



CATÁLOGO FICOLÓGICO

CYANOPHYTAS

DEL ESTANQUE ARTIFICIAL DE LA FACEN - UNA



Ana Núñez
Melissa Dos Santos

CATÁLOGO FICOLÓGICO

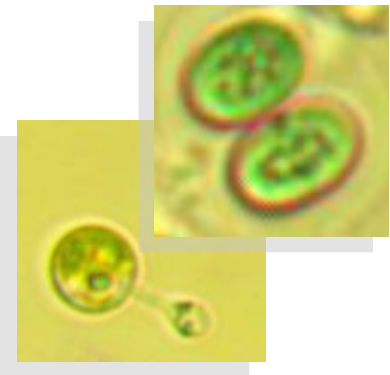
CYANOPHYTAS

DEL ESTANQUE ARTIFICIAL DE LA FACEN

Ana Núñez
Melissa Dos Santos

San Lorenzo - Paraguay

Abril, 2020



Ana Núñez

Biotecnóloga.

Laboratorio de Hidrobiología
Departamento de Biología
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Universidad Nacional de Asunción
+595 985 950 837
lissethan@gmail.com

Melissa Dos Santos

Bióloga.

Laboratorio de Hidrobiología
Departamento de Biología
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Universidad Nacional de Asunción
+595 992 375 439
melss2santos@gmail.com

Núñez, Ana & Dos Santos, R. M. Catálogo Ficológico Cyanophytas: Del Estanque de la FACEN – UNA / Ana Núñez & R. Melissa Dos Santos.-- San Lorenzo: FACEN, 2020.
100 p., 25 cm
Incluye bibliografías, tablas, fotografías e ilustraciones etc.

ISBN: 978-99967-0-475-8

1. Ficología. 2. Algas 3. Cyanophytas - Paraguay. 4. Ficología - Catálogo. 5. Ficología – Paraguay. 6. Taxonomía Cyanophytas. 7. Cyanophyceae. I. Título.

589/N94c

© **Copyright 2020**

Universidad Nacional de Asunción - Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Campus Universitario, San Lorenzo/Paraguay - Casilla de Correo: 1039. Teléfono/Fax:
+595 21 585 600 - Web Site: www.facen.una.py

Queda expresamente prohibida la reproducción y copia de este material sin la autorización escrita de los titulares del material, ya que el mismo está sujeto a las sanciones establecidas por las leyes nacionales.

CATÁLOGO FICOLÓGICO

CYANOPHYTAS

DEL ESTANQUE ARTIFICIAL DE LA FACEN - UNA

Ana Núñez
Biotecnóloga

Melissa Dos Santos
Bióloga

UNIVERSIDAD NACIONAL DE ASUNCIÓN
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Departamento de Biología
Laboratorio de Hidrobiología
Ciudad Universitaria – San Lorenzo - Paraguay

CRÉDITOS

Equipo de muestreo de campo	Aurora Paredes, María de los Ángeles Gutiérrez, Martha Ávila y Ana Núñez.
Equipo de gabinete	Ana Núñez y Melissa Dos Santos
Fotomicrografía	Ana Núñez, Martha Ávila, Aurora Paredes, María de los Ángeles Gutiérrez
Fotografías panorámicas	Ana Núñez y Melissa Dos Santos
Revisiones	María Vera, Odilia Cabañas y Darío Dos Santos.
Diseño gráfico	Ana Núñez y Melissa Dos Santos
Cita Bibliográfica	Núñez, A. & Dos Santos, M., 2020. Catálogo Ficológico - Cyanophytas - Del Estanque Artificial de la FACEN - UNA. Campus Universitario, San Lorenzo - Paraguay. 72 pp

A aquellos quienes alentaron, criticaron, ayudaron en la realización de este trabajo.

A mi tutora y amiga, quien no dejo de recordarme, en cada momento, acerca de la responsabilidad de terminar este catálogo.

Ana Núñez

A los colaboradores, estudiantes que ponen todo el empeño en su alianza con nuestros proyectos de investigaciones y sus estudios, gracias por ser mis compañeros y amigos.

Melissa Dos Santos

Índice

Parte I

Sección 1. Introducción y Características de las cianófitas.

Sección 2. Toxinas.

Sección 3. Metodología y procedimientos.

Parte II

Sección 4. Claves de identificación.

Sección 5. Identificación.

Parte III

Sección 6. Usos.

Sección 7. Aplicaciones.

Parte I

1. Introducción y características de las cianófitas.

Introducción.....1 p

Características de las cianófitas.....1 - 2 p

2. Toxinas.

Cianotoxinas 5 p

Estudios Toxicológicos.....5 p

3. Metodología y procedimientos

Procedimientos y Metodología.....9 p

Mapa.....10 p

Materiales.....11 p

Parte II

4. Claves de identificación

Taxonomía.....14 p

Claves de identificación.....15 p

5. Especies Identificadas

Anabaena sp.....22 p

Anabaena constricta.....23 p

Cylindrospermopsis catemaco.....24 p

Raphidiopsis sp.....25 p

Raphidiopsis curvata.....26 p

Aphanocapsa sp.....27 p

Aphanocapsa annulata.....28 p

Aphanocapsa holsatica.....29 p

Aphanocapsa delicatissima.....30 p

Aphanocapsa incerta.....31 p

Aphanocapsa koordersii.....32 p

Synechocystis aquatilis.....33 p

Rhabdoderma lineare.....34 p

Índice

<i>Planktolyngbya</i> af. <i>Limnetica</i>	35 p
<i>Chroococcus</i> sp.....	36 p
<i>Cyanostylon</i> sp.....	37 p
<i>Gloeotheca tepidariorum</i>	38 p
<i>Gloeotheca interspersa</i>	39 p
<i>Microcystis</i> sp.	40 p
<i>Microcystis wesenbergii</i>	41 p
<i>Microcystis aeruginosa</i>	42 p
<i>Arthrospira máxima</i>	43 p
<i>Geitlerinema</i> sp.....	44 p
<i>Lyngbya contorta</i>	45 p
<i>Oscillatoria</i> sp.....	46 p
<i>Oscillatoria limosa</i>	47 p
<i>Phormidium</i> sp.....	48 p
<i>Phormidium autumnale</i>	49 p
Especies no Identificadas.....	50 p
Nuevos Registros.....	51 p

Determinación de la Biomasa.....	64 p
Ceparios.....	64 p
Vectores.....	65 p
Determinación de concentración de proteínas.....	65 p
Determinación de moléculas bioactivas.....	65 p
Otros.....	65 p
Alimentos.....	65 p
Cosméticos.....	65 p
Referencias Bibliográficas.....	3,7, 52-56, 69-72 p

Parte III

6. Aplicaciones.....	57 p
Usos de las cianotoxinas.....	58 p
Como bioindicadores.....	58 p
Evaluación de riesgo en sistemas acuáticos.....	58 p
Aislamiento.....	59 p
Medios de cultivo.....	59 p
Purificación de cepas.....	61 p
Obtención de Biomasa.....	62 p
Variables de crecimiento de una especie algal.....	62 p
Identificación molecular de algas.....	62 p
Análisis Filogenético.....	63 p
Rendimiento de las microalgas.....	63 p
Estimación del crecimiento.....	63 p
Conteo de algas.....	64 p

Prólogo

En Paraguay, son pocos los científicos que se dedican a la investigación de la composición Ficológica de los sistemas de agua del territorio nacional. En consecuencia, se genera un impacto negativo sobre los resultados de análisis en monitoreos de gestión ambiental y posibilidades de aplicación en áreas de Paleolimnología, Ecología y Biotecnología. En cierto aspecto, la falta de información presenta una ventaja para quien esté atraído por estudiar la riqueza ficológica del Paraguay debido a que se encuentra ante grandes áreas potenciales de investigación y desarrollo de servicios y productos. Sin embargo la falta de información siempre es una desventaja en especial a la hora de analizar las problemáticas ambientales e intentar soluciones para ellas. Por ello, es importante comenzar a revertir el panorama de desconocimiento sobre las algas en Paraguay. Si bien, todavía son pocos los trabajos publicados sobre especies ficológicas, son muy importantes como base o punto de partida.

Este humilde catálogo, pretende ser una herramienta científica y académica así como una base importante para el conocimiento de un grupo ficológico importante. Cuando hablamos de recursos ficológicos, nos referimos a cualquiera o a todos los grupos de algas tanto macroscópicos como microscópicos. Este material se constituye como el primer material que hace una colaboración específica en el conocimiento del grupo de Cyanophytas, algas microscópicas verdeazuladas. Habitualmente pueden ser encontradas formando parte de la flora microscópica superficial de sistemas de agua naturales o artificiales. El área de estudio para este trabajo fue el estanque artificial del campus de la UNA, un pequeño espacio aledaño a las instalaciones de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, donde las especies de Cyanophytas fueron identificadas y hoy enriquecen la base de datos de especies de algas identificadas para Paraguay.

El catálogo provee una lista de 28 especies de cianófitas identificadas. También se encuentra la descripción de cada especie con la fotomicrografía correspondiente. Como complemento muy innovador, en es-

te tipo de trabajos bibliográficos, para algunas de las especies se incluyeron un pequeño resumen de artículos científicos que relatan avances biotecnológicos logrados con algunas de las especies de este grupo, así como en distintos sectores de producción o de servicios.

El trabajo se complementa ofreciendo información con algunos procedimientos y metodologías para trabajar con este u otro grupo de microalgas, en campo y laboratorio. Una clave de identificación bien detallada por género de las cianófitas.

Ana Núñez y Melissa Dos Santos



INTRODUCCIÓN

Introducción

Las cianobacterias son un grupo de procariontes fotosintéticos (Rai, 2018). Se encuentran clasificadas en el reino bacteria, por sus características celulares (no cuentan con compartimentos membranosos dentro de la célula). Se las considera dentro del grupo de las algas por su protagonismo en el ecosistema, debido a que son capaces de realizar fotosíntesis con ayuda de los pigmentos verde-azulados o verdes (característica que los diferencia de otras bacterias), por su distribución acuática, por su tamaño y características morfológicas externas. Debido a estas características nos referiremos a las cianobacterias como microalgas.

La clasificación taxonómica puede variar dependiendo de algunos autores clásicos y de las revisiones realizadas por los investigadores dedicados a esta área, la taxonomía (Barsanti & Gualtieri, 2014; Ibañez & Guerrero, 2017). Aquí, se utiliza, principalmente, la clasificación definida por Bicudo & Menezes (2006). Así como también Prescott (1975); Streble & Krauter (1987); Cambra *et al.* (1998); González & Pérez (2002); Wehr & Sheath (2003) y Bernal *et al.* (2005) y otros autores descriptos más adelante.

Las cianófitas fueron las primeras en proveer oxígeno a la atmósfera. Registros fósiles indican que este grupo lleva al menos 2.3-2.45 millones de años existiendo. Hoy en día se debe conocer a estos microorganismos, tanto por los impactos que pueden provocar sobre nuestra salud, como por los beneficios que pueden brindar en las áreas de producción. Entre ellos están sus usos biotecnológicos, toxicológicos y otros (Graham *et al.*, 2009).

Las Cyanophytas, corresponden a un grupo de algas que son conocidas bajo diferentes denominaciones comunes: algas azules, algas verdeazuladas, cianoficeas, cianófitas y cianobacterias. Por mucho tiempo han sido clasificadas como un grupo llamado Mixophyta, luego como Schizophyta y finalmente como Cyanobacteria por su relación con las bacterias en el sentido de organización celular (Sierra & Ramírez, 2000). Son algas procarióticas de características celulares muy parecidas al de las bacterias pero lo que las hace diferentes de las últimas es que las algas verdeazula-

das poseen clorofila *a* (un tipo de pigmento fotosintético) que las asocia con las células eucariotas y las plantas superiores fotosintéticas (Graham *et al.*, 2009).

Los organismos unicelulares de este grupo se encuentran como células solitarias o formando colonias. En cuanto a las pluricelulares, normalmente se las encuentra como filamentos (tricomas) o pseudofilamentosos, con o sin ramificaciones, e inclusive, algunas especies presentan pseudoramificaciones (ramificaciones falsas) (Wehr & Sheath, 2003; Graham *et al.*, 2009).

Varias especies secretan una matriz gelatinosa (mucílago, en especies coloniales y vaina en especies filamentosas) que se encuentran presentes de manera densa o ligera, dependiendo del ambiente en el que se encuentran. En filamentos, las células se comunican y transportan solutos entre sí por medio de canales cuyos tamaños pueden variar (microplasmodesmata - Giddings, 1981). Existen grupos de cianobacterias cuyas células especializadas son capaces de fijar nitrógeno, estas células son llamadas heterocistos o heterocistes. Su localización, forma y tamaños son distintivos taxonómicos. Otros tipos de células especializadas que pueden presentar son los acinetos o acinetes. Los acinetos son un tipo reproducción asexual de algunos géneros de cianófitas, que pueden germinar cuando el ambiente presenta condiciones óptimas. Otras especies unicelulares y cocoides se reproducen por fisión binaria donde de una célula progenitora, resultan dos células de igual tamaño. Sin embargo las especies filamentosas se reproducen por hormogonia (Graham *et al.*, 2009).

Características de las Cianófitas

Las algas azules, verdeazuladas, cianobacterias, cyanophytas o cianófitas corresponden a un grupo de organismos bastante peculiar desde el punto de vista ecológico, morfológico y fisiológico.

Las cianófitas son especies de algas a las que, por lo general, se las describe como especies cuya distribución ecológica se limita a los siste-

mas de agua. En realidad, todas las algas (incluidas las algas que no pertenecen al grupo de las cianófitas) son ubiquestas, es decir, las podemos encontrar en muestras provenientes de diferentes sustratos, además de diferentes sistemas de agua.

Como ejemplo de otros sitios interesantes de colecta son: el suelo, caparazón, pelaje y otro tipo de coberturas de animales cuya epidermis tiende a conservar un cierto grado de humedad que se convierte en un sustrato adecuado para las algas y muchas veces más para las cianófitas, que son más tolerantes a las condiciones adversas.

Las cianófitas son muy resistentes en condiciones de altas temperaturas y baja humedad, esto explica la aparición de “manchas verde azuladas” en las piscinas, en pisos debajo de las goteras de aparatos acondicionadores de aire, en piletas de mármol, tanques, pilares, paredes y materiales de construcción expuestos a humedad constante. En estas condiciones, es muy común encontrar comunidades de cianófitas asociadas (generalmente protagonizadas por *oscillatorias*, algunas *nostocales*, *anabaenas* y unas que otras *cocoides*). Es muy interesante, pero muy poco estudiada la dinámica de este tipo de comunidades de cianófitas. A pesar de los esfuerzos por eliminarlas de estas superficies por medio de diversos productos químicos, al cabo de cierto tiempo, terminan colonizando nuevamente el espacio que antes han conquistado.

En general, al igual que otros grupos de algas y de hecho, al igual que todos los seres vivos, las cianófitas son especies que dependen de factores como la disponibilidad de nutrientes, el pH, la temperatura, la disponibilidad de la luz solar y factores bióticos como la competencia entre especies, la disponibilidad de espacio y su propia morfología para su existencia exitosa. Esto también contribuye a que se encuentren a distintos niveles de la columna de agua. Así, por ejemplo: tenemos especies de algas azules planctónicas, es decir, algas que pueden estar en la superficie del agua (sea este sistema lótico o léntico) y así formar parte de la comunidad fitoplanctónica. Las algas azules bentónicas son las que están asociadas al sedimento del sistema de agua, o sea, se ubican al fondo de la columna de agua. Las cianófitas que están asociadas a un sustrato de plantas superio-

res (u otro tipo de sustrato asociado) del sistemas de agua son conocidas como perifíticas.

Las cianófitas, también son unos de los organismos principales de productores primarios de las zonas costeras. Siendo también estas, abundantes en zonas estuáricas e intermareales. Algunas especies son fijadoras de nitrógeno atmosférico, este proceso las hace de interés en biorremediación por su relación de simbiosis con otras plantas marinas (Gómez, 2007).

Las cianófitas tienen esa gama de coloración (así como otros organismos) debido a que el patrón de absorción no es el mismo para los pigmentos que producen (Gómez, 2007). Son capaces de realizar fotosíntesis (aprovechan la energía lumínica) y fijación de nitrógeno atmosférico (convierten dinitrógeno a nitrato o amonio). Además, son capaces de formar florecimientos o blooms, que son su proliferación excesiva ante determinados factores y condiciones favorables. Cuando esto ocurre, las cianotoxinas (ciertos metabolitos secundarios producidos por cianófitas) se acumulan en los cuerpos de agua (Gómez, 2007). Otra respuesta a su entorno que pueden presentar, por ejemplo en la ausencia prolongada de luz, es la sobreproducción de vesículas de gas. Esto se da en algunas especies de microalgas y se presenta para inducir al flotamiento de la especie. Para así, poder subir en el nivel del cuerpo de agua y obtener más luz (Gómez, 2007).

En cuanto a su mecanismo de reproducción, que puede ser asexual, se encuentra la reproducción por fisión binaria (que puede ser en varios planos) y por esporas (acinetos). Las Esporas que éstas liberan pueden ser endosporas (originadas por división interna del protoplasto de la célula parental) o exocito (exoespora) originadas por la separación de una parte del protoplasto de la célula parental. Existen géneros que pueden formar un alineamiento de células a los cuales se los llama tricoma. Los tricomas se pueden esparcir por hormogonia (segmentos que se desprenden del tricoma para formar nuevos tricomas). Las colonias, se reproducen por partición (Chorus & Bartram, 1999; Carmona *et al.*, 2004).

Referencias Bibliográficas

- Barsanti, L. & Gualtieri, P. 2014. Algae: anatomy, biochemistry, and biotechnology. 2da Edición. CRC Press. Italia. 325 pp.
- Bernal, C. H., Monsalve, O. L., Narváez, G. E., Montoya, A. M., Arbeláez, M. M. & Bernal, J. C. 2005. Plan de ordenación y manejo de la cuenca de los Ríos Grande y chico incluido todo su sistema de drenaje, hasta su desembocadura en el Río Porce, jurisdicción de los municipios de Don Matías, Entrerrios, San Pedro, Belmira y Santa Rosa de Osos, Departamento de Antioquia. (Informe técnico). Medellín, Colombia.
- Bicudo, C. E. & Menezes, M. 2006. Generos de algas de águas continentais do Brasil. Segunda Edición. Editorial Rima.
- Cambra Sánchez J, Álvarez Cobelas M & Aboal Sanjurjo M. 1998. Lista florística y bibliográfica de los clorófitos (Chlorophyta) de la Península Ibérica, Islas Baleares e Islas Canarias. In Lista de la flora y fauna de las aguas continentales de la Península Ibérica. (14). Burgos: Asociación Española de Limnología.
- Carmona Jiménez, J., Hernández Muñoz, M. A. & Vázquez, M. R. 2004. Algas: Glosario ilustrado. 1ra Edición. Universidad Autónoma de México. México. 31 pp.
- Chorus, I. & Bartram, J. 1999. Toxic Cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management. E & F Spon. London. Versión digital.
- Gómez Luna, L. M. 2007. Microalgas: aspectos ecológicos y biotecnológicos. *Revista Cubana de Química.*, vol. XIX (2), 3-20 pp.
- Graham, L. E., Graham, J. M. & Wilcox, L. W. 2009. Algae. 2da Edición. San Francisco Curmings. California.
- Giddings, T. H. & Staehelin, L. A. Arch. Microbiol. (1981) 129: 295. <https://doi.org/10.1007/BF00414700>
- Ibañez, E. & Guerrero, M. 2017. Las algas que comemos. Los libros de la Catarata. 112 pp.
- Prescott, G.W. 1975. Algae of the western great lakes area. 2a ed., Iowa, W.M.C. Brown Company, 977 pp.
- Rai, A. N. 2018. Handbook of symbiotic cyanobacteria. CRC Press. Estados Unidos. 259 pp.
- Sierra, O. y J. Ramírez. 2000. Variación espacio - temporal de biopelículas en la represa La Fe, el Retiro, Antioquia (Colombia). *Actualidades Biológicas*, vol. 22(73): 153-168 pp.
- Streble, H. & Krauter, D. 1987. Atlas de los microorganismos de agua dulce: la vida en una gota de agua. Omega. Barcelona. 372 pp.
- Wehr, J. D. & Sheath, R. G. 2003. Freshwater algae of North America: ecology and classification. Academic press. Estados Unidos. 59-110 pp.

CIANOTOXINAS

Cianotoxinas

Las algas verdeazuladas o simplemente algas azules, son un grupo de gran importancia desde el punto de vista ecológico y sanitario. Debido a que un número importante de subgrupos de éstas, producen toxinas que afectan a la comunidad acuática, alterando el equilibrio en la red trófica y a la salud humana que se abastece de estos sistemas de agua directa o indirectamente.

En los sistemas de agua continentales: estanques, lagos, lagunas, arroyos, ríos y sistemas oceánicos, las algas cianobacterias han sido motivo de preocupaciones desde décadas anteriores, por la proliferación de algunas especies pertenecientes a este grupo que han causado contaminaciones en algunos casos todavía no subsanados.

La peligrosidad de una especie cianófito que produce toxinas depende del tipo y grado de toxinas que produce, de la cantidad de células existentes en el sistema y del tamaño de las especies. Una vez que se confirma la presencia de cianobacterias tóxicas es necesario tomar acción para combatir las, controlarlas o al menos controlar los focos causantes del crecimiento de éstas.

Las cianotoxinas se pueden clasificar por los grupos de su estructura química en péptidos cíclicos, alcaloides y lipopolisacáridos (Chorus & Bartram, 1999). Siguiendo la referencia de Sanseverino *et al.*, 2016 en cuanto a la clasificación de cianotoxinas, se presenta una recopilación de la clasificación y algunas especies que la producen en la Tabla 1.

Las cianotoxinas pueden ser clasificadas en 4 clases, dependiendo de su toxicidad. Las especies productoras de cianotoxinas no presentan características morfológicas que las diferencien de una que no las produce, por esto los métodos de microscópicos no son suficientes a la hora de tratar de identificarlos. Los métodos moleculares son óptimos a la hora de detectar metabolitos, pero no son complementarios para la detección de toxicidad de estos. Por ello, los métodos bioquímicos y químicos son de

mayor ayuda para la detección de los mismos (Gómez, 2007).

Estudios toxicológicos

Como la mayoría de las cianófitas son especies que producen cianotoxinas, existen varios trabajos en los cuales se determina la patogenicidad de estas cianotoxinas. En Simola *et al.*, (2012), se estudia la intoxicación de un animal doméstico, en el trabajo se determinó la presencia de nodularina en el hígado y riñones utilizando cromatografía líquida de alta especificidad o espectrómetro de masas. Se concluyó que esta cianotoxina fue producida por una especie *Nodularia spumigena* la cual, se reportó que presentaba florecimientos o blooms en la región.

Otro ejemplo es la especie *Raphidiopsis curvata* que según Li *et al.* (2001), esta especie puede producir hepatotoxinas (cilindrospermopsina y desoxicilindrospermopsina). Pero, las cepas utilizadas no demostraron toxicidad letal en los bioensayos con ratones.

Tabla 1. Recopilación de algunas especies que producen cianotoxinas.

Clasificación de las toxinas	Toxinas	Géneros mas comunes que producen toxinas			Referencias
Hepatotoxinas	Microcistinas	- <i>Microcystis</i> - <i>Aphanizomenon</i> - <i>Phormidium</i>	- <i>Anabaena</i> - <i>Planktothrix</i> - <i>Hapalosiphon</i>	- <i>Anabaenopsis</i> - <i>Oscillatoria</i> - <i>Nostoc</i>	Chorus & Bartram, 1999; Zanotti & Alcaraz, 2008.
Hepatotoxinas	Nodularina	- <i>Nodularia</i>	- <i>Nostoc</i>		Chorus & Bartram, 1999.
Citotoxinas	Cilindrospermopsina	- <i>Cylindrospermopsis</i> - <i>Raphidiopsis</i> - <i>Umezakia</i>	- <i>Anabaena</i> - <i>Oscillatoria</i>	- <i>Aphanizomenon</i> - <i>Lyngbya</i>	Chorus & Bartram, 1999; Li <i>et al.</i> , 2001; Zanotti & Alcaraz, 2008.
Neurotoxinas	Anatoxina	- <i>Anabaena</i> - <i>Cylindrospermopsis</i>	- <i>Aphanizomenon</i> - <i>Oscillatoria</i>	- <i>Planktothrix</i>	Chorus & Bartram, 1999; Zanotti & Alcaraz, 2008.
Neurotoxinas	Saxitoxinas	- <i>Anabaena</i> - <i>Cylindrospermopsis</i>	- <i>Aphanizomenon</i> - <i>Planktothrix</i>	- <i>Lyngbya</i> - <i>Rhaphidiopsis</i>	Chorus & Bartram, 1999; Teneva <i>et al.</i> 2003; Zanotti & Alcaraz, 2008.
Neurotoxinas	BMAA: β -metilamino-L-alanina	- <i>Nostoc</i> - <i>Aphanizomenon</i>	- <i>Microcystis</i> - <i>Nodularia</i>	- <i>Anabaena</i>	Chorus & Bartram, 1999.
Dermatotoxinas	Lipopolisacáridos	- <i>Synechococcus</i> - <i>Oscillatoria</i>	- <i>Microcystis</i> - <i>Schizothrix</i>	- <i>Anacystis</i> - <i>Anabaena</i>	Chorus & Bartram, 1999.
Dermatotoxinas	Lyngbyatoxinas	- <i>Lyngbya</i>			Chorus & Bartram, 1999.
Dermatotoxinas	Aplysiatoxina	- <i>Lyngbya</i>	- <i>Schizothrix</i>	- <i>Oscillatoria</i>	Chorus & Bartram, 1999.

Referencias Bibliográficas

Chorus, I. & Bartram, J. 1999. Toxic Cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management. E & F Spon. London. Versión digital.

Gómez Luna, L. M. 2007. Microalgas: aspectos ecológicos y biotecnológicos. *Revista Cubana de Química.*, Vol. 19 (2), 3-20 pp.

Li, R., Carmichael, W. W. & Brittain, S. 2001. First report of the cyanotoxins cylindrospermopsin and deoxycylindrospermopsin from *Raphidiopsis curvata* (cyanobacteria). *J. Phycol.* Vol. 37: 1121-1126 pp.

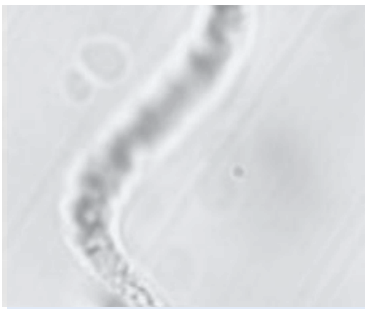
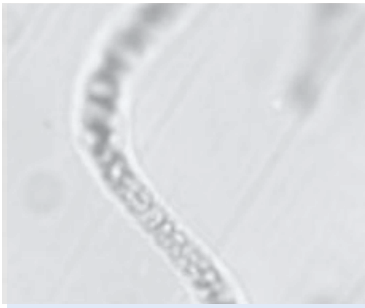
Sanseverino, I., Conducto, D., Pozzoli, L., Dobricic, S. & Lettieri, T. 2016. Algal Bloom and its economical impact. *Joint Research Centre*, European Union. 18 pp.

Simola, O., Wiberg, M., Jokela, J., Wahlsten, M., Sivonen, K. & Syrjä, P. 2012. Pathologic findings and toxin identification in cyanobacterial (*Nodularia spumigena*) intoxication in a dog. *Veterinary pathology*, Vol. 49 (5): 755-759 pp.

Teneva, J., D. Asparuhova, B. Dzhambazov, R. Mladenov & K. Schirmer, 2003. The fresh water cyanobacterium *Lyngbya aeruginosa*

coerulea produces compounds toxic to mice and to mammalian and fish cells. *Environ. Toxicol.*, 18: 9-20.

Zanotti Cavazzoni, j. C. & Alcaraz, G. 2009. Las algas de agua dulce - sus toxinas y la incidencia en el desarrollo social. *Irundú*, Vol. 4 (1): 161-176 pp.



PROCEDIMIENTOS & METODOLOGÍA

Procedimientos y Metodologías

Área de estudio

El estanque artificial se encuentra ubicado en el campus de la Universidad Nacional de Asunción aledaño a las instalaciones de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales en la Ciudad de San Lorenzo, Departamento Central del Paraguay. Las muestras fueron recolectadas en las coordenadas 25°20'102''S y 57°31'106''O.

El estanque tiene una profundidad aproximada entorno a los 1 y 1,5 metros, revestido con una estructura de cemento en la periferia y fondo del estanque. Además, no cuenta con ninguna desembocadura. Pero, si presenta una fuente anexa de agua. Dentro de este sistema se desarrolla un pequeño ecosistema que consta de varias especies de plantas: *Erythrina crista-galli*, *Monstrera deliciosa*, *Alocasia* sp., y algunas especies de poaceas. El estanque está compuesto de una pequeña fauna: varios individuos de la especie *Melanosuchus niger* entre otros. Algunas aves asociadas que utilizan este espacio son: *Colaptes campestris*, *Crotophaga ani*, *Furnarius rufus*, entre otras por tratarse de un espacio abierto con una moderada pero atractiva vegetación.

Recolección de muestras

Los muestreos se realizaron siguiendo el protocolo de una colecta semanal inicialmente durante 6 semanas entre los meses de octubre y diciembre del 2016 (para las estaciones de primavera-verano). Y otro de 5 semanas que abarcó los meses de mayo a junio del 2017 (para las estaciones de otoño-invierno).

Para la toma de las muestras de agua, se utilizó una red de fitoplancton estándar, de 20 cm de diámetro; 30 cm de longitud y 20 µm de diámetro de malla. Las muestras se conservaron en frascos de plástico

translúcidos, de 150 ml. No se ha utilizado ningún tipo de conservante químico para los primeros 5 días de observación, las muestras fueron refrigeradas en condiciones de baja temperatura entre 8° y 10° C en el laboratorio. Luego las muestras fueron fijadas con formaldehído al 10 % y mantenidas en refrigeración hasta el término de la investigación, posteriormente son mantenidas en ficoteca (biblioteca de muestras líquidas fijadas) a temperatura ambiente.

Para su análisis taxonómico, las muestras fueron homogeneizadas por agitación durante un minuto aproximadamente y llevadas a observación, en láminas y laminillas; con ayuda de microscopio óptico de campo claro Olympus BX. Se realizó además, fotomicrografías de las especies encontradas con ayuda de un cámara digital acoplada al microscopio Ans-Cope 5.0.

Para la identificación taxonómica se emplearon claves de identificación de Prescott (1975); Streble & Krauter (1987); Cambra Sánchez et al. (1998) y Wehr & Sheath (2003), Bernal et al. (2005) y otros. Pero, se consideró a la clasificación de Bicudo & Menezes (2006) como la referencia base y principal.

Mapa satelital

Estanque artificial de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FACEN)
Campus de la Universidad Nacional de Asunción

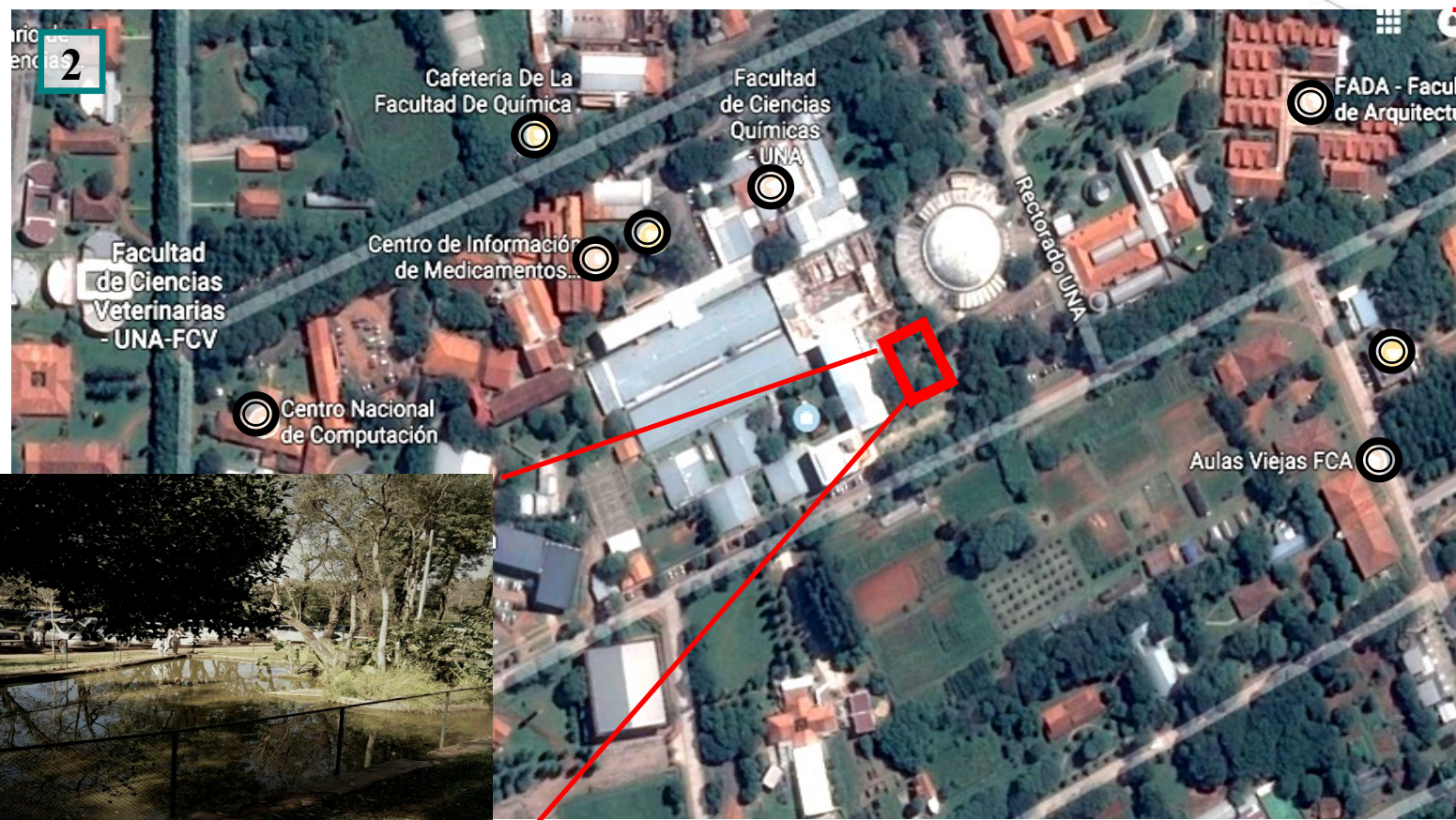
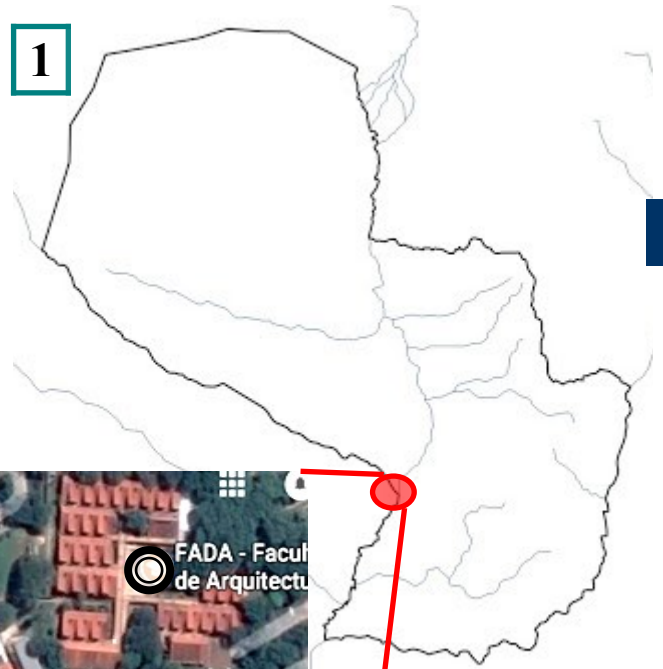


Imagen 1. Mapa del Paraguay

Imagen 2. Sección del Campus Universitario, UNA.

Imagen 3. Estanque artificial de la FACEN.

Referencia: Google maps

Materiales y métodos para muestreo en campo

Como existen diversos tipos de microalgas que crecen en distintos tipos de superficies o ecosistemas, se pueden realizar varios procedimientos para coleccionar las muestras. El más sencillo es la recolección de muestras de fitoplancton (aquellas algas que son características de superficies de agua) con una red de plancton que consiste en una malla (que puede tener diferentes diámetros de apertura) dispuesto en forma de cono que posee un dispositivo colector al final del cono de malla donde quedan retenidas las especies existentes en la muestra de agua. La muestra allí contenida se traspa a frascos traslúcidos que serán almacenados en frío hasta el momento de su observación en fresco como máximo un par de horas después. Pueden realizarse observaciones hasta 5 días después en esas condiciones de muestra, pero es necesario saber que las algas pierden su color muy rápidamente. Para prolongar el estado de la muestra, se agrega un fijador que evite su degradación o descomposición. En caso de que se necesite realizar conteo de algas será necesario utilizar una muestra cruda (tomada directamente del agua, sin red de plancton). Existen varios equipos para este fin. Las muestras deben ser etiquetadas o rotuladas con el nombre y origen de la especie, fecha y tipo de medio de cultivo (Arredondo & Voltolina, 2007). Las microalgas que se encuentran en muestras de fitoplancton pueden separarse de otros microorganismos por medio de centrifugación, filtración o sedimentación. Las muestras de perifiton se obtienen de las superficies en donde aparenta proliferación de una posible especie de interés. Se debe enjuagar ese sector con agua destilada y utilizando un cepillo especial para ese fin, se realizan raspados para remover la muestra (Richmond, 2004).

En realidad en el momento que estamos haciendo trabajo de campo, todo material que ayude a coleccionar la mayor variedad de algas, es bienvenido: cepillos de varios tamaños, frascos con tapa limpios preferentemente de plástico, bandejas, pisetas con agua destilada, pisetas con agua de grifo y pisetas con alcohol para desinfección rápida en campo, lápices, libreta de campo, espátulas de varios tamaños, pinzas de varios tamaños, lupas comunes de mano, papel para secar, tubos de ensayo con tapas de plástico, conservadoras de isopor, pipetas de plástico, GPS, etc.

Materiales y Equipos de Laboratorio

Como la esterilización de los materiales es imperativo, el autoclave, es uno de los primeros equipos a ser adquiridos en un laboratorio. Tal vez el

equipo de primera necesidad sea el microscopio óptico y/o una lupa, junto a las cuales puede ir acoplada una cámara digital y un computador para el procesamiento de fotomicrografías. Si se realizan trabajos con especies aisladas o cepas de algas microscópicas, el trabajo se realiza dentro de una campana de flujo laminar, para evitar posibles contaminaciones no deseadas. Este procedimiento también puede ser empleado en una zona de asepsia cercana a los mecheros.

En el caso de que los medios de cultivos sean líquidos, estos se pueden almacenar a temperatura ambiente o en un refrigerador o en una incubadora para dicho fin. A escala de laboratorio, es normal la utilización de biorreactores para ayudar a la proliferación del organismo de interés. En caso de realizarse la identificación molecular de la especie, se necesitan equipamientos referentes para lograr la extracción del material genético (centrífuga, vórtex entre otros), para su secuenciación (secuenciador), y maquinaria necesaria para el análisis bioinformático. Dependiendo de la necesidad, varios procedimientos pueden ser requeridos a empresas que ofrezcan esos servicios.

En caso de que se desee contabilizar la cantidad de células en una muestra. Se puede emplear la utilización de la cámara de Utermöhl. O utilizarse algún equipo de conteo de células.

Lavados de los materiales utilizados se realizan utilizando detergentes (si es necesario). Estos se remueven con cuidado para que no quede residuos. Luego, se realiza otro lavado utilizando Ácido clorhídrico (HCl). Posteriormente, se remueve en la mayor cantidad posible del Ácido usado (Belcher & Swale, 1988; Andersen, 2005). Para algunos materiales, y dependiendo de la especie de alga a ser utilizada, se puede realizar un último lavado con alcohol.

Luego del lavado, se puede llevar los materiales (resistentes al calor) al Autoclave por 15 o 20 minutos (según protocolo). Los tubos y pipetas, así como otros materiales de menor tamaño, deben ser autoclavados por más tiempo, según protocolo (Belcher & Swale, 1988).

No solo los materiales donde se trabaja con los cultivos deben estar esterilizados, sino también, el área de trabajo. De preferencia, se recomienda trabajar dentro de una campana de flujo laminar (se deja la luz UV de 20 a 40 W por espacio de 10 - 20 minutos antes de usarla) o dentro de la zona de esterilidad de dos mecheros, en caso de trabajar con cepas puras. La mesada se debe desinfectar con algún desinfectante como: etanol concentraciones mayores al 70 %, fenol 5 %, cloro 4 %, benzal, lysol 3.5 % (Arredondo & Voltolina, 2007).

Referencias Bibliográficas

Arredondo-Vega, Bertha & Voltolina, Domenico. (2007). Concentración, recuento celular y tasa de crecimiento. Capítulo 2 Obtención de la Biomasa Microalgal. La Paz, Baja California Sur. México. ISBN 968-5715-51-3

Bernal, C. H., Monsalve, O. L., Narváez, G. E., Montoya, A. M., Arbeláez, M. M. & Bernal, J. C. 2005. Plan de ordenación y manejo de la cuenca de los Ríos Grande y chico incluido todo su sistema de drenaje, hasta su desembocadura en el Río Porce, jurisdicción de los municipios de Don Matías, Entrerrios, San Pedro, Belmira y Santa Rosa de Osos, Departamento de Antioquia. (Informe técnico). Medellín, Colombia.

Bicudo, C. E. & Menezes, M. 2006. Gêneros de algas de águas continentais do Brasil. Segunda Edición. Editorial Rima.

Cambra Sánchez J, Álvarez Cobelas M & Aboal Sanjurjo M. 1998. Lista florística y bibliográfica de los clorófitos (Chlorophyta) de la Península Ibérica, Islas Baleares e Islas Canarias. In Lista de la flora y fauna de las aguas continentales de la Península Ibérica. (14). Burgos: Asociación Española de Limnología.

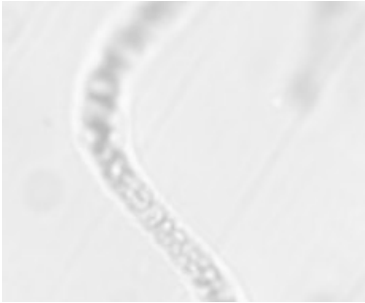
Prescott, G.W. 1975. Algae of the western great lakes area. 2a ed., Iowa, W.M.C. Brown Company, 977 pp.

Prescott, G.W. 1975. Algae of the western great lakes area. 2a ed., Iowa, W.M.C. Brown Company, 977 pp.

Streble, H. & Krauter, D. 1987. Atlas de los microorganismos de agua

dulce: la vida en una gota de agua. Omega. Barcelona. 372 pp.

Wehr, J. D. & Sheath, R. G. 2003. Freshwater algae of North America: ecology and classification. Academic press. Estados Unidos. 59-110 pp.



CLAVES DE IDENTIFICACIÓN

Taxonomía de las Cianófitas

La taxonomía clásica se basa en la morfología de las cianófitas, en el trabajo de Chorus & Bartram (1999), se describen tres morfologías básicas que pueden comprender la unicelular, colonial o formas filamentosas multicelulares. A su vez, cada grupo puede presentar otras características como pseudoramificaciones o mucílagos o vainas. Algunas características generales y a tener en cuenta para cada la clasificación de cada orden son:

Orden Chroococcales

En este orden se encuentran clasificadas varias especies unicelulares de forma ovoide, cilíndrica o esférica. Son isopolares, es decir, la célula es idéntica en toda su superficie. Su forma de reproducción, entre células, es por fisión binaria. Algunas especies segregan capas mucilaginosas para la protección de la colonia, otras segregan múltiples capas que protegen a las células divididas. Algunas especies son capaces de formar estructuras complejas gracias a esta organización (Chorus & Bartram, 1999).

Orden Pleurocapsales

Los géneros de este orden son pseudoparenquimatosos, esto quiere decir que son capaces de asociarse para formar estructuras parecidas a tejidos. Se reproducen por fisión binaria sucesivas convirtiendo a una célula madre en varias células hijas (Chorus & Bartram, 1999).

Orden Chamaesiphonales

Las células de las especies de este orden son unicelulares y heteropolares (superficie de la célula varía en la superficie). Las especies de este orden liberan esporas que se encuentran ubicadas en los extremos de los filamentos unicelulares (Chorus & Bartram, 1999).

Orden Oscillatoriales

En este orden se encuentran clasificados organismos multicelulares, que forman tricomas (hileras de células sin vainas o células ubicadas en cadena). No forman heterocistos (células especializadas para la fijación de nitrógeno atmosférico). Además, los tricomas no presentan ramificaciones (Chorus & Bartram, 1999).

Orden Stigonematales

Los géneros de este orden son multicelulares y también forman tricomas (pueden ser multiseriados), pero con ramificaciones genuinas. Las células pueden presentar variedad en sus dimensiones en especial los heterocistos y acinetos (Chorus & Bartram, 1999).

Orden Nostocales

Los tricomas presentan heterocistos (células vegetativas capaces de realizar fijación de nitrógeno atmosférico, tienen una pared delgada). Además, las células no son idénticas entre sí. También presentan Acinetos (células grandes de paredes delgadas, contienen nutrientes de reserva, capaces de sobrevivir en condiciones desfavorables) (Chorus & Bartram, 1999).

La identificación taxonómica de las algas tanto micro como macroscópicas se realiza utilizando los métodos tradicional y/o moderno. A veces es suficiente una simple identificación por método tradicional pero en ocasiones no se logra una identificación adecuada sin el método moderno. El método tradicional o clásico: Consiste en la utilización de claves de identificación para guiarse de acuerdo a la morfología del microorganismo. Donde, utilizando una característica general del alga, se prosigue observando determinadas características de cada género o especie. Este método es minucioso y no muy fiable, ya que el investigador asume las características según su perspectiva. Para utilizar este método es necesario, una fuente fiable de claves de identificación, un microscopio óptico que se pueda utilizar para este fin, y también, se necesita realizar fotomicrografías (con la ayuda de una cámara para este fin) de la/s especies. El método moderno: implementa más recursos para el análisis bioinformático, aparte de la gran inversión inicial para ello. Consiste en utilizar determinados genes del grupo al cual pertenece el organismo de interés, para su identificación o para determinar (en caso de las cianófitas) si son especies tóxicas y que producen cianotoxinas.

Clave de identificaciones (Traducido de Bicudo & Menezes, 2006)

Células sin núcleo típico (procariontes), material cromatínico distribuido en la porción central de la célula (hialoplasma); cromoplastos ausentes, pigmentos dispersos en la porción periférica de la célula (cromoplasma); sustancia de reserva: poliglucano, similar al glucógeno, y proteínas parecidas a la cianoficina. Formas unicelulares, coloniales y filamentosas.....**Cyanophyceae / Cyanobacteria**

- 1. Células aisladas, agregadas o formando colonias 2
 - 1. Filamentos aislados, agregados o formando colonias 42
 - 2. División celular por fisión binaria con producción de células madre o por fisión binaria y múltiple con producción de células madre con baeocitos; generalmente células isopolares 3
 - 2. División celular por fisión binaria en el extremo de células sésiles con la producción de exocitos o exclusivamente por fisión múltiple con producción de baeocitos; siempre células heteropolares... 38
 - 3. División celular en 1 a 3 planos por fisión binaria 4
 - 3. División en más de 3 planos por fisión binaria y múltiple 30
 - 4. División celular en un plano..... (**Synechococcaceae**) 5
 - 4. División celular en 2 o 3 planos 18
 - 5. Células solitarias 6
 - 5. Células formando colonias..... 8
 - 6. Células fusiformes, extremidades agudas **Myxobaktron.**
 - 6. Células cilíndricas o ampliamente ovals 7
 - 7. Células cilíndricas; contenido celular homogéneo o granulo-

- so **Synechococcus.**
- 7. Células ampliamente ovals o cilíndricas; contenido celular reticulado..... **Cyanothece.**
 - 8. Colonias alargadas (tubiformes) 9
 - 8. Colonias irregulares o reticuladas 10
- 9. Células cilíndricas, arregladas con el eje mayor paralelo al margen de la colonia **Bacularia.**
- 9. Células discoidales u ovals, dispuestas en filas y con su eje mayor perpendicular al borde de la colonia **Johannesbaptisia.**
 - 10. Colonias con células dispuestas en todo su interior 11
 - 10. Colonias huecas con células sólo en su periferia 17
- 11. Colonias con sistema de conexiones mucilaginosas ligando las células..... **Hormothece.**
- 11. Colonias sin sistema de conexiones mucilaginosas 12
 - 12. Colonia irregularmente reticulada **Cyanodictyon.**
 - 12. Colonia no reticulada 13
- 13. Células o grupo de células con envoltura mucilaginosa individual **Gloeothece.**
- 13. Células sin envoltura mucilaginosa individual 14
 - 14. Células esféricas agrupadas en el centro de la colonia, de donde salen las células dispuestas en filas radiales, hacia la periferia de la colonia **Radiocystis.**
 - 14. Células fusiformes, cilíndricas o ampliamente ovals, dispues-

tas con otro arreglo dentro de la colonia 15

15. Células fusiformes o cilíndricas con extremos acuminados *Rhabdogloea*.

15. Células cilíndricas o ampliamente ovales, siempre con los extremos redondeados 16

 16. Células cilíndricas y largas, dispuestas más o menos en la misma dirección *Rhabdoderma*

 16. Células ampliamente ovales o cilíndricas, irregularmente arregladas *Aphanothece*

17. Células sobre la superficie de la colonia *Epigloeosphaera*

17. Células debajo de la superficie de la colonia..... *Lemmermanniella*

 18. División celular en 2 planos (Merismopediaceae) 19

 18. División celular en 3 planos (Microcystaceae) 28

19. Células solitarias *Synechocystis*.

19. Células formando colonias 20

 20. Colonias tabulares 21

 20. Colonias esféricas o irregulares 22

21. Células esféricas regularmente dispuestas en filas paralelas *Merismopedia*.

21. Células cilíndricas, elipsoidales u ovales irregulares dispuestas siempre con el eje mayor perpendicular al plano de la colonia *Microcrocis*.

 22. Colonias con células dispuestas en todo su interior *Aphanocapsa*.

 22. Colonias huecas con células sólo en su periferia 23

23. Colonias sin sistema de conexiones mucilaginosas 24

23. Colonias con sistema de conexiones mucilaginosas 26

 24. Células ovales *Coelomoron*.

 24. Células esféricas 25

25. Colonias y células siempre esféricas; aerótopos generalmente ausentes *Coelosphaerium*.

25. Colonias inicialmente esféricas, después irregulares y ligeramente achatadas, las células esféricas siempre con aerótopos *Sphaerocavum*.

 26. Conexiones mucilaginosas finas, en forma de hilo, dividiéndolos *Snowella*.

 26. Conexiones mucilaginosas gruesas, generalmente de la anchura de la célula 27

27. Conexiones mucilaginosas en forma de tubo, dispuestas radialmente desde el centro de la colonia; las células generalmente ovales o obvias, a menudo formando una capa periférica densa *Woronichinia*.

27. Conexiones mucilaginosas extendidas en el extremo y envolviendo las células; las células ovoides permaneciendo juntas después de la división celular y adquiriendo forma cordiforme *Gomphosphaeria*.

 28. Colonia cúbica *Eucapsis*.

 28. Colonias irregulares 29

29. Células generalmente sin envoltura individual, aerótopos siempre presentes *Microcystis*.

29. Células o grupo de células obligatoriamente con envoltura individual; aerótopos ausentes *Gloeocapsa*.

 30. División celular exclusivamente por fisión binaria con

producción de células madre	31
30. División celular por fisión binaria y múltiple con producción de células madre y baeocitos	35
31. Colonias polarizadas, fijas al sustrato.....	
..... (Entophysalidaceae) <i>Cyanoarbor</i> .	
31. Colonias isopales, raras células solitarias	
..... (Chroococcaceae) 32	
32. Colonias con sistema de conexiones mucilaginosas	<i>Cyanostylon</i> .
32. Colonias sin sistema de conexiones mucilaginosas	33
33. Colonias formadas por densos paquetes de células con envoltura mucilaginosa estrecha	<i>Cyanosarcina</i> .
33. Células solitarias o formando colonias sin envoltura mucilaginosa densa.....	34
34. Envoltura mucilaginosa amplia, con verrugas en la superficie; las son células subesféricas, irregulares o poligonales	<i>Asterocapsa</i> .
34. Envoltura mucilaginosa amplia o acompañando la forma de las células, sin ninguna ornamentación en la superficie; las son células esféricas o hemisféricas	<i>Chroococcus</i> .
35. Colonias pseudofilamentosas; con baeocitos producidos en las células basales o apicales	(Hyalaceae) <i>Pleurocapsa</i> .
35. Células aisladas, agrupadas o en colonias; los baeocitos formados en partes no definidas de la colonia	(Xenococcaceae) 36
36. Colonias o células siempre fijas a un sustrato, polarizadas	<i>Xenococcus</i> .
36. Colonias o células de vida libre o cuando están fijadas al sus-	

trato sin polarización	37
37. Células en grupos densamente arreglados, formando paquetes	<i>Myxosarcina</i> .
37. Células solitarias o en grupos no densamente dispuestos	<i>Chroococidiopsis</i> .
38. División celular por fisión binaria con producción de exocitos	(Chamaesiphonaceae) 39
38. División celular exclusivamente por fisión múltiple con producción de baeocitos	(Dermocarpellaceae) 41
39. Células sésiles, sin envoltura mucilaginosa	<i>Geitleribactron</i> .
39. Células sésiles, con envoltura mucilaginosa firme	40
40. Envoltura mucilaginosa cerrada; exócitos formados en filas que permanecen dentro de la envoltura mucilaginosa y se liberan sólo después de la apertura del mucílagos	<i>Stichosiphon</i> .
40. Envoltura mucilaginosa abierta; exócitos solitarios o en filas cortas que se liberan inmediatamente a través de la apertura del mucílagos	<i>Chamaesiphon</i> .
41. Células alargadas, ampliamente ovales y obovales; la primera división celular es perpendicular al sustrato	<i>Cyanocystis</i> .
41. Células ovales o hemisféricas, la primera división celular es paralela al sustrato	<i>Dermocarpella</i> .
42. Tricomas homocistados	43
42. Tricomas heterocisto	57
43. Células más largas que anchas; tricomas finos (en general 3 µm de diámetro máximo)	44

43. Células de forma cuadrangular más anchas que largas; tricomas más anchos (en general 4 µm de diámetro como mínimo) 53
44. Tricomas con vaina mucilaginosa firme 45
44. Tricomas sin vaina o sólo con un mucílago difluente 50
45. Vaina amplia, siempre cerrada y atenuada en el ápice; más que 1 tricoma / vaina(Schizotricaceae) *Schizothrix*.
45. Vainilla fina, abierta; sólo 1 tricoma / vaina 46
46. Tricomas enmarañados, formando masas o mechones(Pseudanabaenaceae) 47
46. Tricomas aislados 49
47. Tricomas unidos al sustrato a lo largo de la longitud...*Leptolyngbya*.
47. Tricomas unidorsal sustrato por la base 48
48. Tricomas agudos en dirección al ápice.....*Homoeothrix*.
48. Tricomas cilíndricos*Heteroleibleinia*.
49. Tricomas planctónicos *Planktolyngbya*
49. Tricomas epifíticos *Leibleinia*
50. Tricomas cortos (en general hasta 8 células), curvas, sigmoides o incluso espiralados *Romeria*.
50. Tricomas más largos o, cuando son cortos, siempre rectos.. 51
51. Tricomas generalmente atenuados; células sin aerótopos*Geitlerinema*.
51. Tricomas cilíndricos; las células con o sin aerótopos 52
52. Células siempre con aerótopos, ubicados en los polos y en el centro *Limnothrix*.
52. Células generalmente sin aerótopos o, si están presentes, localizados sólo en los polos *Pseudanabaena*
53. Células muy cortas; por lo menos 4 veces más anchas que larga(Oscillatoriaceae) 54
53. Células de forma cuadrangular o subcuadrangular 69
54. Tricomas sin vaina mucilaginosa*Oscillatoria*.
54. Tricomas con vaina mucilaginosa 55
55. Filamentos no ramificados*Lyngbya*.
55. Filamentos ramificados 56
56. Un solo tricoma / vaina*Plectonema*.
56. Más de un tricoma / vaina *Blennothrix*.
57. Tricomas con ramificaciones falsas o sin ramificaciones 58
57. Tricomas con ramificaciones verdaderas 87
58. Tricomas isopolares (los 2 ápices son iguales) 59
58. Tricomas heteropolares (diferenciación en ápice y base)..... 81
59. Tricomas con ramificaciones falsas predominantemente dobles(Scytonemataceae) 60
59. Tricomas sin ningún tipo de ramificación (Nostocaceae) 62
60. Ramificaciones atenuadas hacia el ápice; célula apical cónica-redondeada o acuminada*Scytonematopsis*.
60. Ramificaciones no atenuadas hacia el ápice; célula apical redondeada 61
61. Filamentos enmarañados; ramificaciones frecuentes*Scytonema*.
61. Filamentos generalmente paralelos, formando haces; ramificaciones extremadamente raras*Camptylonemopsis*.
62. Colonias globosas o irregulares, tricomas enredados.....
..... *Nostoc*.
62. Filamentos o tricomas aislados 63

63. Tricomas sin heterocistos *Raphidiopsis*.
63. Tricomas con heterocistos 64
64. Tricomas con heterocistos terminales 65
64. Tricomas con heterocistos siempre intermedios 67
65. Heterocistos que se originan de la célula intercalar y, posteriormente, que se convierten en terminales por la quiebra del tricoma *Anabaenopsis*.
65. Heterocistos que se originan directamente de la célula apical 66
66. Acinetos subterminales, separados del heterocisto por algunas células; hábito planctónico *Cylindrospermopsis*.
66. Acinetos siempre junto al heterocisto; hábito periférico *Cylindrospermum*.
67. Heterocisto y acinetos subterminales; tricomas atenuados *Aphanizomenon*.
67. Heterocisto y acinetos distribuidos más o menos regularmente a lo largo del tricoma; tricomas no atenuados 68
68. Acinetos redondeados o alargados, siempre mayores que las células vegetales, formadas al lado o separadas de los heterocisto por algunas células *Anabaena*.
68. Acinetos aplanados, siempre más cortos que anchos, apenas poco más anchos que las células vegetativas, formados entre 2 heterocisto *Nodularia*.
69. Tricomas siempre cortos (generalmente hasta 8 células) (Borziaceae) *Borzia*.
69. Tricomas más largos 70
70. Tricomas regularmente espirales (Phormidiaceae) 71
70. Tricomas rectos, flexibles, ondulados o, en pocos casos, sólo con espiras irregulares 72
71. Tricomas con septos bien evidentes, a menudo granulados *Arthrospira*.
71. Tricomas con septos poco evidentes, no granulados *Spirulina*.
72. Células con aerótopos *Planktothrix*.
72. Células sin aerótopos 73
73. Tricomas con ramificaciones 74
73. Tricomas sin ramificaciones 75
74. Filamentos enmarañados formando una masa postrada *Pseudophormidium*.
74. Filamentos enmarañados formando mechones *Symploca*.
75. Vaina ausente *Tychonema*.
75. Vaina presente 76
76. Sólo 1 tricoma / vaina 77
76. Más de 1 tricoma / vaina 78
77. Vaina gruesa, laminada, generalmente coloreada *Porphyrosiphon*.
77. Vaina fina, homogénea, generalmente hialino transparente *Phormidium*.
78. Siempre pocos tricomas / vaina (como máximo 3) *Dasygloea*.
78. Algunos (2-5) a muchos tricomas / vaina 79
79. Filamentos enmarañados formando mechones *Symplocastrum*.
79. Filamentos enmarañados formando masas postradas 80

80. Vainas con láminas paralelas	<i>Hydrocoleum.</i>
80. Vainilla homogénea	<i>Microcoleus.</i>
81. Tricomas cilíndricos, generalmente poco atenuados hacia el ápice, a veces ampliados en el ápice	(Microchaetaceae) 82
81. Tricomas siempre nítidamente atenuados hacia el ápice, a veces parecidos al pelo	(Rivulariaceae) 84
82. Filamentos aislados; los heterocistos basales y, más raramente, también intercalares; ramificaciones facultativas	<i>Microchaete.</i>
82. Filamentos generalmente enmarañados; heterocistos basales y / o intermediarios; ramificaciones obligatorias.....	83
83. Ramificaciones obligatoriamente unilaterales; vaina firme, fina y homogénea	<i>Tolypothrix.</i>
83. Ramificaciones generalmente unilaterales, a veces dobles; vaina firme, muy amplia y laminada	<i>Petalonema.</i>
84. Filamentos aislados o apenas agregados	<i>Calothrix.</i>
84. Filamentos formando haces o colonias	85
85. Filamentos formando haces; heterocistos en la base de las ramificaciones laterales	<i>Dichothrix.</i>
85. Filamentos formando colonias esféricas o hemisféricas; heterocistos basales e intermediarios	86
86. Colonias esféricas; acinetos próximos a los heterocistos basales	<i>Gloeotrichia.</i>
86. Colonias hemisféricas; acinetos ausentes	<i>Rivularia.</i>
87. Filamentos uniseriados	88
87. Filamentos multiseriados	92
88. Filamentos aislados o apenas agrega-	

dos.....	(Loriellaceae) <i>Loefgrenia.</i>
88. Filamentos reunidos en colonias gelatinosas o enmarañadas..	89
89. Filamentos reunidos en colonias gelatinosas.....	(Nostochopsaceae) <i>Nostochopsis.</i>
89. Filamentos enredados	90
90. Ramificaciones falsas frecuentes.....	(Borzinemataceae) <i>Spelaeopogon.</i>
90. Ramificaciones falsas ausentes o raras	91
91. Ramificaciones verdaderas, mantiene eje principal.....	(Mastigocladaceae) <i>Hapalosiphon.</i>
91. Ramificaciones verdaderas tipo Y.....	<i>Symphyonemopsis.</i>
92. Filamentos no diferenciados en ramas principales y secundarios	(Capsosiraceae) <i>Capsosira.</i>
92. Filamentos diferenciados en ramas principales y secundarias.....	93
93. Ramos secundarios multiseriados.....	(Stigonemataceae) <i>Stigonema.</i>
93. Ramos secundarios uniseriados	94
94. Filamentos con heterocistos.....	(Fischerellaceae) <i>Fischerella.</i>
94. Filamentos sin heterocistos	<i>Doliocatella.</i>

ESPECIES IDENTIFICADAS



Anabaena sp. Bory ex Bornet & Flahault, 1886

Filamento recto, no ramificado, solitario, sin mucilago (Figura 1-a). Células en forma de barril con aparente estrangulamiento en el centro. Las células terminales tienen forma ovalada. No se observa presencia de heterocistos ni de acinetos.

Las especies de este género se pueden diferenciar por el tamaño de las células que pueden medir de 3.5 a 14 μm , forma de las células (redondeadas o barril) o del filamento (encurvado o recto) y sobre todo por la forma y disposición de los acinetos (redondeados o cilíndrico) y heterocistos (esféricos de tamaño variado). Algunas especies pueden segregar una capa muy fina de mucílago, a diferencia del género *Nostoc* que segrega una capa muy densa de mucílago (Bellinger & Sigee, 2015).

Anabaena es un género de alga cosmopólita y planctónica, puede ser encontrada en lagos, lagunas e inclusive en charcos (Bellinger & Sigee, 2015).

Se ha registrado este género en Chile (Vila *et al.*, 1987), Perú (Saavedra, 2015) y en Argentina (Luque & Martínez, 2003; Galea *et al.*, 2014). En Paraguay, se ha registrado la presencia de este género en el embalse de Yacyreta durante el periodo de diciembre del 2004 a noviembre del 2005 (Meichtry de Zaburlín *et al.*, 2013), en el Lago Ypacaraí (Delgado *et al.*, 2014) y en los Departamentos de Boquerón, Canindeyú y Presidente Hayes (Dos Santos, 2016).

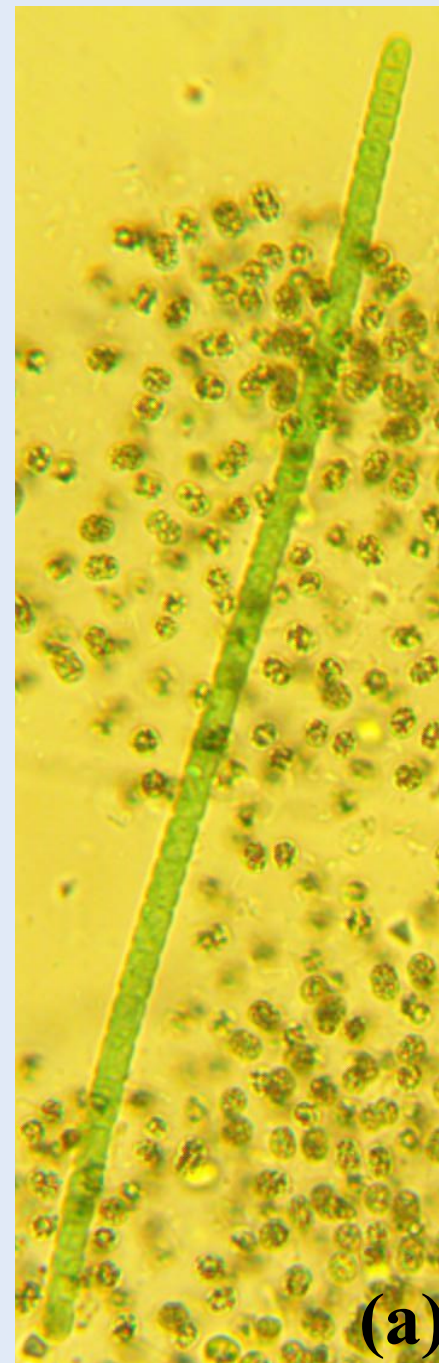


Figura 1. *Anabaena* sp. (a) Filamento solitario entre colonia de *Microcystis aeruginosa*.

Algunas especies de *Anabaena* pueden ser utilizadas como parte del abono verde por su capacidad de establecer relación de simbiosis con *Azolla* sp. y otras especies (véase en Aplicaciones). Otras especies son productoras de cianotoxinas (véase en Cianotoxinas) y florecimientos o blooms.

Anabaena constricta (Szafer) Geither, 1925

Filamento recto, corto, solitario. Células alargadas en forma de barril con estrangulamiento en el centro (Figura 2, a-b), células terminales presentan un acabado alargado y convexo (c). Sin presencia de mucílago, heterocistos o acinetos.

Las células suelen presentar forma de barril de 5 a 8 μm de largo y heterocistos de 5 a 7 μm de ancho (Selvi & Silvakumar, 2012). Esta especie es planctónica (Bellinger & Sigeo, 2015). En ocasiones puede no presentar heterocistos, debido a la posible abundancia de amonio (NH_4^+) y amoníaco (NH_3^-) en el medio en el que se encuentran (Coello, 2008).

Se ha registrado la presencia de *A. constricta* en Bulgaria (Beshkova & Betev, 2004), Nigeria (Onyema, 2007), República Checa (Kastovsky *et al.*, 2010), en la India (Singh *et al.*, 2014; Sakhare & Chalak, 2015; Hajong & Ramanujam, 2017), en Brasil (Dantas *et al.*, 2012; Dos Santos *et al.*, 2012) y en Argentina (Luque & Martínez, 2003). En Paraguay, esta especie se ha sido registrado en el Lago Ypacaraí (Delgado *et al.*, 2014).

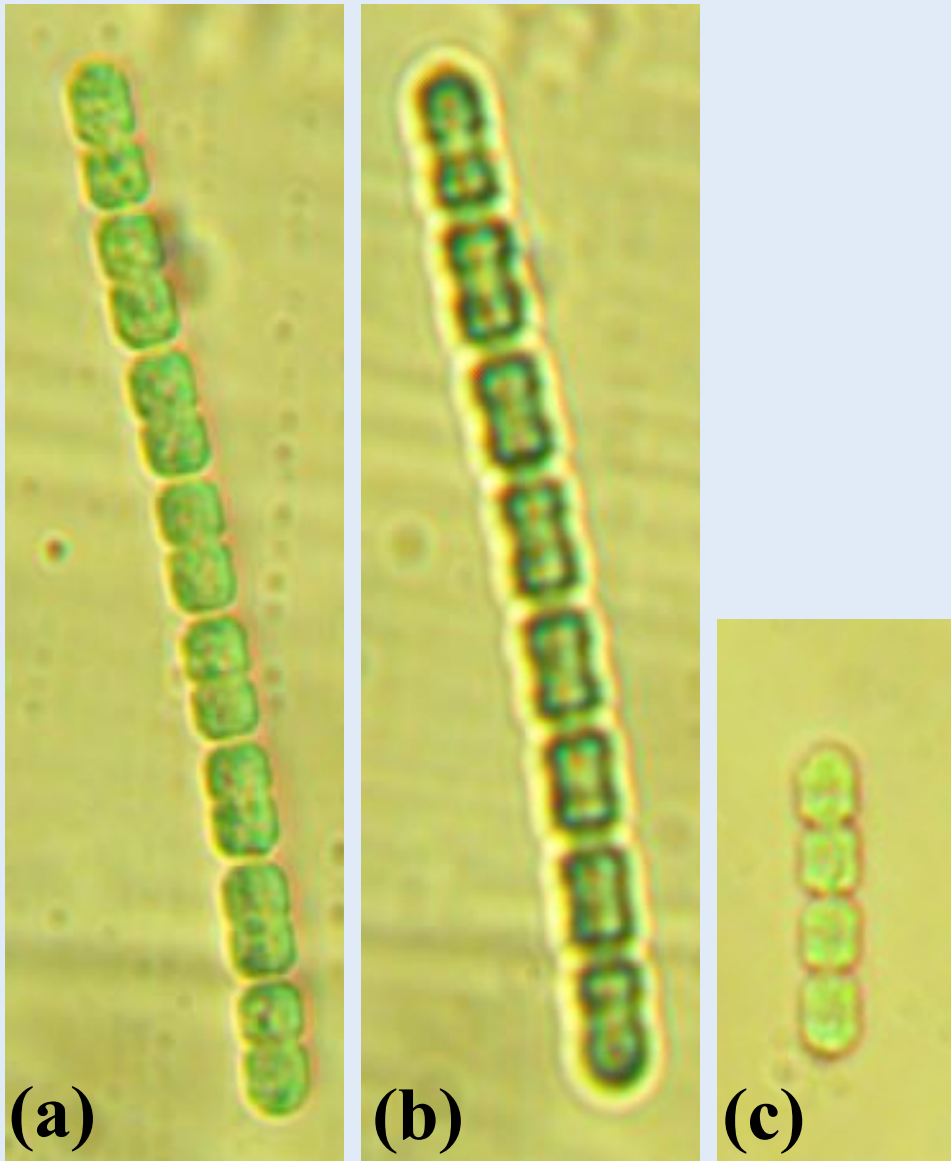


Figura 2. *Anabaena constricta*. (a) Filamento solitario. (b) Resaltado de contorno de las células. (c) Filamento joven.

Cylindrospermopsis catemaco Komárková-Legnerová & Tavera, 1996

Filamento sin mucílago, normalmente se encuentra solitario y encorvado (Figura 3-a y b). Los heterocistos son alargados y semi-agudos, algunos ligeramente encorvados (c).

Cylindrospermopsis catemaco fue encontrado predominantemente en muestras de fitoplancton, durante las estaciones de otoño-invierno, luego de días lluviosos.

Las células suelen ser de 0.8 a 1.2 μm de ancho y de 5 a 10 μm de largo. Puede desarrollar puntas en uno o ambos extremos del filamento, a excepción de los filamentos cortos que no presentan heterocistos (Komárková & Tavera, 1996). Los tricomas no presentan envoltura. En ocasiones pueden tener aerótopos (Komárek & Komárková, 2002).

Se ha reportado la presencia de esta especie en México (Komárková & Tavera, 1996; Komárek & Komárková, 2002). En Paraguay, esta especie se ha registrado en el Lago Ypacaraí (Delgado *et al.*, 2014) y en el Chaco (Benítez *et al.*, 2015).

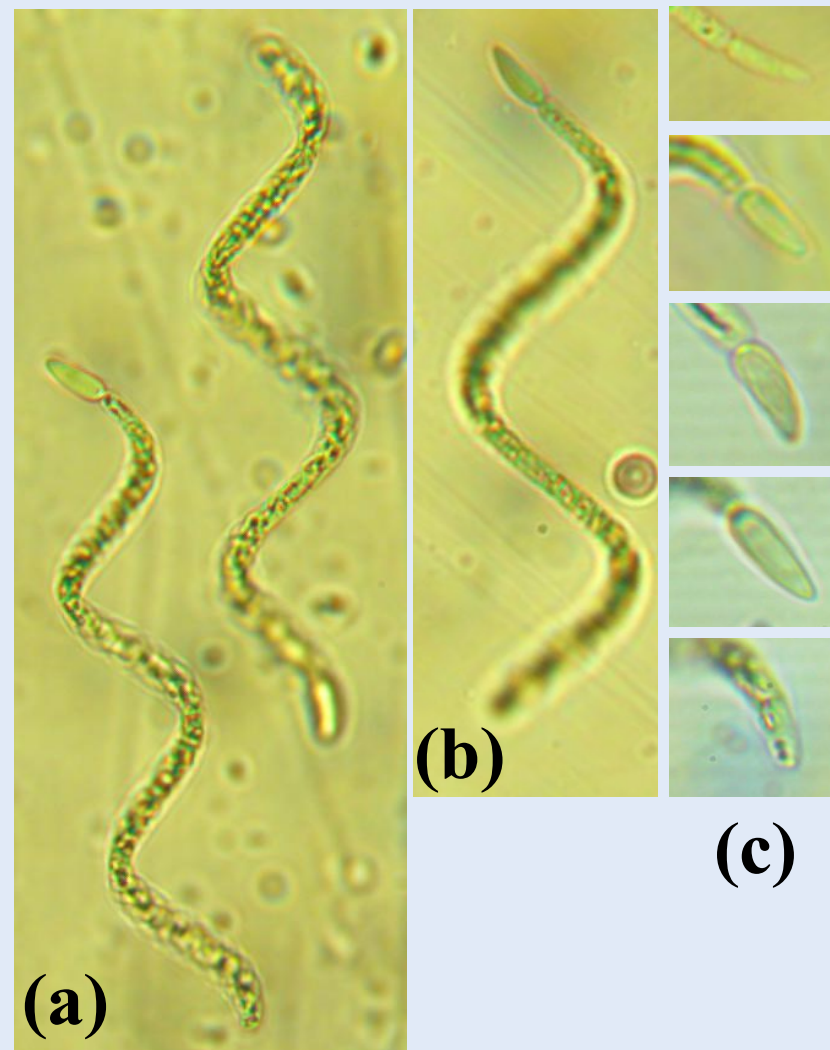


Figura 3. *Cylindrospermopsis catemaco*. (a y b) filamentos enroscados sobre sí, con un heterocisto en uno de los extremos. (c) Variables morfológicas de las puntas, con o sin heterocisto.

Raphidiopsis sp. Fritsch & Rich, 1929

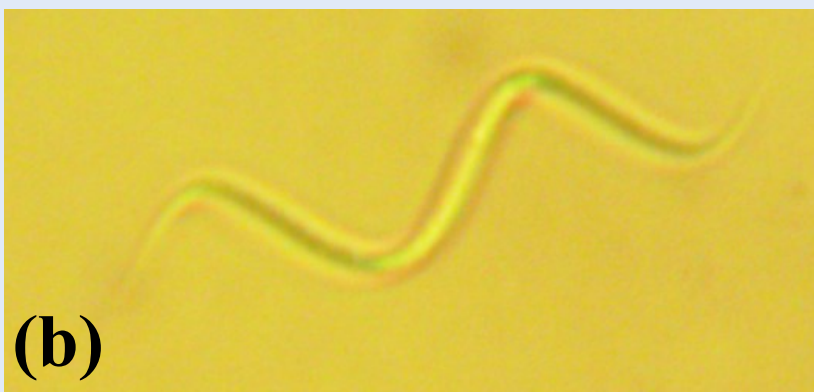


Figura 4. *Raphidiopsis* sp. (a) y (b) filamentos solitarios de pequeño tamaño.

Potencial especie tóxica, produce anatoxinas y cilindrospermopsinas, puede producir florecimientos leves (Nienaber & Steinitz, 2018).

Filamento corto, solitario, encorvado con células de dimensiones reducidas, sin presencia de mucílago (Figura 4, a-b). No se observa presencia de acinetos.

Las células pueden ser cilíndricas. Los tricomas son agudos en las puntas, y normalmente de forma sigmoidea. Las especies de este género no tienen heterocistos. Se reproducen por acinetos y por desintegración de filamentos (Giannuzzi, 2009; Nienaber & Steinitz, 2018).

Este género se ha registrado en Río Colorado, Argentina (Galea *et al.*, 2014). En Paraguay, se ha registrado en el embalse de Yacyreta durante el período de diciembre del 2004 a noviembre del 2005 (Meichtry de Zaburlín *et al.*, 2013).

Raphidiopsis curvata Fritsch & Rich, 1930

Filamento solitario, encorvado (Figura 5 - a y b). Las células presentan tamaño reducido. Se observa presencia de acineto en formación (a y b) y en forma liberada (c). No se observa mucílago.

Las células pueden ser cilíndricas. Los tricomas son agudos en las puntas, y normalmente de forma sigmoidea. No presenta heterocistes. La división celular es transversal al eje longitudinal, el tricoma puede reproducirse por disgregación (Giannuzzi, 2009).

Esta especie es fitoplanctónica (Giannuzzi, 2009; Esqueda *et al.*, 2016).

Especie reportada en China (Li *et al.*, 2001; Li *et al.*, 2008), México (Esqueda *et al.*, 2016). En Paraguay, esta especie se ha registrado en el Lago Ypacaraí (Benítez *et al.*, 2017).

Esta especie es productora de cilindrospermopsina y deoxicilindrospermopsina, dos cianotoxinas del tipo hepatotoxinas (Li *et al.*, 2001). Especie potencialmente tóxica (Giannuzzi, 2009; Esqueda *et al.*, 2016).

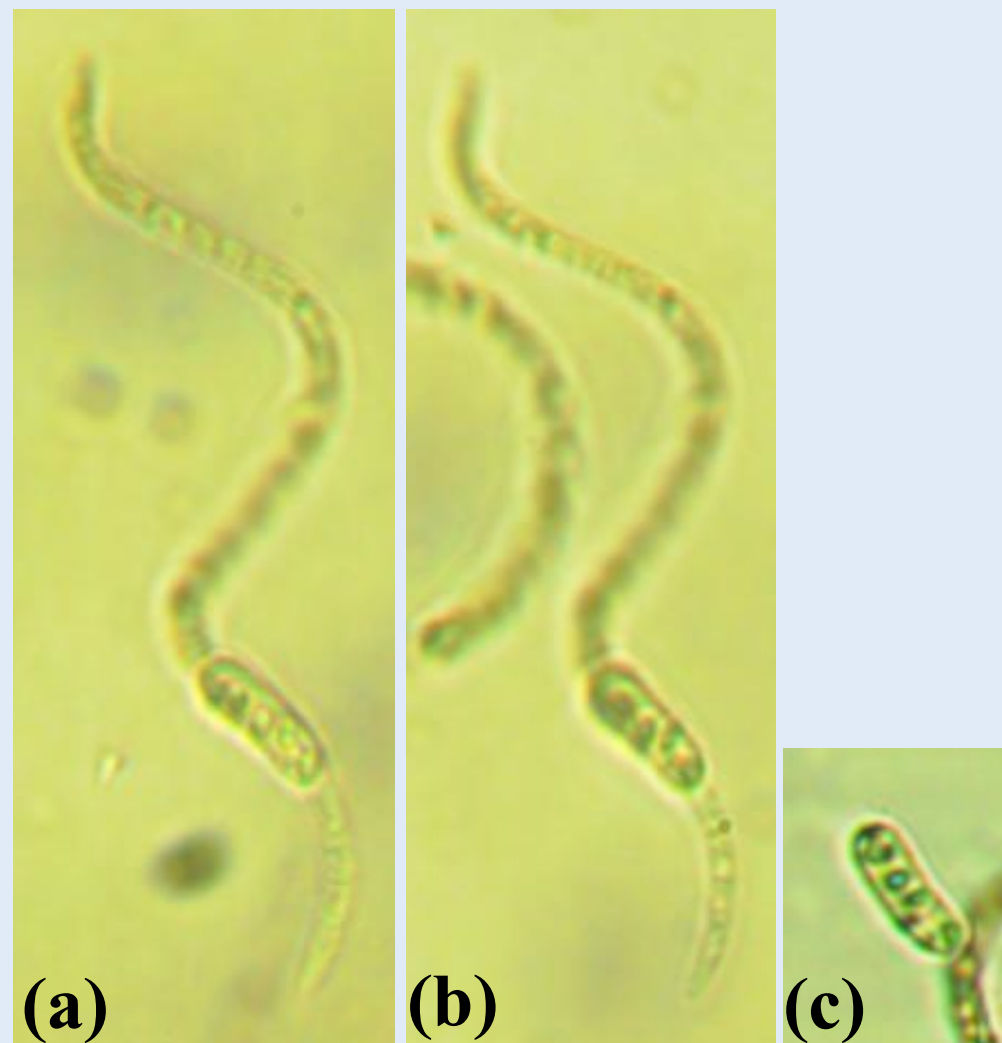


Figura 5. *Raphidiopsis curvata*. (a) Filamento solitario. (b) Resaltado de las células y heterocisto. (c) Heterocisto.

Aphanocapsa sp. Nägeli, 1849

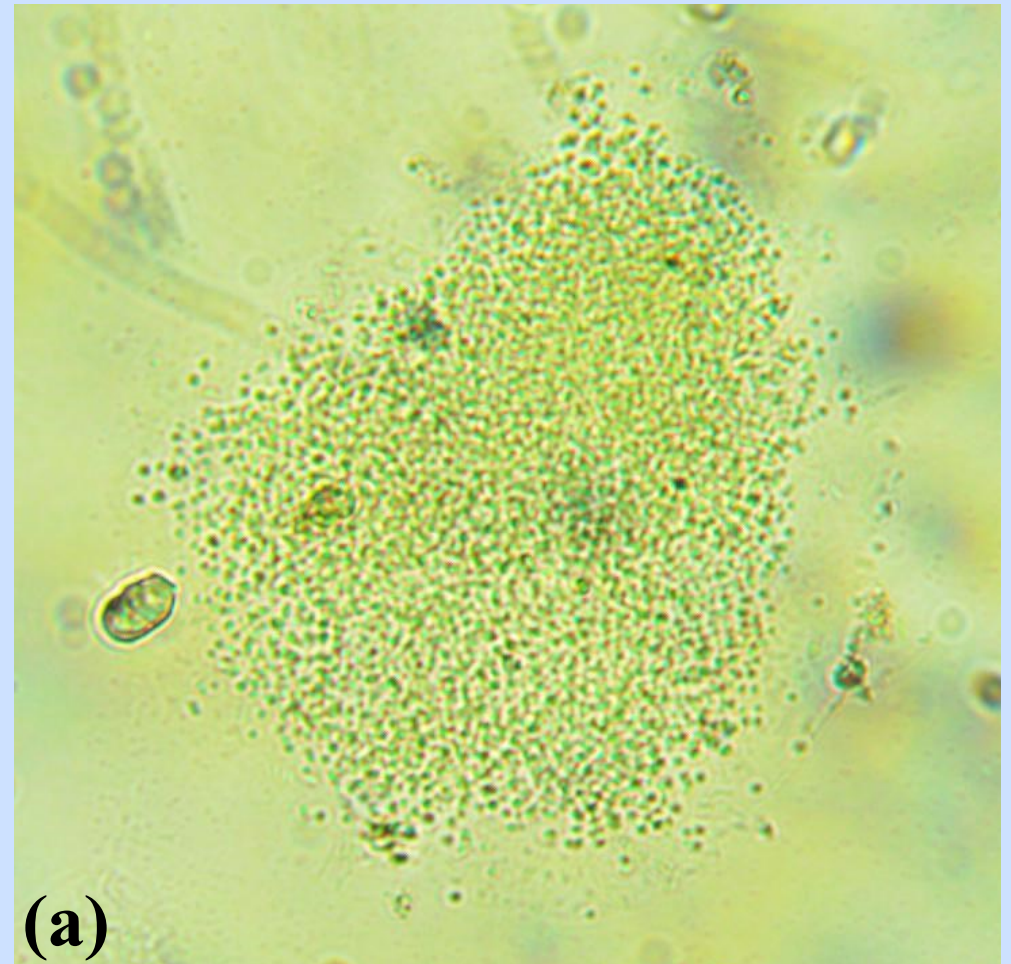
Colonia de forma irregular, células esféricas muy diminutas distribuidas sin patrón aparente (Figura 6). Presencia de mucílago incoloro muy fino.

Las especies de este género se diferencian por el tamaño de las células que pueden ser de 0.4 - 1 a 6 - 5.5 μm de diámetro, densidad celular de las colonias, forma de las colonia (de globulares a amorfas) y densidad del mucílago. Las células no tienen capa mucilaginosa individual y pueden presentarse de a pares o diplococos. Varias especies son fitoplanctónicas (Wehr & Sheath, 2003; John *et al.*, 2005; Cirés & Quesada, 2011; Bellinger & Sigee, 2015).

Este género es de distribución cosmopólita. Las células se reproducen por fisión binaria en dos planos perpendiculares en generaciones sucesivas. Sin embargo, la reproducción de las colonias es por desintegración (Wehr & Sheath, 2003; Novelo, 2011).

Se ha reportado este género en Honduras (Hernández & Marin, 2017), Brasil (Watson *et al.*, 2014) y Argentina (Gianello *et al.*, 2017). En Paraguay, se ha registrado la presencia de este género en el Lago Ypacaraí (Delgado *et al.*, 2014).

Figura 6. *Aphanocapsa* sp. (a) Colonia amorfa.

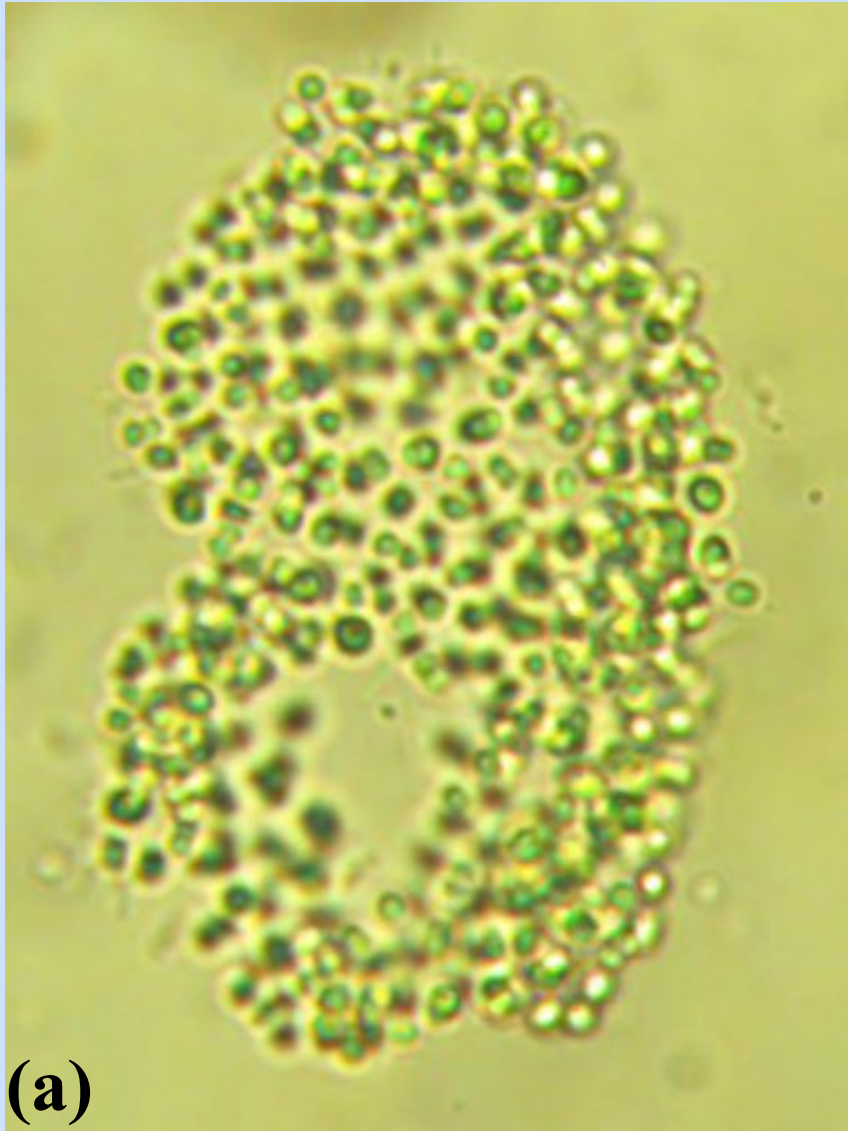


Aphanocapsa annulata McGregor, 2007

Colonia elongada, irregular, mucilaginosa incolora de células esféricas de tamaño mediano dispuestas en la periferia (Figura 7 - a). Presencia de aparentes huecos.

Las células tienen de 2.2 a 4.0 μm de diámetro. La colonia puede tener forma esférica a elipsoide. Contenido celular denso. Las células no presentan aerótopos (McGregor *et al.*, 2007; Felisberto & Da Silva, 2014). Esta especie puede encontrarse tanto en el fitoplancton como en el perifiton (Felisberto & Da Silva, 2014; Esqueda *et al.*, 2016).

Esta especie se ha reportado en la India (Hajong & Ramanujam, 2017), México (Esqueda *et al.*, 2016), Brasil (Felisberto & Da Silva, 2014) y en Argentina (Vidaurre *et al.*, 2018).



(a)

Figura 7. *Aphanocapsa annulata*. (a) Colonia ovalada. Se observa aparentes rupturas en la disposición espacial de las células.

Aphanocapsa holsatica (Lemmermann) Cronberg & Komárek, 1994

Colonia mucilaginosa incolora, de forma irregular y células de diminuto tamaño. Las células se encuentran en la periferia de la colonia, formando grupos y aparentes huecos o espacios, sin mucilago, en lugares aleatorios.

Células esféricas de 0.8 a 1.5 μm de diámetro. Las células no presentan aerótopos (Sant'Anna *et al.*, 2004). Colonias irregularmente esféricas en colonias jóvenes. Muy común en el fitoplancton (McGregor *et al.*, 2007).

Se ha reportado esta especie en Grecia (Gkelis *et al.*, 2016), en República Checa (Kaštovský *et al.*, 2010), Honduras (Hernández & Marin, 2017), Argentina (Huber *et al.*, 2011; Polla *et al.*, 2016) y Brasil (Sant' Anna *et al.*, 2007).

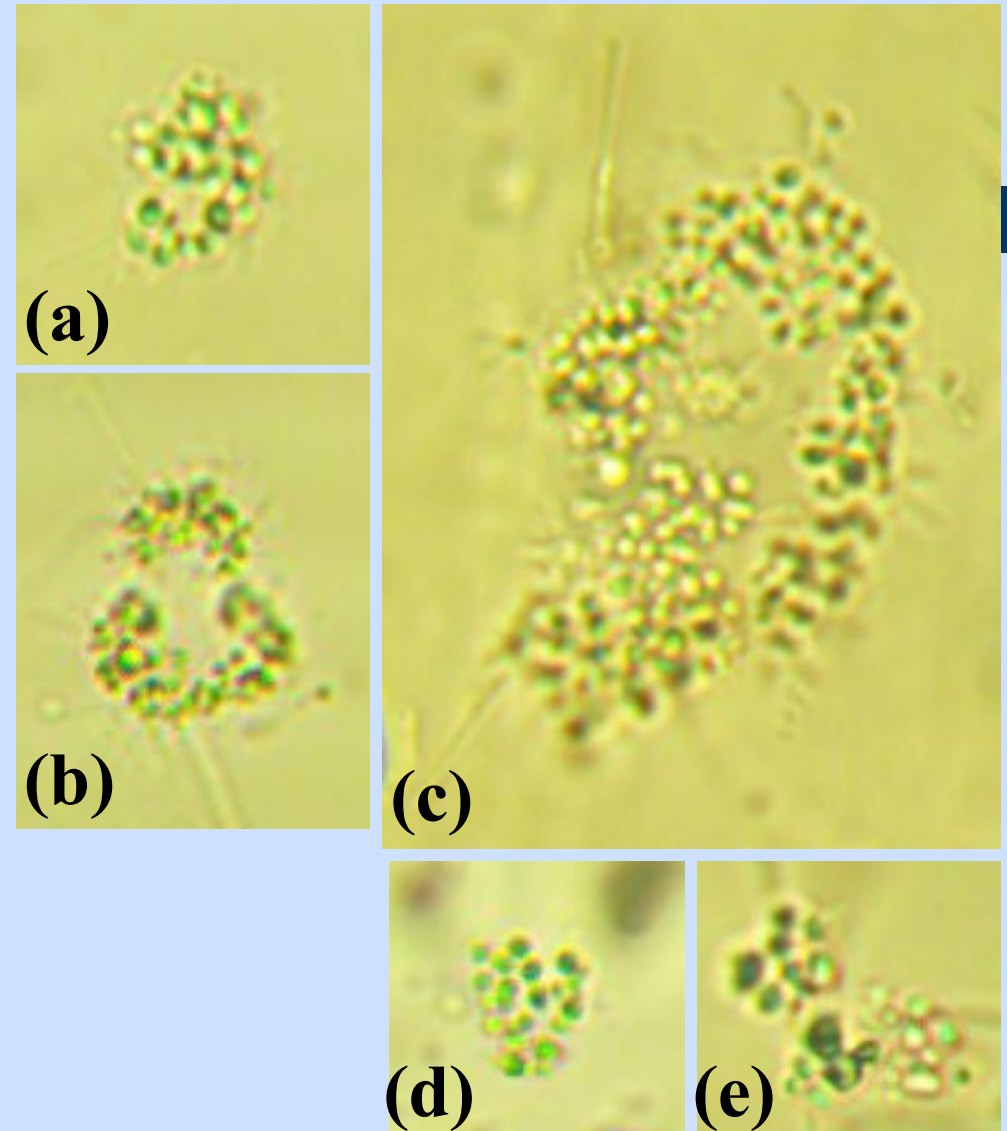


Figura 8. *Aphanocapsa holsatica*. (a) Colonia joven, se observa la formación de un espacio vacío en la parte inferior. (b) Colonia con formación de espacios en el centro. (c) Colonia amorfa. (d) Colonia joven. (e) Colonia en proceso de ruptura.

Aphanocapsa delicatissima West & West, 1912

Colonia mucilaginosa incolora, esférica o irregular en ocasiones (Figura 9, a - c). Las células, esféricas y de pequeño tamaño, se encuentran distribuidas de manera aleatoria en la periferia de la colonia. Esta especie fue observada en abundancia en muestras de fitoplancton.

Las células pueden medir desde los 0.4 a 1.2 μm . Pueden ser esféricas o semiesféricas y no presentan mucílago individual. La colonia puede ser de esférica, elipsoidal hasta de forma irregular (McGregor *et al.*, 2007). La división celular se produce en tres planos perpendiculares (John *et al.*, 2005; Cirés & Quesada, 2011).

A. delicatissima se encuentra en varios lugares como Grecia (Gkelis *et al.*, 2016), en República Checa (Kaštovský *et al.*, 2010), Egipto (Shanab, 2006), Sur de Francia (Chomérat *et al.*, 2007), México (De La Lanza *et al.*, 2008), Honduras (Hernández & Marin, 2017), Brasil (Sant' Anna *et al.*, 2007; Felisberto & Da Silva, 2014; Nishimura *et al.*, 2014), Antártida (Singh *et al.*, 2008), España (Alvarez & Gallardo, 1988; López-Rodríguez *et al.*, 2016), Argentina (Carrillo *et al.*, 2009; Huber *et al.*, 2011; Polla *et al.*, 2016) y Colombia (Alba *et al.*, 2011). En Paraguay esta especie se ha registrado en el Departamento de Boquerón (Dos Santos, 2016) y en el Lago Ypacaraí (Benítez *et al.*, 2017).

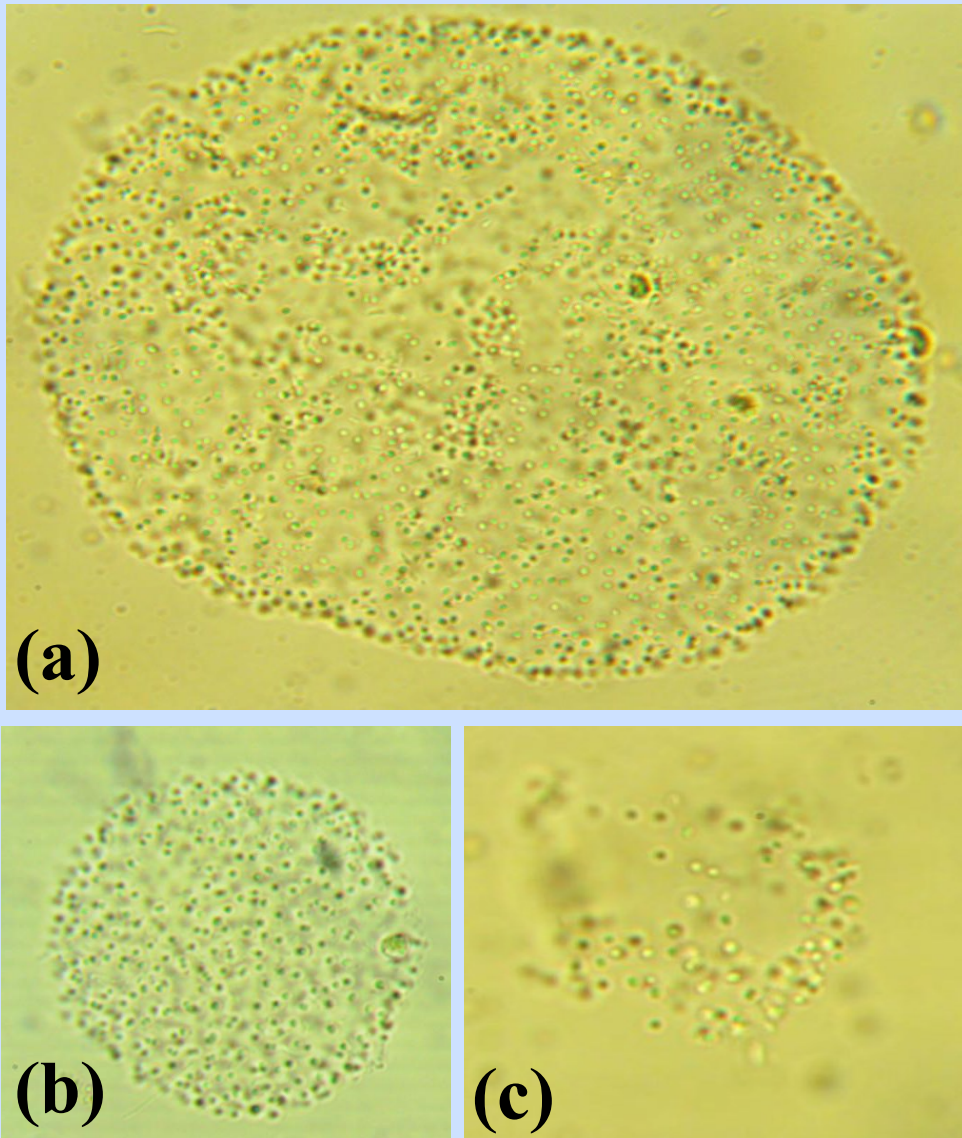


Figura 9. *Aphanocapsa delicatissima*. (a) Colonia adulta. (b) Colonia esférica (c) Colonia en ruptura.

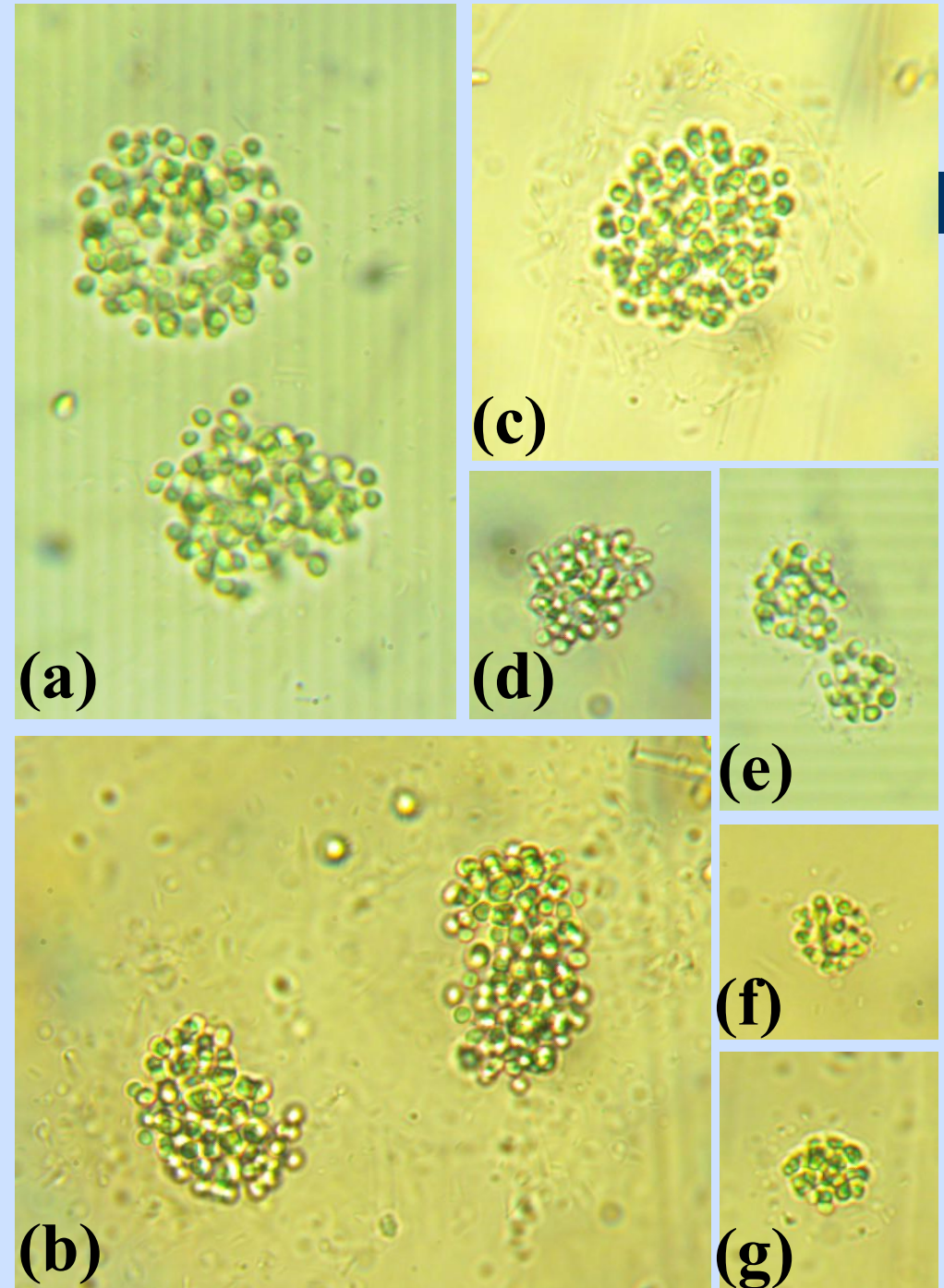
Aphanocapsa incerta (Lemmermann) Cronberg & Komárek, 1994

Colonia ovoide o amorfa (Figura 10, a) de células esféricas y semiesféricas de tamaño pequeño. Presencia de mucílago fino (a, d - g) o ligeramente denso (b y c) e incoloro. Se observa división de colonias (a, b, e).

Las células pueden medir de 0.8 a 3.2 μm de diámetro (Kumar & Nath, 2015). Colonias de forma esférica o irregular (raramente), contenido celular denso con espacios en el centro de la colonia. Las células no presentan aerótopos (McGregor *et al.*, 2007).

A. incerta ha sido citada en algunos países de Europa, Australia, Antártica y en América (Kumar & Nath, 2015), Grecia (Gkelis *et al.*, 2016) y en República Checa (Kaštovský *et al.*, 2010). Así como también se ha registrado en Honduras (Hernández & Marin, 2017) y en Brasil (Sant' Anna *et al.*, 2007; Nishimura *et al.*, 2014).

Figura 10. *Aphanocapsa incerta*. (a) y (b) Colonias separadas. (c) Colonia fase adulta. (d) Colonia joven. (e) Colonia en división. (f) y (g) Colonias de pequeño tamaño.



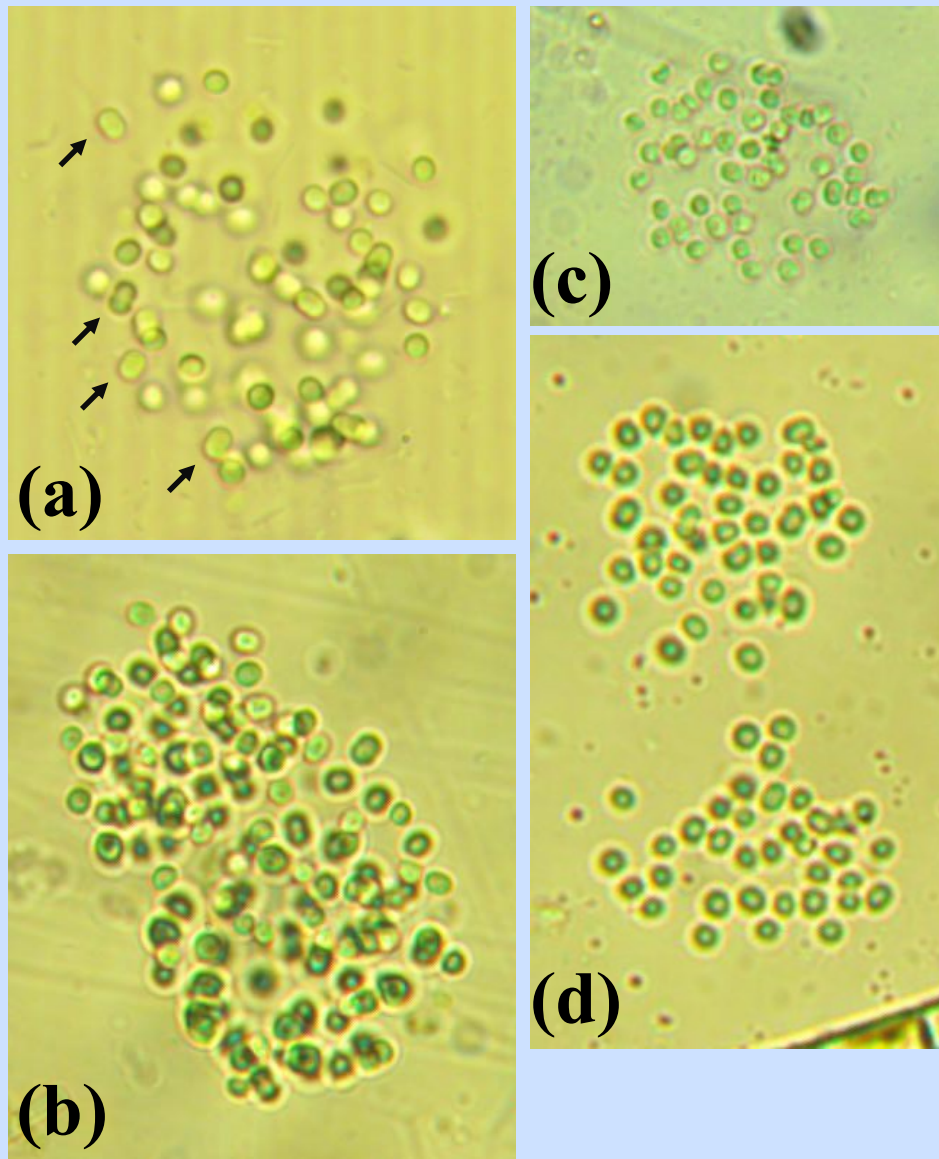
Aphanocapsa koordersi Strøm, 1923

Figura 11. *Aphanocapsa koordersii*. (a) Colonia casi dispersa. (b) Colonia en proceso de división (c) Colonia amorfa. (d) Colonia afectada por la deshidratación de la muestra.

Colonias amorfas o esféricas de mucílago poco denso e incoloro (Figura 11). Las células son esféricas, en ocasiones ovoides luego de la división celular (a). Las células se encuentran distribuidas en la periferia de la colonia de manera desordenada y distanciadas.

Las células pueden tener de 2 a 3 μm de diámetro (Sant'Anna *et al.*, 2004). Esta especie se encuentra en el fitoplancton (Esqueda *et al.*, 2016). Las células no presentan aerótopos (McGregor *et al.*, 2007).

Se ha reportado la presencia de *A. koordersi* en Kenia (Kotut *et al.*, 1998), México (Esqueda *et al.*, 2016), Honduras (Hernández & Marin, 2017), Uruguay (Pérez, 2002) y en Brasil (Sant' Anna *et al.*, 2007; Felisberto & Da Silva, 2014).

Synechocystis aquatilis Sauvageau, 1892

Unicelular, se puede encontrar en pequeños grupos (Figura 12). Células esféricas de tamaño mediano, algunas se encuentran adheridas a distintas superficies (a). Las células también presentan movilidad individual. Esta especie fue observada en muestras de fitoplancton.

Las células pueden tener de 2.5 a 5.4 μm , de forma esférica o elipsoides. La diferenciación entre especies de este género se puede hacer teniendo en cuenta el tamaño de las células y el contenido de estas (si es homogéneo o no). En ocasiones se observan dos células unidas (durante la división celular). Se reproducen por fisión binaria (períodos extensos) (Pineda Mendoza, 2009; Novelo, 2011).

Esta especie presenta distribución cosmopólita. Normalmente se encuentra en muestras planctónica y metafítica en cuerpos de aguas pequeños o estanques (Novelo, 2011).

Esta especie se encuentra en Grecia (Gkelis *et al.*, 2016), Egipto (Shanab, 2006), en la Antártida (Singh *et al.*, 2008), Sur de Francia (Chomérat *et al.*, 2007), España (Alvarez & Gallardo, 1988), en República Checa (Kaštovský *et al.*, 2010), México (Novelo, 2011) y en Argentina (Peralta y Fuentes, 2005).

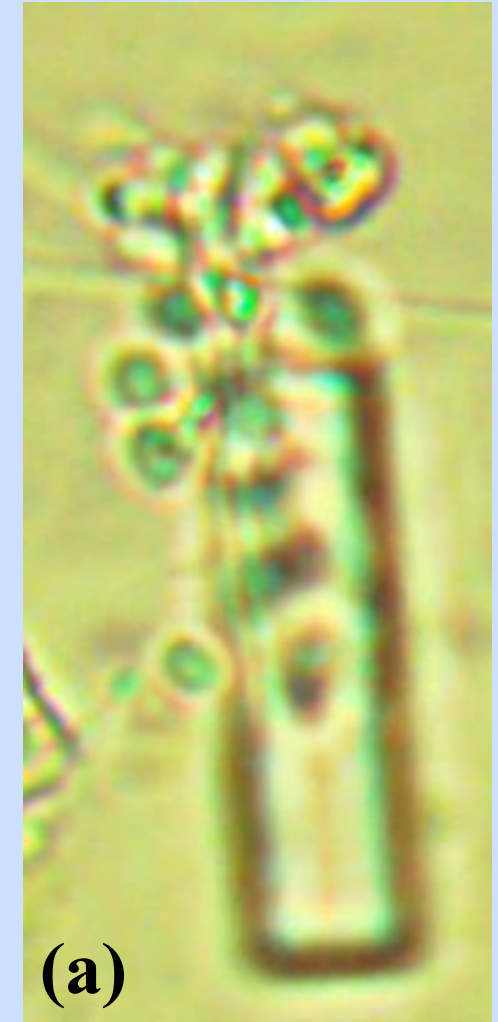
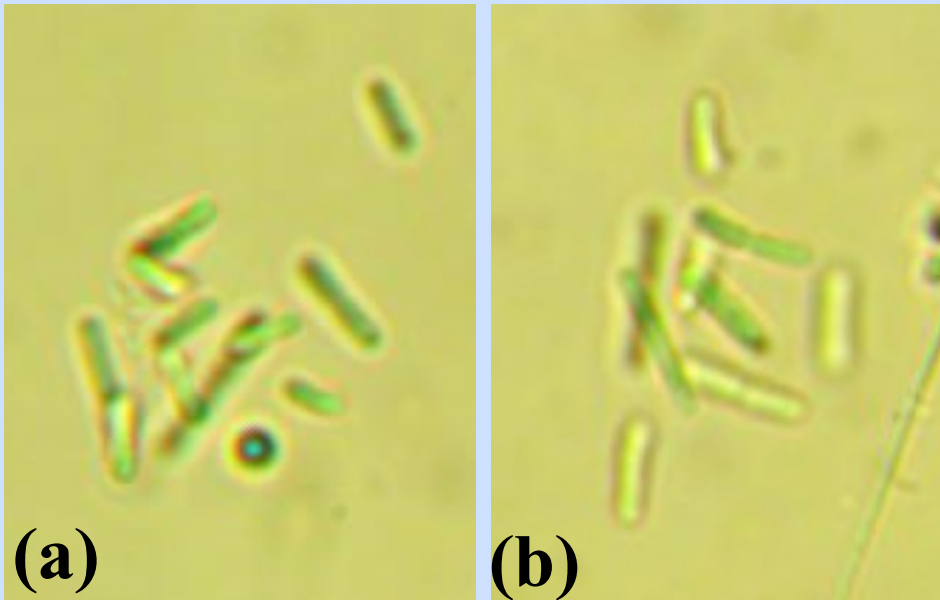


Figura 12. *Synechocystis aquatilis*. (a) Se observan varias células adheridas a una diatomea y a restos de impurezas.

Figura 13. *Rhabdoderma lineare*. (a) y (b) Colonias no mucilaginosas. En ambas colonias se observa células en división.



Rhabdoderma lineare Schmidle & Lauterborn, 1900

34

Grupo de células de dimensiones reducidas, alargadas (Figura 13). No se observó presencia de mucílago alrededor de las células ni de las colonias.

Las células son cilíndricas y largas. En ocasiones se las encuentra como pseudofilamentos de 4 a 8 células. Pueden presentar contenido granular, pero sin aerótopos. Pueden formar pequeñas colonias, de pocas células, mucilaginosas incoloras o simplemente flotar en grupos sin presencia de mucílago. En ocasiones las células presentan mucílago individual. Las colonias no presentan formas definidas (John *et al.*, 2005; McGregor *et al.*, 2007).

Se ha registrado esta especie en Grecia (Gkelis *et al.*, 2016), Brasil (Sant' Anna *et al.*, 2007), España (Alvarez & Gallardo, 1988), en República Checa (Kaštovský *et al.*, 2010) y en Argentina (Wenzel & Díaz, 2008).

***Planktolyngbya af. limnetica* (Lemmermann) Komárková-Legnerová & Cronberg, 1992**

Filamento solitario con aparente vaina fina incolora (Figura 14). Las células terminales del filamento presentan terminaciones redondeadas, mientras que las células del resto del filamento son cilíndricas. Los filamentos pueden presentarse rectos o ligeramente encorvados. Esta especie se observó en muestras de fitoplancton.

Las células pueden tener de 1.9 a 5 μm de largo y 0.5 a 2.0 μm de ancho. Pueden presentar aerótopos y granulaciones solitarias. Esta especie puede encontrarse en el fitoplancton o en muestras de perifiton (Komárék, 2003; Sant' Anna *et al.*, 2006; Felisberto & Da Silva, 2014)

Esta especie ha sido registrada en el Sur de Francia (Chomérat *et al.*, 2007), Grecia (Gkelis *et al.*, 2016), República Checa (Kaštovský *et al.*, 2010). Sin embargo, la distribución regional de esta especie se ha reportado en Uruguay (Pérez, 2002; Ferrari *et al.*, 2011), Argentina (Wenzel & Díaz, 2008; Polla *et al.*, 2016) y Brasil (Sant' Anna *et al.*, 2007).

Figura 14. *Planktolyngbya af. limnetica*.
(a) Filamento encorvado, se observa presencia de vaina.



Chroococcus sp. Nägeli, 1849

Células esféricas, normalmente se pueden presentar unidos de a pares (Figura 15, a y b). No se observa presencia de envoltura.

Las células pueden medir de 0.7 a 58 μm de diámetro. Pueden encontrarse flotando individualmente, dos células unidas luego de la división celular (John *et al.*, 2002), o de a cuatro, así como también en pequeños grupos. Algunas especies presentan capas mucilaginosas distintas que pueden formarse luego de la división celular. Algunas especies planctónicas pueden tener vacuolas de gas (Wehr & Sheath, 2003; Bellinger & Sigee, 2015).

Las células se reproducen por fisión binaria en tres o más planos. Sin embargo, las colonias se reproducen por fragmentación (Wehr & Sheath, 2003). Este género tiene distribución cosmopólita (Novelo, 2011).

Chroococcus se ha registrado en España (López-Rodríguez *et al.*, 2016), Honduras (Hernández & Marin, 2017), México (Novelo, 2011), Perú (Saavedra, 2015) y Argentina (Luque & Martínez, 2003; Galea *et al.*, 2014; Polla *et al.*, 2016). En Paraguay, se ha registrado la presencia de esta especie en la Cuenca del arroyo Tacuary (durante la primavera), Departamento de Itapúa (López Pereira, 2013) y en el embalse de Yacyreta durante el período de diciembre del 2004 a noviembre del 2005 (Meichtry *et al.*, 2013).



Figura 15. *Chroococcus* sp. (a) y (b) Células esféricas en proceso de división binaria.



Figura 16. *Cyanostylon* sp. (a) Tres células separadas por varias capas de mucílago.

Cyanostylon sp. Geitler, 1928

Colonia mucilaginosa de células esféricas (Figura 16). Se observa una capa de mucílago individual para cada célula y otras que rodean a las células, aparte de la capa general de la colonia. Se observa, al menos, dos capas de mucílago rodeando a cada célula.

Las células pueden tener de 3.0 a 4.5 μm de diámetro. Se dividen por fisión binaria en dos o más planos. En ocasiones, las colonias pueden presentar un color marrón claro. Varias especies de este género pueden ser encontradas en muestras de perifiton (Watson *et al.*, 2014).

Se ha reportado a *Cyanostylon* sp. en Brasil (Watson *et al.*, 2014).

Gloeothece tepidariorum (Braun) Lagerheim, 1883

Colonia mucilaginoso (Figura 17). Las células presentan forma esférica y/u ovoide. Cada célula tiene una capa mucilaginosa individual y otra general de la colonia (d). Las células se disponen en grupos a los polos de la colonia (a y d). Mucílago incoloro y delimitante.

Las células pueden tener de 6.1 a 11.1 μm de largo y 4.4 a 5.5 μm de ancho, pueden tener contenido granuloso. Las colonias pueden alcanzar de 18.9 a 45.7 μm de diámetro (Arantes *et al.*, 2014). Esta especie es perifítica (Watson *et al.*, 2014).

Se ha reportado esta especie en Grecia (Gkelis *et al.*, 2016), República Checa (Kaštovský *et al.*, 2010) y en Brasil (Watson *et al.*, 2014).

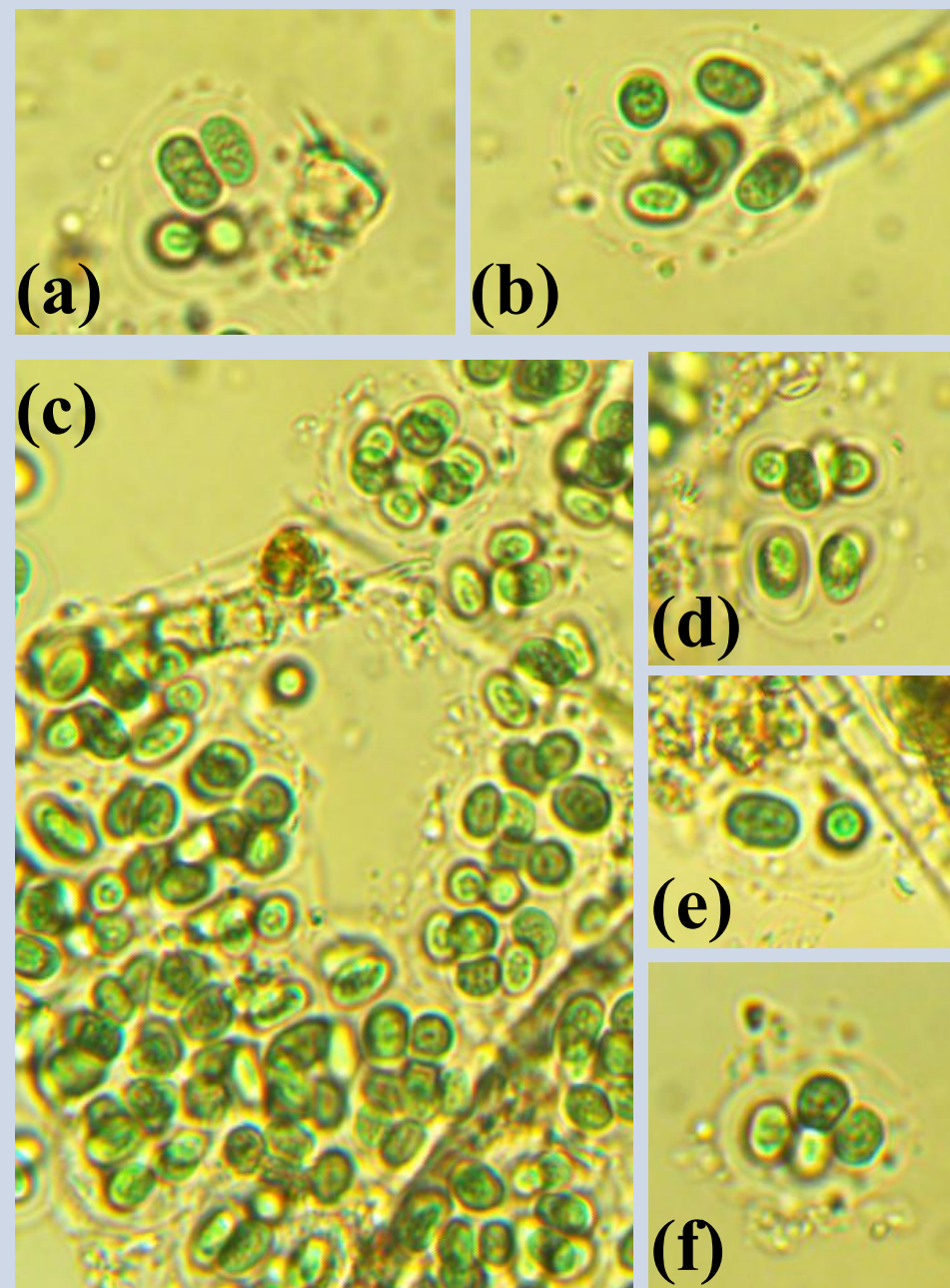


Figura 17. *Gloeothece tepidariorum*. (a) Células en división. (b) Disposición de células dentro de colonia. (c) Panorámica de colonia. (d-f) Colonias solitarias.

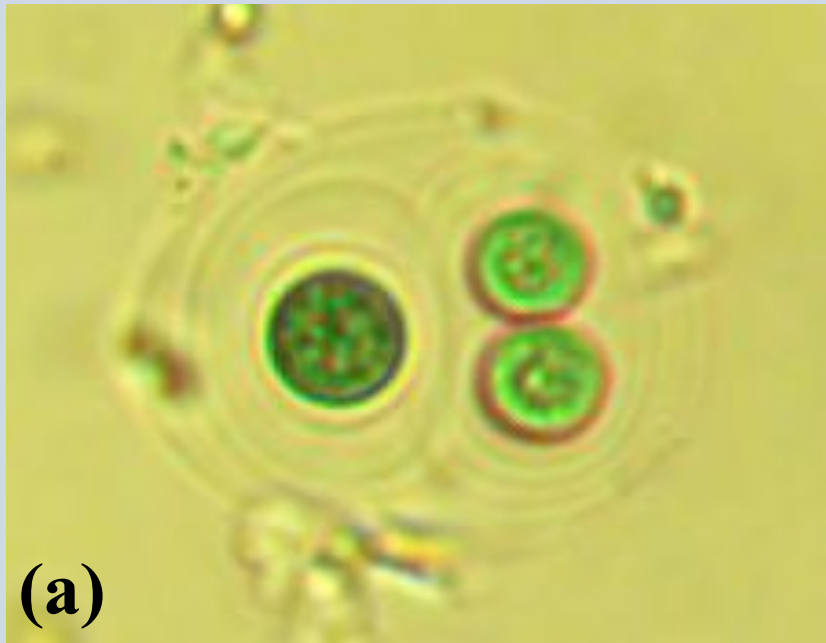


Figura 18. *Gloeothoece interspersa*. (a) Colonia de tres células.

Gloeothoece interspersa Gardner, 1927

39

Colonia mucilaginosa de células esféricas (Figura 18). Las células presentan capas individuales y, al menos, dos capas adicionales a parte de la capa general de la colonia. Mucílago incoloro.

Las células pueden ser semiesféricas u ovoides de 4.2 a 11.2 μm de largo y 3.0 a 5.2 μm de ancho. Pueden tener contenido celular granulado. Forman colonias mucilaginosas que pueden alcanzar de 9.5 a 19.2 μm diámetro (Komárek & Komárková, 2007; Arantes *et al.*, 2014; Watson *et al.*, 2014). Esta especie es perifítica (Watson *et al.*, 2014).

Se ha registrado esta especie en Grecia (Gkelis *et al.*, 2016), en Belice (Komárek & Komárková, 2007) y en Brasil (Watson *et al.*, 2014).

Microcystis sp. Lemmermann, 1907

Células esféricas o semi esféricas, solitarias o de a pares (Figura 19). No se observa capa mucilaginosa individual o delimitante. Contenido granuloso.

Las células pueden tener de 0.8 a 6 μm de diámetro, normalmente presentan vacuolas de gas (aerótopos). Las colonias pueden ser mucilaginosas, de forma globular o irregular con huecos y estar compuesta de subcolonias. La disposición de las células dentro de la colonia puede ser concentrada o distanciada, así como estar distribuidas de manera irregular (Wehr *et al.*, 2003; Bellinger & Sigee, 2015).

Las células se reproducen por fisión binaria en tres planos perpendiculares en generaciones sucesivas. Sin embargo, las colonias se reproducen por fragmentación. Las especies de este género son fitoplanctónicas y de distribución cosmopólita (Wehr & Sheath, 2003; Wehr *et al.*, 2003; Novelo, 2011; Bellinger & Sigee, 2015).

Microcystis ha sido registrado en Francia (Chomérat *et al.*, 2007), Colombia (Alba *et al.*, 2011), México (Novelo, 2011), India (Singh *et al.*, 2014), Honduras (Hernández & Marin, 2017) y en Argentina (Gianello *et al.*, 2017). En Paraguay, este género se ha registrado en el embalse de Yacyreta durante el período de diciembre del 2004 a noviembre del 2005 (Meichtry de Zaburlín *et al.*, 2013).

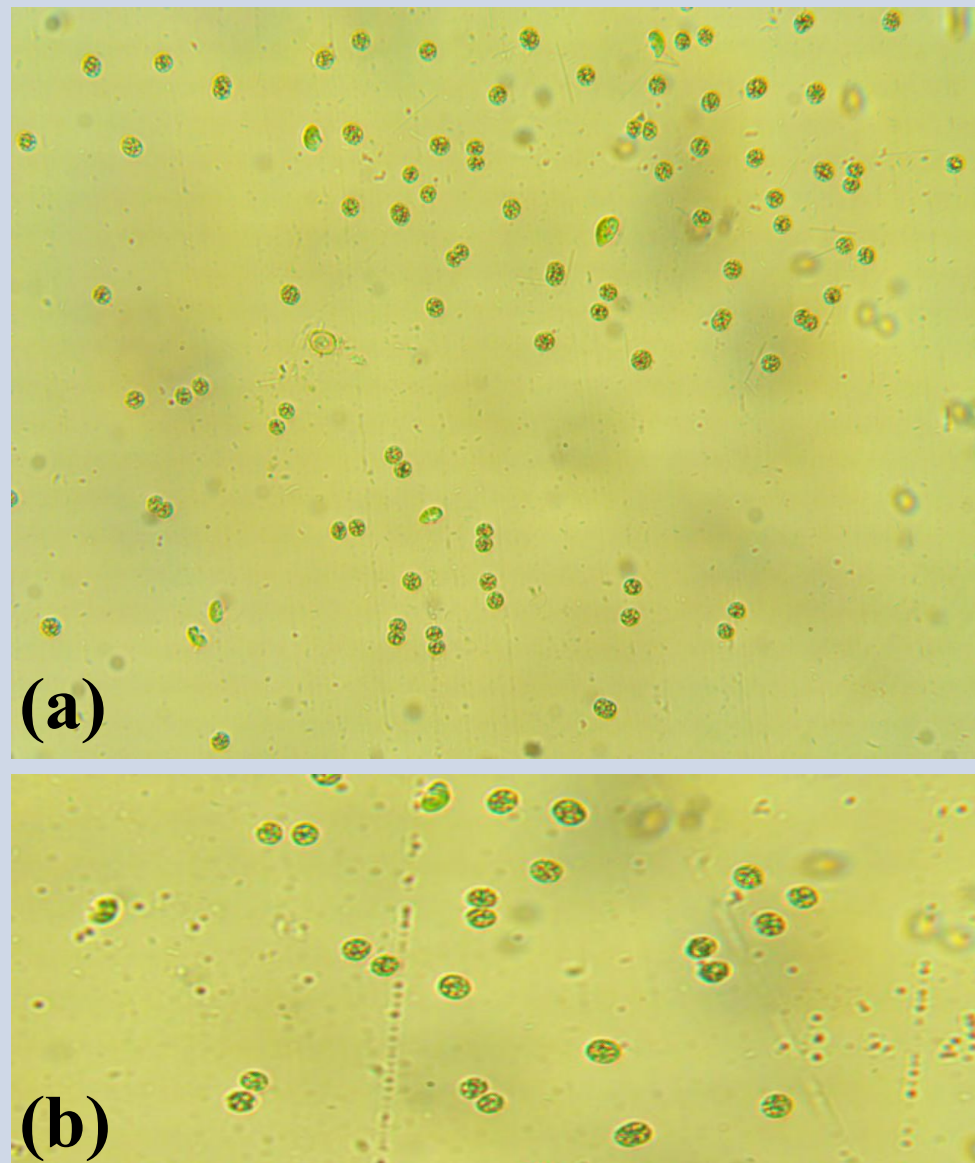
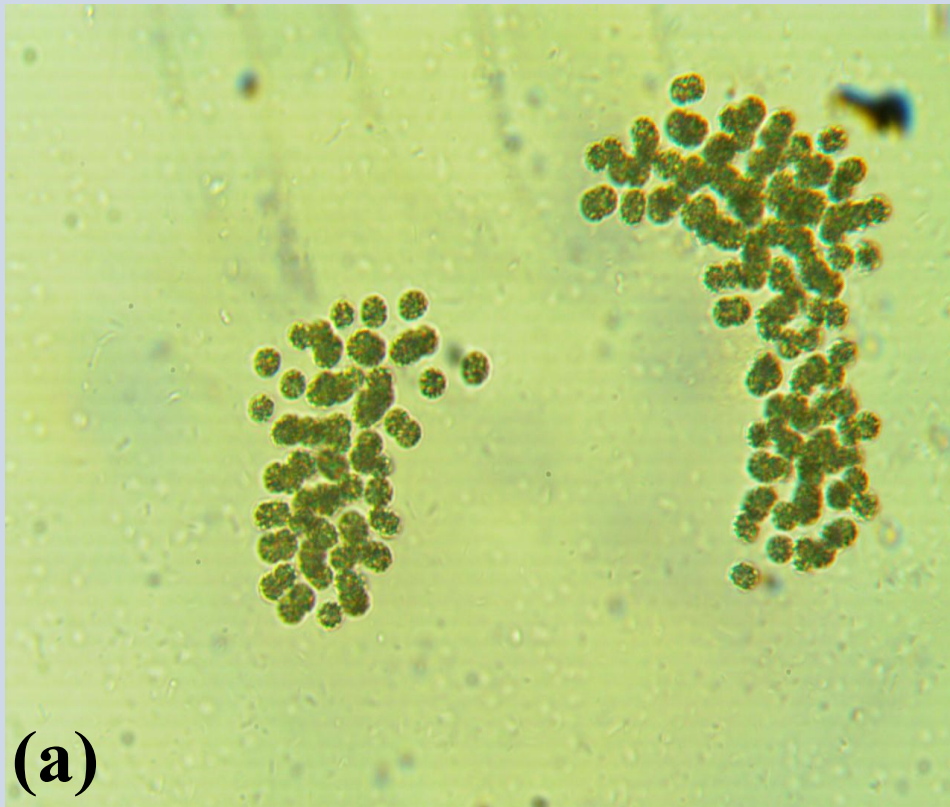


Figura 19. *Microcystis* sp. (a) Imagen panorámica de células flotando libremente. (b) Imagen ampliada de células en división.

Microcystis wesenbergii (Komárek) Komárek ex Komárek, 2006

Figura 20. *Microcystis wesenbergii*. (a) Colonia en ruptura.



Colonia mucilagínosa irregular de células esféricas (Figura 20). Las células se distribuyen de manera irregular dentro de la colonia. Mucílago incoloro y fino.

Las células pueden tener de 4.0 a 7.5 μm de diámetro. Presentan aerótopos y distribución irregular dentro de la colonia. Las colonias presentan huecos distintivos, en ocasiones puede estar compuesto de subcolonias. El mucílago es delimitante y no muy denso (McGregor *et al.*, 2007).

Esta especie se puede encontrar en muestras de fitoplancton (Esqueda *et al.*, 2016).

Se ha registrado en Grecia (Gkelis *et al.*, 2016), República Checa (Kaštovský *et al.*, 2010), México (Esqueda *et al.*, 2016), en Uruguay (Pérez, 2002; Ferrari *et al.*, 2011), en Brasil (Sant' Anna *et al.*, 2007) y en Argentina (Wenzel & Díaz, 2008).

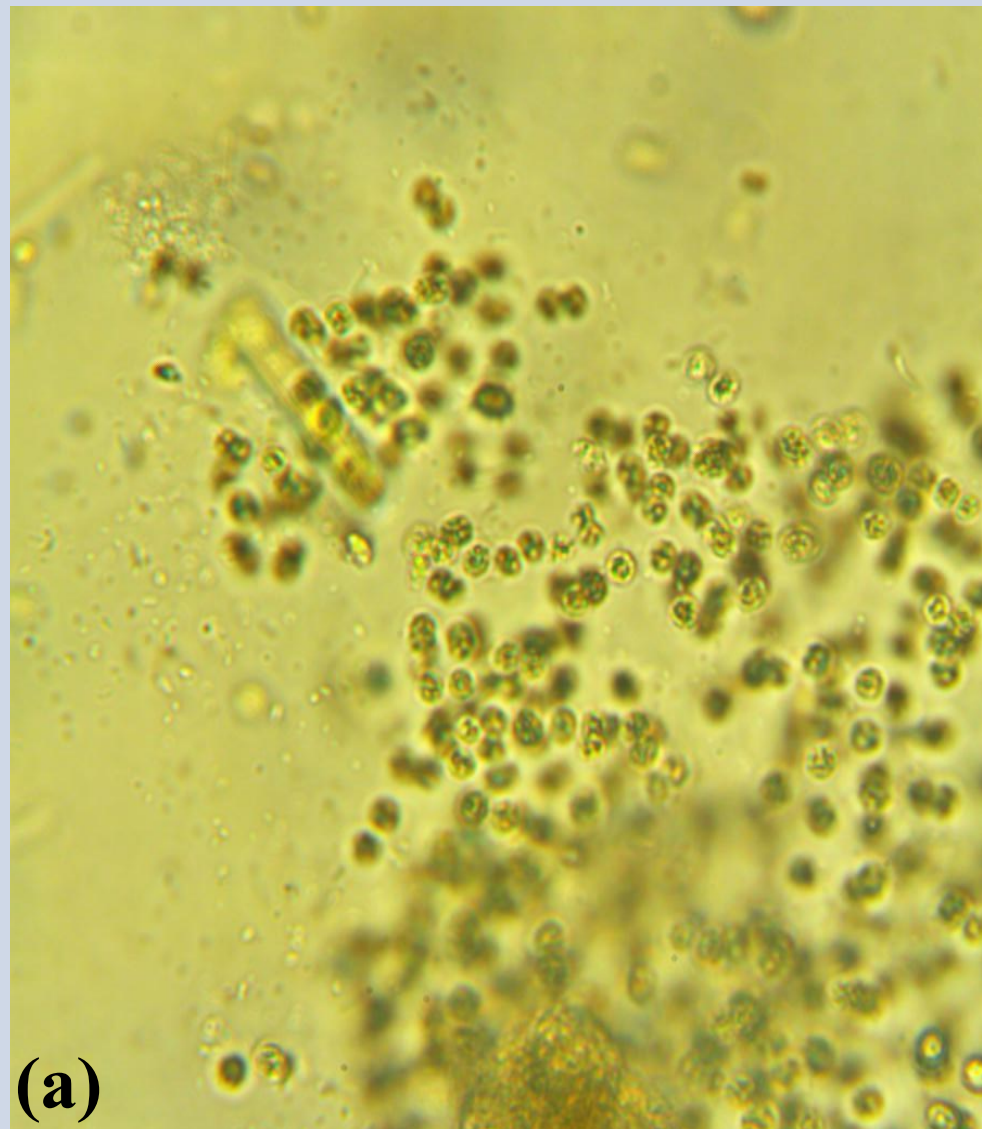
Microcystis aeruginosa (Kützing) Kützing, 1846

Colonia mucilaginoso, de células esféricas (Figura 21). Las células, solitarias o de a pares, se encuentran distribuidas por toda la colonia mucilaginoso de manera irregular. Contenido granuloso. Mucílago denso e incoloro, forma un margen amplio. Esta especie fue observada en abundancia en la mayoría de las muestras de fitoplancton.

Las células de este género son esféricas o semiesféricas y no cuentan con mucílago individuales, pueden tener de 3 a 7 μm . Tienden a formar subgrupos o colonias de células agrupadas con mucílago transparente delimitado, a veces formando un margen amplio alrededor de la colonia. Las células presentan aerótopos (Streble & Krauter, 1987; Wehr & Sheath, 2003; Bicudo & Menezes, 2006; McGregor *et al.*, 2007).

Las células realizan división celular por fisión binaria en tres planos perpendiculares en generaciones sucesivas (Wehr & Sheath, 2003). Esta especie es fitoplanctónica (Esqueda *et al.*, 2016).

Esta especie se ha registrado en Estados Unidos (Carrick & Steinman, 2001), India (Soylu & Gonulol, 2010), Grecia (Gkelis *et al.*, 2016), República Checa (Kaštovský *et al.*, 2010), Egipto (Shanab, 2006), España (Alvarez & Gallardo, 1988), México (Esqueda *et al.*, 2016), Honduras (Hernández & Marin, 2017), Colombia (Alba *et al.*, 2011), Chile (Vila *et al.*, 1987), Uruguay (Pérez, 2002; Ferrari *et al.*, 2011), en Argentina (Wenzel & Díaz, 2008; Huber *et al.*, 2011) y en Brasil (Sant' Anna *et al.*, 2007). En el Paraguay, se ha registrado en Laguna Capitán (Dos Santos, 2016), Departamento de Itapúa (López Pereira, 2013), en el embalse de Yacyreta (Meichtry de Zaburlín *et al.*, 2013) y en el Lago Ypacaraí (Delgado *et al.*, 2014).



(a)

Figura 21. *Microcystis aeruginosa*. (a) Parte de colonia mucilaginoso.

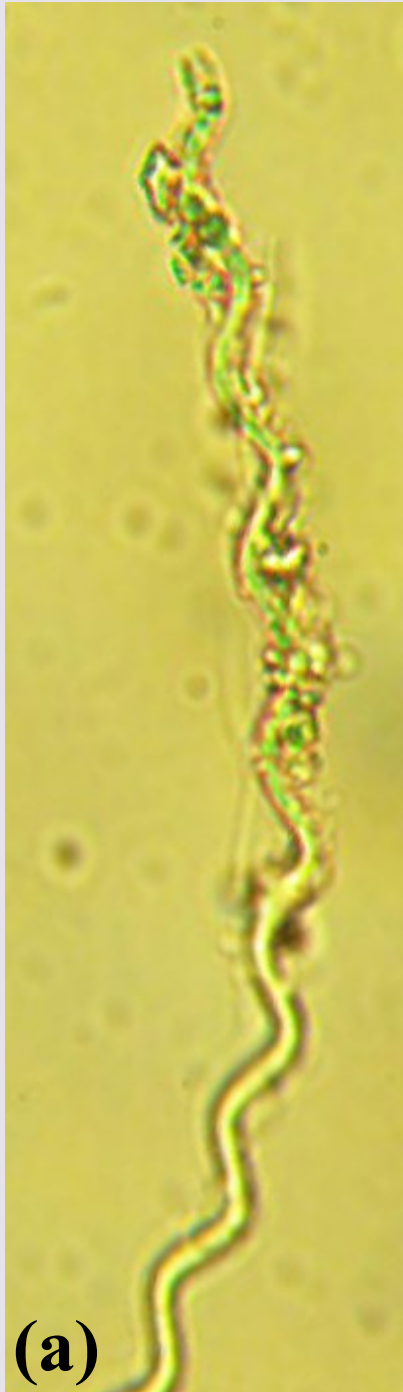


Figura 22. *Arthrospira máxima*. (a) Filamento solitario rodeado de algunas bacterias e impurezas.

Arthrospira maxima Setchell & Gardner, 1917

Filamentoso ondulado (Figura 22, a). Los extremos se caracterizan por ser redondeados. Esta especie se observó en muestras fitoplanctónicas.

Las células pueden ser más cortas que anchas. Presenta pequeños aerótopos. Los tricomas no desarrollan acinetos ni heterocistos (Komárek & Komárková, 2002).

Se ha registrado la presencia de esta especie en México (Komárek & Komárková, 2002).

Arthrospira contiene varios metabolitos de interés como por ejemplo, la ficobilina (Parra *et al.*, 2017)

Geitlerinema sp. (Aragnostidis & Komárek)

Anagnostidis, 1989

Filamento encorvado, delgado y solitario en todo momento (Figura 23). Células terminales ligeramente encorvadas (a) y rectas (b-e). No se observa vaina ni envoltura. Contenido no granuloso. Los tricomas alcanzan gran largor.

Los filamentos pueden encontrarse de forma solitaria o en grupos. Las células terminales pueden ser rectas o cilíndricas. Las células son más largas que anchas, pudiendo alcanzar de 3.5 a 8 μm de largo y no tienen aerótopos. Los tricomas presentan movilidad propia. La reproducción es por fragmentación de tricomas o por hormogonios sin células muertas o necridios (Lokmer, 2007). Estos organismos se encuentran en aguas superficiales estancadas y en la superficies de rocas mojadas, también se han registrado especies que habitan aguas termales (Novelo, 2011; Strunecký *et al.*, 2017).

Se ha reportado a especies de este género en el Sur de Francia (Chomérat *et al.*, 2007), México (Komárek & Komárková, 2002; Novelo, 2011; Pineda *et al.*, 2011), Perú (Saavedra, 2015), en Uruguay (Pérez, 2002; Ferrari *et al.*, 2011) y en Argentina (Wenzel & Díaz, 2008).

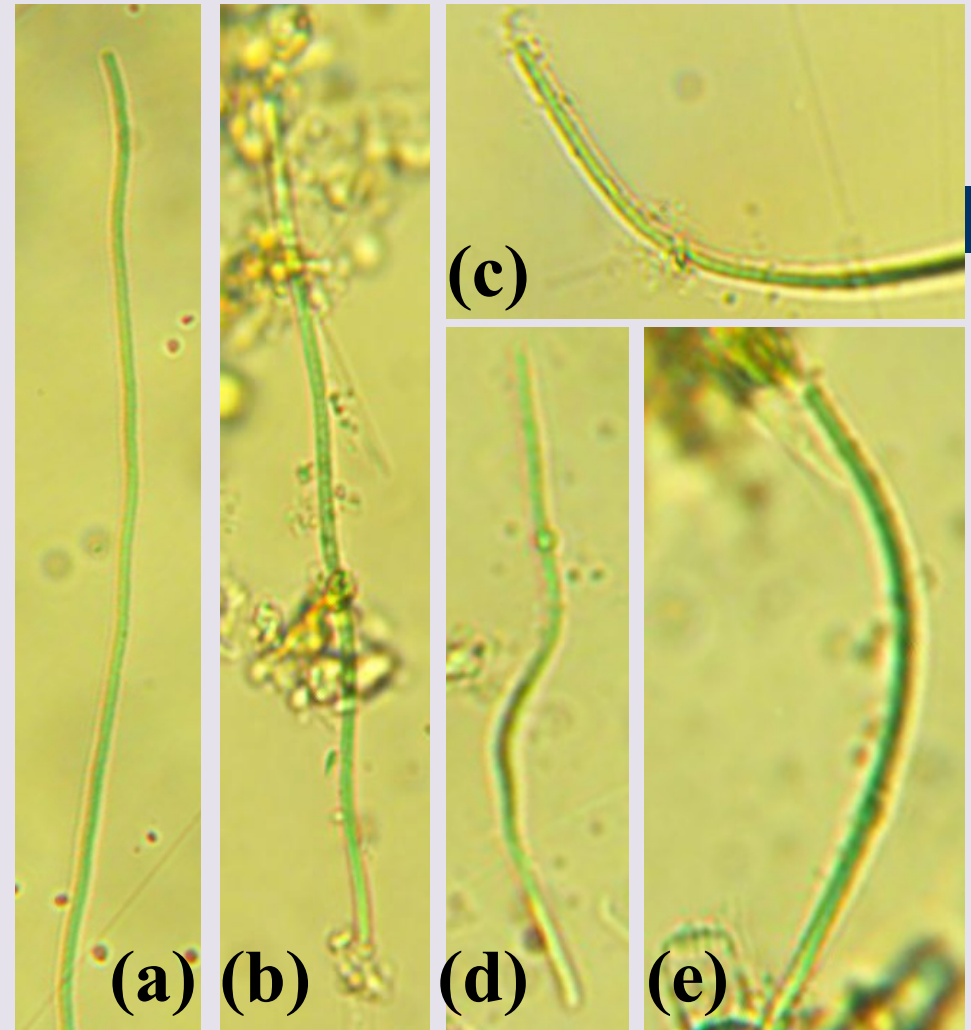


Figura 23. *Geitlerinema* sp. (a) Filamento largo de punta ligeramente encorvada. (b) Filamento entre impurezas. (c-e) Filamentos solitarios.

Lyngbya contorta Lemmermann, 1898

Filamento encorvado, en ocasiones solitario (Figura 24). No se observa vaina aparente.

La forma de las células es rectangular, cuyo tamaño puede variar de 3 a 6 μm de largo y 1 a 2 μm de ancho. Los filamentos se encuentran flotando de manera solitaria, y enrollada sobre sí misma. Aunque, también se puede encontrar semi enrollada (Streble & Krauter, 1987; Mali & Barupal, 2017).

Esta especie se reproduce por hormogonia (Bellinger & Sigeo, 2015).

Se ha reportado la presencia de esta especie en Estados Unidos (Carrik & Steinman, 2001), Malasia (Rouf *et al.*, 2010) y Egipto (Shanab, 2006). En Paraguay, esta especie se ha registrado en el Lago Ypacaraí (Delgado *et al.*, 2014).

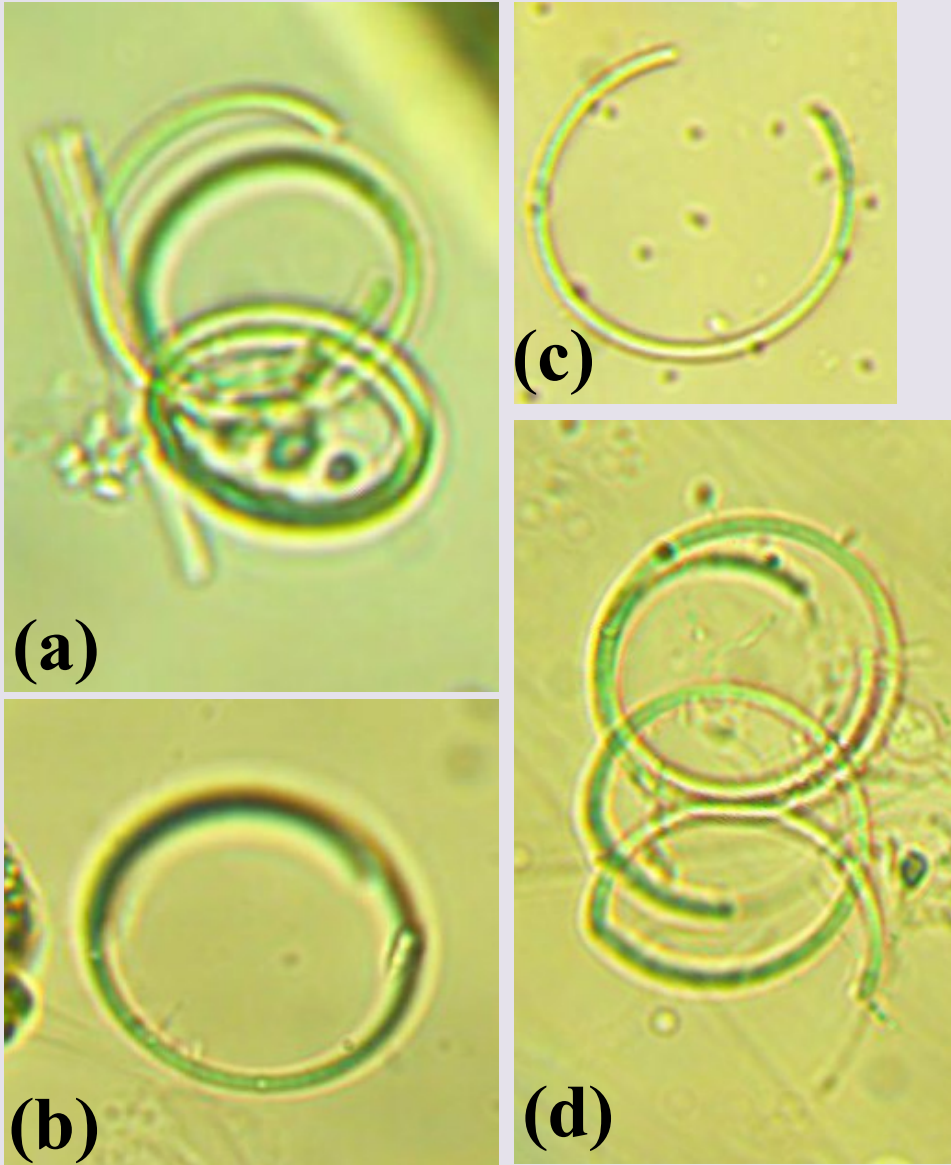


Figura 24. *Lyngbya contorta*. (a, b y d) Filamentos encorvados, se observa la ausencia de vaina. (c) Filamentos enroscados, en la parte inferior se observa un filamento dañado posiblemente en el momento de homogeneización de la muestra.

Oscillatoria sp. Vaucher ex Gomont, 1892

Filamento recto, sin vaina aparente, solitario (Figura 25). Células terminales convexas, o con acabados bruscos. Contenido granuloso. Células más anchas que largas y varias muestran diferencias en sus dimensiones entre las células del centro y las terminales. Este organismo se observó en muestras provenientes del raspado de muestras de briofitas.

Como el nombre de género lo indica, presentan movilidad por medio de movimientos oscilatorios (Sharma, 1986). Los filamentos pueden ser rectos o encorvados, cortos o largos, solitarios o encontrarse en grupos. Las células pueden tener de 1 a 60 μm de ancho. Algunas especies presentan vacuolas de gas y calyptras en la parte terminal del filamento (Bellinger & Sigee, 2015).

Se reproducen por hormogonia con presencia de necridios (Lambert *et al.*, 1989; Saxena, 2009; Bellinger & Sigee, 2015). Las especies de este género son de distribución cosmopolita (Novelo, 2011).

Este género se ha reportado en España (López *et al.*, 2016), México (Novelo, 2011), Honduras (Hernández & Marin, 2017), Perú (Saavedra, 2015), Colombia (Alba *et al.*, 2011) y en Argentina (Luque & Martínez, 2003; Huber *et al.*, 2011; Galea *et al.*, 2014). En Paraguay este género se ha registrado en el embalse de Yacyreta durante el período de diciembre del 2004 a noviembre del 2005 (Meichtry *et al.*, 2013), en la Cuenca del Arroyo Tacuary, Departamento de Itapúa (López Pereira, 2013) y en el Lago Ypacaraí (Benítez *et al.*, 2017).



(a)

Son capaces de proliferar hasta formar los denominados blooms o florecimientos. Se utilizan como bioindicadores de desechos industriales (papel) y contaminación salina (Ramírez, 2000).



(b)

Figura 25. *Oscillatoria* sp. (a) Filamento en proceso de crecimiento. (b) Filamento solitario.

Oscillatoria limosa Agardh ex Gomont, 1892

Filamento solitario, ligeramente encorvado (Figura 26). Las células son más anchas que alargadas. Las células terminales son ligeramente redondeadas. Presenta granulaciones a lo largo del filamento. No se observa presencia de calyptra.

Las células pueden tener 2.1 a 6.0 μm de largo, contenido granuloso. No presentan aerótopos. La célula apical es redondeada. Esta especie es perifítica (Felisberto & Da Silva, 2014). Se reproduce por hormogonia (Novelo, 2011).

Especie de distribución cosmopólita, incluyendo zonas polares. Crece en medios bentónicos de aguas estancadas o corrientes, así como también en superficies como rocas o adheridas a otras algas (Da Rodda & Parodi, 2005; Novelo, 2011).

O. limosa ha sido registrada en Grecia (Gkelis *et al.*, 2016), Egipto (Shanab, 2006), India (Hajong & Ramanujam, 2017), en República Checa (Kaštovský *et al.*, 2010), España (Alvarez & Gallardo, 1988). Así como también en México (Novelo, 2011), Honduras (Hernández & Marin, 2017), Colombia (Alba *et al.*, 2011), Uruguay (Pérez, 2002), Brasil (Felisberto & Da Silva, 2014) y Argentina (Luque & Martínez, 2003; Peralta y Fuentes, 2005; Wenzel & Díaz, 2008; Huber *et al.*, 2011; Galea *et al.*, 2014).



(a)

Figura 26. *Oscillatoria limosa*. (a) Filamento solitario.

Phormidium sp. Kützing ex Gomont, 1892

Filamentos multicelulares, solitarios (Figura 27), rectos (a y c) o encorvados (b y c), con células de dimensiones grandes (a) o reducidas (b - c). No muestran presencia de mucílago aparente.

Las especies se diferencian por el tamaño de las células y por la forma de las células de los extremos, que pueden ser redondeadas, rectas o encorvadas (Pineda Mendoza, 2009). Las especies presentan vainas y movilidad. Las células pueden tener de 0.6 a 12 μm de ancho y de 1.0 a 10 μm de largo. La célula terminal es característica de cada especie (Bellinger & Sigee, 2015).

Reproducción por hormogonia con células muertas (necridios) (Lokmer, 2007). Género de distribución cosmopólita (Novelo, 2011).

Se ha registrado la presencia de *Phormidium* en Sur de Francia (Chomérat *et al.*, 2007), México (Novelo, 2011; Pineda *et al.*, 2011), Honduras (Hernández & Marin, 2017), Brasil (Nishimura *et al.*, 2014),) y Argentina (Huber *et al.*, 2011; Galea *et al.*, 2014). En Paraguay, esta especie ha sido registrada en la Cuenca del Arroyo Tacuary, Departamento de Itapúa (López Pereira, 2013) y en el Lago Ypacaraí (Delgado *et al.*, 2014).

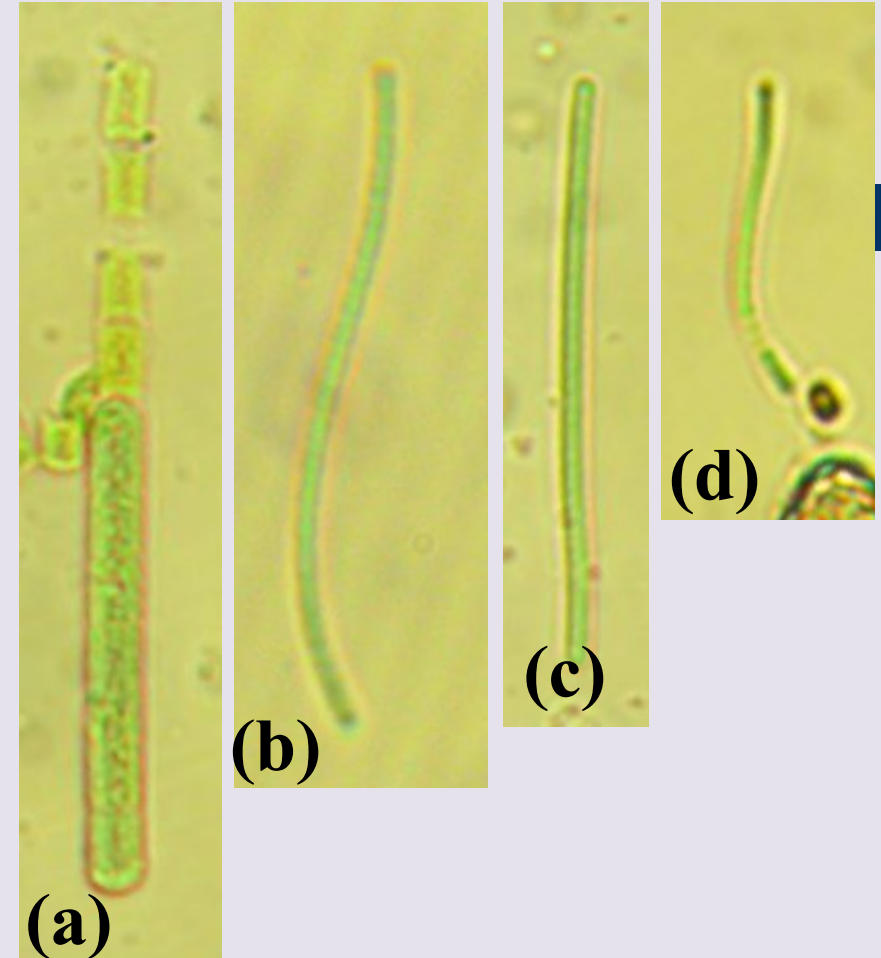
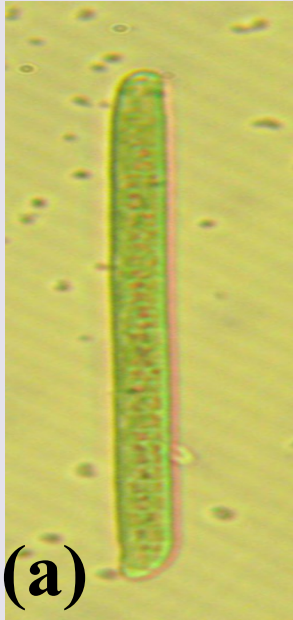


Figura 27. *Phormidium* sp. (a) Especie filamentososa en ruptura. (b-d) Especie filamentososa de dimensiones pequeñas.

Phormidium autumnale Gomont, 1892

Figura 28. *Phormidium autumnale* (a) Filamento de dimensiones anchas. Los extremos presentan lados agudos. (b) Filamento encorvado sin vaina.



Potencial especie para producción de biodiesel (véase en Aplicaciones).



Filamento solitario, de gran tamaño (Figura 28). Las células no terminales presentan forma cilíndrica, las terminales con ovaladas. Contenido granulado (a).

Las células pueden medir de 1,6 a 3,9 μm de largo y de 4,6 a 7,7 μm de ancho (Matula *et al.*, 2007). Los filamentos pueden ser rectos o curvados. En ocasiones puede presentar calyptra. Esta especie es perifítica y de distribución cosmópolita (Ortega *et al.*, 1993; Novelo, 2011; Felisberto & Da Silva, 2014).

Reproducción por hormogonia con células muertas (necridios) (Lokmer, 2007; Novelo 2011).

Esta especie se encuentra en Antártida (Singh *et al.*, 2008), República Checa (Kaštovský *et al.*, 2010), España (Ortega *et al.*, 1993), México (Novelo, 2011), en Brasil (Felisberto & Da Silva, 2014), Argentina (Wenzel & Díaz, 2008). En Paraguay, se ha registrado esta especie en el estanque artificial de FACEN (Dos Santos, 2016).

Especies no identificadas

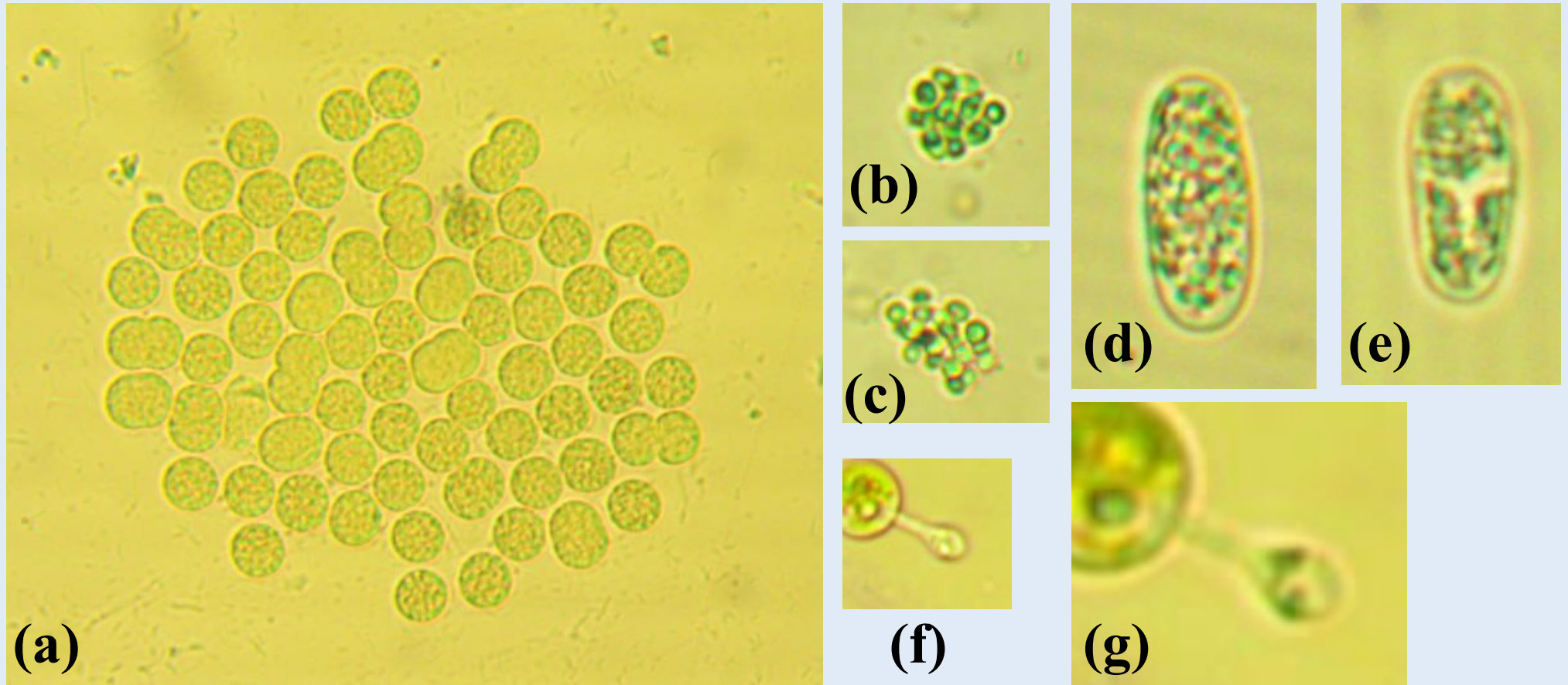


Figura 29. (a) Células cocoides, de gran tamaño sin mucílago aparente. (b y c) Colonias pequeñas de células de tamaño diminuto, sin presencia de mucílago aparente. (d y e) Células ovoides de tamaño moderado. (f)

Organismo adherido a la superficie de una clorofita (g) Imagen ampliada de la especie de interés.

Especies y géneros encontrados en el estanque artificial de la FACEN, durante el periodo de 2015-2016. • Indicación de especies sin antecedentes en el Paraguay.

Taxa	Autor, año		
Orden: Nostocales			
Familia: Nostocaceae			
<i>Anabaena</i> sp.	Bory ex Bornet & Flahault, 1886	• <i>Planktolyngbya limnetica</i>	(Lemmermann) Komárková-Legnerová & Cronberg, 1992
<i>Anabaena constricta</i>	(Szafer) Geitler, 1925		
Familia: Aphanizomenonaceae		Orden: Chroococcales	
<i>Cylindropermopsis catemaco</i>	Komárková-Legnerová & Tavera, 1996	Familia: Chroococcaceae	
<i>Raphidiopsis</i> sp.	Fritsch & Rich, 1929	<i>Chroococcus</i> sp.	Nägeli, 1849
<i>Raphidiopsis curvata</i>	Fritsch & Rich, 1930	• <i>Cyanostylon</i> sp.	Geitler, 1928
		• <i>Gloeothece tepidariorum</i>	(Braun) Lagerheim, 1883
		• <i>Gloeothece interspersa</i>	Gardner, 1927
		<i>Microcystis</i> sp.	Lemmermann, 1907
		• <i>Microcystis wesenbergii</i>	(Komárek) Komárek ex Komárek, 2006
Orden: Synechococcales		<i>Microcystis aeruginosa</i>	(Kützing) Kützing, 1846
Familia: Merismopediaceae			
<i>Aphanocapsa</i> sp.	Nägeli, 1849	Orden: Oscillatoriales	
• <i>Aphanocapsa annulata</i>	McGregor, 2007	Familia: Microcoleaceae	
• <i>Aphanocapsa holsatica</i>	(Lemmermann) Cronberg & Komárek, 1994	• <i>Arthrospira maxima</i>	Setchell & Gardner, 1917
<i>Aphanocapsa delicatissima</i>	West & West, 1912	• <i>Geitlerinema</i> sp.	(Anagnostidis & Komárek) Anagnostidis, 1989
• <i>Aphanocapsa incerta</i>	(Lemmermann) Cronberg & Komárek, 1994	<i>Lyngbya contorta</i>	Lemmermann, 1898
• <i>Aphanocapsa koordersii</i>	Strøm, 1923	<i>Oscillatoria</i> sp.	Vaucher ex Gomont, 1892
• <i>Synechocystis aquatilis</i>	Sauvageau, 1892	• <i>Oscillatoria limosa</i>	Agardh ex Gomont, 1892
• <i>Rhabdoderma lineare</i>	Schmidle & Lauterborn, 1900	<i>Phormidium</i> sp.	Kützing ex Gomont, 1892
		<i>Phormidium autumnale</i>	Gomont, 1892

Tabla 2: Lista de especies de algas microscópicas identificadas en el Estanque y Registros Nuevos señalados.

Referencias Bibliográficas

- Alvarez-Cobelas, M. & Gallardo, T. 1988. Catálogo de las algas continentales españolas V. *Cyanophyceae* Schaffner 1909. *Acta Botánica Malacitana*, vol. 13: 53-76 pp.
- Arantes Gama Jr, W., Dail Laughinghouse IV, H. y Sant'Anna, C. L. 2014. How diverse are coccooid cyanobacteria? A case study of terrestrial habitats from the Atlantic Rainforest (Sao Paulo, Brazil). *Phytotaxa*. 178 (2): 61-97 pp.
- Bellinger, E. G. y Sigee, D. C. 2015. Freshwater Algae: identification, enumeration and use as bioindicators. 2da Edición. Willey Blackwell. Estados Unidos. 176-181 pp.
- Benítez Rodas, G., Villalba Duré, G., Ávalos de Enciso, C., Araujo Florentín, C., Acosta Brítez, R., Escobar, A., Astigarraga Escobar, O., Peralta López, I. & Cardozo Román, C. 2017. Influencia de factores fisicoquímicos sobre la biodiversidad de cianobacterias en el Lago Ypacaraí durante el período 2012-2014. *Steviana*, Vol. 9(2): 15-25 pp.
- Benítez, G. A., Dos Santos, M. & Ávalos, C. 2015. Primer reporte de *Cylindrospermopsis catemaco* y *Cylindrospermum minutissimum* (Cianobacteria) de la Región Occidental - Chaco, Paraguay. *Steviana*, Vol. 7 (7): 44 pp.
- Beshkova, M., & Botev, I. 2004. Phytoplankton community structure of three temporary wetlands on Belene Island (Bulgarian sector of the Danube River). *Phytologia balcanica*, 10(1), 11-19.
- Bicudo, C. E. & Menezes, M. 2006. Generos de algas de águas continentais do Brasil. Segunda Edición. Editorial Rima.
- Carrik, H. J. y Steinman, A. D. 2001. Variation in periphyton biomass and species composition in Lake Okeechobee, Florida (USA): distribution of algal guilds along environmental gradients. *Arch. Hydrobiol. Vol. 152* (3): 411-438 pp.
- Chomérat, N., Garnier, R., Bertrand, C. & Cazaubon, A. 2007. Seasonal succession of cyanoprokaryotes in a hypereutrophic oligomesohaline lagoon from the South of France. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, vol. 72(4): 591-602 pp.
- Cirés Gómez, S. y Quesada de Corral, A. 2011. Catálogo de cianobacterias planctónicas potencialmente tóxica de las aguas continentales españolas. Ministerio de Medio Ambiente, y Medio Rural y Marino. España. 28 pp.
- Coello Aguilar, M. G. 2008. Aislamiento y caracterización de *Anabaena* sp. De la Camaronera de San Agustín, Machala Provincia de el Oro, Ecuador 2007 y evaluación de su crecimiento en función de la concentración de sal. (Tesis de grado). Escuela politécnica del ejército. Ecuador.
- Da Rodda, C. y Parodi, E. R. Cyanophyceae epipélicas de la Marisma 'El Cangrejal' en el estuario de Bahía Blanca (Buenos Aires, Argentina). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 40 (3-4): 157-168 pp.
- Dantas, Ê. W., do Carmo Bittencourt-Oliveira, M., & do Nascimento Moura, A. 2012. Dynamics of phytoplankton associations in three reservoirs in northeastern Brazil assessed using Reynolds' theory. *Limnologia-Ecology and Management of Inland Waters*, 42 (1), 72-80 pp.

- Delgado, M., Lozano, F. & Facetti Masulli, J. F. 2014. Aspectos limnológicos del Lago Ypacaraí estudios hídricos III. *Sociedad Científica del Paraguay*, vol. XIX: 81-95 pp.
- Dos Santos, R. M.; 2016. Atlas “Algas del Paraguay”- Características generales, importancia, muestreos en Paraguay, clave de identificación e ilustraciones. 1ª Edición. Dirección de Investigaciones, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales – Universidad Nacional de Asunción. Ciudad Universitaria, San Lorenzo – Paraguay. 234 pp.
- Dos Santos Severiano, J., Do Nascimento Moura, A., de Oliveira, H. S. B., Cordeiro-Araújo, M. K., & Dantas, Ê. W. 2012. Microphytoplankton richness in Contas River, state of Bahia, northeastern Brazil. *Check List*, 8 (2), 218-223 pp.
- Esqueda-Lara, K., Sánchez, A. J., Valdés-Lagunes, G., Salcedo, M. A., Franco-Torres, A. E. & Florido, R. 2016. Fitoplancton en el humedal tropical Chaschoc en la Cuenca baja del río Usumacinta. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, vol. 87: 1177 - 1188 pp.
- Felisberto, S. A. & Da Silva e Souza, D. B. 2014. Characteristics and diversity of cyanobacteria in periphyton from lentic tropical ecosystem, Brasi. *Advances in Microbiology*, vol. 4: 1076-1087 pp.
- Ferrari, G., Pérez, M. C., Dabezies, M., Míguez, D. & Saizar, C. 2011. Planktic cyanobacteria in the lower Uruguay River, South America. *Fottea*, vol. 11(1): 225-234 pp.
- Galea, M. J., Bazán, G. I., Álvarez, S. B. & Martínez de Fabricius, A. L. 2014. Estudio del fitoplancton aguas arriba y aguas abajo del Dique Embalse –casa de Piedra, Río Colorado (La Palma, Argentina). *Biología Acuática*, vol. 30: 287-300 pp.
- Gianello, D., Aguer, I., Crettaz-Minaglia, M. C. 2017. Aportes al conocimiento del fitoplancton del parquet Unzué (Gualeguaychú, Argentina). *Natura Neotropicalis*, Vol. 2: 37 - 43 pp.
- Giannuzzi, L. 2009. Cianobacterias y cianotoxinas: identificación, toxicología, monitoreo y evaluación de riesgo. 1ra Edición. Moglia S. R. L. Argentina. 238 pp.
- Gkelis, S., Ourailidis, I., Panou, M. & Pappas, N. 2016. Cyanobacteria of Greece: an annotated checklist. *Biodiversity Data Journal*, vol. 4: e10084.
- Hajong, P. & Ramanujam, P. 2017. Effect of anthropogenic activities on algal community in Ganol River, Wesr Garo Hills, Meghalaya. *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences*, vol. 6 (9): 109 - 120 pp.
- Hernández Oviedo, A. I. & Marin, M. Variación espacial y temporal de la diversidad y abundancia de cianobacterias del Lago de Yojoa (2014-2015). *Revista Ciencia y Tecnología*, 21: 47-70 pp.
- Jairo Ramírez, J. 2000. Fitoplancton de agua dulce: aspectos ecológicos, taxonómicos y sanitarios. 1ra Edición. Editorial Universidad de Antioquia. Colombia. 86-88 pp.
- John, D. M., Whitton, B. A. y Brook, A. J. 2002. The freshwater algal flora of the British Isles: an identification guide to freshwater and terrestrial algae. Cambridge. Reino Unido. 33-36 pp.
- Kaštovský, J., Hauer, T., Komárek, J., & Skacelova, O. 2010. The list of cyanobacterial species of the Czech Republic to the end of 2009. *Fottea*, 10 (2): 245-249 pp.
- Komárek, J. & Komárková-Legnerová, J. 2007. Taxonomic evaluation of

- the cyanobacterial microflora from alkaline marshes of northern Belize: 1. Phenotypic diversity of coccoid morphotypes. *Nova Hedwigia*, vol. 84: 85-111 pp.
- Komárek, J. 2003. Planktic oscillatoriacean cyanoprokaryotes (short review according to combined phenotype and molecular aspects). *Hydrobiologia*, 502: 367-382.
- Komárek, J. y Komárková-Legnerová, J. 2002. Contribution to the knowledge of planktic cyanoprokaryotes from central Mexico. *Preslia, Praha*, 74: 207-233.
- Komárková-Legnerová, J. y Talavera, R. 1996. Cyanoprokaryota (Cyanobacteria) in the phytoplankton of Lake Catemaco (Veracruz, Mexico). *Algological Studies* 83 (1996) 403-422.
- Kotut, K., Krienitz, L., & Muthuri, F. M. 1998. Temporal changes in phytoplankton structure and composition at the Turkwel Gorge Reservoir, Kenya. *Hydrobiologia*, 368 (1-3), 41-59 pp.
- Kumar Das, S. y Nath Maurya, O. 2015. Floristic survey of Algae in Vikramsila Gangetic Dolphin Sanctuary, Bihar (India). *Nelumbo*. 57: 124-134 pp.
- Lambert, G., Steinke, T. D. y Naidoo, Y. 1989. Algae associated with mangroves in southern African estuaries: Cyanophyceae. *South African Journal of Botany*. 55 (5). 476-491.
- Li, R., Carmichael, W. W. & Brittain, S. 2001. First report of the cyanotoxins cylindrospermopsin and deoxycylindrospermopsin from *Raphidiopsis curvata* (cyanobacteria). *J. Phycol.* Vol. 37: 1121-1126 pp.
- Lokmer, A. 2007. Polyphasic approach to the taxonomy of the selected oscillatorian strains (Cyanobacteria). (Tesis de maestría). University of South Bohemia, Faculty of Biological Sciences, České Budějovice. 40 pp.
- López Pereira, M. V. 2013. Microalgas del fitoplancton del arroyo Tacuary, ciudad de Carmen del Paraná, Departamento de Itapúa, Paraguay. (Tesis de master). Universidad Nacional de Itapúa. Paraguay. 44-46 pp.
- Luque, M. E. & Martínez de Fabricius, A. L. 2003. Distribución del fitoplancton y epilíton en el río Piedra Blanca (Córdoba, Argentina). *Limnetica*, vol. 22(3-4): 19-34 pp.
- Mali, M. C. y Barupal, G. K. 2017. Floristic composition and periodical analysis of cyanobacteria of some freshwater aquatic bodies of Bikaner (Rajasthan), India. *J. Algal Biomass Utiln.* 8 (2): 30-33.
- Matula, J., Pietryka, M., Richter, D. y Wojtun, B. 2007. Cyanoprokaryota and algae of Arctic terrestrial ecosystems in the Hornsund area, Spitsbergen. *Polish polar research. Vol. 28* (4): 283-315 pp.
- McGregor, G. B., Fabbro, L. D. & Lobegeiger, J. S. 2007. Freshwater planktic Chroococcales (Cyanoprokaryota) from North-Eastern Australia: a morphological evaluation. *Nova Hedwigia*, Vol. 84: 299-331 pp.
- Meichthy de Zaburlín, N., Vogler, R. E., Llano, V. M. & Martens, I. S. M. 2013. Fitoplancton del embalse Yacyretá (Argentina-Paraguay) a una década de su llenado. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, vol. 84 : 225-239 pp.
- Nienaber, M. A. & Steinitz-Kannan, M. 2018. A guide to cyanobacteria identification and impact. University press Kentucky. Estados Unidos.

- 186 pp.
- Novelo, E. 2011. Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. 1ra Edición. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 96 pp.
- Onyema, I. C. 2007. The phytoplankton composition, abundance and temporal variation of a polluted estuarine creek in Lagos, Nigeria. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 7 (2) 89-96 pp.
- Ortega-Calvo, J. J., Sanchez-Castillo, P. M., Hernandez-Marine, M. & Saiz-Jimenez, C. 1993. Isolation and characterization of epilithic chlorophytes and cyanobacteria from two Spain cathedrals (Salamanca and Toledo). *Nova Hedwigia*, vol. 57 (1-2): 239-253 pp.
- Parra, J., Torres, A., Rojas-Tortolero, D., Durazzi, E., Ineichen, E., & Fernandez-Gómez, R. 2017. Inclusión de la cianobacteria *Arthrospira maxima* como fuente de carotenoides en la dieta de gallinas ponedoras y su evaluación sobre la calidad del huevo. *Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal*, vol., 8(1): 1-16 pp.
- Peralta, P. & Fuentes, V. 2005. Fitobentos, fitoplancton y zooplancton litoral del bañado de Carilauquen, Cuenca de Llanquanelo, Mendoza, Argentina. *Limnetica*, vol. 24 (1-2): 183-198 pp.
- Pérez, M. C. 2002. Fitoplancton del río Negro, Uruguay. *Limnetica*, vol. 21(1-2): 81-92 pp.
- Pineda Mendoza, R. M. 2009. Determinación de cianobacterias toxigénicas productoras de microcistinas por métodos moleculares y bioensayos (Tesis de maestría). Instituto politécnico nacional. México.
- Pineda-Mendoza, R., Martínez-Jerónimo, F., Garduño-Solórzano, G. & Olvera-Ramírez, R. 2011. Caracterización morfológica y molecular de cianobacterias filamentosas aisladas de florecimientos de tres lagos eutróficos de la ciudad de México. *Polibotánica*, vol. 31: 31-50 pp.
- Rouf, A. A., Phang, S. M., & Ambak, M. A. 2010. Depth distribution and ecological preferences of periphytic algae in Kenyir Lake, the largest tropical reservoir of Malaysia. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 28 (4), 856-867 pp.
- Saavedra Querevalú, R. 2015. Diversidad algal en el canal Daniel Escobar y la Planta de tratamiento de agua potable Curumuy. (Tesis de grado). Universidad Nacional de Piura, Facultad de Ciencias. Perú. 11, 12 pp
- Sakhare, V. B., & Chalak, A. D. 2015. Phytoplankton diversity of the Gharni Reservoir in Latur district, Maharashtra, India. *Journal of Fisheries*, 3 (2): 272-274 pp.
- Sant' Anna, C. L., De P. Azevedo, M. T., Senna, P. A. C., Komárek, J. y Komárková, J. 2004. Planktic Cyanobacteria from Sao Paulo State, Brazil: Chroococcales. *Revista Brasil. Bot.*, Vol. 27 (2): 213-227 pp.
- Sant' Anna, C. L., Melcher, S. S., Do Carmo Carvalho, M., Gemelgo, M. P. y De P. Azevedo, M. T. 2006. Planktic Cyanobacteria from upper Tiete basin reservoirs, SP, Brazil. *Revista Brasil. Bot.*, Vol. 30 (1): 1-17 p.
- Saxena, N. P. 2009. Objective. Botany. 13va Edición. Krishna Prakashan Media. India. 26 p.
- Selvi, K. T., & Sivakumar, K. 2012. Distribution of heterocystous cyanobacteria in rice fields of Cuddalore District, Tamil Nadu. *International Journal of Life Sciences and Pharmaceutical Research*, 2 (4), 30-39 pp.
- Sharma, O. P. 1986. Textbook of algae. Tata McGraw-Hill. Noida. 104 p.
- Singh, S. S., Kunui, K., Minj, R. A., & Singh, P. 2014. Diversity and dis-

- tribution pattern analysis of cyanobacteria isolated from paddy fields of Chhattisgarh, India. *Journal of Asia-Pacific Biodiversity*, 7 (4), 462-470.
- Streble, H. y Krauter, D. 1987. Atlas de los microorganismos de agua dulce: la vida en una gota de agua. Omega. Barcelona. 114, 124 pp.
- Strunecký, O., Bohunická, M., Johansen, J. R., Čapková, K., Raabová, L., Dvořák, P. & Komárek, J. 2017. A revisión of the genus *Geitlerinema* and a description of the genus *Anagnostidinema* gen. Nov. (Oscillatoriophycidae, Cyanobacteria). *Fottea*, vol. 17 (1): 114-126 pp.
- Tavares, J. F., Proença, L. A. O., & Odebrecht, C. 2009. Assessing the harmful microalgae occurrence and temporal variation in a coastal aquaculture area, southern Brazil. *Atlantica, Rio Grande. Vol. 31 (2)*: 129-144 pp.
- Vidaurre, A., Alvare Dalinger, F. S., Moraña, L. B. & Salusso, M. 2018. Cianobacterias en un embalse subtropical de la provincial de Salta (Argentina). *Bol. Soc. Argent. Bot.*, Vol. 54(4): 543 - 549 pp.
- Vila, I., Barends, I. & Montecino, V. 1987. Abundancia y distribución temporal del fitoplancton en el Embalse Rapel, Chile Central. *Revista Chilena de Historia Natural*, vol. 60: 37.55 pp.
- Wehr, J. D. & Sheath, R. G. 2003. Freshwater algae of North America: ecology and classification. Academic press. Estados Unidos. 59 - 110 pp.
- Wehr, J. D., Sheath, R. G. y Kociolek, J. P. 2003. Freshwater algae of North America: ecology and classification. Academic press. Estados Unidos. 103-105, 918 pp.
- Wenzel, M. T. & Díaz, M. M. 2008. Cyanophyta del parque nacional Nahuel Huapi (Argentina), II. *Darwiniana*, vol. 46 (1): 51-65 pp.

APLICACIONES



Usos de las cianobacterias

Existe una gran cantidad de estudios sobre posibles usos de estos microorganismos. Los estudios taxonómicos son importantes para conocer las especies que son potenciales para su aplicación en biotecnología por ejemplo. Si bien, aún quedan muchas especies por conocer, en la actualidad existen varias especies de cianobacterias bien caracterizadas y utilizadas en los procesos para obtener diversos productos. Son varios los países que apuestan a la producción de biomasa de algas microscópicas, ya se comercializan muchos productos realizados en base al extracto de varias algas y cianobacterias. Es muy importante estudiar el ecosistema en el que se encuentran las algas para conocer las características de los medios donde las algas se desarrollan. Luego, se debe realizar el aislamiento de esa especie de los demás microorganismos que se encuentran en esa muestra. Una vez aislado, se puede comenzar a inducir al crecimiento poblacional (producción de biomasa) de esa especie. A partir de la biomasa, se pueden realizar varias investigaciones (toxicidad, filogenia, entre otros) e inclusive productos y servicios (producción de metabolitos secundarios y/o biorremediación). La producción de biomasa puede ser a escala industrial (realizando un escalado desde las cepas iniciales a la cantidad final en pasos sucesivos de acuerdo al progreso diario del crecimiento celular). Esta sección esta destinada a la descripción, de manera general, de los usos y aplicaciones que se le dan a este grupo de organismos.

Como bioindicadores

En gestión ambiental para el monitoreo de calidad de agua, se suelen utilizar bioindicadores. “Organismos bioindicadores” son especies u comunidades, sensibles a los cambios ambientales, que se ven alteradas en tiempo y espacio en un sistema de agua, y los cuales permiten realizar una estimación de la contaminación de esa comunidad acuática (Yucra & Tapia, 2008). Cada sistema acuático tiene condiciones específicas de temperatura, de carga de comunidades específicas de plantas, algas de crustáceos, peces, insectos, anfibios, etc. Así también cada organismo biológico que compone al sistema de agua tiene requerimientos específicos de alimentos, corriente de agua, pH del agua, nutrientes, etc.

La cianófitas son consideradas reinas en su papel como bioindicado-

ras de ambientes con mucho nitrógeno, ambientes que están contaminados de desechos nitrogenados. La presencia de varias de las especies cianófitas productoras de toxinas pueden generar grandes impactos en sistemas acuáticos produciendo una contaminación del agua que luego influye en la mortalidad de una gran parte de la red trófica. Evidentemente existen varios otros grupos de algas bioindicadores de diferentes ambientes, pero son las cianófitas las que por su capacidad de producción masiva de toxinas (tampoco son las únicas que producen) generan preocupación por su peligrosidad tanto para animales y plantas, como en seres humanos.

Evaluación de riesgo en sistemas acuáticos

Las cianófitas productoras de cianotoxinas, presentan gran impacto en la zona en la cual se encuentran, esto incluye a las personas que habitan esa zona. Por ello, la evaluación de riesgo de la zona donde prolifera una especie potencialmente dañina, debe ser realizada a modo de evitar su proliferación excesiva. Algunas especies presentan gran plasticidad para soportar grandes cambios de pH, lo cual indica que son capaces de migrar a otros acuíferos.

El estudio de la evaluación de riesgo debe ser parte de la caracterización de un sistema fluvial. Donde previamente ya se ha identificado las especies que se encuentran allí, además de otros aspectos ecológicos de dicho sistema. Existen varios trabajos como el de Rubial *et al.*, 2006 donde se realiza la evaluación en una zona determinada. Por supuesto, para realizar este tipo de estudio debe existir algún tipo de antecedente dañino de una especie.

En estudios como los de Luque & Martínez (2003), se plantea el análisis de los patrones temporales en la composición y abundancia de las comunidades de fitoplancton y perifiton en el río Piedra Blanca, Argentina, así como también la influencia de los factores ambientales sobre patrones biológicos durante ciclo anual. Con este trabajo, se realizan muestreos cuantitativos y cualitativos de algas en medio o sustratos de rocas, también se registran los parámetros físicos e hidráulicos. La estructura y dinámica de los organismos del plancton y de las formas adheridas estuvieron principalmente controladas por factores físicos. El pH, conductividad y sólidos disueltos permitieron explicar las variaciones de riqueza de especies y densidad en

ambas comunidades.

Se han realizado varios estudios e identificación de cianotoxinas en varios sistemas de agua como en aguas dulces de la Florida (Williams *et al.*, 2007). Otro ejemplo, puede ser el estudio de la abundancia y distribución de fitoplancton en un embalse de Chile (Vila *et al.*, 1987).

Aislamiento

En los trabajos de investigación que estén relacionados a producción de biomasa algal para posteriores estudios de sus cianotoxinas u otros compuestos, así como aplicaciones en la producción de metabolitos primarios y secundarios, el alga debe ser aislada, purificada y mantenida en un cepario (laboratorio de condiciones estrictamente controladas donde se mantienen los cultivos de algas puras también conocidas como cepas). Desde el momento en que se realizan las tomas de muestras en campo, es de suma importancia conocer el ambiente y las condiciones en la que prolifera el organismo de interés, así se podrá realizar los medios de cultivos enriquecidos con los compuestos necesarios para cada especie que fue aislada. Es evidente que los demás factores de crecimiento del alga en su ambiente natural también son de suma importancia (temperatura, pH, cantidad de luz recibida, etc) Para especies marinas se debe tener en cuenta también el factor salinidad. Para especies aisladas de lugares polares o aguas termales, la temperatura es uno de los factores más importantes (Andersen, 2005).

La utilización de los métodos de aislamiento dependen de la disposición de materiales en el laboratorio, dimensiones de la microalga y de su movilidad. Según Arredondo & Voltolina (2007); Barsanti & Gualtieri (2014) y Richmond (2004) algunos métodos para aislamiento de algas consisten en:

El aislamiento con pipeta consiste en “lavados” de una gota de muestra sobre un portaobjetos con la ayuda de una pipeta o tubo capilar. Los lavados, consisten en observar la muestra bajo el microscopio y luego (por capilaridad) traspasar la especie de interés (con la pipeta) a otro portaobjetos limpio. Luego, una vez realizados los lavados (5 o 6 repeticiones) se traspasa a un tubo de ensayo con medio de cultivo estéril.

Para especies abundantes en la muestra, se utiliza el aislamiento por diluciones seriadas. Consiste en diluir una alícuota de la muestra en medio de cultivo (selectivo), y a partir de esta disolución, realizar otras disoluciones sucesivas. La cantidad de diluciones sucesivas preparadas dependerá de la concentración de microalgas que se pretende aislar.

Otro método para aislar micro algas es el aislamiento en placas de agar. Consiste en preparar el medio de cultivo (nutrientes necesarios y agar) para luego esterilizarlo en el autoclave. Dicho medio (a temperatura ambiente) se pasa a cajas de Petri esterilizadas. Pasadas 24 horas, se siembra la muestra (realizando rayados). Luego se cierra y se invierte, dejando en un ambiente controlado. Se deja incubar unos días, se observa bajo el microscopio óptico y la parte libre de microorganismos se traspasa a otra caja para repetir el procedimiento.

Otros métodos de aislamiento pueden ser por tratamientos con antibióticos, ultrasonido, centrifugación y adaptando la temperatura y/o salinidad. Es conveniente resaltar que el uso combinado de estas técnicas asegura el aislamiento apropiado de la especie de interés. Además, las condiciones del medio de cultivo debe ser lo más parecido posible al ambiente de las especies en estado salvaje (Castelló, 1993; Barsanti & Gualtieri, 2014).

Medios de Cultivo

Existen varias diferenciaciones para los medios de cultivo: Denominándose Agar a los medios de cultivo que contienen agar (agente gelificante) en cantidades igual o mayor del 1%. A los medios que contienen cantidades menores se los llama Medio Fluido. Los medios que no contienen este agente gelificante, son llamados Caldos, y sus componentes orgánicos se encuentran indefinidos. Si su composición química se encuentra definida, son llamados Soluciones nutritivas. Los medios específicos, permiten o favorecen el crecimiento de un tipo de organismo específico cuyas características son bien conocidas. Para permitir el crecimiento de organismos parentales o relativamente parecidos, se utilizan los Medios Diferenciales. Los Medios enriquecidos favorecen el crecimiento de un organismo en particular en una muestra heterogénea. Por último, el Medio

General, puede inducir el crecimiento de varios microorganismos en general sin requerimientos nutricionales especiales (ADSA=MICRO, 1981).

El principio del empleo de los medios de cultivos enriquecidos, es el de favorecer el crecimiento y la reproducción de un organismo de interés, siendo desfavorable para el resto de los organismos de esa muestra (Richmond, 2004).

Los medios de cultivo pueden ser empleados para varios fines como mantenimiento de cepas, inducir a la proliferación de la especie o inclusive para la producción de algún metabolito. Se debe tener en cuenta que, los medios de cultivos son seleccionados de acuerdo al propósito de la investigación. Así, para su elaboración, se puede elegir la utilización de ingredientes naturales. Pero, la inconveniencia con este método es que los parámetros a estudiar pueden variar. También se pueden elegir los ingredientes químicos, cuya influencia en la población ya se encuentran estandarizados y pueden ser controladas (Belcher & Swale, 1988).

Los medios de cultivo pueden ser sólidos o líquidos (Belcher & Swale, 1988). En el caso de los medios de cultivos sólidos (contiene un porcentaje de agar), luego de prepararlos según las indicaciones, si así lo requiere, debe ser esterilizado en el autoclave. Posterior a este paso, una vez el medio este enfriándose, se debe traspasar a tubos y/o placas de Petri. En las cajas de Petri, no es necesario utilizar una gran cantidad del medio de cultivo. Además, no es necesario taparlo inicialmente, se debe dejar semi tapado para que el vapor no precipite sobre el medio de cultivo, si esto sucede, el cultivo podría tener humedad (y con ello permitiría la proliferación de bacterias probablemente indeseadas). Una vez el medio de cultivo esté gelificado, éste se debe tapar completamente y colocar del revés. Para los tubos, se puede utilizar dos tipos métodos: en el primero, se agrega una cantidad de 1/3 de medio de cultivo y se deja gelificar con el tubo de manera vertical. El segundo, consiste en poner más medio de cultivo pero, dejarlo gelificar estando el tubo con una inclinación. Esto se hace para que el medio de cultivo tenga mayor superficie. Se debe colocar una tapa (algodón, plástico o aluminio) a los tubos. Para mantener la esterilidad, es recomendable realizar todo este paso dentro de una campana de flujo laminar.

Una característica muy importante que se debe tener en cuenta a la hora de trabajar con los medios de cultivo son que estos, si bien están estandarizados (recetarios), también pueden ser ligeramente o abruptamente modificados de acuerdo a la conveniencia del investigador.

Como en cualquier investigación, trabajo o proyecto en el que se utiliza un medio de cultivo, siguiendo indicaciones, lo mas conveniente para esterilizarlo es en el autoclave (somete al medio de cultivo a un calor húmedo a presión de 1 atm que esteriliza el medio sin evaporar el agua del mismo). El tiempo estándar en el que se somete bajas cantidades a este tratamiento de calor, es de 15 minutos. Pero, según indicaciones de preparación, este se puede prolongar atendiendo al volumen que se desee esterilizar. Así, para 250 mL es recomendable su esterilización por 12 minutos, para 500 mL se debe prolongar hasta 18 minutos, para 1000 mL se debe esterilizar por 22 minutos. Mientras que para esterilizar 2 Litros o 5 Litros de medio de cultivo es recomendable su esterilización por 27 y 37 minutos, respectivamente. Se debe tener cuidado al momento de abrir la tapa del autoclave (usar guantes de tela para el fin y esperar hasta el descenso de presión) y de los cambios bruscos de temperatura (esperar a que los frascos del medio de cultivo esterilizado descienda a una temperatura de 40 °C aproximadamente). No depositar los frascos esterilizados directamente sobre la mesada, usar una franela u otra similar (ADSA=MICRO, 1981; Belcher & Swale, 1988).

También existen medios de cultivos que no precisan de esterilización, ya que estos son medios específicos para la proliferación de un organismo en específico. Normalmente, estos medios suelen ser sencillos de realizar pero poco estables para ser almacenados por mucho tiempo (ADSA=MICRO, 1981).

Para el almacenamiento de un medio de cultivo sin inocular, este puede ser almacenado en un refrigerador a 4°C. Pero, el almacenamiento no debe ser por largos períodos de tiempo, ya que, este ambiente hace susceptible la deshidratación del medio de cultivo. Esto es aplicable para medios de cultivos líquidos y sólidos. Para los medios sólidos, si estos son preservados en cajas de Petri (atendiendo la asepsia, el sellado individual y tiempo de preservación) se deben almacenar de forma invertida.

Para evitar la precipitación del vapor sobre el medio solidificado (la humedad podría causar la proliferación de otros organismos no deseados). En caso de utilizar este tipo de preservación, se recomienda dejar las placas de Petri a temperatura ambiente por unas horas hasta el momento de la inoculación (ADSA=MICRO, 1981).

La mala preparación (sobrecalentamiento, mala homogeneización o contaminaciones), así como el mal almacenamiento de los medios de cultivo pueden provocar efectos que vuelvan inservible al medio de cultivo (variación de pH, solidificación incompleta o pérdida de capacidad nutritiva) (ADSA=MICRO, 1981).

Purificación de cepas

La eliminación de microorganismos no deseados en una muestra puede ser realizada de varias maneras. Una de las varias técnicas de purificación es el lavado por centrifugación. Esta técnica utiliza el gradiente de densidad de centrifugación, así las microalgas son separadas de organismos como bacterias (Richmond, 2004).

Otra técnica es por Irradiación de rayos Ultravioleta (UV), siguiendo las fuentes bibliográficas, de ser posible, se puede conocer el rango de tolerancia de algunas especies a los rayos UV. De esta manera, se puede aprovechar la mayor resistencia al UV de las microalgas sobre las bacterias, con distintos lavados de la muestra y su posterior traspaso a un medio de cultivo selectivo, se puede obtener una cepa axénica (Richmond, 2004).

La técnica por filtración utiliza filtros de membrana para separar las microalgas, mayormente filamentosas, de las bacterias. En ocasiones, es necesario zonificar la muestra para romper los filamentos mas largos. Posteriormente, la muestra se disuelve y se lleva al filtrado al vacío (Richmond, 2004).

Otra técnica de purificación, es por el empleo de antibióticos. Primeramente se inocula la muestra a un medio por el tiempo requerido para el crecimiento de todos los microorganismos que se encuentren en ella. Luego se agrega algún antibiótico que se conozca que nuestra especie de

interés es resistente. En ocasiones, y si es posible, se utiliza más de un antibiótico. Generalmente, la cepa es traspasada a otro medio y mantenida en oscuridad por algunos días (Richmond, 2004).

Como la contaminación de los cultivos de algas se deben a varias especies de cianófitas y diatomeas, la adición de antibióticos suele ser utilizada para eliminar a especies de estos grupos. Las cianófitas pueden ser eliminadas por la adición de 25 mg/L de estreptomycin (Arredondo & Voltolina, 2007).

Obtención de biomasa

Una de las maneras para producir biomasa es por el empleo de fotobiorreactores. Estos sistemas, utilizados para inducir al crecimiento de los organismos de interés, pueden ser tubulares, de tipo fermentador de tanque agitado o de tipo híbridos. Pero, para la construcción o utilización de cualquier tipo de fotobiorreactor, se debe tener en cuenta varios factores como el tipo de luz, suministro y trayectoria de luz, biología de la especie, e inclusive, factores como los tramos de tuberías, temperatura y pH, así como la acumulación de O₂ pueden afectar considerablemente al cultivo (Contreras *et al.*, 2003; Ramírez *et al.*, 2013).

Se debe tener en cuenta que para poder obtener una biomasa de calidad o a grandes volúmenes, se puede adaptar el medio de cultivo según los requerimientos de la especie con se trabaja (Álvarez & Gallardo, 1989).

Identificación molecular

La identificación molecular de una especie o género es guiada por la identificación morfológica, aunque existen otros análisis fisicoquímicos que pueden ser empleados para la caracterización de la especie. Para la identificación, el segmento del genoma de la especie utilizada puede ser el gen 16S del ARN ribosomal (rARN), así como también otras secciones como cebadores del gen ARN polimerasa ADN dependiente (rpoC1). Aunque, con este último no se obtienen resultados estables como con el

gen 16S (Castiglioni *et al.*, 2004; Corrales *et al.*, 2017). El gen 16S rDNA también puede ser analizado para determinar cianobacterias simbioses de organismos como especies de esponjas del Mar Rojo (Oren *et al.*, 2005).

Sin embargo, para determinar una especie productora de cianotoxinas, se puede utilizar varios segmentos del gen de la cianotoxina producida. Así, en el caso de la microcistina, se utiliza el cebador del gen *mcyE* (gen específico de producción de microcistina en *Microcystis* sp.). Este gen también se encuentra en otras especies productoras de esta cianotoxina (Jungblut & Neilan, 2006; Hotto *et al.*, 2007; Abed *et al.*, 2013). Para la identificación de la producción de nodularina, se utiliza el gen *ndaF* (Jungblut & Neilan, 2006).

A partir de una muestra obtenida, se puede realizar un aislamiento de una especie en particular o trabajar con todos los organismos de esa muestra. Si se trabaja con la muestra, se ha de realizar primeramente un análisis morfológico. Para la extracción y purificación de ADN y/o ARN, se puede utilizar varios métodos ya estandarizados, pero, modificado de acuerdo a la necesidad. Un ejemplo de este procedimiento se describe en el trabajo de Beard *et al.*, 1999, donde se realiza el aislamiento de ADN genómico de *Planktothrix rubescens* para el estudio de los genes implicados en la producción de vacuolas de gas.

Para la amplificación de los genes se puede realizar por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés), para ello se puede diseñar un cebador, así como también adquirir uno ya estandarizado. El material genético puede ser secuenciado o enviado a secuenciar por alguna empresa de confianza que ofrezca el servicio. Con ayuda de programas informáticos se puede realizar la edición y análisis de las secuencias. Las secuencias obtenidas pueden ser depositadas en varias base de datos, según de preferencia. Las secuencias obtenidas pueden ser sometidas a un alineamiento, el cual verificará su cercanía con la especie de interés. Este procedimiento también puede ser realizado en el varias plataformas digitales (Corrales *et al.*, 2017). La identificación de diversidad de estas especies también puede ser analizada por microarray (Castiglioni *et al.*, 2004).

Análisis Filogenético

Por medio del análisis de la secuencia de la especie de interés, en el caso de que la investigación requiera evaluar la relación de la especie de interés con otra o alguna otra microalga potencialmente beneficiosa o dañina, se emplean este tipo de análisis.

Una vez se dispone del alineamiento de secuencias, este puede ser llevado a un programa que pueda analizar el parentesco de acuerdo a lo buscado.

De la base de datos del GenBank se pueden obtener otras secuencias para poder hacer el análisis de posicionamiento filogenético. Este análisis puede ser realizado utilizando las secuencias parciales. Así, los árboles filogenéticos pueden ser realizados por programa, con varios métodos. También se puede emplear varios programas para obtener bloques conservados del gen para eliminar la probabilidad de alineamiento erróneos y sitios de divergencia. Los árboles también se hacen de acuerdo a los modelos de sustitución que pueden ser elegidos. Para este último se utilizan algoritmos de acuerdo a la conveniencia. Otra vez los árboles pueden ser editados por distintos programas (Corrales *et al.*, 2017).

Un ejemplo de la utilización de este tipo de análisis puede ser distinguido en el trabajo de Marquardt & Palinska (2007), donde, por medio de un análisis filogenético con las secuencias del gen 16S rARN y una región espaciadora entre el gen anterior y el 23S rARN, se concluyó que el grupo *Phormidium* requiere de revisión por ser filogenéticamente incoherente.

Factores que pueden afectar una cepa

Existen especies de microalgas cosmopóliticas, que están distribuidas por todo el mundo. Varias de estas especies producen metabolitos de gran interés para varias áreas. Existen empresas que han establecido ceparios con cepas de microalgas aisladas o mixtas para su comercialización. Un factor que se debe tener en cuenta es que estas cepas, puede no ser efectiva en sistemas ajenos a su origen. Es decir, dependiendo del lugar de

origen, las especies pueden tener un rendimiento o plasticidad del ambiente en donde fue cultivado.

En muchas ocasiones, y sobre todo en países en desarrollo, estas cepas traídas del extranjero no suelen tener un rendimiento óptimo o plasticidad para soportar las condiciones ambientales de su nuevo entorno. En ocasiones, el laboratorio encargado de la investigación no cuenta con las instalaciones necesarias para el mantenimiento de estas cepas, ya que esto supone una inversión muy cuantiosa. Si la especie con la que se desea trabajar se encuentra de manera natural o adaptada al entorno cercano del lugar de investigación, esta puede ser aislada para su uso. Pero, en ocasiones esto supone tener un antecedente de la productividad de la especie. Para ello existen varias pruebas para saber si la especie adaptada puede producir la misma cantidad de metabolitos que la estándar.

Así, se puede realizar pruebas para comparar el rendimiento de especies de línea estándar y otras morfológicamente adaptadas de forma natural con la que se trabaja.

Para determinar si la especie de interés se encuentra proliferando en el medio de forma exitosa, se pueden realizar la estimación del crecimiento (Belcher & Swale, 1988) por medio del conteo de algas en relación al tiempo que se desee conocer. Pueden realizarse conteos por hora, conteos diarios y/o semanales.

Para realizar el conteo de algas para algún estudio ecológico, es necesario, primeramente recolectar una muestra cruda (muestras tomadas directamente del agua). Para el conteo de células pequeñas, cocoides principalmente, de un cultivo se puede utilizar la cámara de Neubauer (profundidad de 0,1 mm). Para conteo de algas de diferentes especies que se encuentran en una muestra de campo se utiliza cámara de Utermöhl (Arredondo & Voltolina, 2007)., donde además pueden contarse algas de diferentes morfologías coloniales, filamentosas, unicelulares mayores, etc. Un conteo que se aproxima a la realidad de cantidad de biomasa es el “biovolumen” donde además de contar las células se requiere de una minuciosa medición de las áreas celulares de cada célula que van multiplicadas por los valores de conteo de cada especie.

Para la utilización de citómetros de flujos, contadores celulares o conteo directo en el microscopio, la suspensión de células debe tener células individuales. Para esto se utiliza zonificación para facilitar la separación de las células (Richmond, 2004).

En cuanto a los resultados, los gráficos expresan una mejor descripción de los resultados. Estos se expresan en función al número logarítmico de las células en función al tiempo (Belcher & Swale, 1988).

Para la determinación de la biomasa, se pueden utilizar varios métodos gravimétricos, espectrofotométricos o microscópicos. Estos métodos son empleados utilizando variables como peso, turbidez o número de células de la muestra (Arnáiz *et al.*, 2000).

El peso seco de un cultivo se calcula a partir de la diferencia entre el peso del filtro y la muestra. La muestra filtrada (filtración por membrana) o centrifugada puede colocarse dentro de la estufa por espacio de 15 a 30 minutos. Una vez que la muestra se encuentra seca, debe ser pesada inmediatamente para evitar la hidratación por la humedad. Luego, se calcula como la diferencia entre el peso inicial del filtro y el peso del filtro con la muestra, dividida entre el volumen de la muestra filtrada (Richmond, 2004; Arredondo & Voltolina, 2007).

La medición de los parámetros de crecimiento se puede hacer por conteo de células o por estimación como unidades formadoras de colonias (Richmond, 2004).

Ceparios

En ocasiones es interesante el establecimiento de cultivos conservados para su posterior uso. Dependiendo de la especie, y sobre todo, de lo que se desee investigar, los aislados pueden ser mantenidos de varias maneras. En tubos de ensayo (tapados con algodón, plástico o aluminio, según conveniencia), en vasos de Erlenmeyer (tapados de la misma manera que los tubos), y contenedores diseñados para ese fin (Belcher & Swale, 1988).

Los cultivos pueden ser almacenados en oscuridad o con distinta intensidad de luz artificial, según protocolo o referencias bibliográficas. La intensidad de la luz artificial debe ser utilizada atendiendo al volumen, densidad de la población y a la especie que se desee utilizar (Belcher & Swale, 1988; Arredondo & Voltolina, 2007).

La temperatura óptima a la cuál se almacene el cultivo debe ser lo más baja posible, según protocolo o referencias bibliográficas. Otro aspecto a tener en cuenta en cuanto al almacenamiento del cultivo es la plasticidad de la especie con la cuál se trabaja. La temperatura a la cuál, normalmente, se almacena el cultivo, ya sea líquido o sólido, es de 15 a 25° C (Belcher & Swale, 1988; Richmond, 2004; Arredondo & Voltolina, 2007).

También se debe cuidar la aireación y agitación a la cual se expone el cultivo. La frecuencia para realizar la agitación de un cultivo líquido debe realizarse dependiendo del volumen de este. Para cultivos a mayor escala, se da aireación al cultivo al comienzo de la fase de crecimiento. Sin embargo, para cultivos de volúmenes reducidos, la agitación manual diaria es suficiente (Arredondo & Voltolina, 2007).

El pH y la salinidad del cultivo puede ser modificado por el crecimiento del cultivo y la temperatura. La salinidad también puede ser influenciada por la luz, fuente de nitrógeno y concentración de nutrientes (Arredondo & Voltolina, 2007).

La transferencia de las cepas a un medio de cultivo estéril debe ser de forma periódica (por ejemplo una vez cada seis meses), dependiendo del crecimiento de la cepa (Arredondo & Voltolina, 2007). El mantenimiento por congelación con nitrógeno líquido puede realizarse para mantener muestras por un período extenso de tiempo, pero este método solo se puede utilizar para algunas especies de microalgas (Richmond, 2004).

Determinación de concentración de proteínas

Una alícuota del cultivo es mas que suficiente para determinar la concentración de proteínas. Esta alícuota se somete a una centrifugación para recuperarlas. Posteriormente se utiliza un buffer para homogeneizar la muestra. Normalmente se utiliza ácido tricloroacético (TCA) 20% (v/v) para precipitar las proteínas, que son separadas por centrifugación. Luego, pueden ser lavadas en etanol 90 % en 20 mM Tris (pH 7.4). La determinación de la concentración de la proteínas puede realizarse por varios métodos o utilizando algún kit comercial para dicho fin (Richmond, 2004).

Alimentos

Muchas especies de microalgas producen gran variedad de componentes como carbohidratos, proteínas y vitaminas. Estos componentes a su vez tienen actividad antioxidantes, antivirales, antiinflamatorios, así como antifúngicos y anticancerígenos (Senevirathne & Kim, 2011). Algunas especies del filo Cyanophyta con potencial en esta área se encuentran identificadas en la Tabla 3.1.

Cosméticos

Varias especies pueden ser utilizadas para aislar componentes beneficiosos para la industria del cuidado de la piel. Algunos productos elaborados pueden ser destinados a la fabricación de cremas antiedad, productos refrescantes o regenerativos, antiirritantes y productos para el cuidado del cabello (Kim, 2015).

Varias especies contienen diversos componentes como polisacáridos, proteínas, lípidos, compuestos fenólicos, pigmentos, vitaminas y otros compuestos bioactivos. También poseen micro y macro nutrientes. Varios metabolitos, que pueden ser primarios o secundarios, relacionados con el crecimiento y reproducción de los organismos y relacionados con los factores ambientales como exposición de rayos UV, salinidad, temperatura y contaminantes ambientales (Pereira, 2018).

En países en los que el empleo de aguas mineromedicinales en hidroterapia es utilizado con frecuencia para la industria farmacéutica y cosmética, la utilización de tapetes microbianos o biotapetes (biofilms) es bastante común. Pero, este tipo de sistema deben ser constantemente monitoreado para controlar la calidad sanitaria (Fernández, 2017).

Biofertilizantes

Los biofertilizantes son productos obtenidos de la actividad de algunos organismos; o son sistemas simbióticos de organismos que muestran algún beneficio para los cultivos. La utilización de estos es eficiente y rentable, además de ser una alternativa inocua para el suelo y cultivos (IICA, 1997; Ballard & Pandya, 2003).

Algunas cianobacterias presentan grandes beneficios por su relación de simbiosis con otras especies de plantas u hongos (Sevillano *et al.*, 1986). Esta relación es beneficiosa ya que las cianobacterias pueden realizar fijación de nitrógeno atmosférico, y por esto pueden ser utilizadas para la nitrificación de los suelos.

Anabaena azollae, se encuentra normalmente en relación simbiótica con el helecho acuático utilizado como abono verde, *Azolla* sp. Esta asociación muestra beneficios al sector agropecuario por su capacidad de realizar fijación de nitrógeno atmosférico (0,5 Kg por hectárea y día). Además, esta asociación muestra características como fácil propagación, rápido crecimiento, rápida descomposición del suelo y la no transmisión de enfermedades a los cultivos (Sevillano *et al.*, 1986; Carrapico *et al.*, 2000; Montaña Armijos, 2005; Taiz & Zeiger, 2006).

Gran variedad de microalgas, pueden ser cultivadas a gran escala para la reducción del dióxido de carbono disuelto. Esto se debe a que en su mayoría, muchas pueden realizar fotosíntesis oxigenada (Gómez, 2007).

Género/ Especie	Producto	Referencia
<i>Spirulina</i>	Suplementos nutricionales Ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), g-ácido linoleico (GLA).	Wan-Lov, 2012; FAO, 2018.
<i>Spirulina platensis</i>	Ácido linoleico, ácidos poliinsaturados, proteínas, ficocianina utilizada para colorantes de comida.	Becker, 2007; Wan-Loy, 2012; Kim, 2015.
<i>Spirulina maxima</i>	Antioxidantes como Ácidos fenólicos y B-carotenos, ácido linoleico, ácidos grasos poliinsaturados.	Kim, 2015.
<i>Aphanizomenon flos-aque</i>	Suplemento dietéticos.	Senecirathme & Kim, 2011.
<i>Nostoc flagelliforme</i>	Alimento por su contenido en vitaminas y elementos esenciales como potasio, zinc, iodo, selenio, hierro, magnesio, cobre, fósforo, sodio, nitrógeno, manganeso, cobalto, sulfuro y calcio.	Kim, 2015.
<i>Arthrospira</i>	Producción de Ficobilinas y suplemento alimenticio para gallinas ponedoras.	Parra <i>et al.</i> , 2017.

Tabla 3.1: Ejemplo de cianobacterias y sus aplicaciones en la industria alimenticia.

Género/ Especie	Producto	Referencia
Estudios toxicológicos		
<i>Lyngbya aeruginosa-coerulea</i>	Toxinas neuro y hepatotóxicas: Microcistinas, saxitoxinas y análogos de la saxitoxina como decarbamoyl gonyautoxin II y III.	Teneva <i>et al.</i> , 2003.
<i>Westiellopsis profilica</i>	Microcistina.	Abad <i>et al.</i> , 2013.
<i>Nodularia spumigema</i>	Nodularina.	Simola <i>et al.</i> , 2012.
Biorremediación		
<i>Phormidium</i>	Reducir Cloro hexavalente de cauces hídricos.	Shukla <i>et al.</i> , 2012.
<i>Oscillatoria angustissima</i>	Adsorción de cobalto.	Ahuja <i>et al.</i> , 1999.
<i>Spirulina maxima</i>	Tratamiento de aguas eutroficadas.	Ortiz <i>et al.</i> , 2018.

Tabla 3.2: Algas utilizadas para estudios ecotoxicológicos y en Biorremediación

Género/ Especie	Producto	Referencia
Cosméticos		
<i>Spirulina platensis</i>	Ficocianina utilizada para labiales y delineadores.	Wan-Loy, 2012.
<i>Oscillatoria, Lyngbya, Gloeocapsa, Pseudoanabaena, Nostoc, Synchococcus, Anabaena, Spirulina</i>	Como parte del tapete microbiano para terapias farmacológicas.	Fernández, 2017.
Medicina		
<i>Spirulina platensis</i>	Polisacaridos: Ca-Sp o Calcium-Spirulan como antiviral. Antioxidante: Ficobiliproteína: ficocianina.	Hayashi <i>et al.</i> , 1996; Lee <i>et al.</i> , 2001; Mishima <i>et al.</i> , 1998; Piñero <i>et al.</i> , 2001.
<i>Spirulina maxima</i>	Antiviral.	Hernandez <i>et al.</i> , 2002.
<i>Lyngbya majuscula</i>	Para desarrollar drogas y fármacos.	Kim, 2015.
<i>Aphanizomenon flos-aque</i>	Micosporina (MAA) para protectores solares.	Way-Loy, 2012.
<i>Geitlerinema</i>	Anticancerígeno.	Srivastava <i>et al.</i> , 2015.

Tabla 3.3: Algunas especies de cianobacterias y sus aplicaciones en el área de cosméticos y medicina.

Género/ Especie	Producto	Referencia
Biofertilizantes		
<i>Anabaena variabilis</i>	Biofertilizantes.	Khattar <i>et al.</i> , 2009.
<i>Anabaena azollae</i>	Parte del abono verde.	Sevillano <i>et al.</i> , 1986; Carrapico <i>et al.</i> , 2000; Montaña Armijos, 2005; Taiz & Zeiger, 2006.
Biocombustible		
<i>Phormidium autumnale</i>	Sacarosa como fuente de carbón exógena.	Siqueira <i>et al.</i> , 2016; Chang <i>et al.</i> , 2013.

Tabla 3.4: Especies de cianobacterias y sus aplicaciones en el área de biofertilizantes y biocombustibles.

Referencias Bibliográficas

- Abed, I. J., Jawad, A. M., Abdulhasan, G. A., Al-Hussienry, A. A. & Moushib, L. I. 2013. Molecular detection of toxigenic new record cyanobacterium: *Westiellopsis prolifica* in Tigris River. *Int. J. Sci. Technol. Res.*, vol. 2 (11): 87-91 pp.
- ADSA=MICRO. 1981. Medios de cultivo para Microbiología. Mallorca. Barcelona. 4-8, 18, 19 pp.
- Ahuja, P., Gupta, R. & Saxena, R. K. 1999. Sorption and desorption of cobalt by *Oscillatoria angustissima*. *Curr. Microbiol.*, vol. 39 (1): 49-52 pp.
- Álvarez Cobelas, M. & Gallardo, T. 1989. A Review on Algal Biotechnology. *Bot. Complutensis*, vol. 15: 9-60 pp.
- Andersen, R. A. 2005. Algal culturing techniques. Elsevier. China. 14, 17, 18, 435 pp.
- Arnáiz, C., Isac, L. & Lebrato, J. 2000. Determinación de la biomasa en procesos biológicos: I. Métodos directos e indirectos. *Tecnología del agua*, vol. 205: 25-52 pp.
- Arredondo-Vega, B. O. & Voltolina, D. 2007. Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal. Centro de Investigaciones Biológicas del Noreste. México. 97 pp.
- Ballard, M. & Pandya, M. 2003. Conocimientos básicos en educación ambiental: base de datos para la elaboración de actividades y programas. Grao. Barcelona. 146 pp.
- Barsanti, L. & Gualtieri, P. 2014. Algae: anatomy, biochemistry, and biotechnology. 2da Edición. CRC Press. Italia. 325 pp.
- Beard, S. J., Handley, B. A., Hayes, P. K. & Walsby, A. E. 1999. The diversity of gas vesicles genes in *Planktothrix rubescens* from Lake Zürich. *Microbiology*, vol. 145: 2757-2768 pp.
- Becker, E. W. 2007. Micro-algae as a source of protein. *Biotechnology advances*, vol. 25: 207-210 pp.
- Belcher, H., Swale, E. 1988. Culturing Algae: a guide for schools and colleges. Culture Collection of Algae and Protozoa (CCAP). United Kingdom. 25 pp.
- Carrapico, F., Teixeira, G. & Diniz, M. A. 2000. *Azolla* as a biofertiliser in Africa: A challenge for the future. *Revista de Ciencias Agrarias*, Vol. 23 (3-4): 120-138 pp.
- Castiglioni, B., Rizzi, E., Frosini, A., Sivonen, K., Rajaniemi, P., Rantala, A., Mugnai, M. A., Ventura, S., Wilmotte, A., Boutte, C., Grubisic, S., Balthasart, P., Consolandi, C., Bordoni, R., Mezzelani, A., Battaglia, C. & De Bellis, G. 2004. Development of a Universal Microarray based on the ligation dection reaction and 16S rRNA polymorphism to target diversity of Cyanobacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 70 (12): 7161-7172 pp.
- Chang, J., Hong, J. W., Chae, H., Kim, H. S., Park, K. M., Lee, K. I., & Yoon, H. S. 2013. Natural production of alkane by an easily harvested

- freshwater cyanobacterium, *Phormidium autumnale* KNUA026. *Algae*, vol. 28(1): 93-99 pp.
- Chorus, I. & Bartram, J. 1999. Toxic Cyanobacteria in Water: a guide to their public health consequences, monitoring and management. E & FN Spon. London.
- Contreras Flores, C., Peña Castro, M. P., Flores, Cotera, L. B. & Cañizares Villanueva, R. O. 2003. Avances en el diseño conceptual de fotobio-reactores para el cultivo de microalgas. *Interciencia*, vol. 28 (8): 450-456 pp.
- Corrales Morales, M., Villalobos, K., Rodríguez Rodríguez, A., Muñoz Simón, N. & Umaña-Castro, R. 2017. Identificación y caracterización molecular de cianobacterias tropicales de los géneros *Nostoc*, *Calothrix*, *Tolypothrix* y *Scytonema* (Nostocales: Nostocaceae), con posible potencial biotecnológico. *UNED Research Journal*, vol. 9 (2): 280-288 pp.
- Costelló Orvay, F. 1993. Acuicultura marina: fundamentos biológicos y tecnología de la producción. Universidad de Barcelona. España. 314-316 pp.
- FAO. 2018. The global status of seaweed production, trade and utilization. Globefish Research Programme, vol. 124. Roma. 120 p.
- Fernández García, V. 2017. Biotapetes de manantiales mineromedicinales: aplicaciones en dermatología y cosmética. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*, vol. 11(especial): 227-234 pp.
- Gómez Luna, L. M. 2007. Microalgas: aspectos ecológicos y biotecnológicos. *Revista Cubana de Química*, vol. 19 (2), 3-20 pp.
- Hajong, P. & Ramanujam, P. 2017. Effect of anthropogenic activities on algal community in Ganol River, West Garo Hills, Meghalaya. *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences*, vol. 6 (9): 109 - 120 pp.
- Hayashi, K., Hayashi, T. & Kojima, I. 1996. A natural sulfated polysaccharide, calcium spirulan, isolated from *Spirulina platensis*: in vitro and ex vitro evaluation of anti-Herpes simplex virus and anti-Human immunodeficiency virus activities. *Mary Ann Liebert*, vol. 12 (15): 1463-1471 pp.
- Hernández Corona, A., Nieves, I., Meckes, M., Chamorro, G. & Barron, B. L. 2002. Antiviral activity of *Spirulina maxima* against herpes simplex virus type 2. *Antiviral research*, vol. 53 (3): 279-285 pp.
- Hotto, A. M., Satchwell, M. F. & Boyer, G. L. 2007. Molecular characterization of potential microcystin-producing Cyanobacteria in Lake Ontario Embayments and Neashore eaters. *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 73 (14): 4570-4578 pp.
- IICA. 1997. Pequeños productores, grandes negocios. El potencial económico de los productores agropecuarios comercialmente no tradicionales, memoria de la primera exposición nacional. IICA Biblioteca Venezuela. Venezuela. 91 pp.
- Jungblut, A. D. & Neilan, B. A. 2006. Molecular identification and evolution of the cyclin peptide hepatotoxins, microcystin and nodularin, synthetase genes in three orders of cyanobacteria. *Arch. Microbiol.*, vol. 18 (5): 107-114 pp.

- Khattar, J. I. S., Singh, D. P. & Kaur, G. 2009. Algal biology and biotechnology. L. K. International publishing house. India. 102 pp.
- Lee, J. B., Srisomporn, P., Hayashi, K., Tanaka, T., Sankawa, U. & Hayashi, T. 2001. Effects of structural modification of calcium spirulan, a sulfated polysaccharide from *Spirulina platensis*, on antiviral activity. *Chem. Pharm. Bull.*, vol. 49 (1): 108-110 pp.
- Luque, M. E. & Martínez de Fabricius, A. L. 2003. Distribución del fitoplancton y epilíton en el río Piedra Blanca (Córdoba, Argentina). *Limnetica*, vol. 22(3-4): 19-34 pp.
- Marquardt, J. & Palinska, K. A. 2007. Genotypic and phenotypic diversity of cyanobacteria assigned to the genus *Phormidium* (Oscillatoriales) from different habitats and geographical sites. *Arch. Microbiol.*, vol. 187: 397-413 pp.
- Mishima, T., Murata, J., Toyoshima, M., Fujii, H., Nakajima, M., Hayashi, T., Kato, T. & Saiki, I. 1998. Inhibition of tumor invasion and metastasis by calcium spirulan (Ca-SP), a novel sulfated polysaccharide derived from a blue-green alga, *Spirulina platensis*. *Clin. Exp. Metastasis*, vol. 16 (6): 541-550 pp.
- Montaños Armijos, M. 2005. Estudio de la aplicación de *Azolla Anabaena* como bioabono en el cultivo de arroz en el Litoral ecuatoriano. *Revista Tecnológica ESPOL*, vol. 18 (1): 147-151 pp.
- Mulligan, H. F. & Kingsbury, J. M. 1968. Application of an electronic particle counter in analyzing natural populations of phytoplankton. *Limnology and Oceanography*, vol. 13 (3): 499-506 pp.
- Oren, M., Steindler, L. & Ilan, M. 2005. Transmission, plasticity and the molecular identification of cyanobacterial symbionts in the Red Sea sponge *Diacarnus erythraenus*. *Marine Biology*, vol. 148: 35-41 pp.
- Organización Mundial de la Salud. 2005. Manual de bioseguridad en el laboratorio. 3ra Edición. Organización Mundial de la Salud. Malta. 98 pp.
- Ortiz-Villota, M. T., Romero-Morales, M. A. & Meza-Rodríguez, L. D. 2018. La biorremediación con microalgas (*Spirulina máxima*, *Spirulina platensis* y *Chlorella vulgaris*) como alternativa para tratar la eutrofización de la Laguna de Ubaque, Colombia. *Rev. Investig. Desarro. Innov.*, 9(1): 163-176 pp.
- Parra, J., Torres, A., Rojas-Tortolero, D., Durazzi, E., Ineichen, E. & Fernandez-Gómez, R. 2017. Inclusión de la cianobacteria *Arthrospira maxima* como fuente de carotenoides en la dieta de gallinas ponedoras y su evaluación sobre la calidad del huevo. *Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal*, vol., 8(1): 1-16 pp.
- Pereira, L. 2018. Seaweeds as source of bioactive substances and skin care therapy-cosmeceuticals, algototherapy, and thalassotherapy. *Cosmetics*, vol 5(68): 1-41 pp.
- Piñero Estrada, J. E., Bermejo Bescós, P. & Villar del Fresno, A. M. 2001. Antioxidant activity of different fraction of *Spirulina platensis* protean extract. *Il Farmaco*, vol. 56: 497-500 pp.
- Ramírez Mérida, L. G., Queiroz Zepka, L. & Jacob Lopez, E. 2013. Fotorbiorreactor: herramienta para cultivo de cianobacterias. *Ciencia y Tecnología*, vol 6 (2): 9-19 pp.

- Richmond, A. 2004. Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology. 1ra Edición. Blackwell Science. Reino Unido. 545 pp.
- Rubial, Conti, A. L., Rodriguez, M. A., Crema, N., Bustamante, M. A., Angelaccio, C. M. & Aguilera, S. 2006. Evaluación preliminar del impacto de cianobacterias tóxicas en la salud de poblaciones del Perilago. *Instituto Nacional del Agua*. Versión Digital.
- Senevirathne, M. & Kim, S. K. 2011. Marine macro- and microalgae as potential agents for the prevention of asthma: hyperresponsiveness and inflammatory subjects. *Advances in food and nutrition research*, vol. 64: 277-286 pp.
- Sevillano García, F., Subramaniam, P., Rodríguez Barrueco, C. 1986. La asociación simbiótica fijadora de nitrógeno atmosférico *Azolla-Anabaena*. *Centro de Edafología y Biología Aplicada del CSIC*, Vol. 11: 233-252 pp.
- Shukla, D., Vankar, P. S. & Srivastava, S. K. 2012. Bioremediation of hexavalent chromium by a cyanobacterial mat. *Applied water science*, vol. 2 (4): 245-251 pp.
- Simola, O., Wiberg, M., Jokela, J., Wahlsten, M., Sivonen, K. & Syrjä, P. 2012. Pathologic findings and toxin identification in cyanobacterial (*Nodularia spumigena*) intoxication in a dog. *Veterinary pathology*, vol. 49 (5): 755-759 pp.
- Siqueira, S. F., Francisco, É. C., Queiroz, M. I., de Menezes, C. R., Zepka, L. Q. & Jacob-Lopes, E. 2016. Third generation biodiesel production from microalgae *Phormidium autumnale*. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, vol. 33(03): 427-433 pp.
- Srivastava, A., Tiwari, R., Srivastava, V., Singh, T. B. & Asthana, R. K. 2015. Fresh Water cyanobacteria *Geitlerinema* sp. CCC728 and *Arthrospira* sp. CCC729 as an Anticancer Drug Resource. *PLoS ONE*, vol. 10(9): e0136838.
- Taiz, L. & Zeiger, E. 2006. Fisiología Vegetal. Volumen I. 3ra Edición. Castelló de la Plana. España. 501 pp.
- Teneva, I., Asparuhova, D., Dzhabazov, B., Mladenov, R. & Schirmer, K. 2003. The freshwater Cyanobacterium *Lyngbya aerugineo-coerulea* Produces Compounds Toxic to Mice and to Mammalian and Fish Cells. *Inc. Environ Toxicol*, vol. 18: 9-20 pp.
- Wan Loy, C. 2012. Review: biotechnological application of microalgae. *JeJSME*, vol. 6 (suppl 1). S24-S37 pp.
- Vila, I., Barends, I. & Montecino, V. 1987. Abundancia y distribución temporal del fitoplancton en el Embalse Rapel, Chile Central. *Revista Chilena de Historia Natural*, vol. 60: 37-55 pp.
- Williams, C. D., Aubel, M. T., Chapman, A. D. & D'Aiuto, P. E. 2007. Identification of cyanobacterial toxins in Florida's freshwater systems. *Lake and Reservoir Management*, vol. 23: 144-152 pp.
- Yucra, H. A. & Tapia, P. M. 2008. El uso de microalgas como bioindicadores de polución orgánica en brisas de Oquendo, Calao, Perú. *Biologist*, vol. 6 (1): 41-47.

