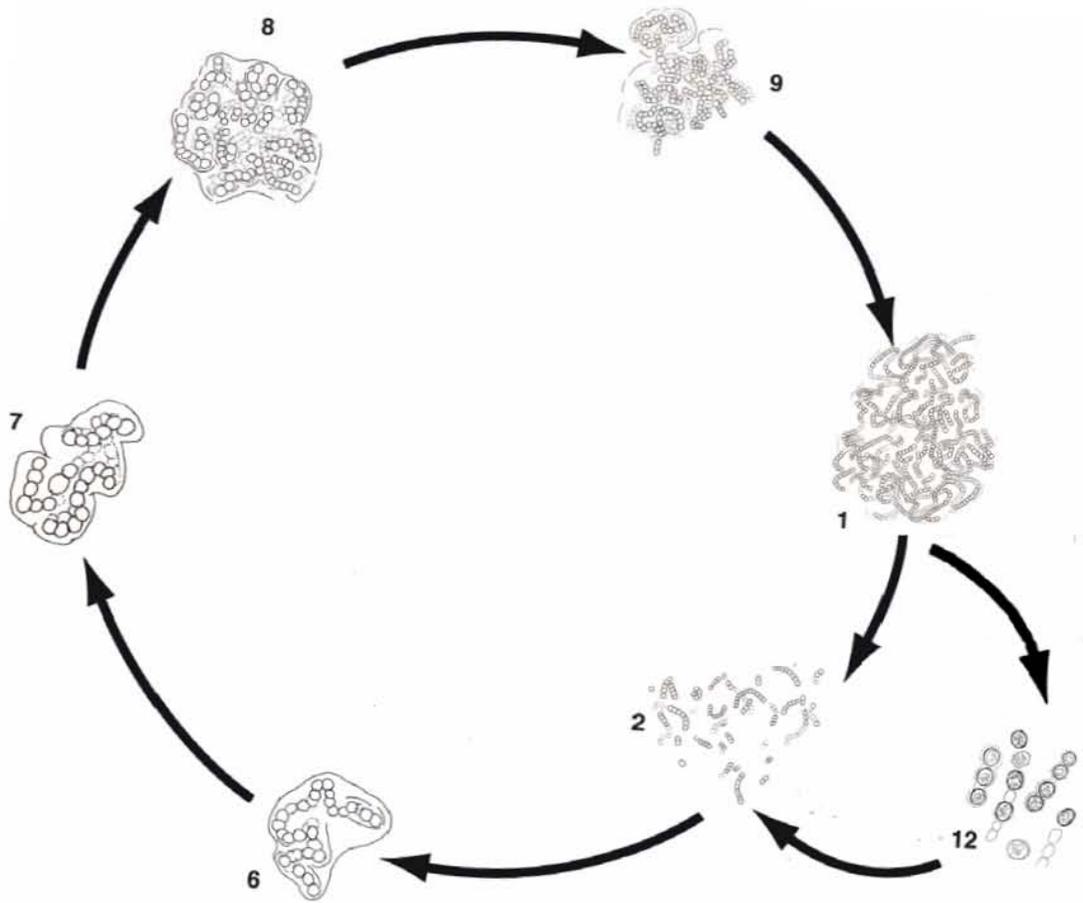
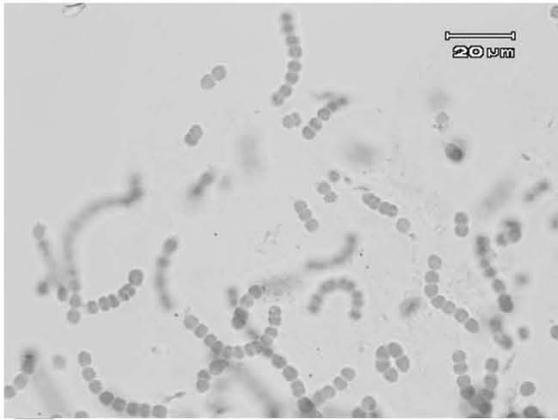
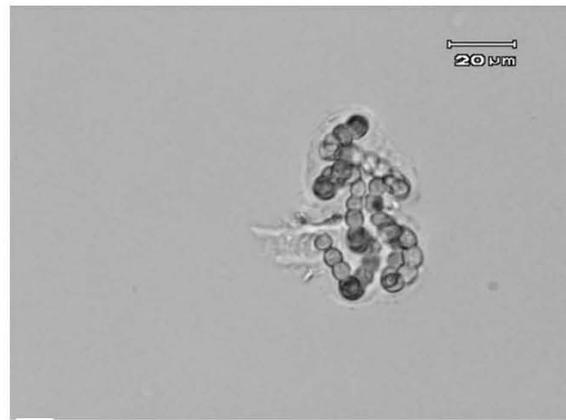


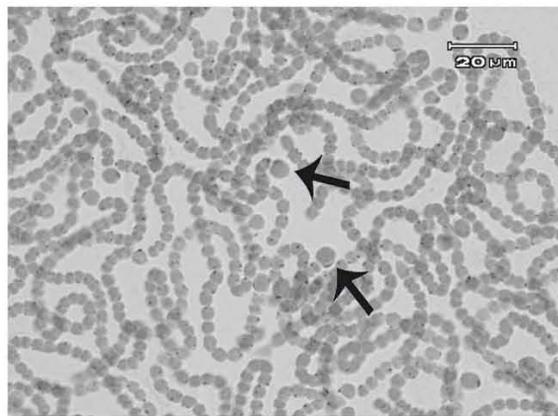
Fig. 15. Esquema donde se muestra el ciclo de vida de *Nostoc sphaericum* en cultivo: 1) talo maduro, la vaina externa a veces es difluente y otras veces esta muy definida; 2) desintegración de tricomas y formación de hormogonios largos y cortos; 6) el hormogonio crece en un tricoma rodeado por una vaina; 7) parte de los tricomas se cubren por una vaina y la vaina externa puede (o no) comenzar a invaginarse para dividir la colonia; 8) el tricoma se fragmenta formando una colonia con varios tricomas en su interior; 9) por gemación se pueden formar colonias nuevas, generalmente las colonias nuevas no se separan de la colonia más vieja; 12) formación de acinetos de tricomas (en cultivos viejos de más de 4 meses)



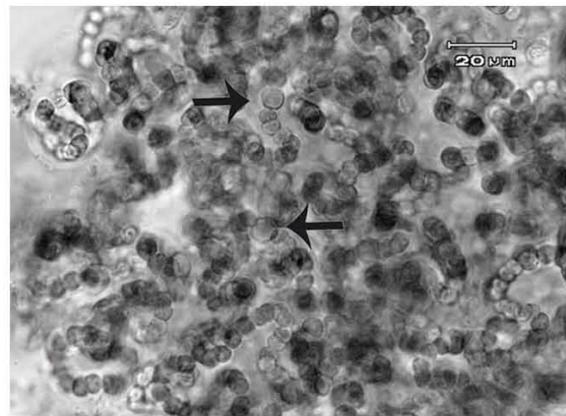
16



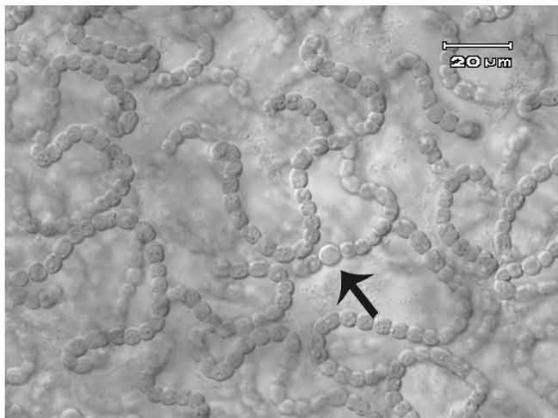
17



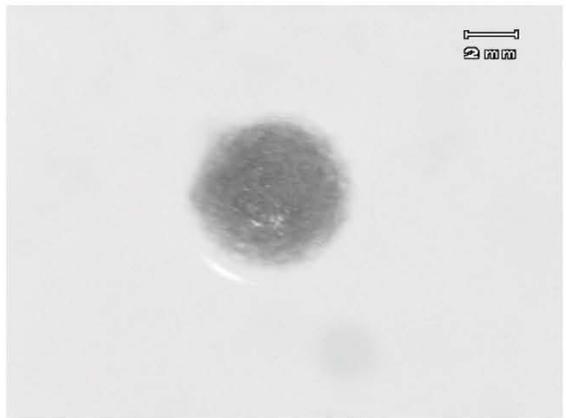
18



19

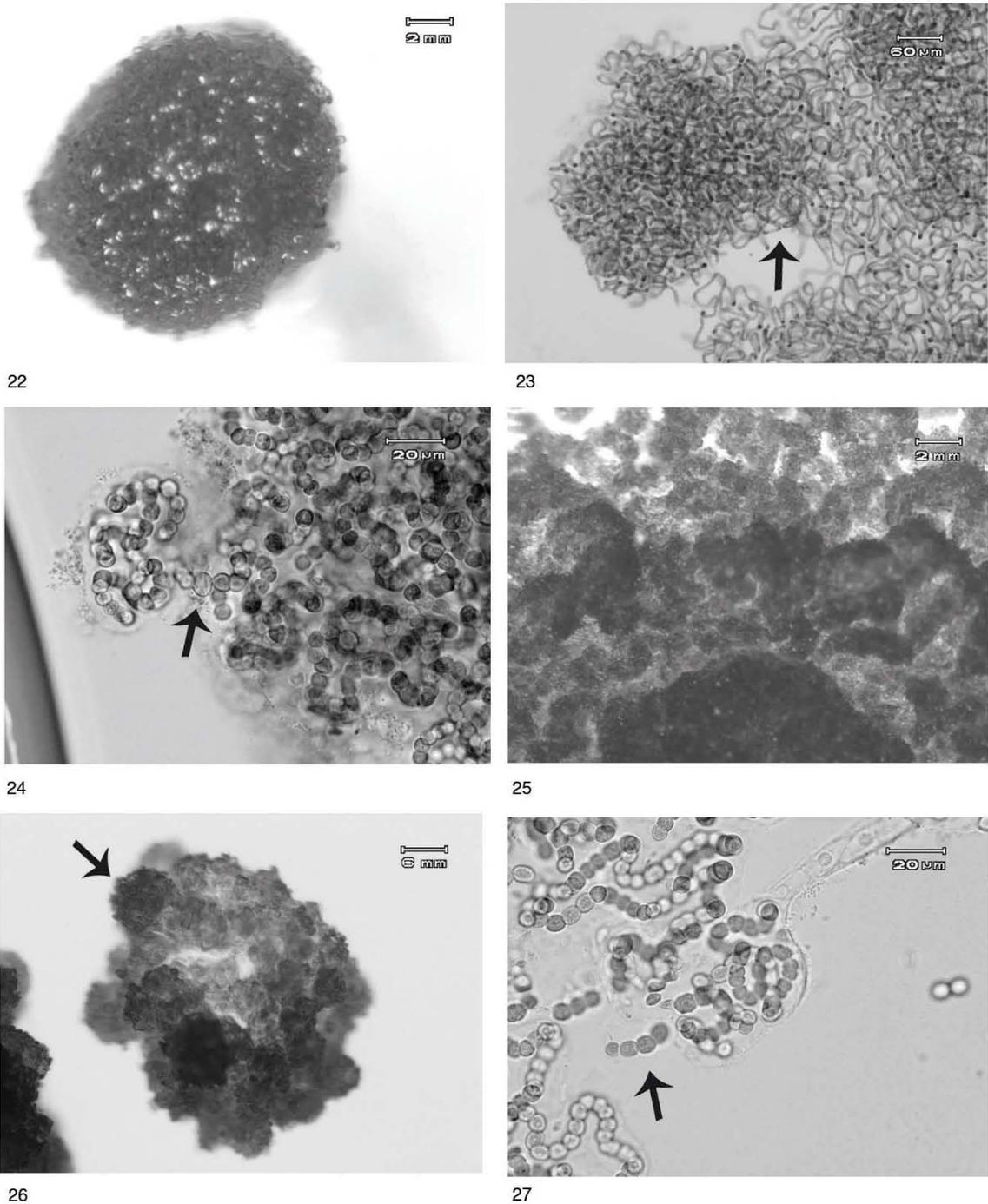


20

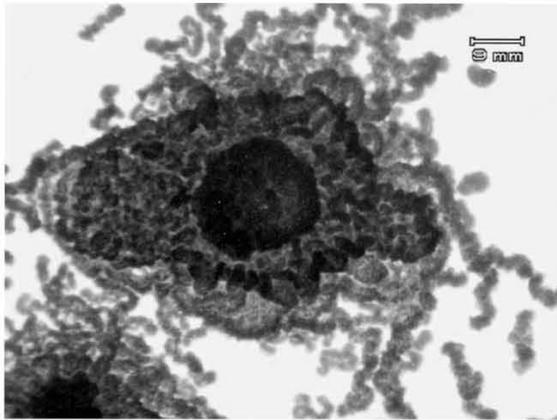


21

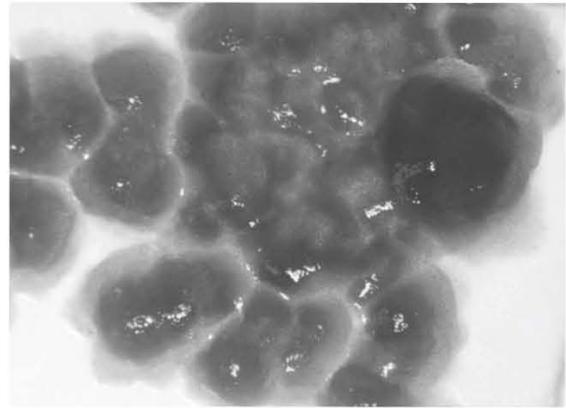
Figs.16-21. Fotos del ciclo de vida de *N. sphaericum* en medio de cultivo BG0: 16) homogonios cortos, largos y células solas; 17) división de una colonia; 18) tricomas laxamente entremezclados, con heterocitos; 19) talo con tricomas muy entremezclados, con heterocitos intercalares (flechas); 20) tricomas con heterocitos intercalares (flecha), medio con 25% de extracto; 21) el talo constituido por una colonia esférica o subsférica a las 2 semanas.



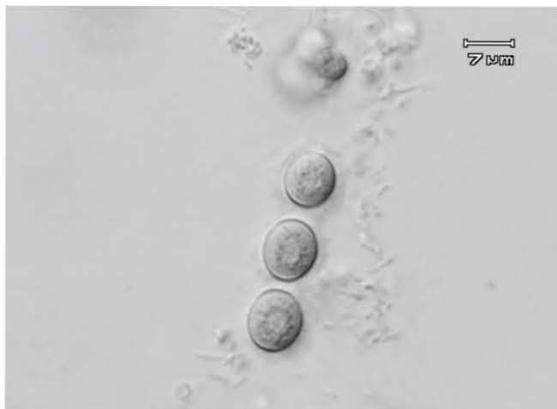
Figs. 22-27. Fotos del ciclo de vida de *N. sphaericum* en medio de cultivo BG0: 22) talo constituido por una colonia esférica o subsférica, comienzan a formarse yemas (4 semanas); 23) división de colonias (la flecha señala el punto de invaginación); 24) formación de una colonia por gemación con un heterocito intercalar (flecha); 25) acercamiento del talo, se observan las yemas y las colonias nuevas uniéndose entre si por crecimiento del mucílago; 26) talo con colonias dividiéndose (flecha) y formación de yemas por gemación; 27) liberación de hormogonios (flecha).



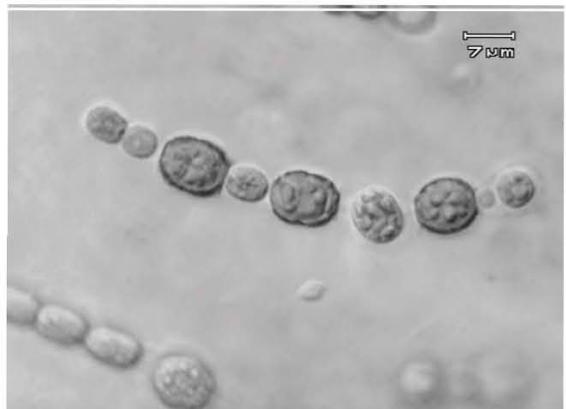
28



29



30

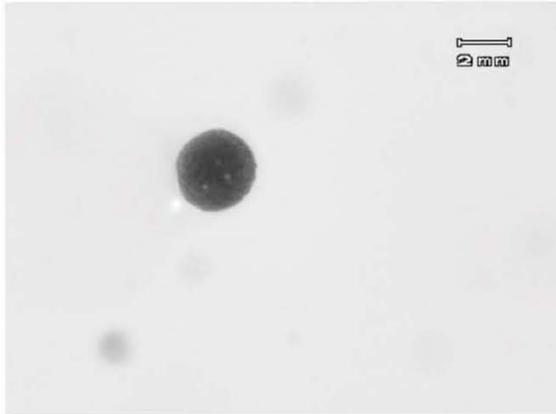


31

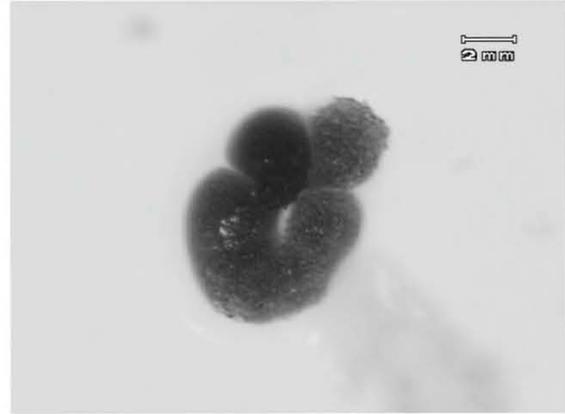
Figs. 28-31. Fotos del ciclo de vida de *N. sphaericum* medio BG0; 28) talo formado por una crecimiento esférico o subsférico central y múltiples colonias creciendo radialmente después de una dispersión de hormogonios. Las colonias se funden entre si por el crecimiento de mucílago; 29) aspecto de un talo viejo (más de 4 meses); 30 y 31) acinetos formados en tricomas

El efecto de los tratamientos en el ciclo de vida fue el siguiente: con una concentración óptima de nitrógeno (BG16:1) pero sobre todo en altas concentraciones de nitrógeno (BG11) los talos fueron más compactos (Figs. 32-33), formaron más yemas y comenzaron a subdividirse antes (a partir de la 4ta semana) que en el medio sin nitrógeno (Figs.21- 22; 26) y en mayor cantidad (Figs. 34-35). Además la presencia de nitrógeno (BG16:1 y BG11) inhibió la formación de heterocitos (Tabla 2, Figs.38-41).

Con la adición de extracto se observó una mayor producción de hormogonios y de yemas (Fig. 36) y los tricomas fueron más cortos (Fig. 37; 39) que con los otros tratamientos (Figs. 18; 20; 38).



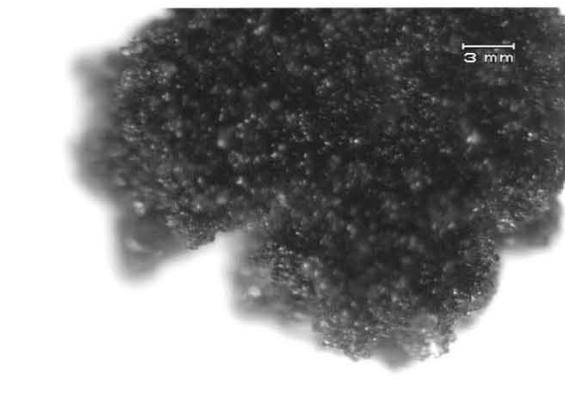
32



33



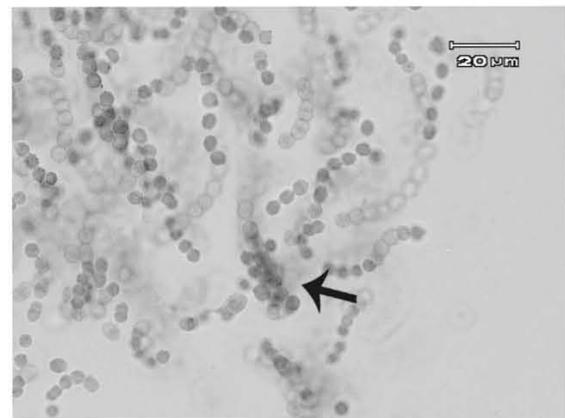
34



35

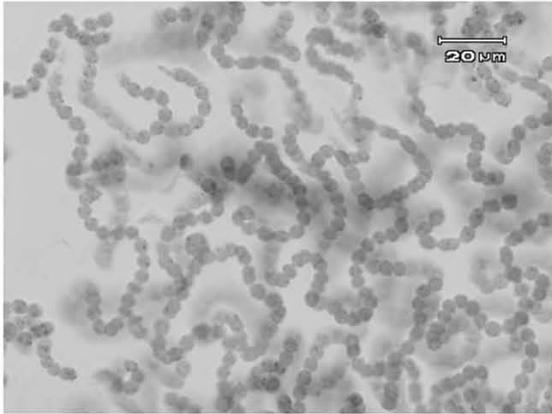


36

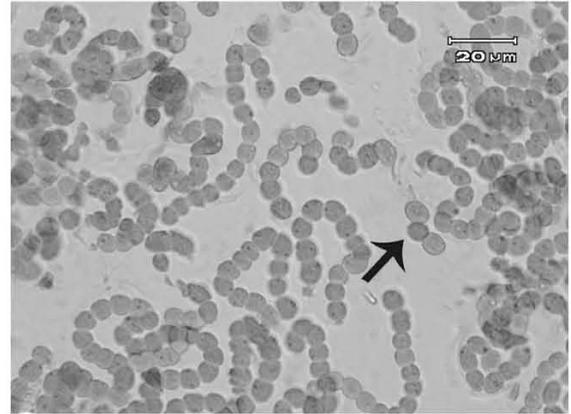


37

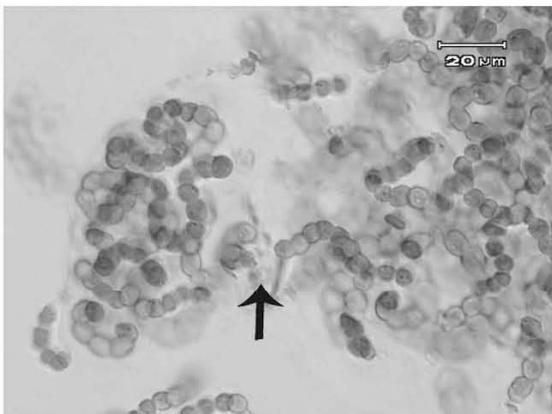
Figs. 32-37 Talos creciendo en medio BG11: 32) el talo constituido por una colonia esférica o subsférica a las 2 semanas; 33) el talo dividiéndose en varias colonias, comienzan a formarse yemas (4 semanas); 34) división de colonias; 35) talo con muchas yemas (10 semanas); 36) acercamiento del talo en donde se observan una gran cantidad de yemas, medio de cultivo BG11 50%; 37) hormogonios y fases aseriadas (flecha) en medio de cultivo BG0 50%.



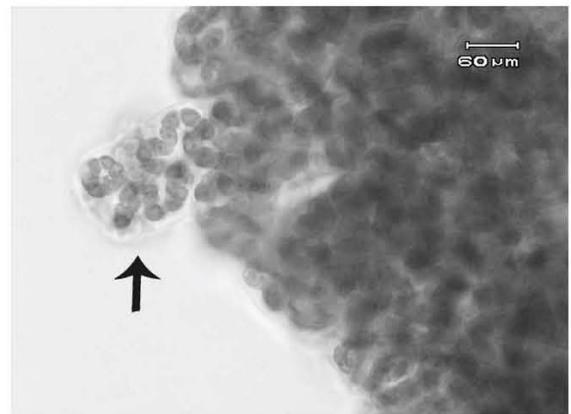
38



39



40



41

Figs. 38) Tricommas cortos creciendo en medio BG11, no hay heterocitos y 39) tricommas cortos y hormogonios (flecha) creciendo en medio BG11 con 50% de extracto algal. Figs. 40-41 Formación de colonias por gemación (yemas), no hay heterocitos intercalares: 40) en medio BG16:1 25% (la flecha señala el punto de división) y 41) en medio BG11 (la flecha señala la yema).

El talo también estuvo formado por fases aseriadas que se desarrollaron dentro de las colonias subsféricas (Fig. 42: 1,10-11). El desarrollo de estas fases comenzó cuando un tricoma se enroscó en si mismo (Figs. 42:10; 43) y formó una estructura con las células muy compactas (Figs. 42:10; 44; 45). La célula terminal de uno de sus extremos se diferenció en heterocito. La vaina fue muy difluente y hialina, apenas perceptible. Las células comenzaron a dividirse y las colonias aseriadas a crecer, entonces se formaron colonias aproximadamente de 31 μm de diámetro (Figs. 42:11; 46). A partir de estas colonias germinaron varios tricomas (Figs. 42:11 y señalados por flecha en 46). Posteriormente de estas fases aseriadas también se formaron acinetos (Figs. 42: 13 y señalados por flecha en 47).

Las fases aseriadas fueron mucho más frecuentes en medios con altas concentraciones de nitrógeno (BG11) que en medios sin nitrógeno (BG0).

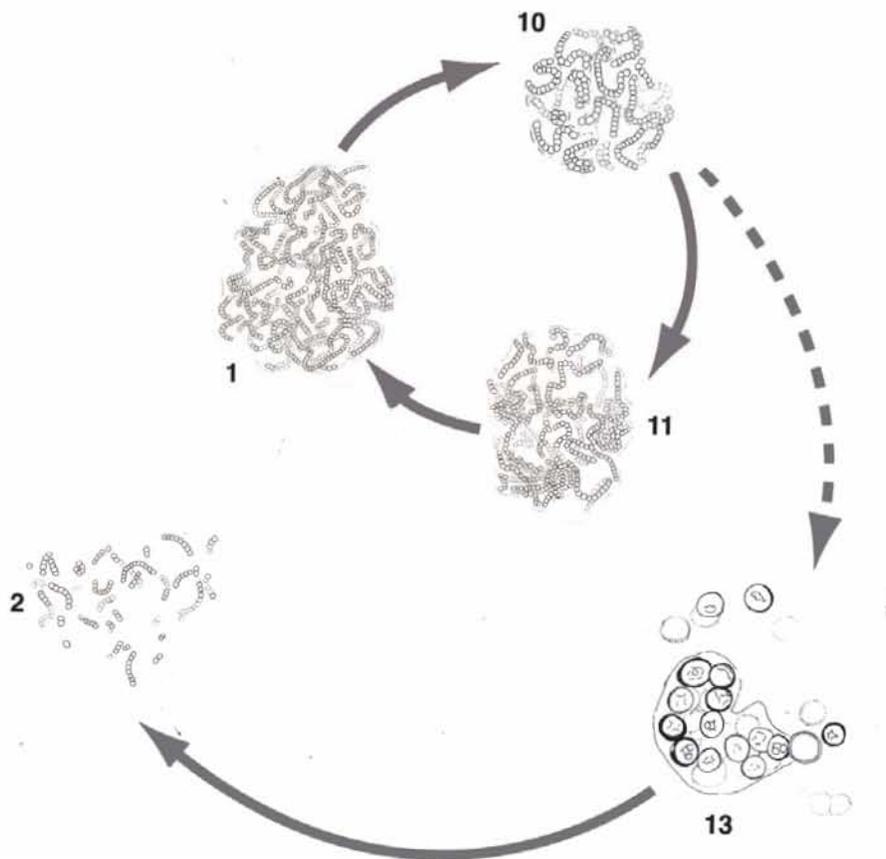
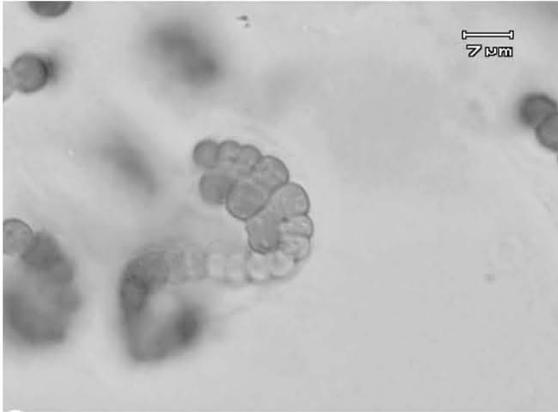


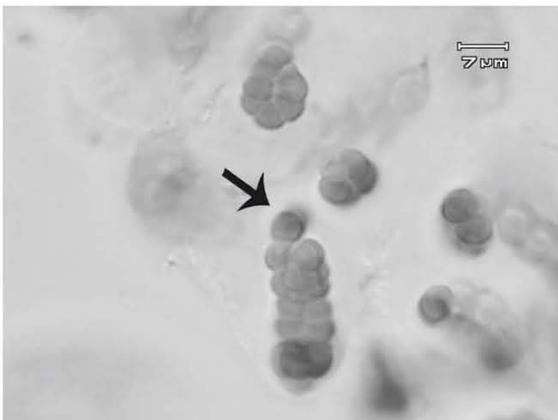
Fig.42. Esquema donde se muestra la formación de fases aseriadas o de proliferación observadas sólo en cultivo y principalmente en tratamientos con nitrógeno: 10) formación de fases aseriadas; 11) fases aseriadas maduras y desprendimiento de tricomas a partir de estas fases; 13 formación de acinetos a partir de una fase aseriada.



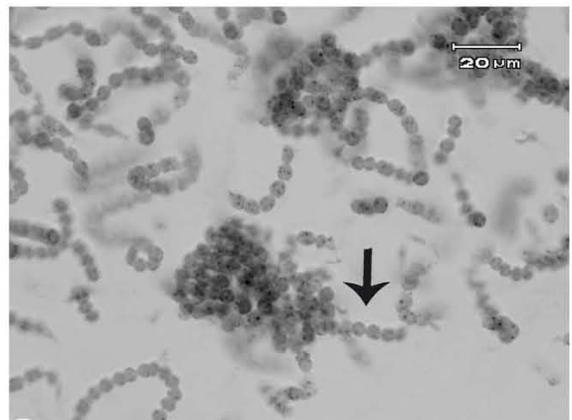
43



44



45



46



47

Figs. 43-44. Fotos de fases aseriadas en BG0: 43) formación de una fase aseriada; 44) fase aseriada joven (la flecha señala el heterocito). Figs.45-46. Fotos de fases aseriadas en BG11: 45) fase aseriada joven (la flecha señala la célula en donde debería haberse formado un heterocito); 46) fases aseriadas maduras (la flecha señala la germinación de tricomas); Fig. 47. Foto del ciclo de vida en medio de cultivo BG0: acinetos formados a partir de fases aseriadas (la flecha señala el heterocito).

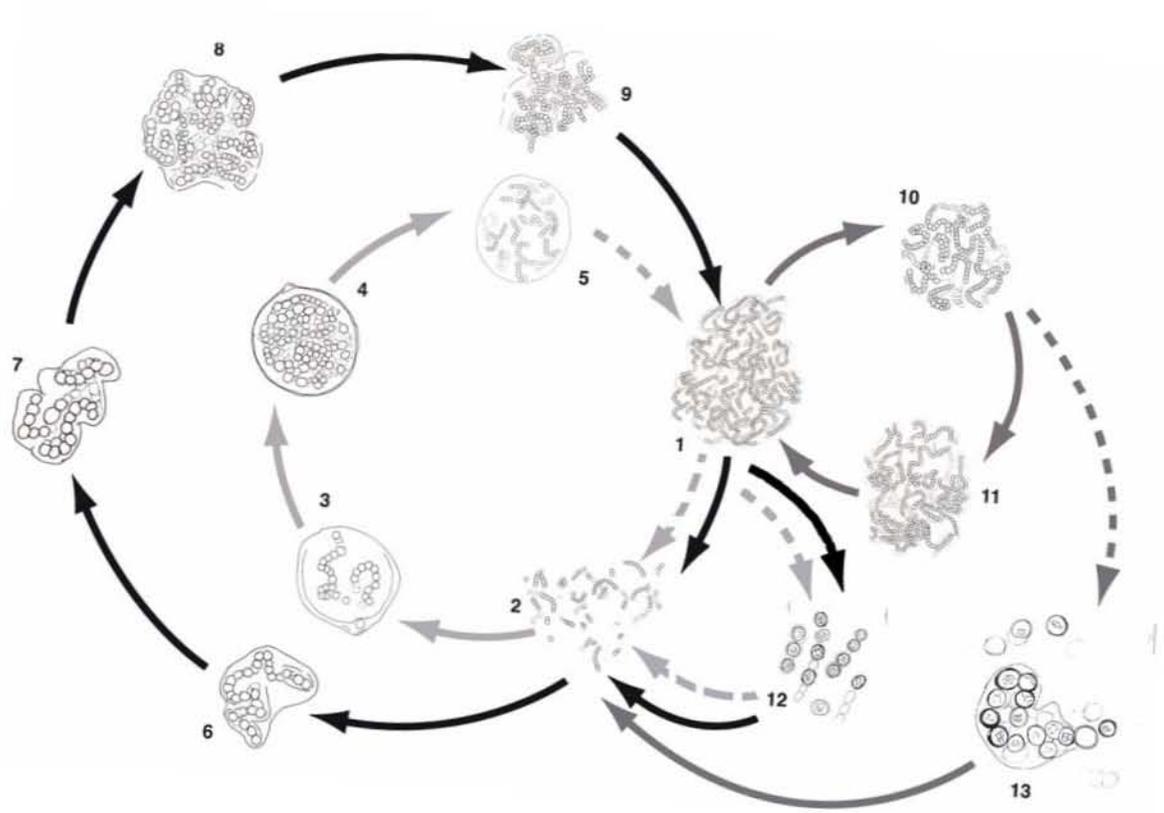


Fig.48. Esquema donde se muestra el ciclo de vida de general *Nostoc sphaericum*. Con flechas gris claro se ejemplifica el ciclo que se observo en condiciones naturales; con flechas negras se representa el ciclo observado en cultivo y con flechas grises oscuro se muestra el desarrollo de fases aseriadas, estas sólo fueron observadas en cultivo.

4. Variación de las células vegetativas de *Nostoc sphaericum*

El largo y el ancho de las células vegetativas de los tricomas en cultivo presentaron variaciones significativas por el efecto de las diferentes concentraciones de nitrógeno (largo $F= 37.6$, $p< 0.05$; ancho $F= 84.1$, $p< 0.05$) y extracto (largo $F=46.7$, $p< 0.05$; ancho $F= 186.6$, $p< 0.05$). Sin embargo, un análisis estadístico (ANOVA) de esas variaciones mostró que solamente la variación en el ancho de las células podría explicarse en relación con las diferencias entre los tratamientos en cultivo (Tablas 3 y 6), así que se hizo una comparación estadística (Prueba de Tukey) entre las medidas en el ancho de las células y los tratamientos en cultivo. Estos mismos análisis también se aplicaron a las medidas de las células en el perifiton (Fig. 49, Tablas 7, 8). Esta comparación mostró que los tricomas son más robustos (es decir tienen células más gruesas o anchas) cuando están presentes otras algas, es decir aquellos tratamientos que incluyen el 50% del extracto (Fig. 49, Tabla 8); esto se magnifica cuando el nitrógeno tiene una proporción óptima (Redfield) con respecto del fósforo (medio BG16:1 50%, Fig. 49, Tabla 7). Cuando se eleva la concentración de nitrógeno y se pierde la proporción óptima, contrarresta el efecto que tienen las otras algas e interfiere gradualmente con el desarrollo de las células de *N. sphaericum* (BG11 25% y BG11 50%, Fig. 49, Tabla 8). Sin embargo en los tratamientos sin extracto, en concentraciones altas de nitrógeno (BG16:1 y BG11, Fig. 49, Tabla 7) el ancho de los tricomas fue mayor al presentado en ausencia de nitrógeno (BG0, Fig. 49, Tabla 7). Las medidas tomadas a las células de las muestras de perifiton indican que las células de los tricomas en condiciones naturales tienen un comportamiento similar a las células en el tratamiento con altas concentraciones de nitrógeno más extracto.

Tabla 3. Anova de la variable dependiente (ln del largo de las células vegetativas) con respecto a los diferentes tratamientos de nitrógeno y extracto de algas

Recurso	Suma de cuadrados	gl	Medias cuadradas	F	Sig.
Modelo corregido	4,556 ^a	9	,506	31,921	,000
Intercepto	1071,686	1	1071,686	67570,095	,000
Proporción N ₂	1,329	2	,665	41,902	,000
Extracto	1,426	2	,713	44,946	,000
Proporción N ₂ * Extracto	1,528	4	,382	24,084	,000
Error	7,772	490	1,586E-02		
Total	1204,725	500			
Total corregido	12,328	499			

a. R cuadrada = 0.370 (R cuadrada ajustada = 0.358)

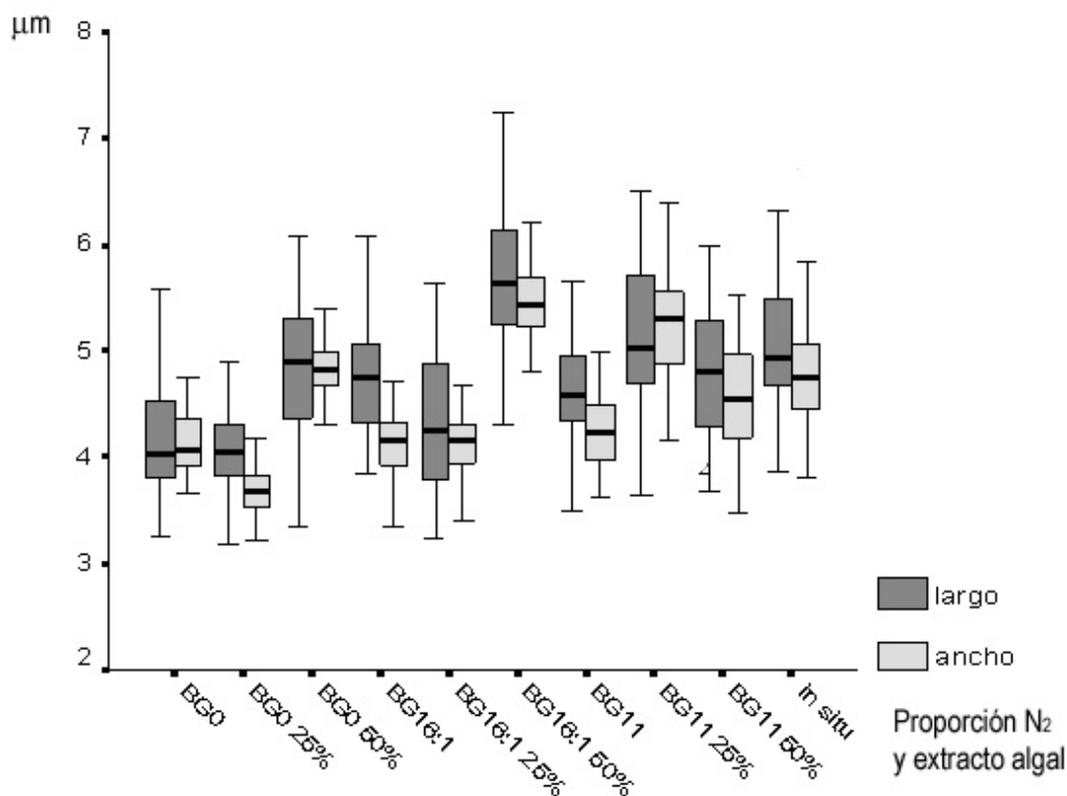


Fig. 49. Largo y ancho de las células de *Nostoc sphaericum* en el perifiton y en los diferentes tratamientos en cultivos de nitrógeno (BG0, BG16:1 y BG11), con y sin extracto (0%, 25% y 50%).

Tabla 4. Comparaciones múltiples usando la prueba de Tukey entre el ln del largo de las células vegetativas y los diferentes tratamientos de nitrógeno

Proporción N ₂ (I)	Proporción N ₂ (J)	Diferencias entre medias (I-J)	Error Std.	Sig.	Intervalo de confianza 95%	
					Límite inferior	Límite superior
BG0	BG16:1	-,1173*	,01454	,000	-,1547	-,0798
	BG11	-,1132*	,01454	,000	-,1507	-,0757
	<i>In situ</i>	-,1548*	,02057	,000	-,2078	-,1018
BG16:1	BG0	,1173*	,01454	,000	,0798	,1547
	BG11	,0041	,01454	,992	-,0334	,0415
	<i>In situ</i>	-,0375	,02057	,262	-,0906	,0155
BG11	BG0	,1132*	,01454	,000	,0757	,1507
	BG16:1	-,0041	,01454	,992	-,0415	,0334
	<i>In situ</i>	-,0416	,02057	,181	-,0946	,0114
<i>In situ</i>	BG0	,1548*	,02057	,000	,1018	,2078
	BG16:1	,0375	,02057	,262	-,0155	,0906
	BG11	,0416	,02057	,181	-,0114	,0946

Basado en las medias observadas

*. La diferencia de las medias es significativa < 0.05

Tabla 5. Comparaciones múltiples usando la prueba de Tukey entre el ln del largo de las células vegetativas y los diferentes tratamientos de extracto algal

(I) Extracto	(J) Extracto	Diferencias entre medias			Intervalo de confianza 95%	
		(I-J)	Error Std.	Sig.	Límite inferior	Límite superior
0%	25%	,0038	,01454	,994	-,0337	,0413
	50%	-,1175*	,01454	,000	-,1549	-,0800
	<i>In situ</i>	-,1159*	,02057	,000	-,1689	-,0628
25%	0%	-,0038	,01454	,994	-,0413	,0337
	50%	-,1213*	,01454	,000	-,1588	-,0838
	<i>In situ</i>	-,1197*	,02057	,000	-,1727	-,0667
50%	0%	,1175*	,01454	,000	,0800	,1549
	25%	,1213*	,01454	,000	,0838	,1588
	<i>In situ</i>	,0016	,02057	1,000	-,0514	,0546
<i>in situ</i>	0%	,1159*	,02057	,000	,0628	,1689
	25%	,1197*	,02057	,000	,0667	,1727
	50%	-,0016	,02057	1,000	-,0546	,0514

Basadas en las medias observadas

*. La diferencia en las medias es significativa < 0.05

Tabla 6. Anova de la variable dependiente ln del ancho de las células vegetativas con respecto a los diferentes tratamientos de nitrógeno y extracto algal

Recurso	Suma de cuadrados	gl	Medias cuadradas	F	Sig.
Modelo corregido	6,625 ^a	9	,736	119,793	,000
Intercepto	1010,424	1	1010,424	164431,12	,000
Proporción N ₂	,954	2	,477	77,611	,000
Extracto	2,355	2	1,177	191,613	,000
Proporción N ₂ * Extracto	3,107	4	,777	126,402	,000
Error	3,011	490	6,145E-03		
Total	1135,063	500			
Total corregido	9,636	499			

a. R cuadrada = 0.688 (R cuadrada ajustada = 0.682)

Tabla 7. Comparaciones Múltiples usando la prueba de Tukey entre el ln del ancho de las células vegetativas y los diferentes tratamientos de nitrógeno

Proporción N ₂ (I)	Proporción N ₂ (J)	Diferencias entre medias (I-J)	Error Std.	Sig.	Intervalo de confianza 95%	
					Límite inferior	Límite superior
BG0	BG16:1	-,0801*	,00905	,000	-,1034	-,0568
	BG11	-,1088*	,00905	,000	-,1321	-,0855
	<i>In situ</i>	-,1312*	,01280	,000	-,1642	-,0982
BG16:1	BG0	,0801*	,00905	,000	,0568	,1034
	BG11	-,0287*	,00905	,009	-,0520	-,0053
	<i>In situ</i>	-,0511*	,01280	,000	-,0841	-,0181
BG11	BG0	,1088*	,00905	,000	,0855	,1321
	BG16:1	,0287*	,00905	,009	,0053	,0520
	<i>In situ</i>	-,0224	,01280	,299	-,0554	,0106
<i>In situ</i>	BG0	,1312*	,01280	,000	,0982	,1642
	BG16:1	,0511*	,01280	,000	,0181	,0841
	BG11	,0224	,01280	,299	-,0106	,0554

Basado en las medias observadas

*. La diferencia de las medias es significativa < 0.05.

Tabla 8. Comparaciones múltiples usando la prueba de Tukey entre el ln del ancho de las células vegetativas y los diferentes tratamientos de extracto algal

(I) Extracto	(J) Extracto	Diferencia entre medias (I-J)	Error Std.	Sig.	Intervalo de confianza 95%	
					Límite inferior	Límite superior
0%	25%	-,0289*	,00905	,008	-,0523	-,0056
	50%	-,1659*	,00905	,000	-,1892	-,1425
	<i>In situ</i>	-,1332*	,01280	,000	-,1662	-,1002
25%	0%	,0289*	,00905	,008	,0056	,0523
	50%	-,1369*	,00905	,000	-,1603	-,1136
	<i>In situ</i>	-,1042*	,01280	,000	-,1372	-,0712
50%	0%	,1659*	,00905	,000	,1425	,1892
	25%	,1369*	,00905	,000	,1136	,1603
	<i>In situ</i>	,0327	,01280	,053	-,0003	,0657
<i>In situ</i>	0%	,1332*	,01280	,000	,1002	,1662
	25%	,1042*	,01280	,000	,0712	,1372
	50%	-,0327	,01280	,053	-,0657	,0003

Basado en las medias observadas

*. La diferencia en las medias es significativa < 0.05

En el porcentaje de células en división también se observaron variaciones significativas (Prueba ANOVA, Tabla 9) con respecto al efecto de las diferentes concentraciones de nitrógeno ($F= 43.4$, $p< 0.05$) y del extracto ($F= 6.04$, $p< 0.05$). La división celular se estimula sólo cuando la concentración de nitrógeno es mínima (Fig. 50, Tabla 10) y no existe la presencia de algas (BG0) o esta es pobre en el medio, es decir la representada por la concentración menor del extracto (BG0 25%, Fig. 50, Tabla 11). Dentro de un mismo tratamiento de nitrógeno el porcentaje de células en división fue menor cuando se les agregó extracto al 50% (Fig. 50, Tabla 11).

Tabla 9. Anova de la variable dependiente ln del porcentaje de células vegetativas en división con respecto a los tratamientos de nitrógeno y extracto algal

Recurso	Suma de cuadrados	gl	Medias cuadradas	F	Sig.
Modelo corregido	115,507 ^a	8	14,438	11,052	,000
Intercepto	2082,317	1	2082,317	1593,882	,000
Extracto	10,742	2	5,371	4,111	,017
Proporción N ₂	97,617	2	48,808	37,360	,000
Extracto * Proporción N ₂	7,148	4	1,787	1,368	,244
Error	576,142	441	1,306		
Total	2773,966	450			
Total corregido	691,649	449			

a. R cuadradas = 0.167 (R cuadrada ajustada = 0.152)

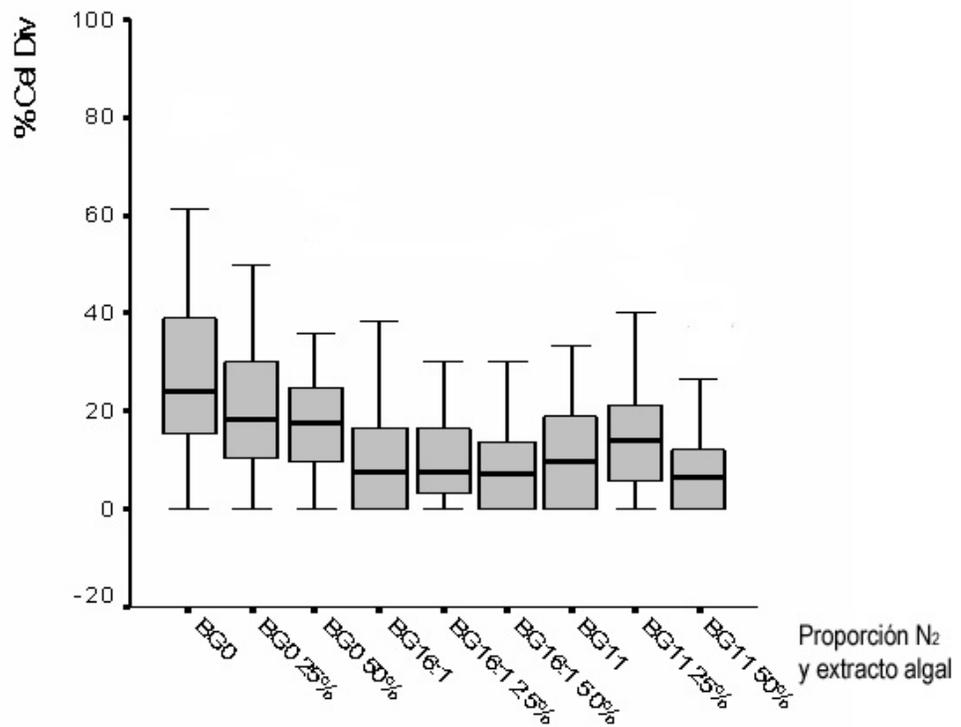


Fig. 50. Variación en el porcentaje de células en división con respecto a los diferentes tratamientos de nitrógeno (BG0, BG16:1 y BG11) y extracto 0%, 25% y 50%).

Tabla 10. Comparaciones Múltiples usando la prueba de Tukey entre el ln del porcentaje de células vegetativas en división y los diferentes tratamientos de nitrógeno

Proporción N ₂ (I)	Proporción N ₂ (J)	Diferencia entre medias (I-J)	Error Std.	Sig.	Intervalo de confianza 95%	
					Límite inferior	Límite superior
BG0	BG16:1	1,0404*	,13198	,000	,7300	1,3507
	BG11	,9256*	,13198	,000	,6153	1,2360
BG16:1	BG0	-1,0404*	,13198	,000	-1,3507	-,7300
	BG11	-,1147	,13198	,660	-,4251	,1957
BG11	BG0	-,9256*	,13198	,000	-1,2360	-,6153
	BG16:1	,1147	,13198	,660	-,1957	,4251

Basado en las medias observadas

*. La diferencia entre medias es significativa < 0.05

Tabla 11. Comparaciones múltiples usando la prueba de Tukey entre el ln del porcentaje de células vegetativas en división y los diferentes tratamientos de extracto algal

(I) Extracto	(J) Extracto	Diferencias entre medias (I-J)	Error Std.	Sig.	Intervalo de confianza 95%	
					Límite inferior	Límite superior
0%	25%	-,0662	,13198	,871	-,3766	,2442
	50%	,2896	,13198	,073	-,0208	,6000
25%	0%	,0662	,13198	,871	-,2442	,3766
	50%	,3558*	,13198	,020	,0454	,6662
50%	0%	-,2896	,13198	,073	-,6000	,0208
	25%	-,3558*	,13198	,020	-,6662	-,0454

Basado en las medias observadas

*. La diferencia entre medias es significativa < 0.05

Un análisis de regresión entre el largo de las células y el porcentaje de división en las mismas, aunque fue significativo ($p < .05$) no mostró una relación entre ambas variables ($r^2 = .013$); es decir la variación en el largo de las células no se explica por la variación en el porcentaje de división celular (Tabla 12 y 13).

Tabla 12. Modelo sumario de regresión

modelo	R	R cuadrada	R cuadrada ajustada	Error Std. del estimado
1	,112 ^a	,013	,006	,04558

a. Predictores: (constante), % células en división.

b. Variable dependiente: Largo de las células.

Tabla 13. Coeficientes del modelo de regresión

Modelo		Coeficientes no estandarizados		Coeficientes estandarizados		
		B	Error Std.	Beta	t	Sig.
1	(Constante)	,731	,007		108,258	,000
	% cel. div.	9,157E-03	,007	,112	1,373	,172

a. Variable Dependiente: largo de las células

5. Efecto de los tratamientos de nitrógeno y extracto algal sobre la biomasa (clorofila *a* $\mu\text{g l}^{-1}$) de los talos de *Nostoc sphaericum*

El desarrollo de los talos de *N. sphaericum*, evaluado en cuanto a su biomasa a través de las concentraciones de clorofila *a* alcanzadas en cultivo (Fig. 51, Tabla 14), fue profuso de la novena a la décima semanas independiente a la concentración de nitrógeno en el medio, pero fue más evidente cuando no hubo nitrógeno en el medio de cultivo (barras blancas de la Fig. 51 A, B, C; Tabla 15). Los crecimientos profusos sin embargo generalmente ocurrieron en ausencia de otras algas (Fig. 51 A, B, C; Tabla 16), o bien, si hubo otras algas en el medio (Fig. 51 A, B, C, barras grises; Tabla 16), el crecimiento se mantuvo en ausencia de nitrógeno (Fig. 51 A; Tabla 15) o cuando este alcanzó una concentración óptima de 16:1 (Fig. 51 B; Tabla 15). La concentración de algas y nitrógeno elevado (Fig. 51 C; Tabla 15 y 16) fue una combinación que definitivamente inhibió el desarrollo de los talos de *Nostoc sphaericum*, tal como parece ocurrir en condiciones naturales.

Tabla14: Anova de la variable dependiente ln de la biomasa (clorofila *a* en $\mu\text{g l}^{-1}$) con respecto a los tratamientos de nitrógeno y extracto algal

Recurso	Suma de cuadrados	gl	Medias cuadradas	F	Sig.
Modelo corregido	42,301 ^a	8	5,288	17,349	,000
Intercepto	3028,555	1	3028,555	9936,994	,000
Proporción N ₂	16,413	2	8,207	26,926	,000
Extracto	22,121	2	11,061	36,291	,000
Proporción N ₂ * Extracto	3,767	4	,942	3,090	,018
Error	38,402	126	,305		
Total	3109,258	135			
Total corregido	80,703	134			

a. R cuadrada = 0.524 (R cuadrada ajustada = 0.494)

Tabla 15: Comparaciones múltiples usando la prueba de Tukey entre el ln de la biomasa (clorofila *a* en $\mu\gamma\ l^{-1}$) y los diferentes tratamientos de nitrógeno

Proporción N ₂ (I)	Proporción N ₂ (J)	Diferencias entre medias (I-J)	Error Std.	Sig.	Intervalo de confianza 95%	
					Límite inferior	Límite superior
BG0	BG16:1	,5937*	,11639	,000	,3176	,8697
	BG11	,8286*	,11639	,000	,5526	1,1046
BG16:1	BG0	-,5937*	,11639	,000	-,8697	-,3176
	BG11	,2349	,11639	,112	-,0411	,5109
BG11	BG0	-,8286*	,11639	,000	-1,1046	-,5526
	BG16:1	-,2349	,11639	,112	-,5109	,0411

Basado en las medias observadas

*. La diferencia en las medias es significativa < 0.05

Tabla 16: Comparaciones múltiples usando la prueba de Tukey entre el ln de la biomasa (clorofila *a* en $\mu\text{m}\ l^{-1}$) y los diferentes tratamientos de extracto algal (0%, 25% y 50%).

(I) Extracto	(J) Extracto	Diferencias entre medias (I-J)	Error Std.	Sig.	Intervalo de confianza 95%	
					Límite inferior	Límite superior
0%	25%	,6807*	,11639	,000	,4046	,9567
	50%	,9647*	,11639	,000	,6887	1,2408
25%	,00	-,6807*	,11639	,000	-,9567	-,4046
	50%	,2841*	,11639	,042	,0080	,5601
50%	,00	-,9647*	,11639	,000	-1,2408	-,6887
	25%	-,2841*	,11639	,042	-,5601	-,0080

Basado en las medias observadas

*. La diferencia en las medias es significativo < 0.05.

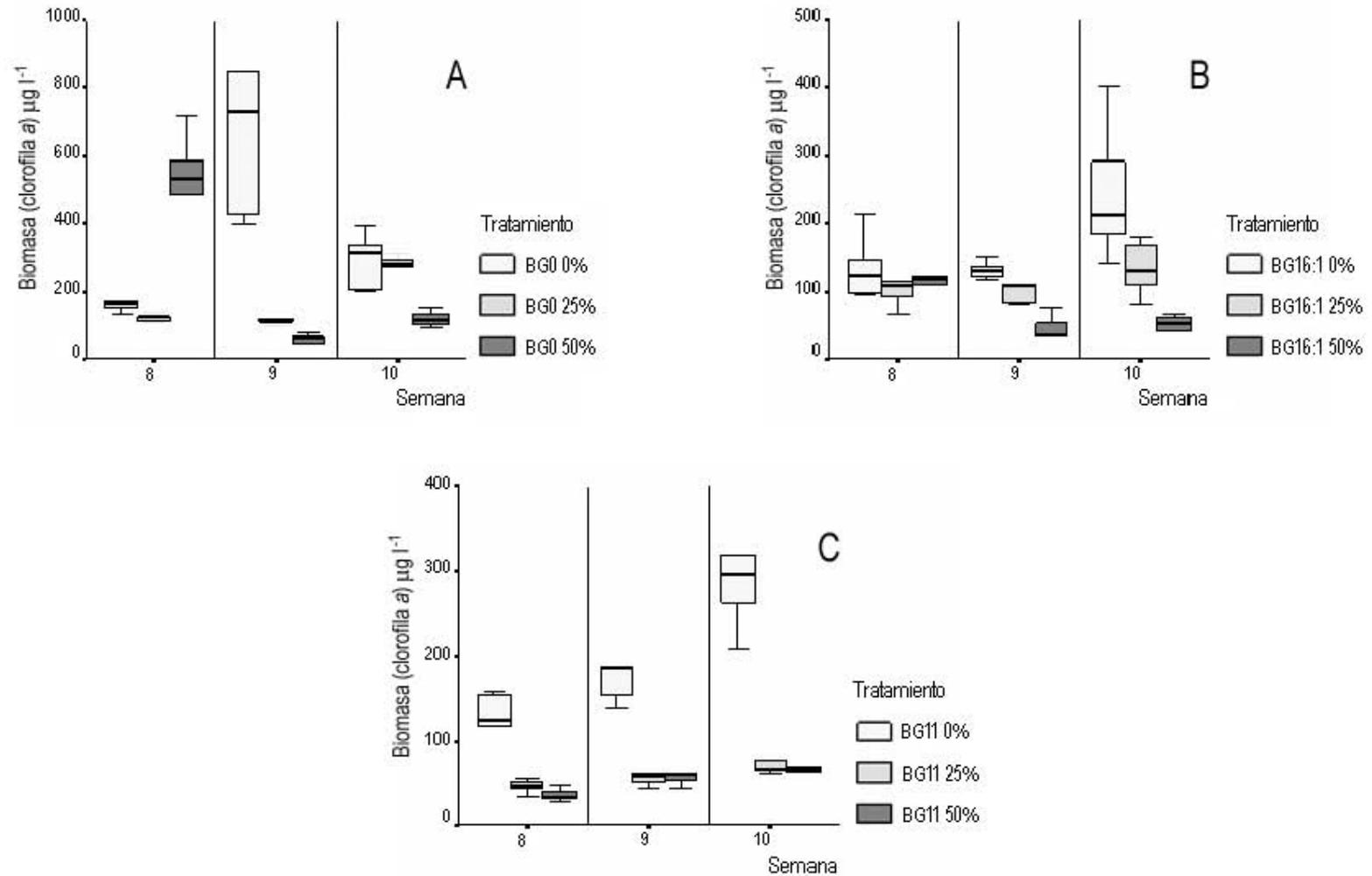


Fig. 51. Biomasa (clorofila *a*) de los diferentes tratamientos de nitrógeno: BG0 (A), BG16:1 (B) y BG11 (C) y de extracto 0%, 25% y 50%. La biomasa se midió durante las semanas 8, 9 y 10 de crecimiento, que correspondieron con la fase estacionaria de los cultivos (Anexo III).

DISCUSIÓN

1. Diagnósis de *Nostoc sphaericum*

El tamaño de las medidas de la descripción original de la especie (Bornet & Flahault 1886-1888 y Geitler 1932) son menores a las poblaciones de *Nostoc* del tintal (Tabla 2), pero las medidas de estas poblaciones se ajustan muy bien a las medidas de las poblaciones de Courtallum, identificadas también como *Nostoc sphaericum* (Desikachary, 1959).

En nuestro estudio, los caracteres morfológicos de las células (vegetativas, heterocitos, acinetos) variaron con los diferentes tratamientos (Tabla 2) pero no sobrepasaron los límites establecidos para la especie según Desikachary, 1959.

Es claro que los límites de esta especie tendrán que ser revisados en algún momento y hay que hacer hincapié que no es la finalidad de este trabajo hacer esto, aunque creo pertinente mencionar la posibilidad de que la especie que habita en la reserva forestal Courtallum (Desikachary 1959) y la especie que aquí se describe para la reserva ecológica El Edén sean la misma, de acuerdo a las medidas de las células y a que se encuentran en el mismo tipo de ambiente (tropical) pero estas poblaciones podrían ser una especie diferente a *N. sphaericum*.

2. Ciclo de vida de *Nostoc sphaericum*

La mayoría de las especies de *Nostoc* están definidas por caracteres diagnósticos como morfología del talo y morfología y medidas de las células; pero no en todas están estudiados sus ciclos de vida y aunque Mollenhauer (1988) enfatiza la importancia que tiene el ciclo de vida para la caracterización de las especies de *Nostoc*, es muy raro observar en la naturaleza todas las expresiones que estas especies pueden tener en sus ciclos de vida.

En este trabajo se observó que el talo de *N. sphaericum* en cultivo, presentó una alternancia en los procesos de crecimiento, uno de estos procesos comenzó cuando una colonia subsférica se dividió en otras colonias (fragmentación) y/o formó yemas (Fig. 48:9). Suponemos que la función principal de estos mecanismos de formación de colonias es permitir que el talo aumente en tamaño (paso 9 hacia 1, talo maduro Fig. 48), no tanto que se disperse y forme talos nuevos, porque rara vez estos se desprenden del talo que les dio origen. Este paso continuó hacia la liberación de hormogonios al medio (Fig. 27; 48:2) que comenzaron a crecer alrededor del talo, primero como colonias independientes (Fig. 48:6-8) y después se fusionaron aumentando así el tamaño del talo (Fig. 25). En otras palabras un talo macroscópico de esta especie podría estar formado por distintas

generaciones de talos más pequeños. Los talos de *Nostoc sphaericum* variaron desde esféricos cuando son juveniles (Figs. 21; 22; 48:6-8) a aplanados cuando son maduros (Figs. 25; 48:1), lo que coincide con Mollenhauer (1999) quien menciona que esto sucede en varias especies de este género. El otro proceso consistió en la formación de fases aseriadas a partir del talo maduro (fase 1 hacia 10-11, Fig. 48).

Las fases del ciclo de vida de *Nostoc sphaericum* que se observaron en cultivo (Fig. 48:1-2, 6-9) fueron similares al ciclo de vida de *N. pruniforme* (Fig. 1:1-9), incluido en el esquema de Mollenhauer (1988), pero con algunas variantes importantes, como la formación de colonias por gemación o fragmentación (Figs. 23; 24; 26; 48:9) en *N. sphaericum*, que no son mencionadas en este esquema. Otro aspecto importante que diferencia a los ciclos de las dos especies mencionadas, es que para *N. sphaericum* no se observó la formación de heterocitos polares en las primeras etapas del desarrollo de las colonias (Figs. 1:4-6; 9; 17; 48:6-7).

Con respecto al proceso de formación de fases aseriadas o de proliferación (Figs. 43-47 y 48:10-11,13), en el esquema de Mollenhauer (1988) tales fases se representan como un ciclo de vida diferente del descrito para *N. pruniforme* (Fig.1:9-24), aunque no aclara a cuál especie corresponden. Estas fases también se describen para poblaciones de *N. microscopium* en Montejano y González (1981). Es de notarse que las principales diferencias entre las fases aseriadas de *N. sphaericum* y *N. microscopium* están relacionadas con la etapa inicial y final de su desarrollo.

Como habíamos mencionado, las fases aseriadas de *N. sphaericum* comienzan su desarrollo a partir de tricomas maduros dentro de un talo (Figs. 43; 44; 48, fases 1 hacia 10) y culminan en la liberación de tricomas maduros dentro del mismo talo (Figs. 46; 48:11), mientras que Montejano y González (1981) mencionan que las fases aseriadas de *N. microscopium* se desarrollan a partir de hormogonios y el resultado final es la formación de colonias nuevas. Parece evidente que el seguimiento de los ciclos de vida de *Nostoc* pone de manifiesto diferencias específicas.

Mollenhauer (1988) menciona que cuando las fases aseriadas maduras son liberadas del talo al exterior, son el único mecanismo de dispersión que tienen algunas especies. En *Nostoc sphaericum* no se observó que las fases aseriadas fueran liberadas, más bien formaban nuevos tricomas en el interior del talo (Fig. 46). Posiblemente en esta especie las fases aseriadas no son tan importantes en la dispersión pero contribuyen a aumentar la biomasa del talo, es decir a su crecimiento macroscópico.

Las etapas del desarrollo de *Nostoc sphaericum* en el perifiton, aunque no siguieron una secuencia, se pudieron reconstruir gracias a las observaciones en cultivo, y la secuencia propuesta se ajustó bien al esquema de Mollenhauer (1988), específicamente a las fases que van de 1-9, las fases de 9, 21-24 y las fases de 3, 18-20, 4 (Fig. 1).

En base a nuestras observaciones, el ciclo de vida en condiciones naturales (Fig. 48:1-5) es una versión corta del ciclo de vida principal observado en cultivo (Fig. 48:1-2, 6-9), con la presencia, además, de colonias con vainas gruesas y de color amarillo a pardo (Figs. 9-12; 48:3-5). Ambas características, generalmente, son respuestas de resistencia a los rayos ultravioleta o a la desecación (Potts 1999), pero además el ciclo de vida en el perifiton presentó una fase diferente que no se observó en cultivo y que posiblemente sea también una estructura de resistencia porque sus vainas son muy gruesas y coloreadas (Figs. 11; 48:4). Esta fase se presenta principalmente en la época seca, lo cual apoyaría la idea de que el grosor y el color de las vainas son una respuesta a condiciones ambientales. Otra diferencia importante es que en el perifiton no se observó el desarrollo de fases aseriadas (Figs. 43-47; 48:10-11,13).

Las diferencias entre el ciclo de vida en condiciones naturales y en cultivo permiten suponer posibles situaciones de estrés para la especie al comparar su crecimiento en condiciones de cultivo *versus* en el humedal, es decir de acuerdo a observaciones en el perifiton, los talos de *Nostoc sphaericum* necesitan condiciones húmedas para desarrollarse (Becerra-Absalón 2002 y Becerra-Absalón & Tavera 2003) y en cultivo se observó que es una especie que tiene un crecimiento lento (se requieren 2 ½ meses para que el talo alcance 15 mm de diámetro). Si tomamos en cuenta que en el tinal la anegación es inicialmente intermitente, y cuando llega a ser constante (hasta mediados de septiembre), sólo dura unos 3 meses aproximadamente, entendemos porqué las observaciones de *N. sphaericum* en el perifiton nos revelan que el ciclo de vida de esta especie parece acelerarse siempre con tricomas cortos, inmaduros y quizá por esto no se presentan talos de gran tamaño, ni fases aseriadas, en comparación con el desarrollo en cultivo donde hubo formación de tricomas bien desarrollados, adultos, dentro de talos grandes, con presencia de fases aseriadas. Esta interpretación explicaría por qué durante la mayor parte del periodo de anegación, los talos de *N. sphaericum* son microscópicos dentro del perifiton y no se presentan fases aseriadas, porque no alcanzan a desarrollarse los tricomas maduros (Fig. 48:1), ni continuar con la etapa de enroscamiento (Figs. 43; 48:10) que es la condición previa al desarrollo de las fases aseriadas.

Otro aspecto importante en el ciclo de vida en condiciones naturales fue la formación de acinetos, que fueron observados mezclados en el perifiton principalmente a finales de las lluvias y en el periodo seco (Figs. 7; 48:12). En cultivo, solamente se presentaron (Figs. 30; 31; 47; 48:12) cuando los talos eran viejos (en fase estacionaria).

En ambos casos los acinetos están funcionando como estructuras de resistencia, porque su formación ocurre en condiciones ambientales (o de cultivo) en donde el talo no puede desarrollarse (Mollenhauer 1988, Dodds *et al.* 1995, Potts 2000), es decir cuando existe una limitación de la energía celular (Meeks *et al.* 2002); esta limitación puede ser provocada por falta de nutrimentos (Potts 1999), como podría ser, de acuerdo con nuestras observaciones, en los cultivos en fases estacionarias (talos viejos), pero en el tinal las medidas de nutrimentos fueron elevadas (Novelo & Tavera 2003), así que es posible que la limitación de energía celular en condiciones naturales este dada por los procesos de desecación del perifiton y se relaciones más bien con la falta de agua.

En resumen, proponemos que el ciclo de *Nostoc sphaericum* coincide con las fases representadas en el esquema (Fig. 1) de Mollenhauer (1988) que van del 1 al 9 (que se atribuyen a *N. pruniforme*) y con las fases aseriadas del 9 al 21-24 (no se especifica a que especie corresponden pero Montejano y Gonzalez (1981) las describen para *N. microscopicum*), las fases que van de 3 a 18-20 (Mollenhauer *op. cit.* tampoco especifica la especie), que de acuerdo a nuestras observaciones podrían ser una reducción del ciclo que observamos en cultivo (Fig. 48:1-2, 6-9) debido a condiciones de estrés ambiental (como una anegación corta, altas concentraciones de nitrógeno y presencia de otras algas) y las fases del 10 al 13 que corresponden a la formación de acinetos. Asimismo, para cada caso, hemos perfilado simultáneamente las particularidades que pertenecen a la especie *N. sphaericum*.

3. Efectos del nitrógeno y la presencia de otras algas en el ciclo de vida.

La presencia de extracto de algas y las diversas concentraciones de nitrógeno parecen tener un efecto cualitativo en la formación de las fases del ciclo de vida. El nitrógeno (BG11) produce formación de yemas y división temprana de colonias (Figs. 33 – 35), además de que las fases aseriadas fueron más frecuentes (Figs. 45; 46). Las concentraciones de nitrógeno optimas (BG16:1) y altas (BG11) provocaron que los tricomas fueran más cortos (Fig. 38), lo que posiblemente esté relacionado con la baja tasa de división celular, provocada por el nitrógeno.

Con la presencia del extracto otras algas (extracto 50%) el efecto del nitrógeno sobre las yemas se magnificó produciendo una cantidad mucho mayor (Fig. 36), asimismo, hubo una gran producción de hormogonios (Figs. 37; 39), y una producción menor de fases aseriadas, lo que posiblemente se deba a una respuesta al efecto de antibiosis que parece tener el extracto algal.

En el tinal quizá hay un efecto combinado, no necesariamente sincronizado, de la época seca con la presencia de otras algas, lo que inhibe la maduración de los tricomas.

La diferenciación de los heterocitos fue inhibida en condiciones óptimas y altas de nitrógeno (BG16:1 y BG11 respectivamente, Figs. 45; 46; 38-41) en todas las fases del ciclo de *N. sphaericum*; esto coincide con lo que se ha registrado para otras especies del género. Mollenhauer (1988) hace referencia a que el nitrógeno inorgánico puede tener un efecto regulador en la formación de los heterocitos y Meeks *et al* (2002) mencionan que los tricomas de *N. punctiforme* cultivado con nitrógeno están constituidos por una cadena de células vegetativas. Cuando el recurso del nitrógeno se agota, esta especie desarrolla heterocitos en los tricomas. Como corolario, Dodds *et al* (1995) han reportado que en especies de *Nostoc*, cuando el nitrógeno es abundante en el suelo, disminuye la tasa de fijación.

El nitrógeno regula, a diferentes niveles, la diferenciación de las células vegetativas en heterocitos y esta diferenciación además es un proceso complicado en donde intervienen varios sistemas enzimáticos, proteicos y varios genes (Herrero *et al* 2001 y Meeks *et al* 2002), es decir en el heterocito existe una maquinaria bien establecida y con una importancia relevante a nivel ecológico, porque es uno de los principales mecanismos que le permiten a *Nostoc* establecerse en ambientes pobres en nitrógeno y con ello la posibilidad de evitar la competencia con otras especies de algas (Mollenhauer 1988). Es importante señalar que si bien en condiciones naturales no se observa que la formación de heterocitos en los tricomas de *Nostoc sphaericum* y en otras algas heterocitosas se inhiba por completo (como sucede en cultivo); si existen cambios importantes en la tasa de fijación de nitrógeno medida en el perifiton del tinal (Vargas 2002), que se dan de la siguiente manera: cuando las concentraciones de nitrógeno son altas en el suelo (periodo seco) la tasa de fijación de nitrógeno es menor que cuando las concentraciones de nitrógeno son bajas, esto durante el periodo anegado (Vargas 2002, Novelo & Tavera 2003), que es cuando mejor crece *Nostoc sphaericum*.

4. Efecto del nitrógeno y la presencia de otras algas en las células vegetativas y en el crecimiento del talo.

En los experimentos controlados se observó que en ausencia de nitrógeno las células son más pequeñas que en condiciones óptimas o sobresaturadas con nitrógeno (Fig. 49, Tabla 3, 4, 6, 7). Asimismo la limitación disparó la división celular (Fig. 50, Tabla 9 y 10) y esto podría ser indicativo de una mayor actividad fisiológica. Meeks *et al.* (2002) mencionan que las células vegetativas proceden a crecer y dividirse sucesivamente y que este proceso se mantiene mientras los nutrimentos son ilimitados; también acota que la diferenciación en heterocitos ocurre cuando hay limitación de nutrimentos. Sin embargo en este trabajo se observó que las células vegetativas también tienen respuestas morfológicas y fisiológicas más allá de la diferenciación en heterocitos, como la disminución del tamaño y el aumento en la división celular, cuando las concentraciones de nitrógeno son bajas, por lo que estos resultados dan nuevos elementos para entender el ciclo de las células vegetativas que plantean Meeks *et al.* (2002).

El aumento de la división celular no tiene una implicación directa en la reducción de tamaño de las células. Un análisis de regresión (Tabla 12 y 13) no mostró una relación significativa entre estas dos variables. Lo que indica que podrían ser dos respuestas a la ausencia de nitrógeno que no tienen una relación entre si.

Los resultados de la biomasa (Fig. 51, tablas 14 y 15) confirman la idea de que en un medio sin nitrógeno la actividad fisiológica de las células de *N. sphaericum* es mayor que en presencia de nitrógeno, al observarse que en el medio BG0 la biomasa es significativamente mayor que en el resto de tratamientos.

Con la presencia del extracto de algas (50%) también hubo una baja incorporación de biomasa en los talos y esto puede deberse a que existe un aumento en la producción de hormogonios, ya que las células de los hormogonios son más pequeñas que las células vegetativas, y no hay síntesis importantes de clorofila o proteínas durante su diferenciación (Meeks *et al* 2002).

Los resultados (arriba discutidos) sobre el crecimiento del talo indican que en condiciones naturales donde hay una alta concentración de nitrógeno, *N. sphaericum* tendría un crecimiento lento, además las otras algas (perifiton) están inhibiendo su crecimiento, es decir que *N sphaericum* no puede competir con el resto de las especies presentes en el perifiton, como Mollenhauer (1988) menciona que sucede con otras especies de *Nostoc*. Esto explicaría porqué *N sphaericum* crece inconspicuamente en el tintal donde el perifiton es profuso.

Por otra parte en nuestras condiciones de cultivo se mostró que cuando hay limitación de nitrógeno, *N. sphaericum* tiene la capacidad de crecer profusamente, de hecho en estas condiciones desplazó el crecimiento de otras especies en cultivo, lo que permitió su aislamiento (ver anexo I).

Se observaron diferentes mecanismos de reproducción que participan en el crecimiento del talo, como la división celular y la formación de colonias por gemación o por fragmentación. De estos mecanismos, el que permite un mayor aumento en la biomasa del talo es la división celular, junto con el alargamiento de los tricomas. La formación de colonias por gemación o por fragmentación (que son frecuentes en altas concentraciones de nitrógeno) al parecer no tiene un efecto importante en la acumulación de la biomasa porque se pudo observar que el aumento de nitrógeno provoca una disminución en la biomasa del talo (Fig. 51 B, C, Tabla 15). Esto se explica en función del criterio para evaluar biomasa (clorofila *a*) porque en las yemas o colonias nuevas, la cantidad de mucílago es proporcionalmente muy elevada y el número y tamaño de los tricomas es menor (Figs. 40 y 41) si los comparamos con las colonias maduras (Fig. 19).

Es importante mencionar que el estudio de especies que son inconspicuas en el perifiton, nos da información sobre el tipo de hábitat y podemos decir de manera general, que en el tintal las especies que crecen abundantemente tienen un crecimiento rápido, son buenas competidoras en altas concentraciones de nitrógeno y en presencia de otras algas, mientras que las especies inconspicuas como *Nostoc sphaericum* son especies con crecimiento lento, además las altas concentraciones de nitrógeno y la presencia de otras algas no les favorece. Sin embargo las presiones de selección que el hábitat genera no son las mismas en todas las especies, por lo que el estudio de algunas poblaciones de ciertas especies no nos permite concluir de qué manera el hábitat está afectando a una comunidad.

Por último este trabajo es importante porque integra las manifestaciones de diferentes características y esto nos permitió interpretar cuales son algunas de las condiciones fisicoquímicas y biológicas que influyen en el desarrollo de *Nostoc sphaericum* en su hábitat. Algunas de esas características que forman parte del ciclo de vida, la mayoría de las veces se habían estudiado sólo desde un punto de vista taxonómico y en este estudio se pudo demostrar que aunque una especie tiene una gran potencialidad en su ciclo de vida, solo algunas de las fases se pueden manifestar dependiendo de las condiciones ambientales.

CONCLUSIONES

La concentración de algas (extracto) y nitrógeno elevado, manejada en cultivo, fue una combinación que definitivamente inhibió el desarrollo de los talos de *Nostoc sphaericum*, tal como parece ocurrir en condiciones naturales.

En este trabajo se observó que las células vegetativas tienen respuestas morfológicas y fisiológicas más allá de la diferenciación en heterocitos, que ha sido reconocida en la literatura como la respuesta principal a las concentraciones de nitrógeno, pues lo observado en el ciclo de vida da nuevos elementos para entender el proceso de crecimiento y división de las células vegetativas.

El tamaño de las células de *N. sphaericum* no se relaciona con el aumento de la división celular, lo que indicó que pueden ser dos respuestas independientes a la ausencia de nitrógeno.

En un medio sin nitrógeno la actividad fisiológica de las células de *N. sphaericum* es mayor que en presencia de nitrógeno.

La producción importante de hormogonios en condiciones naturales coincide con las condiciones de cultivo con altas concentraciones de extracto. Esto indica que la producción de hormogonios, que se ha interpretado en la literatura como un mecanismo de dispersión, puede ser interpretada también como una respuesta fisiológica a fenómenos de antibiosis.

El que las algas del perifiton generen sustancias inhibitorias para *Nostoc sphaericum*, nos permitió entender porqué *N. sphaericum* forma talos macroscópicos sólo en aquellas zonas del humedal en donde el perifiton no se desarrolla, como la zona anegable de la selva baja caducifolia.

Por tanto podemos decir que en mayor proporción el perifiton del tinal esta formado por especies que tienen crecimiento rápido y que son buenas competidoras en altas concentraciones de nitrógeno y en presencia de otras algas.

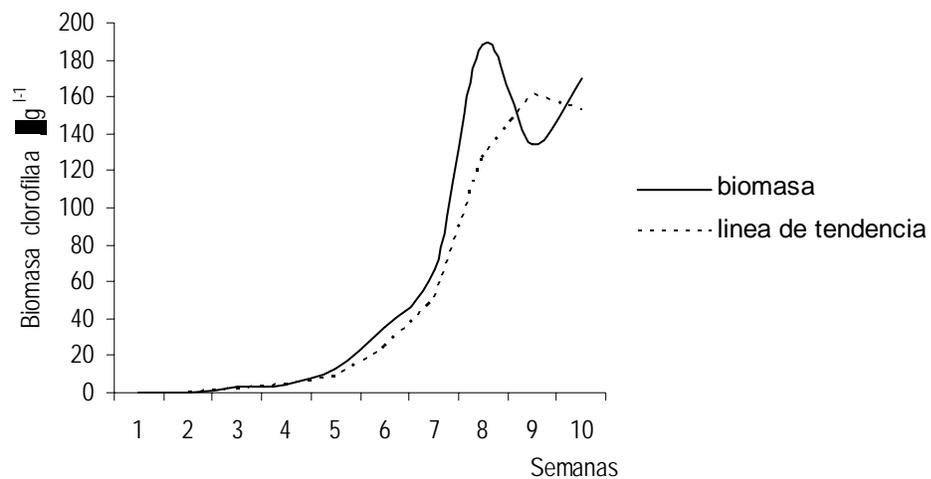
LITERATURA CITADA.

- Aboal M. 1989. Epilithic algal communities from River Segura Basin, Southeastern Spain. *Arch. Hydrobiol.* **116**:113-124.
- Aboal M & Llimona X. 1989. Los poblamientos algales bentónicos del río Segura y su relación con la calidad del agua. *Cadollea* **44**:199-208.
- Anaya LA. 2003. Ecología química. Plaza y Valdés SA. de CV. México. 349 pp.
- Baker A. 1967. Algae from lake Miers, a solar – heated antarctic lake. *N.Z.J. Bot.* **5**:453-68.
- Bazan GI, Alvarez SB, Martin MC y Bernandos J. 2003. Análisis de la taxocenosis de la ficoflora de la laguna el ojo de agua, Uriburu, La Pampa, Argentina. *Biología acuática* **20**:1-5.
- Becerra-Absalón, I. 2002. Cambios de la comunidad algal relacionados con el ciclo hídrico en un tinal inundable en Quintana Roo. Tesis licenciatura. Fac. Ciencias UNAM.
- Becerra-Absalón I & Tavera, R. 2003. Cambios de la comunidad algal (perifiton) relacionados con el ciclo hidrológico en un tinal anegable en Quintana Roo. *Mex.stud./Estud.Mex.* **19(2)**:263-275.
- Bornet ED & Flahault CH. 1886-1888. Revisión des Nostocacées Hétérocystées contenues dans les principaux herbiers de France. *Ann. Sc. Nat., 7^o sér.* 3,4,5,7:323-380, 343-373, 51-129, 171-262. Reimpreso. 1959. WeinHeim/Bergstr.
- Carlton RG & Wetzel RG. 1988. Phosphorus flux from lake sediments: effect of epipellic algal oxygen production. *Limnol. oceanogr.* **33**:562-570.
- Castenholz RW 1989. Oxygenic photosynthetic bacteria. Order *Nostocales*. In Krieg. NR Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Williams & Wilkins, Baltimore, 1780-1789 pp.
- Cyanosite, 2005. Disponible en: (<http://www-cyanosite.bio.purdue.edu/averagetable/average>). Último acceso.
- Desikachary TV. 1959. Cyanophyta. I.C.A.R. *Monographs on algae*. Indian Council of Agricultural Research. New Delhi. 686 pp.
- Dodds WK, Gudder DA & Mollenhauer D. 1995. The ecology of *Nostoc*. *J. Phycol.* **31**: 2-18.
- Geitler L. 1932. Cyanophyceae. L. Rabenhorst's Ed. Kryptogamen-Flora von Deutschland, Österreich und der Schweiz. Akademische Verlagsgesellschaft m.b.h. Leipzig. 1196 pp.
- Hejný S & Segal S. 1998. General Ecology of Wetlands. In. Wetlake DF, Kvet J & Szczepański, editors. *The Production Ecology of Wetlands*. A 1-77 Cambridge University Press.

- Herrero A, Muro-pastor AM & Flores E. 2001. Nitrogen control in cyanobacteria. *J. Bacteriol.* **183**: 411-425.
- Jandel Corpotation. 1993-1996. Jandel Sigma Scan Pro Image Measurement Software Versión 4.0
- Johansen JR. 1993. Cryptogamic crusts of semiarid and arid lands of North America. *J. Phycol.* **29**:140-7.
- Kadlec RH & Knight R. 1996. Treatment Wetlands. Boca Raton: CRC. Lewis pub. 893 pp.
- Komárek J. & Anagnostidis K. 1989. Modern approach to the classification system of cyanophytes 4-*Nostocales*. *Arch. Hydrobiol./ Suppl.* 82, *Algol. Stud.* **56**: 247-345.
- Mackenzie A, Ball AS & Virdee SR. 1998. Instant Notes in Ecology. Bios Scientific Publishers. Springer-Verlag, New York.
- Meeks, JC. Campbell, ML. & Wong, FC. 2002. Cellular differentiation in the cyanobacterium *Nostoc punctiforme*. *Arch. Microbiol.* **178**: 395-403.
- Mollenhauer, D. 1988. *Nostoc* species in the field. *Arch. Hydrobiol./ Suppl.* 80, *Algol. Stud.* **50-53**:315-326.
- Mollenhauer D, Bengtsson R & Lindstrom E. 1999. Macroscopic cyanobacteria of the genus *Nostoc*: a neglected and endangered constituent of European inland aquatic biodiversity. *J. Phycol.* **34**: 349-360.
- Montejano G & Gonzalez-Gonzalez J. 1981. Notas sobre la variación de vida en *Nostoc*. *Phycol. Lat.-amer.* **1**:47-57.
- Novelo E & Tavera R.1999. Algas y Humedales de Quintana Roo. *Ciencias* **55-56**: 44-45.
- Novelo, E & Tavera, R. 2003. The role of periphyton in the regulation and supply of nutrients in a wetland at El Edén, Quintana Roo. In a Gómez-pompa, MF Allen y S Feddick, eds. *Lowland Maya Area: Three Millennia at the Human-Wildland interface*. Binghamton: Haworth press. 217-239 pp.
- Olmsted 1993. Wetlands of México. En wetlands of the world, ed. Whigham. D.F., Amsterdam: Academic Publishers. 637-677.
- Potts M. 1999. Mechanisms of desiccation tolerance in cyanobacteria. *Eur. J. Phycol.* **34**: 319-328.

- Potts M. 2000. Chapter 17: *Nostoc*. In Whitton BA & Potts M (eds). *The Ecology Cyanobacteria*. Kluwer Academic Publishers. Netherlands. 465-504.
- Raven PH, Evert RF & Eichorn SE. 1986. *Biology of plants*. Worth Publishers, Inc. New York.
- Reisigl H. 1964. Zur systematik und Ökologie alpiner Boden algen. *Österr. Bot. Z.* **111**:402-499.
- Reynolds CS. 1984 *The ecology of freshwater Phytoplankton*. Cambridge, London. 384 pp.
- Schlichting HEJ. 1969. The importance of airborne algae and protozoa. *J. Air Poll. Contr. Ass.* **19**:946-951.
- Sládečková A. 1962. Limnological investigation methods for the periphyton community. *Bot. Rev.* **Apr-Jun**, 286-350 pp.
- SPSS Inc. 1989-2001. SPSS for Windows 11.0 standard versión.
- Tiner RW. 1999. *Wetland indicators: A guide to wetland identification, delination, classification, and mapping*. Boca Raton: Lewis Publishers.
- [USEPA] United States Environmental Protection Agency. 1997. Method 445.0 *In vitro* determination of chlorophyll *a* and phaeophytin *a* in marine and freshwater algae by fluorescence. <http://www.epa.gov/nerlewww/marinmet.htm>.
- Vargas RR. 2002. Fijación de nitrógeno por cyanoprokaryota en la reserva ecológica El Edén, Quintana Roo, México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias UNAM. 77 pp.
- Vargas-Ramos R & Novelo E. 2003 Fijación de nitrógeno por cyanoprokariota en la reserva ecológica El Edén Q.R. México. *Mex.stud./Estud.Mex.* **19(2)**:277-285.
- Vymazal J. 1995. *Algae and element cycling in wetlands*. Boca Raton: CRC-Lewis Pub. 689 p.
- Waterbury J. 2001. Chapter 97: The Cyanobacteria-Isolation, purification and identification. In: M. Dworkin *et al.* (eds). *The prokaryotes*, 3rd edition Springer – Verlag. New York. 2058-2078 pp.
- Weitzel RL. 1979. "Periphyton Measurements and applications", *Methods and Measurements of Periphyton Communities: A review*, ASTM STP 690. R.L. Weitzel, Ed., American Society for Testing and Materials pp. 3 – 33.
- Whitford LA. 1943. The fresh-water algae of North Carolina. *J. Elisha Mitchell Sci. Soc.* **59**:131-171

ANEXO IV. Curva de crecimiento de *Nostoc sphaericum* en cultivo.



Gráfica de la curva de crecimiento (clorofila *a* $\mu\text{g l}^{-1}$) de *Nostoc sphaericum* en cultivo.