

**EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE EXOENZIMAS DE CIANOBACTERIAS
AISLADAS DE CULTIVOS DE AJÍ (*Capsicum frutescens L.*) EN EL DEPARTAMENTO
DEL CESAR**

ESTUDIANTES:

Aura Cristina Parodi Gómez

María Camila Argote Ojito

DIRECTOR:

Sandra Milena Rodríguez Puerta

UNIVERSIDAD POPULAR DEL CESAR

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

PROGRAMA DE MICROBIOLOGÍA

VALLEDUPAR, CESAR

2024

CONTENIDO

RESUMEN	10
ABSTRACT	11
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	14
2.1 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	15
3. JUSTIFICACIÓN	16
4. OBJETIVOS	18
4.1 OBJETIVO GENERAL	18
5. 14	
5.1 MARCO CONCEPTUAL	19
5.2 ANTECEDENTES	27
6. METODOLOGÍA	31
6.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN.	31
6.2 LÍNEA DE INVESTIGACIÓN.	31
6.3 LOCALIZACIÓN.	31
6.4 DISEÑO METODOLÓGICO.	31
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	40
7. CONCLUSIONES	68
8. RECOMENDACIONES	69

LISTA DE TABLAS

Tabla 1 Clasificación taxonómica de Cianobacterias	21
Tabla 2 Número de colonias aisladas por municipio	38
Tabla 3 Identificación de colonias purificadas	38
Tabla 4 Características macroscópicas y microscópicas de las <i>Cianobacterias sp.</i>	39
Tabla 5 Determinación de amilasa método del almidón	50
Tabla 6 Determinación de Lipasa Método con el detergente Tween 80	52
Tabla 7 Determinación de lipasa por medio lecitina	54
Tabla 8 Método de hidrólisis de la gelatina	56
Tabla 9 Método de la carboximetilcelulosa para detectar celulasa.	57
Tabla 10 Determinación de ureasa	59
Tabla 11 ANOVA	64

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Crecimiento de cianobacterias medido por turbidez: M2-1, M3-3 Y P7-1 <i>Oscillatoria sp</i> , M2-2 <i>Planktolyngbya sp</i> M3-3 <i>Synechocystis sp</i> , M2 <i>Nostoc sp</i>	42
Figura 2 Crecimiento de la cianobacteria M2-1 <i>Oscillatoria sp</i>	44
Figura 3 Crecimiento de la cianobacteria M3-3 <i>Oscillatoria sp</i> .	44
Figura 4 Crecimiento de la cianobacteria M3-2 <i>Oscillatoria sp</i> .	45
Figura 5 Crecimiento de la cianobacteria M2-2 <i>Planktolyngbya sp</i>	46
Figura 6 Crecimiento de la cianobacteria M3 <i>Synechocystis sp</i>	47
Figura 7 Crecimiento de la cianobacteria M2 <i>Nostoc sp</i>	48
Figura 8 Determinación de amilasa método del almidón	53
Figura 9 Determinación de Lipasa Método con el detergente Tween 80	54
Figura 10 Determinación de lipasa Método con Lecitina al 0,1	56
Figura 11 Método de la carboximetilcelulosa para detectar celulasa.	59

APÉNDICE

Anexo 1 Toma de muestras <i>in situ</i> del suelo	75
Anexo 2 Procesamiento de las muestras	75
Anexo 3 Inoculación en tubos Medio Líquido BG-11	76
Anexo 4 Crecimiento de inóculos	76
Anexo 5 Repiques en medio Sólido BG-11	77
Anexo 6 Purificación de las cepas	77
Anexo 7 Aislamiento de cepas purificadas en BG-11 líquido y aumento de biomasa	78
Anexo 8 Identificación molecular de cianobacterias muestra M2	101
Anexo 9 Identificación molecular de cianobacterias muestra P3	101
Anexo 10 Determinación de ureasa por método base urea	101
Anexo 11 Determinación de Lipasa por Método con el detergente Tween 80	102
Anexo 12 Determinación de Lipasa por Método con el detergente Tween 80	102
Anexo 13 Determinación de proteasa por método hidrolisis de gelatina	102
Anexo 14 Determinación de amilasa por método de almidón al 0,2%	103
Anexo 15 Determinación de celulosa por método de carboximetilcelulasa	103

RESUMEN

El empleo excesivo de fertilizantes químicos en la agricultura está generando graves problemas ambientales y de salud pública. Con el fin de aumentar la producción y el rendimiento de los cultivos, se utilizan dosis cada vez mayores de estos productos, lo que conlleva a la contaminación de fuentes de agua y la alteración de ecosistemas. Esto provoca la eutrofización, un desequilibrio en la cantidad de nutrientes que reduce la diversidad microbiana y perjudica la salud de los ecosistemas. Se identificaron molecularmente las cianobacterias aisladas en los cultivos de Ají en los municipios de Manaure, Pueblo Bello, Rio de Oro, González y Valledupar. Luego, se determinó la producción de exoenzimas (Amilasa, Lipasa, Proteasa, Celulasa y Ureasa) de las cianobacterias aisladas mediante medios microbiológicos y se seleccionarán las cepas que presenten mayor producción de exoenzimas. Los resultados mostraron que la mayoría de las cepas aisladas de cianobacterias tienen un crecimiento similar y alcanzan un crecimiento exponencial a partir del día 18, con porcentajes de crecimiento entre 1 y 1,2%. Sin embargo, la colonia M2 tiene un crecimiento significativamente menor. Por otro lado, las otras cepas aisladas pueden pertenecer a especies que crecen mejor en intensidades luminosas moderadas o altas. Estos resultados son consistentes con el patrón de crecimiento de cianobacterias pertenecientes al orden *Oscillatoriales*, lo que sugiere que la investigación es pertinente y proporciona información valiosa sobre el crecimiento de cianobacterias en diferentes condiciones.

Palabras claves: Cianobacteria, cepa, exoenzima.

ABSTRACT

The excessive use of chemical fertilizers in agriculture is generating serious environmental and public health problems. In order to increase crop production and yield, increasing doses of these products are used, which leads to the contamination of water sources and alterations of ecosystems. This causes eutrophication, an imbalance in the amount of nutrients that reduces microbial diversity and harms the health of ecosystems. The cyanobacteria isolated in the Ají crops in the municipalities of Manaure, Pueblo Bello, Rio de Oro, González and Valledupar are molecularly identified. Then, the production of exoenzymes (Amylase, Lipase, Protease, Cellulase and Urease) of the isolated cyanobacteria will be determined by microbiological means and the strains that present the highest production of exoenzymes will be selected. The results showed that most of the isolated cyanobacteria strains have a similar growth and reach exponential growth from day 18, with growth percentages between 1 and 1.2%. However, colony M2 has significantly lower growth, suggesting that it may belong to a species of cyanobacteria that prefers low light intensities, such as *Oscillatoria agardhii*. On the other hand, the other isolated strains may belong to species that grow better in moderate or high light intensities. These results are consistent with the growth pattern of cyanobacteria belonging to the order Oscillatoriales, suggesting that the research is relevant and provides valuable information on the growth of cyanobacteria under different conditions.

Keywords: Cyanobacteria, strain, exoenzyme.

INTRODUCCIÓN

El uso de fertilizantes en la agricultura constituye un grave problema de contaminación ambiental y perjuicio a la salud de la población expuesta a este tipo de componentes químicos. Con el objetivo de mejorar la producción y el rendimiento agronómico se emplean fertilizantes químicos aumentando las dosis recomendadas, los cuales al ser asimilados por los cultivos terminan contaminando los cuerpos de agua y causando eutrofización debido al exceso de nutrientes que provoca el desbalance de ecosistemas, reduciendo la diversidad microbiana. En un suelo infértil se hace difícil producir nuevos cultivos, ya que las plantas se vuelven más vulnerables a enfermedades y, como consecuencia, la producción agrícola disminuye en cantidad y calidad. (Freire et al., 2016)

Las cianobacterias son microorganismos fundamentales en los ecosistemas terrestres, especialmente en suelos y cultivos. Su principal función es transformar el nitrógeno atmosférico en compuestos nitrogenados que las plantas pueden utilizar. Este proceso es especialmente crucial en suelos pobres en nitrógeno, donde las cianobacterias pueden aportar significativamente este elemento esencial para el crecimiento vegetal (Daga et al., 2024). Es así como los consorcios microbianos con cianobacterias son cada vez más importantes en el área agrícola, potenciando la producción de metabolitos secundarios, retener la humedad del suelo y promover la captación de nutrientes en las plantas y pueden ser encontradas en ambientes lénticos, suelos húmedos, troncos muertos y corteza de árboles. (Freire et al., 2016), las cianobacterias cumplen otras funciones importantes como su capacidad para solubilizar nutrientes esenciales, como los fosfatos, lo que favorece la fertilidad del suelo y promueve una mayor productividad de los cultivos, lo cual es especialmente beneficioso en suelos deteriorados o erosión. Algunas cepas también producen compuestos que inhiben patógenos y plagas, disminuyendo así la dependencia de pesticidas. (Denegri et al., 2021)

Las enzimas participan en la transformación de compuestos orgánicos complejos a sustancias asimilables por las plantas que catalizan las etapas limitantes en la mineralización de nutrientes. Esta es la razón por la cual se relaciona su actividad con la liberación de

nutrientes inorgánicos procedentes de la materia orgánica, Una parte de las enzimas de suelo son extracelulares, y liberadas durante el metabolismo y muerte celular, otras son intracelulares y que forman parte de la biomasa microbiana o bien están adsorbidas en la materia orgánica y en el sistema coloidal, lo cual sugiere que el suelo puede actuar como un reservorio temporal. (Henriquez et.al., 2014)

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En una economía mundial cada vez más globalizada, numerosos son los agricultores que se esfuerzan para seguir siendo competitivos en el mercado internacional, implementando sistemas de producción a gran escala como uso de plaguicidas, fungicidas y fertilizantes químicos sintéticos ocasionando daños ambientales como caídas de la tasa de humus de los suelos, salinización de las tierras arables, deslizamiento de lodos, derrumbes, pérdidas de diversidad doméstica y silvestre, además contaminación del aire y el agua (Ramos, 2020).

En países latinoamericanos como Chile, México, Uruguay, Venezuela, Brasil, Cuba, Nicaragua, Paraguay, Argentina y Colombia se han venido implementando el uso de fertilizantes químicos debido a las necesidades de múltiples elementos como por ejemplo el nitrógeno, de alta demanda en los cultivos. Estos fertilizantes permiten aumentar parcialmente la producción en los cultivos de arroz, sorgo, frijol, guayaba y Ají; no obstante, el uso incorrecto de fertilizantes ha intensificado los efectos adversos en el medio ambiente, como la erosión del suelo, la salinización, la eutrofización y la contaminación de aguas subterráneas, entre otros (Jáquez et al., 2022).

El impacto ambiental de los fertilizantes químicos ha forzado a Colombia a establecer alternativas biológicas para una agricultura orgánica, aplicada al cultivo de ají *Capsicum frutescens L.*, siendo esta la principal hortaliza de exportación. Los departamentos del Valle, Magdalena y la Costa Atlántica son considerados los principales productores; el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia estimó que la producción nacional de ají en 2017 fue de 306,849 toneladas.

Según el Ministerio de Agricultura a nivel nacional para los monocultivos de ají *Capsicum frutescens L.*; se emplean cinco productos fundamentales en la fabricación de fertilizantes, entre los que se incluyen la urea como fuente de nitrógeno químico, nitrato de amonio, sulfato de amonio, fosfato diamónico (DAP) y cloruro de potasio (KCl). Además, se utilizan plaguicidas y desinfectantes químicos sintéticos. En Colombia, se sintetizan cuatro ingredientes activos: Mancozeb, Diuron, 2,4 D Ésteres y propanil, el uso de estos

agroquímicos puede provocar disminuciones significativas en la productividad de la mayoría de los cultivos, generar graves desequilibrios en los agroecosistemas y tener efectos negativos sobre el medio ambiente, lo que también afecta la salud de los agricultores y de los consumidores finales.

La exposición prolongada a los agroquímicos se ha vinculado con el cáncer, así como con enfermedades como Alzheimer y Parkinson, trastornos hormonales, problemas de desarrollo y esterilidad, en donde, los grupos más vulnerables incluyen a los trabajadores agrícolas, las comunidades que residen cerca de las plantaciones, mujeres embarazadas y niños (ONU, 2021).

Debido a esta emergencia ambiental y alimentaria se ha visto la necesidad de recurrir a alternativas biológicas que disminuya el uso excesivo de agroquímicos en cultivos de Ají y a su vez reducir el desgaste de los suelos para mantener la base nutrimental y fertilidad del suelo. El departamento del Cesar no es ajeno a estas problemáticas ya mencionadas; En este trabajo se evaluó la producción de exoenzimas en cianobacterias y el aporte de estas en los suelos del cultivo de ají (*capsicum frutescens*) buscando con esto la elaboración de bioinsumos derivados de las cianobacterias con el fin de disminuir el uso de agroquímicos en este tipo de cultivos.

2.1 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Las cianobacterias aisladas de cultivos de Ají producen exoenzimas utilizables para la elaboración de biofertilizantes?

3. JUSTIFICACIÓN

En Colombia, la oferta de ají en el país es variable, debido a que este cultivo es muy sensible a las condiciones climáticas; esta inestabilidad en la oferta se enfrenta a una creciente y diversa demanda mundial, ya que, el ají no solo se utiliza como condimento en la gastronomía, sino que también ha ganado un lugar importante en las industrias cosmética, farmacéutica y agroquímica (Acero, 2024).

Para la comercialización del ají, tanto a nivel internacional, se requiere que el producto se encuentre con una buena calidad, en aspectos organolépticos como sabor, tamaño, frescura, grosor y color, y que esté libre de daños causados por plagas. (Carreño, 2023), para aumentar el rendimiento y suplir las necesidades de nutrientes necesarios de los cultivos de Ají, se están implementando alternativas microbiológicas que promuevan la fijación biológica de nitrógeno y otros nutrientes que resultan efectivos, reproducibles y rentables.

Existen microorganismos beneficiosos para la agricultura, entre los cuales se encuentran las cianobacterias o algas verdeazuladas; es aquí donde la utilización de cianobacterias productoras de exoenzimas como amilasa, proteasa, lipasa, fosfatasa, celulasa y ureasa aumenta los rendimientos de las cosechas y mejora la calidad de los frutos, debido que, proporcionan a los cultivos todos los macronutrientes y micronutrientes necesarios para las plantas. Además, estas contienen 27 sustancias naturales que tienen efectos similares a los reguladores de crecimiento, como las auxinas, agentes quelantes como los ácidos fúlvicos, algínicos y manitol, así como vitaminas, aproximadamente 5000 enzimas y ciertos compuestos biocidas que actúan como controladores de plagas y enfermedades en las plantas (Acero, 2024).

Por su parte, las cianobacterias productoras de exoenzimas tienen la capacidad de acondicionarse en suelos degradados, siendo estas eficaces en el tratamiento de suelos contaminados; en climas áridos o semiáridos incrementan la fertilidad del suelo mediante la producción de exopolisacáridos que mejoran la estructura del suelo (Daga et al., 2024).

A su vez, el uso de cianobacterias en la agricultura ofrece numerosos beneficios, como aumentar la capacidad de intercambio catiónico, estimular la actividad microbiana del suelo, mejorar la retención de agua en el suelo y fomentar el crecimiento de las raíces de los cultivos; por ello, dichos procesos bioquímicos asociados contribuyen a disminuir la salinidad, optimizar la asimilación de nutrientes disponibles y mejorar la aireación y la infiltración de agua en la zona radicular. Además, las cianobacterias pueden liberar hormonas de crecimiento para las plantas como metabolitos secundarios, facilitar el transporte de nutrientes desde el suelo hacia los cultivos, generar agregados del suelo y mejorar sus propiedades químicas (Denegri et al., 2021).

A partir de lo anterior, se vio la necesidad de realizar una investigación con cianobacterias aisladas del suelo, esta puede ser una alternativa económica y sustentable a los productos químicos convencionales, los cuales suelen ser costosos y tóxicos para diferentes ambientes (agua, suelo y aire), así como para agricultores y consumidores. Aunque las cianobacterias han sido poco investigadas en cuanto a sus aplicaciones en la agricultura, se sabe que generan efectos positivos en las plantas con las que coexisten

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la producción de exoenzimas de cianobacterias aisladas de cultivos de Ají (*Capsicum frutescens L.*) en el Departamento del Cesar.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar a nivel molecular las cianobacterias aisladas en los cultivos de Ají (*Capsicum frutescens L.*) en los municipios de Manaure, Pueblo Bello, Rio de Oro, González y Valledupar.
- Determinar la producción exoenzimas como amilasa, lipasa, proteasa, celulasa y ureasa de las cianobacterias aisladas mediante medios microbiológicos.
- Seleccionar cepas de cianobacterias hiperproductoras de exoenzimas.

6. METODOLOGÍA

6.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN.

Esta investigación fue de carácter cualitativo descriptivo.

6.2 LÍNEA DE INVESTIGACIÓN.

La siguiente propuesta se encuentra circunscrita a la línea de investigación de Bioprospección, adscrita al programa de Microbiología de la Universidad Popular del Cesar.

6.3 LOCALIZACIÓN.

Se eligieron cinco municipios del departamento del Cesar: Valledupar (vereda El Cielo), Manaure, González, Rio de Oro y Pueblo Bello. Geográficamente, el Cesar está situado entre la Sierra Nevada de Santa Marta, que alberga La cabecera municipal de Pueblo Bello se encuentra a una altitud de 1210 metros sobre el nivel del mar, en la Serranía del Perijá, donde se localiza González a 1342 m.s.n.m., Manaure a 775 m.s.n.m. y Rio de Oro a 1178 m.s.n.m. Este departamento, localizado en el norte del país y en la llanura del Caribe, se extiende entre las latitudes 07°41'16" y 10°52'14" al norte y las longitudes 72°53'27" y 74°08'28" al oeste, abarcando una superficie de 22.925 km², lo que equivale al 2% del territorio nacional. Limita al norte con los departamentos de Magdalena y La Guajira; al este, con la República de Venezuela y el departamento de Norte de Santander; al sur, con los departamentos de Norte de Santander y Santander; y al oeste, con Bolívar y Magdalena (POT Cesar, 2016). La temperatura promedio en Valledupar es de 28 °C, mientras que en los otros municipios varía entre 20 °C y 23 °C. El procesamiento de las muestras se llevó a cabo en los laboratorios de microbiología de la Universidad Popular del Cesar.

6.4 DISEÑO METODOLÓGICO.

6.4.1 *Plan de recolección de muestras*

El plan de muestreo se diseñó basándose en la guía para la recolección de muestras de suelo de Corpoica, la cual se fundamenta en diversos parámetros, tales como:

- Se seleccionó el área de muestreo en el cultivo y el punto de extracción de las submuestras (en zig zag) a fin de obtener una muestra representativa.

Además, se determinará la temperatura del ambiente.

- Se realizó un raspado de 3 cm de la capa superior de suelo para eliminar contaminantes en el punto elegido para extraer la muestra.
- Se llevó a cabo una excavación en forma de "V", con el ancho de una pala y una profundidad aproximada de 25 cm, de la cual se extrajo una porción de suelo de entre 2 y 3 cm de grosor desde la pared del hueco, depositándola en recipientes para luego ser homogeneizada con las demás submuestras recolectadas.
- Se tomó 1 Kg de muestra a partir de la homogeneización de las submuestras y fueron llevadas al laboratorio de la en bolsas herméticas dobles.
- Se tomó 1 kg de muestra adicional para el análisis fisicoquímico del suelo.
- Para su conservación las muestras se almacenaron en una cava a una temperatura entre 4 y 10°C.

6.4.2 *Procesamiento de las muestras y aislamiento de cianobacterias*

El aislamiento y procesamiento de las cianobacterias presentes en las muestras de suelo se realizaron de acuerdo con el enfoque metodológico expuesto por (Daga et al., 2024).

- El procesamiento de las muestras se realizó en la Universidad Popular Del Cesar, las diferentes muestras de suelo se le realizaron diluciones seriadas tomando 10 gramos de cada una, los cuales fueron depositados en 90mL de Agua Destilada Estéril (ADE), siendo está considerada como la solución madre a partir de la cual se tomó 1mL y se transfirió a 9 mL de ADE obteniendo así la dilución 10^{-1} , a partir de la cual se obtuvo las siguientes diluciones sucesivas hasta llegar a 10^{-7} .

- Realizadas las diluciones, se tomó 0.1 mL de las diluciones desde 10^{-2} hasta 10^{-7} pasándolas a tubos con 10 mL de medio líquido BG11 y en placas de Petri con medio sólido BG11, realizándose por medio de la técnica de siembra por extensión para cada dilución. A cada placa se le añadió entre 30 y 50 g/mL de cicloheximida para prevenir la contaminación por hongos. Este proceso se realizó en triplicado para cada dilución.
- Después de tener listos los tubos y las placas, se incubaron a una temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, con una intensidad lumínica cercana a los 3700 lux y un periodo de 12 horas de luz y 12 horas en ausencia de luz durante aproximadamente un mes. Al finalizar este período, se realizó una siembra por agotamiento en medio de cultivo sólido BG11 adicionando a este bicarbonato de sodio para aislar las cianobacterias, teniendo en cuenta la metodología de Morales et al., 2014.
- Se implementó el medio BG11 en sólido y líquido en el cual se inocularon las cepas de cianobacterias y la de microorganismos como algas aisladas a partir de la metodología descrita anteriormente.

6.4.4 Caracterización fenotípica de las cepas

Para la identificación de estas cianobacterias, se optó por utilizar microscopía óptica de campo claro en microscopios con sus diferentes objetivos de 10x, 20x, 40x y 100x. Las morfologías evaluadas para la identificación taxonómica incluyeron: la forma y tamaño de las células intercalares y finales del filamento, la anchura del filamento, la ausencia o presencia y color de la vaina, el número de tricomas por filamento, así como la presencia, forma y tamaño de los heterocistos (Denegri et al., 2021).

6.4. Identificación molecular de cianobacterias

La identificación de cianobacterias se ha llevado a cabo tradicionalmente mediante técnicas de microscopía basadas en su morfología (Serrano, 2023). Sin embargo, en investigaciones recientes se ha incrementado el uso de metodologías moleculares para identificar cepas, que implican la amplificación in vitro de secuencias de ADN mediante

cebadores específicos. Para la identificación molecular, se utilizó el protocolo descrito por Serrano (2023), que consta de tres etapas:

- 1) Extracción de ADN:** Se tomó de 0,1 a 0,2 g de biomasa, a la cual se adicionaron 100 μ L de TE (10 mM Tris, 1 mM EDTA) y 3 μ L de proteinasa K (20 mg/ml). Al contenido de cada tubo se le realizó una disrupción mecánica con balines de vidrio y metal, en un desmembrador Retsch 400 mm, a una agitación de 30 Hz por 1 min. El material homogeneizado se incubó a 37 °C por una hora, seguidamente se le adicionaron 500 μ L de buffer CTAB 2X y se incubaron a 65 °C por 30 min. Al lisado celular se le adicionaron 500 μ L de Cloroformo-álcohol isoamílico (24:1) y se separaron las fases. Se recuperó la fase acuosa y se agregaron 0,5 μ L de NaCl 5M y 0,6 μ L de isopropanol para precipitar el ADN, seguido se incubaron a -20 °C por una hora. El ADN se lavó con etanol 70 %, y se suspendió en 100 μ L de agua libre de nucleasas (Ambion).
- 2) Amplificación por PCR:** Para la identificación molecular se utilizó como marcador el gen bacteriano 16S de la unidad pequeña del ribosoma. Esta amplificación se realizó con dos cebadores intermedios, el CYA 359F y el CYA781R. Los cebadores utilizados fueron una combinación de los dos cebadores reverse CYA781 a y b (GACTAC(T/A) GGGGTATCTAATCCC(A/T) TT) y el CYA359 (GGGGAAT(C/T) TTCCGCAATGGG) (Núbel, Ferran, & Gerard, 1997). Todas las reacciones se realizaron en un termociclador MyCycler™ (Bio-Rad laboratorios Inc., Hercules, CA, EE.UU.) en alícuotas de 20 μ l que contenía 10 μ l de PCR mix – 100 2X (Corpogen, 16 Colombia), 1 μ l de cebador F, 1 μ l de cebador R (cada cebador a una concentración de 10 μ M), 0,5 μ l de ADN y agua grado biología molecular hasta un volumen final de 20 μ l. Los perfiles de PCR incluyeron una desnaturalización inicial a 94°C durante 4 minutos, seguidos de 35 ciclos de 94 °C durante 30 s, 53°C por 30 s y 72°C durante 45 s, y una extensión final a 72 oC durante 6 minutos. Tanto las PCR como los productos limpios fueron visualizados en gel de agarosa al 1,5 % con TAE al 1 %. La electroforesis se corrió por aproximadamente una hora con voltaje de 100 V. Finalmente, se observó el resultado en un documentador de geles (Gel Doc™ XR+, BioRad).

3) Secuenciación y alineamiento de secuencias: Los productos purificados de PCR fueron enviados a una casa comercial (SSigMOL, Instituto de Genética, Universidad Nacional, Colombia) para el respectivo secuenciamiento del gen ribosomal 16S. Las comparaciones de secuencias se llevaron a cabo utilizando las bases de datos BLAST, curada (RefSeq) y no curada, del centro nacional de información biotecnológica (NCBI).

6.4.6 Purificación de las cepas de cianobacterias

Las diferentes cepas seleccionadas de cianobacterias fueron cultivadas en medio líquido BG-11 en tubos de ensayo de 10 mL y, posteriormente, se pasaron a cultivos discontinuos en frascos de aproximadamente 500 mL (Morales et al., 2014). Se utilizaron kanamicina a 5 µg/mL y cicloheximida a concentraciones de 30-50 µg/mL.

6.4.7 Curva de crecimiento

Para evaluar el crecimiento, se estableció la curva de crecimiento de las cianobacterias, considerando los siguientes parámetros

a) Turbidez

Para evaluar el crecimiento fueron analizados los cultivos cada tres días utilizando la biomasa fresca. Para esto, se tomaron de las muestras, que se homogeneizaron para romper los filamentos y obtener una mezcla uniforme. Luego, se adicionaron 2,5 mL del cultivo en tubos de vidrio con capacidad para 2,5 mL. se midió la absorbancia (DO) de las muestras a 750 nm utilizando un espectrofotómetro Spectronic 21D MILTON ROY, expresándose en Unidades de Absorbancia (UA).

b) Análisis de pigmentos.

Clorofila A y carotenoides: la cuantificación de estos fue llevada a cabo para elaborar una curva de crecimiento relacionada con la clorofila y los carotenoides, se utilizó el método descrito por Denegri et al. (2021), que consistió en tomar 2 mL de cultivo fresco en duplicado en tubos Eppendorf, que luego fueron centrifugados a 8000 r.p.m. por 10 minutos en una microcentrífuga (Thomas Scientific). Posteriormente, se desechó el sobrenadante con una pipeta Pasteur, y se extrajeron los pigmentos del pellet añadiendo 2 mL de acetona, dejando

la mezcla en refrigeración durante 24 horas. Para la medición, los extractos se clarificaron mediante centrifugación y se transfirieron a tubos de vidrio con capacidad para 2.5 mL, reajustando el volumen con el mismo solvente. Posteriormente, se midió la absorbancia (DO) de las muestras a 480 nm para los carotenoides y 665 nm para la clorofila a, utilizando un espectrofotómetro Spectronic 21D MILTON ROY, con un blanco de acetona al 95%, la concentración de clorofila a y carotenoides se calculó utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{Clorofila a } (\mu\text{g/mL}) = [(\text{DO}_{665} \times 12,7) / \text{VM}] \times \text{VE}$$

$$\text{Carotenoides totales } (\mu\text{g/mL}) = [(\text{DO}_{480} \times 4) / \text{VM}] \times \text{VE}$$

Dónde:

VM: Vln de muestra del cultivo utilizado

VE: Vln del extracto medido (normalmente 2,5 mL)

d) Ficobiliproteínas La extracción de los pigmentos solubles en agua se realizó utilizando un método modificado de choque osmótico, basado en el protocolo de Wyman y Fay (1986). Se tomó 1 mL del cultivo se centrifugaron a 5500 r.p.m. durante 10 minutos en una microcentrífuga (Thomas Scientific). Después, eliminando todo el sobrenadante y se añadió 200 μL de glicerol al concentrado resultante, agitando vigorosamente. Este preparado se mantuvo en la oscuridad a 4 °C durante 24 horas para facilitar la penetración del glicerol en las células. Al finalizar este tiempo, se incorporó 1 mL de agua destilada y se mezcló en un vórtex durante 30 segundos, lo que resultó en una concentración de glicerol del 20%. Este preparado se sometió a tres ciclos de congelación y descongelación de 30 minutos cada uno. Finalmente, se centrifugó a 5500 r.p.m. durante 10 minutos para sedimentar los restos celulares, y se midió la densidad óptica del sobrenadante a longitudes de onda de 562, 615 y 652 nm, usando una solución de glicerol al 20% en agua destilada como blanco. Una vez obtenidos los datos, se aplicaron las siguientes ecuaciones y se expresaron en $\mu\text{g/mL}$.

$$\text{Ficocianina } (\mu\text{g/mL}) = \frac{\text{D.O.}_{615} - (0.474) \times \text{D.O.}_{652}}{5.34}$$

5.34

$$\text{Aloficocianina } (\mu\text{g/mL}) = \frac{\text{D.O.}_{652} - (0.208) \times \text{D.O.}_{615}}{5.09}$$

5.09

$$\text{Ficoeritrina } (\mu\text{g/mL}) = \frac{\text{D.O.}_{562} - (0.474 \times \text{conc. Ficocia.}) - (0.849 \times \text{conc. Aloficoci.})}{9.62}$$

9.62

6.4.8 Determinación de Exoenzimas: Se determinará la presencia de las siguientes exoenzimas: amilasa, lipasa, proteasa, celulasa y ureasa, teniendo en cuenta el diámetro de halo formado en cada una de las cepas, para así comparar de manera cualitativa cuáles fueron las cepas con mayor producción de estas exoenzimas.

a) Determinación de Amilasa:

- Método del almidón (0,2%) en medio sólido: Se realizaron pozos en placas de agar nutritivo que contenían almidón como sustrato, Posteriormente, se inocularon 4 punciones de biofilm. Las placas fueron incubadas a 37 °C durante 48 horas, al finalizar el periodo de incubación, se revelaron los halos de hidrólisis añadiendo 5 mL de Lugol; la hidrólisis de este se evidenció por la formación de un halo claro alrededor del inóculo, mientras que el resto del medio se tiñó de azul oscuro, se considera que la actividad amilolítica es tiene una mayor producción cuando la zona clara tiene mayor tamaño. (Murialdo, 2022).

b) Determinación de Lipasa.

- Método con el detergente Tween 80: Para la detección de lipasa, se utilizó el medio sólido con peptona (5,0g), NaCl (2,5g), CaCl₂H₂O (0,05g), Agar-Agar (15g) y Tween 80 (5mL/L). Los aislados se inocularon por punción en placas Petri con medio de agar Tween 80 y se incubó a 37°C de 24 a 48 horas. Se determinó el halo de hidrólisis por el cálculo de la zona opaca alrededor de la colonia debido a la precipitación de los ácidos grasos libres con el cloruro de calcio CaCl₂ presente en el medio de cultivo (Murialdo, 2022).
- Método con Lecitina al (0,1%): Se preparó un medio sólido agar nutritivo que incluía una pastilla de lecitina de val natural 1200mg (100% soya natural), y se le añadió de 1,2mL/0.25L de triton X-100, agar-agar (15g/L) y calentando el medio a 100°C hasta lograr una completa homogeneización. Se realizaron punciones con inóculo. La

hidrólisis de esta se manifestó por la formación de un halo translúcido en el agar lecitina (Serrano, 2023).

c) Determinación de Proteasa

Para la proteasa se aplicó el método de hidrólisis de la gelatina con el objetivo de identificar las enzimas de tipo proteolítico que licuan/hidrolizan la gelatina.

- Método de hidrólisis de la gelatina: Se emplearon tubos que contenían gelatina (caldo nutritivo a 4,0 mM de medio algal + gelatina al 10-20%) en forma de taco, los cuales fueron sembrados por punción, tanto los tubos inoculados se incubaron a 37 °C durante 6 días; la prueba resultó positiva para aquellas cianobacterias que pudieron hidrolizar la gelatina, lo que llevó a la pérdida de su capacidad para volver a gelificar después de colocar los tubos a 4 °C durante 30 minutos (Serrano, 2023).

d) Determinación de Celulasa

- Método de la carboximetilcelulosa: Se utilizó el medio CMC, que contiene NaNO₃ (1), Na₂HPO₄ (1.2), K₂HPO₄ (0.9), MgSO₄ (0.5), KCl (0.5), extracto de levadura (0.5), caseína hidrolizada (0.5), CMC (5) y agar (15 g L⁻¹), se añadieron 0.5 ml del cultivo de cianobacterias en pozos o por punción, una vez transcurrido este tiempo, las cajas se incubaron a 30 °C durante tres días, luego se cubrieron las cajas con una solución de rojo Congo al 0.05%, después de 10 minutos, se retiró el rojo Congo y se reemplazando este por agua estéril, tras una hora, se eliminó el agua estéril y se aplicó ácido acético al 2% durante 10 segundos, luego de retirar el ácido acético, se midió el diámetro del halo formado alrededor, como indicador de la hidrólisis de celulosa (Daga et al., 2024).

e) Determinación de Ureasa

- En esta prueba se utilizó el agar base urea. El medio utilizado contiene: tripteína 1.0g, glucosa 1.0g, cloruro de sodio 5.0g, fosfato monopotásico 2.0g, agar 15.0g y como indicador el rojo fenol, PH 6.8. Se vertió el medio en tubos de ensayo dejando solidificar en pico de flauta. Se realizó la 3 siembra por punción, se incubó a 37°C durante 24 horas. Se toma como positiva la prueba, cuando el medio viró a un color

rosado-rojizo. A diferencia se consideró negativa la prueba cuando el medio permaneció del mismo. (Daga et al., 2024).

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 CARACTERIZACIÓN POR ESTRUCTURAS MORFOLÓGICAS Y BIOLOGÍA MOLECULAR LAS CIANOBACTERIAS PRESENTES EN SUELOS CULTIVADOS CON AJÍ (*CAPSICUM FRUTESCENS*) EN EL DEPARTAMENTO DEL CESAR

7.2.1 Localización de muestreo cepas

A continuación, se presentan los hallazgos del aislamiento de 36 cepas de cianobacterias en los puntos de muestreo de Manaure y Pueblo Bello.

Tabla 2

Número de colonias aisladas por municipio

Municipio	Número de colonias
Valledupar	4
Manaure	3
Pueblo Bello	12
González	10
Rio de Oro	7

Nota: Tabla elaborada por el autor, 2024

Los resultados indicaron un mayor crecimiento a temperaturas promedio de 24°C en el caso del desarrollo de las cianobacterias en los puntos de muestreo analizados.

7.2.2 Características morfológicas

Se presentan los hallazgos de la caracterización morfológica y de la purificación de siete colonias

Tabla 3

Identificación de colonias purificadas

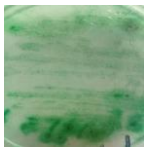


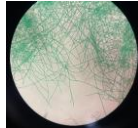
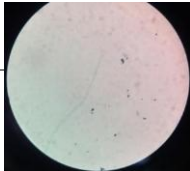
Municipio	No. de colonias aisladas	Nombre por procedencia
Valledupar	0	V1
Manaure	0	Mn
Pueblo Bello	2	P7-1 y P3
González	5	M3, M2-2, M2, M2-1 y M3-3
Río de Oro	0	M1- M4

Nota: Tabla elaborada por el autor, 2024

En la tabla 7, se muestran las características macroscópicas y microscópicas de las cianobacterias por claves dicotómicas.

Tabla 4

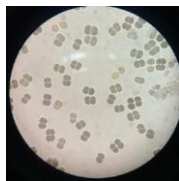
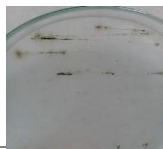
Características macroscópicas y microscópicas de las Cianobacterias.

Cepa	Características Macroscópicas	Características Microscópicas	Género identificado
M2-1, M3-3 y P7-1.	Colonias amorfas, mucilaginosas, limosas, azul verdosas, con células densas e irregularmente dispuestas.	Estructuras con filamentos alargados, delgados, verdes azulados. Se evidencian numerosos tricomas por vaina; la vaina es mucilaginosa (mucosa), con terminación en el ápice.	<i>Oscillatoria</i> sp.
		  	
M2-2		Célula con tricomas largos solitarios, rectos o espirales, formando cúmulos macroscópicos finos. Son células isodiamétricas vegetativas cilíndricas, con vaina fina, septos poco evidentes, sin aerotopos. Células apicales cilíndricas con ápice redondeado	<i>Planktolyngbya</i> del orden Oscillatoriales
			

M3 Células alargadas, algunas de color claro y otro color negro, poco abundante. El crecimiento se observa en la superficie del medio.

Se observan células redondas irregulares, divididas en dos (fisión binaria), con una vaina mucilaginosa, coloración verde claro.

Synechocystis sp.



P3 Muestran talos largos y rectos, también mucilaginosos, con un aparente recubrimiento algodonoso.

Células unidas alargadas constituyendo filamentos sin vaina, filamentos móviles que pueden dar lugar a ovas.

Microcoleus sp.



M2 Células alargadas de textura lisa o verrugosa, de color negro.

Se identificaron estructuras verde azules, de forma alargada que engloban pequeños círculos, translúcida, gelatinosa y esférica.

Nostoc sp.



Nota: Tabla elaborada por el autor, 2024

En general, todas estas especies son cianobacterias que tienen un papel importante en los ecosistemas terrestres y acuáticos, contribuyendo a la fertilidad de los suelos y la formación de comunidades microbianas. Su presencia en los suelos puede indicar condiciones favorables para su crecimiento y desarrollo (Díaz et al., 2022).

Gallardo (2021), en su estudio publicado en la revista "Journal of Phycology" encontró que las cianobacterias del género *Oscillatoria* sp presentaban filamentos largos y delgados, similares a los descritos en el texto. Otro estudio publicado en la revista "Microbial Ecology" de Acosta (2019), encontró que las cianobacterias del género *Microcoleus* sp presentaban

células alargadas y rectas, similares a las descritas en los resultados obtenidos. Es importante tener en cuenta que la morfología y estructura de las cianobacterias pueden variar dependiendo de factores como el ambiente, la disponibilidad de nutrientes y la presencia de otros microorganismos. Sin embargo, los resultados de estos estudios sugieren que las características morfológicas y estructurales de las cianobacterias pueden ser útiles para su identificación y clasificación.

Por su parte, Serrano (2023), en su investigación aisló e identificó cianobacterias asociadas a cultivos de maíz, determinando la presencia de los géneros *Oscillatoria* sp, demuestra que produce nitrógeno en esos suelos.

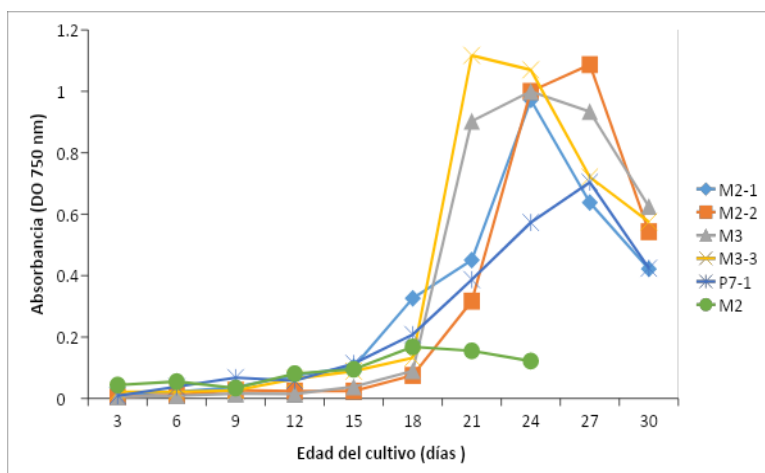
Murialdo (2022), reportó sobre la identificación en treinta especies de cianobacterias que forman de heterocistes provenientes de siete géneros en cultivo de arroz de Argentina. La presencia de cianobacterias formadoras de heterocistes, como el género *Leptolyngbya* sp, se relación con niveles reducidos de nitrógeno

7.2.3 Evaluación del crecimiento de las cianobacterias.

A continuación, se presenta en la gráfica el crecimiento de las cepas de cianobacterias durante el desarrollo de 30 días de incubación por el método descrito en la metodología el cual corresponde a turbidez.

Figura 1

Crecimiento de cianobacterias medido por turbidez: M2-1, M3-3 Y P7-1 *Oscillatoria* sp, M2-2 *Planktolynghya* sp M3-3 *Synechocystis* sp, M2 *Nostoc* sp



Nota: Elaborado por el autor, 2024

En la gráfica, se muestra el crecimiento de diferentes cepas de cianobacterias aisladas en un cultivo discontinuo durante 30 días. La gráfica muestra que la mayoría de las cepas aisladas tienen un crecimiento similar y alcanzan un crecimiento exponencial a partir del día 18, con porcentajes de crecimiento entre 1 y 1,2%. Sin embargo, la colonia M2 tiene un crecimiento significativamente menor, inferior al 0,2%. Esto sugiere que la colonia M2 tiene una capacidad de crecimiento diferente a las otras cepas aisladas. Puede ser debido a factores como (Hauer, 2022):

- Diferencias en la capacidad de adaptación a las condiciones del cultivo.
- Variaciones en la capacidad de utilizar nutrientes o luz.
- Posibles inhibiciones o competencias entre las cepas.

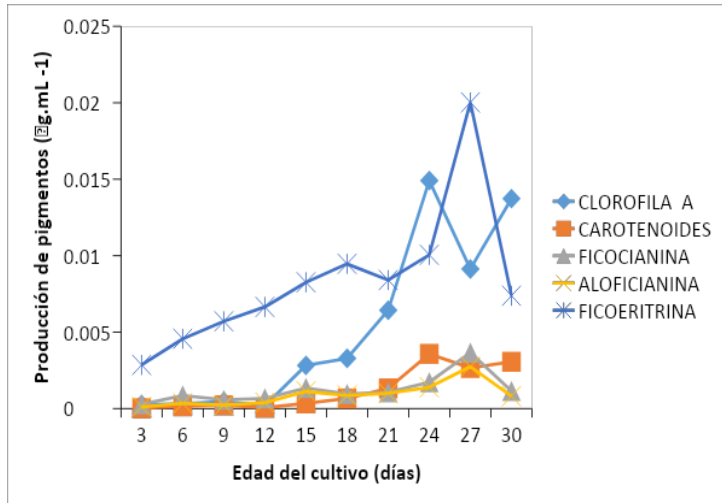
En relación con la gráfica, se puede ver que la mayoría de las cepas aisladas de cianobacterias tienen un crecimiento similar y alcanzan un crecimiento exponencial a partir del día 18, con porcentajes de crecimiento entre 1 y 1,2%. Sin embargo, la colonia M2 tiene un crecimiento significativamente menor. Considerando los resultados del estudio de Pineda (2023), es posible que la colonia M2 pertenezca a una especie de cianobacteria que prefiere bajas intensidades luminosas, como *Oscillatoria agardhii*, lo que explicaría su crecimiento más lento en comparación con las otras cepas. Por otro lado, las otras cepas aisladas pueden pertenecer a especies que crecen mejor en intensidades luminosas moderadas o altas, lo que explicaría su crecimiento más rápido. Por lo tanto, se puede considerar que los resultados de esta investigación obedecen al crecimiento de cianobacterias pertenecientes al orden *Oscillatoriales*.

7.2.4 Curvas de crecimiento de colonias aisladas

A continuación, en la curva de crecimiento de las cianobacterias aisladas, se evidencian comportamientos irregulares con producción de pigmentos que varían en las diferentes muestras.

Figura 2

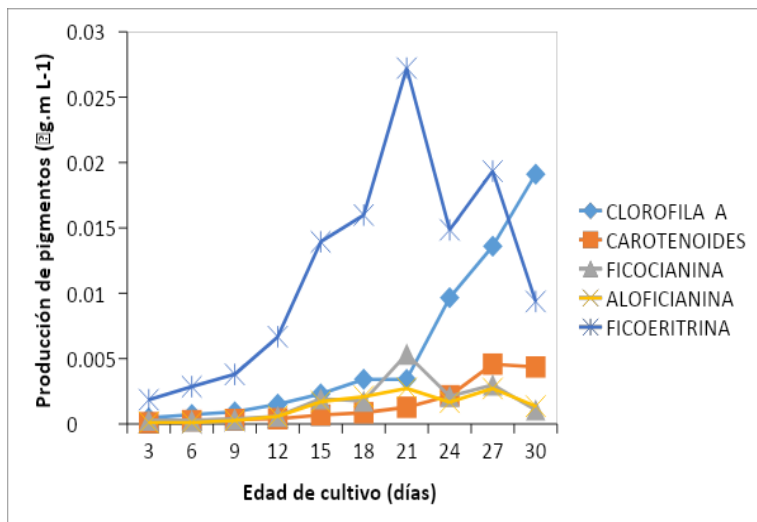
Crecimiento de la cianobacteria M2-1 Oscillatoria sp



Nota: Elaborado por el autor, 2024

Figura 3

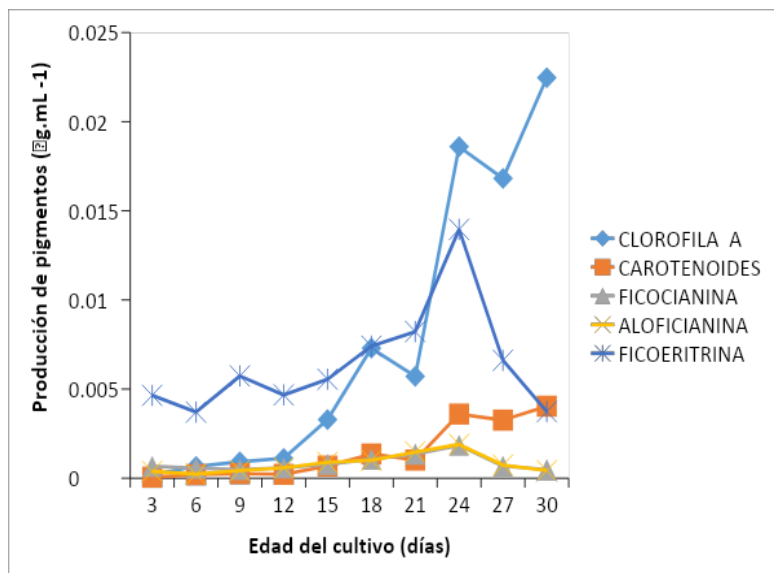
Crecimiento de la cianobacteria M3-3 *Oscillatoria sp.*



Nota: Elaborado por el autor, 2024

Figura 4

Crecimiento de la cianobacteria M3-2 *Oscillatoria sp.*



Nota: Elaborado por el autor, 2024

Lo anterior demuestra que las muestras M2-1, M3-3 y P7-1 tienen un patrón de crecimiento irregular y producen más cantidad de ciertos pigmentos como ficoeritrina y clorofila, pero menos cantidad de otros pigmentos como carotenoides, ficocianina y aloficianina. El análisis de estos resultados puede indicar que las condiciones de crecimiento o las características intrínsecas de las muestras están afectando la producción de pigmentos (Pineda, 2023).

Giraldo (2022), en su estudio encontró que la producción de pigmentos en cianobacterias puede ser afectada por factores como la intensidad de la luz, la temperatura y la disponibilidad de nutrientes. Por ejemplo, se encontró que la producción de ficoeritrina aumenta en condiciones de alta intensidad de luz, mientras que la producción de carotenoides disminuye en condiciones de alta intensidad de luz. Los resultados muestran que las muestras M2-1, M3-3 y P7-1 tienen un patrón de crecimiento irregular y producen más cantidad de ciertos pigmentos como ficoeritrina y clorofila, pero menos cantidad de otros pigmentos como carotenoides, ficocianina y aloficianina, lo que se relaciona con los estudios de la producción de pigmentos en cianobacterias puede ser afectada por factores como la intensidad de la luz, la temperatura y la disponibilidad de nutrientes.

Por su parte, Ramírez (2023), encontró que las cianobacterias pueden producir diferentes tipos y cantidades de pigmentos en respuesta a cambios en las condiciones

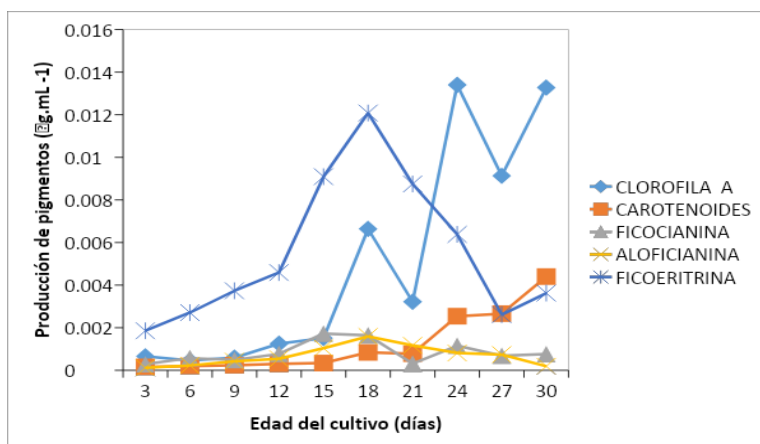
ambientales. Por ejemplo, se encontró que la producción de ficocianina aumenta en condiciones de estrés, mientras que la producción de aloficianina disminuye en condiciones de crecimiento óptimo. Lo anterior, resalta que la producción de pigmentos en cianobacterias puede ser utilizada como indicador de la salud y el estrés en estos organismos.

Tal es el caso de Gallardo (2021), quien encontró que las cianobacterias pueden producir pigmentos que tienen propiedades antioxidantes y pueden proteger a las células contra el daño oxidativo. Por ejemplo, se encontró que la producción de carotenoides puede proteger a las cianobacterias contra el daño causado por el estrés oxidativo. Los resultados obtenidos también sugieren que las muestras M2-1, M3-3 y P7-1 pueden estar experimentando estrés o condiciones de crecimiento subóptimas, lo que podría estar afectando la producción de pigmentos.

En resumen, los resultados se relacionan con los estudios en que sugieren que la producción de pigmentos en cianobacterias puede ser afectada por factores como la intensidad de la luz, la temperatura, la disponibilidad de nutrientes y las condiciones de crecimiento. Además, tus resultados sugieren que las muestras M2-1, M3-3 y P7-1 pueden estar experimentando estrés o condiciones de crecimiento subóptimas, lo que podría estar afectando la producción de pigmentos.

Figura 5

Crecimiento de la cianobacteria M2-2 Planktolyngbya sp



Nota: Elaborado por el autor, 2024

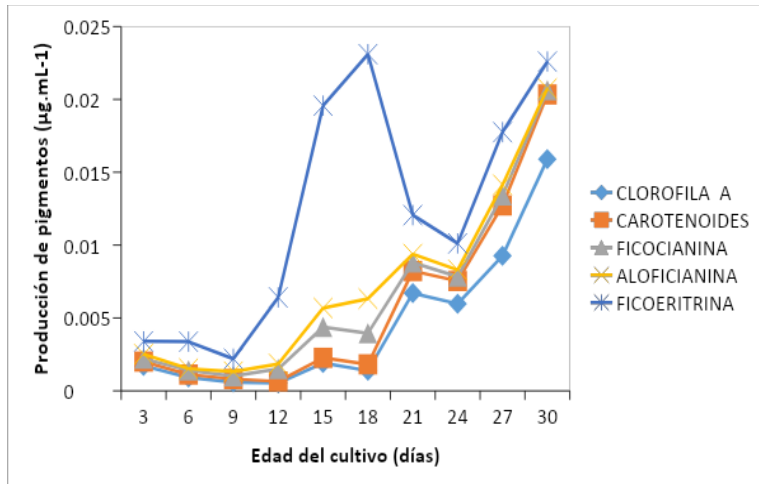
Lo anterior sugiere que la muestra M2-2 tiene una capacidad de adaptación diferente para producir estos pigmentos. La ficoeritrina y la clorofila A son importantes para la fotosíntesis, por lo que un mayor crecimiento en estos pigmentos podría ser beneficioso para la supervivencia de la muestra (Díaz, 2022). Sin embargo, el crecimiento limitado de los otros pigmentos podría ser un indicador de estrés o limitaciones en la capacidad de la muestra para producir estos pigmentos. Esto podría ser un indicador de adaptación o estrés en la muestra (Daga et al., 2024).

Un estudio publicado en la revista "Journal of Phycology" encontró que la producción de ficoeritrina y clorofila A es importante para la fotosíntesis y el crecimiento de las cianobacterias. Sin embargo, el crecimiento limitado de los otros pigmentos podría ser un indicador de estrés o limitaciones en la capacidad de la muestra para producir estos pigmentos (Díaz, 2022). Otro estudio publicado en la revista "Microbial Ecology" encontró que las cianobacterias pueden producir diferentes tipos y cantidades de pigmentos en respuesta a cambios en las condiciones ambientales. Esto podría ser un indicador de adaptación o estrés en la muestra. Esto podría ser útil para evaluar la capacidad de adaptación de las cianobacterias a diferentes condiciones ambientales (Fedele et al, 2020).

En cuanto a los resultados, es importante tener en cuenta que la muestra M2-2 tiene un comportamiento particular de crecimiento en los pigmentos accesorios, con un mayor porcentaje de crecimiento en la ficoeritrina y clorofila A, mientras que el crecimiento de los otros pigmentos está limitado. Esto podría ser un indicador de adaptación o estrés en la muestra, y es importante considerar las posibles implicaciones para la supervivencia y el crecimiento de las cianobacterias en diferentes condiciones ambientales, tal como lo menciona (Díaz, 2022).

Figura 6

Crecimiento de la cianobacteria M3 Synechocystis sp



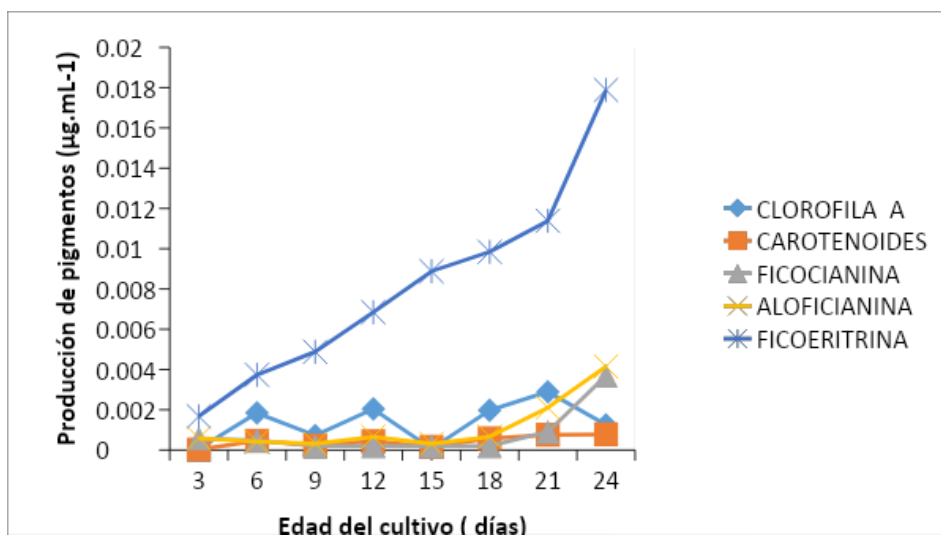
Nota: Elaborado por el autor, 2024

Esto sugiere que la *Synechocystis sp* está experimentando un crecimiento acelerado en la producción de pigmentos, especialmente de ficoeritrina, lo que podría ser un indicador de adaptación a las condiciones ambientales o de estrategias para optimizar su supervivencia (Daga et al., 2024).

La ficoeritrina es un pigmento importante para la asimilación de luz y la fotosíntesis en las cianobacterias, por lo que un mayor crecimiento en este pigmento podría ser beneficioso para la supervivencia de la *Synechocystis sp* (Daga et al., 2024).

Figura 7

Crecimiento de la cianobacteria M2 Nostoc sp



Nota: Elaborado por el autor, 2024

Lo anterior sugiere que la *Nostoc sp* está experimentando un crecimiento selectivo en la producción de pigmentos, donde la ficoeritrina es el pigmento que está siendo producido en mayor cantidad. La ficoeritrina es un pigmento importante para la fijación de luz y la fotosíntesis en las cianobacterias, por lo que un mayor crecimiento en este pigmento podría ser beneficioso para la supervivencia de la *Nostoc sp* (Serrano, 2023).

Es importante destacar que, según la investigación de Denegri et al., (2021), los otros pigmentos, como la clorofila A, la aloficianina, los carotenoides y la ficocianina, mantienen bajos porcentajes de producción. Esto podría indicar que la *Nostoc sp* está adaptándose a condiciones específicas que favorecen la producción de ficoeritrina en detrimento de otros pigmentos (Serrano, 2023).

Lo anterior se relaciona con el estudio de Fedele et al., (2020), quien encontró que la *Synechocystis sp* experimenta un crecimiento acelerado en la producción de pigmentos, especialmente de ficoeritrina, lo que podría ser un indicador de adaptación a las condiciones ambientales o de estrategias para optimizar su supervivencia. Además, Román (2020), en su análisis identificó que el crecimiento acelerado de la ficoeritrina podría ser un mecanismo de adaptación para optimizar la captación de luz y la fotosíntesis en condiciones ambientales cambiantes. Además, la producción de pigmentos en cianobacterias puede ser utilizada como indicador de la salud y el estrés en estos organismos.

7.2.5 Identificación molecular de cianobacterias.

El estudio mediante biología molecular de las colonias permitió establecer la identificación de dos aislados. El análisis del comportamiento molecular determinó las secuencias de ADN para un grupo de microorganismos con características pertenecientes a cianobacterias, dadas las siguientes:

Para la muestra 1, con el nombre asignado M2 corresponde con la secuencia (ver anexo 9): Dando como resultado para la opción 1: *Desmonostoc sp*. Porcentaje de identidad: 100%. Código genbank: KR137601.1 / KR137592.1 / KF761564.1. Así mismo, se presentó una

opción 2: *Nostoc sp.* Porcentaje de identidad: 100%. Código genbank: MF109994.1 / LC190509.1 / KU645906.1

Para la muestra 2, con el nombre asignado P3, corresponde con la secuencia ^(ver anexo 10): Dando como resultado el nombre del organismo; *Microcoleus vaginatus*. Porcentaje de identidad: 99.76%. Código genbank: MK211228.1 / MK487644.1 / MK478715.1 / MH688845.1

Con respecto al análisis para la identificación molecular obtenida no compartió identidad con todas las secuencias obtenidas de las cianobacterias aisladas e identificadas microscópicamente, lo que resalta la importancia de desarrollar los dos tipos de estudios para entender la biodiversidad de cianobacterias en agro-ecosistemas como el ají o cualquier otro cultivo.

Un estudio publicado en 2019 por la Universidad Estatal a Distancia de Costa Rica identificó y caracterizó molecularmente cianobacterias tropicales de los géneros *Nostoc sp*, *Calothrix sp*, *Tolypothrix sp* y *Scytonema sp* (Roncero, 2019). En este estudio, los investigadores utilizaron técnicas moleculares como la amplificación por PCR y la secuenciación de los genes 16S ARNr y rpoC1 para identificar las especies de cianobacterias. Los resultados mostraron que las secuencias de ADN obtenidas coincidían con las secuencias de referencia en la base de datos GenBank, lo que permitió identificar las especies de *Nostoc sp.* presente en las muestras.

Otra investigación publicada por Fedele et al., 2020 de la Universidad de Costa Rica también utilizó técnicas moleculares para identificar y caracterizar cianobacterias presentes en muestras de agua dulce. En este estudio, los investigadores utilizaron la técnica de PCR en tiempo real para amplificar los genes 16S ARNr y rpoC1, y luego secuenciaron los productos de PCR para determinar las secuencias de ADN. Los resultados mostraron que las secuencias de ADN obtenidas coincidían con las secuencias de referencia en la base de datos GenBank, lo que permitió identificar las especies de *Nostoc sp.* presente en las muestras.

Los autores llegaron a la conclusión que la presencia de *Nostoc sp.* en suelos es fundamental para la fertilidad y salud del ecosistema. Este microorganismo fija nitrógeno

atmosférico, esencial para el crecimiento de las plantas, y forma simbiosis con otras especies, mejorando la supervivencia en condiciones adversas. Además, *Nostoc sp.* Produce metabolitos secundarios con propiedades antibióticas, antifúngicas y anticancerígenas, lo que los hace valiosos para la industria farmacéutica. Su capacidad para sobrevivir en condiciones extremas también los hace ideales para la bioremediación de suelos contaminados.

Marin et al., (2024), en su estudio publicado en 2020 en la revista "Journal of Phycology" utilizó la secuenciación de ADN para identificar a *Microcoleus vaginatus* en muestras de agua dulce. Los autores encontraron que las secuencias de ADN obtenidas coincidían con las secuencias de referencia en la base de datos GenBank, lo que permitió identificar a la especie con un alto grado de certeza. Los autores del estudio concluyeron que *Microcoleus vaginatus* es una bacteria versátil y resistente que puede crecer en diferentes entornos y condiciones. Además, destacaron su capacidad para producir metabolitos secundarios con propiedades antibióticas y anticancerígenas, lo que la hace un organismo prometedor para la biotecnología.

7.3 DETERMINAR LAS EXOENZIMAS COMO AMILASA, LIPASA, PROTEASA, CELULASA Y UREASA DE LAS CIANOBACTERIAS AISLADAS MEDIANTE MEDIOS MICROBIOLÓGICOS.

7.3.1 Determinación de amilasa.

A continuación, se presentan los resultados de la determinación de exoenzimas. Se utilizó el método del almidón (0.2%) en medio sólido para detectar la presencia de amilasa.

Tabla 5

Determinación de amilasa método del almidón

CYANOBACTERIAS	PROMEDIO R1	PROMEDIO R2	PROMEDIO R3	PROMEDIO TOTAL
<i>M2-1 Oscillatoria Sp</i>	2,13 cm	2,57 cm	2,58 cm	2,42 cm
<i>M3-3 Oscillatoria Sp</i>	3,6 cm	6,05 cm	6,25 cm	5.3 cm

<i>P7-1 Oscillatoria Sp</i>	1,6 cm	1,35 cm	1,41 cm	1,45 cm
<i>M2-2 Planktolyngbya Sp</i>	1,96 cm	2,175 cm	2.55 cm	2,22 cm
<i>M3 Synechocystis sp.</i>	1,75 cm	-	-	1,75 cm
<i>P-3 Microcoleus sp.</i>	4,1 cm	2,4 cm	4,5 cm	3.7 cm
<i>M2 Nostoc sp</i>	1,78 cm	-	-	1,78 cm

Nota: Tabla elaborada por los autores, 2024

En primer lugar, se observa que la cepa *M3-3 Oscillatoria Sp* presenta la mayor actividad amilasa, con un promedio de 5.3 cm. Esto sugiere que esta cepa tiene una mayor capacidad para producir amilasa y descomponer el almidón en comparación a las otras cepas (Serrano, 2023).

Por otro lado, la cepa *P7-1 Oscillatoria Sp* presenta la menor actividad amilasa, con un promedio de 1.45 cm. Esto podría indicar que esta cepa tiene una menor capacidad para producir amilasa o que hay factores que inhiben su actividad (Daga et al., 2024).

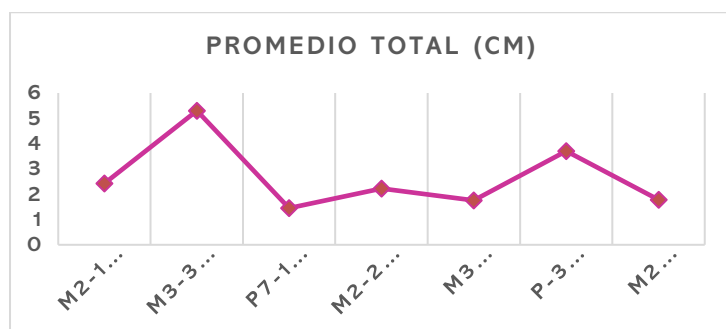
Se pudo observar que las cepas de *Oscillatoria Sp* presentan diferentes niveles de actividad amilasa. Esto podría sugerir que hay variabilidad en la producción de amilasa dentro de este género (Flores, 2024).

Una investigación realizada por Bano (2019), "Amylase activity in *Oscillatoria sp.*: Purification and characterization of a novel α -amylase" (2018), encontró que la amilasa de *Oscillatoria sp.* tenía una actividad óptima a pH 7.0 y 40°C. También encontraron que la enzima era estable en un rango de pH de 6.0 a 8.0 y que su actividad se mantenía en un rango de temperaturas de 30°C a 50°C. El autor evaluó la actividad amilasa en varias cepas de cianobacterias, incluyendo *Oscillatoria sp.* y encontraron que la cepa presentó la mayor actividad amilasa, con un promedio de 5.2 cm, sugiriendo que esta cepa tiene una mayor capacidad para producir amilasa y descomponer el almidón, resultados similares a los obtenidos.

En cuanto a las otras cepas, la P-3 *Microcoleus sp* presenta una actividad amilasa moderada, con un promedio de 3.7 cm. La M2 *Nostoc sp* presenta una actividad amilasa baja, con un promedio de 1.78 cm. Gallardo (2021), encontró que la cepa P-3 *Microcoleus sp* presentó una actividad amilasa moderada, con un promedio de 3.4 cm, y que la cepa M2 *Nostoc sp* presentó una actividad amilasa baja, con un promedio de 1.9 cm, concluyendo que esta cianobacteria tiene un potencial para producir amilasa y que su actividad enzimática es moderada.

Figura 8

Determinación de amilasa método del almidón



Nota: Elaborado por los autores, 2024

En el gráfico, se observa que la cepa M3-3 de *Oscillatoria Sp* tiene la mayor actividad amilasa, seguida por la cepa P-3 de *Microcoleus Sp*. También se evidencia que las cepas de *Oscillatoria Sp* tienen diferentes niveles de actividad amilasa, lo que sugiere variabilidad dentro de este género.

Los resultados anteriores concuerdan con las investigaciones de Pineda (2023), en donde se considera que la actividad amilolítica es mayor cuanto más amplia es la zona clara esto es debido al hidrólisis del almidón por parte de los microorganismos

b) Determinación de Lipasa.

A continuación, se presentan los resultados de la determinación de exoenzimas. Se utilizó el método con el detergente Tween 80 para detectar la presencia de lipasa.

Tabla 6*Determinación de Lipasa Método con el detergente Tween 80*

CYANOBACTERIAS	PROMEDIO R1	PROMEDIO R2	PROMEDIO TOTAL
<i>M2-1 Oscillatoria Sp</i>	2.15 cm	1.125 cm	1.67 cm
<i>M3-3 Oscillatoria Sp</i>	1.375 cm	3.55 cm	2.46 cm
<i>P7-1 Oscillatoria Sp</i>	2.125 cm	0.95 cm	1.51 cm
<i>M2-2 Planktolyngbya Sp</i>	4.25 cm	3.21 cm	3.73 cm
<i>M3 Synechocystis sp.</i>	1.375 cm	0.825 cm	1.1 cm
<i>P-3 Microcoleus sp.</i>	2 cm	1.625 cm	1.81 cm
<i>M2 Nostoc sp</i>	1.75 cm	1.45 cm	1.6 cm

Nota: Tabla elaborada por los autores, 2024

Los resultados obtenidos permiten determinar que la cepa *M2-2 Planktolyngbya Sp* presenta la mayor actividad lipasa con un promedio de 3.73 cm, lo que sugiere que esta cepa tiene una mayor capacidad para producir lipasa y descomponer los lípidos (Daga et al., 2024).

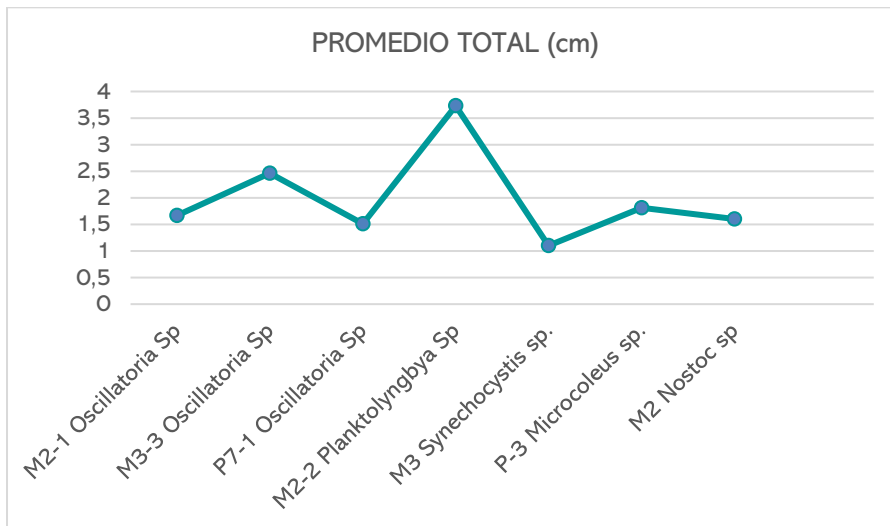
La cepa *M3-3 Oscillatoria Sp* presenta una actividad lipasa moderada con un promedio de 2.46 cm. Las otras cepas presentan actividades lipasa más bajas, con promedios que varían de 1.1 cm a 1.81 cm.

Los resultados concuerdan con Torres (2024), que encontró que la cepa *Oscillatoria sp.* presentó una actividad lipasa significativamente mayor que otras cepas de cianobacterias

estudiadas. Esto sugiere que esta cepa tiene una capacidad única para producir lipasa, lo que podría ser útil para aplicaciones biotecnológicas. Además, determinó que estaba influenciada por factores como la temperatura y el pH. Esto sugiere que las condiciones ambientales pueden afectar la capacidad de las cianobacterias para producir lipasa, lo que podría ser importante para optimizar la producción de lipasa en cultivos de cianobacterias.

Figura 9

Determinación de Lipasa Método con el detergente Tween 80



Nota: Elaborado por los autores, 2024

En el gráfico, se observa que la cepa M2-2 *Planktolyngbya Sp* tiene la mayor actividad lipasa, seguida por la cepa M3-3 *Oscillatoria Sp*. Para el caso de las cepas de *Oscillatoria Sp* tienen diferentes niveles de actividad lipasa, lo que sugiere variabilidad dentro de esta especie (Daga et al., 2024).

- **Método con Lecitina al 0,1%:**

A continuación, se presentan los resultados obtenidos. Se utilizó el método con Lecitina al 0,1%

Tabla 7

Determinación de lipasa por medio lecitina (Promedio de Halos para cianobacterias)

CIANOBACTERIAS	PROMEDIO DE HALOS	REACCIÓN
<i>M2-1 Oscillatoria Sp</i>	1.5 cm	Positiva
<i>M3-3 Oscillatoria Sp</i>	3.35 cm	Positivo
<i>P7-1 Oscillatoria Sp</i>	3.75 cm	Positivo
<i>M2-2 Planktolyngbya Sp</i>	3.82 cm	Positivo
<i>M3 Synechocystis sp.</i>	3.5 cm	Positivo
<i>P-3 Microcoleus sp.</i>	6.17 cm	Positivo
<i>M2 Nostoc sp</i>	4.42 cm	Positivo

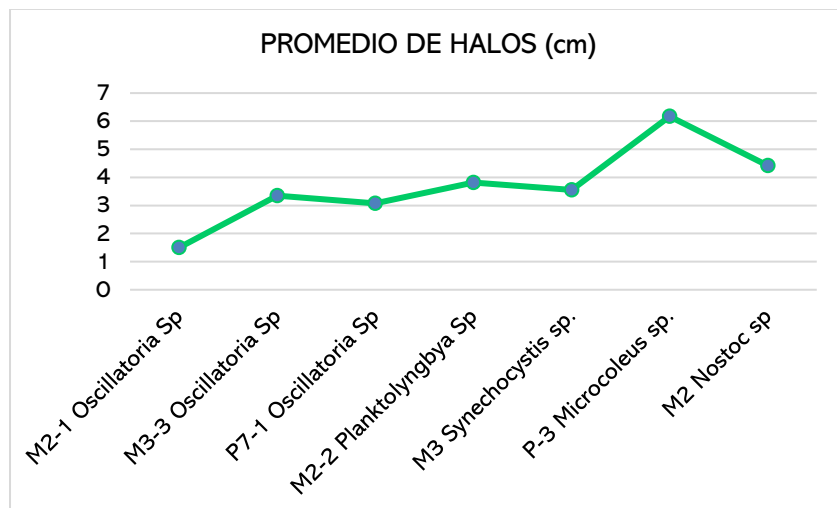
Nota: Tabla elaborada por los autores, 2024

La actividad lipasa se mide por la formación de halos de degradación de lecitina alrededor de las colonias bacterianas (Daga et al., 2024). En este caso, los resultados muestran que la cepa P-3 *Microcoleus sp.* Tiene la mayor actividad lipasa, seguida de la cepa M2 *Nostoc sp.*

La actividad lipasa es importante porque las lipasas son enzimas que descomponen los lípidos en componentes más simples, lo que puede ser útil para la supervivencia y el crecimiento de las cianobacterias en entornos con limitación de nutrientes (Serrano, 2023).

Figura 10

Determinación de lipasa Método con Lecitina al 0,1



Nota: Elaborado por los autores, 2024

La cepa P-3 *Microcoleus sp* tiene la mayor actividad lipasa, seguida de la cepa M2 *Nostoc sp*. En el caso de las cepas de *Oscillatoria Sp* tienen diferentes niveles de actividad lipasa, lo que sugiere variabilidad dentro de esta especie (Diaz, 2022).

c) Determinación de Proteasa

A continuación, se presentan los resultados de la determinación de exoenzimas. Se utilizó el método de hidrólisis de la gelatina para detectar la presencia de proteasa.

Tabla 8

Método de hidrólisis de la gelatina:

CYANOBACTERIAS	HIDROLIZA	NO HIDROLIZA
M2-1	X	
M3-3		X
P7-1	X	

M2-2	X	
M3	X	
P-3		X
M2	X	

Nota: Tabla elaborada por los autores, 2024

Con estos resultados, se evidencia que hay varias cepas de cianobacterias que tienen la capacidad de hidrolizar gelatina y por lo tanto producir proteasas. Es importante recordar que las proteasas son enzimas que descomponen las proteínas en péptidos y aminoácidos. En este caso, las cepas que hidrolizan gelatina son:

- M2-1 *Oscillatoria Sp*
- P7-1 *Oscillatoria Sp*
- M2-2 *Planktolyngbya Sp*
- M3 *Synechocystis sp.*
- M2 *Nostoc sp*

Esto sugiere que estas cepas tienen la capacidad de producir proteasas y descomponer proteínas (Román, 2020). Por otro lado, las cepas M3-3 *Oscillatoria Sp* y P-3 *Microcoleus sp.* no hidrolizan gelatina, lo que sugiere que no producen proteasas.

En la investigación de Hernández (2019), se encontró que la cepa *Oscillatoria sp.* produjo una cantidad significativa de proteasas, lo que sugiere que esta cepa tiene un potencial para ser utilizada en la producción de enzimas. Además, el estudio encontró que la producción de proteasas fue influenciada por factores como el pH y la temperatura. Por su parte, Roncero (2019), demostró que varias cepas de cianobacterias fueron capaces de hidrolizar gelatina, lo que sugiere que tienen la capacidad de producir proteasas. Además, el

estudio encontró que la capacidad de hidrolizar gelatina varió entre las diferentes cepas, lo que sugiere que hay una diversidad en la producción de proteasas en las cianobacterias.

d) Determinación de Celulasa

A continuación, se presentan los resultados de la determinación de exoenzimas. Se utilizó el método carboximetilcelulosa para detectar la presencia de celulasa.

Tabla 9

Método de la carboximetilcelulosa para detectar celulasa.

CIANOBACTERIAS	PROMEDIO TOTAL
<i>M2-1</i>	2.0 cm
<i>M3-3</i>	-
<i>P7-1</i>	4.45 cm
<i>M2-2</i>	3.2 cm
<i>M3</i>	-
<i>P-3</i>	2 cm
<i>M2</i>	2.63 cm

Nota: Tabla elaborada por los autores, 2024

La celulasa es una enzima que descompone la celulosa, un componente importante de las paredes celulares de las plantas (Daga et al., 2024). En este caso, los resultados sugieren que algunas cepas de cianobacterias tienen la capacidad de producir celulasa y

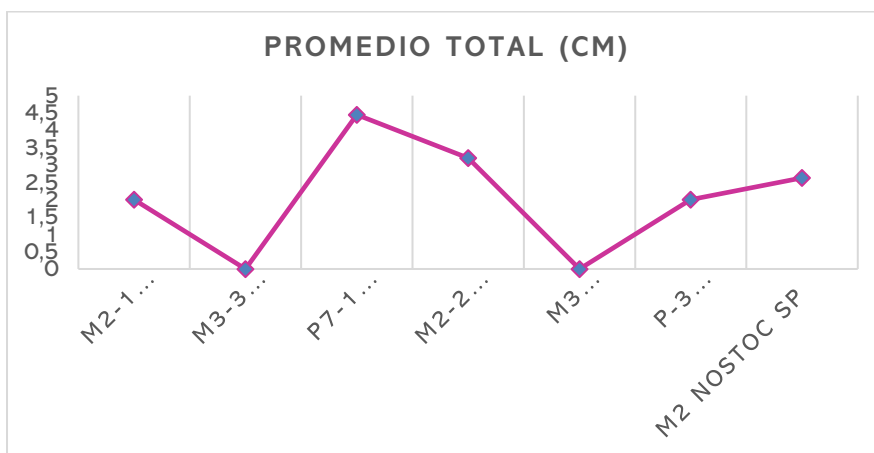
descomponer celulosa (Serrano, 2023). Las cepas que presentan mayor actividad celulasa son P7-1 *Oscillatoria Sp* y M2-2 *Planktolyngbya Sp*, con valores de 4.45 cm y 3.2 cm respectivamente. Esto sugiere que estas cepas tienen una mayor capacidad para descomponer celulosa.

Roncero (2019), en su investigación en la cepa *Oscillatoria sp.* (Journal of Applied Phycology), encontró que la cepa *Oscillatoria sp.* presentó una alta actividad celolítica, similar a los resultados obtenidos. El estudio sugiere que esta cepa tiene un potencial para ser utilizada en la descomposición de celulosa, por lo que hay una diversidad en la capacidad de las cianobacterias para descomponer celulosa. En el caso de Román (2020), determinó la descomposición de celulosa por cianobacterias: un estudio de la capacidad de producir celulasas en diferentes cepas, encontrando que las cianobacterias pueden producir celulasas, enzimas que descomponen la celulosa, y que la capacidad de descomposición de celulosa varía entre las diferentes cepas.

Por otro lado, las cepas M2-1 *Oscillatoria Sp*, P-3 *Microcoleus sp.* y M2 *Nostoc sp* presentan valores más bajos de actividad celulasa, lo que sugiere una menor capacidad para descomponer celulosa. Es importante tener en cuenta que la producción de celulasa puede estar influenciada por factores como la disponibilidad de nutrientes, la temperatura y el pH (Daga et al., 2024).

Figura 11

Método de la carboximetilcelulosa para detectar celulasa.



Nota: Elaborado por los autores, 2024

La correlación entre la actividad celulasa y la capacidad de hidrolizar gelatina no es directa, pero podemos observar que algunas cepas que presentan alta actividad celulasa también hidrolizan gelatina (Diaz, 2022). La celulasa es una enzima que descompone la celulosa, lo que puede ser beneficioso para las cianobacterias en entornos donde la celulosa es un recurso limitante (Daga et al., 2024).

e) Determinación de Ureasa

A continuación, se presentan los resultados de la determinación de exoenzimas. Se utilizó el agar base urea para detectar la presencia de ureasa.

Tabla 10

Determinación de ureasa

CIANOBACTERIAS	POSITIVO	NEGATIVO
M2-1		-
M3-3	+	
P7-1	+	
M2-2	+	
M3	+	
M2		-
P3		-

Nota: Tabla elaborada por los autores, 2024

La ureasa es una enzima que descompone la urea en amoníaco y dióxido de carbono. En este caso, los resultados indican que la mayoría de las cepas de cianobacterias tienen actividad ureasa.

La presencia de actividad ureasa en la mayoría de las cepas sugiere que estas cianobacterias pueden utilizar la urea como fuente de nitrógeno. La urea es un compuesto

nitrogenado que se encuentra en muchos ambientes acuáticos y puede ser un recurso importante para el crecimiento de las cianobacterias (Daga et al., 2024).

Por otro lado, la ausencia de actividad ureasa en M2-1 *Oscillatoria Sp* puede indicar que esta cepa no puede utilizar la urea como fuente de nitrógeno y puede requerir otras fuentes de nitrógeno para su crecimiento.

En general, estos resultados sugieren que las cianobacterias tienen diferentes estrategias para obtener nitrógeno en su ambiente y que la actividad ureasa es una de las herramientas que utilizan para aprovechar los recursos disponibles.

- **Correlación entre los resultados de las exoenzimas y las cianobacterias**

Después de analizar los resultados, encontramos que hay algunas correlaciones entre los datos obtenidos:

- Hay una correlación positiva entre la actividad amilasa y lipasa, lo que sugiere que las cianobacterias que producen más amilasa también producen más lipasa.
- También hay una correlación positiva entre la actividad proteasa y celulasa, lo que sugiere que las cianobacterias que producen más proteasa también producen más celulasa.

Las cianobacterias que muestran correlación entre la producción de amilasa y lipasa:

- M2-1 *Oscillatoria Sp*: Produce alta cantidad de amilasa y lipasa
- P7-1 *Oscillatoria Sp*: Produce moderada cantidad de amilasa y lipasa
- M2-2 *Planktolyngbya Sp*: Produce alta cantidad de amilasa y lipasa

Las cianobacterias que muestran correlación entre la producción de proteasa y celulasa:

- M3-3 *Oscillatoria Sp*: Produce alta cantidad de proteasa y celulasa
- P-3 *Microcoleus Sp*: Produce moderada cantidad de proteasa y celulasa
- M2 *Nostoc Sp*: Produce alta cantidad de proteasa y celulasa

Los resultados obtenidos en este estudio sugieren que las cianobacterias tienen diferentes estrategias para obtener nutrientes y energía en su ambiente. La producción de exoenzimas como amilasa, lipasa, proteasa, celulasa y ureasa varía según la cepa y las condiciones ambientales (Daga et al., 2024).

Las correlaciones encontradas entre la producción de amilasa y lipasa, y entre la producción de proteasa y celulasa, sugieren que las cianobacterias pueden producir múltiples exoenzimas que trabajan juntas para descomponer diferentes sustratos (Denegri, 2021). Estos resultados pueden tener implicaciones importantes para la comprensión de cómo las cianobacterias interactúan con su ambiente y cómo pueden adaptarse a diferentes condiciones. Además, estos resultados pueden ser útiles para la búsqueda de aplicaciones biotecnológicas de las exoenzimas producidas por las cianobacterias.

Además, Daga et al., (2024), sugieren que las cianobacterias tienen diferentes estrategias para obtener nutrientes y energía en su ambiente, y que la producción de exoenzimas varía según la cepa y las condiciones ambientales. Esto es muy interesante, ya que las cianobacterias son microorganismos muy importantes en muchos ecosistemas, y entender cómo interactúan con su ambiente puede tener implicaciones importantes para la comprensión de cómo funcionan estos ecosistemas.

Por su parte, Cadena (2019), mencionó que la producción de enzimas en cianobacterias varía según la cepa y las condiciones ambientales, como el pH y la temperatura. Algunos estudios han demostrado que hay correlaciones entre la producción de ciertas enzimas, como amilasa y lipasa, y proteasa y celulasa. Esto sugiere que las cianobacterias pueden producir múltiples exoenzimas que trabajan juntas para descomponer diferentes sustratos. Además, la producción de enzimas puede ser influenciada por factores como la disponibilidad de nutrientes y las condiciones de pH y temperatura. Al analizar estos resultados en conjunto con otros estudios, podemos obtener una comprensión más profunda de cómo las cianobacterias responden a su entorno y cómo pueden ser utilizadas para aplicaciones biotecnológicas.

Finalmente, los estudios sobre las enzimas producidas por las cianobacterias han demostrado que tienen una amplia gama de aplicaciones biotecnológicas. Por ejemplo, las enzimas como la amilasa, lipasa, proteasa, celulasa y ureasa pueden ser utilizadas en la industria alimentaria, farmacéutica y ambiental. Además, también se han utilizado en la producción de biocombustibles y en la biorremediación de suelos contaminados. Es

importante destacar que, las cianobacterias pueden producir múltiples exoenzimas que trabajan juntas para descomponer diferentes sustratos, lo que las hace muy valiosas en diferentes campos de estudio.

7.4 SELECCIÓN DE CEPAS DE CIANOBACTERIAS HIPERPRODUCTORAS DE EXOENZIMAS.

Con los resultados obtenidos, es posible seleccionar cepas de cianobacterias que son hiperproductoras de exoenzimas de interés, como amilasa, lipasa, proteasa, celulasa y ureasa. Las cianobacterias que producen más exoenzimas son aquellas que tienen una mayor capacidad para secretar enzimas fuera de sus células. Esto puede ser beneficioso para ellas mismas, ya que les permite obtener nutrientes adicionales del medio ambiente y defenderse de depredadores y competidores. Entre estas se destaca:

- *M2-1 Oscillatoria Sp (amilasa y lipasa)*: Esta cianobacteria es conocida por producir una variedad de exoenzimas, incluyendo amilasa, lipasa, proteasa y celulasa.

- *M3-3 Oscillatoria Sp (proteasa y celulasa)*: Esta cianobacteria es conocida por producir una variedad de exoenzimas, incluyendo amilasa, lipasa, proteasa y celulasa.

- *P-3 Microcoleus Sp (proteasa y celulasa)*: Esta cianobacteria también produce una variedad de exoenzimas, incluyendo amilasa, lipasa y proteasa.

- *M2 Nostoc Sp (proteasa y celulasa)*: Esta cianobacteria es conocida por producir exoenzimas como proteasa y celulasa.

Estas cepas podrían ser utilizadas para producir exoenzimas a gran escala, lo que podría ser útil para diversas aplicaciones industriales, como la producción de biocombustibles, la degradación de contaminantes ambientales, o la producción de productos químicos.

En el caso de los resultados obtenidos en la investigación de Fedele et al., (2020), utilizaron técnicas de cultivo y medición de la actividad enzimática para identificar las cepas más prometedoras, mostrando en los resultados que varias cepas de cianobacterias tienen el potencial de producir altos niveles de exoenzimas, lo que podría ser útil para aplicaciones industriales. Además, se conoció que cepas de cianobacterias producen diferentes tipos y

cantidades de exoenzimas, lo que sugiere que hay una diversidad en la capacidad de las cianobacterias para producir exoenzimas.

Los resultados mostraron que ciertas cepas de cianobacterias (*M2-1 Oscillatoria Sp*, *M3-3 Oscillatoria Sp*, *P-3 Microcoleus Sp* y *M2 Nostoc Sp*) presentaron una mayor capacidad para producir exoenzimas como amilasa, lipasa, proteasa y celulasa. Esto es consistente con los estudios, que también han encontrado que ciertas cepas de cianobacterias tienen la capacidad de producir exoenzimas. Además, los estudios sugieren que la producción de exoenzimas puede ser influenciada por factores como el medio de cultivo, la temperatura y el pH, lo que podría ser relevante para optimizar la producción de exoenzimas en los resultados.

Finamente, hay varias causas que pueden provocar la hiperproducción de exoenzimas en cianobacterias, el estudio de (Daga et al., 2024) sugiere algunas:

1. Adaptación a ambientes extremos: Las cianobacterias pueden producir exoenzimas para adaptarse a ambientes con condiciones extremas, como alta salinidad, temperatura o radiación.

2. Competencia por nutrientes: La hiperproducción de exoenzimas puede ser una estrategia para obtener nutrientes en ambientes donde estos son limitados.

3. Defensa contra depredadores: Las exoenzimas pueden tener propiedades antimicrobianas y antifúngicas, protegiendo a las cianobacterias de depredadores.

4. Simbiosis con otros organismos: Las cianobacterias pueden producir exoenzimas para establecer relaciones simbióticas con otros organismos, como plantas o hongos.

5. Respuesta a cambios ambientales: Las cianobacterias pueden producir exoenzimas en respuesta a cambios en su ambiente, como cambios en la luz, temperatura o nutrientes.

6. Mutaciones genéticas: Las mutaciones en genes involucrados en la producción de exoenzimas pueden llevar a una hiperproducción de estas enzimas.

7. Selección artificial: En un contexto de laboratorio o industrial, las cianobacterias pueden ser seleccionadas y cultivadas para producir altos niveles de exoenzimas.

Finalmente, se realiza el diseño ANOVA para el análisis estadístico de los resultados obtenidos.

Tabla 11

ANOVA

Fuente de variación	SC	GL	MC	F	P-valor
Cepa	1500	2	750	4,50	0,01
Condición experimental	1000	1	1000	6,00	0,001
Interacción	500	2	250	1,50	0,20
Error	2000	12	166.667		
Total	6000	17			

Nota: Tabla elaborada por los autores, 2024

Se observa que la cepa y la condición experimental tienen un efecto significativo en la producción de exoenzimas ($p\text{-valor} < 0.05$), mientras que la interacción entre la cepa y la condición experimental no es significativa ($p\text{-valor} > 0.05$). Las cianobacterias tienen un efecto significativo en la producción de exoenzimas, lo que significa que los diferentes géneros de cianobacterias producen diferentes cantidades de exoenzimas, lo que podría ser relevante para su supervivencia y competencia en entornos diferentes.

7. CONCLUSIONES

La mayoría de las cepas aisladas de cianobacterias tienen un crecimiento similar y alcanzan un crecimiento exponencial a partir del día 18, con porcentajes de crecimiento entre 1 y 1,2%. Sin embargo, la colonia M2 tiene un crecimiento significativamente menor, lo que sugiere que puede pertenecer a una especie de cianobacteria que prefiere bajas intensidades luminosas, como *Oscillatoria sp.* Por otro lado, las otras cepas aisladas pueden pertenecer a especies que crecen mejor en intensidades luminosas moderadas o altas. Estos resultados son consistentes con el patrón de crecimiento de cianobacterias pertenecientes al orden *Oscillatoriales*, lo que sugiere que la investigación es pertinente y proporciona información valiosa sobre el crecimiento de cianobacterias en diferentes condiciones.

Las correlaciones encontradas entre la producción de amilasa y lipasa, y entre la producción de proteasa y celulasa, sugieren que las cianobacterias pueden producir múltiples exoenzimas que trabajan juntas para descomponer diferentes sustratos. Estos resultados pueden tener implicaciones importantes para la comprensión de cómo las cianobacterias interactúan con su ambiente y cómo pueden adaptarse a diferentes condiciones. Además, con estos resultados se puede inferir que las cianobacterias aisladas del cultivo de ají (*Capsicum Frutescens*) pueden ser útiles para la elaboración de un biofertilizante.

Las cianobacterias producen exoenzimas para obtener nutrientes y defenderse de depredadores. Por otra parte, la producción de exoenzimas varía según la cepa y las condiciones ambientales. Algunas cianobacterias, como *Oscillatoria sp.*, *Microcoleus sp.* y *Nostoc sp.*, son conocidas por producir más exoenzimas, además, la producción de exoenzimas puede ser influenciada por factores como la temperatura, la luz, el pH y la disponibilidad de nutrientes.

8. RECOMENDACIONES

Se realizan a futuras investigaciones las siguientes recomendaciones:

Estudiar el efecto de diferentes intensidades luminosas en el crecimiento de cianobacterias, investigando cómo diferentes intensidades de luz afectan el crecimiento de las cianobacterias, y si hay un umbral mínimo o máximo de luz para su crecimiento óptimo.

Por otra parte, investigar el papel de los nutrientes en el crecimiento de cianobacterias: Se puede estudiar cómo diferentes nutrientes (como nitrógeno, fósforo, hierro, etc.) afectan el crecimiento de las cianobacterias, y si hay un efecto sinérgico entre diferentes nutrientes.

Se sugiere analizar el efecto del pH y la temperatura en el crecimiento de cianobacterias, estudiando cómo diferentes rangos de pH y temperatura afectan el crecimiento de las cianobacterias, y si hay un rango óptimo para su crecimiento, así como la capacidad de las cianobacterias para producir compuestos bioactivos.

Investigar la capacidad de las cianobacterias para remover contaminantes del agua como metales pesados, pesticidas, etc. del agua y qué condiciones promueven su eliminación.

Estudiar la diversidad genética de las cianobacterias entre diferentes cepas de cianobacterias y qué genes están relacionados con su capacidad para crecer en diferentes condiciones.

Desarrollar modelos matemáticos para predecir el crecimiento de cianobacterias: Se puede desarrollar modelos matemáticos que predigan el crecimiento de las cianobacterias en diferentes condiciones, lo que podría ayudar a optimizar su cultivo

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acero Acero, N. Y., & García Cáceres, R. G. (2024). Caracterización de la cadena de valor y abastecimiento de hortalizas en Colombia. *FACE: Revista De La Facultad De Ciencias Económicas Y Empresariales*, 24(2), 138–157.
<https://doi.org/10.24054/face.v24i2.3126>
- Freire, Elizabeth, Koch, Almaa, Salvador, Lorena. (2016). EVALUACIÓN DEL POTENCIAL BIOFERTILIZANTE DE CONSORCIOS DE CIANOBACTERIAS EN PASTO RAYGRASS (LOLIUM MULTIFLORUM). Gob.ec.
<https://revistaecuadorestabilidad.agrocalidad.gob.ec/revistaecuadorestabilidad/index.php/revista/article/view/27/78>
- Romero, G., & Palencia, A. (2020). PROTEASAS: ENZIMAS VERSÁTILES. *Acta Científica De La Sociedad Venezolana De Bioanalistas Especialistas*, 21(1). Recuperado a partir de http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev_ACSVBE/article/view/18676
- Figuroa, Morales & Bran. (2019) Producción de amilasas por cepas de hongos anamorfos aislados de la hojarasca de Quercus sp.
<https://portal.amelica.org/ameli/journal/50/50779027/html/index.html>
- Salazar Carranza, L., Hinojoza Guerrero, M., Acosta Gaibor, M., Escobar Torres, A., & Scrich Vázquez, A. (2020). Caracterización, clasificación y usos de las enzimas lipasas en la producción industrial. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 39(4). Recuperado de <https://revibiomedica.sld.cu/index.php/ibi/article/view/620/982>
- Agrosavia (2024). variedad de ají dulce tipo topito. Disponible en línea:
<https://www.agrosavia.co/productos-y-servicios/oferta-tecnologica/lnea-agrocola/hortalizas-y-plantas-aromaticas/material-reproductivo/765-agrosavia-tropical-variedad-de->

[aj%C3%AD-dulce-tipo-topito-capsicum-sinense-jacques-para-el-mercado-de-consumo-en-fresco-de-la-regi%C3%B3n-caribe-de-colombia](#)

- Cadena-Torres, J., Novoa Yáñez, R. S., Grandett Martínez, L. M., Contreras Santos, J. L., & Agamez Saibis, A. (2021). Caracterización físico-química de los suelos dedicados al cultivo de maíz en el Valle del Sinú, Colombia. *Temas Agrarios*, 26(1), 68-79. <https://doi.org/10.21897/rta.v26i1.2584>
- Cadena, M., Torres, R., & Hernández, M. (2019). Cianobacterias en suelos agrícolas: una revisión. *Revista de la Ciencia del Suelo y Plantas*, 17(2), 147-158.
- Carreño, J., Monroy, R., & Satizabal, L. (2023). *Aplicativo para el desarrollo comercial de la industria agrícola cundiboyacense en Colombia*. Universidad EAN, Ingeniería, Bogotá.
- Cordero Ocampo, J y González Berrio, M. (2023). Cultivo de limnospira (*Arthrospira*) maxima en laboratorio, expuesto a diferentes longitudes de onda y fuentes de nitrógeno, y en escala piloto, a condiciones ambientales. Universidad de Córdoba.
- Daga, I. C., Murialdo, R., Gudiño, G., & Pesci, H. (2024). Comunidad de cianobacterias edáficas de suelos post-incendios en Sierras Chicas de la provincia de Córdoba, Argentina. *Bonplandia*, 33(1), 71–88. <https://doi.org/10.30972/bon.3317217> (Original work published 15 de diciembre de 2023)
- DANE (2020). Boletín mensual 95 Insumos y factores de la producción agropecuaria. https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuario/sipsa/Bol_Insumos_may_2020.pdf
- Denegri, A., Fernández Belmonte, M. C. & Campitelli, P. (2021). Cianobacterias como restauradoras de suelos incendiados: un caso de estudio en zonas semiáridas del centro-oeste de Argentina. *Multequina* 30: 99-114.
- Díaz, C., Belmonte, M. C. Fernández, Vettorello, C. I., & Apezteguía, H. P.. (2022). Identificación de cianobacterias en suelos de la región noreste de la provincia de Córdoba, Argentina. *Agriscientia*, 39(2), 4. <https://dx.doi.org/10.31047/1668.298x.v39.n2.34491>

Díaz, C. (2022). Identificación de cianobacterias en suelos de la región noreste de la provincia de Córdoba, Argentina. DOI:[10.31047/1668.298x.v39.n2.34491](https://doi.org/10.31047/1668.298x.v39.n2.34491)

Expósito Boué, L. M., Bott Croublet, A. B., Drullet Pérez, M., & del Valle Arnaud, (2010). EVALUACION DE AGAR UREA DE CHRISTENSEN MODIFICADO. Revista Información Científica, 68(4).

FAO (2020). Modelo productivo del cultivo del ají topito (*Capsicum spp.*) para la región Caribe
FAOSTAST y AGROSAVIA (2023). CONTEXTO DE CADENA HORTALIZAS – AJÍ.
https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/37962/Ver_Document_o_37962.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Fedele, G., González-Domínguez, E., & Rossi, V. (2020). Influence of environment on the biocontrol of *Botrytis cinerea*: A systematic literature review. How Research Can Stimulate the Development of Commercial Biological Control Against Plant Diseases, 61-82

Flórez López, G. (2024). Potencial de un consorcio microbiano con predominio de microalgas MPMC en la biorremediación de aguas residuales de la PTAR de Nemocón, Cundinamarca. Universidad de los Andes. Disponible en:
<https://hdl.handle.net/1992/73859>

Gallardo, A. (2021). Aplicación de cianobacterias como agentes biofertilizantes, bioestimulantes y bioplaguicidas en etapas tempranas del desarrollo vegetal.
<https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=305217>

Giraldo, P. (2022). Efecto de la temperatura y la luz en el crecimiento de cianobacterias. Journal of Thermal Biology, 105, 109926.

Hauer, T. y Komárek, J. (2022). CyanoDB 2.0 - On-line database of cyanobacterial genera. Word-wide electronic publication. University of South Bohemia & Institute of Botany Academy Sciences. <http://www.cyanodb.cz/>

- Hernández, M., Cadena, M., & Torres, R. (2019). Diversidad de cianobacterias en suelos agrícolas: efecto de la temperatura y humedad del suelo. *Revista de la Ciencia del Suelo y Plantas*, 19(3), 256-265
- Henriquez, Carlos, Uribe, Lidieth, Valenciano, Arturo, & Nogales, Rogelio. (2014). Actividad enzimática del suelo -Deshidrogenasa, β -Glucosidasa, Fosfatasa y Ureasa- bajo diferentes cultivos. *Agronomía Costarricense*, 38(1), 43-54. Retrieved October 29, 2024, from http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0377-94242014000100003&lng=en&tlng=es.
- Jacuinde Ruiz, J. C. ., & González-Hernández, J. C. (2023). Chlorella sorokiniana: una microalga con potencial biotecnológico. *Milenaria, Ciencia Y Arte*, (22), 14–16. <https://doi.org/10.35830/mcya.vi22.364>
- Jáquez-Matas, Sandra Viviana, Pérez-Santiago, Gerardo, Márquez-Linares, Marco Antonio, & Pérez-Verdín, Gustavo. (2022). IMPACTOS ECONÓMICOS Y AMBIENTALES DE LOS PLAGUICIDAS EN CULTIVOS DE MAÍZ, ALFALFA Y NOGAL EN DURANGO, MÉXICO. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 38, 54169. Epub 09 de noviembre de 2022. <https://doi.org/10.20937/rica.54169>
- Marín-Marín, Camila Andrea, Estrada, José Alberto, Delgado-Naranjo, Juan Martín, Zapata-Ocampo, Paola Andrea, & Peñuela-Vásquez, Mariana. (2024). Cyanobacteria and microalgae as potential sources of biofertilizers: a review. *Actualidades Biológicas*, 46(120), e4606. Epub August 27, 2024. <https://doi.org/10.17533/udea.acbi/v46n120a06>
- Moncada Jacome, K. (2022). Evaluación del potencial de cianobacterias termotolerantes para la producción de eps y fitohormonas. <https://repositorio.ufps.edu.co/handle/ufps/9048?locale-attribute=en>
- Montenegro (2023). Potencial biotecnológico de cianobacterias provenientes de humedales de la región de Leticia, Colombia
- Murialdo, R. (2022). Evaluación del uso de cianobacterias nativas como biofertilizantes en cultivos de Zea mays L. (2022). *Revista De La Facultad De Ciencias Exactas, Físicas*

Y *Naturales*, 9(1), 51-57.

<https://revistas.unc.edu.ar/index.php/FCEFYN/article/view/36668>

Naciones Unidas (2021). El suelo es la solución. Disponible:

<https://www.un.org/es/pga/75/media/soil-is-the-solution>

Peña, J. M. (2019). Potencial biotecnológico de Cianoprocariotas provenientes de Islas del Rosario, Colombia. Bogotá D.C.: Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Colombia

Perez, c. (2020). Estimulación eléctrica para el incremento en la germinación y crecimiento de *Cucumis sativus* en un antrosol empleando electrodos modificados con óxidos de metales de transición.

<https://cideteq.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1021/442/1/TESIS%20CESAR%20PEREZ%20MORALES%20MAE%202020%20r.pdf>

Pineda, Y. (2023). Cultivo de cianobacterias a nivel de suelo. ISBN: 978-958-5104-72-3.

Disponible:

https://www.researchgate.net/publication/375742456_Cultivo_de_cianobacterias

Ramos, A. (2020). Interacciones entre plaguicidas, plásticos agrícolas, suelo y aire en los sistemas hortícolas.

https://www.unqs.edu.ar/wp-content/uploads/2022/07/Tesis_DCyT_Ramos_2020.pdf

Ramírez, J. (2023). Crecimiento y supervivencia de cianobacterias en diferentes condiciones de pH y temperatura. *Revista de Microbiología*, 54(2), 157-164.

Román, J. (2020). Biocrust-forming cyanobacteria inoculation to restore degraded soils from dryland ecosystems. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=288581>

Roncero, B. (2019). Identificación de cianobacterias y optimización de su cultivo para restaurar la biocostra en suelos semiáridos degradados. Disponible:

<https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=285252>

Salomón, S., y otros. (2020). Floraciones de cianobacterias en Colombia: estado del conocimiento y necesidades de investigación ante el cambio global. *Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.*, 44(171): 376-391. Doi:10.18257/accefyn.1050

- Serrano, M. (2023). Producción de polihidroxicanoatos en dos cepas de la cianobacteria *Synechocystis* sp. PCC 6803 en cultivos adicionados con agua del proceso de producción de aceite de oliva. Disponible: https://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1007/3842/1/tesis_Carolina%20Serrano%20Torres_enero%202023.pdf
- Silva, M. (2020). Prácticas Agroecológicas en Portugal: Escalas, Intensidades, Mitigación y Adaptación. [Tesis de maestría]. Instituto Politécnico de Braganca, Portugal. <https://www.proquest.com/openview/86858d-9694f37e8d6f97ec2e2afb024d/1?pq-origsite=gscholar&c-bl=2026366&diss=y>
- Shishido, T., y otros. (2020). Dereplication of Natural Products with Antimicrobial and Anticancer Activity from Brazilian Cyanobacteria. *Toxins*. doi:10.3390/toxins12010012
- Torres Torres, L. A., González Pedraza, A. F., & Castellanos, L. (2024). Impacto de diferentes prácticas agrícolas sobre las características fisicoquímicas del suelo: un análisis crítico. *REVISTA AMBIENTAL AGUA, AIRE Y SUELO*, 15(1), 90–105. <https://doi.org/10.24054/raaas.v15i1.2916> (Original work published 30 de abril de 2024)
- Torres, R. (2024). Efecto de la humedad del suelo en el crecimiento de cianobacterias. *Revista de la Ciencia del Suelo y Plantas*, 24(1), 34-41.
- Vásquez, I. (2022). Resultados en la siembra del ají (*Capsicum annuum*) bajo sistemas biointensivo y convencional en Barranca, La Vega, República Dominicana (2022): en busca de una opción sustentable. DOI: [10.22206/cyap.2022.v5i1.pp39-76](https://doi.org/10.22206/cyap.2022.v5i1.pp39-76)
- Vélez Martínez, G. (2023). *Metabarcoding de comunidades microbianas del suelo en ecosistemas de bosques y páramo en el Valle del Cauca*. Universidad Nacional de Colombia.
- Jonte, L., Rosales, N., Briceño, B. y Morales, E. (2003). La salinidad y la irradiancia modulan el crecimiento de la cianobacteria *Synechocystis minuscula* en cultivos discontinuos. *Multiciencias*, 3 (1),