

ISSN: 2773-7772

Volumen 15 | Número 2 | Diciembre 2021

Revista Científica

Ciencias Naturales y Ambientales



UNIVERSIDAD
DE GUAYAQUIL



Facultad
de Ciencias Naturales

ÁREA CIENCIAS DE LA VIDA

Facultad de Ciencias Naturales
Universidad de Guayaquil

Editora

Dra. Carmita Bonifaz de Elao, MSc. (Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Guayaquil,
Av. Raúl Gómez Lince s/n y Av. Juan Tanca Marengo, carmenbonifaz@hotmail.com)

Consejo Editorial

Xavier Cornejo Sotomayor, MSc. (Universidad de Guayaquil, Ecuador)

Galo Salcedo Maridueña, Ph.D. (Universidad de Guayaquil, Ecuador)

Beatriz Pernía Santos, Ph.D. (Universidad de Guayaquil, Ecuador)

Ariel Escobar Troya, MSc. (Universidad de Guayaquil, Ecuador)

Comité Científico

Claes Persson, Ph.D. (Departamento de Biología y el Medio Ambiente, University of Gothenburg, Suecia)

Bertil Ståhl, Ph.D. (Departamento de Biología, Gotland University, Suecia)

Adolfo Borges, Ph.D. (Universidad Central de Venezuela, Venezuela)

Elba Mora de Baños, MSc. (Profesor Honorario Universidad de Guayaquil, Ecuador)

Jaime Buestán Aucancela, Dr. (Profesor Honorario Universidad de Guayaquil, Ecuador)

Manuel Cruz Padilla, MSc. (Instituto Oceanográfico de la Armada, Ecuador)

PhD. María Eugenia Rondon Rivas, Universidad de los Andes (Venezuela)

Coordinación Editorial

Jessy Santana Pincay

Impresión y acabados

Imprenta de la Universidad de Guayaquil

Edición patrocinada y financiada por la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad de Guayaquil. Esta publicación se envía a personas o instituciones por intercambio con otros similares, dedicada a las Ciencias Naturales.

This publication is sent to people or institutions for exchange with other similar issues dedicated to Natural Sciences.

Revista Científica de Ciencias Naturales y Ambientales es de periodicidad semestral y se distribuye por canje con otras publicaciones dedicadas a temas afines. Toda correspondencia que tenga relación con la Revista deberá ser dirigida a la editora, Carmita Bonifaz Balseca, a la dirección que se indica más adelante.

Incluida en el Directorio de LATINDEX

con el número de Folio 16446,

ISSN electrónico: 2773-7772

Vol. 15(2), Se terminó de editar en diciembre de 2021

Canje, suscripciones y avisos, dirigirse a:

Exchange, subscriptions and publicity, go to:

Revista Científica de Ciencias Naturales y Ambientales

Código Postal 090110634

Avenida Raúl Gómez Lince s/n y Avenida Juan Tanca Marengo

<https://www.revistas.ug.edu.ec/>

<https://www.revistas.ug.edu.ec/index.php/cna>

revistacienciasnaturales@ug.edu.ec

Telf.: (04) 3080777 - 3080758 ext. 200

Guayaquil, Ecuador



Aislamiento y caracterización molecular de cepas fitoplanctónicas obtenidas en Engabao, Guayas-Ecuador.

Isolation and molecular characterization of phytoplankton strains
obtained in Engabao, Guayas-Ecuador.

Daniela Melissa Cabrera Gavilanes^{1*}, Efrén Santos Ordóñez²⁻³
& Geovanna Parra-Ríofrío¹⁻⁴

¹Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Guayaquil, 090601 Guayaquil, Ecuador

²Facultad de Ciencias de la Vida, Campus Gustavo Galindo, ESPOL Polytechnic University,
Escuela Superior Politécnica del Litoral, ESPOL, Guayaquil, Ecuador.

³Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador, Campus Gustavo Galindo, ESPOL
Polytechnic University, Escuela Superior Politécnica del Litoral, ESPOL, Guayaquil, Ecuador

⁴Laboratorio de Acuicultura, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Guayaquil,
090601 Guayaquil, Ecuador.

Recibido 3 agosto 2021; revisado 26 agosto 2021; aceptado 20 de diciembre 2021
Disponible en línea 30 de diciembre 2021.

Resumen

El interés industrial en microorganismos fitoplanctónicos como microalgas y cianobacterias se debe al elevado potencial biotecnológico que poseen en sintetizar compuestos bioactivos, a la facilidad de adaptarse a diferentes fuentes de nutrientes, condiciones extremas de supervivencia y a la capacidad bioabsorbente de metales pesados, principalmente en aguas residuales. El objetivo del presente estudio consistió en aislar y caracterizar fenotípica y genotípicamente microorganismos fitoplanctónicos de piscinas de estabilización de Engabao, Guayas-Ecuador, mediante el uso de diferentes medios de cultivos y de los marcadores moleculares ITS, ITS2, LSU y 16S RNAr. Los resultados del cultivo celular durante siete días mostraron que la microalga Chls1 con medio BG11 pH 7.8 alcanzó 25.4×10^6 cel mL⁻¹, la cianobacteria Syn1 fue de 340.6×10^6 cel mL⁻¹, mientras que para Nod1 se empleó análisis de clorofila *a* alcanzando al séptimo día $6.33 \mu\text{g mL}^{-1}$. Los estudios moleculares se realizaron empleando un protocolo modificado de extracción y purificación de ADNg obteniendo una óptima concentración y calidad del ADN para las tres cepas: Chls1 $146 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$, Syn1 $326 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ y Nod1 $158.8 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$. El uso de análisis polifásicos en base a caracteres morfológicos y ADNg de las cepas, se amplificó por PCR y se secuenció; las cepas identificadas fenotípica y genotípicamente mediante los *primers* ITS2, ITS y LSU corresponde a la microalga *Chlorella sorokiniana* con 99,48%, 99,07% y 99,77% de similitud de identidad, mientras que los aislados cianobacterianos *Synechococcus* sp. y *Nodosilinea* sp. con el análisis de la región 16S RNAr presenta porcentajes de identidad de 97,47% y 99,83%; a pesar de no emplear cebadores específicos para estos microorganismos, el uso de varias regiones, aumenta la confiabilidad en la identificación taxonómica y filogenética; estas especies poseen alto potencial biotecnológico y de gran impacto económico.

Palabras claves: Cepas fitoplanctónicas, *Chlorella sorokiniana*, *Synechococcus* sp., *Nodosilinea* sp.

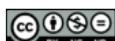
Abstract

The industrial interest in phytoplanktonic microorganisms such as microalgae and cyanobacteria are due to the high biotechnological potential they have in synthesizing bioactive compounds, ease of adapting to different sources of nutrients, extreme survival conditions and the bioabsorbent capacity of heavy metals mainly in wastewater. The objective of this study was to isolate and characterize phenotypically and genotypically phytoplanktonic microorganisms from stabilization pools in Engabao, Guayas-Ecuador, using different culture media and molecular markers ITS, ITS2, LSU and 16S RNAr. The results of the cell culture during seven days showed the Chls1 microalgae with BG11 pH 7.8 medium reached 25.4×10^6 cells mL⁻¹, the cyanobacterium Syn1 was 340.6×10^6 cells mL⁻¹, while for Nod1 chlorophyll analysis was used to reach on the seventh day $6.33 \mu\text{g mL}^{-1}$. Molecular studies were carried out using a modified gDNA extraction and purification protocol, obtaining optimal DNA concentration and quality for the three strains: Chls1 $146 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$, Syn1 $326 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ and Nod1 $158.8 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$. The use of polyphasic analysis based on morphological characters and gDNA of the strains, was amplified by PCR and sequenced; the strains identified phenotypically and genotypically by the primers ITS2, ITS and LSU correspond to the microalgae *Chlorella sorokiniana* with 99.48%, 99.07% and 99.77% identity similarity, while the cyanobacterial isolates *Synechococcus* sp. and *Nodosilinea* sp. with the analysis of the 16S RNAr region, it presents identity percentages of 97.47% and 99.83%; despite not using specific primers for these microorganisms, the use of several regions increases the reliability of taxonomic and phylogenetic identification; these species have a high biotechnological potential and a great economic impact.

Keywords: *Chlorella sorokiniana*, *Nodosilinea* sp., phytoplanktonic strains, *Synechococcus* sp.

* Correspondencia del autor:

E-mail: daniela.melissac@ug.edu.ec



Esta obra está bajo una licencia de creative commons: Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0. Los autores mantienen los derechos sobre los artículos y por tanto son libres de compartir, copiar, distribuir, ejecutar y comunicar públicamente la obra.

Introducción

El fitoplancton se caracteriza por ser un conjunto de microorganismos fotosintéticos oxigénicos, esta característica se debe a la composición bioquímica del aparato fotosintético (Ende & Noke, 2019; Lee, 2008; Smetana et al., 2017), asimismo, se encuentran en todos los hábitats terrestres y acuáticos del mundo, siendo la base de la cadena alimenticia (Andrade et al., 2009; Barsanti & Gualtieri, 2014; Wehr et al., 2015). Pertenecen a un diverso grupo polifilético de microorganismos procariotas y eucariotas, sistematizados en distintos grupos por sus pigmentos fotosintéticos, caracteres morfológicos y moleculares, encontrando dentro de este grupo a microalgas y cianobacterias (Begum et al., 2016; Colla & Rouphael, 2020; Jeffrey et al., 2011).

Las microalgas y cianobacterias han sido utilizadas por los seres humanos, en nutracéutica (Nicoletti, 2016; Vieira et al., 2020), cosmecéutica (Pangestuti et al., 2020; Vieira et al., 2020), biocombustibles (Brennan & Owende, 2010; Chaib et al., 2021) industria agrícola y alimentación (Dufossé et al., 2005; Gantar & Svirčev, 2008). En años recientes, la investigación se ha enfocado en las moléculas que sintetizan estos organismos y que tienen un alto valor bioactivo (Demay et al., 2019; Gouveia et al., 2010; Skulberg, 2000; Vijayakumar & Menakha, 2015).

La plasticidad fisiológica de las microalgas y cianobacterias permite determinar la variabilidad para estudios de biodiversidad y biotecnología a través de recursos genéticos (Darienko et al., 2015; Solovchenko et al., 2015; Úveges et al., 2012). Los estudios de bioprospección, relacionados con el aislamiento, cultivo e identificación son de importancia biológica. Las taxa de los grupos mencionados han sido caracterizadas taxonómicamente dependiendo de la morfología, sin embargo, una minoría han sido caracterizadas molecularmente (Berrendero et al., 2008; Conklin et al., 2020; Molins et al., 2018; Neofotis et al., 2016).

El uso de herramientas moleculares permite obtener mayor precisión en la identificación taxonómica y filogenética, además, interviene en áreas como: biomedicina, control de plagas, detección de especies invasoras, estudios relacionados sobre la conservación de la biodiversidad y, sobre todo, determinar su potencial biológico (Darienko et al., 2015; Falcitatore et al., 2020; Padisák et al., 2015).

Una cepa de *Chlamydomonas* se identificó mediante la región ITS, posteriormente, se modificó genéticamente con el fin de aumentar la producción y las aplicaciones biotecnológicas, fue la primera especie de microorganismos fitoplanctónicos identificada molecularmente (Brodie & Lewis, 2007; Fernández et al., 1989). Se empleó la técnica de PCR con el primer LSU con el fin de determinar la heterogeneidad microalgal de muestras de aguas continentales de acceso público de Singapur,

identificando 17 géneros de microalgas de 94 aislados, predominando *Scenedesmus* spp., *Chlorella* spp., *Micractinium* spp. y *Chlamydomonas* spp., además, 16 de los aislados fueron registrados por primera vez en la región, los datos obtenidos tienen gran importancia ecológica y biotecnológica (Lloyd et al., 2021)

El uso de la región 16S ARNr se emplea ampliamente en la identificación de cianobacterias, Osorio et al. (2014) emplea el gen 16S ARNr para la identificación taxonómica de siete nuevas especies crípticas del orden Pseudanabaenales. Sin embargo, el uso de cebadores universales como 16S ARNr y *primers* de cianotoxinas permite obtener mayor robustez en la identificación taxonómica (Valenzuela-González et al., 2015).

La comuna Engabao posee varias piscinas o lagunas de oxidación, que son tratamientos de aguas residuales de desechos biológicos creados por los mismos comuneros, debido a que, no poseen un sistema de agua potable y tratamiento de aguas servidas. Por lo que, es de vital importancia determinar taxonómicamente mediante herramientas moleculares que microorganismos se desarrollan en ese lugar, cuáles serían sus posibles usos en base a la problemática establecida y cómo emplear dichas especies para el tratamiento de las piscinas de oxidación, brindándoles soluciones para mejorar la calidad de vida y la economía de los pobladores.

Considerando todos estos antecedentes, el objetivo del estudio es aislar y caracterizar molecularmente cepas fitoplanctónicas obtenidas en Engabao, provincia del Guayas, costa de Ecuador.

Materiales y métodos

Fase de Campo

Colección y transporte de las muestras

Las muestras de agua fueron colectadas durante el mes de noviembre de 2020 en las piscinas de oxidación de la Comuna Engabao, -2.6102778, -80.43666666666667, perteneciente a la provincia del Guayas. Las muestras se tomaron de forma aleatoria, considerando la coloración del agua, tomando 50 mL de muestra en tubos Corning™ Falcon™ estériles. Posteriormente, se las guardó en una hielera a 4°C hasta procesarlas en el Laboratorio de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad de Guayaquil.

Fase de laboratorio

Preparación de medio de cultivos

Se prepararon los siguientes medios de cultivos: *Chlorophyta*: BG11 (Allen, 1968; Andrade et al., 2009) y *Cianobacteria*: Zarrouk (1966) (Pineda et al., 2011). Los componentes de cada medio se presentan en el Anexo 1 y 2. Posteriormente, se ajustó BG11a pH 7.8 ‰ y Zarrouk a pH 9.9 ‰.

Procesamiento y aislamiento de las muestras

Antes de realizar la siembra, se observó en el microscopio con el objetivo 40x y 100x para verificar

la presencia de microorganismos fitoplanctónicos. Para el aislamiento de las cepas de microalgas y cianobacterias se emplearon los protocolos propuestos por Rippka (1988) y Waterbury (2006) de la siguiente forma: técnicas de separación física por agotamiento, estrías y extensión para medio sólido y diluciones seriadas para medio líquido (Andersen, 2005; Arredondo et al., 2007; García et al., 2017; Tenorio et al., 2018).

Para la técnica de agotamiento por estrías y extensión, se inoculó 20 µL de la muestra en medios de cultivo sólidos BG11 para la *Chlorophyta* (Haneda et al., 2015) y Zarrouk (1966) para las *Cyanobacteria*, con el fin de aislar y purificar cultivos contaminados con varios microorganismos.

En el caso de microorganismos filamentosos se omitió este paso. Las condiciones de las cajas de Petri fueron temperatura ambiente, iluminación de lámparas fluorescentes a una intensidad baja de 10-75 µmol m⁻² s⁻¹, fotoperiodo 16h luz/8h oscuridad (16:8), durante un periodo de 8 días, de igual manera, se observaron en el microscopio y las colonias específicas se las transfirió en otra caja de Petri, consecutivamente, se replicó el proceso hasta que las cepas se encuentren puras (Arredondo et al., 2007; Chan et al., 2013; Waterbury, 2006).

El aislamiento en medio líquido se lo realizó mediante diluciones seriadas, primero, se inoculó biomasa de las cajas de Petri de las tres cepas mediante un aza de platino y se colocó en tubos de ensayo con 50 mL de medio BG11a pH 7.8 ‰ y Zarrouk a pH 9.9 ‰. Luego de 10 días de incubación se realizó el aislamiento por diluciones (1:10, 1:100 y 1:1000) tomando 1mL de la muestra original y se la agregó a un tubo de ensayo con 9 mL de medio de cultivo estéril y fresco, se homogenizó y así se repitió el proceso sucesivamente (10⁻³).

Posteriormente, se analizaron los aislados en el microscopio y las cepas que se encontraban puras se pasaron a matraces de 250 mL durante 7 días, con las siguientes condiciones: aireación constante, fotoperiodo (16:8); intensidad luminica de 125 µmol m⁻² s⁻¹ (proporcionada por lámparas fluorescentes FSL T8 36W/865), y temperatura de 25 ± 1 °C. Este material servirá como fuente para la extracción posterior de ácidos nucleicos.

Identificación y caracterización morfológica

Para la identificación morfológica de las cepas se empleó un microscopio óptico con los objetivos 40x y 100x, subsiguientemente, se tomaron medidas taxonómicas (ancho y largo de las células) con ayuda del programa Digital Image System Software (Digital Imaging Systems ®, Buckinghamshire, England) y NIS-elements Documentation (NIKON Imaging Software ®).

Para la identificación y caracterización fenotípica de las especies fitoplanctónicas se utilizaron las claves taxonómicas de Fawley & Fawley (2020), Johansen et

al. (2011), Komárek et al. (2014), López-Osorio et al. (2011), Niiyama (2012), Rippka (1988), Wehr et al. (2015) y Wehr & Sheath (2003).

Densidad y crecimiento celular

Se determinó la densidad celular durante 7 días mediante el recuento de células en el microscopio usando el hematocitómetro 0.1 mm de profundidad con reglilla de Neubauer, se empleó la fórmula propuesta por Bain (1998).

$$C = N * 10^4 * dil$$

En donde:

C = concentración celular expresada en cel ML⁻¹.

N = promedio de células presentes.

Dil = factor de dilución.

10⁴ = factor de conversión de 0.1 ML a 1 ML.

Para determinar el crecimiento celular se calcularon los datos de densidad celular en fase exponencial y se aplicó la ecuación planteada por Arredondo et al. (2007):

$$\mu = \frac{\ln(N_2 - N_1)}{t_2 - t_1}$$

En donde:

N₁ y N₂: concentración en los tiempos t₁ y t₂.

Extracción y cuantificación de clorofila

Según el método propuesto por Talling & Driver (1961), para determinar el crecimiento relacionado con la concentración de clorofila *a* se tomó 2 ML de muestra del cultivo por 7 días. Las alícuotas se centrifugaron por 25 minutos, 12000 rpm a 4°C y se descartó el sobrenadante, se cubrió la totalidad del tubo eppendorf con papel de aluminio para evitar que la luz incida sobre la biomasa.

En la Sorbona de Extracción de Gases se añadió 2 ML de acetona al 90 % y se realizó vórtex por 5 minutos aproximadamente para el perfecto mezclado de los pellets de biomasa y el solvente. Posteriormente, se almacenó a 4 ° C durante 24 horas.

Pasadas las 24 horas se centrifugó durante 25 minutos a 1200 rpm para separar el pigmento disuelto en el solvente de los restos celulares, se observó el pellet totalmente blanquecino, lo cual, indicó la total extracción de los pigmentos liposolubles, en caso de realizar la extracción en cianobacterias el pellet podría observarse de color azul intenso o marrón (ficobiliproteínas). En caso de observarse el pellet de color verde, se deberá realizar vórtex nuevamente y esperar 24 horas a 4 °C para una perfecta extracción. Realizada la extracción se procedió a la lectura de la concentración pigmentaria mediante el MULTISKAN GO (Thermo Scientific). En la placa microtituladora se añadió 250 ML de acetona al 90%, para realizar

los blancos de las lecturas. En el MULTISKAN GO se escogió la opción de absorbancia y se ajustó a las nanometrías deseada, en este caso se realizaron dos nanometrías distintas (665 nm y 650 nm). La concentración de clorofila *a* se obtiene a partir de las ecuaciones propuestas por Strickland & Parsons (1972):

$$Ca (\mu\text{g/mL}) = 16.5 A_{665} - 8.3 A_{650}$$

Protocolo de extracción y purificación de ADN genómico

El método CTAB (Hexadecyltrimethylammonium bromide) descrito por Doyle & Doyle (1997) y modificado en el laboratorio se empleó para la extracción y purificación del ADN genómico total de las muestras. Estos métodos combinan una doble etapa de lisis mecánica y enzimática con una precipitación selectiva de CTAB, para superar los problemas de lisis y pureza que ocurren recurrentemente con las cianobacterias y microalgas.

Para la extracción total del ADN, las cepas se cultivaron en medio líquido durante 7 días (Yun et al., 2020). Cada una de las cepas se cosechó por centrifugación durante 5 minutos a 14000 rpm a partir de 5 ML del medio líquido. Luego el buffer de lisis TES (Tris 100 Mm Ph 8, EDTA 10 Mm y SDS 10 %) se añadió y se sonicó (Biotech 4.3 TFT) a 4 °C por 10 minutos a 20 kHz.

Después de sonicar, se agregó 12,56 ML de Proteinasas K (20 mg ML⁻¹), y se incubó por 30 minutos a 37 °C en el Thermomix. Luego se adicionó 140 ML de NaCl (5 M) y 1/10 volumen de CTAB al 10 %, y se lo colocó nuevamente en un baño termostático (Thermomix) durante 10 minutos a 65 °C. Posteriormente, se colocó 1 volumen de cloroformo: alcohol isoamílico (24:1) en hielo durante 5 minutos, seguidamente, se centrifugó a 14000 rpm a 4 °C.

El sobrenadante obtenido, se lo colocó en un nuevo tubo Eppendorf de 2 ML, a continuación, se añadió 225 ML de acetato de amonio (5 M) y nuevamente se lo colocó en hielo, y se lo llevó a centrifugar (10 min, 4 °C, 140000 rpm). A continuación, al sobrenadante se le adicionó 5 volúmenes de isopropanol y se los llevó a -20 °C durante 30 min o 24 horas.

Posterior al tiempo establecido de congelación, las muestras se centrifugaron (20 min, 4 °C; 14000 rpm), se eliminó el sobrenadante y el pellet se lavó con 1 ML de etanol al 70% y nuevamente se centrifugó (5 min, 4 °C; 14000 rpm), y se descartó una vez más el sobrenadante. El pellet se dejó secar durante 10 a 15 min dentro de la cámara de flujo laminar, con el objetivo de que el etanol al 70% se evapore. El ADN obtenido se resuspendió con 100 ML de agua ultra pura y se conservaron a -20 °C hasta su posterior uso.

Cuantificación y calidad del ADN

La concentración y pureza del ADN se obtuvo en base a las concentraciones en ng mL⁻¹ y valores de

espectrofotometría según sus absorbancias A_{260}/A_{280} nm y A_{260}/A_{230} nm, mediante el uso del NanoDrop (Thermo Scientific™).

Para cuantificar la concentración y calidad del ADN, se determinó un blanco, se empleó 2 ML de agua ultra pura empleada en la resuspensión del ADN, colocándola en el pedestal. Una vez determinado el blanco se colocó 2 ML de las muestras de extracción del ADN genómico.

Se definió la pureza mediante los rangos establecidos A_{260}/A_{280} nm y A_{260}/A_{230} nm. Para el rango de absorbancia de A_{260}/A_{280} nm, los valores 1.8 - 2.0 fueron considerados como ADN puro. Sin embargo, la pureza aceptable debe tener al menos una relación A_{260}/A_{280} nm > 1.6, valores menores indican la presencia de contaminación de compuestos aromáticos como trazas de fenol y proteínas, y mayores > 2.1 presencia de ARN en la muestra.

Los valores de 1.8-2.2 se consideran óptimos para el rango A_{260}/A_{230} nm en relación a la pureza del ADN. Los valores menores < 1.8 determinan la presencia de polisacáridos y polifenoles.

Comprobación de la integridad del ADN por electroforesis

La integridad del ADN genómico se la obtuvo mediante la técnica de electroforesis en gel de agarosa al 1% (p/v) con TBE 1X (Tris-HCl 45 Mm, Ph 8.0, EDTA 10 Mm, ácido bórico 45 Mm), teñido con 5 µl SYBR Safe DNA Stain, a 55 Voltios por 30 minutos, con un marcador molecular de tamaño de 100 pb (Invitrogen).

En cada pocillo del gel se colocó 10 ML la siguiente mezcla: 9 ML de ADNg y 1 ML de BlueJuice™ Gel Loading Buffer (10X), que es un tampón de carga, que permite visualizar las bandas de ADN. Finalmente, se observó como el ADN migró, ya que, la electroforesis separa los fragmentos de ADNg de acuerdo con su longitud en pb.

Si el ADN se encuentra íntegro, se deberá observar una banda estrecha próxima al pocillo donde se colocó la muestra de la extracción. Si el ADN se encuentra fragmentado se observará una banda de más de 1 cm de ancho o un camino luminoso en el carril de la muestra. El ADN fragmentado dificulta la amplificación de productos de PCR de alto peso molecular y afecta la reproducibilidad de las técnicas (Cornejo et al., 2015).

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

La PCR es una de las herramientas moleculares más empleadas por diversas áreas científicas, principalmente en el área de microbiología y biología, debido a la especificidad de sus resultados (Cornejo et al., 2015).

Para confirmar la identidad de las cepas aisladas, se realizó PCR con diferentes parejas de cebadores. Se realizaron 3 reacciones de PCR por cada región a

amplificar y un control negativo que no contenía ADN, además, por la especificidad de los mismos cebadores, se determinaron las condiciones de PCR.

Condiciones de amplificación para PCR de la región de ADNr

La amplificación de los fragmentos específicos de los genes del ADNr se lo realizó mediante Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) empleando el protocolo de descrito por Kalendar et al. (2017) in silico or virtual (bioinformatics, que consistía en la preparación de una MasterMix que contenía lo siguiente: GoTaq® Green Master Mix (2X) (PROMEGA), que es una solución premezclada que incluía GoTaq® Reaction Buffer (pH 8.5), GoTaq DNA Polymerase, MgCl₂, dNTPs, y tampones de reacción a concentraciones óptimas para la amplificación eficiente de las plantillas de ADN por PCR, además, se le agregó los *primers Forward* y *Reverse* (10 µM) y agua ultra pura, en un volumen total de 30 µL (Tabla 1).

Mediante el uso del termociclador MultiGene™ OptiMax de Labnet se realizó la amplificación de las tres cepas en microtubos de 200 µL, 3 réplicas por cepa.

Primers empleados

Para los análisis de secuenciación del ADNg de las tres cepas aisladas de las piscinas de oxidación se emplearon ocho parejas de *primers* universales (Tabla 2).

Región espaciadora interna 2 (ITS2)

La región interna espaciadora 2 se amplificó usando los cebadores S2F *Forwards* (5'-ATG CGA TAC TTG GTG TGA AT-3') y S3R *Reverse* (5'- GAC GCT TCT CCA GAC TAC AAT -3') (Chen et al., 2010). La amplificación de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de la región ITS2 se realizó en un volumen final de 30 µL. Las condiciones de PCR consistieron en una desnaturalización inicial durante 5 minutos a 94 °C; seguido de 40 ciclos de desnaturalización a 94 °C durante 30 segundos, hibridación de 56 °C durante 30 segundos y 72°C durante 45 segundos, seguido de 72 °C de extensión final durante 5 minutos.

Espaciador transcrito interno (ITS)

Para la región ITS se utilizó los *primers* ITS1 *Forwards* (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') e ITS4 *Reverse* (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (White et al., 1990). Las amplificaciones de PCR se realizaron en un volumen final de 30 µL. Las condiciones de PCR consistieron en

una desnaturalización inicial por 5 minutos a 95 °C; 35 ciclos de desnaturalización por 40 segundos a 94°C, hibridación durante 40 segundos a 58 °C y extensión a 72°C por 40 segundos, con extensión final a 72 °C por 5 minutos.

Subunidad grande del ribosoma (LSU)

La región de la subunidad grande del ribosoma (LSU) se utilizó los *primers*, LROR *Forwards* (5'-ACCCGCTGAACTTAAGC-3') y LR5 *Reverse* (5'-TCCTGAGGGAACTTCG-3') (Vilgalys & Hester, 1990) restriction digests, Southern blotting, and hybridization. We describe a novel approach that uses the polymerase chain reaction (PCR). Las amplificaciones de PCR se realizaron en un volumen final de 30 µL. Se emplearon las mismas condiciones de PCR que para la región ITS, con una variación en la etapa de hibridación a 59°C durante 30 segundos.

Región de ARN ribosomal 16S

La región 16S ARNr es un componente de la subunidad pequeña del ribosoma procarionta, se amplificó empleado los *primers* universales, 27F *Forwards* (5'-AGAGTTTGATCTGGCTCAG-3') y *Reverse* 1492R (5'-GGTTACCTTGTACGACTT-3') (Turner et al., 1999). Las amplificaciones de PCR se realizaron en un volumen final de 30 µL. Las condiciones de PCR consistieron en una desnaturalización inicial durante 10 min a 95 °C; seguido de 35 ciclos de desnaturalización a 95 °C durante 30 segundos, hibridación de 55 °C durante 1 minuto y 72°C durante 2 minutos, seguido de 72 °C de extensión final durante 5 min.

Electroforesis

Para comprobar la amplificación de los productos de PCR se realizó electroforesis en el gel de agarosa al 1,5 % (p/v) en TBE 1X mediante el protocolo propuesto por Sambrook & Russell (2001) y Yábar (2003). Se empleó 5 µL de cada reacción de PCR, para determinar la presencia de amplicones (Morin et al., 2010). Para la observación de las bandas en el gel se empleó transiluminación con luz UV y el sistema de foto documentación Omega Fluor plus.

Análisis bioinformáticos

Para corroborar la identificación morfológica de las cepas, se realizó la secuenciación molecular y el posterior el análisis filogenético de la región del espaciador transcrito interno (ITS), el ARN de la subunidad grande del ribosoma (LSU), el espaciador transcrito interno 2 (ITS2) y, de la región ribosomal (16S RNAr).

Tabla 1. Composición y concentración de reactivos de la MasterMix para PCR con un volumen final de 30 µL por reacción.

Reactivo	Volumen por reacción	Concentración Volumen final
GoTaq ® Green Master Mix (2X)	15 µL	1X
<i>Primers forward</i> (10 µM)	1.5 µL	0.1-1.0 µM
<i>Primers reverse</i> (10 µM)	1.5 µL	0.1-1.0 µM
H2O ultra pura	11 µL	N/A
ADN genómico	1 µL	<250 ng

Tabla 2. Cebadores universales que amplificaron las regiones del ADNg de las cepas aisladas de microorganismos fitoplanctónicos obtenidos de las piscinas de oxidación de la comuna Engabao, provincia del Guayas, Ecuador.

Primers	Secuencia (5' a 3')	Locus	Temperatura de fusión T _m (C°)	Tamaño amplicón esperado (pb)	Referencia
S2F	ATG CGA TAC TTG GTG TGA AT	ITS2	54.3°C	490-560	(Chen et al., 2010)
S3R	GAC GCT TCT CCA GAC TAC AAT		59.4°C		
ITS1	TCC GTA GGT GAA CCT GCG G	ITS	65°C	500-750	(White et al., 1990)
ITS4	TCC GCT TAT TGA TAT GC		58°C		
LR0R	ACC CGC TGA ACT TAA GC	LSU	51.1°C	1200-1500	(Vilgalys & Hester, 1990)
LR5	TCC TGA GGG AAA CTT CG		50.6°C		
27F	AGA GTT TGAT CCT GGC TCAG	16S	56°C	1000-1500	(Turner et al., 1999)
1429R	GGT TAC CTT GTT ACG ACTT		55.4°C		

Secuenciación genómica

Los productos de PCR de las muestras aisladas y purificadas con un volumen final de 25 mL se colocaron en tubos Eppendorf de 1.5 mL, se rotularon y sellaron con Parafilm, posteriormente, se enviaron por el sistema de paquetería FedEx en avión a *Macrogen*, Rockville, MD, USA. Las condiciones del paquete fueron a temperatura ambiente. Los análisis bioinformáticos se los realizó mediante MEGAX según Kumar et al. (2018).

Las secuencias obtenidas de los diferentes cebadores, se analizaron individualmente; primero, se compararon con la base de nucleótidos de *GenBank* de la plataforma “*National Center for Biotechnology Information*” (NCBI) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) para establecer la homología entre ambas secuencias (Kazi et al., 2013).

Posteriormente, mediante el uso del algoritmo “*Basic Local Alignment Search Tool Nucleotide*” (BLASTn) (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) y el del software “*Molecular Evolutionary Genetics Analysis*” (MEGAX) (<https://www.megasoftware.net/>) se procesaron las secuencias, se cortaron y se alinearon manualmente para ensamblar las secuencias consenso de cada pareja de primers empleando la herramienta MUSCLE. Para determinar la identidad y similitud de las secuencias conceso de cada cepa se empleó BLASTn de la base de datos “*Nucleotide collection (nr/nt)*” del NCBI (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) (Madden, 2012).

Análisis filogenéticos

Para la construcción de los árboles filogenéticos se empleó las secuencias consenso de las tres especies de microorganismos fitoplanctónicos, junto a secuencias de material tipo de especies registradas del NCBI. Las reconstrucciones filogenéticas se realizaron mediante el método algorítmico de Máxima Probabilidad (Maximun Likelihood, ML), que calcula las distancias genéticas mediante un modelo de

sustitución tipo nucleótido, con el soporte Bootstrap (técnica estadística que genera un número elevado de pseudoréplicas del alineamiento original) con 1000 repeticiones para comprobar la máxima verosimilitud de todas las ramas (clados) producidas, utilizando el software Mega X (Kumar et al., 2018).

Resultados

Aislamiento, purificación e identificación morfológica

Se obtuvo un total de tres cepas aisladas de microorganismos fitoplanctónicos de muestras obtenidas de las piscinas de oxidación: una microalga y dos cianobacterias, con medios de cultivo y pH óptimo, los cuales son mostrados en la Tabla 3. Los tres microorganismos aislados se identificaron a través de diversas claves taxonómicas: Fawley & Fawley (2020), Johansen et al. (2011), Komárek et al. (2014), López-Osorio et al. (2011), Niiyama (2012), Rippka (1988), Wehr et al. (2015) y Wehr & Sheath (2003), en los que se describieron las siguientes especies:

Cepa Ch11 - *Chlorella sorokiniana*

Es una especie de microalga inmóvil, unicelular, solitaria, con morfología esférica, coloración verde esmeralda, células de 2 a 10 µm de diámetro, sin pared celular lisa, no presentan constricción en la parte media, cloroplasto en forma parietal con un pirenoide, y carece de flagelo, característica común en la familia Chlorellaceae (Luo et al., 2010; Wehr & Sheath, 2003)the concept of the experimental

Tabla 3. Muestras aisladas en medios de cultivo y pH óptimos.

Cepa	Nombre científico	Medio de cultivo	pH
Ch1s1	<i>Chlorella sorokiniana</i>	BG11	7.8
Syn1	<i>Synechococcus</i> sp.	Zarrouk	9.9
Nod1	<i>Nodosilinea</i> sp.		

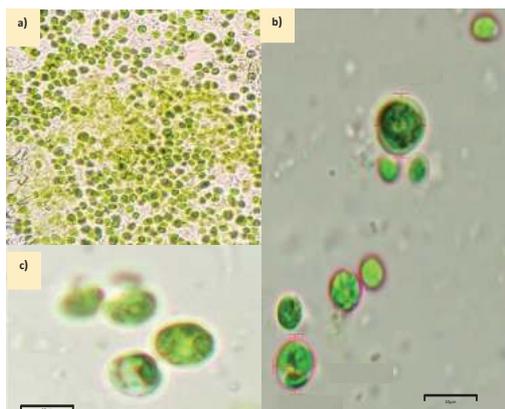


Figura 1. a) Cepa Chls1 (*Chlorella sorokiniana*) aislada de las piscinas de oxidación de la Comuna Engabao; objetivo 40x. b, c) Medición del diámetro de la célula mediante el uso del programa NIS-elements Documentation (NIKON Imaging Software ©); objetivo 100x.

algal genus *Chlorella* was evaluated. Conventionally in the genus *Chlorella*, only coccoid, solitary algae with spherical morphology that do not possess any mucilaginous envelope were included. All *Chlorella* species reproduce asexually by autospores. However, phylogenetic analyses showed that within the clade of 'true'. *Chlorella* species (*Chlorella vulgaris*, *C. lobophora*, and *C. sorokiniana*, además, sus colonias se encuentran rodeadas de mucílago y la modalidad de la agregación de la célula es característica de las especies lo que facilita su identificación (Fig. 1; Moronta et al., 2006; Shihira & Krauss, 1965).

Cepa Syn2 - *Synechococcus* sp.

Pertenece al género de cianobacterias unicelulares cocales (Nägeli, 1849), son solitarias o formando en colonias microscópicas o macroscópicas irregulares sin mucílago común. Las células son de forma oval y redondeadas en los extremos, sin embargo, pueden ser más largas que anchas o viceversa, arqueadas, rectas o incluso sigmoideas, miden alrededor de $3.57 \pm 0.12 \mu\text{m}$ de longitud y $1.47 \pm 0.09 \mu\text{m}$ de ancho, coloración azul verdoso pálido. Presentan un mucílago delgado o ausente, incoloro, homogéneo alrededor de las células (Fig. 2) (Komárek et al., 2014; Rosales et al., 2005; Wehr & Sheath, 2003) we test the small molecule flexible ligand docking program Glide on a set of 19 non- α -helical peptides and systematically improve pose prediction accuracy by enhancing Glide sampling for flexible polypeptides. In addition, scoring of the poses was improved by post-processing with physics-based implicit solvent MM-GBSA calculations. Using the best RMSD among the top 10 scoring poses as a metric, the success rate ($\text{RMSD} \leq 2.0 \text{ \AA}$ for the interface backbone atoms).

Cepa Nod3 - *Nodosilinea* sp

Es una cianobacteria que presenta filamentos verdes

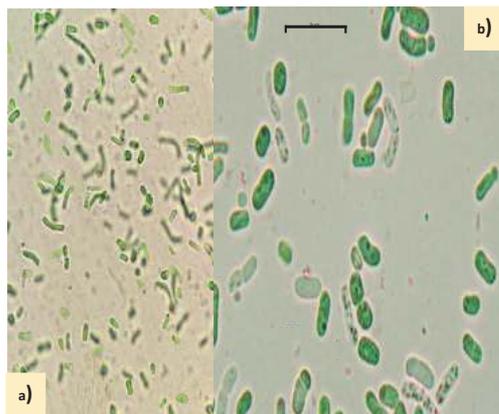


Figura 2. a) Cepa Syn2 (*Synechococcus* sp.) aislada en el Laboratorio de la Facultad de CCNN a partir de muestras de las piscinas de oxidación de la Comuna Engabao; objetivo 100x. b) Medición de la célula (largo y ancho) mediante el uso del programa NIS-elements Documentation (NIKON Imaging Software ©); objetivo 100x.

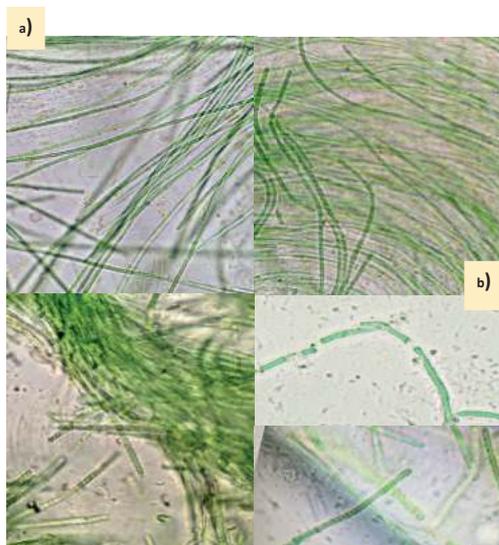


Figura 3. a) Cepa Nod1 (*Nodosilinea* sp.) aislada en el Laboratorio de la Facultad de CCNN a partir de muestras de las piscinas de oxidación de la comuna Engabao; objetivo 100x. b) Observación de los segmentos del filamento y la parte apical mediante el uso del programa NIS-elements Documentation (NIKON Imaging Software ©); objetivo 40x - 100x.

y delgados de aproximadamente de 1.1 a 1.3 μm de ancho, pueden poseer alrededor de más de 350 células de largo, además poseen forma de barril y sus extremos son redondeados (Johansen et al., 2011; Niiyama, 2012; Fig. 3.).

Cinética de crecimiento

El cultivo de *C. sorokiniana* a los siete días de cultivo mostró una densidad máxima de $25.4 \times 10^6 \pm 8.94$

$\times 10^5$ cel mL⁻¹ y una velocidad de crecimiento (μ) de 0.19 ± 0.03 d⁻¹ (fig. 4).

Mientras que *Synechococcus* sp. presentó una densidad máxima de $340.6 \pm 5.9 \times 10^6$ cel mL⁻¹ y una velocidad de crecimiento (μ) de $0.20 \pm 0,02$ d⁻¹ (Fig. 5).

Crecimiento celular de *Nodosilinea* sp. mediante el análisis de clorofila *a* con $6,33 \mu\text{g mL}^{-1}$ en un periodo de siete días (Fig. 6).

Análisis molecular

Extracción, concentración y calidad del ADN genómico

El material genético se lo obtuvo mediante el protocolo de extracción y purificación de ADN genómico estandarizado y modificado. Para cada cepa se empleó 5 mL de cultivo

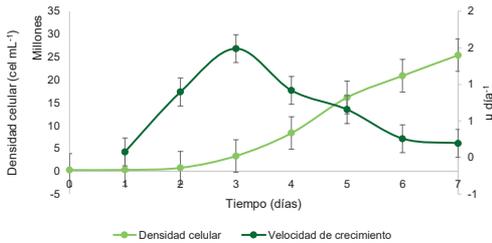


Figura 4. Densidad celular y velocidad de crecimiento de *Chlorella sorokiniana* durante siete días de cultivo.

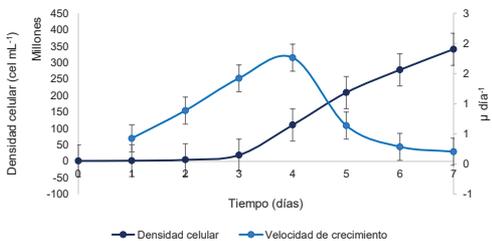


Figura 5. Densidad celular y velocidad de crecimiento de *Synechococcus* sp. durante siete días de cultivo.

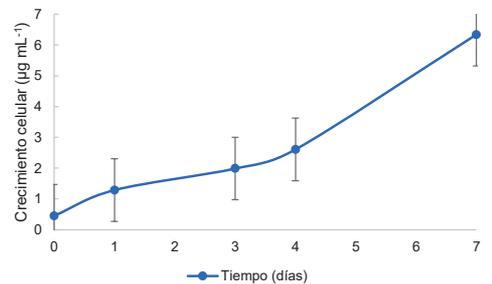


Figura 6. Crecimiento celular de *Nodosilinea* sp. durante siete días de cultivo mediante análisis de clorofila *a*.

en fase logarítmica con 7 días de crecimiento celular. Se cuantificó la concentración y calidad del ADN genómico total mediante el uso de espectrofotometría (NanoDrop Thermo Scientific™), demostrando que la pureza del ADN y las concentraciones eran altas en las tres especies de microorganismos fitoplanctónicos (Tabla 4.).

El análisis de electroforesis en gel de agarosa al 1% demostró la detección de bandas de ADN íntegro, que no posee contaminantes tales como proteínas y polisacáridos. El ADN genómico extraído de las tres cepas no se encuentra degradado (Fig. 7), por consiguiente, se observa en los carriles 1, 2 y 3 una banda intensa y única, mientras que marcador molecular es la banda de mayor tamaño de 100 pb.

PCR

Amplificación de los productos de PCR

Se emplearon 4 parejas de cebadores universales, para la amplificación y secuenciación de *C. sorokiniana*, se empleó el ITS2, ITS y LSU con condiciones de reacción establecidas anteriormente, mientras que, para las dos cianobacterias aisladas: *Synechococcus* sp. y *Nodosilinea* sp., se analizó la región del 16S RNAr. Para determinar la amplificación de los productos de PCR se realizó electroforesis en gel de agarosa al 1.5%.

Amplificación por PCR de la región ITS2

La amplificación por PCR de la región ITS con los cebadores S2F y S3R dio como resultado una banda de ~ 600 pb. El fragmento se obtuvo de la cepa *Chlorella sorokiniana* (Fig. 8).

Amplificación por PCR de la región ITS

La amplificación por PCR de la región ITS con los cebadores ITS1 e ITS4 dio como resultado una banda pb de ~ 700 pb. El fragmento se obtuvo de la cepa *Chlorella sorokiniana* (Fig. 9).

Amplificación por PCR de la región LSU

La amplificación por PCR de la región LSU con los cebadores LROR y LR5 dio como resultado una banda de ~ 1000 pb. El fragmento se obtuvo de la cepa *Chlorella sorokiniana* (Fig. 10).

Amplificación por PCR de las regiones 16S RNAr

La amplificación por PCR de la región 16S RNAr con los cebadores 27F y 1492R dio como resultado una banda de ~ 1200 pb. El fragmento se obtuvo de la cepa *Synechococcus* sp. (Fig. 11).

Amplificación por PCR de las regiones 16S RNAr

La amplificación por PCR de la región 16S RNAr con los cebadores 27F y 1492R dio como resultado una banda de ~ 1200 pb. El fragmento se obtuvo de la cepa *Nodosilinea* sp. (Fig. 12).

Análisis bioinformático

Análisis molecular

Las secuencias obtenidas por Macrogen-USA fueron procesadas por el software bioinformático MEGA X, obteniendo las secuencias consenso de las tres cepas,

Tabla 4. Concentración de ADNg de las tres cepas aisladas de microorganismos fitoplanctónicos mediante la extracción de ADNg con método estándar en ng μL^{-1} a partir de la relación de las absorbancias (CONC. = concentración).

Cepas aisladas	Densidad Celular	CONC. de ADN (ng mL ⁻¹)	Medición Espectrofotométrica	
			Relación A_{260}/A_{280}	Relación A_{260}/A_{230}
<i>Chlorella sorokiniana</i>	$25.4 \times 10^6 \pm 8.94 \times 10^5$ cel mL ⁻¹	146	1.94	1.98
<i>Synechococcus</i> sp.	$340.6 \pm 5.9 \times 10^6$ cel mL ⁻¹	326	2.06	2.09
<i>Nodosilinea</i> sp.	6,33 μg mL ⁻¹	158.8	1.96	2

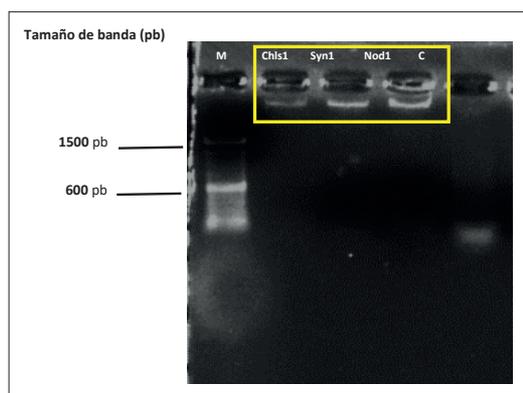


Figura 7. Electroforesis en gel de agarosa-TBE al 1%, los carriles son las cepas Chls1 (*Chlorella sorokiniana*), Syn1 (*Synechococcus* sp.) y Nod1 (*Nodosilinea* sp.) pertenecientes a la extracción ADNg (rectángulo amarillo), C (control negativo), M (marcador molecular).

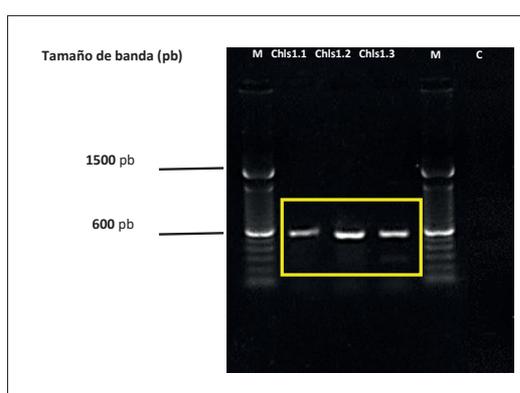


Figura 8. Amplificación de la región ITS2 para la cepa aislada Chls1 con los cebadores universales S2F y S3R. Banda aproximadamente con 600 pb. Electroforesis en gel de agarosa-TBE al 1%, los carriles Chls1.1, Chls1.2 y Chls 1.3 son réplicas de los productos de PCR (rectángulo amarillo), C (control negativo), M (marcador molecular).

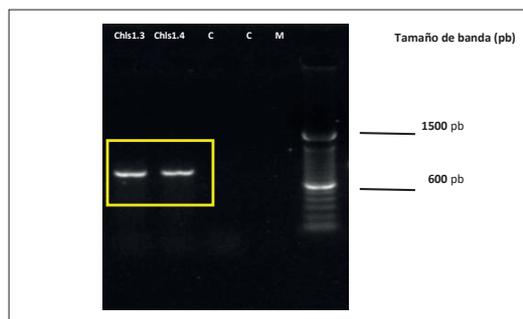


Figura 9. Amplificación de la región ITS para la cepa aislada Chls1 con los cebadores universales ITS1 e ITS4. Banda aproximadamente con 700 pb. Electroforesis en gel de agarosa-TBE al 1%, los carriles Chls1.3 y Chls1.4 son réplicas de los productos de PCR (rectángulo amarillo), C (control negativo), M (marcador molecular).

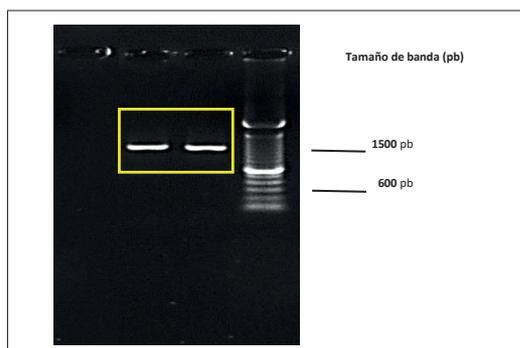


Figura 10. Amplificación de la región LSU para la cepa aislada Chls1 con los cebadores universales LROR y LR5. Banda aproximadamente con 1000 pb. Electroforesis en gel de agarosa-TBE al 1%, los carriles Chls1.5 y Chls 1.6 son réplicas de los productos de PCR (rectángulo amarillo), C (control negativo), M (marcador molecular).

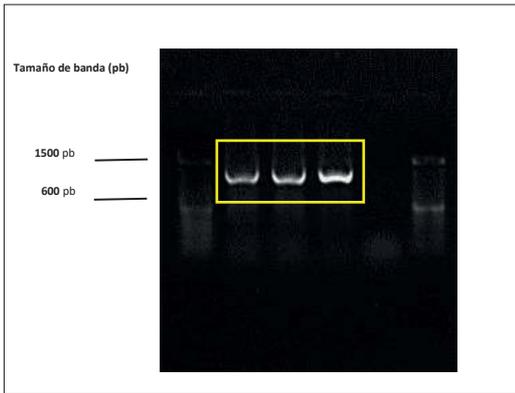


Figura 11. Amplificación de la región 16S RNAr para la cepa aislada Syn1 con los cebadores universales 27F y 1429R. Banda aproximadamente con 1200 pb. Electroforesis en gel de agarosa- TBE al 1%, los carriles Syn1.1 a Syn1.3 son réplicas de los productos de PCR (rectángulo amarillo), C (control negativo), M (marcador molecular).

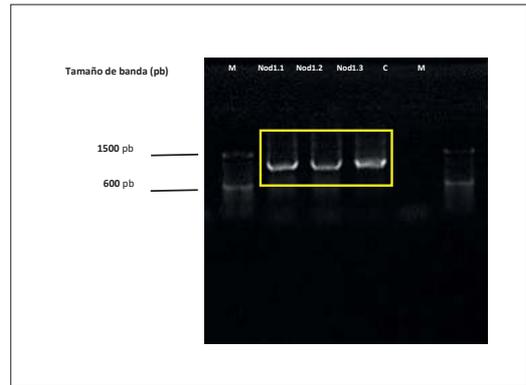


Figura 12. Amplificación de la región 16S RNAr para la cepa aislada Nod1 con los cebadores universales 27F y 1429R. Banda aproximadamente con 1200 pb. Electroforesis en gel de agarosa- TBE al 1%, los carriles Nod1.1 a Nod1.3 son réplicas de los productos de PCR, C (control negativo), M (marcador molecular).

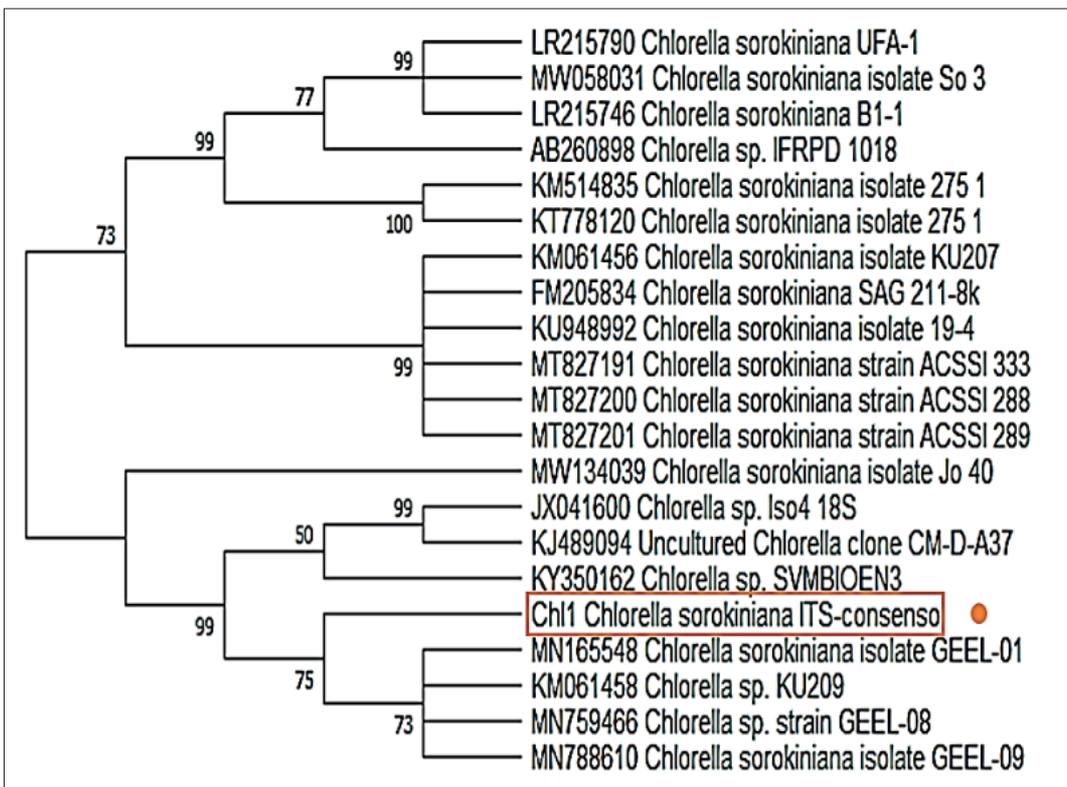


Figura 13. Dendrograma de agrupamiento para la muestra amplificada de la región ITS, en las piscinas de oxidación de la Comuna Engabao, Guayas. Método de agrupamiento por Máxima Verosimilitud (Maximum-likelihood), modelo de sustitución Tamura-Nei (TN93 + I + G) y aproximación de Bootstrapping de 1000 permutaciones. La cepa aislada en este estudio se representa como Ch1 Chlorella sorokiniana ITS-consenso.

Tabla 5. Secuencias del ADNr (ITS2, ITS, LSU y 16S RNAr), utilizadas en los análisis filogenéticos, porcentajes de similitud y los números de acceso de GenBank.

		<i>Synechococcus</i> sp.	<i>Nodosilinea</i> sp.	<i>Chlorella sorokiniana</i>
		Syn1	Nod1	Chls1
16S RNAr	E value	0.0		
	% similitud	97,47%		
	# accesión	KF912974		
16S RNAr	E value		0.0	
	% similitud		99,83%	
	# accesión		DQ085091	
ITS2	E value			0.0
	% similitud			99,48%
	# accesión			MN788610
ITS	E value			0.0
	% similitud			99,07%
	# accesión			MN165548
LSU	E value			0.0
	% similitud			99,77%
	# accesión			FR751191 <i>Micractinium reisseri</i>

con las que se realizó el análisis de similitud mediante la herramienta BLASTn de la base de datos del NCBI. La identificación molecular de la cepa aislada Chls1, secuenciada con los genes del espaciador transcrito interno 2 (ITS2), el espaciador transcrito interno (ITS), el ARN de la subunidad grande del ribosoma (LSU) y alineada mediante análisis BLASTn coincidió con la identidad morfológica establecida anteriormente llegando a nivel de género y especie. Las parejas de primers universales ITS2 y ITS presentaron un porcentaje de similitud del 99,48%, y 99,07% respectivamente con *Chlorella sorokiniana*, mientras que el primer LSU presentó un porcentaje de similitud de 99,77% con *Micractinium reisseri* (Tabla 5).

El análisis BLAST mostró que sus identidades moleculares de la región 16S RNAr eran consistentes con las identidades morfológicas de la cepa aislada Syn2, presentando un porcentaje de similitud del 97,47% con *Synechococcus* sp. (Tabla 4). Igualmente, la cepa aislada Nod3 se logró identificar morfológica y genéticamente mediante el uso del marcador molecular de la región 16S RNAr con un el 99,83% de similitud con *Nodosilinea* sp. (Tabla 5).

La homología de los resultados obtenidos de las secuencias con las asociadas en el GenBank

secundó la elaboración de análisis filogenéticos de cada región empleada de los tres microorganismos fitoplanctónicos.

Análisis filogenético

El uso de análisis filogenéticos permitió obtener una mayor confiabilidad en la identificación de las cepas aisladas de microorganismos fitoplanctónicos mediante las secuencias parciales de las regiones ITS2, ITS, LSU y de la región 16S RNAr, de tal forma, demostrando que estos pertenecen a la identificación presuntiva basada en caracteres fenotípicos. Se observa en la topología de árbol los aislados: Chls1 (*Chlorella sorokiniana*), Syn1 (*Synechococcus* sp.) y Nod1 (*Nodosilinea* sp.).

Se ha construido un árbol filogenético (fig. 13) con la secuencia consenso de la región ITS de *Chlorella sorokiniana*, comprobando la identificación taxonómica de la cepa con 75% Bootstrap (circulo naranja), compartiendo clado y secuencia genómica con otras especies de *Chlorella*. Los valores de probabilidad Bootstrap >75 % indican mayor fiabilidad. Para la construcción del siguiente árbol filogenético no se logró seleccionar un organismo que actuará como grupo externo debido a que la topografía de los árboles se vio afectada.

El árbol filogenético (Fig. 14) basado la secuencia consenso de la región ITS2 de *Chlorella sorokiniana* (ChI1), presenta identificación taxonómica con 96% Bootstrap (círculo naranja), compartiendo clado y secuencia genómica con otras especies del mundo. Se agregó 4 grupos externos de microorganismos que no pertenecen al grupo analizado, debido a que estos proporcionan información en relación a los caracteres ancestrales

En el análisis filogenético de la secuencia consenso de la región LSU (Fig. 15), se agrupó en el clado de las especies *Micractinium reisseri* y *Cocomyxa* sp., presentando ramas separadas (99%, 79% y 100% bootstrap). Comprobando la identificación taxonómica de la cepa con 75% Bootstrap (círculo

naranja). Los valores de probabilidad Bootstrap > 75 % indican mayor fiabilidad. Para la construcción del siguiente árbol filogenético no se logró seleccionar un organismo que actuará como grupo externo debido a que la topografía de los árboles se vio afectada.

El árbol filogenético de la secuencia consenso de la región 16S rRNA de *Synechococcus* sp. evidenció la identificación taxonómica de la cepa con 78% Bootstrap (círculo naranja). Todas las especies del NCBI comparte más del 50% de similitud con la Syn1. aislada de la comuna Engabao (Fig. 16).

Según el análisis filogenético utilizando secuencias de la región ARNr 16S, *Nodosilinea* sp. está más relacionada con *Leptolyngbya* sp. OBB32S02, con

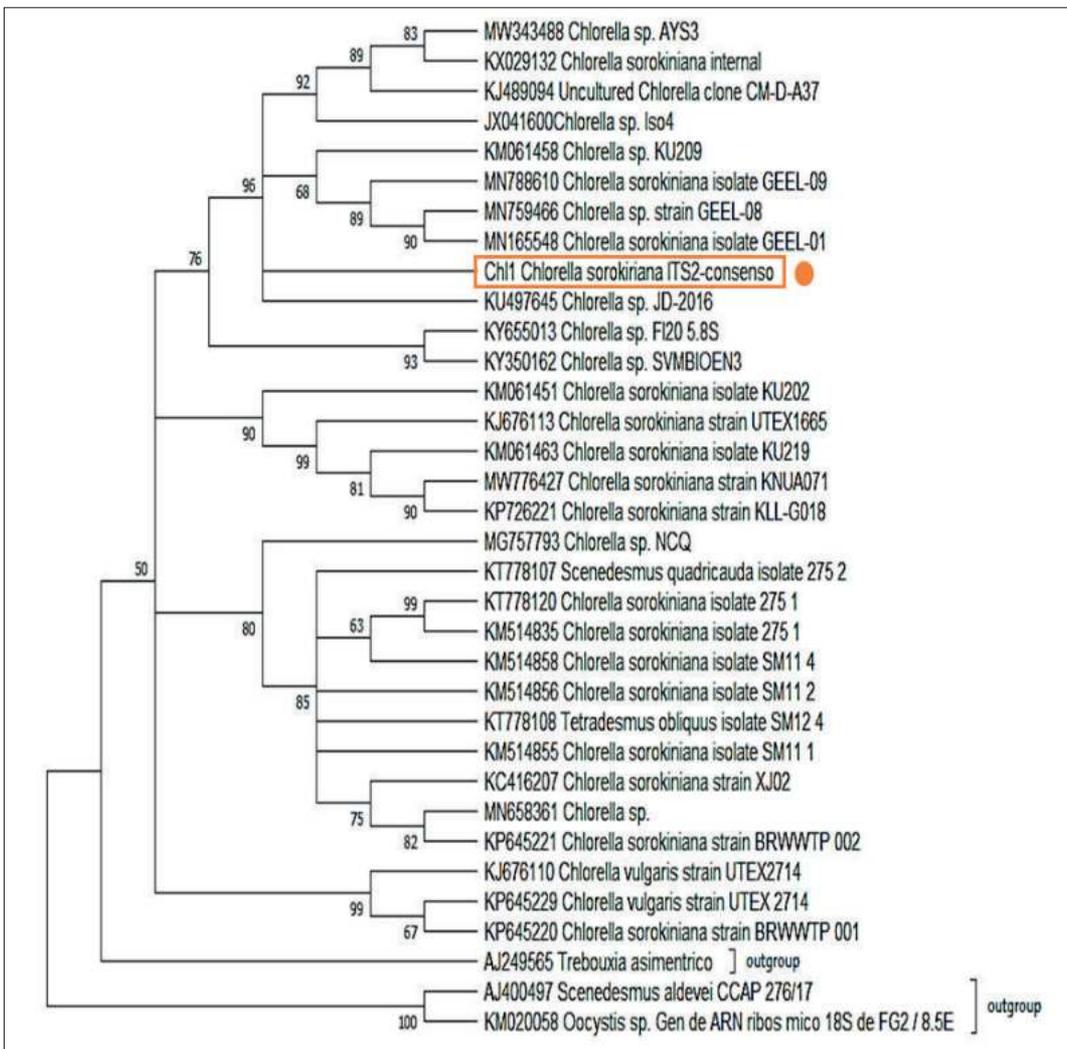


Figura 14. Dendrograma de agrupamiento para la muestra amplificada de la región ITS, en las piscinas de oxidación de la Comuna Engabao, Guayas. Método de agrupamiento por Máxima Verosimilitud (Maximum-likelihood), modelo de sustitución Tamura-Nei (TN93 + I + G) y aproximación de Bootstrapping de 1000 permutaciones. La cepa aislada en este estudio se representa como ChI1 *Chlorella sorokiniana* ITS2-consenso.

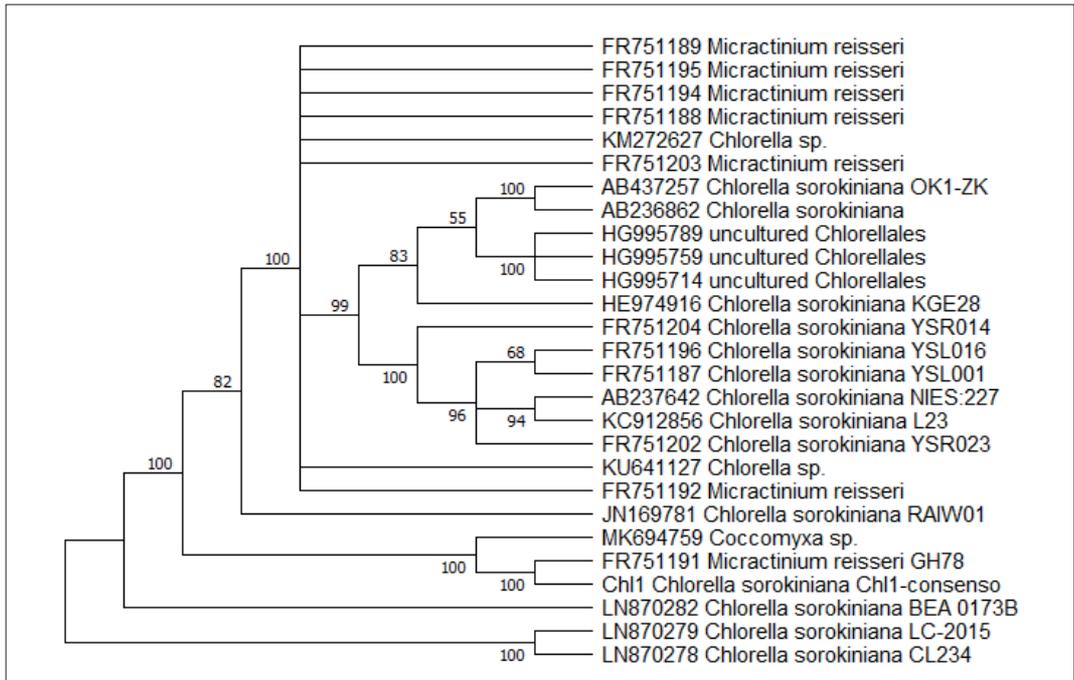


Figura 15. Dendrograma de agrupamiento para la muestra amplificada de la región LSU, en las piscinas de oxidación de la comuna Engabao, Guayas. Método de agrupamiento por Máxima Verosimilitud (Maximum-likelihood), modelo de sustitución Kimura 2 parámetros (K2+G) y aproximación de Bootstrapping de 1000 permutaciones. La cepa aislada en este estudio se representa como Chl1 *Chlorella sorokiniana* LSU-consenso.

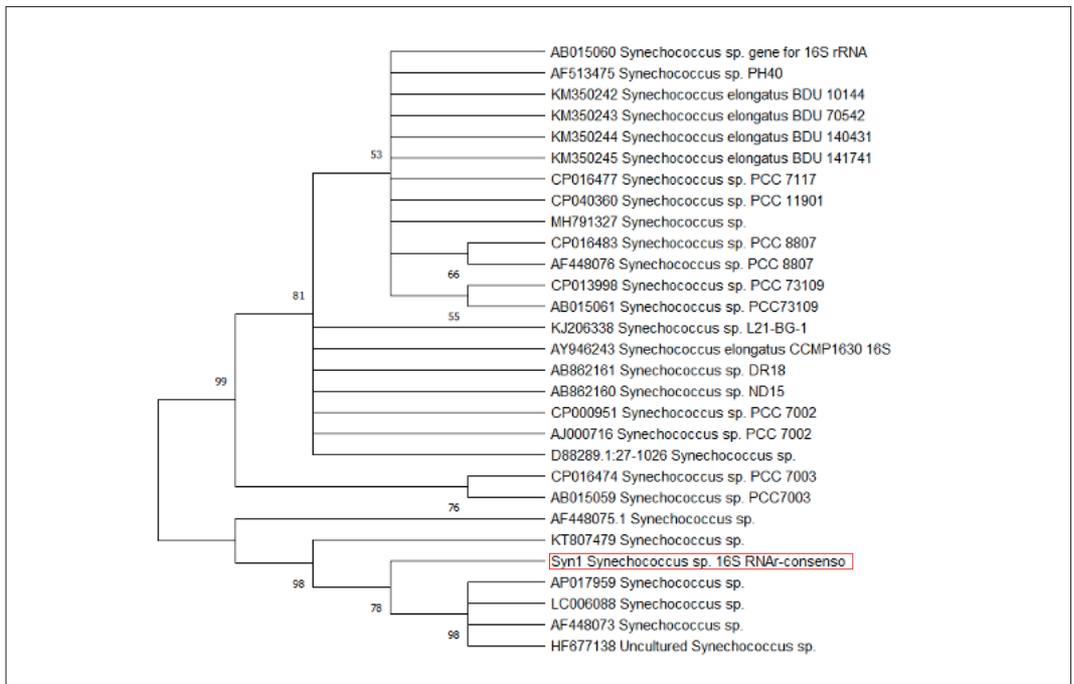


Figura 16. Dendrograma de agrupamiento para la muestra amplificada del gen 16S rRNA. Método de agrupamiento por Máxima Verosimilitud (Maximum-likelihood), modelo de sustitución Jukes-Cantor (JC+ G) y aproximación de Bootstrapping de 1000 permutaciones. La cepa aislada en este estudio se representa como Syn1 *Synechococcus* sp. 16S rRNA-consenso.

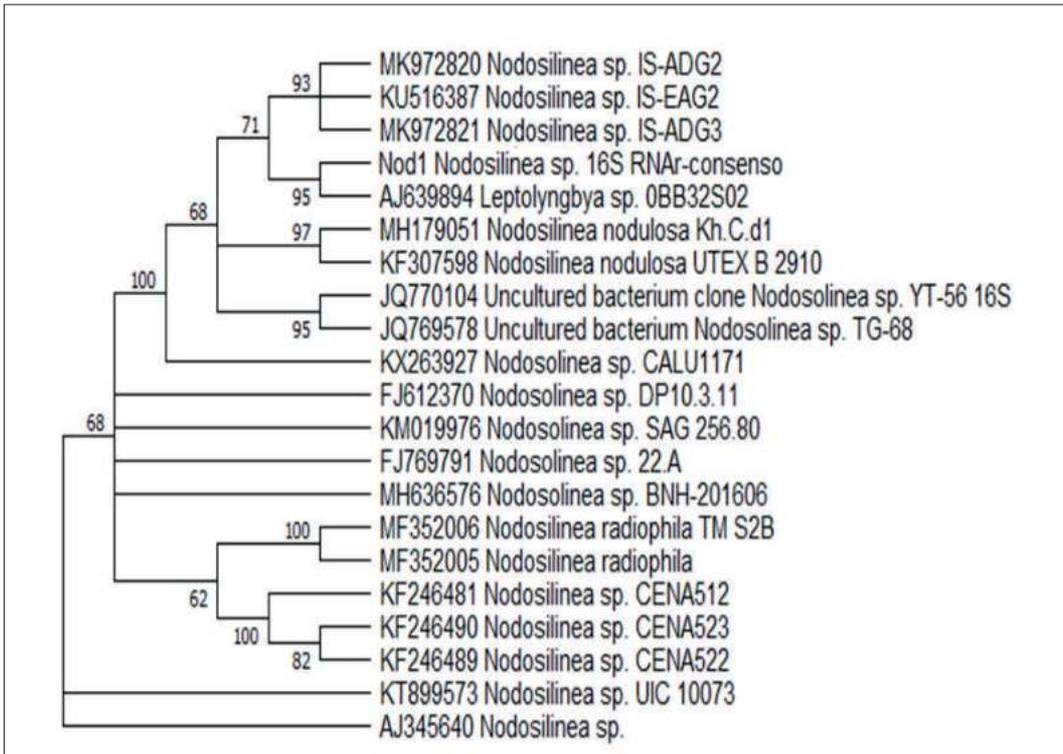


Figura 17. Dendrograma de agrupamiento para la muestra amplificada del gen 16S RNAr. Método de agrupamiento por Máxima Verosimilitud (Maximum-likelihood), modelo de sustitución Kimura 2 - parámetros (K2+G+I) y aproximación de Bootstrapping de 1000 permutaciones. La cepa aislada en este estudio se representa como Nod1 Nodosilinea sp. 16S RNAr-consenso.

una identidad del 95%. La estructura de los dominios conservados 16S RNAr proporciona confirmación adicional de la similitud filogenética entre todas las especies de *Nodosilinea* sp. presentada en este estudio y la del NCBI (Fig. 17). Por ello, es importante hacer énfasis en que el género *Nodosilinea* fue descrito hace menos de una década, muchas secuencias en bases de datos moleculares pertenecen al clado *Nodosilinea*, como se ilustra en el análisis filogenético. Es un género que alberga especies crípticas.

Conclusiones

Los resultados obtenidos del enfoque polifásico mediante caracteres fenotípicos y genotípicos, permitió la identificación taxonómica de tres cepas de microorganismos fitoplanctónicos aislados de piscinas de oxidación de la comuna de Engabao, en la provincia del Guayas, Ecuador, se desarrollaron en medios de cultivos óptimos: BG11 pH 7.8 y Zarrouk 9.9.

La extracción y purificación de ADNg con biomasa cultivada durante 7 días demostró que la cantidad y calidad del ADNg era óptima para la amplificación por PCR y secuenciación.

Mediante el uso de técnicas moleculares con los *primers* universales: ITS2, ITS y LSU, se identificó una cepa de microalga hasta nivel de especie: *Chlorella*

sorokiniana, mientras que, empleando el primer 16S RNAr se identificó a nivel de género dos cepas de cianobacterias: *Synechococcus* sp. y *Nodosilinea* sp.

Las secuencias consenso obtenidas de la amplificación demostraron que a pesar de no emplear cebadores específicos, el uso de varias regiones aplicadas a una misma especie, aumenta la confiabilidad en la identificación taxonómica y filogenética.

Recomendaciones

- Seguir investigando las especies fitoplanctónicas que habitan en las piscinas de oxidación de la comuna Engabao y las aplicaciones biotecnológicas para contribuir con la economía de la comuna, cambiando la matriz productiva.
- Emplear enfoques polifásicos para determinar la identidad taxonómica de varias especies aisladas de aguas residuales.
- Uso de *primers* específicos para la amplificación de ADNg de cepas fitoplanctónicas.
- Aplicar varios *primers* para una misma especie como son ITS, 16S RNAr, 18S RNAr, SSU y 23S RNAr, con el fin de establecer relaciones taxonómicas

y filogenéticas más confiables a nivel género y especie.

- Actualización de la base de datos de GenBank en relación a especies crípticas como es el caso de las cianobacterias.

Referencias

- Allen, M. M. 1968. Simple conditions for growth of unicellular Blue-Green Algae on plates. *Journal of Phycology*, 4(1), 1-4. <https://doi.org/10.1111/J.1529-8817.1968.TB04667.X>
- Amara, A. A., y Steinbüchel, A. 2013. New Medium for Pharmaceutical Grade *Arthrospira*. *International Journal of Bacteriology*, 2013, 1-9. <https://doi.org/10.1155/2013/203432>
- Andersen, R. A. 2005. *Algal Culturing Techniques* (p. 578). Phycological Society of America.
- Andrade, C., Vera, A., Cárdenas, C., y Morales, E. 2009. Biomass production of microalga *Scenedesmus* sp. with wastewater from fishery. *Revista Técnica de La Facultad de Ingeniería Universidad del Zulia*, 32(2), 126-134.
- Arredondo, B., Voltolina, D., Zenteno, T., y Arce, M. 2007. Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal. Centro de Investigaciones Biológicas del Norte, S. C. <http://dspace.cibnor.mx:8080/handle/123456789/1403>
- Bain, B. J. 1998. Lymphomas and reactive lymphoid lesions in HIV infection. *Haematology Blood Reviews*, 12(2), 154-162.
- Ballesteros, I., Terán, P., Guamán-Burneo, C., González, N., Cruz, A., y Castillejo, P. 2021. DNA barcoding approach to characterize microalgae isolated from freshwater systems in Ecuador. *Biodiversidad Neotropical*, 7(1), 170-183. <https://doi.org/10.1080/23766808.2021.1920296>
- Barsanti, L., y Gualtieri, P. 2014. *Algae: Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology*. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/B16544>
- Baurain, D., Renquin, L., Grubisic, S., Scheldeman, P., Belay, A., y Wilmotte, A. 2002. Remarkable Conservation of Internally Transcribed Spacer sequences of *Arthrospira* ("Spirulina") (Cyanophyceae, Cyanobacteria) strains from four continents and of recent and 30 year old dried samples from Africa. *Journal of Phycology*, 38(2), 384-393. <https://doi.org/10.1046/J.1529-8817.2002.01010.X>
- Begum, H., Yusoff, F. M. D., Banerjee, S., Khatoon, H., y Shariff, M. 2016. Availability and Utilization of Pigments from Microalgae. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(13), 2209-2222. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.764841>
- Berrendero, E., Perona, E., y Mateo, P. 2008. Genetic and morphological characterization of *Rivularia* and *Calothrix* (Nostocales, Cyanobacteria) from running water. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58(2), 447-460. <https://doi.org/10.1099/IJS.0.65273-0>
- Blaxter, M. L. 2004. The promise of a DNA taxonomy. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 359(1444), 669-679. <https://doi.org/10.1098/RSTB.2003.1447>
- Brennan, L., y Owende, P. 2010. Biofuels from microalgae—A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(2), 557-577. <https://doi.org/10.1016/J.RSER.2009.10.009>
- Brodie, J., y Lewis, J. 2007. *Unravelling the algae: the past, present, and future of algal systematics*. CRC Press.
- Carty, S., y Hall, J. D. 2002. *Desmids and Dinoflagellates of Ecuador*. *Journal of Phycology*, 38(1), 2-12. <https://doi.org/10.1046/J.1529-8817.38.51.54.X>
- Chäib, S., Pistevos, J. C. A., Bertrand, C., y Bonnard, I. 2021. Allelopathy and allelochemicals from microalgae: An innovative source for bio-herbicidal compounds and biocontrol research. *Algal Research*, 54(2), 102-213. <https://doi.org/10.1016/J.ALGAL.2021.102213>
- Chan, M. C., Ho, S. H., Lee, D. J., Chen, C. Y., Huang, C. C., y Chang, J. S. 2013. Characterization, extraction and purification of lutein produced by an indigenous microalga *Scenedesmus obliquus* CNW-N. *Biochemical Engineering Journal*, 78, 24-31. <https://doi.org/10.1016/J.BEJ.2012.11.017>
- Chen, S., Yao, H., Han, J., Liu, C., Song, J., Shi, L., Zhu, Y., Ma, X., Gao, T., Pang, X., Luo, K., Li, Y., Li, X., Jia, X., Lin, Y., y Leon, C. 2010. Validation of the ITS2 Region as a Novel DNA Barcode for Identifying Medicinal Plant Species. *PLOS ONE*, 5(1), 86-13. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0008613>
- Cheng, X., Chen, X., Su, X., Zhao, H., Han, M., Bo, C., Xu, J., Bai, H., y Ning, K. 2014. DNA Extraction Protocol for Biological Ingredient Analysis of Liuwei Dihuang Wan. *Genomics, Proteomics and Bioinformatics*, 12(3), 137-143. <https://doi.org/10.1016/J.GPB.2014.03.002>
- Chun, J., Lee, J.-H., Jung, Y., Kim, M., Kim, S., Kim, B. K., y Lim, Y.-W. 2007. EzTaxon: a web-based tool for the identification of prokaryotes based on 16S ribosomal RNA gene sequences. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57(10), 2259-2261. <https://doi.org/10.1099/IJS.0.64915-0>
- Colla, G., y Roupael, Y. 2020. Microalgae: New Source of Plant Biostimulants. *Agronomy* 2020, 10(9), 1240. <https://doi.org/10.3390/AGRONOMY10091240>
- Conklin, K. Y., Stancheva, R., Otten, T. G., Fadness, R., Boyer, G. L., Read, B., Zhang, X., y Sheath, R. G. 2020. Molecular and morphological characterization of a novel dihydroanatoxin-a producing *Microcoleus* species (cyanobacteria) from the Russian River, California, USA. *Harmful Algae*, 93, 101767. <https://doi.org/10.1016/J.HAL.2020.101767>
- Cornejo, A., Serrato, A., Rendón, B., y Rocha, M. 2015. Herramientas moleculares aplicadas en ecología: aspectos teóricos y prácticos. *Herramientas Moleculares Aplicadas en Ecología*, 13(3), 175-202.
- Darienko, T., Gustavs, L., Eggert, A., Wolf, W., y Pröschold, T. 2015. Evaluating the species boundaries of green microalgae (*Coccomyxa*, Trebouxiophyceae, Chlorophyta) using integrative taxonomy and DNA Barcoding with further implications for the species identification in environmental samples. *PLOS ONE*, 10(6), 127-838. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0127838>
- Davydov, D., Shalygin, S., y Vilnet, A. 2020. New cyanobacterium *Nodosilinea svalbardensis* sp. nov. (Prochlorotrichaceae, Synechococcales) isolated from alluvium in Mimer river valley of the Svalbard archipelago. *Phytotaxa*, 442(2), 61-79.
- de-Bashan, L. E., Trejo, A., Huss, V. A. R., Hernandez, J. P., y Bashan, Y. 2008. *Chlorella sorokiniana* UTEX 2805, a heat and intense, sunlight-tolerant microalga with potential for removing ammonium from wastewater. *Bioresource Technology*, 99(11), 4980-4989. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2007.09.065>
- Demay, J., Bernard, C., Reinhardt, A., y Marie, B. 2019. Natural Products from Cyanobacteria: Focus on beneficial activities. *Marine Drugs*, 17(6), 320. <https://doi.org/10.3390/MD17060320>
- Doyle, J. J., y Doyle. 1897. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19, 11-15. <https://www.scrip.org/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=695827>
- Dufossé, L., Galaup, P., Yaron, A., Arad, S. M., Blanc, P., Murthy, K. N. C., y Ravishanker, G. A. 2005. Microorganisms and microalgae as sources of pigments for food use: a scientific oddity or an industrial reality? *Trends in Food Science & Technology*, 16(9), 389-406. <https://doi.org/10.1016/J.TFS.2005.08.001>

- org/10.1016/J.TIFS.2005.02.006
- Ende, S. S. W., y Noke, A. 2019. Heterotrophic microalgae production on food waste and by-products. *Journal of Applied Phycology* 2018 31(3), 1565-1571. <https://doi.org/10.1007/S10811-018-1697-6>
- Falcatore, A., Jaubert, M., Bouly, J.-P., Bailleul, B., y Mock, T. 2020. Diatom Molecular Research Comes of Age: Model Species for Studying Phytoplankton Biology and Diversity. *The Plant Cell*, 32(3), 547-572. <https://doi.org/10.1105/TPC.19.00158>
- Fawley, M. W., y Fawley, K. P. 2020. Identification of eukaryotic microalgal strains. *Journal of Applied Phycology* 2020 32:5, 32(5), 2699-2709. <https://doi.org/10.1007/S10811-020-02190-5>
- Fernández-Aláez, C., Fernández-Aláez, M., Santiago, N. F., y Aboal, M. 2012. ID-tax. Catálogo y claves de identificación de organismos del grupo macrófitos utilizados como elementos de calidad en las redes de control de estado ecológico. *Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente: Madrid, Spain.*
- Fernández, E., Schnell, R., Ranum, L. P., Hussey, S. C., Silflow, C. D., y Lefebvre, P. A. 1989. Isolation and characterization of the nitrate reductase structural gene of *Chlamydomonas reinhardtii*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 86(17), 6449-6453.
- Ferrao-Filho, A., y Moscatelli, M. 2020. Recreational risk associated with the presence of Cyanobacteria in the Baixada de Jacarepaguá Lagoon Complex estuary, Rio de Janeiro, RJ, Brazil. *SciELO*, 2, 1-10. <https://doi.org/doi.org/10.1590/SciELOPreprints.1395>
- Fiore, M. F., Moon, D. H., Tsai, S. M., Lee, H., y Trevors, J. T. 2000. Miniprep DNA isolation from unicellular and filamentous Cyanobacteria. *Journal of Microbiological Methods*, 39(2), 159-169. [https://doi.org/10.1016/S0167-7012\(99\)00110-4](https://doi.org/10.1016/S0167-7012(99)00110-4)
- Flores, F., Maldonado, S., y Ortiz, J. 2016. Identificación molecular de microalgas clorófitas del Ecuador. *Departamento de Ciencias de La Vida y La Agricultura*, 1-2.
- Furtado, A. 2007. *Isolamento, morfologia, análises moleculares e testes toxicológicos de cianobactérias em lagoa facultativa de sistema de estabilização (Cajati-SP)* [Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo]. <https://doi.org/10.11606/T.18.2007.TDE-29052008-220602>
- Gantar, M., y Svirčev, Z. 2008. Microalgae and Cyanobacteria: Food for thought. *Journal of Phycology*, 44(2), 260-268. <https://doi.org/10.1111/J.1529-8817.2008.00469.X>
- García, J., Pavia, M., García, T., Chirivella, J., y Serrano, A. 2017. Principios de Biotecnología y Bioingeniería en el cultivo de microalgas: importancia, problemas tecnológicos, tipos y sistemas de cultivos, crecimiento, factores limitantes, selección, aislamiento, escalado y caracterización bioquímica. *Nereis*, 9, 115-129. <https://doi.org/108.128.142.30>
- Gómez, O., Guerrero, M., Meneses, K., y Núñez, K. 2018. Identificación de una colección de microalgas aisladas de Costa Rica mediante secuenciación de ADNr 18S. *Acta Biológica Colombiana*, 23(2), 199-204. <https://doi.org/10.15446/ABC.V23N2.68088>
- Gouveia, L., Marques, A. E., Sousa, J. M., Moura, P., y Bandarra, N. M. 2010. Microalgae-source of natural bioactive molecules as functional ingredients. *Food Science and Technology, Bull. Funct. Foods*, 7(2), 21-37. <https://doi.org/10.1616/1476-2137.15884>
- Greco, M., Sáez, C. A., Brown, M. T., y Bitonti, M. B. 2014. A Simple and Effective Method for High Quality Co-Extraction of Genomic DNA and Total RNA from Low Biomass *Ectocarpus siliculosus*, the model brown algae. *PLOS ONE*, 9(5), 96-120. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0096470>
- Guamán, M., y González, N. 2016. Catálogo de microalgas y cianobacterias de agua dulce del Ecuador. *Corporación Para La Investigación Energética*, 143.
- Guillard, R. R. L. 1973. Division rates. *Handbook of Phycological Methods: Culture Methods and Growth Measurements*.
- Haneda, R. N., Vieira, B. H., Fontes, S. R., Ombardi, G., Casali, C. A., & Lombardi, A. T. 2015. Biochemical composition of *Chlorella sorokiniana* grown in a novel design of hybrid photobioreactor. *J. Microb. Biochem. Technol.*, 7(2), 76-082. <https://doi.org/10.4172/1948-5948.1000185>
- Hollingsworth, P. M., Forrest, L. L., Spouge, J. L., Hajibabaei, M., Ratnasingham, S., Bank, M. van der, Chase, M. W., Cowan, R. S., Erickson, D. L., Fazekas, A. J., Graham, S. W., James, K. E., Kim, K.-J., Kress, W. J., Schneider, H., AlphenStahl, J. van, Barrett, S. C. H., Berg, C. van den, Bogarin, D., ... y Little, D. P. 2009. A DNA barcode for land plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(31), 12794-12797. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0905845106>
- Janssen, P. J., Morin, N., Mergeay, M., Leroy, B., Wattiez, R., Vallaeys, T., Waleron, K., Waleron, M., Wilmotte, A., Quillardet, P., Tandeau De Marsac, N., Talla, E., Zhang, C. C., y Leys, N. 2010. Genome sequence of the edible cyanobacterium *Arthrospira* sp. PCC 8005. *Journal of Bacteriology*, 192(9), 2465-2466. <https://doi.org/10.1128/JB.00116-10>
- Jeffrey, S. W., Wright, S. W., y Zapata, M. 2011. Microalgal classes and their signature pigments. *Phytoplankton Pigments*, 3-77. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511732263.004>
- Johansen, J. R., Kovacic, L., Kaštovský, J., y Casamatta, D. A. 2011. A unique Pseudanabaenalean (Cyanobacteria) genus *Nodosilinea* gen. nov. based on morphological and molecular data. *Journal of Phycology*, 47, 1397-1412. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2011.01077.x>
- Jung, P., Schermer, M., Briegel-Williams, L., Baumann, K., Leinweber, P., Karsten, U., Lehnert, L., Achilles, S., Bendix, J., y Büdel, B. 2019. Water availability shapes edaphic and lithic cyanobacterial communities in the Atacama desert. *Journal of Phycology*, 55(6), 1306-1318. <https://doi.org/10.1111/JPY.12908>
- Kalendar, R., Muterko, A., Shamekova, M., y Zhambakin, K. 2017. In silico PCR tools for a fast primer, probe, and advanced searching. *Methods in Molecular Biology*, 1620, 1-31. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7060-5_1
- Kazi, M. A., Reddy, C. R. K., y Jha, B. 2013. Molecular Phylogeny and Barcoding of *Caulerpa* (Bryopsidales) Based on the tufA, rbcL, 18S rDNA and ITS rDNA Genes. *PLOS ONE*, 8(12), 24-38. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0082438>
- Koksharova, O. A., Kravzova, T. R., Lazebnaya, I. V., Gorelova, O. A., Baulina, O. I., Lazebny, O. E., Fedorenko, T. A., y Lobakova, E. S. 2013. Molecular identification and ultrastructural and phylogenetic studies of cyanobacteria from association with the white sea hydroid *Dynamena pumila* (L., 1758). *BioMed Research International*, 2(3), 1-23. <https://doi.org/10.1155/2013/760681>
- Komárek, J., Kaštovský, J., Mareš, J., y Johansen, J. R. 2014. Taxonomic classification of cyanoprokaryotes (cyanobacterial genera) 2014, using a polyphasic approach. *Preslia*, 86(4), 295-335.
- Krienitz, L., Wolf, M., Hegewald, E., y Hepperle, D. 2002. Systematics of Coccoid Green Algae: Morphology vs. 18S rRNA Gene Phylogeny. *Journal of Phycology*, 38(s1), 19-20. <https://doi.org/10.1046/J.1529-8817.38.S1.57.X>
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Nnyaz, C., y Tamura, K. 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), 1547. <https://doi.org/10.1093/MOLBEV/MSY096>
- Lebonah, D. E., Dileep, A., Chandrasekhar, K., Sreevani, S., Sreedevi, B., y Pramoda Kumari, J. 2014. DNA Barcoding on Bacteria: A Review. *Advances in Biology*, 2014, 1-9. <https://doi.org/10.1155/2014/541787>
- Lee, R. E. 2008. Microalgae. En *Phycology, Fourth edition* (p. 547). Cambridge University Press. <https://doi.org/978-0->

- 521-86408-4
- Lloyd, C., Tan, K. H., Lim, K. L., Valu, V. G., Fun, S. M. Y., Chye, T. R., Mak, H. M., Sim, W. X., Musa, S. L., Ng, J. J. Q., Bte Nordin, N. S., Bte Md Aidzil, N., Eng, Z. Y. W., Manickavasagam, P., y New, J. Y. 2021. Identification of microalgae cultured in Bold's Basal medium from freshwater samples, from a high-rise city. *Scientific Reports* 2021 11:1, 11(1), 1-6. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84112-0>
- López-Osorio, R., Cañón-Páez, M. L., y Gracia-Escobar, M. F. 2011. Catálogo de Fitoplancton de la Bahía de Cartagena, Bahía Portete y Agua de Lagrestre. In *Dirección General Marítima- Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas del Caribe. Ed. Dimar, Serie de Publicaciones Especiales CIOH* (p. 135). <https://doi.org/10.26640/52.2011>
- Luo, W., Pröschold, T., Bock, C., y Krienitz, L. 2010. Generic concept in *Chlorella*-related coccoid green algae (Chlorophyta, Trebouxiophyceae). *Plant Biology (Stuttgart, Germany)*, 12(3), 545-553. <https://doi.org/10.1111/J.1438-8677.2009.00221.X>
- Madden, T. (2012). The BLAST Sequence Analysis Tool. In *The NCBI handbook* (2nd ed., p. 15).
- McCourt, R. M., Park, J., Hewitt, D. A., y Karol, K. G. 2002. Phylogeny of the Conjugating Green Algae (Zygnematales and Desmidiaceae) Based on Plastid and Mitochondrial Gene Sequences. *Journal of Phycology*, 38, 26-26. <https://doi.org/10.1046/J.1529-8817.38.51.75.X>
- Molins, A., Moya, P., García-Breijlo, F. J., Reig-Armiñana, J., y Barreno, E. 2018. Molecular and morphological diversity of *Trebouxia* microalgae in sphaerothalloid *Circinaria* spp. lichens. *Journal of Phycology*, 54(4), 494-504. <https://doi.org/10.1111/JPY.12751>
- Morales, E., Luna, V., Navarro, L., Santana, V., Gordillo, A., y Arévalo, A. 2013. Diversidad de microalgas y cianobacterias en muestras provenientes de diferentes provincias del Ecuador, destinadas a una colección de cultivos. *Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas*, 34(1-2), 129-149. <https://doi.org/10.26807/REMCB.V3411-2.240>
- Morales, F. 2015. Associação da ocorrência de cianobactérias às variações de qualidade do efluente na lagoa de estabilização de Santa Eudóxia - São Carlos, SP e suas interferências no corpo receptor. *Centro de Ciências Exactas y Tecnología*, 45-67.
- Moreno, M., Ortiz, C., Sánchez, J., Padilla, J., y Otero, A. 2012. Evaluación del crecimiento de la microalga *Chlorella sorokiniana* en diferentes medios de cultivo en condiciones autotróficas y mixotróficas. *Orinoquia*, 16(1), 11-20. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=89625076002>
- Morin, N., Vallaey, T., Hendrickx, L., Natalie, L., y Wilmette, A. 2010. An efficient DNA isolation protocol for filamentous cyanobacteria of the genus *Arthrospira*. *Journal of Microbiological Methods*, 80(2), 148-154. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2009.11.012>
- Moronta, R., Mora, R., y Morales, E. 2006. Respuesta de la microalga *Chlorella sorokiniana* al pH, salinidad y temperatura en condiciones axénicas y no axénicas. *Revista de La Facultad de Agronomía*, 23(1), 28-43.
- Nägeli, C. 1849. Gattungen einzelliger Algen physiologisch und systematisch bearbeitet. *Friedrich Schulthess*.
- Neofotis, P., Huang, A., Sury, K., Chang, W., Joseph, F., Gabr, A., Twary, S., Qiu, W., Holguin, O., y Polle, J. E. W. 2016. Characterization and classification of highly productive microalgae strains discovered for biofuel and bioproduct generation. *Algal Research*, 15, 164-178. <https://doi.org/10.1016/J.ALGAL.2016.01.007>
- Nicoletti, M. 2016. Microalgae Nutraceuticals. *Foods*, 5(3), 54. <https://doi.org/10.3390/FOODS5030054>
- Niiyama, Y. 2012. New classification system for Oscillatoriales, Cyanophyceae. *Japanese Journal of Limnology (Rikusuigaku Zasshi)*, 73(3), 187-196. <https://doi.org/10.3739/RIKUSUI.73.187>
- Oliveira, E. D. C., Castelo-Branco, R., Silva, L., Silva, N., Azevedo, J., Vasconcelos, V., Faustino, S., y Cunha, A. 2019. First detection of microcystin-Lr in the amazon river at the drinking water treatment plant of the municipality of Macapá, Brazil. *Toxins*, 11(11). <https://doi.org/10.3390/TOXINS11110669>
- Osorio, K., Pietrasiak, N., Bohunická, M., Miscoe, L. H., Kováčik, L., Martin, M. P., y Johansen, J. R. 2014. Seven new species of *Oculatella* (Pseudanabaenales, Cyanobacteria): taxonomically recognizing cryptic diversification. *European Journal of Phycology*, 49(4), 450-470. <https://doi.org/10.1080/09670262.2014.976843>
- Padisák, J., Vasas, G., y Borics, G. 2015. Phycogeography of freshwater phytoplankton: traditional knowledge and new molecular tools. *Hydrobiologia* 2015 764:1, 764(1), 3-27. <https://doi.org/10.1007/S10750-015-2259-4>
- Pancha, I., Chokshi, K., George, B., Ghosh, T., Patiwal, C., Maurya, R., y Mishra, S. 2014. Nitrogen stress triggered biochemical and morphological changes in the microalgae *Scenedesmus* sp. CCNM 1077. *Bioresource Technology*, 156, 146-154. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2014.01.025>
- Pangestuti, R., Suryaningtyas, I. T., Siahaan, E. A., y Kim, S.-K. 2020. Cosmetics and Cosmeceutical Applications of Microalgae Pigments. *Pigments from Microalgae Handbook*, 1(1), 611-633. https://doi.org/10.1007/978-3-030-50971-2_25
- Pineda, R., Martínez, F., Garduño, G., y Olvera, R. 2011. Caracterización morfológica y molecular de cianobacterias filamentosas aisladas de florecimientos de tres lagos urbanos eutróficos de la ciudad de México. *POLIBOTANICA*, 31, 31-50.
- Radha, S., Fathima, A. A., Iyappan, S., y Ramya, M. 2012. Direct colony PCR for rapid identification of varied microalgae from freshwater environment. *Journal of Applied Phycology* 2012 25:2, 25(2), 609-613. <https://doi.org/10.1007/S10811-012-9895-0>
- Radzi, R., Muangmai, N., Broady, P., Omar, W. M. W., Lavoue, S., Convey, P., y Merican, F. 2019. *Nodosilinea signiensis* sp. nov. (Leptolyngbyaceae, Synechococcales), a new terrestrial cyanobacterium isolated from mats collected on Signy Island, South Orkney Islands, Antarctica. *PLOS ONE*, 14(11), e0224395. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0224395>
- Rippka, R. 1988. Recognition and Identification of Cyanobacteria. *Methods in Enzymology*, 167, 28-67. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(88\)67005-4](https://doi.org/10.1016/0076-6879(88)67005-4)
- Romero, J. 2019. Caracterización de compuestos antioxidantes carotenoides y polifenoles presentes en las microalgas *Chlorella* sp. y *Nannochloropsis oculata* cultivadas *in vitro* con potencial nutricional [Tesis Magister, Universidad de Cuenca]. <https://fiqa.epn.edu.ec/index.php/nmaestrias/biociencias-aplicadas-mbd>
- Rosales, N., Ortega, J., Mora, R., y Morales, E. 2005. Influencia de la salinidad sobre crecimiento y composición bioquímica de la cianobacteria *Synechococcus* sp. *Ciencias Marinas*, 31(2), 349-355. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=50185-38802005000300003&script=sci_arttext
- Ruocco, N., Mutalipassi, M., Pollio, A., Costantini, S., Costantini, M., y Zupo, V. 2018. First evidence of *Halomicronema metazoicum* (Cyanobacteria) free-living on *Posidonia oceanica* leaves. *PLOS ONE*, 13(10), 49-54. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0204954>
- Saiki, R., Gelfand, D., Stoffel, S., Scharf, S., Higuchi, R., Horn, G., Mullis, K., y Erlich, H. 1988. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*, 239(4839), 487-491. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.239.4839.487>
- Sambrook, J., y Russell, D. W. 2001. Molecular Cloning-Sambrook & Russel-Vol. 1, 2, 3. *Cold Springs Harbour Laboratory Press*.

- Samylin, O. S., Sapozhnikov, F. V., Gainanova, O. Y., Ryabova, A. V., Nikitin, M. A., y Sorokin, D. Y. 2014. Algo-bacterial communities of the Kulunda steppe (Altai Region, Russia) Soda Lakes. *Microbiology* 2014 83:6, 83(6), 849-860. <https://doi.org/10.1134/S0026261714060162>
- Schuelter, A. R., Kroumov, A. D., Hinterholz, C. L., Fiorini, A., Trigueros, D. E. G., Vendruscolo, E. G., Zaharieva, M. M., y Módenes, A. N. 2019. Isolation and identification of new microalgae strains with antibacterial activity on food-borne pathogens. Engineering approach to optimize synthesis of desired metabolites. *Biochemical Engineering Journal*, 144, 28-39. <https://doi.org/10.1016/J.BEJ.2019.01.007>
- Shihira, I., y Krauss, R. W. 1965. *Chlorella* Physiology and Taxonomy of Forty-one Isolates. *Maryland: Universidad de Maryland, College Park*, 1-97.
- Silva, C. S. P., Genuário, D. B., Vaz, M. G. M. V., y Fiore, M. F. 2014. Phylogeny of culturable cyanobacteria from Brazilian mangroves. *Systematic and Applied Microbiology*, 37(2), 100-112. <https://doi.org/10.1016/J.SYAPM.2013.12.003>
- Skulberg, O. M. 2000. Microalgae as a source of bioactive molecules - experience from cyanophyte research. *Applied Phycology*, 12(3), 341-348. <https://doi.org/10.1023/A:1008140403621>
- Smetana, S., Sandmann, M., Rohn, S., Pleissner, D., y Heinz, V. 2017. Autotrophic and heterotrophic microalgae and cyanobacteria cultivation for food and feed: life cycle assessment. *Bioresource Technology*, 245, 162-170. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2017.08.113>
- Solovchenko, A. E., Gorelova, O. A., Baulina, O. I., Selyakh, I. O., Semenova, L. R., Chivkunova, O. B., Scherbakov, P. N., y Lobakova, E. S. 2015. Physiological plasticity of symbiotic *Desmodesmus* (Chlorophyceae) isolated from taxonomically distant white sea invertebrates. *Russian Journal of Plant Physiology*, 62(5), 653-663. <https://doi.org/10.1134/S1021443715050167>
- Strickland, J., y Parsons, T. 1972. *A practical handbook of seawater analysis* (167th ed.). Fisheries Research Board of Canada.
- Talling, J. F., y Driver, D. 1961. Some problems in the estimation of chlorophyll *a* En *Phytoplankton: proceedings, Conference of Primary Productivity Measurement, Marine and Freshwater*. En *M. S Doty* (pp. 142-146).
- Tello, A., y Guerrero, M. 2016. *Purificación de ADN genómico y ARN total de tres especies de microalgas oleaginosas Ankistrodesmus sp. Chlorella sp. y Scenedesmus sp.* [Tesis de grado, Universidad Científica del Perú]. <http://repositorio.ucp.edu.pe/handle/UCP/900>
- Tenorio, L., Hernández, H., y Aguirre, M. 2018. Manual para obtención de cepas de microalgas. *Instituto del Mar del Perú*, 45(2), 277-291. <https://repositorio.imarpe.gob.pe/handle/20.500.12958/3285>
- Tomitani, A., Knoll, A. H., Cavanaugh, C. M., y Ohno, T. 2006. The evolutionary diversification of cyanobacteria: Molecular-phylogenetic and paleontological perspectives. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(14), 5442-5447. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0600999103>
- Turner, S., Pryer, K. M., Miao, V. P. W., y Palmer, J. D. 1999. Investigating deep phylogenetic relationships among cyanobacteria and plastids by small subunit rRNA sequence analysis. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 46, 327-338.
- Úveges, V., Tapolczai, K., Krienitz, L., y Padisák, J. 2012. Photosynthetic characteristics and physiological plasticity of an *Aphanizomenon flos-aquae* (Cyanobacteria, Nostocaceae) winter bloom in a deep oligo-mesotrophic lake (Lake Stechlin, Germany). *Phytoplankton Responses to Human Impacts at Different Scales*, 263-272. https://doi.org/10.1007/978-94-007-5790-5_20
- Valenzuela-González, F., Casillas-Hernández, R., Villalpando, E., y Vargas-Alboreo, F. 2015. El gen ARNr 16S en el estudio de comunidades microbianas marinas. *Ciencias Marinas*, 41(4), 297-313.
- Valério, E., Chambel, L., Paulino, S., Faria, N., Pereira, P., y Tenreiro, R. 2009. Molecular identification, typing and traceability of Cyanobacteria from freshwater reservoirs. *Microbiology*, 155(2), 642-656. <https://doi.org/10.1099/MIC.0.022848-0>
- Vásquez, J., Gutiérrez, J., Ramírez, E., Mondragón, M., Partida, L., Johansen, J., y Molina, J. 2018. *Nodosilinea chupicuarensis* sp. nov. (Leptolyngbyaceae, Synechococcales) una Cianobacteria subaerial aislada de un monumento de piedra en el centro de México. *Phytotaxa*, 334(2), 167-182. <https://doi.org/10.11646/PHYTOTAXA.334.2.6>
- Veira, M. V., Pastrana, L. M., y Fuciños, P. 2020. Microalgae encapsulation systems for food, Pharmaceutical and Cosmetics Applications. *Marine Drugs*, 18(12), 644. <https://doi.org/10.3390/MD18120644>
- Vijayakumar, S., y Menakha, M. 2015. Pharmaceutical applications of cyanobacteria—A review. *Journal of Acute Medicine*, 5(1), 15-23. <https://doi.org/10.1016/J.JACME.2015.02.004>
- Vilgalys, R., y Hester, M. 1990. Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species. *Journal of Bacteriology*, 172(8), 4238-4246. <https://doi.org/10.1128/JB.172.8.4238-4246.1990>
- Wan, M.-X., Wang, R.-M., Xia, J.-L., Rosenberg, J. N., Nie, Z.-Y., Kobayashi, N., Oylar, G. A., y Betenbaugh, M. J. 2012. Physiological evaluation of a new *Chlorella sorokiniana* isolate for its biomass production and lipid accumulation in photoautotrophic and heterotrophic cultures. *Biotechnology and Bioengineering*, 109(8), 1958-1964. <https://doi.org/10.1002/BIT.24477>
- Waterbury, J. 2006. The cyanobacteria: isolation purification and identification. En *The Prokaryotes* (Vol. 4, pp. 1053-1073). https://doi.org/10.1007/0-387-30744-3_38
- Wehr, J. D., y Sheath, R. G. 2003. *Freshwater Algae of North America. En Ecology and Classification*.
- Wehr, J. D., Sheath, R. G., y Kociolek, J. P. 2015. Introduction to the Freshwater Algae. En *Freshwater Algae of North America: Ecology and Classification* (pp. 1-11). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385876-4.00001-3>
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., y Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, 18(1), 315-322.
- Wu, X., Zarka, A., y Boussiba, S. 2000. A Simplified Protocol for Preparing DNA from Filamentous Cyanobacteria. *Plant Molecular Biology Reporter*, 18(4), 385-392. <https://doi.org/10.1007/BF02825067>
- Yábar, C. 2003. Manual de procedimientos de electroforesis para proteínas y ADN. *Serie de Normas Técnicas*, 38, 1.
- Yarza, P., Yilmaz, P., Pruesse, E., Glöckner, F. O., Ludwig, W., Schleifer, K.-H., Whitman, W. B., Euzéby, J., Amann, R., y Rosselló-Móra, R. 2014. Uniting the classification of cultured and uncultured bacteria and archaea using 16S rRNA gene sequences. *Nature Reviews Microbiology* 2014 12:9, 12(9), 635-645. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3330>
- Yun, H. S., Kim, Y. S., y Yoon, H. S. 2020. Characterization of *Chlorella sorokiniana* and *Chlorella vulgaris* fatty acid components under a wide range of light intensity and growth temperature for their use as biological resources. *Heliyon*, 6(7), 44-47. <https://doi.org/10.1016/J.HELIYON.2020.E04447>
- Zarrouk, C. 1966. Contribution to the study of a Cyanophyceae influence of various physical and chemical factors on growth and photosynthesis *Spirulina maxima*. *University of Paris*, 74. <https://ci.nii.ac.jp/naid/10003539662>
- Zhou, W., Ding, D., Yang, Q., Ahmad, M., Zhang, Y., Lin, X., Zhang, Y., Ling, J., y Dong, J. 2018. *Marileptolyngbya sina* gen. nov., sp. nov. and *Salileptolyngbya diazotrophicum* gen. nov., sp. nov. (Synechococcales, Cyanobacteria),

species of cyanobacteria isolated from a marine ecosystem. *Phytotaxa*, 383(1), 75-92. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.383.1.4>

Zupo, V., Mutalipassi, M., Ruocco, N., Glaviano, F., Pollio, A., Langellotti, A. L., Romano, G., y Costantini, M. 2019. Distribution of toxigenic *Halomicronema* spp. in adjacent environments on the Island of Ischia: Comparison of strains from thermal waters and free living in *Posidonia Oceanica* meadows. *Toxins* 2019, 11(2): 99. <https://doi.org/10.3390/TOXINS11020099>

Etnobotánica de las plantas más utilizadas en el Recinto Jauneche, Cantón Palenque, Provincia Los Ríos, Ecuador

Ethnobotany of the most used plants in the Jauneche Enclosure, Palenque Canton, Los Ríos Province, Ecuador

Andrea Gabriela Valdiviezo^{1*} & Carmita Bonifaz²

¹ Consultora independiente

² Universidad de Guayaquil, Herbario GUAY, Departamento de Botánica, Facultad
de Ciencias Naturales, Av. Raúl Gómez Lince s.n. y Av. Juan Tanca Marengo (campus
Mapasingue), Guayaquil-Ecuador

Recibido 3 agosto 2021; revisado 26 agosto 2021; aceptado 20 de diciembre 2021; disponible en línea 30 de
diciembre 2021.

Resumen

El estudio de las plantas más utilizadas en el Recinto Jauneche, Cantón Palenque, Provincia Los Ríos, Ecuador, tuvo como finalidad conocer la etnobotánica local. Se procedió a realizar un levantamiento de información primaria donde se entrevistaron a tres personas con conocimiento sobre plantas útiles, con los datos de la fase inicial se realizaron encuestas simples a 20 personas de 35 años en adelante, se registró un total de 84 plantas útiles. Una vez obtenida la información se realizó la respectiva clasificación etnobotánica registrando los siguientes usos: medicinal, alimenticia, construcción y rudimentaria (utensilios caseros). Las plantas medicinales fueron las de mayor representatividad con un 57%, seguida por las alimenticias con un 26%, construcción 13% y rudimentaria 4%, con la recolección de muestras se realizó la identificación taxonómica donde se encontraron 37 familias y 61 géneros, la familia con mayor número de especies fueron Lamiaceae y Asteraceae. Estos resultados indican que el uso plantas útiles en el Recinto Jauneche puede ser considerado alto, debido a que se registró información con una muestra de 23 personas solamente, indicando que el conocimiento etnobotánico está presente en los habitantes del recinto Jauneche, aduciendo este factor a la relación cercana que mantienen con el Bosque de la Estación Biológica Pedro Franco Dávila.

Abstract

The study of the most used plants in the Jauneche Enclosure, Palenque Canton, Los Ríos Province, Ecuador, had the goal of knowing the local ethnobotany. To obtain the primary information three people with knowledge about useful plants were interviewed, with the data of the initial phase simple surveys were carried out on 20 people over 35 years old, a total of 84 useful plants were recorded. Once the information was obtained, the respective ethnobotanical classification was carried out, recording the following uses: medicinal, food, construction and rudimentary (homemade utensils). Medicinal plants were the most representative with 57%, followed by food plants with 26%, construction 13% and rudimentary 4%, the taxonomic identification based on collected samples yielded 37 families and 61 genera, the family with the largest number of species were Lamiaceae and Asteraceae. These results indicate that the use of useful plants in the Jauneche Enclosure could be regarded as high, because the gathered information was obtained from 23 people only, indicating that ethnobotanical knowledge is present in the inhabitants of the Jauneche enclosure, adducing this factor to the close relationship they maintain with the forest of the Pedro Franco Dávila Biological Station.

Keywords: ancestral knowledge, coast, useful plants, vegetal resources.

* Correspondencia del autor:
E-mail: gabriela.valdiviezoc@ug.edu.ec



Introducción

La etnobotánica es la ciencia que tiene como finalidad el estudio de las plantas y su entorno social, es decir, su relación con las personas; las bases de ésta están ligadas a comunidades primitivas que lograron transmitir sus conocimientos de las especies vegetales útiles para el ser humano (Pardo, 2008). El término “etnobotánica” comenzó a utilizarse en 1895, aunque el conocimiento ancestral de las plantas útiles ha sido parte de muchas culturas existentes, desde las primeras civilizaciones (Hórák et al., 2015).

También cabe recalcar que el estudio de plantas útiles está estrechamente ligado a la etnobotánica la cual se encarga del estudio de las especies vegetales y su relación con los saberes ancestrales (Pardo & Gómez, 2003). Este estudio científico ha tenido como resultado datos de las primeras civilizaciones, las cuales aprendieron a clasificar cada planta según su utilidad y aquellas que no eran beneficiosas para la comunidad (Hórák et al., 2015).

Además, los recursos vegetales son parte de la economía de diversas culturas ancestrales, los cuales han sabido aprovechar sus conocimientos en prácticas tradicionales sin alterar el ecosistema; estos conocimientos están ligados a la soberanía alimentaria de los pueblos y nacionalidades, fomentando el cuidado de los servicios ecosistémicos con los que están relacionados (Lagos et al., 2011).

Por lo tanto, las plantas útiles pueden estar clasificadas según el grupo étnico donde se encuentran, algunas de las especies pueden llegar a ser multiusos, pero la clasificación más común entre las especies vegetales útiles es: medicinales, alimenticias, ornamentales, artesanales, forrajeras, ceremoniales, tóxicas, rudimentarias, industriales y construcción, entre otras (Del Vitto & Petenatti, 2015).

El conocimiento tradicional sobre las plantas útiles es de vital importancia para la conservación de especies nativas y endémicas, también proteger la información existente sobre las especies vegetales permitirá que nuevas investigaciones científicas descubran plantas para elaborar nuevas medicinas, al mismo tiempo que se protegen las áreas naturales (Ríos et al., 2008).

La pérdida del conocimiento tradicional o de los saberes ancestrales también afecta de manera directa o indirecta la economía de los pueblos originarios, en especial de aquellos que se sustentan de los productos que provee la naturaleza (Sánchez & Torres, 2020).

Los estudios sobre plantas útiles realizados en Ecuador han sido de gran importancia porque han permitido definir las especies que han sido tradicionalmente utilizadas por pueblos originarios (de la Torre et al., 2008). Este conocimiento tradicional o ancestral de la flora ecuatoriana ha sido el resultado de importantes

trabajos que se han realizado en la región costa, como lo es la flora útil del Bosque Protector Cerro Blanco Guayas-Ecuador (Cerón, 2002), así como el uso de la etnobotánica en enfermedades de la infancia por la etnia Chachi en Esmeraldas (Velásquez et al., 2016).

Por otro lado, en la costa ecuatoriana a inicios del siglo XX, diversos botánicos realizaron sus estudios en los pueblos originarios existentes donde obtuvieron conocimiento sobre plantas útiles, aunque en los bosques secos de la región costa la diversidad es relativamente baja, su endemismo es alto, también se toma en consideración la fragilidad de este tipo de ecosistemas, por lo que se ha considerado importante implementar nuevos planes de conservación (Huamantupa et al., 2010). Por otra parte, cabe recalcar que el uso de las plantas depende de las diferentes regiones del país (Álvarez, 2012).

Los grupos étnicos en el Ecuador se han caracterizado por tener un amplio uso de la flora que se encuentran en la selva, bosques u otros tipos de ecosistemas, esto es lo que motiva a las comunidades ancestrales a mantener intacta la flora existente, respetando el hábitat donde se encuentra, consumiendo solo lo necesario, esta relación que existe entre el hombre y naturaleza es lo que permite crear nuevas áreas naturales protegidas en comunidades locales (Polanco et al., 2018).

Sin embargo, la diversidad florística del Ecuador se encuentra en peligro por la pérdida o degradación de hábitats que pueden estar relacionados con factores antropogénicos o naturales (Imbaquingo, 2012). Por lo tanto, tomando en consideración la relación que existe entre un ecosistema y la sociedad, podemos decir que la pérdida del conocimiento tradicional sobre plantas útiles también influye en las áreas naturales protegidas (García et al., 2008).

Uno de los retos que siempre se ha presentado en la conservación de áreas naturales cercanas a centros poblados, es cuando en la comunidad local existe una creciente actividad agrícola basada en monocultivos o en algunos casos la práctica de ganadería, estas actividades van reduciendo espacios de áreas naturales ocasionando pérdida de bosques donde existe una gran diversidad biológica (Aranguren, 2005).

Los trabajos etnobotánicos realizados en el Ecuador han dado a conocer un total de 5.172 plantas útiles (De la Torre, Navarrete, Macía & Balslev, 2008) a pesar que estos estudios tienen mayor énfasis en la amazonia ecuatoriana existen investigaciones realizadas en las regiones de la Sierra y Costa. Yáñez (2017) realizó un listado de 68 especies vegetales entre nativas e introducidas que son utilizadas en las zonas rurales de la región amazónica centro occidental, Napo, Pastaza y Morona Santiago, estas zonas rurales se caracterizan por poseer una población equilibrada entre indígenas y colonos; Cuchisacagua (2019), por el contrario reportó un total de 140 plantas útiles en la

comunidad amazónica Verde Sumako perteneciente a la provincia de Orellana, las cuales fueron localizadas en fincas cercanas a la selva; Peña, Guerrero, Torre & Sánchez (2020), reportaron en otra comunidad kichwa amazónica de la Provincia de Sucumbíos un total de 23 plantas vasculares útiles.

En la Sierra, Polanco, Vernaza & Burbano (2018) reportan un total de 116 especies de plantas útiles que son vendidas en tres mercados de la ciudad de Quito, las cuales son alimenticias, medicinales, entre otros usos; Rodríguez, Narvaez & Tuz (2020) reportan un total de 90 especies vegetales que son utilizadas por yerbateras quiteñas para realizar rituales, de estas plantas 43 presentan otros usos como condimento o rudimentarias; estas plantas tienen una gran importancia económica para las mujeres mayores que se dedican a este negocio. Sánchez & Torres (2020) realizaron un estudio en la Provincia de Cañar, donde se registraron un total de 71 especies que se consideran útiles por los habitantes de la parroquia Taday, en el cantón Azogues.

En la región costa los estudios etnobotánicos o de plantas útiles son dirigidos a usos específicos, Velásquez et al. (2016), realizaron un estudio en el grupo étnico Chachi de la provincia de Esmeraldas sobre plantas medicinales que pueden curar enfermedades eruptivas las cuales son comunes durante la etapa infantil, registrando el uso de tres especies diferentes de plantas.

Zambrano, Buenaño & Jiménez (2015), realizaron un estudio etnobotánico de plantas medicinales en la Parroquia San Carlos, Quevedo, Ecuador, donde registraron un total de 43 especies vegetales que son utilizadas como medicinales para aliviar distintas enfermedades. Por otra parte, Paredes, Buenaño & Mancera (2015) reportaron un total de 33 plantas medicinales que son utilizadas por los pobladores de la comunidad San Jacinto en el Cantón Ventanas, en la Provincia de Los Ríos, Ecuador.

En las comunidades rurales se pueden encontrar especies vegetales que presentan o tienen más de una utilidad, Rosero, Zambrano, García & Viracocha (2020) realizaron una investigación sobre el culantro de monte (*Eryngium foetidum* L.) en la comunidad San Antonio de Padua del Cantón Quinsaloma, Provincia de los Ríos, Ecuador, donde encontraron que esta especie es utilizada como condimento para alimentos y también como planta medicinal. Bonifaz (1997) realizó un estudio de plantas tóxicas en la hacienda La Juanita y en el Recinto Jauneche, donde se reportó un total de 26 especies vegetales tóxicas y de otras utilidades como ornamental, medicinal y/o alimenticia.

En la provincia de Los Ríos, específicamente en el Recinto Jauneche, se han encontrado plantas que tienen diferentes usos, esto va a depender de la parte que es empleada o de la etapa de crecimiento en que

se encuentre, es decir, que una misma especie puede ser medicinal y tóxica (Bonifaz, 1997), por lo cual, es de vital importancia comprender el uso que se le dan a las especies vegetales y su relación con el bosque nativo, por lo cual se ha desarrollado la presente investigación que tiene como objetivo, conocer la etnobotánica de las plantas más utilizadas en esta área, lo que contribuirá al desarrollo de planes conservación y manejo que involucren a la comunidad local.

Materiales y métodos

Área de estudio

El recinto Jauneche está ubicado en el Cantón Palenque de la Provincia de los Ríos, sus límites son el cantón Mocache al Norte, Palenque al sur, al este Ventanas y al oeste Balzar (Figura 1). Este recinto se encuentra a una altura promedio de 70 msnm, donde durante la época lluviosa la precipitación promedio anual es de 1800-2000 mm, con la presencia de un bosque tropical semideciduo correspondiente al Bosque Protector de la Estación Pedro Franco Dávila (Salazar, 2019).

Obtención de datos

El presente trabajo se lo realizó con el levantamiento de información primaria durante el mes de Julio del 2021, la primera fase consistió en entrevistar a tres personas con conocimiento sobre plantas y sus respectivos usos donde no se tomó en consideración la edad de los entrevistados por su amplio conocimiento en plantas útiles.

Con los datos obtenidos de los informantes claves, se procedió a verificar en la zona de estudio, en donde se reconoció dos sectores: las viviendas cercanas al bosque protector y aquellas que se encontraban cruzando la carretera principal. Como segunda etapa de levantamiento de información, se visitaron un total de 56 viviendas escogidas al azar de la zona céntrica del recinto Jauneche, se realizaron 4 a 5 visitas por día durante el mes de Julio del 2021.

Generalización de las encuestas

De acuerdo con los datos previamente obtenidos se procedió a encuestar a 20 personas de 45 años en adelante. El formato que se utilizó fue elaborado en una hoja de Microsoft Excel, con la respectiva información del informante, nombre, edad, sexo, ocupación, tiempo de residencia y grado de escolaridad, utilizando un modelo de encuesta de tipo abierta con los siguientes datos: plantas que utilizan, tipo de uso, uso específico y partes que se usan.

Clasificación y procesamiento de datos etnobotánicos

La información obtenida por medio de las encuestas y entrevistas a las personas seleccionadas fue ordenada en una base de datos empleando una hoja de cálculo en Microsoft Excel.

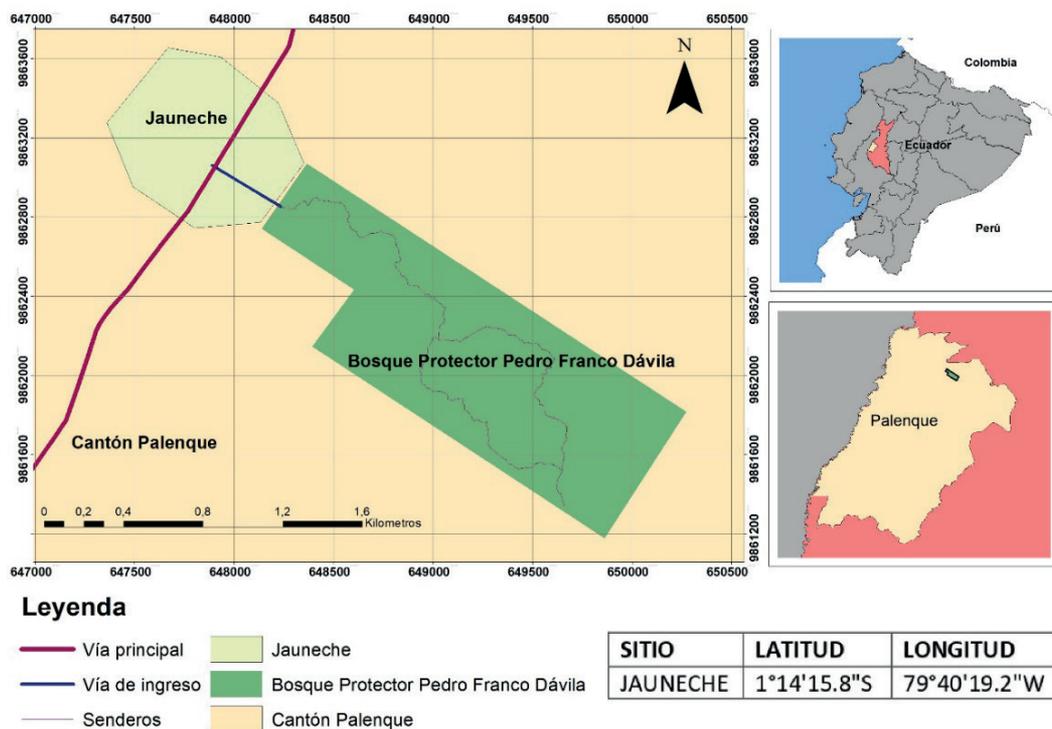


Figura 1. Mapa de ubicación del recinto Jauneche.

Recolección e identificación del material botánico

Las muestras de cada planta útil fueron herborizadas y procesadas en el herbario de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad de Guayaquil GUAY. La identificación taxonómica se realizó con el uso de la Flora de Jauneche con la ayuda de material fotográfico, usando la aplicación Pl@ntnet.

Resultados

Clasificación etnobotánica de las plantas más utilizadas del recinto Jauneche

De un total de 84 plantas que son utilizadas en el recinto Jauneche, 57% corresponden a uso medicinal, seguido por alimenticias con un 27%, construcción con 13%, mientras que las de uso rudimentario poseen la menor presencia con un 4%, siendo el tipo de uso poco frecuente entre los informantes (fig. 2).

De un total de 23 entrevistados, se obtuvo la información de 84 plantas que son utilizadas en el Recinto Jauneche, cada planta fue registrada con su nombre local correspondiente, uso, hábito y partes que se usa (Anexo1).

La información etnobotánica levantada ha permitido clasificarlas como: plantas más utilizadas, plantas menos utilizadas, hábito de las plantas más utilizadas, partes utilizadas, uso específico y forma de preparación.

Plantas más utilizadas

Las especies que fueron nombradas de forma más frecuente correspondió al llantén con un 72% (fig. 3), seguida por el oreganito con un 68%, el mismo que es usado como condimento y la fruta de pan con un 64% como alimento, las demás plantas son utilizadas en un 10% (fig. 4).

Plantas menos utilizadas

En un total de 59 plantas fueron mencionadas de uso poco frecuente con un 5%, entre las que se encuentran tiatina (fig. 5), pedorrera, ruda de gallinazo, alivia dolor y ajeno, utilizadas de 1 a 4 personas (fig. 6).

Hábito de las plantas más utilizadas en Jauneche

En el uso de las plantas útiles es importante conocer el hábito de cada una de ellas. En el recinto Jauneche,



Figura 2. Porcentaje de plantas según el tipo de uso.

según las encuestas realizadas el 53% de plantas útiles son herbáceas, mientras que el 32% son árboles, los arbustos en un 14% y en el caso de las lianas o trepadoras un 1% (figura 7).

Partes utilizadas

De las plantas más utilizadas, las hojas son las más frecuentes con 47%, seguidas por el fruto con un 24%, 12% para el tronco de árboles, en algunos casos se utiliza toda la planta demostrada en el 11%, corteza y látex con el 2%, raíz y tubérculo con el 1% (fig. 8).

Uso específico

Las categorías de usos de las plantas presentaron mayor porcentaje aquellas que son utilizadas como comestibles con un 20%, mientras que las maderables un 7%. Un uso específico en las medicinales que presentaron un 7% fueron las plantas utilizadas en Baño medicinal, las plantas utilizadas para dolores estomacales se hicieron presentes con un 4% (fig. 9).

Forma de preparación

En la forma de preparación de las plantas útiles se toma en consideración las alimenticias y medicinales, la infusión fue el método de preparación más común con 50%, cocción con 30%, emplasto 13% y aplicación directa 1% (fig. 10).

Identificación taxonómica de las plantas más utilizadas del Recinto Jauneche

La identificación taxonómica de las 84 plantas útiles dio como resultado una composición de 37 familias y 61 géneros (Anexo 2).

Familias

De las 37 familias presentes la más representativa es Lamiaceae con 8 especies, seguida por Asteraceae con 5 especies, Acanthaceae, Fabaceae, Malvaceae, Solanaceae con 4 especies, Euphorbiaceae, Moraceae, Plantaginaceae con 3 especies de plantas útiles, las familias restantes tuvieron de 1 a 2 especies (fig. 11).



Figura 3. Planta más utilizada, Llantén (*Plantago major*).

Géneros

De los 61 géneros que se identificaron *Inga* tuvo mayor representatividad con 4 especies, seguido por *Justicia* con 3 especies, los géneros *Cordia*, *Cymbopogon*, *Kalanchoe*, *Mentha*, *Ocimum* y *Solanum* con 2 especies, los géneros restantes tuvieron solo una especie representante (fig. 12).

Especies

De las 84 plantas que se identificaron la especie con mayor uso por persona fue *Plantago major* con 18, seguida por *Origanum majorana* 17, *Artocarpus communis* 16, *Dysphania ambrosioides* 15, *Cymbopogon citratus* 14, *Mentha piperita* 13, *Cymbopogon flexuosus* 12, las especies restantes fueron mencionadas por menos de 11 personas (fig. 13).

Datos de informantes etnobotánicos de las plantas más utilizadas en Jauneche

Las edades tomadas en consideración en las encuestas fueron de 35 a 90 años, las predominantes fueron de 56 a 65 años. El tiempo de residencia de los informantes con mayor porcentaje fueron los rangos de 20-30, 31-40, 51-60 años, mientras que el 17% fue representado por aquellos que tenían de 41-50 y 61-70 tiempo de residencia en el recinto. Entre los tipos de ocupación que se mencionaron están ama de casa y agricultores con un 33% cada uno, curandero y parteros con un 19%, mientras que comerciante, carpintero y docente con un 5% demostrando la menor presencia en estas últimas ocupaciones.

Con respecto a la educación 10 personas tuvieron un grado de formación académica primaria, seguidos por los que no tuvieron ningún estudio académico con un total de 8, mientras que los que estudiaron bachillerato fue de un 3 y título de pregrado uno, de las 23 personas entrevistadas y encuestadas el 53% pertenecen al género femenino, mientras que el género masculino tuvo una representación del 43% (Tabla 1, fig. 14).

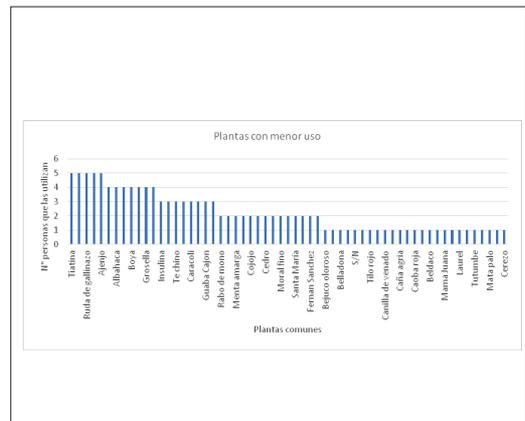


Figura 4. Listado de especies vegetales según el uso por persona.



Figura 5. Tiatina (*Scoparia dulcis*) planta con menor uso.

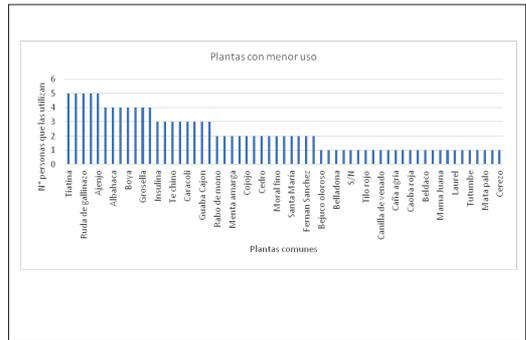


Figura 6. Listado de especies vegetales según el uso por personas.

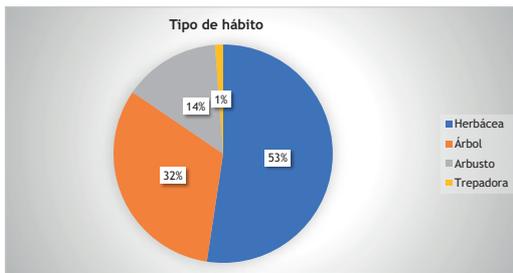


Figura 7. Hábito de las especies de plantas más utilizadas en Jauneche.

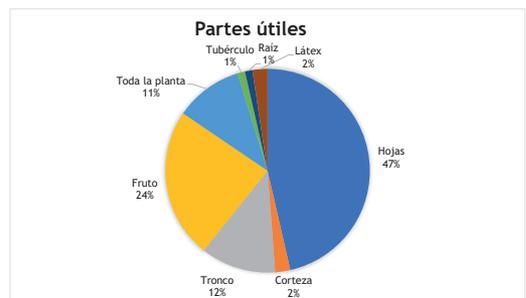


Figura 8. Partes más utilizadas de las plantas útiles.

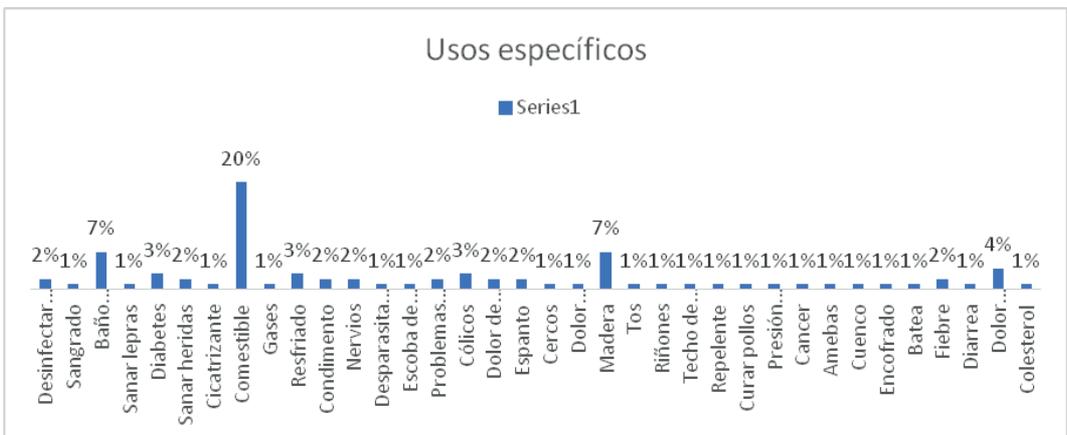


Figura 9. Categorías de usos de las plantas más utilizadas del recinto Jauneche.



Figura 10. Formas de preparación de las plantas útiles.

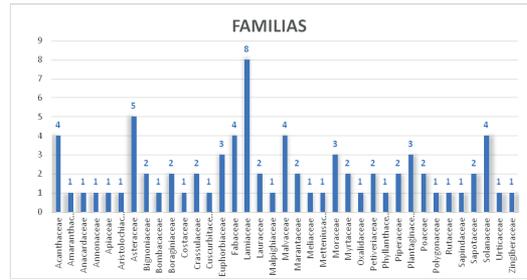


Figura 11. Familias de plantas útiles presentes en Jauneche.

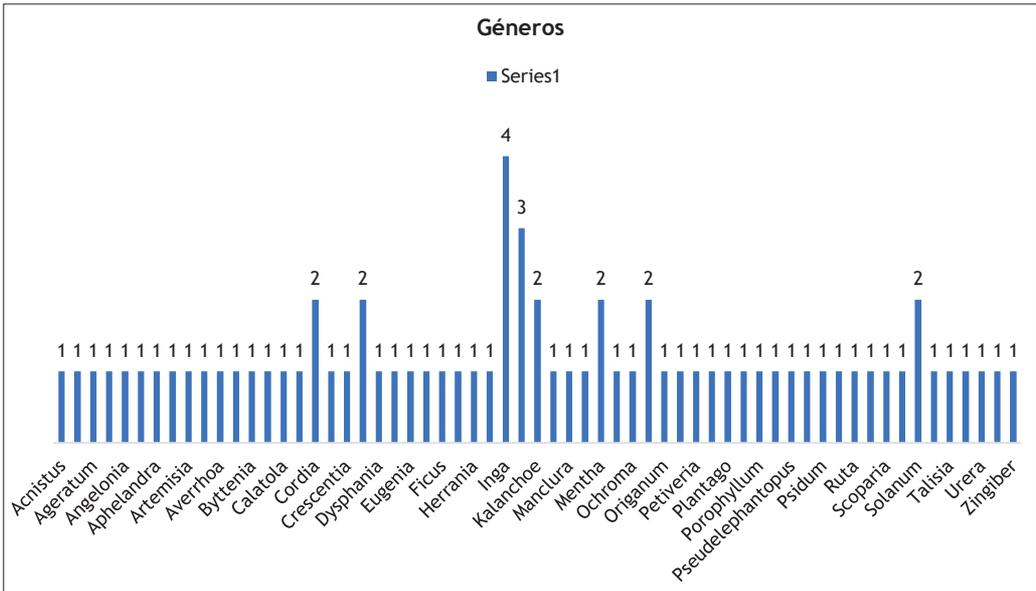


Figura 12. Géneros de plantas útiles presentes en Jauneche.

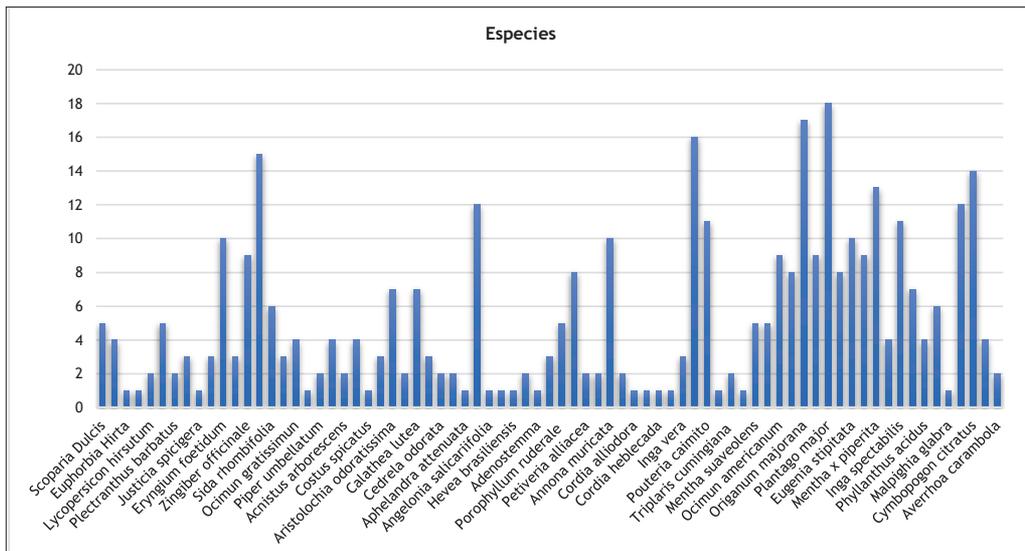


Figura 13. Frecuencia de uso medicinal de las especies de plantas útiles de Jauneche.

Tabla 1. Datos de los informantes que participaron en las encuestas y entrevistas.

Edad	Tiempo de residencia	Ocupación	Educación	Género			
Mínimo: 37	Intervalo	Agricultor	7	Ninguna: 8	Hombre	Mujer	
Máximo: 86	20-30	5	Docente	1	Primaria: 10	57%	43%
Amplitud:10	31-40	5	Ama de casa	7	Bachillerato: 3		
35-45	1	41-50	4	Carpintero	1	Pre-grado: 1	
46-55	5	51-60	5	Curandero o partera	4		
56-65	6	61-70	4	Comerciante	1		
66-75	5						
76-85	5						
86-90	1						

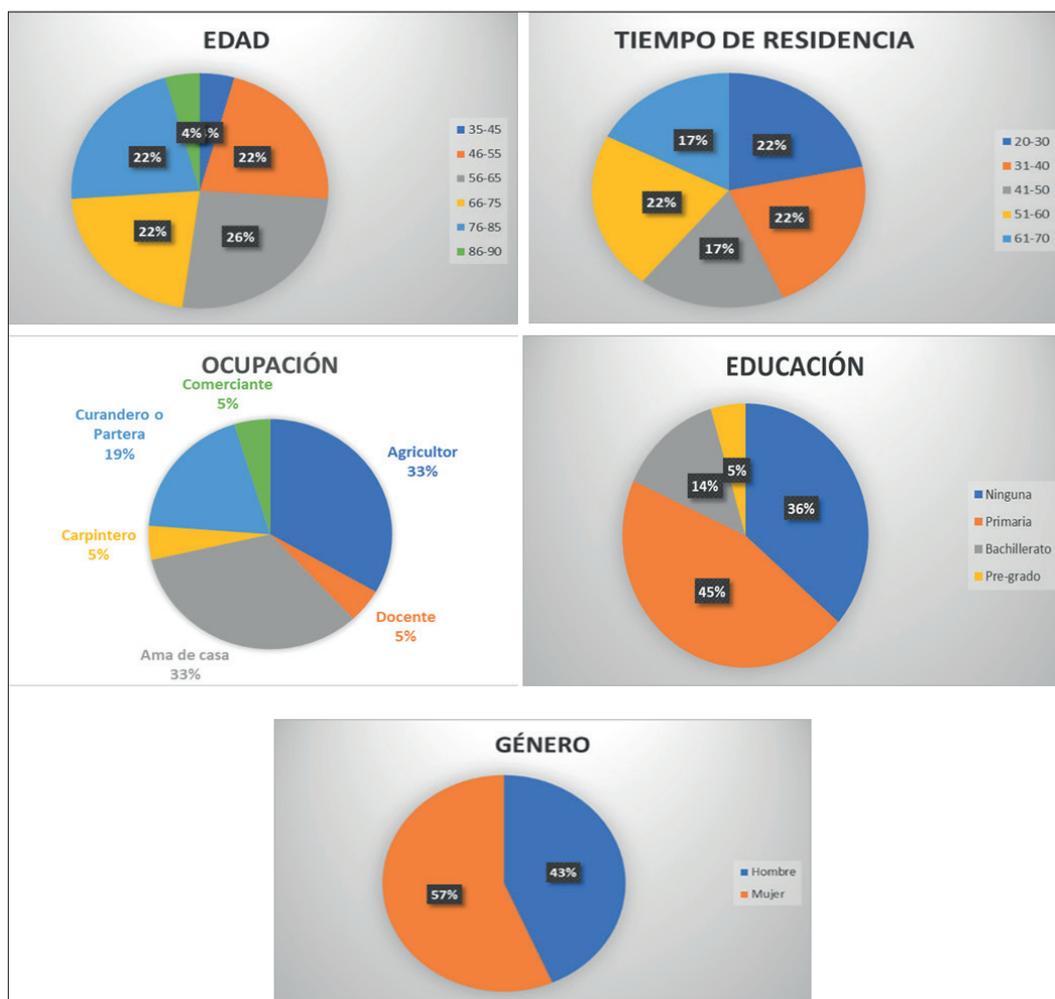


Figura 14. Datos de los informantes del recinto Jauneche.

Discusión

En el presente trabajo se encontraron un total de 84 plantas útiles en el Recinto Jauneche, información recolectada por medio de entrevistas y encuestas, los usos etnobotánicos comunes que se mencionaron fueron: medicinal, alimenticio, construcción y rudimentario (utensilios caseros), aunque no se mencionaron las plantas tóxicas del lugar como lo reporta Bonifaz (1997), donde se registraron 26 plantas tóxicas como *Aristolochia odoratissima* y *Mormodica charantia*, las mismas que en el presente trabajo son mencionadas como plantas medicinales.

La clasificación etnobotánica de las 84 plantas útiles que se registraron en este trabajo se distribuyeron en cuatro usos dando como resultado 48 especies aplicadas en medicina, 22 plantas utilizadas como alimenticias, 11 en construcción y 3 en rudimentaria (utensilios caseros), comparados estos datos con los reportados para la Cuenca media del Río Guayas en los sectores de Mocache y Palenque según los resultados de García, Suatunce & Torres (2008) reportan un total de 262 especies útiles distribuidas en 21 usos de los cuales el mayor uso es para medicina y alimento, con 90 y 104 plantas respectivamente, indica que el recinto Jauneche posee información etnobotánica en un 32%, siendo importante, pues el uso y la información ancestral todavía se mantiene en este sector.

Estudios que fueron realizados en la provincia de Los Ríos muestran que el número de plantas útiles usadas como medicinales difiere en algunos cantones, un estudio enfocado en plantas medicinales en el Cantón Quevedo por Zambrano, Buenaño & Jiménez (2015) muestra un total de 43 plantas medicinales, mientras que en el cantón Ventanas, Paredes, Buenaño & Mancera (2015), reportaron un total de 33 plantas con uso medicinal, en el presente trabajo que se realizó en el Recinto Jauneche del cantón Palenque se encontraron un total de 47 plantas que son usadas como medicina. Siendo, necesario relevar que el Recinto Jauneche es una extensión mucho menor al Cantón Quevedo y Ventanas, sin embargo, la información etnobotánica de plantas medicinales es mayor que la de dichos Cantones.

Erygium foetidum conocida como culantro de monte es una de las plantas útiles que su uso varía o tiene más de una utilidad, en el presente trabajo de acuerdo a la información recolectada fue mencionada como planta alimenticia (condimento), mientras que Rosero, Zambrano, García & Viracocha (2020) clasifican a esta especie con 3 usos, alimenticia, medicinal y ornamental según datos obtenidos de los habitantes de la parroquia San Antonio de Padua cantón Quinsaloma, demostrando más de una aplicación en la misma Provincia.

La clasificación etnobotánica ha tenido mayores resultados en las plantas medicinales, así como existen

diferencias en usos existen semejanzas, Velásquez et al. (2016) mencionan a *Plantago major* y *Solanum nigrescens* como plantas usadas en lavado de heridas, de la misma manera Lalama, Montes & Zaldumbide (2016) reportan a *Scoparia dulcis* con el mismo uso, las mismas especies en Jauneche fueron mencionadas con esta utilidad lo que demuestra similitud de usos en los diferentes cantones de la Provincia de los Ríos.

Las partes más utilizadas en este estudio demostraron ser las hojas, frutos, tronco y toda la planta, este resultado coincide con Cuchisacagua (2019), Sánchez & Torres (2020) y Rodríguez, Narváez & Tuz (2020), donde se obtuvieron resultados similares señalando las hojas como la parte de las plantas con mayor utilidad.

La clasificación taxonómica de este trabajo dio como resultado que las familias Lamiaceae, Asteraceae, Fabaceae, Solanaceae, Acanthaceae y Malvaceae obtuvieron el mayor uso por especies de plantas útiles. Otros estudios demuestran resultados similares como Castellanos (2011), que menciona Asteraceae, Lamiaceae y Solanaceae como familias con el mayor número de especies útiles. Por otro lado, Huamantupa, Sandoval, Betancourt, Sarmiento, & Telles (2010), mencionan a las familias Fabaceae, Malvaceae, Lamiaceae con mayor número de especies con uso etnobotánico, demostrando coincidencia en trabajos similares.

Conclusiones

En el Recinto Jauneche utilizan las plantas en cuatro categorías de usos: medicinal, alimenticia, construcción y rudimentaria (utensilios caseros), donde el mayor uso es de plantas medicinales con 57%, mientras que alimenticias obtuvieron 26%, construcción 13% y 4% rudimentarias (utensilios caseros).

El registro de 84 especies de plantas útiles en el Recinto Jauneche puede ser considerado alto, debido a que se registró información con una muestra de 23 personas solamente, indicando que el conocimiento etnobotánico está presente en los habitantes del recinto, aduciendo este factor a la relación cercana que mantienen con el Bosque de la Estación Biológica Pedro Franco Dávila.

La utilidad de las plantas en el recinto Jauneche es mayor en el uso medicinal, pues el conocimiento ancestral se mantiene, aunque la medicina convencional está presente mediante el subcentro de salud existente.

Las plantas útiles en el recinto Jauneche corresponden a 37 familias y 61 géneros y 84 especies identificadas; siendo Lamiaceae, Asteraceae, Acanthaceae, Fabaceae, Malvaceae y Solanaceae las familias taxonómicas con más plantas útiles en el recinto.

Plantago major fue la especie que 18 de los 23 informantes mencionaron que la utilizaban como planta medicinal para desinfectar heridas siendo la planta útil con mayor frecuencia de uso.

Las especies de menor uso son importantes debido a que en este grupo se encuentran plantas medicinales como la *Aphelandra attenuata* usada para baños medicinales por los curanderos que viven en el lugar.

Del grupo de informantes la información recolectada fue principalmente de agricultores y amas de casas debido a la disponibilidad de tiempo que poseen estos dos grupos

En la zona céntrica del recinto Jauneche son cuatro las personas que se dedican a oficios como parteras o curanderos, aunque el número no es representativo demostraron poseer conocimiento suficiente sobre las plantas útiles del lugar de manera especial las plantas medicinales.

Recomendaciones

- Ampliar el estudio de plantas útiles en el Recinto Jauneche incluir otras categorías de usos.
- En próximos trabajos se debe tomar en consideración los sectores pertenecientes al recinto Jauneche y el periodo de mayor precipitación, debido a que algunas especies solo se encuentran en época lluviosa.
- Una herramienta que permitirá un mejor estudio es la entrevista directa con al menos 5 personas que tengan conocimiento de plantas útiles.
- Realizar un estudio sólo de plantas medicinales por la cantidad de especies que fueron reportadas en este uso y aquellas que no fueron identificadas o encontradas.
- Elaborar una ficha de las plantas útiles del Recinto Jauneche con información completa que incluya fotografías de las plantas.
- Realizar un estudio fitoquímico de las plantas medicinales poco comunes de manera particular la especie *Euphorbia hirta*.
 - Realizar un estudio del impacto de la agricultura en las plantas útiles y su relación con el bosque protector.

Referencias

Bonifaz, C. 1997. Plantas tóxicas de la Provincia de los Ríos, litoral ecuatoriano. En M. Ríos, & H. Borgtoft Pedersen, *Uso y Manejo de Recursos Vegetales* (págs. 339-346). Quito: Abya-Yala.

Castellanos, L. 2011. Conocimiento etnobotánico, patrones

de uso y manejo de plantas útiles en la Cuenca del río Cane-Iguaque (Boyaca-Colombia); una aproximación desde los sistemas de uso de la Biodiversidad. *Ambiente & Sociedad*, 45-75.

Cerón, C. 2002. Aportes a la flora útil de Cerro Blanco, Guayas-Ecuador. *Cinchonia*, 3, 17-25.

Cuchisacagua, R. 2019. Estudio etnobotánico de la biodiversidad vegetal en la comunidad Verde Sumaco, provincia de Orellana. (Tesis de grado. Ingeniero en Ecoturismo) *Dspace*. Obtenido de <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/10339>

De la Torre, L., Navarrete, H., Macía, M., y Balslev, H. 2008. Introducción. En L. de la Torre, H. Navarrete, P. Muriel, M. Macía, & H. Balslev, *Enciclopedia de las Plantas Útiles del Ecuador* (págs. 1-3). Quito & Aarhus: Herbario QCA de la Escuela de Ciencias Biológicas de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador & Herbario AAU del Departamento de Ciencias Biológicas de la Universidad de Aarhus.

De la Torre, L., Navarrete, H., Macía, M. y Balslev, H. 2008. Resultados. En L. De la Torre, H. Navarrete, P. Muriel, M. Macía, & H. Balslev, *ENCICLOPEDIA DE LAS PLANTAS ÚTILES DEL ECUADOR* (págs. 8-12). Quito & Aarhus: Herbario QCA de la Escuela de Ciencias Biológicas de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador & Herbario AAU del Departamento de Ciencias Biológicas de la Universidad de Aarhus.

García, L., Suatunce, P., y Torres, E. 2008. Plantas útiles en los sistemas agroforestales tradicionales del litoral ecuatoriano. *Ciencia y tecnología*, 65-71.

Huamantupa, I., Sandoval, V., Betancourt, L., Sarmiento, M. y Telles, F. 2010. Plantas útiles frecuentemente utilizadas en el litoral costero del Ecuador. *Q'UNA*, 28-38.

Lalama, J., Montes, S. y Zaldumbide, M. 2016. Etnobotánica de las plantas medicinales del cantón Tena, para contribuir al conocimiento, conservación y valoración de la diversidad vegetal de la región amazónica. *Dominio de las Ciencias*, 26-48.

Paredes, D., Buenaño, M. y Mancera, N. 2015. Uso de plantas medicinales en la comunidad San Jacinto del Cantón Ventanas, Los Ríos-Ecuador. *Revista U.D.C.A Actualidad & divulgación científica*, 39-50.

Peña, C., Guerrero, M., Torre, J. y Sánchez, G. 2020. Cultura ancestral florística de la comunidad kichwa singue central, en la amazonía ecuatoriana. *Enlace Universitario*, 115-124.

Petran, M., Dragos, D. y Gilca, M. 2020. Historical ethnobotanical review of medicinal plants used to treat children diseases in Rumania (1860s-1970s). *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 1-33.

Polanco, D., Vernaza, D. y Burbano, C. 2018. Potencialidades y debilidades de las plantas nativas de uso alimenticio. *Tsafiqui*, 2-19.

Ríos, M., Koziol, M., Borgtoft, H. y Granda, G. 2007. La Etnobotánica en el Ecuador: Síntesis, Retos y Perspectivas. Quito: Corporación Sociedad para la Investigación de la Biodiversidad Ecuatoriana (SIMBOE).

Rodríguez, M. R., Narváez, K. y Tuz, J. 2020. Conocimientos sobre plantas rituales utilizadas por yerbateras de los mercados de Quito, Ecuador: aportes sobre su estado de conservación. *Ethnoscintia*.

Rosero, C., Zambrano, L., García, K. y Viracocha, L. 2020. Nomenclatura y usos del culantro de monte (*Eryngium foetidum* L.) en la comunidad San Antonio de Padua, cantón Quinsaloma, Provincia de Los Ríos-Ecuador. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de plantas medicinales y aromáticas*, 334-343.

Sánchez, J., y Torres, L. 2020. Educación. Etnobotánica y rescate de saberes ancestrales en el Ecuador. *ESPACIOS*, 158-170.

Velasquez, G., Moreira, W., Caicedo, C., Preciado, O., Jaramillo, T., Iturralde, G. y Aizaga, G. 2016. El uso de la etnobotánica como cura de eruptivas de la infancia por la etnia Chachi. Esmeraldas. Ecuador. *Talentos*, 1-10.

- Yáñez, P. 2017. Plantas frecuentemente utilizadas en zonas rurales de la Región Amazónica centro occidental de Ecuador. *INNOVA*, 9-21.
- Zambrano, L., Buenaño, M., Néstor, M. y Jiménez, E. 2015. Estudio etnobotánico de plantas medicinales utilizadas por los habitantes del área rural de la parroquia San Carlos, Quevedo, Ecuador. *Revista Universidad y Salud*, 97-111.

Sars-Cov-2 Un Análisis Bibliométrico en La Actualidad

An Updated Bibliometric Analysis on Sars-Cov-2

Manuel Llerena^{1*} & Manuel Arévalo²

¹ *Universidad Católica de Santiago de Guayaquil. Facultad de Ciencias Económicas y Administrativas. Av. Carlos Julio Arosemena, km 1^{1/2}, Guayaquil (Ecuador).*

² *Tecnológico Universitario Espíritu Santo. Carrera de Sistemas. Av. Juan Tanga Marengo y Av. Las Aguas, Guayaquil (Ecuador).*

Recibido 3 agosto 2021; revisado 26 agosto 2021; aceptado noviembre 2021; disponible en línea 30 de diciembre 2021.

Resumen

En Wuhan se detectó los primeros y únicos casos por un nuevo coronavirus, denominado SARS-CoV-2 que es una enfermedad respiratoria que presenta en sus infectados síntomas leves y en otros tipos de pacientes puede llegar a desarrollar situaciones mortíferas. El objetivo primordial del presente estudio fue analizar cómo ha evolucionado la producción científica del covid-19 a través de un estudio bibliométrico. Dentro de la implementación de materiales y métodos se efectuó una búsqueda bibliográfica a través de tres bases de datos de alto prestigio como Web of science, Scopus y PubMed donde se identificaron varios estratos estructurales relacionados al país de procedencia, autores más productivos y palabras claves. Teniendo en consideración que los resultados mostraron el análisis de 98.458 artículos científicos de cuartil 1 - 2 el cual identificó a Chinese Academy of Science como la organización que forma parte de la élite en investigaciones de la covid-19, no obstante, se identificó que la base de datos que mayor aportó en la presente investigación fue Web of Science con un total de 46.418 artículos arbitrados en el año 2021 y que la palabra clave más buscada a en todo el mundo fue la covid-19. Finalmente, el estudio evidenció la participación de cada una de las unidades de educación superior, países del primer mundo y expertos sobre el SARS-CoV-2 trabajando en conjunto para obtener la mayor cantidad de respuestas acerca de este virus que paralizó al mundo.

Palabras clave: Bibliometría, coronavirus, covid-19, sars-cov-2, 2019-ncov2.

Abstract

In Wuhan, the first and only cases of a new coronavirus were detected, called SARS-CoV-2, which is a respiratory disease that presents mild symptoms in its infected and in other types of patients it can develop deadly situations. The main objective of this study was to analyze how the scientific production of covid-19 has evolved through a bibliometric study. Within the implementation of materials and methods, a bibliographic search was carried out through three highly prestigious databases such as Web of science, Scopus and PubMed, where several structural strata related to the country of origin, the most productive authors and keywords were identified. Taking into consideration that the results showed the analysis of 98,458 scientific articles from quartile 1 - 2 which identified the Chinese Academy of Science as the organization that is part of the elite in covid-19 research, however it was identified that the base of data that contributed the most in this research was Web Of Science with a total of 46,418 articles refereed in the year 2021 and that the most searched keyword worldwide was covid-19. Finally, the study evidenced the participation of each of the higher education units, first world countries and experts on SARS-CoV-2 working together to obtain the highest number of answers about this virus that paralyzed the world.

Key words: Bibliometrics, coronavirus, covid-19, sars-cov-2, 2019-ncov2.

Introducción

El domingo 1 de diciembre del 2019 a las 15:34:43 pm en Wuhan, se detectaron los primeros y únicos casos por un nuevo coronavirus, denominado SARS-CoV-2, que fue notificado por el instituto de Virología

de Wuhan, uno de los prestigiosos centros científicos en China (O'Brien et al., 2020). Autores como Vásquez et al. (2021) manifestaron que la covid-19 es una enfermedad respiratoria que presenta en sus infectados síntomas leves como: a) tos seca, b) escalofríos, c) fiebre, d) insomnio, e) dolor de

* Correspondencia del autor:
E-mail: manuel.llerena@cu.ucsg.edu.ec



garganta, f) sudoración excesiva, etc. Mientras que Cheng et al. (2020) recalcaron que en otros tipos de pacientes puede llegar a desarrollar situaciones mortíferas, como: a) dificultad aguda respiratoria, b) shock séptico, c) neumonía, y d) edemas pulmonares. Por otra parte, Wang y Liao (2020) señalaron que existen diferentes tipos de virus, la coronavirus gamma y delta pertenecen a especies de aves (gallinas, patos, palomas, etc...) que apenas causan infecciones humanas, mientras que la coronavirus alfa y beta se hallan principalmente en mamíferos (murciélagos, roedores, civetas, etc...) y humanos que por ende se conoce que causan enfermedades humanas; la mayoría de infecciones por coronavirus en humanos específicamente en virus denominados HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63, HCoV-HKU1 presentan síntomas leves como el resfriado común y la diarrea en los seres humanos. Sin embargo, Gregorio et al. (2020) recalcaron que en varios estudios la genética del virus ha variado en relación a las características genómicas de SARS-CoV-2 usando secuencia de muestras líquidas de lavado broncoalveolar y aislamientos de diferentes cultivos de pacientes contagiados con el virus, se debe tener en consideración que el SARS-CoV-2 muestra un nuevo virus dentro del subgrupo de sarbecovirus el cual se clasifica en tres segmentos: a) SARS-CoV-2 de Wuhan junto con las dos cepas similares al SARS derivadas de murciélagos, bat-SL-CoVZC45 y bat-SL-CoVZXC21 de Zhoushan, Zhejiang, China; b) cepas de SARS-CoV de humanos y algunas genéticamente coronavirus similares al SARS de murciélagos detectados en su oeste de China; y c) dos cepas relacionadas con el SARS-CoV de *Rhinolophus* de Bulgaria y Kenia (Shuai et al., 2020; Wu et al., 2020; Zhou et al., 2020). Giwan et al. (2020), evidenciaron detalladamente la detección rápida del virus causante del covid-19 (SARS-CoV-2) en humanos nasofaríngeos a través de muestras de hisopo usando el transistor de efecto de campo (fig. 1).

Nota. El primer paso es tomar una muestra hisopada del paciente, el segundo paso es asegurar la evidencia

del hisopado en un tubo de ensayo, el tercer paso es colocar la muestra en el grafeno para que el anticuerpo de pico del SARS-CoV-2 se conjugue en la hoja de grafeno a través de 1 hidroxisuccinimida de ácido pireno butírico que es una molécula de interfaz como conector de sonda lo cual nos permite identificar si el paciente objeto de estudio muestra anomalías en su prueba y concluir con el análisis respectivo. Adaptado de Rapid Detection of COVID-19 Causative Virus (SARS-CoV-2) in Human Nasopharyngeal Swab Specimens Using Field-Effect Transistor- Based Biosensor (p.2), (Giwan et al., 2020).

Cabe recalcar que la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2020) compartió la cronología declarada el 27 de abril del 2020 y su última versión actualizada el 29 de junio de 2020 con las siguientes connotaciones:

- El 31 de diciembre del 2019, la Comisión Municipal de Sud de Wuhan notifica un conglomerado de casos de neumonía causados por un nuevo coronavirus.
- El 1 de enero del 2020 la OMS establece un equipo de apoyo de 3 frentes y pone así a la entidad en un estado de emergencia.
- El 4 de enero del 2020 la OMS a través de sus canales oficiales anuncia la existencia de una gran afluencia de casos de neumonía sin fallecimientos en la ciudad de Wuhan.
- El 5 de enero de 2020 la OMS publica su primer arte que contiene una evaluación del riesgo y una serie de recomendaciones para Wuhan.
- El 10 de enero del 2020 la OMS publica un conjunto de orientaciones técnicas con recomendaciones para todos los países tomando como base la experiencia con el SARS y el MEDR.
- El 12 de enero del 2020 China hace pública la secuencia genética del virus causante de la covid-19.

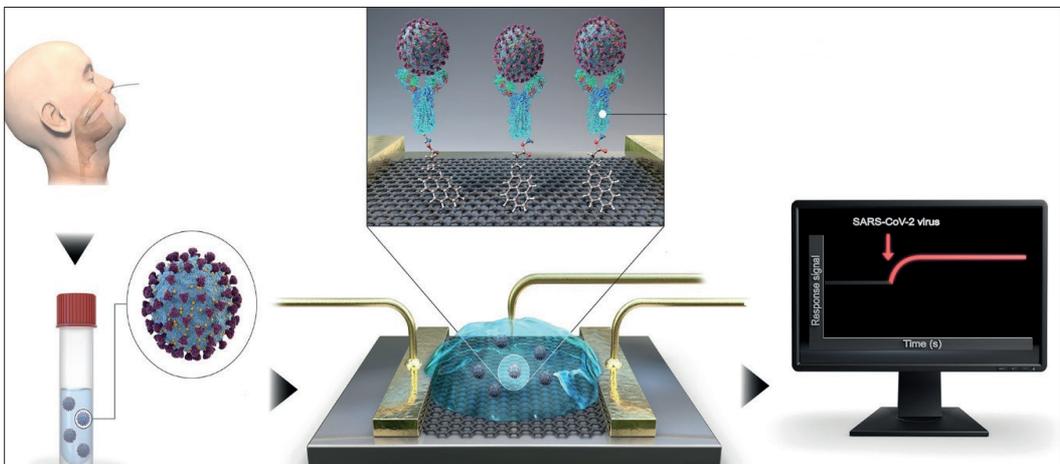


Figura 1. Detección instantánea del virus causante del covid-19.

- El 13 de enero del 2020 se confirma oficialmente un caso de covid-19 en Tailandia.
- El 14 de enero del 2020 la responsable técnica de la OMS manifiesta que se ha producido una transmisión limitada del coronavirus entre seres humanos.
- Del 20 al 21 de enero del 2020 expertos de la OMS en China efectúan una breve visita sobre el terreno de Wuhan.
- El 22 de enero del 2020 la OMS declara que existe una transmisión entre seres humanos en Wuhan y es necesario más investigaciones para tener la plena seguridad de las aseveraciones.
- Del 22 al 23 de enero del 2020 el Director General convoca a un Comité de Emergencias según lo previsto en el Reglamento Sanitario Internacional para evaluar si el brote constituye una emergencia de salud pública de importancia internacional.
- El 28 de enero del 2020 un grupo de altos funcionarios de la OMS viajan a Beijing para reunirse con los dirigentes de China para conocer mejor el panorama del país y ofrecer asistencia técnica necesaria e intercambiar información y experiencias.
- El 30 de enero del 2020 el Director General convoca de nuevo el Comité de Emergencias, antes de los 10 días de plazo y tan solo dos días después de notificarse los primeros casos de transmisión limitada del coronavirus entre seres humanos
- El 3 de febrero la OMS presenta el Plan Estratégico de Preparación y Respuesta de la comunidad internacional para ayudar a los estados con sistemas de salud más frágiles a protegerse.
- Del 11 al 12 de febrero del 2020 la OMS cita a un foro de investigación e innovación sobre la COVID-19, al que asisten más de 400 expertos y entidades de financiación de todo el mundo.
- Del 16 al 24 de febrero el equipo de la OMS junto a China reúnen expertos de Alemania, Canadá, Estados Unidos, Japón, Nigeria, etc..., los cuales, permanecen un tiempo en Beijing y también viajan a Wuhan para conocer el estado del virus.
- El 11 de marzo del 2020 la OMS especifica en su

evaluación que la COVID-19 puede caracterizarse como una pandemia, ya que preocupada por los alarmantes niveles de propagación de la enfermedad y por su gravedad.

- El 13 de marzo del 2020 se determina el Fondo de Respuesta Solidaria contra la COVID-19 para recibir donaciones de particulares, empresas e instituciones.
- Finalmente, el 18 de marzo del 2020 la OMS y sus asociados ponen en marcha el ensayo «Solidaridad», que tiene por objeto generar datos sólidos de todo el mundo para encontrar los tratamientos más eficaces contra el virus.

Autores como Pascual y Torrell (2020) manifestaron que se debe agregar que hasta el día de hoy en el mundo existen 250.784.268 casos confirmados, 5.062.943 personas fallecidas y 7.309.958.661 individuos vacunados con las diferentes dosis, la tasa de localización de casos varía día tras día y puede ser visualizada de manera gratuita y desde cualquier dispositivo inteligente en tiempo real ingresando en el sitio web descrito a continuación: <https://gisanddata.maps.arcgis.com/apps/dashboards/bda7594740fd40299423467b48e9ecf6> donde se podrá observar un sinnúmero de herramientas interactivas que le brindarán la mayor información posible acerca del covid-19 en su región (Bwire & Paulo, 2020; Lai et al., 2020; Lawani, 1981; Lu et al., 2020; Phat, 2020).

Materiales y métodos

Para la búsqueda de los documentos se utilizaron las bases de datos como a) Web of science, b) Scopus y c) PubMed; este proceso se elaboró el 2 de agosto del 2021 mediante la siguiente terminología algorítmica [COVID-19-2019-nCoV] o [SARS-CoV-2], con la opción de búsqueda avanzada especificando artículos de cuartil 1 - 2. Cabe recalcar que Llerena et al. (2021) manifestaron la necesidad de normalizar las variables de autores más productivos, filiación institucional entre otras, lo cual es fundamental para la ejecución de los análisis bibliométricos. En la búsqueda ante las 3 bases de datos mencionadas se recuperó un total de 123.541 documentos los cuales se sometieron a un proceso de normalización de metadatos para eliminar documentos réplicas, la muestra idónea para el estudio bibliométrico quedo compuesta por 98.458 documentos (fig. 2) (Chahrour et al., 2020; Dumas et

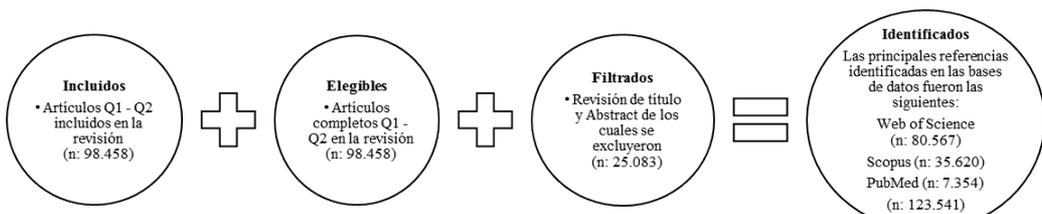


Figura 2. Esquema metodológico de búsqueda, recuperación y selección de la información sobre covid-19.

al., 2020; Matias-Guiu, 2020; Van & Waltman, 2010; Zhe et al., 2020).

Nota. Combinación de búsqueda para incluir, elegir, filtrar e identificar los artículos de mayor relevancia para el estudio bibliométrico.

Resultados

Los resultados están estructurados por la siguiente segmentación: a) autores más productivos, b) filiación institucional, c) año de publicación, d) país de procedencia, e) idioma de publicación, f) áreas de investigaciones, g) editores científicos y h) palabras claves mostrando un top 10 en cada elemento de análisis (Jianju et al., 2020; Kanne, 2020; Lu H, 2020).

Autores más productivos

La tabla 1 muestra la lista top 10 de los principales autores de covid-19 a nivel internacional, los documentos publicados sobre el tema de estudio las principales citaciones por otros investigadores y el enlace de fuerza entre colaboradores de los distintos países en áreas específicas. Lo cual también se puede apreciar en la figura 3 con un total de 9 clusters.

Filiación institucional

Por otra parte, la tabla 2 presenta las principales instituciones de educación superior dedicada a la investigación del presente estudio, donde se evidencia el número de documentos publicados, que universidades han usado esas investigaciones y la fuerza de enlace entre instituciones, es necesario recalcar que en la figura 4 se evidencia una formación de 25 cluster con las otras instituciones que no forman parte del top 10.

Año de publicación (área de coronavirus).

En la tabla 3 se demuestran los años de publicación

que cada base de datos ha aportado en estudios sobre la covid-19; podemos denotar un total de 158.130 investigaciones durante los 5 años que apareció la primera publicación sobre Sars-CoV-2 a nivel mundial.

País de procedencia.

En la tabla 4 encontramos los 10 principales países en contribuir con investigaciones sobre la covid-19; sin embargo, se refleja una gran afluencia de otros países en corroborar con sus investigaciones dentro de la actividad científica como se aprecia en la figura 5 conformada por 5 clusters.

Idioma de publicación.

En la tabla 5 es notable observar el idioma de presencia de los artículos publicados en las diferentes revistas de alto impacto y su correspondiente figura 6 con otros idiomas en los que se escriben las diferentes áreas relacionadas.

Áreas de investigaciones

La tabla 6 muestra cuales son las principales áreas fundamentales de investigaciones acerca del SARS-CoV-2, mientras que la figura 7 presenta otras áreas que aportan a los estudios en medicina.

Editores científicos

En la tabla 7 se presenta el top 10 de los principales editores científicos de cuartil 1 y 2 con aproximadamente un h-index de 235 puntos y además en la figura 8 se demuestra que otros editores contribuyen a las publicaciones relacionadas con el coronavirus.

Palabras claves

En la tabla 8 se presentan el top 10 de las principales palabras claves de los 98.458 documentos examinados en la presente investigación, de igual manera en la Tabla 8. Top 10 de palabras claves sobre la

Tabla 1. Top 10 de autores más productivos en la temática de covid-19. *Nota.* SCR: Standart Competition Ranking, representación total de documentos.

SCR	Autores	Documentos publicados	Citaciones	Fuerza de enlace entre investigadores
1	Kuldeep Dhama	11	152	29
2	Ruchi Tiwari	9	148	29
3	Shailesh Patel	7	140	27
4	Ranjit Sah	5	135	28
5	Yashpal Malik	6	105	29
6	Kumar Seang	6	125	20
7	Po-ren Hsueh	6	2145	32
8	Seong-Jun Kim	5	456	26
9	Changchuan Yin	5	97	10
10	Yung Yuen	5	17	3

Tabla 4. Top 10 de países que investigan sobre la covid-19. *Nota.* SCR: Standart Competition Ranking, representación total de documentos.

SCR	Países	Documentos publicados	Citaciones	Fuerza de enlace entre países
1	Estados Unidos	211	3522	74.00
2	China	201	5714	39.00
3	India	88	699	29.00
4	Alemania	68	925	23.00
5	Inglaterra	52	796	22.00
6	Italia	105	1307	22.00
7	Irán	35	390	17.00
8	España	47	646	12.00
9	Brasil	40	335	11.00
10	Turquía	40	432	10.00

Tabla 5. Top 10 de idiomas de publicaciones sobre la covid-19. *Nota.* SCR: Standart Competition Ranking, representación total de documentos.

SCR	Idiomas	Documentos publicados
1	Inglés	85.882
2	Español	1.775
3	Alemán	693
4	Portugués	552
5	Francés	306
6	Ruso	303
7	Italiano	260
8	Turco	208
9	Chino	63
10	Húngaro	55

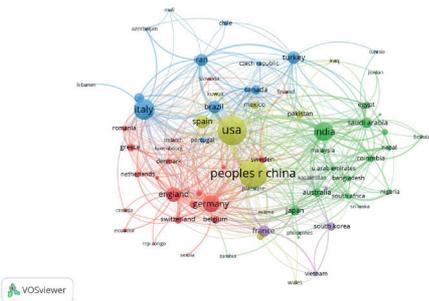


Figura 5. Principales países en investigaciones sobre el coronavirus.



Figura 6. Otros idiomas de publicaciones científicas sobre la covid-19.

Tabla 6. Top 10 de las áreas de investigaciones sobre la covid-19. Nota. SCR: Standart Competition Ranking, representación total de documentos.

SCR	Áreas	Documentos publicados
1	Medicina interna general	8.966
2	Salud ocupacional ambiental pública	8.819
3	Ciencia y tecnología	5.919
4	Ecología en ciencias ambientales	4.987
5	Enfermedades infecciosas	4.385
6	Negocios económicos	4.014
7	Psicología	3.788
8	Servicios de ciencias de la salud	3.483
9	Inmunología	3.042
10	Farmacología	2.814



Figura 7. Otras áreas relacionadas a la medicina y al covid-19.



Figura 8. Otros editores que hablan acerca del tema del covid-19.

Tabla 7. Top 10 de los editores científicos sobre la covid-19. Nota. SCR: Standart Competition Ranking, representación total de documentos.

SCR	Editores	Documentos publicados
1	Elsevier	15.299
2	Springer Nature	11.599
3	Wiley	8.079
4	Multidisciplinary Digital Publishing Institute	6.199
5	Taylor y Francis	5.561
6	Frontiers Media	3.483
7	Sage	3.417
8	Oxford Univ Press	1.971
9	Public Library Science	1.808
10	Lippincott Williams y Wilkins	1.741

Tabla 8. Top 10 de palabras claves sobre la covid-19. Nota. SCR: Standart Competition Ranking, representación total de documentos.

SCR	Palabras claves	Ocurrencias	Fuerza de enlaces entre palabras claves
1	Covid-19	919	1.712
2	Sars-CoV-2	908	1.708
3	Coronavirus	301	860
4	Neumonía	111	377
5	Infección	106	328
6	Mortalidad	92	300
7	Sars	81	296
8	2019-nCoV	80	268
9	Transmisión	77	247
10	Virus	63	222

covid-19. Nota. SCR: Standart Competition Ranking, representación total de documentos.

Conclusiones

Las primordiales conclusiones del presente trabajo se desglosan en los siguientes apartados: 1) Kuldeep Dhama es el autor más productivo en temas del covid-19; 2) la universidad que aporta con más investigaciones es Chinese Academy of Sciences; 3) el año de publicación que se registró más relevancia en investigaciones de contextos médicos (Sars-CoV-2) fue el 2021; 4) el país que mayor influencia tuvo

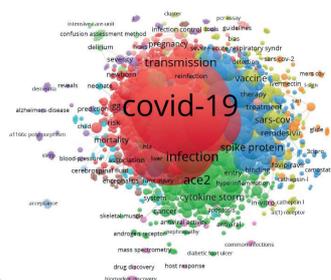


Figura 9. Otros ejes temáticos vinculados a la covid-19.

en investigaciones sobre el coronavirus es Estados Unidos; 5) el idioma que prevaleció en las distintas publicaciones es el inglés; 6) la principal área de investigación referente al campo médico es la medicina interna general; 7) el editor más significativo es Elsevier con más de 15.299 documentos publicados y 8) la palabra clave más utilizada para la búsqueda de información referente al tema de estudio es "covid-19" (Backer et al., 2020; Liu., 2020; Masters, 2006; Ryu y Chun, 2020). Finalmente, es importante destacar que la rápida expansión del covid-19 y sus diferentes cepas generarán futuras investigaciones centrándose en las eficiencias de las vacunas más nombradas (Pfizer, AstraZeneca, Moderna, Sinovac, Sputnik, etc...) donde se espera que exista mayor información estadística y producción científica para poder realizar nuevos estudios bibliométricos en otras databases como ScienceDirect, Crossref, Springer y Jstor (Chang, 2020; Chen et al., 2020; Elfiky, 2020; Jaffar, 2020; Jon, 2020; Robson, 2020; Zunyou y McGoogan, 2020).

Referencias

- Backer, J., Klinkenberg, D., y Wallinga, J. 2020. Incubation period of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) infections among travelers from Wuhan, China. *Euro Surveil*, 5, 89-96. doi: DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.5.2000062
- Bwire, G., y Paulo, L. 2020. Coronavirus disease-2019: is fever an adequate screening for the returning travelers? *Tropical Medicine and Health*, 48(14), 45-55. doi:https://doi.org/10.1186/s41182-020-00201-2
- Chahrour, M., Assi, S., Bejjani, M., Nasrallah, A., Salhab, H., y Farares, M. 2020. A bibliometric analysis of Covid-19 research activity: A call for increased output. *Cureus*, 12(3), 456-465. doi:10.7759/cureus.7357
- Chang, L. 2020. Pay attention to situation of SARS-CoV-2 and TCM advantages in treatment of novel coronavirus infection. *Chinese Herbal Medicines*, 12(2), 97-103. doi:https://doi.org/10.1016/j.chmed.2020.03.004
- Chang, Y. B., y Gurbaxani, V. 2012. Information Technology Outsourcing, Knowledge Transfer, and Firm Productivity. *MIS Quarterly*, 36(4), 1043-1063.
- Chen, J., Wenxiong, X., Ziyang, L., Jing, L., y Liang, P. 2020. Recurrence of positive SARS-CoV-2 RNA in COVID-19: A case report. *International Journal of Infectious Diseases*, 93, 67-75. doi:https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.03.003
- Chen, J.-S., y Tsou, H.-T. 2012. Performance Effects of IT Capability, Service Process Innovation, and the Mediating Role of Customer Service. *Journal of Engineering and Technology Management*, 29(1), 71-94.
- Cheng, C., Ping, T., Chien, W., Jen, H., y Ren, P. 2020. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): The epidemic and the challenges. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 55, 23-31. doi:https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105924
- Dumas, M., Garenne, A., Boraud, T., y Gonon, F. 2020. Does newspapers coverage influence the citations count of scientific publications? An analysis of biomedical studies. *Scientometrics*, 413-427. doi:https://doi.org/10.1007/s11192-020-03380-1
- Elfiky, A. 2020. Ribavirin, Remdesivir, Sofosbuvir, Galidesivir, and Tenofovir against SARS-CoV-2 RNA dependent RNA polymerase (RdRp): A molecular docking study. *Life Sciences*, 253, 80-86. doi:https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.117592
- Giwan, S., Geonhee, L., Mi, J., Seung-Hwa, B., Minsuk, C., Keun, B., Chang-Seop, L., Sangmi, J., Daeui, P., Hong, G. K., Seong-Jun, K., Jeong-O, L., Bum T. K., Edmond, C. P., Seung, K. 2020. Rapid Detection of COVID-19 Causative Virus (SARS-CoV-2) in Human Nasopharyngeal Swab Specimens Using Field-Effect Transistor-Based Biosensor. *Acs Nano*, 14, 5135-5142. doi:https://dx.doi.org/10.1021/acsnano.0c02823
- Jaffar, A. 2020. Asymptomatic coronavirus infection: MERS-CoV and SARS-CoV-2 (COVID-19). *Travel Medicine and Infectious Disease*, 35, 34-39. doi:https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2020.101608
- Jianju, G., Zhenxue, T., y Xu, Y. 2020. Chloroquine phosphate has shown apparent efficacy in treatment of COVID-19 associated pneumonia in clinical studies. *Biosci Trends*, 14(1), 72-76. doi:https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32074550/#:~:text=1%3A72-73,-,doi%3A%2010.5582/bst.2020.01047,-.
- Jon, D. 2020. New SARS-like virus in China triggers alarm. *Science*, 367(6475), 234-235. doi:DOI: 10.1126/science.367.6475.234
- Kanne, J. 2020. Chest CT findings in 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) infections from Wuhan, China: key points for the radiologist. *Radiology*, 291(1), 16-20. doi: DOI: 10.1148/radiol.2020200241
- Lai, C., Shih, T., Ko, W., Tang, J., y Hsueh, P. 2020. Severe acute respiratory syndrome acute respiratory syndrome and coronavirus disease-2019 COVID-19): the epidemic and the challenges. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 55(3), 45-50. doi:https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105924
- Lawani, S. 1981. Bibliometrics: Its Theoretical Foundations. *Journal Libri*, 31(1), 234-245. doi:https://doi.org/10.1515/libr.1981.31.1.294
- Liu, H., Ke, W., Wei, K. K., y Hua, Z. 2013. The Impact of IT Capabilities on Firm Performance: The Mediating Roles of Absorptive Capacity and Supply Chain Agility. *Decision Support Systems*, 54(3), 1452-1462.
- Liu, K., Yuan, Y., Liu, W., Wang, M., y Cheng, L. H. 2020. Clinical characteristics of novel coronavirus cases in tertiary hospitals in Hubei Province. *Chinese Medical Journal*, 133(9), 1025-1031. doi:doi: 10.1097/CM9.0000000000000744
- Llerena, M., y Arévalo, E. 2020. Análisis bibliométrico de la interacción profesor - alumno a través de las plataformas virtuales. *Espíritu Emprendedor TES*, 4(4), 42-65.
- Lu, H. 2020. Drug treatment options for the 2019-nCoV coronavirus (2019-nCoV). *Biosci Trends*, 14(1), 69-71. doi:10.5582/bst.2020.01020
- Masters, P. 2006. The molecular biology of coronaviruses. *Adv Virus Res*, 66, 193-292. doi:DOI: 10.1016/S0065-3527(06)66005-3
- Matias-Matias-Guiu, J. 2020. The role of scientific journal editors during the COVID-19 pandemic. *Neurologia*, 35(4), 223-225. doi:https://dx.doi.org/10.1016/j.nrleng.2020.05.011
- O'Brien, N., Barboza, M., Ventura, J., Caycho, R., Sandoval, S., López, W., y Salas, G. 2020. Nuevo coronavirus (COVID-19) Un análisis bibliométrico. *Revista Chilena de Anestesia*, 49(1), 408-415. doi:10.25237/revchilanestv49n03.020
- Pascual, C., y Torrell, V. 2020. Bibliometric analysis of Latin American and Caribbean scientific production about COVID-19 in pubmed. *Revista Cubana de Información en Ciencias de La Salud*, 31(3), 1-21. doi:https://doi.org/10.36512/rcics.v31i3.1600
- Phat, T. 2020. Genetic diversity and evolution of SARS-CoV-2. *Infect. Genet. Evol.*, 81. doi:10.1016/j.meegid.2020.104260.
- Robson, B. 2020. Computers and viral diseases. Preliminary bioinformatics studies on the design of a synthetic vaccine and a preventative peptidomimetic antagonist against the SARS-CoV-2 (2019-nCoV, COVID-19) coronavirus. *Computers in Biology and Medicine*, 119, 78-82. doi:https://doi.

- org/10.1016/j.combiomed.2020.103670
- Ryu, S., y Chun, B. 2020. Epidemiological characteristics of 2019 novel coronavirus: an interim review. *Epidemiol Health*, 42, 46-51. doi:DOI: <https://doi.org/10.4178/epih.e2020006>
- Shuai, X., Yun, Z., Meiquin, L., Qiaoshuai, L., Wei, X., Yanling, W., Tianlei, Y., Shuwen, L., Zhengli, Z., Shubo, J., Lu, L. 2020. Fusion mechanism of 2019-nCoV and fusion inhibitors targeting HR1 domain in spike protein. *Cellular & Molecular Immunology*, 17, 765-767. doi:<https://doi.org/10.1038/s41423-020-0374-2>
- van Eck, N.J. y Waltman, L. 2010. Software survey: VOSviewer, a computer program for bibliometric mapping. *Scientometrics*, 84, 523-538. doi:<https://link.springer.com/article/10.1007/s11192-009-0146-3>
- Vásquez, K., Roque, J., Angulo, Y., y Ninatanta, J. 2021. Análisis bibliométrico de la producción científica Peruana sobre la covid-19. *Revista Peruana de Medicina de Experimental y Salud Pública*, 38(2), 34-45. doi:<https://doi.org/10.17843/>
- Wang, D. H., y Huynh, Q. L. 2013. Mediating Role of Knowledge Management in Effect of Management Accounting Practices on Firm Performance. *Journal of Knowledge Management, Economics and Information Technology*, 3(3), 1-25.
- Wang, M., y Liao, Z. 2020. SARS-CoV-2 and COVID-19: How much do we know? *Acta virologica*, 64, 288-296. doi:doi:10.4149/av_2020_301
- Wu, F., Wang, A., Liu, M., Wang, Q., Chen, J., Xia, S., y Huang, J. (s.f.). 2020. Neutralizing Antibody Responses to SARS-CoV-2 in a COVID-19 Recovered Patient Cohort and Their Implications. *medRxiv*. doi:<https://doi.org/10.1101/2020.03.30.20047365>
- Zhe, X., Lei, S., y Yijin, W. 2020. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *The Lancet Respiratory Medicine*, 8(4), 420-422. doi:[https://doi.org/10.1016/s2213-2600\(20\)30076-x](https://doi.org/10.1016/s2213-2600(20)30076-x)
- Zhou, P., Yang, X., Wang, X., Hu, B., Zhang, L., Zhang, W., Si, H., Zhu, Y., Li, B., Huang, C., Chen, H., Chen, J., Luo, Y., Guo, H., Jiang, R., Liu, M., Chen, Y., Shen, X., Wang, X., Zheng, X., Zhao, K., Chen, Q., Deng, F., Liu, L., Yan, N., Zhan, F., Wang, Y., Xiao, G. y Shi, Z. 2020. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*, 579, 270-273. doi:<https://doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7>
- Zunyou, W., y McGoogan, J. 2020. Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China. *Jama*, 323(13), 1239-1242. doi:doi:10.1001/jama.2020.2648

Contribución al conocimiento de *Stigmaphyllon nudiflorum* (Malpighiaceae), una liana endémica en Peligro Crítico y una hipótesis sobre su origen evolutivo en la costa de Ecuador

Contribution to the knowledge of *Stigmaphyllon nudiflorum* (Malpighiaceae), a critically endangered endemic liana and a hypothesis about the evolutionary origin on the coast of Ecuador

Xavier Cornejo^{1*}

¹Herbario GUAY, Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Guayaquil, Av. Raúl Gómez Lince s.n. y Av. Juan Tanca Marengo (campus Mapasingue), P.O. Box 09-01-10634, Guayaquil, Ecuador.

Recibido 3 agosto 2021; revisado 26 agosto 2021; aceptado 20 de diciembre 2021; disponible en línea 30 de diciembre 2021.

Resumen

Se reporta por primera vez para la especie y para el género las alas acrescentes de las sámaras de *Stigmaphyllon nudiflorum*, una liana de Malpighiaceae endémica del bosque seco de la provincia del Guayas, en la costa de Ecuador. Además, con base a un estudio previo de la edad e historia biogeográfica de este género y en correlación con el origen de los suelos en donde *S. nudiflorum* habita, se presenta una hipótesis acerca del origen evolutivo de esta y otras especies relacionadas endémicas del área sureste de la cordillera Chongón-Colonche, en el occidente de Ecuador.

Palabras clave: bosque seco, costa, endemismo, Pacífico.

Abstract

The accrescent wings of the sámaras of *Stigmaphyllon nudiflorum*, a Malpighiaceae liana endemic to the dry forest of the Guayas province, on the coast of Ecuador, are reported here for the first time for the species and for the genus. In addition, based on a previous study of the age and biogeographic history of this genus coupled to the origin of the soils where *S. nudiflorum* inhabits, a hypothesis is presented here about the evolutionary origin of this and other related species endemic to the southeast area of the Chongón-Colonche mountain range, in western Ecuador.

Key words: coast, dry forest, endemism, Pacific.

Introducción

Stigmaphyllon A. Juss. es un género monofilético de lianas que pertenece a las Malpighiaceae Juss. (familia de la Ayahuasca), comprende 90 especies en el Neotrópico con excepción de *S. bannisterioides* A. Juss., que también se encuentra en el occidente de África (Anderson, 2011). Trece especies de *Stigmaphyllon* han sido reportadas en Ecuador (Anderson, 1997; Jorgensen & León, 1999); entre estas, 3 taxa endémicas y escasamente conocidas habitan bajo los 500 m en las tierras bajas del bosque seco deciduo del Pacífico Ecuatorial: *S. ecuadorensis* C. Anderson (1993), *S. eggertii* C. Anderson (1993) y *S. nudiflorum* Diels (1937). *Stigmaphyllon nudiflorum* es la única especie en este género que presenta un comportamiento fuertemente caducifolio, esta florece y fructifica únicamente después de descartar sus hojas maduras durante la estación seca; por esta

razón, las pocas colecciones fértiles de herbario conocidas de esta especie estrictamente consisten en ramas completamente desfoliadas o produciendo hojas muy jóvenes con flores y escasas veces con unos pocos frutos (Anderson, 1997; obs. pers.). En campo, los individuos de *S. nudiflorum* se aprecian como alambres desfoliados y poco atractivos de varios metros de longitud, a no ser por la presencia de sus coloridas flores amarillas, de otro modo fácilmente podrían pasar desapercibidos en medio de la vegetación decidua.

Stigmaphyllon nudiflorum fue descrita como una nueva especie con base en el holotipo (Diels 1231, B), colectado el 29 de Septiembre de 1933, 20 km al oeste de Guayaquil, por el botánico alemán Ludwig Diels mientras estaba en funciones como Director del herbario de Berlín (Diels, 1937; Anderson, 1997); al parecer no existen duplicados (isotipos). La

* Correspondencia del autor:
E-mail: xcornejoquay@gmail.com



publicación original describe el hábito trepador, las ramas y las flores; de las hojas sólo menciona que no están desarrolladas durante la estación seca y no hay información de los frutos (Diels, 1937). La mencionada colección tipo de *S. nudiflorum*, así como miles de especímenes tipos de plantas provenientes de todas partes del mundo y principalmente de América tropical fueron quemadas en un voraz incendio causado por un bombardeo sorpresivo y al azar (Hugh H. Iltis, com. pers.), realizado por las fuerzas aliadas en la noche entre el 1 al 2 de marzo de 1943, este destruyó el ala izquierda y la porción central del Museo Botánico de Berlín en Dahlem, durante la Segunda Guerra Mundial (Hiepko, 1987). Posteriormente, la designación de un neotipo (*Dodson & Dodson 11199*, MO, SEL, proveniente de Capeira, km 21 vía Guayaquil-Daule, en la provincia del Guayas) que consiste en segmentos de ramas, flores y sámaras con un ala desarrollada y una descripción de esta especie han sido presentados en la monografía de este género (Anderson, 1997).

Durante el trabajo de campo realizado en los años 2020 y 2021 para la elaboración de la Flora de Guayaquil (Cornejo, en prep.), se encontraron individuos de *Stigmaphyllon nudiflorum* en 6 sitios en Cerro Azul, Cerro Blanco y muy cerca de la localidad tipo, estos sitios están localizados en la porción terminal sureste de la cordillera Chongón-Colonche, todos los individuos observados difieren de la descripción de esta especie por presentar frutos con nueces sin alas, nueces crestadas o con alas vestigiales, distintos de los descritos para *S. nudiflorum* y del neotipo designado (Anderson, 1997). A finales de noviembre de 2021, se observó en campo que frutos con las formas mencionadas son parte de un rango de variabilidad dentro de su desarrollo ontogénico, este no había sido reportado para esta especie y además era desconocido para el género. Este aspecto del ala acrescente de los frutos de *S. nudiflorum* y una hipótesis acerca del posible origen evolutivo de este taxón y de las especies endémicas restantes que habitan en el área de la cordillera Chongón-Colonche y sus alrededores se presenta a continuación.

Materiales y Métodos

Se estudiaron los especímenes relevantes en montajes o digitalizados en alta resolución de los herbarios GUAY, MICH, y US. Las medidas han sido tomadas de especímenes de herbario y de 9 individuos de *Stigmaphyllon nudiflorum* estudiados y fotografiados en campo entre febrero de 2019 hasta noviembre de 2021.

Resultados

Los frutos de *Stigmaphyllon nudiflorum*: *Stigmaphyllon nudiflorum* presenta flores con 1 ovario, 3-carpelar, 3-locular; cada flor produce 1-2(-3) nueces, éstas se generan una en cada lóculo (Fig. 1: A,B,C). Cada nuez se desarrolla hasta alcanzar 1.4-1.9 × 1.1-1.2 cm (en vivo), ca. 13 × 1 cm (en seco).



Figura 1. *Stigmaphyllon nudiflorum* Diels. A, Flor, vista adaxial; B, Acercamiento de la flor, vista lateral; C, Hoja juvenil, envés blanco-tomentoso, vista abaxial; D, Nueces quilladas; E, Nueces con alas vestigiales; F, Rama con infructescencias portando frutos en todo el rango de variabilidad, desde nuez crestada (izq.) hasta sámara con ala desarrollada (der.).

Las nueces son lisas, de color café-oscuro a café-rojizas, cubiertas por una abundante pubescencia corta; inicialmente alcanzan su mayor crecimiento sin tener un ala desarrollada, más bien son quilladas o con una cresta dorsal de 2-3 mm (Fig. 1:D), o con alas vestigiales ca. 1.1×1.3 cm (Fig. 1:E), hasta este grado de desarrollo se encuentran mientras aún hay flores en la misma inflorescencia. Posteriormente, las alas de los frutos se tornan acrescentes, es decir, presentan un crecimiento mayor después del desarrollo de la nuez hasta conformar verdaderas sámaras oblongas, dorsalmente 1-aladas, de color café oscuro, cuyas dimensiones en vivo son 3.6-4.5 × 1-1.2 cm (Fig. 1:F). El ala de la sámara es suave, membranosa y más flexible hacia la porción distal, siendo en cuanto a la textura en fresco similar a la cola de un pez. Estas observaciones de campo permitieron conocer la naturaleza acrescente en la ontogenia de los frutos de *S. nudiflorum*, esta característica era desconocida para esta especie y género, respectivamente.

Frutos con el ala dorsal reducida a una cresta o quilla es un carácter distintivo presente solamente en tres especies en el Neotrópico, estas son: *S. bannisterioides* (L.) C.E. Anderson distribuida desde Mesomerica hasta Brazil y en las Indias Occidentales, *S. harleyi* W.R. Anderson restringida a Bahía,

Brasil, y *S. paralias* del este de Brazil (op. cit.); sin embargo, el ala vestigial en estas especies al parecer permanece constante y no presentan un desarrollo acrescente hasta llegar a ser una sámara, como sucede en *S. nudiflorum*. La presencia de especies en este género con frutos quillados o crestados o con alas vestigiales o reducidas adaptadas para dispersión por agua, como lo es también *Tetrapteris subaptera* Cuatrec. (Malpighiaceae) que habita en los manglares del Pacífico desde el sureste de Panamá hasta el noroccidente de Ecuador (Cornejo, 2014), inicialmente condujo a pensar que las poblaciones de *S. nudiflorum* que presentaban frutos similares podrían tratarse de una especie no descrita. Finalmente, el 27 de noviembre de 2021, esto es, al final del quinto mes del rango total del periodo de fructificación de esta especie se encontró en La Artillería, en la provincia del Guayas, 3 individuos de *S. nudiflorum* exhibiendo los frutos en toda la gama del desarrollo ontogénico, esto es, desde nueces desarrolladas y quilladas hasta sámaras unialadas con alas distintivas y bien desarrolladas (Fig. 1:F), comprobándose que el ala es un elemento acrescente en el fruto, es decir, no crece hasta su talla máxima conjuntamente con la formación de la nuez, sino que su mayor crecimiento es posterior al desarrollo de ésta.

Hábitat, distribución:— *Stigmaphyllon nudiflorum* habita en los fragmentos secundarios de bosque seco deciduo del Pacífico ecuatorial, y es ocasionalmente persistente en áreas alteradas con especies nativas remanentes en ambientes que reciben un fuerte impacto de la radiación solar, entre 20 hasta 200 m. Crece en suelos rocosos, calizos, con buen drenaje, localizados hacia la porción terminal sureste de la cordillera Chongón-Colonche, al oeste y hacia norte de la ciudad de Guayaquil, en la provincia del Guayas, en la costa de Ecuador (Anderson, 1997).

Estado de Conservación: Esta especie no se encuentra dentro del Sistema Nacional de Áreas Protegidas del Ecuador y ha sido categorizada En Peligro Crítico, CR B2ab(iii) (Barriga en León-Yáñez et al., 2011). Aunque se encuentra parcialmente protegida en reservas privadas como el Bosque Protector Cerro Blanco y en el Bosque La Prosperina que es manejado por la ESPOL, sus principales amenazas son la deforestación, la ampliación de la frontera urbana de la ciudad de Guayaquil y las quemadas provocadas y sin control de la vegetación que se producen todos los años durante la estación seca.

Fenología: *Stigmaphyllon nudiflorum* florece y fructifica mayormente durante la estación seca cuando las plantas están deciduas o generando hojas jóvenes. Las flores se producen desde julio hasta enero y fructifica desde agosto hasta febrero; la producción de sámaras maduras completamente desarrolladas coincide con el inicio de la estación lluviosa, durante este periodo se produce la germinación y crecimiento vegetativo con la producción de tallos, ramas y hojas. Las nuevas hojas se desarrollan y alcanzan la madurez desde finales de diciembre hasta mayo, mayormente

durante la temporada de lluvias, éstas caen antes de la floración.

El comportamiento fuertemente caducifolio y los frutos quillados, crestados, de lo contrario con alas muy reducidas, es una combinación única de características que permiten reconocer fácilmente a esta especie. *Stigmaphyllon nudiflorum* se ha pasado por alto debido a la fenología completamente decidua, con los tallos sin hojas que permanecen como alambres poco atractivos y los frutos pequeños de color marrón oscuro que se pueden confundir fácilmente entre la vegetación nativa leñosa de hoja caduca de color marrón claro a grisáceo.

Interacciones biológicas: *Stigmaphyllon nudiflorum* es una liana mirmecófila, al menos dos especies de hormigas han sido observadas visitando activamente las plantas de esta especie, una en los nectarios de las inflorescencias, otras formando grupos numerosos en los nudos alrededor de la base en donde se inserta el pedúnculo de la inflorescencia. Además, las flores poseen elaióforos en la base externa de los sépalos, éstas son glándulas especializadas en la secreción de aceites apetecidos por varias especies de abejas nativas del género *Centris*, como también sucede en otras lianas de Malpighiaceae en el bosque seco deciduo del Pacífico Ecuatorial (BSDPE) que poseen flores amarillas, como *Tetrapteris jamesonii* Turcz. (obs. pers.).

Hipótesis del origen de las especies de *Stigmaphyllon* endémicas del occidente de Ecuador: Considerando la edad e historia biogeográfica de *Stigmaphyllon* y la formación de los suelos en donde habita *S. nudiflorum* se presenta una hipótesis sobre el posible origen evolutivo de esta especie y de otras especies endémicas relacionadas presentes en el área de la cordillera Chongón-Colonche y sus alrededores. La reconstrucción de la edad e historia biogeográfica de *Stigmaphyllon* basada en una región nuclear de ADN (PHYC) y dos regiones de ADN ribosomal (ETS, ITS) utilizando métodos de parsimonia y análisis Bayesianos, indica que el ancestro común más reciente en este género se originó en los bosques lluviosos del Atlántico/región de la Caatinga en el noreste de Brasil hace ca. 26 millones de años; *Stigmaphyllon* mayormente se diversificó ca. 26.5 hasta 21 millones de años y colonizó la amazonia en dos eventos que se realizaron entre 22 a 6 millones de años (de Almeida y van den Berg 2020; Willis et al., 2014). La evidencia fósil indica que los suelos donde *Stigmaphyllon nudiflorum* habita estuvieron sumergidos como un área arrecifal subsuperficial en un ecosistema marino abierto, estos suelos emergieron como consecuencia de la colisión de la costa de Ecuador contra las márgenes occidentales de los Andes, probablemente durante o después del Oligoceno tardío-Mioceno (ca. 28.1 hasta 20.4 millones de años; Jaillard et al., 1995; Moreira, 2019). Las nuevas tierras emergentes de la proto-cordillera Chongón-Colonche inicialmente fueron islas que permitieron la colonización de especies de tierra firme y la formación de antiguos

ecosistemas terrestres en el occidente de Ecuador, en los que se habrían producido procesos de especiación generando un número de especies endémicas locales y regionales (Wolf, 1892; Cornejo & Lombardi, 2021).

Consecuentemente, con base en la reconstrucción de la edad e historia biogeográfica del género (op cit.), corelacionada con la evidencia fósil y las fechas del origen de los suelos en la cordillera Chongón-Colonche en el occidente de Ecuador, más los eventos tectónicos regionales, la morfología del fruto y su síndrome de dispersión tipo anemocoria, aquí se hipotetiza que la llegada del género *Stigmaphyllon* al occidente de Ecuador se produjo por vientos que soplaban desde la Amazonia en dirección hacia el oeste y que la formación de los lineajes de las conespecíficas endémicas de los bosques secos del occidente de Ecuador como *S. nudiflorum*, *S. ecuadorensis*, *S. eggersii*, y también de *Amorimia kariniana* W.R. Anderson y *Mascagnia haenkeana* W.R. Anderson (Malpighiaceae), ambas endémicas locales del sureste de la cordillera Chongón-Colonche y de la provincia del Guayas, con frutos samaroides, cuyo patrón de distribución es similar al de *S. nudiflorum*, fueron el resultado de eventos vicariantes que se habrían producido después de cruzar los Andes hacia el Pacífico por parte de las especies anemófilas ancestrales durante el Neogeno (23 hasta 2.58 millones de años).

Especímenes estudiados

ECUADOR. Guayas: Capeira, km 21 Guayaquil to Daule, 2°01'S, 79°57'W, 20-180 m, 13 Sep 1981 (fr), C.H. Dodson & P.M. Dodson 11199 (MO, foto en MICH!, neotipo); 22 km N of Guayaquil in road to Daule, 2°00'S, 79°58'W, 20-150 m, 14 Jul 1986 (fl, fr), A. Gentry & C.H. Dodson 54823 (MICH!). Road from Guayaquil to Quevedo, km 78, ca. 1°24'S, 79°26'W, 100 m, 12 Nov 1961 (fr), C.H. Dodson & L.B. Thien 1295 (US!). 9 km N of Guayaquil on road to Daule, 50 m, 24 Sep 1961 (fl), C.H. Dodson & L.B. Thien 712 (US!). Bosque Protector Cerro Blanco, 2°09'S, 79°59'W, 100 m, Sep 2021 (fl, fr), X. Cornejo & J. Josse 9392 (GUAY!); Cerro Azul, 2°10'S, 79°58'W, 100 m, Sep 2021 (fl, fr), X. Cornejo & J. Josse s.n. (GUAY!). Chongoncito, ca. 25 km W from Guayaquil, 2°14'S 80°04'W, 20 m, 17 Sep 2021 (fl, fr), X. Cornejo, C. Calderón & J. Rambay 9393 (GUAY!).

Agradecimientos

El autor expresa su agradecimiento a Christiane Anderson (MICH) por sus útiles comentarios de las especies de *Stigmaphyllon* y por proveer al autor de la literatura pertinente y de imágenes digitales de las colecciones de *S. nudiflorum* de MICH, y en especial del neotipo. Al Ing. Jorge Josse Moncayo, con quien ha realizado las salidas de campo a Cerro Azul y Cerro Blanco durante los años 2020 y 2021, que permitieron encontrar a esta especie y notar *in situ* su característica de generar frutos sin alas desarrolladas en los estadios iniciales.

Referencias

- Anderson, C.E. 1997. Monograph of *Stigmaphyllon* (Malpighiaceae). *Systematic Botany Monographs* 51: 1-313.
- Barriga, P. 2017. *Stigmaphyllon nudiflorum*. En: León-Yáñez, S., R. Valencia, N. Pitman, L. Endara, C. Ulloa Ulloa y H. Navarrete (Eds). Libro Rojo de Plantas Endémicas del Ecuador. Publicaciones del Herbario QCA, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito. <<https://bioweb.bio/floraweb/librorojo/FichaEspecie/Stigmaphyllon%20nudiflorum>>, acceso jueves, 23 de diciembre de 2021.
- Cornejo, X. 2014. *Plants of the South American Pacific Mangrove swamps (Colombia, Ecuador, Perú)*. Ed. EDUQUIL. 312 p.
- Cornejo, X. and Lombardi, J.A. 2021. *Salacia juradoi* (Celastraceae), a new species from coastal Ecuador. *Phytotaxa*, 524(2): 125-130.
- de Almeida, R.F. and van den Berg, C. 2020. Biogeography of *Stigmaphyllon* (Malpighiaceae) and a meta-analysis of vascular plant lineages diversified in the Brazilian Atlantic Rainforests point to the Late Eocene origins of this megadiverse biome. *Plants*, 9(11), p.1569.
- Diels, L. 1937. Beiträge zur Kenntnis der Vegetation und Flora von Ecuador. *Bibliotheca Botanica*. 29(116): 1-190. Stuttgart.
- Hiepko, P. 1987. The collections of the Botanical Museum Berlin-Dahlem (B) and their history. *Englera* 7: 219-252.
- Jaillard, É., Ordoñez, M., Benitez, S., Berrones, G., Jiménez, N., Montenegro, G. y Zambrano, I. 1995. Basin development in an Accretionary, Oceanic-floored Fore-Arc Setting: Southern Coastal Ecuador during Late Cretaceous-Late Eocene Time. In A. J. Tankard, R. Suárez S., and H. J. Welsink (Eds.), *Petroleum Basins of South America*, *American Association of Petroleum Geologist Memoir* 62: 615-631.
- Jørgensen, P. M. y S. León-Yáñez, eds. 1999. Catalogue of the Vascular Plants of Ecuador. *Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard.* 75: 1-1181.
- Moreira, R.C. 2019. *Bioestratigrafía y ambiente sedimentario de depositación de las calizas de la formación San Eduardo (Eoceno) al sur del Bosque Protector Cerro Blanco, Provincia del Guayas*. Trabajo de titulación previo a la obtención del grado académico de Ingeniero Geólogo. Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Guayaquil, 97 pp.
- Willis, C.G., Franzone, B.F., Xi, Z., Davis, C.C. 2014. The establishment of Central American migratory corridors and the biogeographic origins of seasonally dry tropical forests in Mexico. *Front. Genet.* 2014, 5, 433.
- Wolf, T. 1892. *Geografía y Geología del Ecuador*. Editorial Casa de la Cultura Ecuatoriana, Quito, Ecuador, p. 798.

Contenidos de la Revista Científica de Ciencias Naturales y Ambientales Vol. 15(2)

Aislamiento y caracterización molecular de cepas fitoplanctónicas obtenidas en Engabao, Guayas-Ecuador / Isolation and molecular characterization of phytoplankton strains obtained in Engabao, Guayas-Ecuador.....	Daniela Cabrera, Efrén Santos.....259
Etnobotánica de las plantas más utilizadas en el Recinto Jauneche, Cantón Palenque, Provincia Los Ríos, Ecuador / Ethnobotany of the most used plants in the Jauneche Enclosure, Palenque Canton, Los Ríos Province, Ecuador.....	Andrea Valdiviezo, Carmita Bonifaz.....278
Sars-Cov-2 Un Análisis Bibliométrico en La Actualidad / An Updated Bibliometric Analysis on Sars-Cov-2.....	Manuel Llerena.....289
Contribución al conocimiento de <i>Stigmaphyllon nudiflorum</i> (Malpighiaceae), una liana endémica en Peligro Crítico y una hipótesis sobre su origen evolutivo en la costa de Ecuador / Contribution to the knowledge of <i>Stigmaphyllon nudiflorum</i> (Malpighiaceae), a critically endangered endemic liana and a hypothesis about the evolutionary origin on the coast of Ecuador.....	Xavier Cornejo.....299
Normas para la publicación de artículos, “Revista Científica de Ciencias Naturales y Ambientales” / Guidelines for publishing articles “Revista Científica de Ciencias Naturales y Ambientales”	