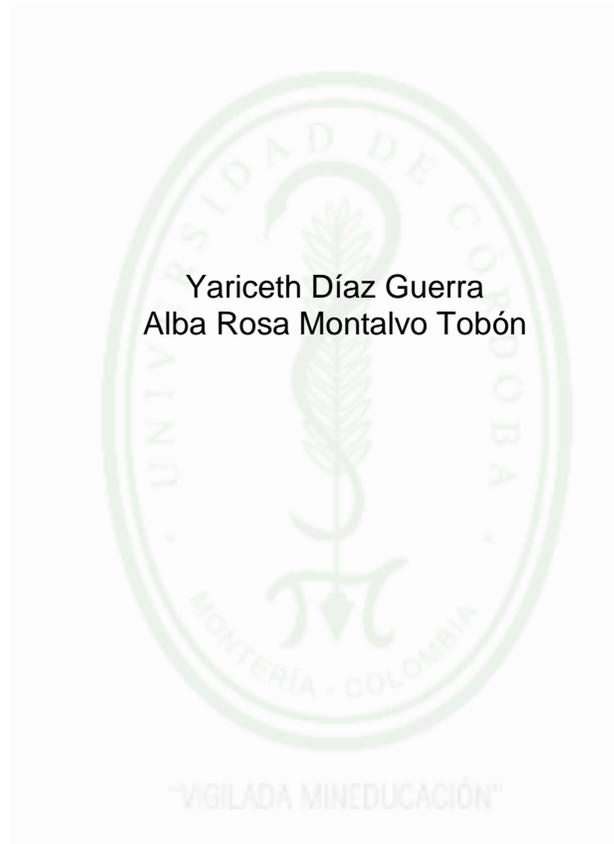


**AISLAMIENTO Y CULTIVO DE *Oscillatoria limosa*, CIANOBACTERIA
POTENCIALMENTE TÓXICA EN EL COMPLEJO CENAGOSO DEL BAJO SINÚ
(CCBS), CÓRDOBA - COLOMBIA**



Yariceth Díaz Guerra
Alba Rosa Montalvo Tobón

PROGRAMA DE ACUICULTURA
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS ACUÍCOLAS
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA
MONTERÍA
2023

**AISLAMIENTO Y CULTIVO DE *Oscillatoria limosa*, CIANOBACTERIA
POTENCIALMENTE TÓXICA EN EL COMPLEJO CENAGOSO DEL BAJO SINÚ
(CCBS), CÓRDOBA - COLOMBIA**

Yariceth Díaz Guerra
Alba Rosa Montalvo Tobón

Trabajo de grado como requisito parcial
para optar al título de Profesional en
Acuicultura

Directora:

Diana Sofía Herazo Cárdenas
Bióloga Marina, M.Sc.

Directora:

Isaura García Cordero

Co- directora:

Profe. Acuicultura, Cand. M.Sc

PROGRAMA DE ACUICULTURA
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS ACUÍCOLAS
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA
MONTERÍA
2023

El jurado calificador del trabajo no será responsable de las ideas emitidas por el autor (Artículo 46, Acuerdo 006 del 29 de mayo de 1979 del Consejo Superior

Nota de aceptación

Presidente del Jurado

Jurado

Jurado

Montería, _____ de 2023

DEDICATORIA

Con todo mi corazón, dedico esta trabajo de grado a Dios, quien inspiró mi espíritu para llevar a cabo esta investigación y me brindó salud y bendiciones para alcanzar mis metas, tanto personales como profesionales. Agradezco infinitamente a mis dos madres, Yadira Guerra y Denis Diaz, por su apoyo emocional a lo largo de mi trayectoria. Sus consejos, valores, motivación constante y amor incondicional han sido fundamentales para mi crecimiento y para culminar mi carrera profesional. También dedico este logro a mi padre, Medardo Álvarez, cuyo ejemplo de perseverancia y constancia siempre ha sido una guía en mi vida.

Expreso mi profundo agradecimiento a mis amigos, Fred Plaza, María Doria y Rubís Ortega, quienes han iluminado mi camino con su luz. Han sacado de la rutina los días grises, brindándome palabras de aliento y creyendo en mí incluso cuando yo dudaba. Agradezco por hacer que los momentos más difíciles y estresantes tuvieran un toque de paz y felicidad. Su amistad ha sido un regalo invaluable que atesoro profundamente.

No menos importante, quiero expresar mi gratitud a mi compañera de viaje en esta apasionante aventura, Alba Rosa Montalvo Tobón. Eres mi amiga, mi compañera, mi buen ángel. Gracias por tu apoyo, comprensión y cariño. Te agradezco por ser mi hombro en el cual descansar cuando creía que todo había acabado. Has sido una fuente constante de inspiración. Doy gracias a Dios y a la vida por regalarme esta valiosa amistad. les prometo ser mejor y dar siempre lo máximo de mí.

Yariceth Diaz

DEDICATORIA

Quiero agradecer principalmente a Dios, quien me ha guiado, brindándome sabiduría y paciencia para culminar esta investigación. A mi familia, en especial a mi madre Alba Rosa Tobon Gonzalez, quien es mi mayor ejemplo de superación. Su valentía y esfuerzo constante han sido mi mayor motivación para seguir adelante a pesar de los obstáculos que la vida ha puesto en mi camino. A mi padre Juan francisco Montalvo martinez que aunque no se encuentre presente conmigo, es el mayor merecedor de este logro ya que gracias a los esfuerzos que un dia realizò, hoy lograrè cumplir nuestro sueño, el que un día prometí, el de ser una profesional.

A mis amigos Fred Plaza y Rubís Ortega, quienes muchas veces se convirtieron en mi pañuelo de lágrimas y fueron la voz de aliento que me motivó y alegró en cada día de frustración y tristeza. Su apoyo incondicional fue fundamental para seguir adelante, incluso cuando sentía que todo estaba perdido.

Quiero agradecer a Francisco Salazar, quien ha sido una pieza fundamental en mi crecimiento personal. Su constante motivación y apoyo me han impulsado a luchar por mis sueños y a esforzarme al máximo cada día.

Especial quiero agradecer a mi amiga y queridísima compañera de trabajo Yariceth Diaz Guerra quien ha sido mi mayor refugio y me ha motivado a salir adelante, siempre estare agradecida con Dios y la vida de premiarme con personas como tú, amiga, que hacen que cada día sea más hermoso y menos difícil,

Alba Montalvo

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos sinceramente a las profesoras Diana Herazo, Isaura Garcia Cordero y Adriana Vallejo por su dedicación, paciencia y comprensión al guiarnos a lo largo de este fascinante camino de la investigación.

Al personal del laboratorio de Sanidad acuícola y Calidad de Agua, por brindarnos los espacios y equipos necesarios para cumplir los objetivos de nuestra investigación, en especial Xiomara Cogollo López, Isaura García Cordero, Daniela vegliante Por su gran apoyo, tiempo y orientación en los experimentos desarrollados.

A María Fernanda Jasnot Acosta por el apoyo incondicional en los análisis de ELISA, en las instalaciones del laboratorio del Grupo de investigación de Microbiología y Biomédica GIMBIC.

A nuestros compañeros que aportaron su conocimiento y apoyo en los momentos mas difíciles de este Marianella González Berrio, Jhonny David Cordero Ocampo, Carlos Padilla Urriola, Julio Cesar Otero Perez, por su colaboración y apoyo en este proceso y gracias a aquellas personas que de una u otra manera nos aportaron su tiempo y dedicación para contribuir en la culminación de esta investigación.

A los jurados de esta investigación por asesorar y revisar este documento.

Al Alma Mater Universidad de Córdoba, que, mediante la convocatoria para mejoramiento de grupos de investigación 2019, a través del GRUPO DE INVESTIGACIÓN CINPIC el marco del proyecto de menor cuantía proyecto “Presencia y determinación de microcistina en las ciénagas de Momil y San Sebastián, Complejo Cenagoso del Bajo Sinú, Córdoba, Colombia”, esta investigación fue financiada.

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
1 INTRODUCCIÓN.....	3
2 OBJETIVOS.....	5
2.1 OBJETIVO GENERAL.....	5
2.2 OBJETIVO ESPECÍFICOS	5
3 MARCO TEÓRICO.....	6
3.1 ¿QUÉ SON LAS CIANOBACTERIAS?	6
3.2 CLASIFICACIÓN DE CIANOBACTERIAS A PARTIR DE GRUPOS FUNCIONALES BASADOS EN LA MORFOLOGÍA (GFBM).....	7
3.3 ESPECIE <i>Oscillatoria limosa</i>	8
3.4 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA	9
3.4.1 <i>Ciclo de vida</i>	10
3.5 FACTORES QUE FACTORES QUE REGULAN EL CRECIMIENTO DE CIANOBACTERIAS Y LA FORMACIÓN DE CIANOTOXINAS.....	10
3.5.1 <i>Disponibilidad de luz</i>	11
3.5.2 <i>Temperatura (°C)</i>	11
3.5.3 <i>pH</i>	12
3.5.4 <i>Disponibilidad de nutrientes</i>	13
3.5.5 <i>Estabilidad de la columna de agua</i>	13
3.5.6 <i>Nutrientes</i>	14
3.6 AISLAMIENTO Y CULTIVO	15
3.6.1 <i>Métodos de aislamiento</i>	16
3.6.2 <i>Aislamiento con micropipeta</i>	16
3.6.3 <i>Aislamiento por dilución seriada</i>	17
3.6.4 <i>Aislamiento por estría en agar</i>	17
3.7 FASE DE CRECIMIENTO DE LAS CIANOBACTERIAS	17
3.8 CONDICIONES DE CULTIVO	19
3.8.1 <i>Iluminación</i>	19
3.8.2 <i>Temperatura</i>	20
3.8.3 <i>Aireación y agitación</i>	21
3.8.4 <i>PH</i>	21
3.8.5 <i>Salinidad</i>	22
3.8.6 <i>Medios de cultivo</i>	22
3.9 CIANOTOXINAS PRODUCIDAS POR CIANOBACTERIAS	24
3.10 CIANOTOXINAS Y SU EFECTO EN ORGANISMOS ACUÁTICOS	25
4 MATERIALES Y METODOS.....	30
4.1 TIPO DE ESTUDIO	30
4.2 LOCALIZACIÓN Y DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO	30
4.3 FASE DE CAMPO	32
4.3.1 <i>Establecimiento de las zonas de muestreos</i>	32
4.3.2 <i>Tipo de muestra</i>	32

4.3.3	<i>Colecta de las muestras</i>	32
4.3.4	<i>Monitoreo de las variables físicas y químicas</i>	34
4.4	FASE DE LABORATORIO	35
4.4.1	<i>Identificación de las especies</i>	35
4.4.2	<i>Conteo de cianobacterias</i>	36
4.4.3	<i>Aislamientos de cepas de cianobacterias</i>	37
4.4.4	<i>Cultivo de la cianobacteria <i>O. limosa</i></i>	38
4.4.5	<i>Variables analizadas en el cultivo de <i>Oscillatoria limosa</i></i>	41
4.4.6	<i>Extracción de microcistina</i>	44
4.4.7	<i>Análisis estadísticos</i>	46
5	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	47
5.1	ESTRUCTURA DE LA COMUNIDAD DE CIANOBACTERIAS	47
5.1.1	<i>Ciénaga de Momil</i>	49
5.1.2	<i>Ciénaga de San Sebastián</i>	50
5.1.3	<i>Abundancia relativa del CCBS</i>	52
5.1.4	<i>Diversidad absoluta de la ciénaga de Momil</i>	54
5.1.5	<i>Diversidad absoluta de la Ciénaga de San Sebastián</i>	55
5.1.6	<i>Densidad de cianobacterias</i>	58
5.1.7	<i>Cultivo de la cianobacteria <i>Oscillatoria limosa</i></i>	60
5.1.8	<i>Dinámica de crecimiento de la especie de cianobacteria <i>Oscillatoria limosa</i></i>	60
5.1.9	<i>Concentración de microcistina por prueba ELISA</i>	76
6	CONCLUSIONES	78
7	RECOMENDACIONES	80
8	BIBLIOGRAFIA	82

LISTA DE TABLAS

	Pág.
TABLA 1. Solución Básica de nutrientes para medio F/2.....	23
TABLA 2. Solución Básica de nutrientes para medio BG11.....	23
TABLA 3. Características generales de las cianotoxinas.....	29
TABLA 4. Composición del medio de cultivo BG-Modificado.....	40
TABLA 5. Composición del medio de cultivo F/2 Guillard.....	41
TABLA 6. Grupos taxonómico encontrados en las ciénagas de Momil y San Sebastián en el Complejo Cenagoso del Bajo Sinú entre febrero y noviembre de 2022.	47
TABLA 7. Grupos taxonómico encontrados en la ciénaga de Momil entre los meses de muestreos comprendidos febrero y noviembre.	50
TABLA 8. Grupos taxonómico encontrados en las ciénagas San Sebastián entre los meses de muestreos comprendidos febrero y noviembre.	52
TABLA 9. Identificación de alertas sanitarias, en función de la densidad de cianobacterias.....	60

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Cianobacterias filamentosas, heterocitos, acinetos y tricomas tomado de Callejas, 2007	6
Figura 2. Esquema de los grupos funcionales basados en morfología (GFBM), indicando las principales características de cada uno. (S/V en la relación superficie-volumen) Tomado de Kruk <i>et al.</i> , 2010, Colina, 2013.....	8
Figura 3. A) Filamento de <i>O. limosa</i> en CCBS B) <i>O. limosa</i> aislada del CCBS. C) Cultivo de <i>O. limosa</i> (Microscopio óptico 40X, Barra 3 µm)) Foto original Díaz-Montalvo y García	9
Figura 4. Reproducción de cianobacterias filamentosas. A.) formación de necridio y hormogonio B) Crecimiento del filamento.....	10
Figura 5. Curva de crecimiento típica, en la cual se muestran las diferentes fases, marcadas como: 1 fase lag; 2 fase de aceleramiento; 3 fase exponencial; 4 fase de desaceleración del crecimiento; 5 fase estacionaria; 6 fase de muerte. Arredondo y Voltolina, 2007 en Arredondo <i>et al.</i> , 2017.	19
Figura 6. Localización de la Ciénaga de Momil y San Sebastián, Córdoba, Colombia (fuente. U.S.G. servicio meteorológico y geológico de los Estados Unidos).	31
Figura 7. Vista panorámica de las Ciénagas de San Sebastián(A) y Momil(B) CCBS (Foto original, 2021).	32
Figura 8. Proceso de recogida de la muestra A) Arrastrate con red fitoplanctonica B) Retencion de muestras; C y D Recoleccion de muestras y fijacion; E) Filtracion de las muestras; F) Muestra obtenida.....	33
Figura 9. Toma de muestras de agua utilizando la botella Ruttner en el CCBS 2021. A) Ingreso de la botella Ruttner a la columna de agua; B) inmersión de la botella de Ruttner; C) ingreso de agua en la botella Ruttner; D) extracción de la botella Ruttner con muestra de agua; E) Depositar muestra de agua en la botella Ruttner.	34
Figura 10. Identificación de especies con manuales. A) Identificación taxonómica de cianobacterias encontradas en el CCBS; B) Manual	

para identificación de cianobacterias	35
Figura 11. Observación y conteo de filamentos. A) conteo celular de las ciénagas de San Sebastian y Momil B) cianobacterias encontradas en el CCBS	36
Figura 12. Proceso de aislamiento y purificación de la cepa de <i>O. limosa</i> . A) aislamiento por micropipeta; B) Aislamiento y purificación en tubos de ensayo C) Aislamiento en cajas de Petri D) Aislamiento en multiceldas.....	38
Figura 13. Montaje del experimento con la cepa aislada del CCBS en condiciones de laboratorio.....	39
Figura 14. Cultivo de <i>O. limosa</i> replicado en dos medios de cultivo en condiciones controladas de laboratorio.	40
Figura 15. A) extracción de muestras; B:C) filtración en bomba de vacío; D) secado en horno por 24 horas; E) biomasa seca de muestras tomadas.....	42
Figura 16. A:B)filtración de muestras en bomba de vacío;C)biomasa obtenida de la filtración ;D)biomasa obtenida al agregarle metanol y buffer ;E:F)sonicado de muestras;G)centrifugado de muestras ;H)alícuota obtenida después de la centrifugación;l)Expresión de pigmentos fotosintéticos.	44
Figura 17. Curva estándar para Microcistina.....	45
Figura 18. Abundancia relativa de las especies encontradas en el CCBS.	53
Figura 19 Diversidad absoluta de las especies encontradas en los meses de muestreos en la Ciénaga de Momil.	55
Figura 20. Diversidad absoluta de las especies encontradas en los meses de muestreos en la Ciénaga de San Sebastián.....	56
Figure 21. Densidad celular en los meses de muestreos en la ciénaga de San Sebastián (SS) y Momil (MM).	58
Figura 22. Curva de crecimiento del cultivo <i>Oscillatoria limosa</i> en el tratamiento T1.....	61
Figura 23. Comportamiento de la Densidad Óptica (A), Biomasa seca (B), del cultivo <i>O. limosa</i> en T1 y T2.	71
Figura 24. Comportamiento de las ficobiliproteínas: ficocianina (A), Aloficocianina(B), Ficoeritrina (C) y Ficobiliproteínas totales en el	

cultivo *O. limosa* en los T1 y T2..... 76

Figura 25. Concentración de MC (μL^{-1}) en agua durante las fases de crecimiento del cultivo de *O. limosa* T1(F/2) y T2(BG11). 77

ANEXOS

Anexos 1. Especies encontradas en los conteos de los muestreos realizados en el CCBS 2021	104
Anexos 2. Conteo celular realizado en los seis meses de muestreos en las ciénagas de Momil 2021	105
Anexos 3. conteo celular realizado en los seis meses de muestreos en las ciénagas de San Sebastian 2021.	107
Anexos 4. Aislamiento y purificación de la cepa <i>Oscillatoria limosa</i> extraída del CCBS 2021	110
Anexos 5. Cultivo de <i>Oscillatoria limosa</i> con dos medios de cultivo durante 20 días de muestreos	110
Anexos 6. Datos de ficobiliproteínas, densidad óptica y peso seco obtenidos en el cultivo de <i>O. limosa</i> bajo dos medios de cultivos durante un periodo de cultivo de 20 días.	111
Anexos 7 . Estadística descriptiva de la cinética del cultivo de <i>O. limosa</i> en los tratamientos	112
Anexos 8 . Graficas de los datos obtenidos del cultivo de <i>O. limosa</i> para densidad óptica y peso seco durante un periodo de cultivo de 20 días.	112
Anexos 9: Graficas de los datos obtenidos del cultivo de <i>O.limosa</i> para ficobiliproteínas (Ficocianina, aloficocianina ,ficoeritrina y ficobiliproteínas totales)	113
Anexos 10. Prueba de Normalidad (Shapiro-Wilk) utilizado en el cultivo de <i>O. limosa</i> en dos medios de cultivos diferentes.....	114
Anexos 11. Prueba de Levene para homogeneidad de varianzas utilizado en el cultivo de <i>O. limosa</i> en dos medios de cultivos diferentes.	114
Anexos 12. Prueba T para Muestras Independientes Independientes (U de mann Whitney) utilizado en el cultivo de <i>O. limosa</i> en dos medios de cultivos diferentes.	115

RESUMEN

El crecimiento de las cianobacterias en ambientes acuáticos está controlado por una variedad de factores ambientales, en cultivo es necesario condiciones adecuadas de nutrientes, temperatura, pH e iluminación. El conocimiento de sus características fisiológicas y bioquímicas puede ayudar no sólo a determinar su potencial biotecnológico, sino también a determinar e interpretar de manera más eficiente los resultados adquiridos del crecimiento de estos microorganismos en su ambiente natural. El objetivo de esta investigación fue identificar y cuantificar las cianobacterias potencialmente tóxicas del Complejo Cenagoso del Bajo Sinú, Córdoba (CCBS) Colombia, realizándose 6 muestreos en periodos hidrológicos de aguas bajas y aguas altas, reportándose un total de 14 especies, distribuidas en 11 géneros, pertenecientes a 8 familias las se encontraron Merismopediaceae, Chroococcaceae, Microcystaceae, Borziaceae, Oscillatoriaceae, Phormidiaceae, Nostocaceae, Synechococcaceae ubicadas en 3 ordenes, siendo las especies *Microcystis aureginosa*, *Microcystis wessenbergii*, *Oscillatoria limosa*, *Aphanocapsa Delicatissima* y *Dolichospermum circinalis* las mas representativas. Una primera fase consto de la purificación y aislamiento de la especie mas abundante y presente en todos los meses de muestreos, la cepa *Oscillatoria limosa* en tubos de ensayo y cajas de Petri hasta Erlenmeyer de 250 mL y una segunda fase de cultivo a partir de un diseño experimental por triplicado, comparándose dos tratamientos en función de medios de cultivo T1 (F/2) y T2 (BG11) durante 20 días, evaluando el crecimiento en función de la densidad óptica y peso seco y metabolitos secundarios ficobiliproteínas: Ficocianina, Aloficocianina y ficoeritrina, bajo condiciones de aireación constante, temperatura de $26 \pm 1^\circ\text{C}$, y un fotoperiodo 24:0. No se reportaron diferencias significativas entre los tratamientos estudiados, *Oscillatoria limosa* presento en el T2 mayores valores de densidad óptica $0,1436 \pm 0,0323$ Abs y peso seco $0,1823 \pm 0,0377$ g.L⁻¹, aunque para el T1 se presentaron los mayores valores de metabolitos secundarios: Ficocianina $0,0180 \pm 0,0037$ µg/mL, Aloficocianina $0,0096 \pm 0,0019$ µg/m, Ficoeritrina $0,0596 \pm 0,0114$ µg/ml y Ficobiliproteínas totales $0,0872 \pm 0,001$ µg/ml durante los 20 días de cultivo. El mayor crecimiento de *O. limosa* se presento en los días 13 y 15 del cultivo para ambos tratamientos. La fase estacionaria se observo en los días 17 al 20 del cultivo para ambos tratamientos, lo que se le atribuye a la degradación de los nutrientes presentes en los medios de cultivo. Los resultados obtenidos demuestran la efectividad del medio BG11 modificado para la implementación de cultivo de *Oscillatoria limosa*, ya que, en su formulación, las fuentes de nitrógeno y fósforo se presentan en una mayor proporción en comparación al medio F/2, respaldando así su mayor eficiencia al favorecer el crecimiento y desarrollo de las cianobacterias. Además de ser un medio de cultivo rentable en comparación con el medio f/2 debido a los componentes químicos que este presenta: como vitaminas, macro y micronutrientes, resultando ser mas costoso.

Palabras clave: Cianobacterias, aislamiento, cultivo, BG11, F/2.

ABSTRACT

The growth of cyanobacteria in aquatic environments is controlled by a variety of environmental factors; in culture, adequate conditions of nutrients, temperature, pH and lighting are necessary. Knowledge of their physiological and biochemical characteristics can help not only determine their biotechnological potential, but also determine and interpret more efficiently the results acquired from the growth of these microorganisms in their natural environment. The objective of this research was to identify and quantify potentially toxic cyanobacteria from the Cenagoso Complex of Bajo Sinú, Córdoba (CCBS) Colombia, carrying out 6 samplings in hydrological periods of low water and high water, reporting a total of 14 species, distributed in 11 genera, belonging to 8 families, Merismopediaceae, Chroococcaceae, Microcystaceae, Borziaceae, Oscillatoriaceae, Phormidiaceae, Nostocaceae, Synechococcaceae were found located in 3 orders, with the species *Microcystis aureginosa*, *Microcystis wessenberguii*, *Oscillatoria limosa*, *Aphanocapsa Delicatissima* and *Dolichospermum circinalis* being the most representative. A first phase consisted of the purification and isolation of the most abundant species present in all months of sampling, the *Oscillatoria limosa* strain in test tubes and Petri dishes up to 250 mL Erlenmeyer, and a second phase of culture from an experimental design in triplicate, comparing two treatments based on culture media T1 (F/2) and T2 (BG11) for 20 days, evaluating growth based on optical density and dry weight and secondary phycobiliprotein metabolites: Phycocyanin, Allophycocyanin and phycoerythrin, under conditions of constant aeration, temperature of $26 \pm 1^\circ\text{C}$, and a 24:0 photoperiod. No significant differences were reported between the treatments studied, *Oscillatoria limosa* presented in T2 the highest values of optical density 0.1436 ± 0.0323 Abs and dry weight 0.1823 ± 0.0377 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, although for T1 there were the highest values of secondary metabolites: Phycocyanin 0.0180 ± 0.0037 $\mu\text{g}/\text{ml}$, Allophycocyanin 0.0096 ± 0.0019 $\mu\text{g}/\text{mL}$, Phycoerythrin 0.0596 ± 0.0114 $\mu\text{g}/\text{ml}$ and total Phycobiliproteins $.0872 \pm 0.001$ $\mu\text{g} / \text{ml}$ during the 20 days of culture. The greatest growth of *O. limosa* occurred on days 13 and 15 of the crop for both treatments. The stationary phase was observed on days 17 to 20 of the culture for both treatments, which is attributed to the degradation of the nutrients present in the culture media. The results obtained demonstrate the effectiveness of the modified BG11 medium for the implementation of *Oscillatoria limosa* cultivation, since, in its formulation, the sources of nitrogen and phosphorus are present in a greater proportion compared to the F/2 medium, thus supporting its greater efficiency by promoting the growth and development of cyanobacteria. In addition to being a profitable culture medium compared to the f/2 medium due to the chemical components it presents: such as vitamins, macro and micronutrients, it turns out to be more expensive.

Keywords: Cyanobacteria, isolation, cultivation, BG11, F/2, *Oscillatoria limosa*.

1 INTRODUCCIÓN

Las cianobacterias, son un grupo amplio de microorganismos procariontes, aeróbicos y fotoautótrofos (Roset, 2001; Romero, 2013), los cuales cuentan con una larga historia evolutiva (Whitton y Potts, 2000, Romero, 2013; Sánchez, 2021) Las cianobacterias son un componente común e importante del fitoplancton en ambientes acuáticos, sin embargo, bajo ciertas condiciones puede verse favorecida la acumulación masiva de ciertas cianobacterias formando lo que se conoce como florecimientos algales o “blooms” (Roset , 2001, Carvajal, 2011; Sánchez, 2021).

Las cianobacterias muestran una considerable plasticidad genotípica y fenotípica, lo que les permite desarrollar una amplia variedad de nichos ecológicos (Whitton y Potts, 2000; Cremella, 2014). Estos microorganismos son comunes en todos los tipos de ambientes naturales y muchas especies son cosmopolitas; algunas son con frecuencia componentes dominantes del plancton en lagos y océanos, otras son características de arroyos, ríos, estuarios, aguas termales o costas rocosas, algunas otras están bien adaptadas al ambiente terrestre y son particularmente abundantes en suelos tropicales y en campos inundados (Fay, 1983, Vasconcelos *et al.*, 2011 , en sanchez, 2021), sin embargo, algunos de los géneros que comúnmente presentan este comportamiento son *Microcystis*, *Oscillatoria*, *Dolichospermum*, *Nostoc* y *Nodularia* (Nandini *et al.*, 2000, Aguilar, 2017).

Adicionalmente, el grupo diversificado de cianobacterias ha ganado mucha atención en los últimos años, particularmente en el campo de la biotecnología y las industrias farmacológicas debido a su rica fuente de compuestos bioquímicos, fitoquímicos, así como compuestos antibióticos y antivirales; son agentes inmunosupresores, anticancerígenos, antiplasmodiales y alguicidas (Patterson *et al.*, 1994; Papke *et al.*, 1997; Papendorf *et al.*, 1998; Kajiyama *et al.*, 1998; Dahms *et al.*, 2006; Abed *et al.*, 2009;) Además, se caracterizan por ser potencialmente tóxicas expresando su condición a partir de la formación de metabolitos secundario, exhibiendo efectos tóxicos en los organismos acuáticos

Oscillatoria limosa es una cianobacteria filamentosa de color verde azulado, que se distribuye ampliamente en todos los hábitats acuáticos y terrestres, posee la particular importancia ecológica de ser fotótrofa y alimento de la fauna acuática, aunque en algunos

casos esta especie puede producir metabolitos tóxicos que pueden ser perjudicial para los organismos (Abed *et al.*, 2009; Luu *et al.*, 2019) Esta especie es fácil de identificar en cuerpos agua dulce y reservorios por sus características morfológicas excepcionales, como colonias filamentosas de membrana mucosa, largas, rectas y de color azul verdoso este color varía según diversos factores y condiciones a las cuales están sometidas (Luu *et al.*, 2019) Su crecimiento óptimo se presenta a pH 7.5, Temperatura de 26 - 30°C con fuentes altas de nutrientes como nitrógeno y fósforo, ya que preferiblemente se pueden localizar en cuerpo de agua contaminadas (Sikdar y *Keshri*, 2014).

En la acuicultura *Oscillatoria limosa* tiene gran importancia ecológica debido a su capacidad para fijar nitrógeno, lo que la convierte en bioindicadora de calidad de agua. Sin embargo, por su característica como productora de toxinas, *Oscillatoria limosa* no se puede utilizar como fuente de alimento, debido a la capacidad de expresar dichas toxinas en especial microcistina, hepatotóxina capaz de causar severos daños en organismos acuáticos e incluso al hombre (Salamanca, 2005).

Según Kruk *et al.*, (2010) *Oscillatoria limosa* se encuentra ubicada en el grupo III dentro de la clasificación de Grupos Funcionales Basados en la Morfología (GFBM), el cual incluye especies potencialmente tóxicas con poca palatabilidad para el zooplancton y otros organismos acuáticos.

Teniendo en cuenta las características que posee *Oscillatoria limosa* como cianobacteria potencialmente tóxica, el presente estudio tiene como fin evaluar su crecimiento bajo dos diferentes medios de cultivo.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Cultivar *Oscillatoria limosa*, cianobacteria potencialmente tóxica en el Complejo Cenagoso del Bajo Sinú (CCBS), Córdoba – Colombia

2.2 OBJETIVO ESPECÍFICOS

- 1) Evaluar la estructura y composición de la comunidad de cianobacterias en el CCBS.
- 2) Evaluar el crecimiento de *Oscillatoria limosa* en diferentes medios de cultivo (BG11 modificado y F/2 Guillard).
- 3) Establecer la concentración de pigmentos fotosintéticos en *Oscillatoria limosa* cultivada en BG11 modificado y F/2 Guillard en condiciones controladas.

3 MARCO TEÓRICO

3.1 ¿QUÉ SON LAS CIANOBACTERIAS?

Las cianobacterias o algas verde-azules son los organismos fotosintetizadores aeróbicos más antiguos del planeta; algunos pueden fijar nitrógeno molecular, mientras que otros pueden incorporar y almacenar fósforo, contribuyendo significativamente a la producción primaria acuática (Bonilla *et al.*, 2015) Estos organismos presentan una gran plasticidad morfológica y adaptabilidad a diversos tipos de ecosistemas, características que les confieren una ventaja para colonizar exitosamente diferentes sistemas acuáticos, por lo que se encuentran ampliamente distribuidos en el mundo (Paerl y Otten, 2013) Las cianobacterias presentan diversidad de formas y estructuras, se pueden encontrar organismos unicelulares, los cuales tienen formas esféricas, ovoides o cilíndricas; también pueden estar en forma de células aisladas o unidas en colonias irregulares y las filamentosas, las cuales son típicas de cierto número de cianobacterias (Bauzá y Giannuzzi, 2017; Mercado Reyes y Montero, 2022)

Las cianobacterias también pueden encontrarse como células aisladas o agregadas en colonias irregulares; la forma filamentosa es típica de un cierto número de cianobacterias y sus repetidas divisiones celulares dan lugar a una estructura multicelular llamada tricomas, siendo frecuentes las variaciones en la morfología del mismo: recto, espiralado, etc. Otras espiraladas incluyen una diferenciación de ciertas células en heterocistos y acinetos. (Bauzá y Giannuzzi, 2017, Mercado Reyes y Montero, 2022) (Figura 1).



Figura 1. Cianobacterias filamentosas, heterocistos, acinetos y tricomas tomado de Callejas, 2007

3.2 CLASIFICACIÓN DE CIANOBACTERIAS A PARTIR DE GRUPOS FUNCIONALES BASADOS EN LA MORFOLOGÍA (GFBM)

Tradicionalmente se ha utilizado la agrupación de las especies en grupos taxonómicos fitoplanctónicos para describir la estructura y la dinámica ecológica de esta comunidad. Es decir, se han utilizado las relaciones de parentesco para agrupar a los organismos que la componen, principalmente a nivel de clases u órdenes. Sin embargo, se considera que los organismos que co-ocurren en la comunidad fitoplanctónica tienen requerimientos ambientales similares (Web *et al.*, 2002; Nogueira y Junior, 2011; Nogueira, 2017), como la adquisición de luz y nutrientes, un enfoque taxonómico basado en las relaciones de parentesco, no sería el más adecuado para reflejar el desempeño ecológico de los organismos en el ambiente (Kruk *et al.*, 2010; Nogueira y Junior, 2011). Esto es debido a que un mismo grupo taxonómico puede estar comprendido por organismos con tolerancias y requerimientos ambientales muy diversos, por ejemplo, en niveles taxonómicos elevados como lo es la clase en donde encontramos organismos con estructuras y formas de vida muy distintas (Reynolds, 1997; Salmaso y Padisák, 2007; Kruk *et al.*, 2011; Nogueira y Junior, 2011). Al contrario, organismos que respondan de forma similar al ambiente pueden estar muy alejados filogenéticamente y sin embargo co-ocurrir (Costa *et al.*, 2009; Nogueira y Junior, 2011). Es por esta razón que se han desarrollado clasificaciones alternativas en las cuales el criterio de agrupamiento de los organismos no es la filiación filogenética. (Nogueira y Junior, 2011; Osorio, 2021).

La utilización de GFBM para el fitoplancton es más adecuada que el uso de grupos filogenéticos (e.g. cianobacterias, diatomeas) ya que las respuestas funcionales y en particular las características que afectan su consumo por el zooplancton se ven mejor reflejadas en términos morfológicos (Kruk y Segura, 2012; Colina, 2013). Kruk *et al.*, (2010), construyó una clasificación para fitoplancton de agua dulce basada únicamente en la morfología de los organismos: grupos funcionales basados en morfología (GFBM), citando VII grupos específicos dentro de los cuales las cianobacterias se encuentran representadas en tres de ellos (Figura 2).

Grupo I: Incluye organismos de pequeño tamaño y alta tasa de crecimiento, adaptados a una rápida captación de recursos y potencialmente susceptibles al consumo por zooplancton.

Grupo III: Compuesto por filamentos largos, con alta relación superficie-volumen, aerótopos, incluyendo especies potencialmente tóxicas por lo cual se espera sean poco palatables para el zooplancton.

Grupo VII: Integrado por organismos coloniales con mucílago y aerótopos, conteniendo especies potencialmente productores de toxinas que aportarían reflejen malas cualidades como alimento. (Fussmann y Blasius, 2005; Colina,2013).

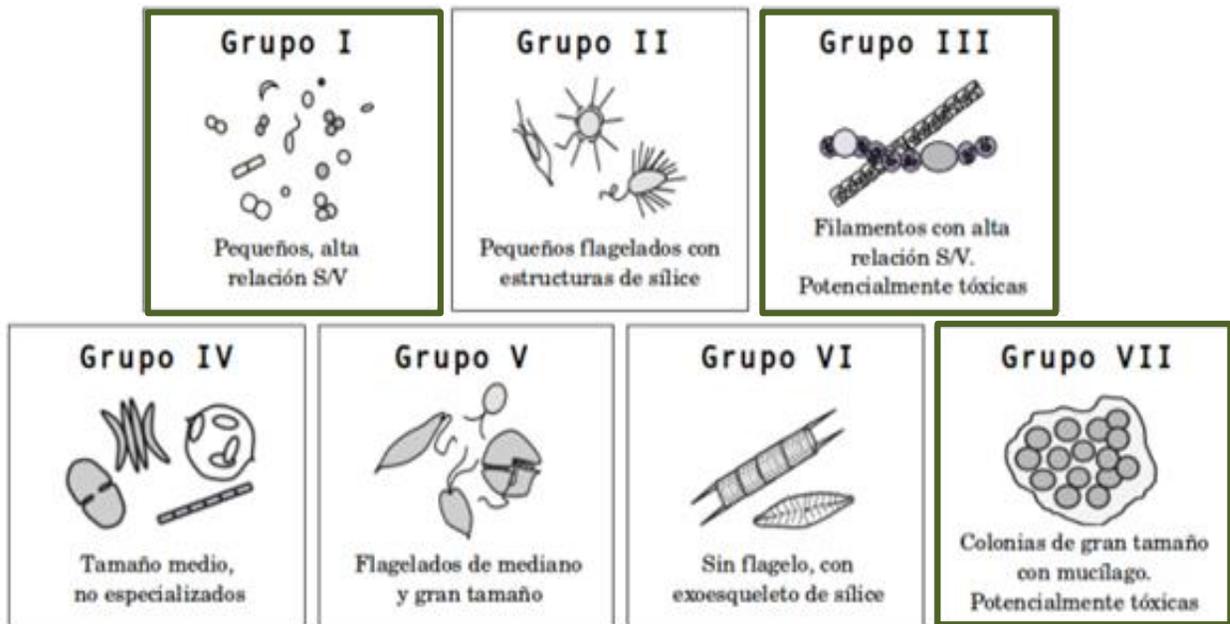


Figura 1. Esquema de los grupos funcionales basados en morfología (GFBM), indicando las principales características de cada uno. (S/V en la relación superficie-volumen) Tomado de Kruk *et al.*, 2010, Colina, 2013.

3.3 ESPECIE *Oscillatoria limosa*

Talo verde azul oscuro, tricoma recto, no constreñido en las paredes transversales, 12-18 μm de ancho y 3.7 - 5 μm de largo (Figura 3), extendido, grueso, a menudo estratificado, adherido al sustrato, ocasionalmente en mechones que flotan libremente al nivel del agua o en tricomas solitarios entre otros cianoprocariontes o algas, tricomas de color oscuro a verde azulado brillante, marrón a marrón-violeta o verde oliva, (Komárek, 2005; Nogueira y Júnior, 2011) generalmente muy largas (hasta 4 mm) rectas, raramente débilmente curvadas, excepcionalmente con láminas incoloras delgadas y sin capas (en condiciones subóptimas, especialmente en cultivos) no constreñidas en las paredes transversales

frecuentemente granuladas, no atenuadas en los extremos o muy brevemente, ligeramente atenuadas, no capiteladas, motiles, lentamente deslizantes y oscilantes, con rotación a la izquierda. Células 1/3 - 1/6 veces más largas que anchas, 1,5 -5 micras de largo; contenido celular en su mayor parte finamente granulado células apicales planas-redondeadas u obtusamente redondeadas. Convexas, en su mayoría con pared celular externa ligeramente engrosada, sin caliptra. Se encuentran en agua dulce, bentónica en fondos arenosos o fangosos, adherida a diversos sustratos, o flotando libremente en forma de esteras (de varios cm a dm de diámetro) en aguas dulces estancadas o de corriente lenta. (Komárek, 2005; Nogueira y Junior, 2011).

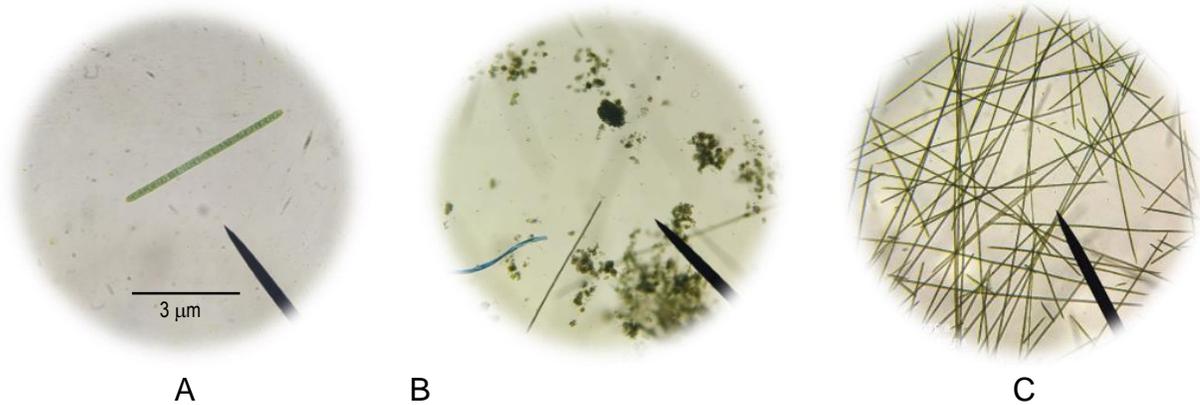


Figura 3. A) Filamento de *O. limosa* en CCBS B) *O. limosa* aislada del CCBS. C) Cultivo de *O. limosa* (Microscopio óptico 40X, Barra 3 µm) Foto original Díaz-Montalvo y García

3.4 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

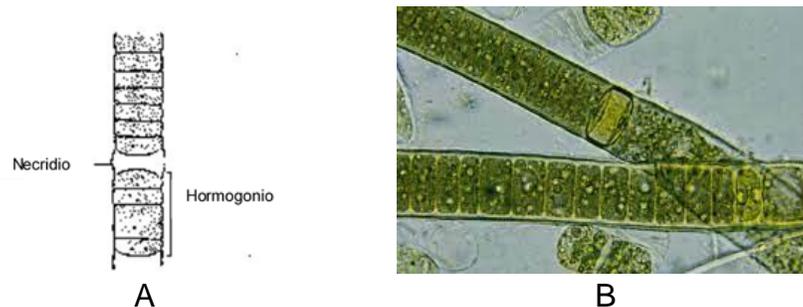
Reino:	Bacteria
Phylum:	Cyanobacteria
Clase:	Cyanophyceae
Subclase:	Oscillatorioophycidae
Orden:	Oscillatoriales
Familia:	Oscillatoriaceae
Género:	<i>Oscillatoria</i>
Especie:	<i>Oscillatoria limosa</i> (Gomont 1892, Komárek, 2005, Nogueira y Júnior, 2011 en Tucci <i>et al.</i> , 2012)

3.4.1 Ciclo de vida

Un aspecto fundamental de la biología de *Oscillatoria limosa* es su ciclo vital, enmarcado por su ubicación taxonómica, su fisiología e implicaciones ambientales de cultivo. Todas las células dispuestas en filamentos o en rosario, tienen la facultad de multiplicarse por bipartición (Rodríguez y Triana, 2006) Hacia los extremos de los filamentos, la división es más frecuente que en la zona intercalar (Vonshak y Tomaselli, 2000; Ramírez y Olivera, 2006) Este es un período que se puede resumir en tres etapas fundamentales:

- 1) Fragmentación de tricomas.
- 2) La ampliación de células del hormogonio y procesos de maduración
- 3) Alargamiento de tricoma

El tricoma maduro se divide en varios filamentos u hormogonios pequeños, gracias a la formación previa de células especializadas, las llamadas células de necridio, que se caracterizan por tomar un aspecto granuloso, sus tabiques transversales se abomban fuertemente y la célula se vuelve bicóncava, la materia de la célula se reabsorbe para permitir la fragmentación (Figura 4) La ruptura celular ocurre por zonas conocidas como disyuntores. Para este proceso, el tricoma crece longitudinalmente (Rodríguez y Triana, 2006)



Tomado de: Van Der Hoeek et al., 1998; Canoana y Cardona, 2015

Figura 4. Reproducción de cianobacterias filamentosas. A.) formación de necridio y hormogonio B) Crecimiento del filamento.

3.5 FACTORES QUE FACTORES QUE REGULAN EL CRECIMIENTO DE CIANOBACTERIAS Y LA FORMACIÓN DE CIANOTOXINAS.

La dinámica poblacional de las cianobacterias está influenciada por factores físicos, químicos y biológicos del agua (Watanabe et al., 1995; Carvajal, 2011) Como resultado de

la óptima conjunción de estos factores, suelen ocurrir desarrollos masivos de especies de cianobacterias, los que en ocasiones suelen estar asociados a la presencia de cianotoxinas(hepatotoxinas y/o neurotoxinas)(Sivonen, 1996; Carvajal, 2011)

3.5.1 Disponibilidad de luz

En algunas situaciones, las cianobacterias tienen la facultad de dominar el fitoplancton gracias a su capacidad para explotar intensidades de luz muy bajas o altas, optimizar la fotosíntesis mediante la flotación en la columna de agua, soportar amplios rangos de temperatura, crecer en ambientes crónicamente deficientes en nutrientes y resistir la depredación debido a su capacidad de sintetizar toxinas y a su plasticidad morfológica. Esta flexibilidad fisiológica y morfológica generalmente incide en la modificación de su ambiente y en el establecimiento de las poblaciones (Carvajal, 2011)

La luz presenta un efecto directo sobre el metabolismo de las cianobacterias, de modo que al aumentar la energía luminosa se incrementa la actividad fotosintética y la demanda de nutrientes. Produciendo un incremento de la biomasa de las células y de la tasa de proliferación. La alta intensidad de la luz ocurre principalmente en primavera y verano, asociado generalmente al aumento de la temperatura y la duración del día solar, contribuyendo al desarrollo masivo de las algas verdes-azules. Las cianobacterias tienen como pigmentos fotosintéticos aeróbicos principalmente la clorofila a, y una serie de pigmentos accesorios (Carvajal, 2011)

3.5.2 Temperatura (°C)

El rango de temperatura a la que generalmente se produce la tasa máxima de crecimiento se encuentra entre 25 y 30°C, Generalmente se considera que las cianobacterias prefieren temperaturas más altas que las algas eucariotas (Dokulil y Teubner, 2000, en Carvajal, 2011). Sin embargo, los rangos óptimos de temperatura de las cianobacterias no termofílicas serían similares a los rangos de las algas eucariotas, por lo que no habría diferencias en cuanto a la preferencia de la temperatura. La alta temperatura, además, no sería la causa de una floración, sino que las altas temperaturas estarían asociadas con otros fenómenos como la estratificación térmica y cambios en la profundidad de la zona de mezcla, lo que puede favorecer el desarrollo de cianobacterias con vesículas de gas (Oliver y Ganf, 2000; Paerl y Huisman, 2009; Carvajal, 2011) estos efectos se podrían ver

potenciados en el contexto del cambio climático global.

El aumento de la temperatura y cambios en los patrones de precipitación, pueden tener efectos sinérgicos sobre los procesos de eutrofización en los ecosistemas acuáticos. Mientras algunos estudios reportan aumento de la biomasa algal como consecuencia del incremento de la temperatura (Hernández, 2015) estudios en campo en períodos prolongados de tiempo indican que algunas cianobacterias podrían ser beneficiadas por el aumento de la temperatura (Reynolds, 2006), si bien esto sigue siendo controversial. Otra evidencia indica que, en zonas templadas, el aumento estival de la estabilidad de la columna de agua por el incremento de la temperatura también resultaría en un factor de fomento de la dominancia de cianobacterias (Parra *et al.*, 1986; Rosso y Giannuzzi, 2011) La temperatura óptima para la producción de toxinas se encuentra entre los 20 y 25°C, lo que indicaría que las cianobacterias serían más tóxicas durante períodos de temperaturas cálidas y en áreas tropicales (Fernandez y Facundo, 2019)

3.5.3 pH

Las cianobacterias son únicas, dentro del gran grupo de procariontes, debido a su incapacidad de crecer a bajos valores de pH. Su crecimiento parece ser completamente inhibido en hábitats con pH por debajo de 5, con óptimos entre 7,5 y cerca de 10, por lo cual pueden ser considerados como alcalófilas (Giráldez *et al.*, 1997; Fuenmayor *et al.*, 2009). Esto puede estar relacionado con el hecho de que el pH determina la solubilidad del dióxido de carbono (Moronta *et al.*, 2006; Fuenmayor *et al.*, 2009) el pH del cultivo está influenciado por varios factores como la productividad algal, la respiración y de los minerales en los cultivos, la alcalinidad y composición iónica del medio de cultivo, la actividad microbiana autotrófica y heterotrófica y la eficiencia del sistema de adición de CO₂ (Martínez 2008, Park *et al.*, 2010) como en los otros parámetros, cada especie necesita un rango determinado de pH que permita un crecimiento óptimo (Martínez, 2008), siendo pH 8 el más indicado para especies dulceacuícolas (Park *et al.*, 2010) por encima o debajo de éste, presentan un descenso en la productividad, que no solo afecta el crecimiento algal, sino también la capacidad de remover el nitrógeno en sistemas de tratamientos de aguas (Park *et al.*, 2010).

3.5.4 Disponibilidad de nutrientes

El protoplasma celular de las algas eucariotas y las cianobacterias, requiere de aproximadamente 20 elementos químicos para la formación de la nueva biomasa, algunos de ellos necesarios en grandes cantidades (H, C, O y N) y otros en cantidades pequeñas (P, S, K, Na, Ca, Mg y Cl) (Carvajal, 2011)

Un conjunto de nutrientes que intervienen en el metabolismo (como por ejemplo la estructura de enzimas) son requeridos en concentraciones traza (Si, Fe, Mn, Mo, Cu, Co, Zn, etc.). Los elementos que generalmente limitan el crecimiento del fitoplancton pueden ser N, P, Fe, (Si, en el caso de las diatomeas) o algún micronutriente. Los distintos factores ambientales intervienen continuamente en el desarrollo de un ecosistema, tanto sea en las poblaciones, el número de individuos como también a nivel celular, en donde ocurre una dependencia cualitativa y/o cuantitativa de la ultra estructura de las cianobacterias. (Carvajal, 2011)

El metabolismo de las cianobacterias lleva en determinados casos de disponibilidad de nutrientes, a que se observen inclusiones intracelulares de gránulos de polifosfato (depósitos intercelulares de fósforo), gránulos de glicógeno, glóbulos de lípidos, carboxisomas y gránulos de cianofícinas. Este aumento de pH genera que el bicarbonato (HCO_3^-) constituya la forma más abundante de carbono inorgánico. En estos casos puede ocurrir la limitación del crecimiento de las cianobacterias que solo puedan asimilar CO_2 y no otra forma de carbono. Sin embargo, muchas de las cianobacterias y algunas algas eucariotas contienen la enzima anhidrasa carbónica y pueden recurrir al HCO_3^- como fuente alterativa de carbono inorgánico (Graham *et al.*, 2008)es así que pueden competir muy bien en lagos eutroficados donde el pH alto es característico (Rosso y Giannuzzi, 2011; Martínez, 2018).

3.5.5 Estabilidad de la columna de agua

Las características morfométricas de los sistemas lenticos, como son el área y la profundidad máxima, influyen en los periodos de estratificación y mezcla (Viner, 1984);tanto una como la otra, afectan directamente el desempeño ecológico de los distintos grupos fitoplanctónicos (Reynolds, 1984;Fabre *et al.*,2010]

Las cianobacterias necesitan de aguas relativamente tranquilas para poder desarrollarse, la estratificación térmica de las aguas favorecida por las altas temperaturas estimula la formación de florecimientos porque les permite a las cianobacterias mantenerse en la parte superior de los cuerpos de agua en la zona de influencia directa de luz solar (Carvajal, 2011; Herazo, 2016).

3.5.6 Nutrientes

La aparición de las floraciones de cianobacterias se favorece por las actividades antropogénicas como actividad ganadera, industrial, las urbanizaciones, agricultura, vertido de aguas residuales, debido principalmente al aporte que hacen estas actividades de nutrientes a los cuerpos de agua, favoreciendo la eutroficación. El aporte de nutrientes a los ecosistemas acuáticos es, tal vez, el principal factor asociado con la incidencia de floraciones por cianobacterias (O'Neil *et al.*, 2012).

En un gran número de estudios se ha demostrado la relación entre los procesos de eutroficación y la frecuencia y magnitud de los eventos de floración (Jöhnk *et al.*, 2008; Paerl y Huisman, 2009; Rigosi *et al.*, 2014; Paterson *et al.*, 2017) Aunque el fósforo se considera el principal nutriente limitante de la productividad primaria, tanto este como el nitrógeno pueden inducir florecimientos algales. Las concentraciones elevadas de fósforo favorecen floraciones de géneros fijadores de nitrógeno, en tanto que los medios ricos en nitrógeno y fósforo favorecen a los géneros sin heterocistos, por ejemplo, *Microcystis* y *Planktothrix* (Paerl y Otten, 2013).

El principal causante de eutroficación es el vertimiento directo de aguas enriquecidas provenientes de zonas urbanas o de actividades industriales y agropecuarias. El exceso de nutrientes en la cuenca y el clima pueden interactuar para potenciar las floraciones. Así, los eventos climáticos con precipitaciones intensas movilizan nutrientes desde la cuenca, los cuales enriquecen los cuerpos de agua y favorecen el desarrollo de floraciones (Huisman *et al.*, 2018).

Las sequías prolongadas disminuyen la carga de nutrientes por arrastre desde la cuenca, pero pueden promover condiciones para que estos sean reciclados desde el fondo del ecosistema. Los periodos prolongados con hipoxia en las capas de agua profundas favorecen la liberación de fósforo desde el sedimento, razón por la que, en lagos con

historias de eutrofización, la reserva de nutrientes en los sedimentos puede mantener las floraciones algales, aunque los vertimientos estén controlados (Zapata *et al.*, 2009, en Salomón *et al.*, 2020) En lagos profundos, el crecimiento de las cianobacterias generalmente lleva a un agotamiento de las formas solubles de los nutrientes, por lo que estas acumulan en su biomasa los nutrientes y reducen la posibilidad de ser desplazadas por otros grupos de algas (Salomón *et al.*, 2020).

3.6 AISLAMIENTO Y CULTIVO

El cultivo y aislamiento de cianobacterias se constituye en una herramienta útil para identificar de forma más completa ciertas características fisiológicas y genéticas de las cepas de interés. A una mayor escala, la implementación de cultivos de cianobacterias aisladas de las poblaciones naturales se realiza con fines nutricionales, toxicológicos o biotecnológicos (Sánchez, 2001; Comba, 2009; Avendaño *et al.*, 2014).

Para el cultivo de cianobacterias en el laboratorio se recomienda la utilización de medios de cultivos selectivos para autótrofos constituidos principalmente por compuestos orgánicos, algunos minerales y ciertas vitaminas esenciales para su crecimiento, luz constante y temperatura entre 26 y 30°C son comúnmente empleadas (Soeder, 1980; en Comba, 2009). Las cianobacterias como indicadores de la calidad del agua en el embalse de Betania (Cuenca Alta del río Magdalena).

En los casos en los que se requiera mantener las cepas vivas durante prolongados periodos de tiempo, es necesaria la realización de réplicas con una frecuencia que dependerá de la especie en cultivo (González, 2009) las cianobacterias como indicadores de la calidad del agua en el embalse de Betania (Cuenca Alta del río Magdalena) (Avendaño *et al.*, 2014)

Para Ferris y Hirsch 1991, las limitaciones más frecuentes para cultivar cianobacterias se deben a los requerimientos nutricionales de las distintas cepas, los posibles errores de las técnicas utilizadas para el aislamiento y subsiguiente purificación, así como la aparición de otros organismos autótrofos y bacterias heterótrofas que dificultan la obtención de cultivos puros (Comba 2009; Avendaño *et al.*, 2014)

El aislamiento tiene como fin obtener una población de microalgas a partir de un solo

individuo, es decir, clones; esto se puede realizar desde aguas naturales preferiblemente cuando se encuentra en el denominado Bloom o florecimiento algal. El crecimiento de las algas, bajo una serie particular de condiciones ambientales en la naturaleza, no necesariamente significa que estas sean condiciones óptimas, sin embargo, los primeros ensayos para aislar el alga se realizan con los parámetros que se encuentra en su medio natural, lo cual es un buen punto de comienzo (Leal, 1998; Vásquez, 2001; Clemente, 2021).

Los cultivos de microalgas son considerados una tecnología de mediana complejidad, con desarrollo en escala de plantas pilotos (Flotats *et al.*, 2011; en Yunga, 2018) Al tratarse de organismos vivos involucran una serie de parámetros (nutrientes, luz) que deben ser considerados, evaluados, determinados y medidos para realizar con éxito un cultivo. Además, cambian óptimos según la especie cultivada (Grobbelaar, 2004; Richmond, 2004; Park *et al.*, 201).

Así mismo, los cultivos presentan una gran variedad de diseños, clasificándose en 2 grandes grupos: sistemas abiertos y cerrados; cada uno con una variedad importante de diseños diferentes (Borowitzka, 1999; Contreras *et al.*, 2003; Tredici, 2004) el tipo de cultivo y la especie a utilizar dependerá entre otros, del objetivo que se quiera conseguir (Merida *et al.*, 2013)

3.6.1 Métodos de aislamiento

La finalidad de aislar microalgas es la de obtener cultivos mono específicos a partir de un solo individuo (célula, filamento o quistes), que en este caso se definen como cultivos clonales o iniciados con varios organismos de la misma especie. Estos cultivos pueden contener bacterias o ser libre de ellas y en el segundo caso se definen como cultivos anexicos (Arredondo y Voltolina, 2007; Arredondo *et al.*, 2017).

Existen varios métodos de aislamiento que depende de las dimensiones de las microalgas de su movilidad y de sus morfologías.

3.6.2 Aislamiento con micropipeta

Este método se recomienda para células de tamaño mayor a 10 μm , como son quistes, esporas, colonias o filamentos. La idea es separar una sola célula con ayuda de un

microscopio y una pipeta de Pasteur preparada como micro capilar (Arredondo y Voltolina, 2007; Arredondo *et al.*, 2017).

3.6.3 Aislamiento por dilución seriada

Este método se emplea principalmente en muestras de fitoplancton con alta concentración en una especie de microalgas en particular y cuando la célula de interés tiene un tamaño inferior a 10 μm (Andersen y Kawachi, 2005; Arredondo y Voltolina, 2007; Arredondo *et al.*, 2017).

3.6.4 Aislamiento por estría en agar

Varios tipos de micro algas pueden ser aisladas, por esta técnica, incluyendo clorofitas, diatomeas bentónicas, flageladas y algunas filamentosas (Schwartz , 1975) El método se recomienda para micro algas que midan 10 μm o menos. Este método se emplea para purificar cultivos contaminados con otros microorganismos. No todas las especies se pueden mantener en medio sólido, especialmente especies flageladas y algunas diatomeas (Anderse y kawachi, 2005; Arredondo y Voltolina, 2007; Arredondo *et al.*, 2017).

3.7 FASE DE CRECIMIENTO DE LAS CIANOBACTERIAS

Las fases de crecimiento corresponden al estado nutricional de las células. La duración de cada fase puede acortarse, alargarse o apenas reconocerse dependiendo de diversos factores como: temperatura, fuente de luz, composición del medio de cultivo, tamaño del inóculo y estado fisiológico de la microalga (Fulks y Main, 1991; Paniagua *et al.*, 1989; Perez, 2015) En condiciones ideales de cultivo, las microalgas presentan cinco fases de crecimiento, las cuales se suscitan progresivamente en el cultivo (Perez, 2015) (Figura 5)

1. Fase lag: o fase de adaptación: el comportamiento inicial depende de las condiciones de las células del inóculo, de las cuales depende también el éxito del nuevo cultivo. Cuando las células del inóculo no se encuentran en condiciones metabólicas adecuadas se presenta una fase de retardo del crecimiento, por lo cual el cultivo no será exitoso. Los cambios de las condiciones ambientales como temperatura, iluminación y pH también pueden causar un retardo del crecimiento en la fase inicial de un cultivo.

2. Fase de aceleramiento: en esta fase, diferentes componentes estructurales se incrementan secuencialmente, iniciando con el RNA (por sus iniciales en inglés ácido ribonucleico), seguido de las proteínas y del peso individual. La concentración celular es generalmente la última que muestra este incremento.

3. Fase exponencial: durante este periodo la velocidad de crecimiento adquiere su valor máximo y, en vista de la falta de factores limitantes, permanece aproximadamente constante. Por este motivo, la concentración celular aumenta rápidamente, aunque en general no se alcanzan valores muy elevados.

4. Fase de desaceleración: en esta fase se empieza a notar el efecto de una menor disponibilidad de uno de los factores que regulan el crecimiento, por lo cual las condiciones de cultivo son sub-óptimas. En consecuencia, la tasa de división celular disminuye, aunque, en vista del alto número de células, la concentración celular alcanza su máximo valor. En este periodo la composición bioquímica de la biomasa cambia de manera opuesta a la mencionada para la fase de aceleración.

5. Fase estacionaria: durante esta fase las condiciones de cultivo son limitantes y la natalidad es igual a la mortalidad, por lo cual la concentración celular y los componentes de la biomasa permanecen sin cambios relevantes. Este comportamiento se debe a la baja concentración de algún nutriente esencial o al alto valor del pH, con consiguiente poca disponibilidad de sustrato fotosintético, o a una excesiva concentración de oxígeno, aunque con frecuencia el motivo más importante es la pobre penetración de la luz causada por la alta concentración celular (efecto de auto sombreado). Otro factor que puede limitar el crecimiento es la excreción de productos catabólicos al medio de cultivo.

6. Fase de muerte: la tasa de mortalidad es superior a la de natalidad, por lo cual la concentración disminuye. Además, se registra una disminución de la biomasa unitaria como resultado de un incremento en la proporción entre respiración y fotosíntesis y a la ausencia de nutrientes, que conlleva a la muerte o lisis celular (Arredondo y Voltolina, 2007; Arredondo *et al.*, 2017).

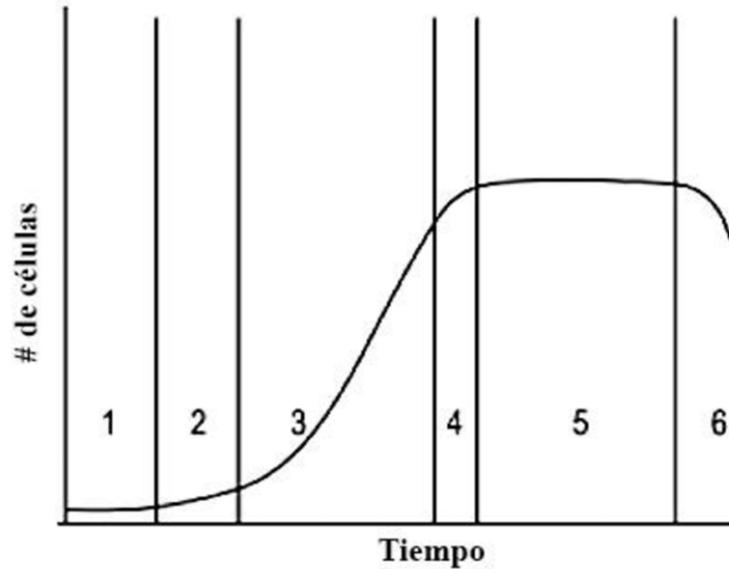


Figura 5. Curva de crecimiento típica, en la cual se muestran las diferentes fases, marcadas como: 1 fase lag; 2 fase de aceleramiento; 3 fase exponencial; 4 fase de desaceleración del crecimiento; 5 fase estacionaria; 6 fase de muerte. Arredondo y Voltolina, 2007 en Arredondo *et al.*, 2017.

3.8 CONDICIONES DE CULTIVO

Las cianobacterias requieren para su correcto crecimiento un balance adecuado de diferentes nutrientes y condiciones ambientales. Los factores que más influyen en la producción son: Luz, temperatura, pH, salinidad, fuente de carbono, nutrientes del medio de cultivo, características del inóculo, agitación, evaporación y contaminación celular (Arredondo y Voltolina, 2007; Arredondo *et al.*, 2017; Fernández Futuri, 2018)

3.8.1 Iluminación

La luz es el factor de producción más importante (Richmond, 2008; Fernández Futuri, 2018; Arredondo y Voltolina, 2007; en Arredondo *et al.*, 2017) es considerado el factor limitante cuando se trata de cultivo de microorganismos fotosintéticos. El aporte, distribución y utilización de la luz es un aspecto de mayor importancia en la producción de biomasa microalgal (Abalde *et al.*, 1995; Arredondo y Voltolina, 2007; en Arredondo *et al.*, 2017; Fernández Futuri, 2018) Es recomendable que la iluminación se lleve a cabo por medio de lámparas fluorescentes o de tipo led. En la etapa de desarrollo inicial de la microalga se prefiere usar intensidad luminosa entre 30-40 $\mu\text{mol fotonos m}^{-2} \text{s}^{-1}$ son los más utilizados por que proporcionan más espacio útil, estos alcanzan mejor el rango de longitud

de onda (400-700 nm) necesario para la fotosíntesis (Plasencia, 2012; Fernández Futuri, 2018) Una vez que el cultivo se desarrolle y ya en la etapa de mantenimiento prolongado, se deben emplear intensidades más bajas, entre 8-12 μmol fotones $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Schulze *et al.*, 2014; Arredondo *et al.*, 2017) los fotoperiodos más recomendados son 12:12 o 10:14h luz: oscuridad, la mayoría de las microalgas se desarrollan bien en ambos. (Arredondo *et al.*, 2017; Fernández, 2018) Las cianobacterias pueden crecer entre 20°C y 37°C, pero su temperatura óptima de crecimiento es entre 29°C y 35°C; de noche su crecimiento es mínimo o casi inexistente (Ochoa Andrade, 2017) las investigaciones muestran que las temperaturas inferiores a 17°C y superiores a 38°C limitan su crecimiento (Ochoa , 2017).

La temperatura es un parámetro del cultivo que presenta una estrecha relación con el resto de los parámetros, sobre todo con la luz y los nutrientes. La temperatura óptima del cultivo depende principalmente de microalga que se emplee y de sus características, pero por otra parte el valor óptimo puede variar en función de los valores de los demás parámetros. Así la temperatura óptima en condiciones naturales generalmente no coincide con la temperatura óptima en condiciones de cultivo debido a que los parámetros de cultivo difieren a su vez de los que se dan en su ambiente natural (Arredondo *et al.*, 2017; Fernández Futuri, 2018)

Generalmente las temperaturas de cultivo en condiciones naturales varían desde 10 a 35°C y en condiciones de cultivo, entre 16°C y 26°C aproximadamente. Una temperatura no adecuada al cultivo, afecta la tasa de metabolismo y por lo tanto su crecimiento y reproducción. Uno de los aspectos de mayor influencia en la temperatura óptima es el grado de iluminación. Con niveles de iluminación bajos la temperatura óptima presenta valores menores que cuando la iluminación es alta. El punto de saturación lumínica se alcanza a valores menores cuando la temperatura es baja, y viceversa. Existe un nivel de iluminación óptimo para cada temperatura de cultivo (Abalde *et al.* 1995; Arredondo y Voltolina, 2007; Arredondo *et al.*, 2017; Fernández, 2018)

Una excesiva intensidad de iluminación puede conducir a la fotooxidación, mientras que bajos niveles son limitadores de crecimiento de las microalgas. Esto es concordante con lo sostenido por (Walter *et al.*, 2011 y Bezerra *et al.*,2012) quienes además sostienen, que

el requerimiento de luz es uno de los parámetros más importantes para el desarrollo de los cultivos de microalgas, la correcta provisión de luz es esencial, debiendo ajustarse en términos de intensidad, duración y longitud de onda. Se ha argumentado que las microalgas, debido a los cambios rápidos y extensos en la iluminación ambiental a la que están expuestas, exhiben una notable capacidad de fotoaclimatación. Este fenómeno se encuentra vinculado a una serie de cambios interrelacionados a nivel físico, biofísico, bioquímico y fisiológico, los cuales asisten a las células en la optimización del aprovechamiento de la luz disponible (Cordero y Gonzalez, 2023).

3.8.2 Aireación y agitación

En cultivos de volúmenes pequeños (1-2L) no es necesario una aireación, una agitación manual diaria es suficiente en cultivos a mayor escala, la aireación debe ser leve durante la fase inicial de crecimiento (hasta 1-2 días después de la inoculación) que puede ser aumentada, dependiendo de la sensibilidad de la especie. Cuando aumenta la concentración celular del cultivo con esto se logra una dispersión efectiva de los nutrientes, se mejora la disponibilidad luz para las células y se aporta CO₂ ayudando a estabilizar el pH, Así mismo, se mantiene en suspensión las algas evitando una estratificación térmica y el cultivo es más uniforme al momento de la cosecha (Arredondo y Voltolina, 2007; Arredondo *et al.*, 2017).

3.8.3 pH

El pH determina la solubilidad del CO₂ y los minerales, la distribución del carbono inorgánico del medio que influye en el metabolismo de las microalgas, si llega a aumentar, puede ocasionar efectos adversos como la deficiencia de elementos traza; ocasionalmente el crecimiento fotosintético de las microalgas, si este aumenta es debido al consumo de iones HCO₃⁻ que disocia a CO₂ que da el carbono necesario para el crecimiento de las microalgas, al mismo tiempo se acumula OH que ocasiona un aumento, por otra parte la disminución del pH < 6 es debido a la alta adsorción de NH₄⁺, y se requiere un ajuste del mismo dependiendo del medio utilizado; los niveles de pH se mantienen y

se controlan por el equilibrio entre la fuente de carbono inorgánico como el CO_2 , HCO_3^- este último controla el pH recomendado para fines de producción entre 9 y 11 (Beltrán *et al.*, 2017).

3.8.4 Salinidad

La concentración de sales minerales disueltas tanto en agua dulce como en agua de mar, puede afectar el crecimiento de las microalgas en función de su actividad osmótica. El efecto de la salinidad adquiere mayor influencia cuando se relaciona con otras variables, como la temperatura, luz, fuente de nitrógeno y concentración de nutrientes (Fábregas *et al.*, 1986; Fernández Futuri, 2018) los valores extremos de salinidad afectan negativamente las tasas de fotosíntesis, respiración y crecimiento de las microalgas marinas (Helm *et al.*, 2006) Mientras que la exposición a medios con bajas salinidades ocasiona el hinchamiento de las células e incluso su explosión, los medios hipertónicos producen la deshidratación de las mismas (Richmond, 2008; Fernández Futuri, 2018)

3.8.5 Medios de cultivo

Los medios de cultivo deben proveer los requerimientos necesarios para la especie que se desea cultivar en cuanto a agua, macro y micronutrientes, nitrógeno, un adecuado pH, en ciertos casos vitaminas y hormonas. Los compuestos químicos usados en la preparación deben ser de buena calidad. Las proporciones de nutrientes en el medio de cultivo son de mucha importancia para el desarrollo de las microalgas. Es necesario considerar que para que sean efectivos los medios de cultivo se debe precisar las cantidades que necesitan las microalgas para su desarrollo (Parra, 2015).

Existe una diversidad grande de medios de cultivo, sin embargo, todos coinciden en fuentes de nitrógeno, fósforo, metales traza con solución quelante y vitaminas (Romo, 2002; Mamani, 2018)

Durante la producción de microalgas es muy importante seleccionar un medio de cultivo químico y económicamente adecuado para su utilización en diferentes volúmenes de

producción, cuando se trabaja en volúmenes grandes se puede usar fertilizantes de bajo costo que aseguren concentraciones celulares altas sumadas a una calidad nutricional alta para ser usado como alimento vivo (Gómez y Subero 2011; Mamani, 2018).

3.8.5.1 Medio F/2

Es un medio enriquecido que es generalmente fortalecido cuando se le agregan nutrientes como nitrógeno, fósforo, hierro y otros. Muchos medios enriquecidos y sintéticos han sido desarrollados para el cultivo de algas microscópicas planctónicas, que han crecido exitosamente en estos medios. El medio F/2 Guillard (Tabla 1), es utilizado para el cultivo de un gran número de especies algales que crecen sin dificultad (Stein, 1973; en Vásquez, 2001) Los nutrientes y el agua son esterilizados en autoclave por separado, después del ajuste del pH a 7,4, sirve para aislar y mantener microalgas (Vásquez, 2001; Zevallo, 2010).

TABLA 1. Solución Básica de nutrientes para medio F/2.

MACRONUTRIENTES		MICRONUTRIENTES		VITAMINAS	
NaNO ₃	75 mg	Na ₂ EDTA	4.36 mg	Cianocobalamina (B12)	0.5mg
PO ₄ H ₂ Na.H ₂ O	5 mg	Cl ₃ Fe.6H ₂ O	3.15 mg	Tiamina HCl (B1)	0.1 mg
SiO ₃ Na ₂ .9H ₂ O	15-30 mg	SO ₄ Cu.5H ₂ O	0.01 mg	Biotina (Vit. H)	0.5 mg
El silicato es solo para las diatomeas		SO ₄ Zn.7H ₂ O	0.022 mg		
		Cl ₂ Co.6H ₂ O	0.01 mg		
		Cl ₂ Mn.4H ₂ O	0.018 mg		

(Vásquez,2001, modificado por Zevallo, 2010).

3.8.5.2 Medio BG11

De acuerdo con Rippka (1988 y Leal et al., 2012), este medio de cultivo se recomienda especialmente para el cultivo de cianobacterias, destacándose por su elevada concentración de nitrato de sodio (17 mM). Además, incluye sales de calcio, magnesio, cobre, manganeso, zinc, molibdeno, borato y EDTA, como se detalla en la (Tabla 2)

TABLA 2. Solución Básica de nutrientes para medio BG11.

REACTIVOS BG11 MODIFICADO	CANTIDAD
(Vf=1000ml)	(Vf=1000ml)
Fosfato dipotásico trihidratado	0,04 g
Sulfato de magnesio heptahidratado	0,075 g
Cloruro de calcio dihidratado	0,036 g
Carbonato de sodio	0,04 g
Solución 1 (Vf=250 ml)	5 ml

REACTIVOS BG11 MODIFICADO	CANTIDAD
Citrato de amonio y hierro (III)	0,3 g
Ácido cítrico monohidratado	0,3 g
Solución 2 (Vf=250ml)	5 ml
Magnesio Titriplex® dihidrato	0,05 g
Solución 3 (Vf=250ml)	1 ml
Ácido bórico	0,72 g
Cloruro de manganeso tetrahidratado	0,45 g
Sulfato de zinc heptahidratado	0,056 g
Molibdato de sodio dihidratado	0,098 g
Sulfato de cobre (II) pentahidratado	0,020 g
Nitrato de cobalto (II) hexahidratado	0,012 g
Solución 4*	
Nitrato de sodio	10 ml
Solución 5*	
Bicarbonato de sodio (1 M)	10 ml
(Rippka, 1988)	

3.9 CIANOTOXINAS PRODUCIDAS POR CIANOBACTERIAS

La característica más llamativa de las cianobacterias es su capacidad para producir metabolitos secundarios que son altamente tóxicos para otros organismos. Las cianotoxinas constituyen un grupo diverso de compuestos tanto química como toxicológicamente, que se pueden dividir en toxinas con efectos hepatotóxicos, neurotóxico, citotóxicos y dermatotóxicos (Sivonen y Jones, 1999; Bell y Codd, 1994; Codd *et al.*, 2005; Msagati *et al.*, 2006; Mankiewicz-Boczek *et al.*, 2011; Andrinolo, 2017) han contribuido significativamente al estudio de cianotoxinas, destacando entre ellas las microcistinas (MC) y la cilindrospermopsina (CYN) debido a su amplia distribución y toxicidad. A pesar de estos avances, la comunidad científica todavía no ha logrado descubrir por qué las cianobacterias producen toxinas. Es importante destacar que todas estas cianotoxinas provocan efectos adversos en los seres humanos (García, 2009).

Las neurotoxinas, como la anatoxina (ANTX) y la saxitoxina (STX), pueden desencadenar disfunciones respiratorias y, en casos graves, llevar a la parálisis de los músculos respiratorios, lo que puede resultar en la muerte. Por otro lado, las hepatotoxinas, como la microcistina (MCS), la cilindrospermopsina (CYN) y la nodularina, afectan principalmente al hígado, además de otros órganos (McGregor *et al.*, 2012).

Estos dos grupos de toxinas representan un alto riesgo para otros organismos, ya que son

responsables de numerosos envenenamientos en animales y seres humanos que entran en contacto con floraciones tóxicas (Vasconcelos *et al.*, 2011) Además, existen otras toxinas, como la debromoaplysiatoxina y la lyngbyatoxina, que pueden causar irritación aguda en la piel y las membranas mucosas, y se han identificado como potentes promotores de tumores cancerígenos. Existe una sospecha de que la exposición prolongada a concentraciones bajas de microcistina (MCS) o cilindrospermopsina (CYN) en el suministro de agua potable podría representar un posible factor de riesgo en el desarrollo de ciertos tipos de cáncer (McGregor *et al.*, 2012).

3.10 CIANOTOXINAS Y SU EFECTO EN ORGANISMOS ACUÁTICOS

Las cianotoxinas pueden ejercer impactos diversos en los organismos del zooplancton. Es importante resaltar que su toxicidad es generalmente baja en moluscos y crustáceos, lo que los convierte en posibles vectores de toxicidad. En el caso de los peces, los efectos tóxicos pueden variar según la especie y sus hábitos alimenticios. Sin embargo, aún existe un conocimiento limitado sobre los efectos tóxicos de las cianotoxinas en mamíferos (Vasconcelos, 2001; Uriza *et al.*, 2017) es relevante notar que las cianotoxinas pueden acumularse en diversos organismos acuáticos y propagarse a través de la cadena alimentaria (Ibelings & Chorus, 2007; Bordet, 2019) Por lo tanto, (Best *et al.*, 2003) identificó que la exposición de trucha arcoíris a cianobacterias tóxicas productoras de microcistina provocaba un desequilibrio en la regulación osmótica. Este desequilibrio se originaba a partir de la ingesta de agua, lo que resultaba en un aumento del volumen de fluido en el intestino y una incapacidad para eliminar el exceso de agua.

Por otro lado, (Guzman y Páez, 2015) describieron las alteraciones histológicas observadas en las branquias y el hígado de *O. niloticus* en relación con la exposición a microcistinas. Sus hallazgos revelaron que el 100% de las muestras obtenidas en el Centro de Ciencias Biológicas y de la Salud (CCBS) entre marzo y octubre de 2013 presentaban alteraciones histológicas en la estructura tisular y la morfología celular, tanto en las branquias como en el hígado. Estas alteraciones estaban estrechamente relacionadas con la presencia de microcistinas, siendo más evidentes durante las épocas de aguas altas. La producción de toxinas varía a lo largo del ciclo de vida del organismo.

Se ha observado que las poblaciones senescentes, por ejemplo, aquellas con 30 días de cultivo, pueden generar entre 8 y 15 veces más toxinas que las poblaciones de un día (Dyble *et al.*, 2006; Carvajal, 2011) en muchos casos, las condiciones ambientales de estrés pueden estimular la producción de estas toxinas. Además, es importante destacar que, incluso dentro de una misma especie de cianobacteria, algunas cepas pueden producir toxinas mientras que otras no (Quesada, 2004; García, 2009; Carvajal, 2011)

Un ejemplo de esta dinámica se evidencia en el estudio de Chamorro y Martínez (2023), realizado en el período de marzo a junio de 2018 en un estanque de producción de la estación CINPIC de la Universidad de Córdoba. Este estudio identificó un florecimiento algal nocivo y evaluó los efectos citopáticos en el hígado y las branquias de *O. niloticus*, causados por las microcistinas. Los resultados se obtuvieron mediante análisis histopatológicos que determinaron la frecuencia de aparición y la severidad de las lesiones en hígado y branquias asociadas a la cantidad de copias del gen *mcyE* evaluado a partir de PCR en tiempo real

Un estudio llevado a cabo por (Barrios y Otero, 2020) analizó las alteraciones histológicas relacionadas con la presencia de microcistinas (MC) en las branquias y el hígado de bocachicos (*Prochilodus magdalenae*) en el Complejo Cenagoso del Bajo Sinú, Córdoba (CCBS), Colombia. La investigación abarcó el período comprendido entre septiembre de 2017 y marzo de 2018 en las Ciénagas San Sebastián y Momil. A través de los hallazgos histológicos, se evaluó la frecuencia de aparición y la gravedad de las alteraciones, tanto las no específicas como las específicas de la intoxicación por MC. Estas alteraciones se clasificaron en niveles de eventual (grado I), leve (grado II), grave (grado III) y severo (grado IV). El estudio reveló una alta prevalencia de lesiones histológicas severas en las branquias y el hígado relacionadas con la intoxicación por MC. Estas lesiones mostraron un aumento durante el período de aguas altas en ambos lugares de muestreo, lo que confirma que las condiciones ambientales y el Índice de Estado Trófico (TSI) representan factores de riesgo significativos para el daño orgánico en los bocachicos.

La mortalidad causada por cianobacterias contribuye al deterioro de la calidad del agua debido a la acumulación de compuestos nitrogenados y fosfatados generados por la descomposición de esta materia orgánica. Los animales que dependen de fuentes de agua

contaminada también se ven afectados, experimentando principalmente trastornos hepáticos, gastrointestinales, neurológicos y alérgicos, lo que en última instancia puede llevar a la fatalidad. La sintomatología varía ampliamente, dependiendo de la intensidad de la contaminación y el tipo de toxina involucrada.

Además, las cianobacterias pueden representar un riesgo para la salud pública cuando se utiliza agua contaminada para consumo humano o actividades recreativas. El consumo de este tipo de agua, sin el tratamiento adecuado para la eliminación de microorganismos y sus toxinas, puede dar lugar a enfermedades agudas o crónicas, dependiendo de la dosis y la duración de la exposición. Se han informado casos en aumento de enfermedades humanas relacionadas con el contacto con agua contaminada por microcistinas. Saker *et al.*, (2005) identificó la presencia de microcistinas producidas por *Microcystis aeruginosa* en suplementos alimenticios para humanos elaborados a partir de cuerpos de agua dulce que habían experimentado floraciones de esta cianobacteria.

Se ha establecido provisionalmente una Ingesta Diaria Tolerable (IDT) de 0,04 µg/Kg/día de equivalentes de MC-LR. En relación con este valor guía, se considera que la exposición a las microcistinas (toxinas producidas por cianobacterias) a través del consumo de alimentos podría representar aproximadamente el 20% de la ingesta total. Esto se debe al reconocimiento de su acumulación en ciertos tejidos de plantas, moluscos y peces, dado que las cianobacterias son un componente importante en la dieta de muchos peces cíclidos tropicales y ciprínidos (Castenholz y Norris, 2005).

Se han realizado diversos estudios de campo que evidencian la acumulación de microcistinas en peces provenientes de lagos con floraciones de cianobacterias tóxicas, incluso en periodos de baja densidad de fitoplancton. En algunos casos, los niveles detectados se aproximan significativamente a la Ingesta Diaria Tolerable (Ruffino, 2021). Los peces, al ser particularmente susceptibles a las intoxicaciones por microcistinas y propensos a acumularlas, han sido objeto de un aumento notable en la cantidad de publicaciones científicas en los últimos años. Estas investigaciones abordan los efectos fisiopatológicos a nivel macroscópico, histológico, ultraestructural y metabólico en peces, y estos efectos varían según la especie piscícola, lo que justifica la necesidad de su revisión (Castenholz y Norris, 2005; Cheng,2014).

En algunos casos, se dispone de información sobre la incidencia de cáncer de hígado en regiones específicas de China, y se han registrado fallecimientos causados por la exposición a agua contaminada por microcistinas (Chen *et al.*, 2009; según Forero, 2019) la intoxicación más grave por cianotoxinas a nivel mundial ocurrió en 1996 en Brasil, donde 100 de los 131 pacientes en diálisis desarrollaron insuficiencia hepática aguda debido a la presencia de estos microorganismos en el agua utilizada para el tratamiento médico; lamentablemente, 52 de estos pacientes fallecieron (Forero, 2019)

En Australia, un florecimiento de algas nocivas afectó una extensión de 1000 km de los ríos Barwon y Darling en New South en 1991. Ante esta situación, el gobierno declaró el estado de emergencia para evitar que los residentes y sus animales domésticos consumieran agua de estos ríos. Se restringió el uso exclusivamente a tanques de agua de lluvia y se implementaron equipos de emergencia para la filtración del agua (Baker y Humpage, 1994; según Forero, 2019)

En Colombia, se han identificado cyanoprokaryotes y se ha detectado la presencia de microcistinas en el antiguo delta del río Sinú, ubicado en el departamento de Córdoba (Galeano y Villalobos, 2011, Forero 2019). Además, se ha informado sobre la presencia de cianobacterias productoras de toxinas en el río Cesar, el cual se utiliza como receptor de aguas residuales tratadas de las lagunas de estabilización en la Estación Salguero. Estas cianobacterias están estrechamente relacionadas con las zonas del río que presentan una mayor contaminación orgánica (Rivera y Gómez, 2010) (Tabla 3).

En el año 2016, en el Complejo Cenagoso del Bajo Sinú (CCBS) se llevó a cabo un informe significativo sobre la presencia de cianobacterias potencialmente tóxicas. En particular, se identificaron como las más dominantes a *Microcystis wesenbergii*, *Dolichospermum circinalis*, *Microcystis panniformis* y *Planktothrix isoethrix* en la ciénaga de Momil. En la ciénaga de San Sebastián, por otro lado, se destacaron *Oscillatoria limosa*, *Aphanocapsa delicatissima*, *Coelosphaerium evidenter-marginatum* y *Synechocystis aquatilis*. En ese mismo año, se realizó un estudio exhaustivo en el complejo cenagoso del bajo Sinú, donde se logró identificar y cuantificar las cianobacterias tóxicas. En dicho informe, se detectaron microcistinas (MC) en el agua, y se encontraron concentraciones alarmantes de $1,524 \pm 0,548 \mu\text{g.L}^{-1}$ en agua y $0,109 \pm 0,031 \mu\text{g.g}^{-1}$ en tejido muscular de tilapia nilótica (O.

niloticus). Estos valores superaron hasta cinco veces la ingesta diaria tolerable (IDT) establecida por la Organización Mundial de la Salud (OMS).

Los resultados obtenidos por Herazo (2016) en Colombia son particularmente preocupantes, ya que indican un riesgo significativo para la salud. Además, Guzman y Paéz (2015) informaron sobre alteraciones histológicas en el hígado y branquias de tilapia (*O. niloticus*) en el CCBS, clasificadas como inespecíficas y específicas, lo que subraya la importancia de abordar y gestionar de manera efectiva la presencia de cianobacterias tóxicas en este ecosistema acuático

TABLA 3. Características generales de las cianotoxinas.

<i>Toxinas</i>	<i>Punto orgánico de acción</i>	<i>Genero de Cyanobacteria</i>
PÉPTIDOS CÍCLICOS (HEPATOTOXINAS)		
Microcistinas	Hígado	<i>Mycrocystis, Anabaena, Planktothrix (Oscillatoria), Nostoc, Hepalosiphon, Anabaenopsis</i>
Nodularina	Hígado	<i>Nodularia</i>
ALCALOIDES (NEUROTOXINAS)		
Anatoxinas	Sinapsis Nerviosa	<i>Anabaena, Planktothrix (Oscillatoria), Aphanizomenon</i>
Aplisiatoxinas	Piel	<i>Lyngbya, Schizothrix, Planktothrix (Oscillatoria)</i>
Cilindrospermopsinas	Hígado	<i>Cylindrospermopsins, Aphanizomenon, Umezakia</i>
Lyngbyatoxin-a	Piel, área gastrointestinal	<i>Lyngbya</i>
Saxitoxinas	Nervio Axial	<i>Anabaena, Aphanizomenon, Lyngbya, Cylindrospermopsis</i>
LIPOPOLISACARIDOS (LPS)		
Dematotoxinas	Potencial irritante. Irritaciones de cualquier tejido expuesto.	Todos los géneros

(Lucena,2008)

4 MATERIALES Y METODOS

4.1 TIPO DE ESTUDIO

Se realizó un estudio de tipo descriptivo retrospectivo para la identificación y cuantificación de las cianobacterias potencialmente tóxicas en las ciénagas de Momil y San Sebastián, Complejo Cenagoso del Bajo Sinú, Córdoba, Colombia y de tipo experimental para proceder al aislamiento, purificación, y cultivo en dos tratamientos T1 (F/2) , T2 (BG11) y expresión de pigmentos fotosintéticos bajo condiciones de laboratorio.

4.2 LOCALIZACIÓN Y DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

El estudio descriptivo se realizó en el Complejo Cenagoso del Bajo Sinú (CCBS) ubicado sobre la margen derecha del río Sinú entre los 75° 35' y 75° 55' de longitud oeste y los 8° 47' y 9° 15' de latitud norte (POMCA-RS, CVS, 1998) con un área de inundación de 12.000 a 42.000 Ha entre aguas bajas y altas (Figura 6). Los puntos de muestreo seleccionados corresponden a las ciénagas de San Sebastián y Momil. La toma de muestras y su análisis se realizó en conjunto con los laboratorios de Sanidad Acuícola y Calidad de Agua y Laboratorio de Toxicología y Gestión Ambiental de la Universidad de Córdoba.

La Ciénaga de San Sebastián, se encuentra a una Latitud 9°13'26.89"N y a una Longitud de 75°46'31,44"W (Figura 7A), es el sistema lenítico más cercano al río Sinú conectado a este por el Caño Aguas Prietas. Al estar tan cerca del río, es un sistema que modifica fuertemente sus niveles, ya que cuando el CCBS disminuye su volumen, como ocurre después de noviembre, lo hace a través del Caño Aguas Prietas. Al mismo tiempo por esta vía es que el CCBS recibe importantes aportes del río cuando los niveles del mismo se ven elevados en meses de mayor producción eléctrica en el desembalsado de Urra I. Esta ciénaga está cerca del casco urbano de San Sebastián por lo que recibe directamente las aguas servidas del municipio (POMCA-RS, CVS, 1998)

La Ciénaga de Momil se encuentra ubicada al norte del Departamento de Córdoba, pertenece a la sub-región de la Ciénaga Grande del Bajo Sinú, entre las coordenadas geográficas a los 9°14'16" LN y los 75°36'30" LW, con una altura de 20 msnm (Esquema de ordenamiento territorial, Municipio de Momil 2010-2012) (Figura 7B).

Las condiciones que presenta el CCBS corresponden a un cuerpo de agua rico en materia

orgánica, en su mayoría aportada por la entrada constante de nutrientes provenientes de actividades agrícolas (Gómez y Cajiao, 1991; Salazar, 2008; Aguilera, 2011 Barrios y Otero, 2020). El continuo aporte de nutrientes que genera esta actividad favorece el desarrollo de florecimientos de cianobacterias en este cuerpo de agua, lo que lleva a modificar sus condiciones organolépticas, a reducir el oxígeno disuelto, y alterar la estética del paisaje (Estévez, 1988) lo anterior corresponde a los resultados que pueden esperarse de cualquier florecimiento de cianobacterias; sin embargo, es importante tener en cuenta que se podrían estar liberando cianotoxinas de manera continua, las cuales afectan a las poblaciones de peces y otros organismos acuáticos y constituyen un factor de riesgo para la gente que, por exposición ocupacional o recreacional, entren en contacto con ellas (Roset , 2001, Barrios y Otero, 2020)

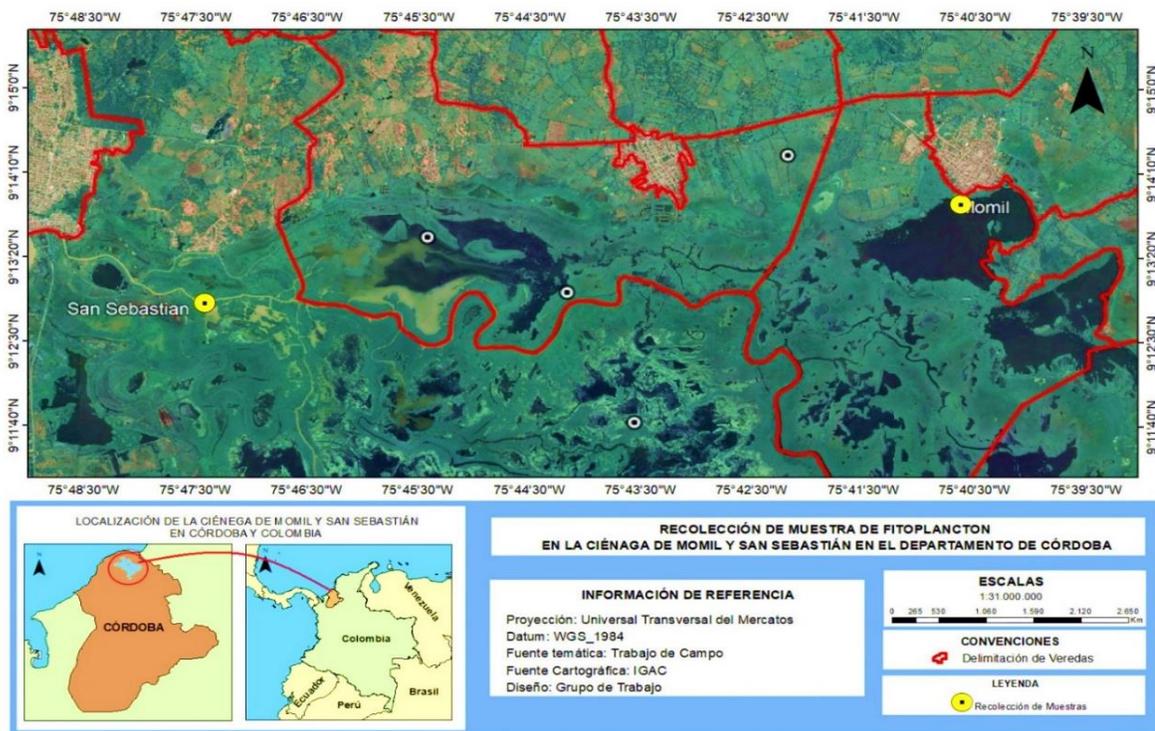


Figura 6. Localización de la Ciénega de Momil y San Sebastián, Córdoba, Colombia (fuente. U.S.G. servicio meteorológico y geológico de los Estados Unidos).

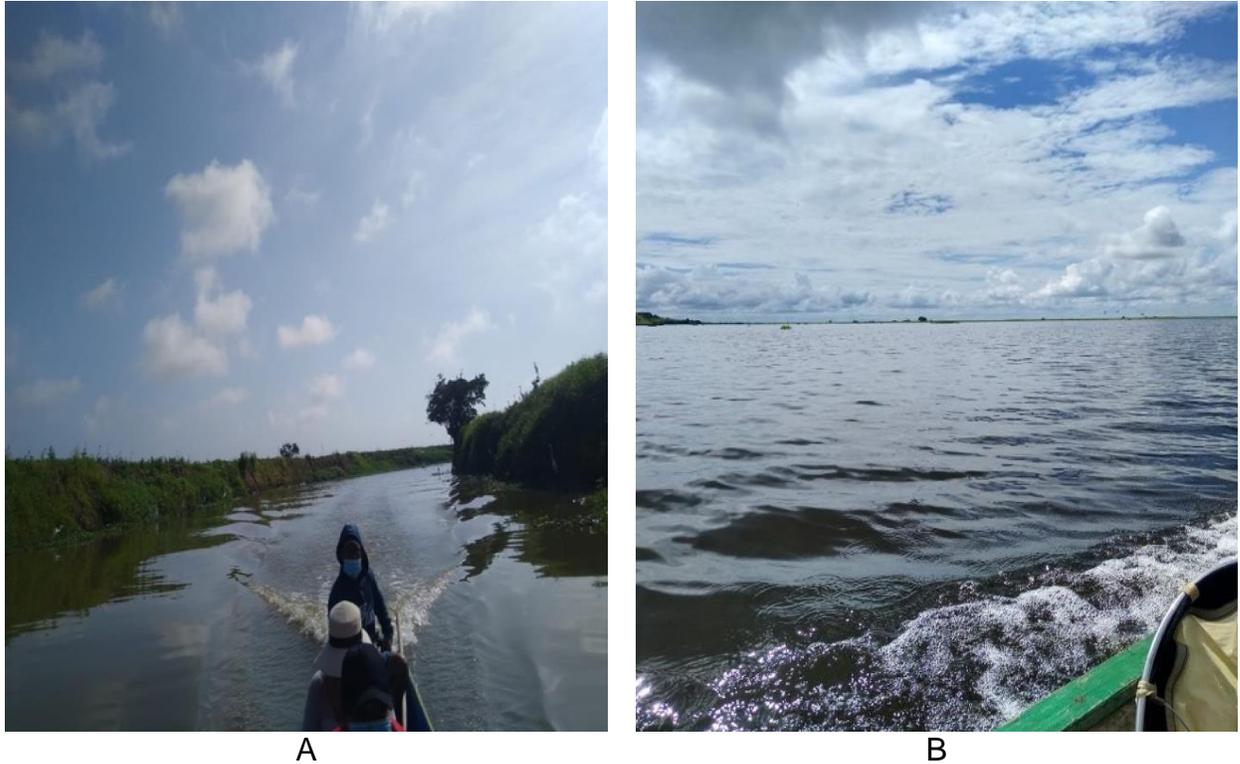


Figura 7. Vista panorámica de las Ciénagas de San Sebastián(A) y Momil(B) CCBS (Foto original, 2021).

4.3 FASE DE CAMPO

4.3.1 Tipo de muestra

Se analizaron muestras de agua colectadas en las zonas de muestreo San Sebastián y Momil, se transportaron al Laboratorio de Sanidad Acuícola y Calidad de Agua de la Universidad de Córdoba para la medición de variables de calidad de agua,

4.3.2 Establecimiento de las zonas de muestreos

Las estaciones de estudio fueron ubicadas en los corregimientos de San Sebastián y Momil el cual se estableció de acuerdo a los siguientes criterios: descarga de efluentes, intervención antrópica y proliferación de cianobacterias en la zona. De acuerdo a la fase de aguas altas y bajas que se dan en el Complejo Cenagoso del Bajo Sinú (CCBS) las estaciones de muestreo fueron establecidas en la zona limnética a nivel superficial de la columna de agua, se realizaron muestreos en los meses de febrero, marzo, abril, septiembre, octubre y noviembre de 2021.

4.3.3 Colecta de las muestras

Las muestras destinadas al estudio de calidad de agua y cualitativo de las cianobacterias se obtuvieron a partir de barridos horizontales, en la superficie del agua, con una red para plancton de 20 μm de apertura de malla, a través de la cual, se filtraron aproximadamente 2.000 L de agua (Figura 8). dos muestras de 250 mL fueron extraídas en frasco ambar, una fue fijada en Lugol y la otra se mantuvo refrigerada, para revisar al microscopio y aislar la cepa de interés.



Figura 8. Proceso de recogida de la muestra A) Arrastrate con red fitoplanctonica B) Retención de muestras; C y D Recoleccion de muestras y fijacion; E) Filtracion de las muestras; F) Muestra obtenida.

Las muestras destinadas al estudio cuantitativo de las cianobacterias se obtuvieron con una botella Ruttner de 2 L se colectó una muestra de agua superficial con presencia de

floreCIMIENTO, las muestras se mantuvieron refrigeradas y fijadas en solución Transeau (Figura 9).

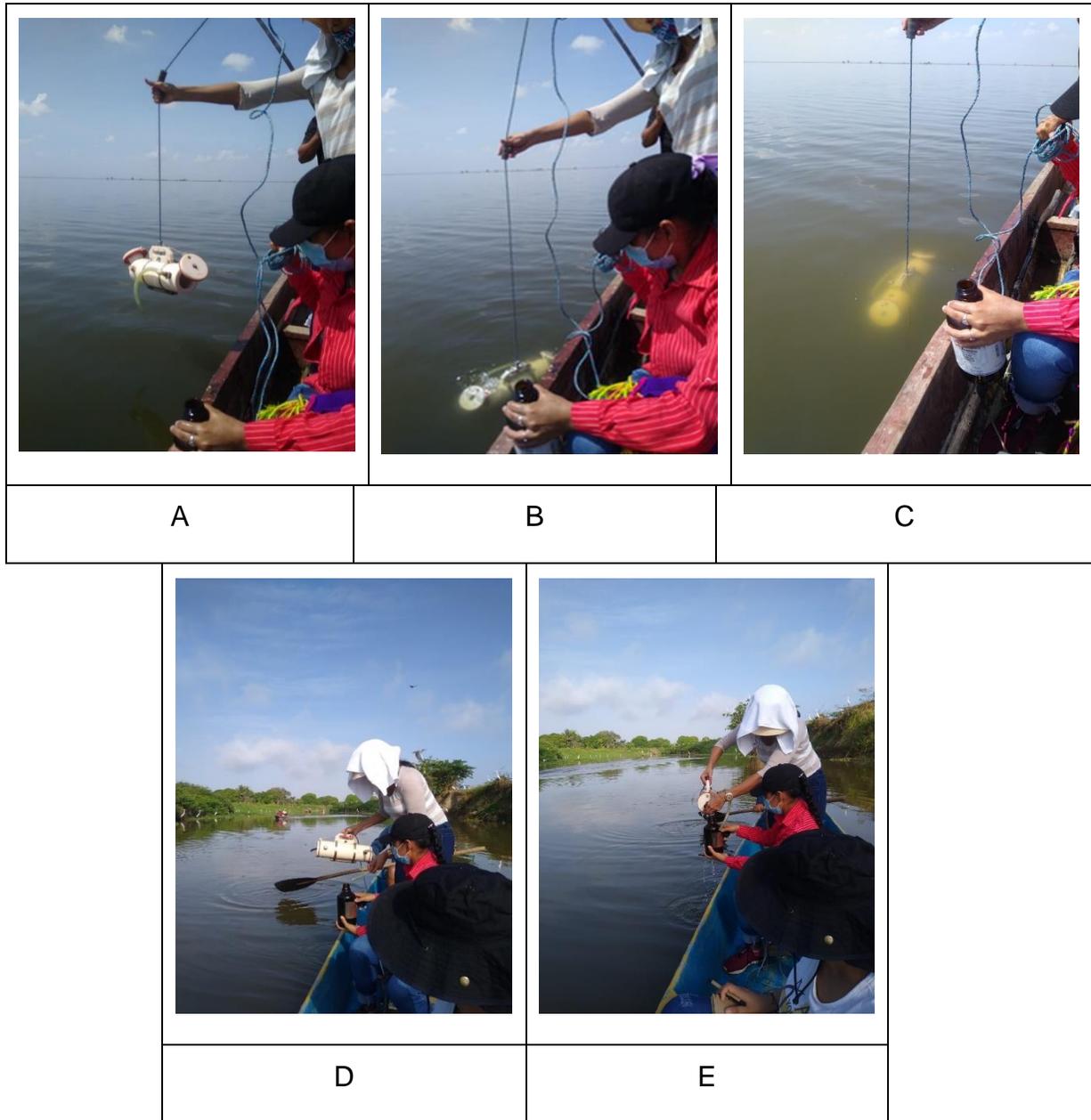


Figura 9. Toma de muestras de agua utilizando la botella Ruttner en el CCBS 2021. A) Ingreso de la botella Ruttner a la columna de agua; B) inmersión de la botella de Ruttner; C) ingreso de agua en la botella Ruttner; D) extracción de la botella Ruttner con muestra de agua; E) Depositar muestra de agua en la botella Ruttner.

4.3.4 Monitoreo de las variables físicas y químicas

El monitoreo de los parámetros limnológicos tuvo como objetivo caracterizar la calidad de agua del área de estudio, especialmente en lo que se refiere al exceso de nutrientes como

factor directamente asociado al aumento de florecimientos algales tóxicos e indicador de la calidad ambiental.

Se evaluaron las siguientes variables físicas y químicas: Transparencia (cm), pH (unidades), OD ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), Temperatura ($^{\circ}\text{C}$). Estas variables fueron tomadas *in situ* utilizando una sonda YSI 55 Standard. En cuanto a nutrientes, se evaluaron fosfatos (PO_2), nitritos (NO_2) y nitratos (NO_3).

Los datos fueron analizados con el kit de calidad de agua en el Laboratorio de Sanidad Acuícola y Calidad de Agua de la Universidad de Córdoba, con el fin de determinar cómo influyen estos factores en la proliferación de las cianobacterias (Herazo, 2016).

4.4 FASE DE LABORATORIO

4.4.1 Identificación de las especies

Para la identificación taxonómica de las cianobacterias, se utilizó un microscopio binocular marca Leica referencia DM 500 y se tuvo en cuenta características morfológicas como: diámetro, longitud, presencia ausencia de mucílago entre otras características específicas (Figura 10). Con el objetivo de confirmar la taxonomía de las especies encontradas se utilizaron claves especializadas e iconografías propuestas por Sant'Anna *et al.*, (2004); (Komarek, 2005); Crispino y Sant'Anna (2006); Silva (1999); (Rivera Ramírez, 2006).



Figura 10. Identificación de especies con manuales. A) Identificación taxonómica de cianobacterias encontradas en el CCBS; B) Manual para identificación de cianobacterias

4.4.2 Conteo de cianobacterias

Para el análisis cuantitativo, se empleó un microscopio binocular referencia Leica DM 500, en primera instancia para el conteo, se agregó un 1 ml de muestra en un gotero y se determinó el volumen de una gota de muestra dentro del mismo, luego se agregó una gota de la muestra a un porta objetos convencional y se cubrió con un cubre objetos con area conocida, previniendo de que el volumen de la gota de agua no sobrepasara los bordes de este (Vollerweider: en Ramírez, 2000) (Figura 11, Anexo 2 y 3)

El número total de organismos por gota se calculó con base en Vollerweider (Ramírez, 2000), donde:

$$\text{Organismos por gota} = \frac{\text{área cubreobjetos}}{\text{área de un transecto}} (\text{individuos hallados en los transectos}) \quad \text{Ec.1}$$

Siendo 484 mm² el área del cubreobjetos y 0,19635 mm² de área del campo visual en un aumento de 40x.

Para la transformación de los datos a cianobacterias por mililitro, se utilizó la formula (Vollerweider, 1969 en Ramírez , 2000), donde:

$$\text{Organismos por mililitro} = \frac{1 \text{ mL}}{\text{Volumen de la gota (mL)}} * \frac{\text{organismos por gota}}{1 \text{ mL}} \quad \text{Ec.2}$$

Donde, 0,04545 mL es el volumen de una gota de la muestra contabilizada.

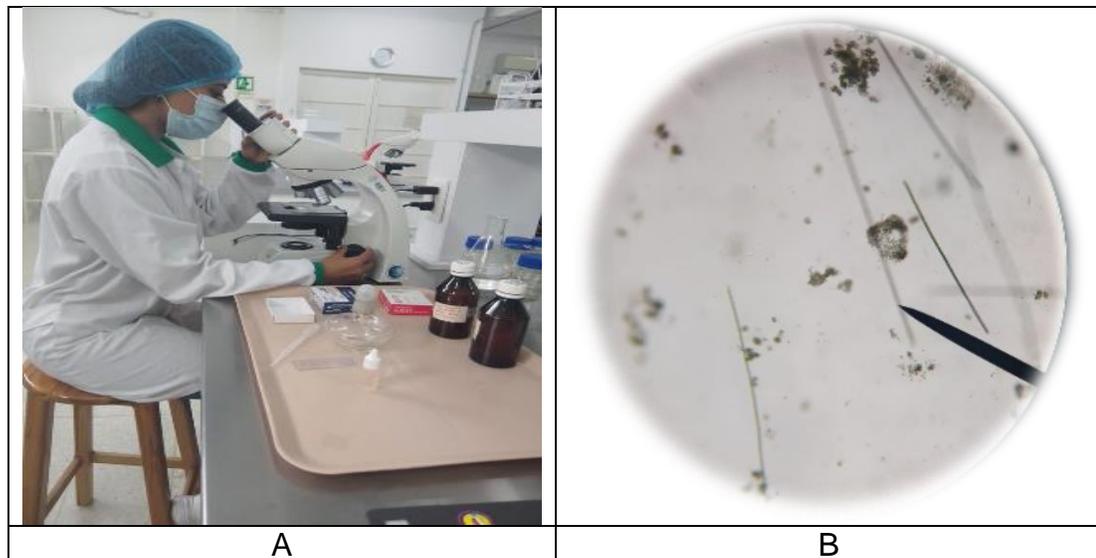


Figura 11. Observación y conteo de filamentos. A) conteo celular de las ciénagas de San Sebastian y Momil B) cianobacterias encontradas en el CCBS

4.4.3 Aislamientos de cepas de cianobacterias

Las cianobacterias se aislaron de los florecimientos presentes en los puntos habituales de muestreo en el CCBS durante la fase de campo (muestreos aguas altas y aguas bajas), a partir de la técnica de aislamiento propuesto CRIP, 2015, y empleando el medio de cultivo mineral BG-11 líquido y sólido al 1.3% suplementados con cicloheximida ($50 \mu\text{g L}^{-1}$) con el objeto de eliminar todos los organismos eucariontes (Vaara *et al.*, 1979).

La técnica propuesta consistió en separar microalgas mayores a $10 \mu\text{m}$ de diámetro en forma de filamentos (Andersen y Kawachi, 2005) este método permitió aislar una cianobacterias con la ayuda de una pipeta Pasteur con punta reducida y/o con un capilar.

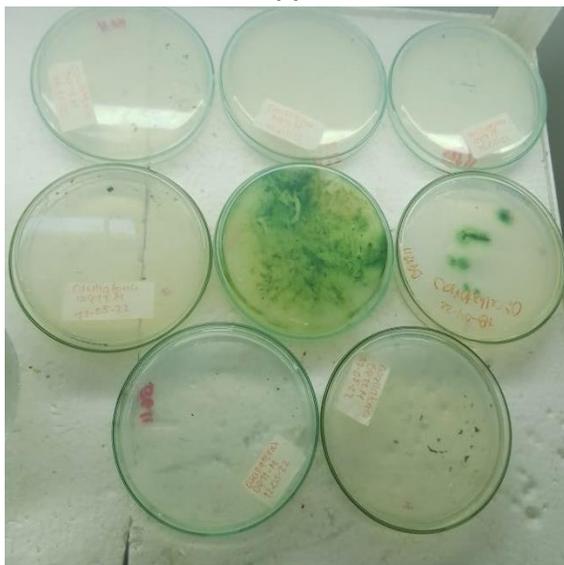
Se adicionó una gota de muestra de fitoplancton en un portaobjeto y se colocó bajo el microscopio, donde las células de interés se succionan por capilaridad con la pipeta y se pasó a un portaobjetos limpio o a una lámina de pocillos con una gota de agua estéril. La célula aislada se colocó en tubos de ensayo con 2-5 mL de medio de cultivo estéril. Se realizaron aislamiento en tubos y mediante la técnica de rayado en estrías en una caja Petri con agar. Fueron incubadas durante 4 a 8 días y posteriormente se observó al microscopio y con la ayuda del asa se seleccionaron las colonias libres de otros microorganismos, y se transfirieron a otra caja de Petri. Este proceso se realizó bajo un escrupuloso control de higiene y en un medio estéril (Figura 12, Anexo 4)



A



B



C



D

Figura 12. Proceso de aislamiento y purificación de la cepa de *O. limosa*. A) aislamiento por micropipeta; B) Aislamiento y purificación en tubos de ensayo C) Aislamiento en cajas de Petri D) Aislamiento en multiceldas

4.4.4 Cultivo de la cianobacteria *O. limosa*

El inóculo de *Oscillatoria limosa* aislada y purificada del CCBS proveniente de pequeños cultivos en multiceldas (Figura12D). fue ampliado a un volumen de 250 mL, posteriormente se volvió a ampliar el cultivo a un volumen de 500 mL escalando a 1L para obtener la mayor densidad celular. El cultivo se mantuvo en condiciones controladas de temperatura ($26 \pm 1^\circ\text{C}$), pH (8.5 unidades de pH), luz continua por medio de lámparas fluorescentes de

luz blanca y agitación constante, mediante un aireador (RESUN) modelo AC9902 con un flujo de aire de 240 L/H – 93 GPH y una capacidad de desplazamiento de 2,2 de vvm aire en 250 mL.

Se prepararon los medios de cultivos F/2 y BG11 modificado por separado y necesarios para el experimento bajo condiciones controladas de laboratorio (autoclave a 15 PSI, 121°C por 15 minutos), para su posterior uso (Anexo 5). Se realizó un diseño experimental completamente al azar, con dos tratamientos T1 (F/2 Guillard) y T2 (BG11 Modificado), 3 repeticiones (R1, R2, R3) y un total de 6 unidades experimentales (Figura 14). Cada unidad experimental estuvo conformada por un 20% de inóculo de *Oscillatoria limosa* (50mL) y un 80% (200 mL) de medio de cultivo (Figura 13). Los cultivos se evaluaron durante 20 días bajo condiciones controladas de temperatura ($26 \pm 1^\circ\text{C}$), luz continua por medio de lámparas fluorescentes de luz blanca y con aireación constante mediante un aireador arriba descrito y en el intervalo de día de por medio se tomaron las muestras a analizar.



Figura 13. Montaje del experimento con la cepa aislada del CCBS en condiciones de laboratorio.

Con el propósito de resolver los efectos de evaporación, en cada una de las replicas se mantuvo el volumen inicial (250ml), mediante la reposición con agua esterilizada, cabe destacar que ambos tratamientos fueron nutridos dos veces en el tiempo que duro el experimento, al inicio y a mitad del mismo (Figura 14) (Anexo5).

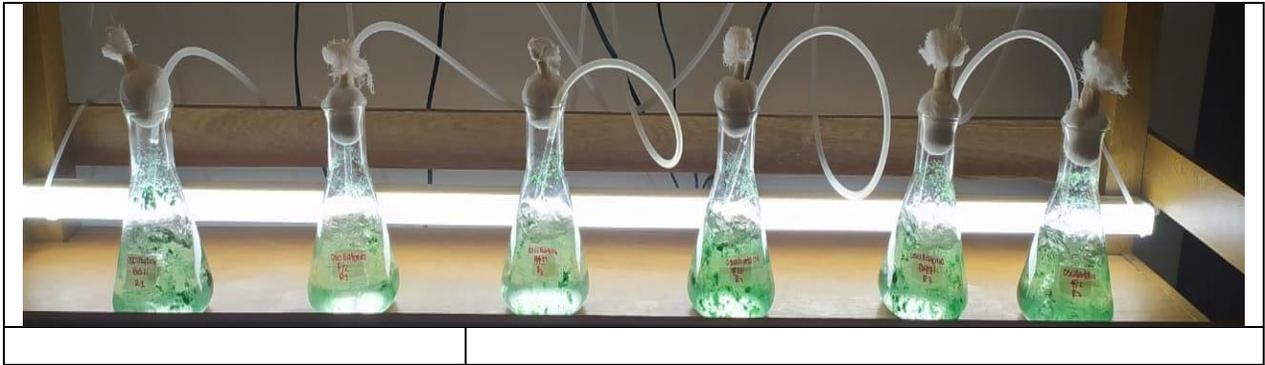


Figura 14. Cultivo de *O. limosa* replicado en dos medios de cultivo en condiciones controladas de laboratorio.

Al final el periodo del cultivo, se procedió a la medición de las variables dependientes: (DO) densidad óptica, (PS) peso seco y contenido de ficobiliproteínas de cada unidad experimental. Anexo a esta información se procesaron muestras al inicio y al final del cultivo para determinar concentración de microcistina.

4.4.4.1 Medio BG11 para cultivo de cianobacterias

Según Rippka, (1988), el medio de cultivo BG11 es considerado como uno de los medios más adecuado para el cultivo de cianobacterias, debido a su alta concentración de nitrato de sodio (NaNO_3). A pesar de sus propiedades, fue necesario modificar la formulación de la solución 4, presentada en la Tabla 4.

TABLA 4. Composición del medio de cultivo BG-Modificado

REACTIVOS BG11 MODIFICADO (Vf=1000ml)	CANTIDAD (Vf=1000ml)
Fosfato dipotásico trihidratado	0,04 g
Sulfato de magnesio heptahidratado	0,075 g
Cloruro de calcio dihidratado	0,036 g
Carbonato de sodio	0,04 g
Solución 1 (Vf=250 ml)	5 ml
Citrato de amonio y hierro (III)	0,3 g
Ácido cítrico monohidratado	0,3 g
Solución 2 (Vf=250ml)	5 ml
Magnesio Titriplex® dihidrato	0,05 g
Solución 3 (Vf=250ml)	1 ml
Ácido bórico	0,72 g
Cloruro de manganeso tetrahidratado	0,45 g
Sulfato de zinc heptahidratado	0,056 g
Molibdato de sodio dihidratado	0,098 g
Sulfato de cobre (II) pentahidratado	0,020 g

Nitrato de cobalto (II) hexahidratado	0,012 g
Solución 4*	
Nitrato de sodio	9,5 g
Nitrato de amonio	4 g
Solución 5*	
Bicarbonato de sodio (1 M)	10 mL

Fuente: Allen y Stainer 1968, Rippka et al. 1979 modificado por (Díaz Yariceth, Montalvo Alba, García Isaura, 2022)

4.4.4.2 Medio F/2 Guillard para cultivo de cianobacteria

El medio de cultivo F/2 Guillard, es un medio mineral hidrosoluble para el cultivo de microalgas marinas. La naturaleza predominante inorgánica de este medio le facilita como medio de mantenimiento de cultivos axénicos (Bold, 1965) para la preparación de este medio, se esteriliza 1 litro de agua destilada, luego se agrega 5 mL de macronutrientes, 5 mL de micronutrientes y 1 mL de vitaminas (Tabla 5).

TABLA 5. Composición del medio de cultivo F/2 Guillard.

MACRONUTRIENTES		MICRONUTRIENTES		VITAMINAS	
NaNO ₃	75 mg	Na ₂ EDTA	4.36 mg	Cianocobalamina (B12)	0.5mg
PO ₄ H ₂ Na.H ₂ O	5 mg	Cl ₃ Fe.6H ₂ O	3.15 mg	Tiamina HCl (B1)	0.1 mg
SiO ₃ Na ₂ .9H ₂ O	15-30 mg	SO ₄ Cu.5H ₂ O	0.01 mg	Biotina (Vit. H)	0.5 mg
El silicato es solo para las diatomeas		SO ₄ Zn.7H ₂ O	0.022 mg		
		Cl ₂ Co.6H ₂ O	0.01 mg		
		Cl ₂ Mn.4H ₂ O	0.018 mg		
(Vasquez,2001garita, modificado por Zevallo, 2010).					

Fuente:(Bold, 1965).

4.4.5 Variables analizadas en el cultivo de *Oscillatoria limosa*

La dinámica de crecimiento del cultivo de la especie aislada fue registrada con un seguimiento diario de densidad óptica, así mismo, se realizó la curva de crecimiento del cultivo Mukhtar, (2016) estos procesos se llevaron a cabo siguiendo protocolos específicos

4.4.5.1 Densidad óptica (DO)

Para la Densidad óptica se midió día por medio, a la longitud de onda de 650nm (Ortiz-Moreno et al., 2020) en un espectrofotómetro UV-Visible Thermo Scientific Serie GENESYS 10S con cubetas de paso óptico de 10 mm..

4.4.5.2 Determinación del peso seco (PS)

Se tomaron 5 mL de muestra del cultivo. Este volumen se filtró con papel filtro Whatman GF de 0,45 µm pre pesado (Figura 15). Previamente secados en un horno (60°C durante 24 horas) y pesados en una balanza analítica. Se sometió a un desecador durante 1 hora

y se volvió a pesar la diferencia entre el peso inicial del filtro y el peso del filtro con la biomasa dividido entre el volumen de la muestra filtrada fue el peso seco expresado en g.mL⁻¹. Los muestreos se realizaron cada día por medio, hasta el día 20.



Figura 15. A) extracción de muestras; B:C) filtración en bomba de vacío; D) secado en horno por 24 horas; E) biomasa seca de muestras tomadas.

4.4.5.3 Determinación del contenido de ficobiliproteína

El contenido de ficobiliproteína totales (PBP) se determinó por método espectrofotométrico. Se tomaron cinco mililitros de muestra y se centrifugaron durante cinco min a 10.000 xg. El sedimento se suspendió en tampón fosfato (pH 7,4) para una

posterior sonicación, con el equipo Fisherbrand™ Sonicador 505 con sonda) a una frecuencia de 20 kHz durante dos min; luego se centrifugo a 4500 xg durante cinco minutos y se tomaron 1,5 mL de la alícuota obtenida para ser leída en el espectrofotómetro (Khazi *et al.*, 2018) (Figura 16). La concentración de PC, APC y PE en mg.mL⁻¹ se calcularon a partir de las densidades ópticas a 562 nm (A₅₆₂), 652 nm (A₆₅₂) y 615 nm (A₆₁₅), usando las fórmulas propuestas (Bennett y Bogorad, 1973).

$$PC = (A_{615} - (0,474 \times A_{652}))/5,34 \quad \text{Ec.4}$$

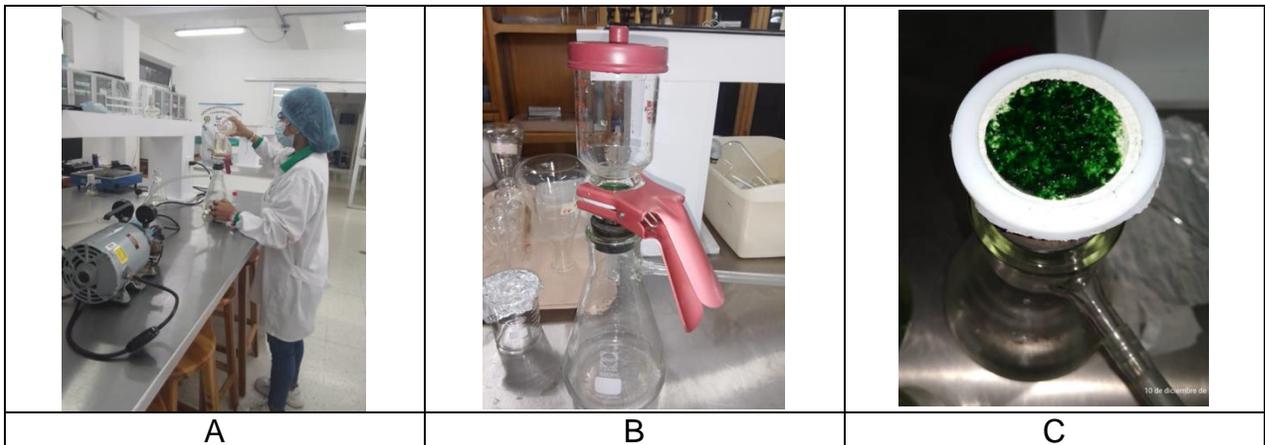
$$APC = (A_{652} - (0,208 \times A_{615}))/5,09 \quad \text{Ec.5}$$

$$PE = (A_{562} - 2,41 \times PC - (0,849 \times APC))/9,62 \quad \text{Ec.6}$$

$$(TPBP) = PC + APC + PE \quad \text{Ec.7}$$

Donde,

PC= ficoeritrina **APC**= aloficocianina **PE**= ficocianina **TPBP**= ficobiliproteína total



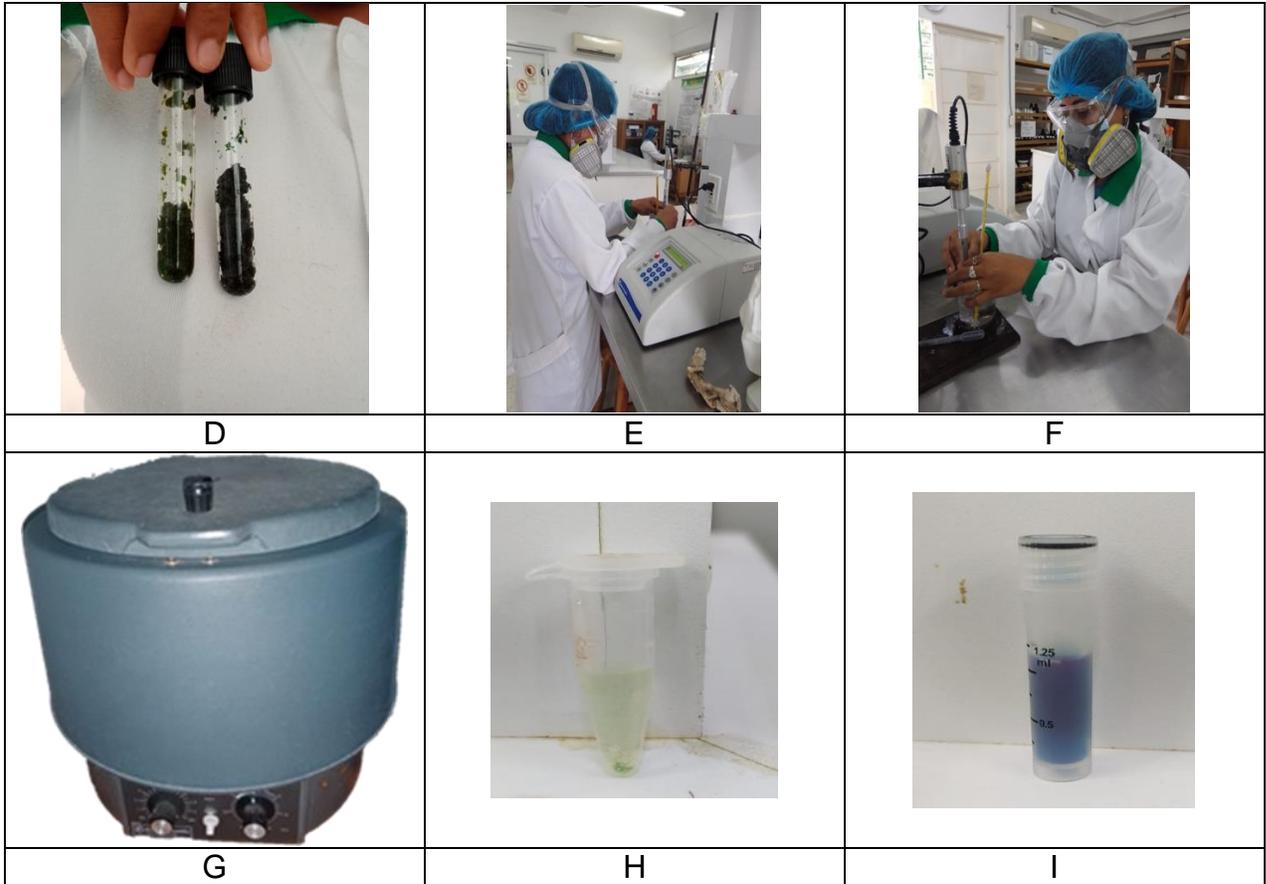


Figura 16. A:B)filtración de muestras en bomba de vacío;C)biomasa obtenida de la filtración ;D)biomasa obtenida al agregarle metanol y buffer ;E:F)sonicado de muestras;G)centrifugado de muestras ;H)alícuota obtenida después de la centrifugación;I)Expresión de pigmentos fotosintéticos.

4.4.6 Extracción de microcistina

Las muestras del cultivo fueron filtradas a través de filtros GF/F Glass Microfiber Filters, 0,7 μm , 4,7 cm (Whatman, Gran Bretaña) Para la filtración se utilizó una bomba de vacío Me 4P (Vacubrand GMBH, Alemania), a baja presión, con el fin de evitar la ruptura celular. El volumen de filtración fue de 250 mL en función de la biomasa presente.

Para la extracción de MC's, el filtro fue introducido en un tubo de centrifuga, al que se añadieron 2 mL metanol al 70% (Merck® grado analítico), esta mezcla fue sometida a ultrasonicación mediante un sonicador de pistón VibraSonic en su rango de energía media, se le dieron cinco pulsos de 30s, debido que se debía romper el tricoma y manteniendose las muestras a 4 °C. Posteriormente fue centrifugada a 5000 rpm y se retiró el sobrenadante (Deblois, 2008).

4.4.6.1 Determinación de microcistinas en el agua por la técnica de Elisa

Se utilizó el kit Eurofins Abraxis Microcystins (ADDA)-DM (Microtiter Plate). A partir de este kit, se determinó la concentración de microcistinas en las muestras tomadas los días 0, 11, 15 y 20 del cultivo.

En el procedimiento se siguieron las recomendaciones de la casa comercial y aunque se usó un procedimiento cualitativo (Microcystins/Nodularins DM (EPA ETV) (CCL4), ELISA, 96 test) fue posible con ayuda de calibradores de concentración conocida y con espectrofotometría (Agilent BioTek Lector multimodo Synergy LX), construir la curva patrón (Figura 17), para obtener datos semicuantativos de la concentración de microcistinas en muestras que dieron resultados positivos.

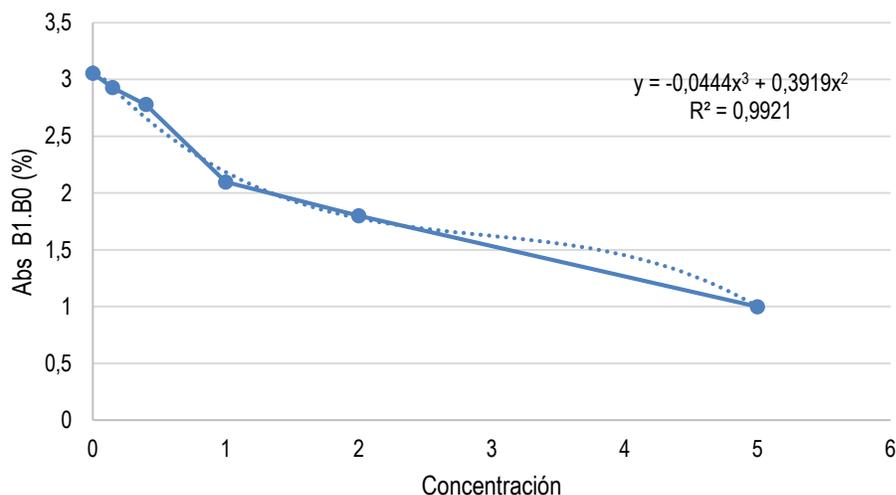


Figura 17. Curva estándar para Microcistina.

La prueba se llevó a cabo siguiendo las instrucciones del fabricante, llevando primero la placa y los reactivos a temperatura ambiente. Inmediatamente después se añadió a los pocillos un volumen de 100 μ L de solución control (0,75 ppb); estándares 0 (0,0 ppb), 1 (0,15 ppb), 2 (0,40 ppb), 3 (1,0 ppb), 4 (2,0 ppb), 5 (5,0 ppb); y muestras. Con ayuda de una micropipeta multicanal se añadió un volumen de 50 μ L de solución de conjugado (conjugado de microcistinas DM-HRP) y 50 μ L de solución de anticuerpo (solución de anticuerpo de microcistinas DM). Finalmente, la placa se cubrió con parafilm, se homogeneizó y se incubó durante 90 minutos a temperatura ambiente. Siguiendo el protocolo, después del período de incubación, el contenido de la placa se vertió en el

fregadero del laboratorio para su eliminación y los pocillos se lavaron con solución de lavado (solución de lavado 1x) tres veces consecutivas y el residuo de esta solución se eliminó golpeando la placa suavemente sobre una pila de toallas de papel. Después de lavar los pocillos, se añadió un volumen de 150 μ L de solución de color a cada pocillo y la placa se cubrió nuevamente con parafilm y se incubó durante 20-25 minutos a temperatura ambiente protegido de la luz. Transcurrido el tiempo de incubación, se añadió una solución diseñada para detener la reacción (solución de parada). Después de un máximo de 15 minutos, la placa se leyó a una absorbancia de 450 nm. Con el fin de determinar la precisión de las pruebas realizadas, en aquellas que se efectuaron por duplicado (original y replica) se calcularon parámetros estadísticos descriptivos tales como Desviación Estándar (DS) y Coeficiente de Variación (CV), los cuales permitieron determinar la existencia o no de diferencias representativas entre pruebas.

4.4.7 Análisis estadísticos

Todos los datos registrados con respecto al cultivo de *Oscillatoria limosa* en los tratamientos utilizados, se sometieron a estadísticas descriptiva (media, error estándar, mediana, desviación estándar, varianza, mínimo y máximo), se realizaron prueba para evaluar la normalidad (prueba de Shapiro-wilk) y homogeneidad de la varianza (pruebas de Levene). Sin embargo, los datos no cumplieron con los requisitos de homogeneidad por lo tanto se optó por aplicar un análisis no paramétrico de U de Mann-Whitney, en este análisis se registró un nivel de confianza del 95% ($P < 0,05$), el análisis de datos se llevó a cabo mediante el programa estadístico R studio en su edición correspondiente a la versión 2023.03.2-454.

5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 ESTRUCTURA DE LA COMUNIDAD DE CIANOBACTERIAS

En este estudio las ciénagas de Momil y San Sebastián, registraron un total de 14 especies, distribuidas en 11 géneros, pertenecientes a 8 familias entre las que se encontraron Merismopediaceae, Chroococcaceae, Microcystaceae, Borziaceae, Oscillatoriaceae, Phormidiaceae, Nostocaceae, Synechococcaceae ubicadas en 3 ordenes (Tabla 6).

TABLA 6. Grupos taxonómico encontrados en las ciénagas de Momil y San Sebastián en el Complejo Cenagoso del Bajo Sinú entre febrero y noviembre de 2022.

ORDEN	FAMILIA	GÉNERO	ESPECIE
Chroococcales	Merismopediaceae	<i>Aphanocapsa</i>	<i>A. delicatissima</i>
			<i>A. Annulata</i>
		<i>Merismopedia</i>	<i>M. punctata</i>
	Chroococcaceae	<i>Chroococcus</i>	<i>C. Dispersus</i>
		<i>Limnococcus</i>	<i>L. limneticus</i>
	Microcystaceae	<i>Microcysti</i>	<i>M. aeruginosa</i>
		<i>M. wesembergui</i>	
Synechococcaceae	<i>Rhabdoderma</i>	<i>R. lineare</i>	
Oscillatoriales	Borziaceae	<i>Kornvophoron</i>	<i>K. schmidlei</i>
	Oscillatoriaceae	<i>Oscillatoria</i>	<i>O. limosa</i>
	Phormidiaceae	<i>Planktothrix</i>	<i>P. agardii</i>
			<i>P. isothrix</i>
		<i>Phormidium</i>	<i>P. tergestinum</i>
Nostocales	Nostocaceae	<i>Dolichospermun</i>	<i>D. circinalis</i>

El CCBS, gracias a su conexión con el Río Sinú, se convierte en determinante clave de la vida de los municipios que la rodean debido principalmente a dos razones: su función amortiguadora y condición ecológica convirtiéndose en un hábitat que alberga gran variedad de fauna y flora, específicamente de especies de peces de interés comercial (Aguilera 2011; Salazar, 2008) desde hace muchos años se viene observando el progresivo deterioro de las aguas superficiales de todo el planeta (Palacio *et al.*, 2015). Una importante fuente de contaminación es el exceso de nutrientes, especialmente fosfatos y nitrógeno, lo cual lleva a la eutroficación de los ecosistemas (Vela *et al.*, 2007). Estos nutrientes provienen principalmente de aguas residuales tratadas insuficientemente, residuos agrícolas, abonos y otros desechos de industrias de ganado (Briand *et al.*, 2003). Además, el crecimiento exponencial de las cianobacterias y otras microalgas, se ve

influenciado por factores como altas temperaturas, alta concentración de nutrientes (concentraciones de fósforo total mayor a 25 µg/L), pH alcalino, aumento de CO₂ y bajo caudal, así como, tiempos de retención superiores a un mes (Meichtry *et al.*, 2009; WHO, 2015) tiempos de retención inferiores a cinco días no permitirían la formación de florecimientos (blooms) o crecimientos masivos de cianobacterias planctónicas (Chorus y Bartram, 1999; Kruk, *et al.*, 2019).

Las sequias como las lluvias intensas, pueden generar la aparición de floraciones de cianobacterias en estos ecosistemas. Las sequias, porque pueden favorecer la retención de nutrientes por mayores tiempos beneficiando el desarrollo de las especies potencialmente tóxicas y/o aumentar la conductividad de los embalses, provocar el estrés de las células y así favorecer la liberación de toxinas; por su parte las lluvias extremas, porque pueden facilitar el transporte de los nutrientes de la tierra a los cuerpos de agua favoreciendo el desarrollo de estos microorganismos (Petcheneshsky *et al.*, 2017)

De acuerdo a las especies encontradas en el Complejo Cenagoso del Bajo Sinú, según el estudio realizado pudimos determinar la presencia de cianobacterias tóxicas, en nuestra investigación encontramos 14 especies de cianobacterias distribuidas en 11 géneros pertenecientes a 8 familias ubicadas en 3 órdenes, lo cual encontramos semejanzas en comparación con los resultados obtenidos por Herazo,(2016) quien reporto una composición taxonómica de cianobacterias similar, identificando dentro de las especies más abundantes a *A.delicatissima* , *L. limneticus*, *M. aeruginosa*, *M. wessenbergii*, *O. limosa*, *P. isothri* y *D. circinalis*.

Mogollón *et al.*,(2014) realizaron muestreos en la misma área de estudio en temporada de aguas bajas, altas y periodos de transición; encontrando cianoprocaritas, podemos comparar la relación de grupos taxonómicos encontrados en nuestra investigación ya que se hallaron los tres órdenes Chroococcales, Nostocales, Oscillatoriales dentro de los que se encuentran distribuidos 7 Generos más abundantes en ambas investigaciones *Chroococcus*, *Aphanocapsa*, *Merismopedia*, *Microcystis*, *Dolichospermum*, *Oscillatoria* y *Phormidium*.

Betancourth *et al.*, (2008) realizó en el CCBS la caracterización de la comunidad fitoplanctónica en el cual encontró Cyanophyta con un número de especies de 46 que

equivale al (20%) de las demás divisiones encontradas. Esto quiere decir de acuerdo a diversas investigaciones realizadas en el CCBS se puede evidenciar la presencia de cianobacterias tóxicas y el efecto que estas pueden provocar en las comunidades aledañas y en los organismos acuáticos.

Betancourth et al., (2008) registro la presencia de cianobacterias planctónicas, con un alto porcentaje de diversidad en la ciénaga de San Sebastián representada por 36 especies, siendo los géneros más abundantes *Lyngbya*, *Raphidiopsis*, *Chroococcus* y *Dolichospermum*. Arango y Hernández, (2009), evaluaron la riqueza en la ciénaga de Momil, siendo los géneros *Chroococcus*, *Anabaena*, *Raphidiopsis* y *Gomphosphaeria* los más abundantes.

En el embalse San Roque, Ruiz et al., (2009) informaron sobre la presencia de cianobacterias, destacando específicamente las especies *Anabaena sp* y *Microcystis sp*, con mayor abundancia durante los meses de verano. Además, se observó la presencia de *Oscillatoria sp* y *Lyngbya sp*, ambas especies potencialmente tóxicas. Vale la pena señalar que *Oscillatoria* se destaca como una de las especies más representativas durante los seis meses de muestreo, exhibiendo mayor abundancia y diversidad en el (CCBS). Los resultados de las muestras analizadas por estos investigadores confirman la presencia y concentración de microcistina en asociación con las cianobacterias. El 65.6% de las muestras estudiadas arrojaron resultados positivos en cuanto a la presencia de esta toxina.

González, (2009) en el embalse de Betania reportó mayores densidades de cianobacterias *Synechococcus sp*, *Microcystis sp* y *anabaena sp* en las muestras tomadas en los proyectos piscícolas que se desarrollan en jaulas flotantes esto está relacionado con las condiciones eutróficas del embalse y la baja proporción N:P.

5.1.1 Ciénaga de Momil

En la ciénaga de Momil se encontraron 7 familias, siendo la más representativa Merismopediaceae (1 género) que corresponde al 39,48%, Microcystaceae (2 géneros) que corresponden al 35,60%, Nostocaceae (1 género) que corresponden al 17,31%,

Oscillatoriaceae (1 género) que corresponden al 7,18% Chroococcaceae (1 género) que corresponden al 0,37%, Borziaceae (1 género) que corresponden al 0,06%, Synechococcaceae (1 género), que corresponden al 0,00% (Tabla 7)

TABLA 7. Grupos taxonómico encontrados en la ciénaga de Momil entre los meses de muestreos comprendidos febrero y noviembre.

ORDEN	FAMILIA	GÉNERO	ESPECIE
Chroococcales	Merismopediaceae	<i>Aphanocapsa</i>	<i>A. delicatissima</i>
		<i>Merismopedia</i>	<i>M. punctata</i>
	Chroococcaceae	<i>Chroococcus</i>	<i>C. Dispersus</i>
	Microcystaceae	<i>Microcysti</i>	<i>M. aeruginosa</i>
			<i>M. wesenbergui</i>
Synechococcaceae	<i>Rhabdoderma</i>	<i>R. lineare</i>	
Oscillatoriales	Borziaceae	<i>Komvophoron</i>	<i>K. schmidlei</i>
	Oscillatoriaceae	<i>Oscillatoria</i>	<i>O. limosa</i>
		<i>Phormidium</i>	<i>P. tergestinum</i>
Nostocales	Nostocaceae	<i>Dolichospermum</i>	<i>D. circinalis</i>

En total se registraron 10 géneros donde Merismopediaceae, Microcystaceae fueron los más representativos con dos especies cada uno, los géneros Oscillatoriaceae, Nostocaceae, Chroococcaceae, Borziaceae, Synechococcaceae estuvieron representados por una especie cada uno.

5.1.2 Ciénaga de San Sebastián.

En la ciénaga de San Sebastián se encontraron 8 familias, siendo la más representativa Merismopediaceae (2 géneros) que corresponde al 80,31%, Microcystaceae (2 géneros) que corresponden al 9,09% Oscillatoriaceae (1 género) que corresponden al 7,58%, Nostocaceae (1 género) que corresponden al 2,36% Chroococcaceae (1 género) que corresponden al 0,59%, Borziaceae (1 género) que corresponden al 0,07%, Phormidiaceae (2 géneros), que corresponden al 0,05% y Synechococcaceae (1 género),

que corresponden al 0,003% (Tabla 8)

La riqueza presente en las ciénagas de Momil y San Sebastián es el reflejo de la conectividad que presenta con el río Sinú, la alta presencia de macrófitas, la poca profundidad, la presencia de nutrientes y la alta mezcla de la columna de agua, factores que llevan a una heterogeneidad de ambientes que influyen en la riqueza relativa de especies dependiendo de la época del año (Herazo, 2016). Estos cuerpos de agua son utilizados para ejercer actividades agrícolas con las que se vierte gran cantidad de plaguicidas, pesticidas y otros compuestos químicos (Betancourt *et al.*, 2008). La actividad doméstica por parte de las comunidades aledañas a estos ecosistemas también han causado cambios en la estructura fitoplanctónica de los mismos. (Betancourt *et al.*, 2008).

Diversas investigaciones afirman el gran valor que tienen las comunidades fitoplanctónica y la importancia para poder contribuir en cuanto a la conservación y manejo sostenible de los ecosistemas acuáticos (Betancourth *et al.*, 2008). Las cianobacterias constituyen un grupo importante para el estudio de la dinámica de cuerpos de agua, ya que tiende a reflejar de manera rápida los cambios ecológicos, los factores físicos y químicos y la cantidad de nutrientes presentes en las ciénagas de San Sebastián y Momil favorecen el crecimiento de cianobacterias, explicando esto la abundancia de las mismas y la eutroficación de ambos ecosistemas. (Betancourth *et al.*, 2008.)

Los grupos fitoplanctónicos encontrados en el CCBS fueron escasos en variedad y comparación con otros estudios realizados anteriormente por (Betancourth *et al.*, 2008; Arango y Hernández 2009; Mogollón, 2011; Herazo, 2016) debido a que se presentaron menor diversidad, siendo las familias Merismopediaceae, Microcystaceae, Oscillatoriaceae y Nostocaceae, los géneros con más riqueza de especies siendo: *Aphanocapsa*, *Microcystis*, *Oscillatoria* y *Dolichospermum*. De acuerdo a la abundancia de cianobacterias aumentó en aguas bajas el cual se aprecia eventos de florecimientos que ayudaron a aumentar el número de células por mililitro.

Las ciénagas de Momil y San Sebastián muestran diferencias en los grupos taxonómicos encontrados a nivel de géneros y especies, debido a que en la ciénaga de Momil se encontraron menor número (Tabla 8) Comparando con San Sebastián en el cual se registró una mayor diversidad taxonómica. Caso contrario a la investigación de Herazo,

(2016) en el cual presento mayor número de riqueza relativa de géneros y especies en la ciénaga de Momil y menor número riqueza relativa de géneros y especies en la ciénaga de San Sebastián. Los factores físicos y químicos presentes y la cantidad de nutrientes presentes en la ciénaga como valores de pH básico, temperaturas que oscilan entre 28,8 y los 31°C y pequeñas cantidades de N₂, presentan a la ciénaga de san Sebastián como un ecosistema con características óptimas para el desarrollo de las Cyanophytas explicando así el porqué de la abundancia de las mismas y estado de eutrofización de la ciénaga (Betancourth *et al.*, 2008).

TABLA 8. Grupos taxonómico encontrados en las ciénagas San Sebastián entre los meses de muestreos comprendidos febrero y noviembre.

ORDEN	FAMILIA	GÉNERO	ESPECIE
Chroococcales	Merismopediaceae	<i>Aphanocapsa</i>	<i>A. delicatissima</i>
			<i>A. Annulata</i>
	Chroococcaceae	<i>Merismopedia</i>	<i>M. puntacta</i>
		<i>Chroococcus</i>	<i>C. Dispersus</i>
		<i>Limnococcus</i>	<i>L. limneticus</i>
	Microcystaceae	<i>Microcysti</i>	<i>M. aeruginosa</i>
	Synechococcaceae		<i>M. wesembergui</i>
<i>Rhabdoderma</i>		<i>R. lineare</i>	
Oscillatoriales	Borziaceae	<i>Komvophoron</i>	<i>K. schmidlei</i>
	Oscillatoriaceae	<i>Oscillatoria</i>	<i>O. limosa</i>
			<i>P. agardii</i>
	Phormidiaceae	<i>Planktothrix</i>	<i>P. isothrix</i>
		<i>Phormidium</i>	<i>P. tergestinum</i>
Nostocales	Nostocaceae	<i>Dolichospermun</i>	<i>D. circinalis</i>

5.1.3 Abundancia relativa del CCBS

De acuerdo a los meses de muestreos en las ciénagas de San Sebastián y Momil en el CCBS, la Figura 17 presenta la abundancia relativa de las especies en cada una de las estaciones, dentro de las más representativa se encontraron: *Aphanocapsa delicatissima*, *Microcysti wessenbergui*, *Dolichospermun circinalis*, *Oscillatoria limosa*, *Microcysti aureginosa* y las especies que se encontraron en menor porcentaje: *Chroococcus dispersus* *Komvophoron schmidlei*, *Merismopedia puntacta*.

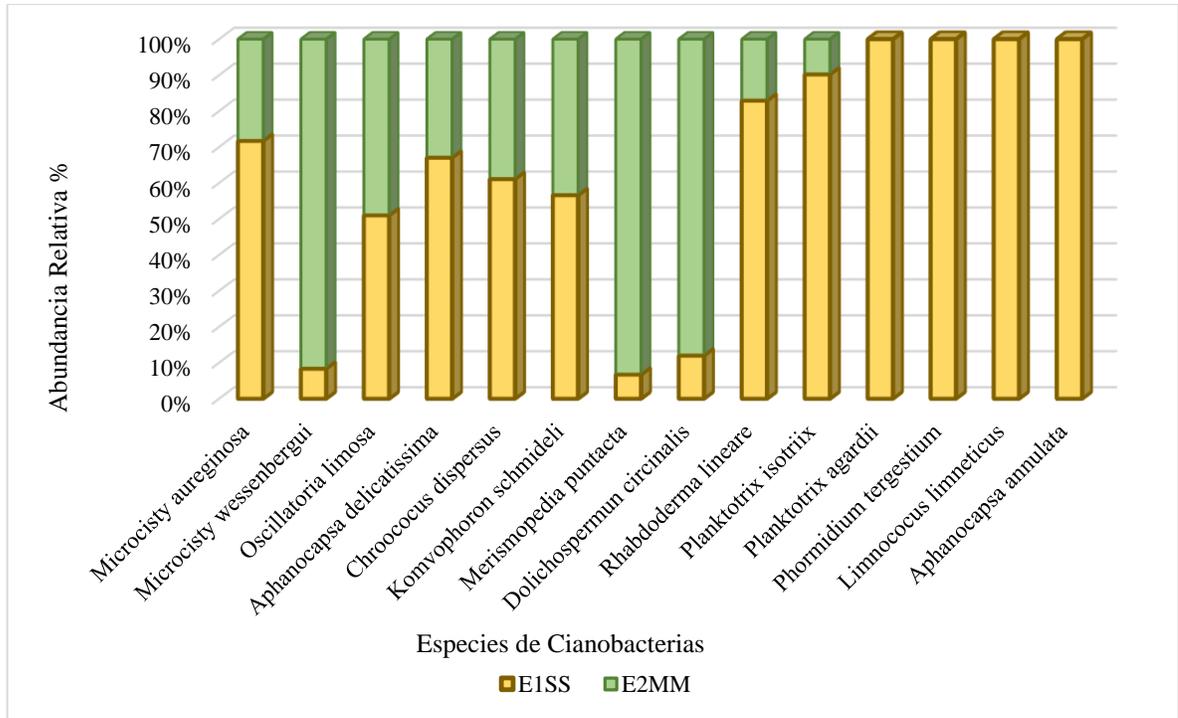


Figura 18. Abundancia relativa de las especies encontradas en el CCBS.

La abundancia relativa presente en el CCBS está dada por número de organismo presente porcentualmente, es por esto que observamos que las ciénagas de Momil y San Sebastián muestran diferencias en el número de especies encontradas. Siendo Momil el que presenta mayor riqueza relativa en porcentajes para cada especie encontrada, esto se da por el aumento del nivel del agua de la ciénaga al inicio de la época de invierno cuando las tierras de cultivo aledañas al área de muestreo se lavan aumentando los niveles y por consiguiente la abundancia de estos microorganismos, la disminución de la biomasa de la comunidad de cianobacterias puede explicarse con la reducción de la transparencia generada por sólidos en suspensión que interfiere con la tasa fotosintética de la comunidad fitoplanctónica Herazo,(2016).al contrario de San Sebastián que presenta mayor abundancia de especies presentándose pequeñas cantidades de porcentaje (Figura 18). Esta abundancia de la comunidad de cianobacterias está influenciada por el régimen hídrico y la elevada concentración de nutrientes favorecen el mantenimiento en el tiempo las poblaciones de cianoprocaritas, las cuales encuentran las condiciones

propicias para su desarrollo, al no variar de forma drástica las condiciones del ecosistema entre los diferentes períodos hidrológicos (Mogollón *et al.*, 2014.)

Comparando con Herazo, (2016) observamos que encontramos 8 géneros en cuanto a la riqueza relativa de especies del CCBS presentes en nuestra investigación presentándose en diferentes porcentajes, al igual que en la riqueza de familias encontrándose 8 familias dentro de nuestras investigaciones.

De acuerdo con Mogollón *et al.*, (2014) se registraron individuos del género *Oscillatoria*, reportado por la literatura como un grupo con varias especies productoras de toxinas (Dow y Swoboda 2000; Mogollón *et al.*, 2014) el cual se presenta en el sistema como el género de mayor riqueza en todos los periodos hidrológicos, excepto en época de aguas bajas. Lo anterior posiblemente este asociado a la disminución de los aportes de aguas dulceacuícolas provenientes del río, permitiendo en su lugar el dominio de otros géneros que logran adecuarse a las nuevas condiciones. Otros géneros con menor riqueza, pero de igual importancia toxicológica fueron: *Dolichospermum*, *Microcystis*, *Merimopedia*, *Aphanocapsa*, *Anabaenopsis*, *Lyngbya*, *Pseudoanabaena* (Yunes *et al.*, 2007). Caso contrario en nuestra investigación donde *Oscillatoria limosa* se presentó en todos los periodos hidrológicos al igual que *Aphanocapsa*, *Dolichospermum* y *Microcystis*.

Mogollón *et al.*, (2014) presentaron floraciones de cianoprocariontes; con morfo especies potencialmente tóxicas. Leflaive y Ten-Hage, (2007) indican la posibilidad de que las sustancias alelopáticas como las cianotoxinas que segregan las cianoprocariontes, sean el principal motivo de preocupación en los cuerpos de agua, ya que puede representar un problema para los otros organismos del medio acuático y para el ser humano. Reportan abundancia de cianobacterias. En la época de aguas bajas (diciembre) *P. limnetica* presentó la mayor abundancia, seguida de *Chroococcus*, y otras menos abundantes como *Spirulina* y *Dolichospermum*.

5.1.4 Diversidad absoluta de la ciénaga de Momil

En la ciénaga de Momil podemos observar que los meses de mayor diversidad obtenidos fueron para febrero, marzo y noviembre (8 especies), seguido por el mes de abril con un

total de 7 especies y por último los meses de septiembre y octubre fueron los meses con menor diversidad, al encontrarse 5 especies (Figura 19).

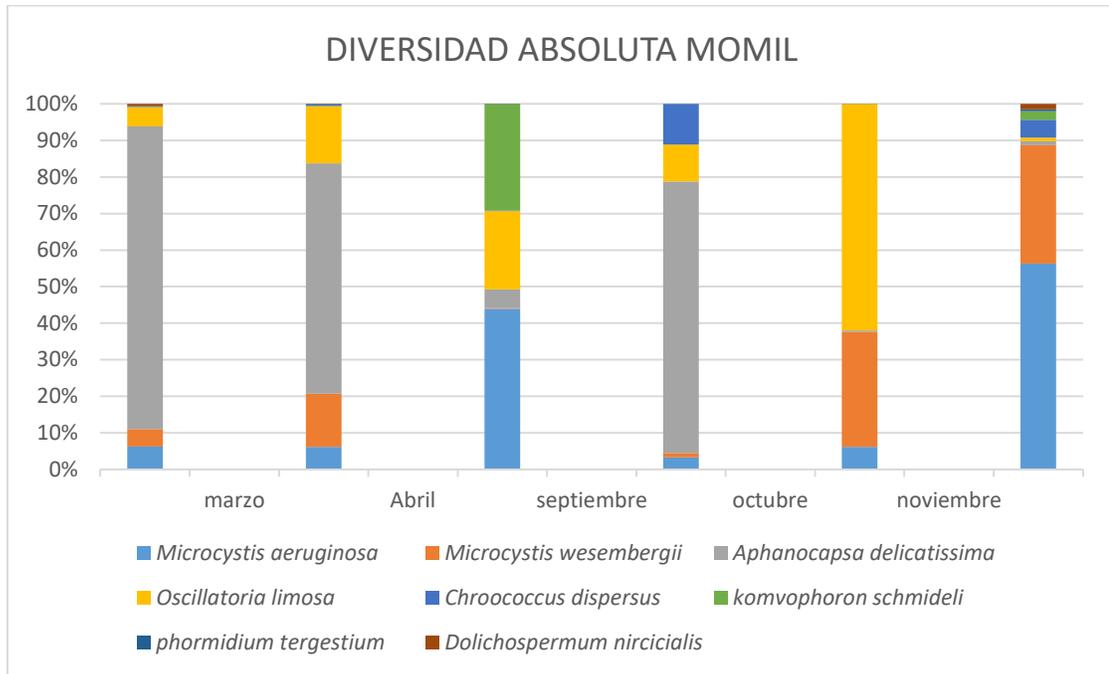


Figura 19 Diversidad absoluta de las especies encontradas en los meses de muestreos en la Ciénaga de Momil.

5.1.5 Diversidad absoluta de la Ciénaga de San Sebastián

En la Ciénaga de San Sebastián podemos observar que septiembre fue el mes con más diversidad absoluta al encontrarse 9 especies, seguido de los meses de febrero y marzo con 8 especies y abril con 7 especies, los meses que menos diversidad presentaron fueron octubre con 5 especies y noviembre con 4 especies (Figura 20)

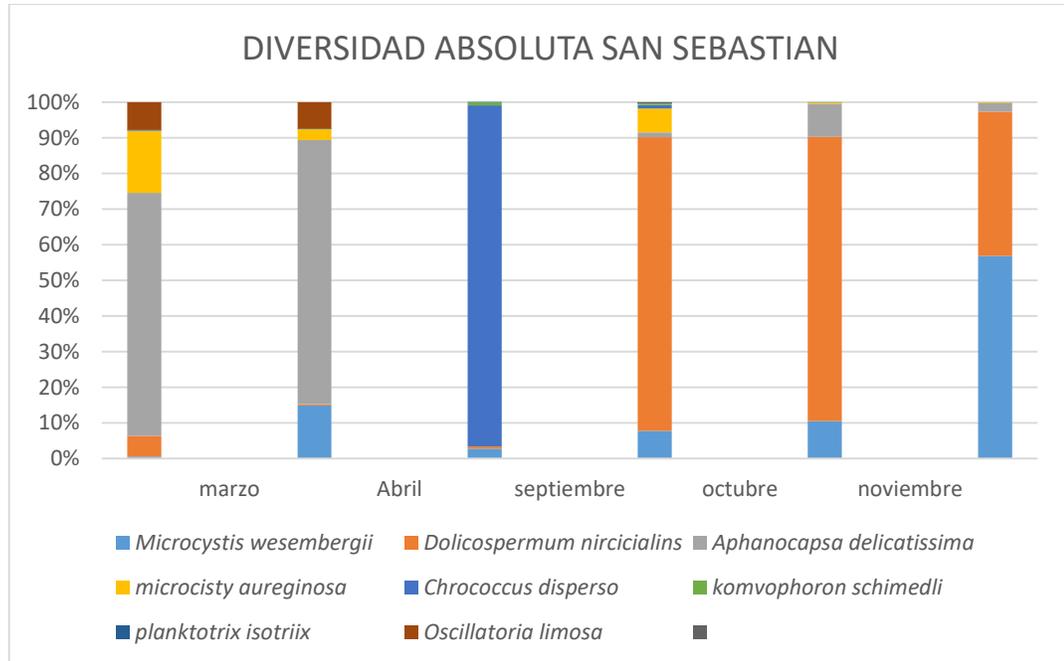


Figura 20. Diversidad absoluta de las especies encontradas en los meses de muestreos en la Ciénaga de San Sebastián.

De acuerdo a los periodos hidrológicos la mayor diversidad absoluta en Momil fue en los meses de aguas bajas febrero y marzo representado con 8 especies, aunque en el periodo de aguas altas en el mes de noviembre se presentaron también 8 especies, presentado el mes de septiembre y octubre aguas altas las menores diversidades representadas con 5 especies (Figura 19). En San Sebastián la mayor diversidad se observó en el mes de septiembre aguas altas representadas con 9 especies; y la menor riqueza relativa se observó en octubre y noviembre con 4 especies (Figura 20). Comparando con Herazo, (2016) la cual presento mayor diversidad y riqueza de especies en los meses de mayo, junio, julio en la Ciénaga de Momil, al contrario de San Sebastián en la cual encontró mayor diversidad en los meses de mayo, julio y octubre en la que se encontraban en el periodo de aguas en ascenso y aguas altas. En cuanto a la información obtenida, se puede inferir que hay diferencias entre los periodos de aguas altas y aguas bajas, con mayores índices de diversidad de especies en los periodos de aguas bajas.

Mogollón *et al.*, (2014) encontraron en los meses de diciembre, junio, noviembre y mayo

en las épocas de aguas (en ascenso, lluvia y seca) la mayor riqueza de especies de cianobacterias dentro de los cuales en la época de transición (noviembre) se reportó el mayor número de morfo especies, seguido del periodo de lluvias (junio). Para la época seca (diciembre) se encontró el menor número de cianoprocariotas. Estos autores reportaron el género *Oscillatoria* como el grupo predominante en los meses de muestreos, con varias especies productoras de toxinas (DowSwobyoda, 2000 en Mogollón *et al.*, 2014). Las mayores abundancias se asocian a los sectores con mayor concentración de nutrientes en especial de nitrato y nitrógeno amoniacal, producto de los vertimientos del distrito de riego y de las actividades acuícolas que se asocian a estos sectores, reflejándose en los cambios de las variables químicas a través del tiempo (INVEMAR, 2007). Lo anterior favorece el crecimiento de las cianoprocariotas, en particular de aquellas formas filamentosas que crecen a bajas intensidades lumínicas, generándose un proceso de retroalimentación en cuanto a la dominancia de las cianobacterias al restringir con su elevado crecimiento aún más el campo lumínico (Carey *et al.*, 2012). Otro aspecto relevante que contribuye a dominio de las cianoprocariotas está asociado a su plasticidad morfológica incidiendo en el establecimiento de sus poblaciones (Bonilla, 2009).

De acuerdo con los resultados obtenidos por Betancourt (2008), logramos comparar de acuerdo a los meses muestreados la abundancia y riqueza de la cianoprocariotas encontradas en la época de agua bajas y aguas altas, de acuerdo a la composición taxonómica estas se representaron significativamente en los meses de agosto, diciembre, mayo, febrero presentándose como las más abundantes y representativas. La dominancia de las cianoprocariotas presentes en la ciénaga de san Sebastián está dada por factores como la transparencia y las elevadas concentraciones de nitrógeno y altas temperaturas en épocas de aguas secas y lluviosas podrían haber favorecido el desarrollo de estos organismos. Según Betancourt *et al.*, (2008), estos autores, el CCBS es considerado un cuerpo de agua eutrófico debido a la presencia de comunidades fitoplanctónicas, especialmente de cianophytas considerando a esta como la división con especies de sistema eutrófico.

5.1.6 Densidad de cianobacterias

Durante el periodo de estudio, las cianobacterias en la San Sebastián presentaron una mayor concentración de células en el mes de abril ($2,42 \times 10^9$ cél.mL⁻¹) y el menor número de células reportados en el mes de noviembre ($2,64 \times 10^8$ cél.mL⁻¹). Momil al igual que la estación anterior estuvo fuertemente influenciado por la estacionalidad de las aguas, al presentar un promedio de células por mililitro (cél.mL⁻¹) durante el estudio de $2,69 \times 10^{10}$ cél.mL⁻¹, los menores recuentos celulares correspondientes a los meses de septiembre ($2,9 \times 10^9$ cél.mL⁻¹) y noviembre ($1,69 \times 10^9$ cél.mL⁻¹) (Figura 28). Las especies *M. aureginosa*, *M. wessenbergui*, *O. limosa*, *A. delicatissima* y *D. circinalis*, presentaron altas densidades durante los muestreos (Figura 21).

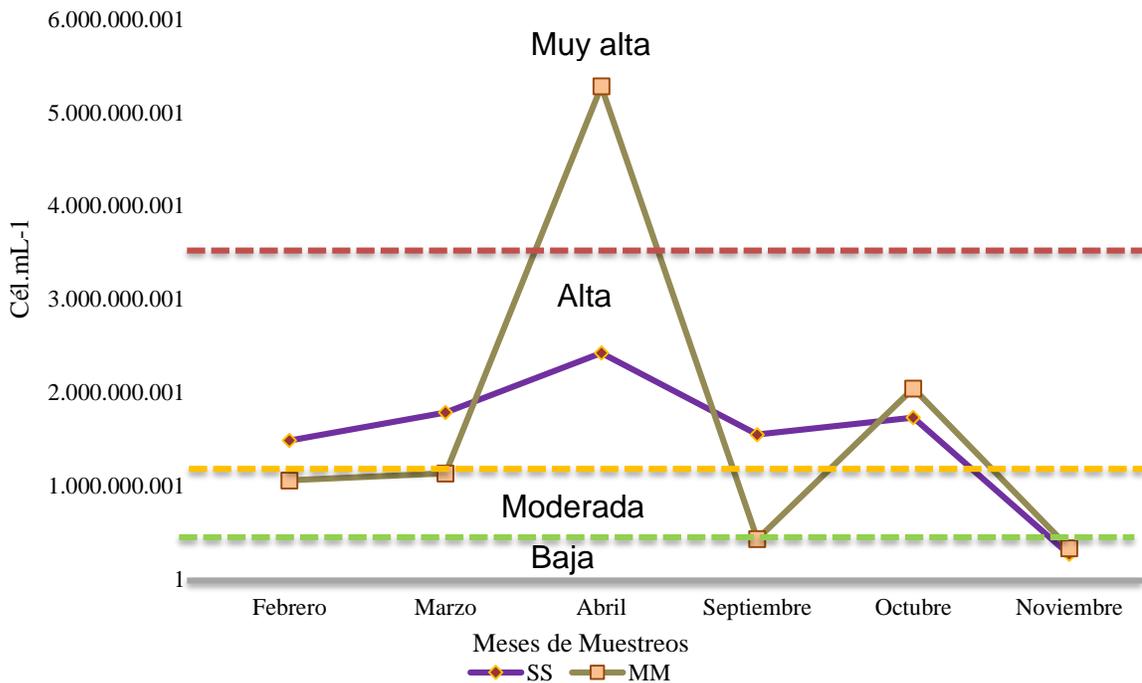


Figure 21. Densidad celular en los meses de muestreos en la ciénaga de San Sebastián (SS) y Momil (MM).

La información concerniente a la densidad celular está relacionada con el aumento del nivel de agua de la ciénaga al inicio de la época de invierno. En la ciénaga de San Sebastián al igual que en la ciénaga de Momil la estacionalidad del ciclo hidrológico no ejerce una gran influencia sobre la densidad de este grupo algal, debido a que las

exigencias que tiene las cianobacterias respecto a la necesidad de nutriente para explotar demográficamente son suplidas ampliamente en estas ciénagas y en todo el CCBS por los aportes de N y P que continuamente son introducidos a partir de prácticas agropecuarias, vertimientos de aguas residuales y de escorrentías ricas en nutrientes, responsables de los procesos de eutrofización en este ecosistema.

La mayor densidad de cianobacterias se observó en la Ciénaga de Momil (Figura 21) es por esto que comparamos con Herazo, (2016) la densidad de células por mililitros que presenta al igual que nosotros la mayor cantidad de densidad en la ciénaga de Momil presentando mayor número de células por mililitro.

Para cianobacterias totales existe una guía para la práctica segura en el manejo de aguas recreativas dada (Chorus y Welker, 2021) (Tabla 9).

Alerta Baja: corresponde a 500-2000 cél.mL⁻¹. En estas concentraciones las algas normalmente no serían visibles. Aunque existe la posibilidad de un desarrollo rápido de floración, si las condiciones siguen siendo favorables. En el extremo superior de este rango de algunos géneros de algas verde-azul pueden afectar el sabor y olor del agua.

Alerta Media: corresponde a 2000-15000 cél.mL⁻¹. Estos números indican que las algas verde-azules se pueden multiplicar y el agua puede tener color verdoso y sabor a moho u orgánicos y presencia de olor. Las espumas pueden estar presentes en concentraciones de más de 5000 cél.mL⁻¹. La Unidad de Salud Pública local debe ser notificada por el oficial encargado de suministros de agua para uso doméstico si los recuentos de células superior a 2 000 cél.mL⁻¹ y si el agua es usada para consumo humano.

Alerta alta: corresponde a más de 15000 cél.mL⁻¹. La toxicidad es asumida y el agua se presume no apta para el contacto humano o doméstica. El agua es generalmente de color verde con un fuerte olor y sabor a humedad y olor orgánico. Las espumas pueden estar presentes y se movilizan de acuerdo a la dirección del viento.

TABLA 9. Identificación de alertas sanitarias, en función de la densidad de cianobacterias.

PROBABILIDAD RELATIVA DE EFECTOS AGUDOS A LA SALUD	CIANOBACTERIAS (cél.mL ⁻¹)	MC-LR (µg.mL ⁻¹)
Baja	< 20.000	< 10
Moderada	20.000 - 100.000	10 – 20
Alta	100.000 – 10.000.000	20 – 2.000
Muy Alta	> 10.000.000	> 2.000

Fuente: Chorus y Welker, 2021

5.1.7 Cultivo de la cianobacteria *Oscillatoria limosa*

5.1.8 Dinámica de crecimiento de la especie de cianobacteria *Oscillatoria limosa*

Para la obtención de los resultados del cultivo de *Oscillatoria limosa* se realizaron pruebas de normalidad y homogeneidad con respecto a las variables estudiadas de laboratorio para determinar si los datos presentaban normalidad, debido a que los datos no eran normales se aplicó un análisis no paramétrico de U de Mann-Whitney en el que se observó que no hay diferencias significativas entre los tratamientos. (Anexo 10,11,12)

En esta investigación se evaluaron densidad óptica, pesos seco y ficobliproteínas en los tratamientos T1 (F/2) y T2 (BG11). Anexo 7, se presenta el resumen del registro de los datos durante 21 días de muestreo del cultivo *O. limosa* para el año 2022.

5.1.8.1 Curva de crecimiento de *Oscillatoria limosa* en el T1

En la Figura 22 se muestra el comportamiento de la cianobacteria *O. limosa* en el T1, presentando una fase inicial o de adaptación de la cepa desde el día 0 al 2 con un valor de 0,0747 y 0,0987 cél.mL⁻¹, para el día 3 se observa un crecimiento exponencial que va del día 3 al 13 con valores de y 0,0987 de 0,4007 cél.mL⁻¹. Y se observa un decrecimiento en los días 14 al 15. Finalmente, en el día 16 se ve una estabilidad o fase estacionaria moderada donde la cepa se mantuvo hasta finalizar el cultivo.

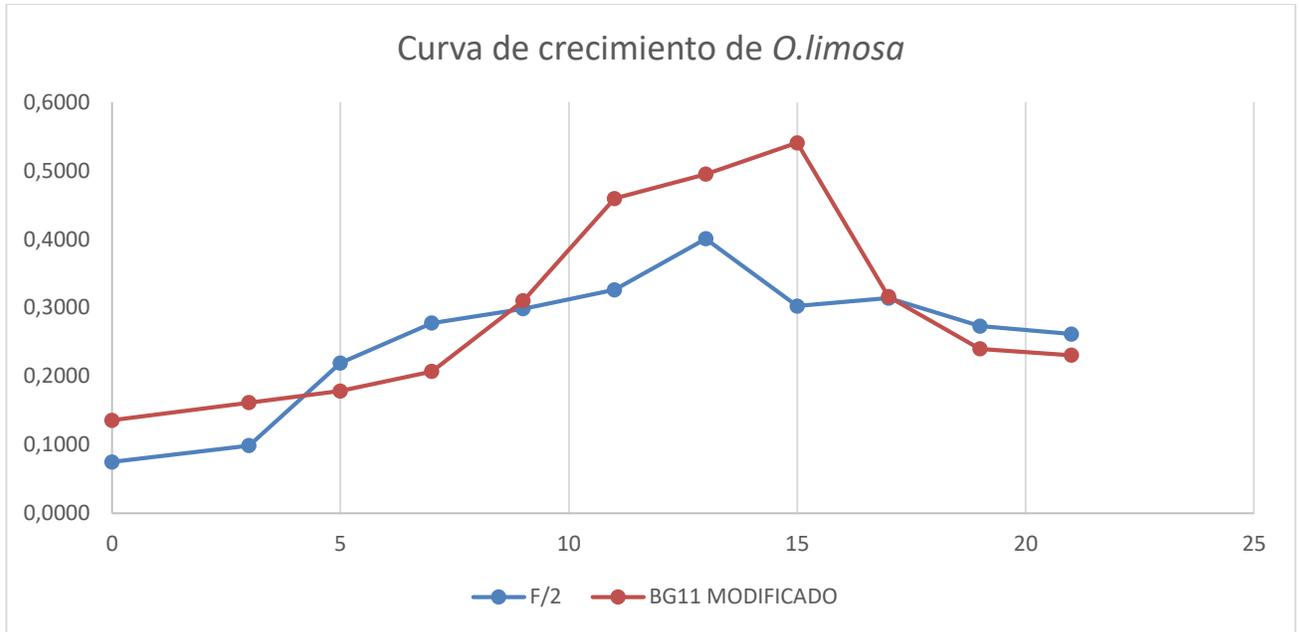


Figura 22. Curva de crecimiento del cultivo *Oscillatoria limosa* en el tratamiento T1

5.1.8.2 Curva de crecimiento de *O. limosa* en el T2

En la Figura 22 se ilustra el comportamiento de crecimiento de la cianobacteria *O. limosa* en el T2 presentando una fase inicial o de adaptación de la cepa desde el día 0 al 1, a partir del día 2 hasta el 11 se evidencia un crecimiento exponencial, seguido por una fase estacionaria desde el día 12 al 13 con un pico en el día 15 y una fase de senescencia en los siguientes días del cultivo.

Al igual que el crecimiento bacteriano, la reproducción de las cianobacterias se lleva a cabo principalmente de forma asexual mediante fisión binaria o bipartición (Fogg *et al.*, 1973; Barsanti y Gualteri, 2014). Aunque su crecimiento es fundamentalmente rápido, diversas condiciones ambientales y limitaciones nutricionales pueden modular la velocidad de crecimiento poblacional (Arredondo *et al.*, 2017).

Según la curva de crecimiento en el T1, los valores promedio obtenidos fueron $0,258 \pm 0,02$ cél.mL⁻¹, mientras que en el T2 los valores fueron $0,297 \pm 0,04$ cél.mL⁻¹, sin presentar diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos. En el T1 (F/2), se observaron cuatro fases de crecimiento (Figura 22), donde las cianobacterias *O. limosa*

experimentaron un crecimiento exponencial del día 3 al 13, con valores de 0,0987 a 0,4007 cél.mL⁻¹. A partir del quinto día, se evidenció un blanqueamiento o clorosis del cultivo debido a la falta de nutrientes, lo que causó una disminución celular. Aunque en la Figura 21 se aprecia una fase de declinación en los días 14 y 15 debido a la degradación de los nutrientes del medio.

Esto se relaciona con lo afirmado por Echeverry,(2015) quien señala que este comportamiento se atribuye a la naturaleza oligotrófica del medio F/2 y su baja concentración de fosfato, sales de hierro, cobalto, zinc, manganeso, cobre, molibdeno y EDTA, a pesar de su riqueza en silicato, borato y vitaminas. Estos factores limitan el crecimiento sostenido de *O. limosa* debido a las mínimas cantidades de nitrógeno presentes en el medio de cultivo. Gracias a la capacidad de *O. limosa* para aprovechar los nutrientes liberados durante la senescencia, logra mantenerse por heterotrofia de manera estacionaria en los días 17 al 21 del cultivo.

En el T2, se observaron las mismas fases de crecimiento, diferenciándose únicamente en la última etapa, que fue la fase de senescencia (Figura 22). En el medio de cultivo BG11 (T2), se evidenció un mayor crecimiento de células por mililitro (cel.mL⁻¹), con un crecimiento exponencial notable en los días 2 al 11. Este aumento se atribuye al ajuste realizado en la composición química del medio, con un incremento en las fuentes de nitrógeno y fósforo. Es importante señalar que las cianobacterias tienen la capacidad de crecer de manera más significativa en presencia de fuentes nitrogenadas. Posteriormente, se observó una fase de senescencia causada por la degradación de los nutrientes en los días 16 al 21.

Comparando con el trabajo de Echeverry ,(2015), se destaca que el medio BG-11 presenta concentraciones elevadas de nitrato y relativamente bajas de fosfato (99:1). Además, incluye sulfato de magnesio (MgSO₄), cloruro de calcio (CaCl₂), carbonato de sodio (Na₂CO₃) y ácido bórico (H₃BO₃), sales que están ausentes en el medio F/2 y que resultan esenciales para el cultivo de cianobacteria.

En otro estudio, Presentaron dos fases de crecimiento: una fase estacionaria en la concentración de 4 mM en el día 15 del cultivo y una fase exponencial Fuenmayor *et al.*,(2009) obtuvieron resultados similares en el crecimiento de cianobacterias al cultivar

Oscillatoria sp. en diferentes concentraciones de NaNO₃ (4 mM, 8 mM, 12 mM). hasta el día 21 del cultivo en las concentraciones de 8 mM y 12 mM. Se puede destacar que, en ambos estudios, los cultivos mostraron una clara dependencia del nitrógeno para su crecimiento, ya que su ausencia resultó en una disminución significativa de la población inicial y la pérdida de la pigmentación característica.

En ambos estudios, se evidenció que cuando las cianobacterias fueron expuestas a un medio sin nitrógeno, experimentaron un crecimiento estable durante los primeros 4 días de cultivo. Este fenómeno se debe a la capacidad de *Oscillatoria* sp para utilizar las reservas celulares de nitrógeno. A partir del quinto día, se observó un blanqueamiento o clorosis en los cultivos, originado por la degradación de las ficobiliproteínas empleadas como fuente de reserva de nitrógeno y la reducción en la síntesis de clorofila a en respuesta a la deficiencia de nutrientes. Este efecto fisiológico pone de manifiesto la incapacidad de *Oscillatoria* sp para mostrar crecimiento diazotrófico y, por ende, para fijar nitrógeno en un medio carente de fuente nitrogenada (Fuenmayor *et al.*, 2009).

El cultivo estuvo expuesto a luz constante, lo que favoreció un óptimo crecimiento de *O. limosa*. Sin embargo, este proceso generó un estrés en *Oscillatoria*, manifestado por la liberación de toxinas, siendo este fenómeno atribuible al impacto directo de la intensidad lumínica. Este comportamiento es consistente con lo observado por Echeverry, (2015), quien notó en su investigación que las cianobacterias se adhirieron al fondo de vidrio, al sustrato o a las paredes del recipiente formando películas filamentosas, un proceso asociado al fenómeno de fototaxis y que puede considerarse otro indicador de estrés lumínico (Echeverry, 2015)

Villa *et al.*, (2014) en el estudio de la diatomea *Chaetoceros calcitrans* determinaron que mantener la cepa en fotoperíodos de 24:0 resulta en la máxima producción de biomasa durante las horas de irradiación, mientras que durante los períodos de oscuridad el crecimiento es mínimo e incluso puede haber un decrecimiento debido al consumo durante la respiración celular de la biomasa producida durante el período de luz (Ferrero, 2011). Por lo tanto, estos autores concluyen que las diferentes condiciones de iluminación ejercen un efecto sobre la concentración celular máxima, destacando un mayor crecimiento en los cultivos con iluminación continua las 24 horas del día, en concordancia con Humphrey

(1979), quien observó un crecimiento más lento en diversos tipos de algas en ciclos de 12 horas de luz y oscuridad en comparación con cultivos expuestos a iluminación continua. En nuestra investigación, similar a estos hallazgos, *O. limosa* alcanza su crecimiento exponencial en un periodo de 3 a 15 días del cultivo gracias a la luz constante que induce estrés y favorece la obtención de la máxima biomasa.

Es relevante mencionar que, aunque no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, el T2 (BG11) exhibió una mayor proporción de biomasa y pigmentos fotosintéticos en comparación con el T1 (F/2). El T1, por otro lado, presentó una decoloración verde-amarillosa a los 5 días del cultivo, indicativa de la degradación de los nutrientes del medio de cultivo.

Shruthi y Rajashekhar,(2014) afirmaron que las cianobacterias filamentosas logran su máxima producción de biomasa en un rango de pH entre 6,5 y 7,6 en condiciones de cultivo en laboratorio. A su vez, estudios anteriores realizados por Morales *et al.*,(2017) indicaron que *O. limosa* puede adaptarse y desarrollarse en los medios de cultivo F/2 y BG11 con pH óptimos de 7,6 y 8,5. Esto sugiere que, aunque el pH puede influir en el aumento de biomasa, estas cianobacterias presentan una notable capacidad de adaptación a ambientes extremos de pH.

Los medios de cultivo empleados para el crecimiento de cianobacterias filamentosas desempeñan un papel crucial en la determinación de la densidad celular y el desarrollo en respuesta a los nutrientes proporcionados. En esta investigación, se optó por medios de cultivo carentes en fuentes de nitrógeno, y gracias a ajustes específicos en la composición química del BG11, se logró la adaptación de *O. limosa* a los requisitos nutricionales proporcionados. Cabe destacar que esta cianobacteria no presenta heterocistos y, por ende, no tiene la capacidad de fijar nitrógeno.

Conforme a las investigaciones de Leal *et al.*,(2012), se ha establecido que el medio de cultivo más idóneo para el crecimiento de cianobacterias filamentosas es el medio algal. Este medio promueve un mayor desarrollo y expresión de coloración verde-azulada debido a la presencia de vitaminas y concentraciones más elevadas de fosfato, sales de hierro, cobalto, zinc, manganeso, cobre, molibdeno y EDTA. Las cianobacterias pueden alcanzar un crecimiento óptimo en términos de desarrollo de filamentos y pigmentos en

comparación con otros medios de cultivo. Resultados similares se han obtenido en microalgas marinas utilizando este mismo medio de cultivo (Fábregas *et al.*, 1984, Fábregas *et al.*, 1996).

Aunque el medio de cultivo BG11 es más rico en nitrato (17 mM NO₃), no logra generar un crecimiento superior al observado en el medio algal, a pesar de su exclusividad para el cultivo de cianobacterias. La ausencia de nitrógeno provoca una disminución significativa en la tasa de crecimiento de los microorganismos, lo que se traduce en una reducción general de la productividad de la biomasa y del rendimiento de componentes celulares de interés (Gonzalez, 2010).

En el estudio de Cordero y Gonzalez (2023), se analizó el crecimiento de *L. maxima* en distintas fuentes de nitrógeno, destacándose los valores más significativos en los medios de cultivo con fuentes (NaNO₃) y (KNO₃). Se observó un crecimiento exponencial entre los días 0 y 21, seguido de una fase estacionaria entre los días 21 y 24, seguida por una fase de crecimiento entre los días 24 y 27 del cultivo. En contraste, en el cultivo sin fuente de nitrógeno (SN), se identificó una fase exponencial entre los días 0-12, una fase estacionaria en el día 15 y una fase de senescencia del día 18 al 27. Al comparar estos resultados con nuestra investigación, se encontraron similitudes. *O. limosa* mostró una fase de adaptación entre los días 0-2, seguida de un crecimiento exponencial en ambos tratamientos entre los días 3 y 15 del cultivo. Se observó una fase de decrecimiento en el día 14-15 del T1, seguida por una nueva fase estacionaria del día 16 al 21. En contraste, el T2 exhibió una fase de senescencia entre los días 15 y 21 del cultivo, lo cual podría explicarse por la capacidad de las cianobacterias, al igual que otras bacterias y microorganismos fotosintéticos, de utilizar tanto el nitrato de potasio como el nitrato de sodio como fuente de nitrógeno para su crecimiento. Esta flexibilidad se debe a que ambas sustancias proporcionan nitrógeno en forma de nitrato (NO₃⁻), una forma que las cianobacterias pueden aprovechar eficientemente para sintetizar proteínas y otros componentes celulares, independientemente del catión (potasio o sodio) con el que estén combinadas (García, 2011). Las cianobacterias reaccionan de manera similar con el nitrato de potasio y el nitrato de sodio, ya que pueden utilizar ambos compuestos como fuente de nitrógeno, aprovechando el nitrato presente en ambas sustancias.

Por otra parte, la falta de nitrógeno provoca una disminución significativa en la tasa de crecimiento de los microorganismos, resultando en una reducción general de la productividad de la biomasa y el rendimiento de componentes celulares de interés (Liu *et al.*, 2016).

Es relevante subrayar que, aunque no se evidenciaron diferencias significativas entre ambos medios de cultivo en términos de rendimiento, se registró una mayor producción de biomasa en el tratamiento T2 (utilizando el medio BG11). En consecuencia, la elección del T2 se presenta como más rentable dada su eficiencia económica en comparación con el tratamiento F/2. A pesar de que se observó una mayor cantidad de biomasa en el F/2, esta diferencia fue mínima en comparación con el T2. No obstante, es importante señalar que el F/2 resulta ser más costoso debido a la necesidad de oligoelementos en su composición química.

5.1.8.3 Densidad óptica (DO)

En el presente estudio, la densidad óptica registró valores promedio de $0,1296 \pm 0,0254$ Abs y $0,1436 \pm 0,0323$ Abs para T1 y T2, respectivamente. No se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos. Los valores más bajos se presentaron el día 3 del cultivo en ambos ensayos, siendo $0,0039$ Abs (T1) y $0,0055$ Abs (T2). Por otro lado, los valores más altos se registraron para T1 el día 13 del cultivo ($0,4910$ Abs) y para T2 el día 15 ($0,6100$ Abs) (Figura 23 A, Anexo 6)

La densidad óptica y la biomasa seca, analizadas en este estudio, no mostraron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos (Figura 23 A-B). Los valores de densidad óptica y biomasa seca a lo largo de los 21 días de cultivo revelan que la mayor densidad óptica se alcanzó en el cultivo con BG11 ($0,5407 \text{ g.L}^{-1}$) en el día 15, a diferencia del cultivo en F/2, que registró una mayor densidad óptica de $0,4007 \text{ g.L}^{-1}$ en el día 13. Estos resultados guardan una estrecha relación con los obtenidos a partir de la biomasa seca, la cual fue superior en el cultivo con BG11 ($0,0236 \text{ g.L}^{-1}$) en el día 15 del cultivo, mientras que en el cultivo en F/2, la biomasa seca fue de $0,0176 \text{ g.L}^{-1}$ en el día 13 (Anexo 8).

La información recopilada permite inferir que el medio BG11 se muestra como el más adecuado para el cultivo de cianobacterias, ya que, en su formulación, las fuentes de

nitrógeno y fósforo se presentan en una proporción superior en comparación con el medio F/2, respaldando así su mayor eficacia para favorecer el crecimiento y desarrollo de las cianobacterias.

La densidad óptica del cultivo es un indicador clave que revela la capacidad de las células para absorber y dispersar la luz. En este estudio, utilizamos este proceso para determinar la densidad celular de *O. limosa*, evaluando su capacidad de crecimiento y expresión de pigmentos fotosintéticos en respuesta a la intensidad lumínica y la disponibilidad de nutrientes. Comparando con el estudio de Fuenmayor *et al.*, (2009) que analizó la densidad óptica y masa seca de la cianobacteria autóctona *Oscillatoria* sp. Bajo diferentes condiciones de salinidad (UPS) y concentración de nutrientes (mM NaNO₃), observamos que presentaron mayor absorbancia y biomasa seca a mayores concentraciones de nutrientes y salinidad. En contraste, en nuestra investigación, se observaron diferentes densidades celulares debido a las variaciones en los nutrientes presentes en cada medio de cultivo.

Fuenmayor *et al.*, (2009) afirma que el aumento del crecimiento de *Oscillatoria* sp. Con el incremento de la concentración de nutrientes también se ha observado en otras cepas de esta cianobacteria, como *Oscillatoria agardhii* y *Oscillatoria redekei*, donde se demostró una correlación positiva entre el crecimiento y el aumento de nutrientes en el medio de cultivo.

La concentración celular puede estimarse indirectamente utilizando la densidad óptica del cultivo, una técnica menos precisa que el recuento directo pero que permite una evaluación rápida de la concentración de microalgas (Cordero y Gonzalez, 2023). En comparación con Cordero y Gonzalez, 2023, quienes evaluaron el crecimiento de *L. maxima* en diferentes longitudes de onda, la densidad óptica osciló para los tratamientos en un rango entre 0,259 y 0,271 nm, sin diferencias significativas entre estos valores ($p > 0,05$), alcanzando sus valores más altos el día 27. En contraste, en nuestra investigación, la densidad óptica registró valores promedio de $0,1296 \pm 0,0254$ y $0,1436 \pm 0,0323$ Abs para T1 y T2, respectivamente, sin observarse diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos. Los valores más altos de densidad óptica se registraron el día 13 para el T1 y el día 15 para el T2. Aunque en el cultivo de *O. limosa* no se utilizaron

diferentes longitudes de ondas esta cepa fue expuesta a luz constante 24:0 logrando su crecimiento exponencial entre los días 3 y 15 del cultivo para ambos tratamientos (Figuras 22).

En el estudio de Cordero y Gonzalez,(2023), se destacaron los mayores valores de densidad óptica en los cultivos expuestos a luz blanca y luz roja. Esto se debe al hecho de que el espectro de luz visible abarca longitudes de onda de 400 a 700 nm, esenciales para la fotosíntesis, conocido como radiación fotosintéticamente activa (PAR). La luz blanca, que engloba los colores del arcoíris entre los 400 (violeta) y 700 nanómetros (rojo), contribuye eficientemente al crecimiento y desarrollo de *L. maxima* (Markou, 2014). En ambas investigaciones, los días en que los cultivos alcanzaron su mayor densidad óptica podrían estar relacionados con el ciclo de vida de las cianobacterias filamentosas *Arthrospira* y *O. limosa*, que se distinguen por el desarrollo de necridios. Estas son células especializadas en el interior del filamento programadas para morir, sufriendo lisis celular y liberando el contenido citoplasmático al medio (Ciferri, 1983). Este fenómeno fue evidente en el cultivo de *O. limosa*, manifestando clorosis en el T1 debido a la degradación de los nutrientes.

En diversos estudios sobre el cultivo de algas bajo condiciones controladas, se ha observado que la magnitud del peso seco es una característica modificada por la composición espectral de la luz, la irradiación y las diferentes fases de crecimiento (Fernández-Robledo, 2013; Sánchez-Saavedra *et al.*, 2015).

En este estudio, los resultados de crecimiento obtenidos con variaciones en la fuente de nitrógeno y fósforo pueden compararse con los hallazgos de Godoy *et al.*,(2011). En su investigación sobre el crecimiento y el contenido de clorofila de la biomasa de *L. platensis* cultivada bajo diferentes niveles de luz y temperatura, utilizando fuentes de nitrógeno como nitrato de potasio (KNO_3) y urea, se observaron menores valores de crecimiento con la fuente de KNO_3 y mayores con la urea.

Asimismo, los resultados pueden relacionarse con el trabajo de Mateucii, (2018), quien investigó el efecto de diversas fuentes de nitrógeno y fósforo en la producción y composición de la biomasa microalgal de *Arthrospira (Spirulina) platensis* LMPA55. En sus conclusiones, se destacó que, a baja concentración de nitrato de sodio, la velocidad

específica de crecimiento de *L. platensis* experimentó un aumento. Sin embargo, a concentraciones bajas, también se observó una disminución en los contenidos de proteínas y ficocianina, sugiriendo que este pigmento podría ser utilizado como reserva en respuesta a la limitación de nitrógeno.

5.1.8.4 Biomasa seca (BS)

La biomasa seca del cultivo de *Oscillatoria limosa* se determina por la cantidad de gramos por litro producidos, medida mediante espectrofotometría. No se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos. Para T1, esta variable presentó un promedio de $0,1566 \pm 0,0317 \text{ g.L}^{-1}$, con rangos de menor valor en el día 0 ($0,0004 \text{ g.L}^{-1}$) y el mayor valor en el día 13 ($0,6230 \text{ g.L}^{-1}$). En T2, la biomasa seca promedio fue de $0,1823 \pm 0,0377 \text{ g.L}^{-1}$, con rangos de menor valor en el día 0 ($0,0019 \text{ g.L}^{-1}$) y el valor más alto en el día 17 ($0,6710 \text{ g.L}^{-1}$). Estos valores se detallan en la Figura 23B, (Anexo 6 y Anexo 7 y 8)

La productividad en un cultivo algal se refiere al crecimiento del organismo, logrado mediante la incorporación de nutrientes al tejido celular. Esta eficiencia disminuye con la edad del cultivo y se ve afectada por la fotosíntesis, que abarca la fijación del dióxido de carbono y la utilización de fotones provenientes de la energía luminosa. Así, el crecimiento se potencia con la eficiente utilización de la luz (Hill *et al.*, 2006; Kim, 2015; McNichol y McGinn, 2012).

Desde el inicio del cultivo hasta el tercer día, se observó una fase de adaptación en ambos tratamientos, atribuida principalmente a la adaptación fisiológica de las células al metabolismo del crecimiento. Este proceso involucra un aumento en los niveles de enzimas y metabolitos asociados con la división celular y la fijación de carbono. Además, los cambios en las condiciones ambientales, como temperatura, iluminación y pH, pueden contribuir al retardo del crecimiento en la fase inicial del cultivo (Arredondo *et al.*, 2017).

En comparación con el estudio de Cordero y Gonzalez, 2023, que informó mayores valores de biomasa seca bajo luz blanca, con una aceleración y crecimiento exponencial entre los días 6 y 9 del cultivo, seguido de un descenso del día 9 al 12 y una estabilización hasta el día 18, seguido de un segundo aumento hasta el día 27, en nuestra investigación se registraron los mayores valores de biomasa seca en los T1 y T2. El crecimiento exponencial se observó entre los días 5 y 13 del cultivo, seguido de un descenso entre los

días 13 y 20 (Figura.23, Anexo 8).

Lo anterior se puede explicar debido a la capacidad metabólica que poseen algunas cianobacterias donde además de ser su principal fuente de energía la fotosíntesis, pueden en determinadas circunstancias también ser capaces de captar directamente sustancias orgánicas del entorno, como la glucosa, y asimilarlas como fuente de energía. Por eso se las considera organismos mixótrofos, ya que tienen una forma mixta de alimentarse (luz y materia orgánica). Todo este proceso de asimilación de la glucosa es fundamental para algunas cianobacterias y le genera ventajas frente a su competencia: ahorran energía (ya que supone más esfuerzo transformar el CO₂ en materia orgánica que alimentarse directamente de ella) y quitan materia orgánica a otros microorganismos competidores que están a su alrededor (Moreno-Cabezuela *et al.*, 2023; Muñoz-Marin *et al.*, 2022).

Fuenmayor *et al.*, (2009) determina que el comportamiento de la masa seca, en contraste con los resultados obtenidos con la turbidez, se debe principalmente a la menor velocidad de crecimiento y mayor tasa de duplicación que presentaron los cultivos ante menores concentraciones de nutrientes y mayores salinidades. En estas condiciones, las células mantienen una talla superior en comparación con las células con una elevada tasa de crecimiento, y también tienden a acumular una mayor cantidad de metabolitos. Por lo tanto, podemos inferir que a medida que se aprovechan más nutrientes en los medios de cultivo, *O. limosa* muestra un mayor crecimiento y obtención de biomasa.

En un estudio realizado por Vieira-Costa *et al.*, (2001), utilizando seis fuentes alternativas de nitrógeno para el cultivo de *S. platensis*, se alcanzaron mayores concentraciones de biomasa con nitrato de sodio (control) (1,6–2,0 g.L⁻¹), seguido del tratamiento con nitrato de amonio (1,0 g.L⁻¹) y urea (0,9 g.L⁻¹). Estos hallazgos concuerdan con los resultados obtenidos en la presente investigación con *O. limosa*, que alcanzó valores de biomasa seca de (0,1823-0,0377 g.L⁻¹ PS) para el T2, que cuenta con una mayor fuente de nitrógeno y fósforo debido a los ajustes realizados en su composición química.

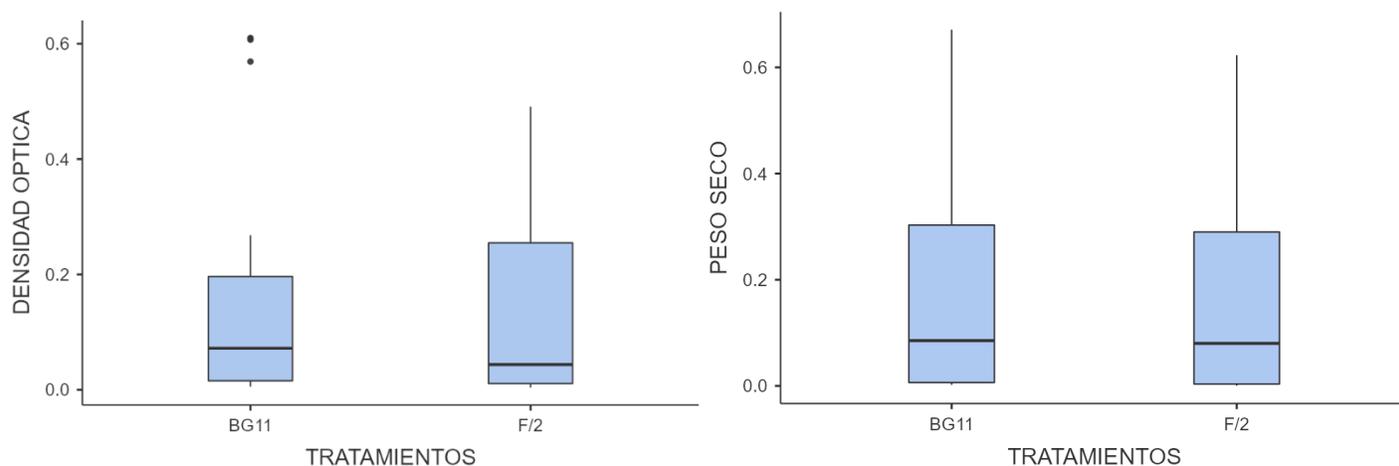


Figura 23. Comportamiento de la Densidad Optica (A), Biomasa seca (B), del cultivo *O. limosa* en T1 y T2.

5.1.8.5 Contenido de ficobiliproteína

El contenido de ficobiliproteínas en el cultivo de *Oscillatoria limosa* está dada por la lectura de los valores por espectro de absorción, se dividen en tres clases ficoeritrina (PE), ficocianina (PC) y aloficocianina (APC).

5.1.8.5.1 Ficocianina

El contenido de ficocianina no mostró diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos. Para el T1, este metabolito secundario tuvo un promedio de $0,0180 \pm 0,0037 \mu\text{g.mL}^{-1}$, con valores mínimos registrados en el día 17 ($0,0012 \mu\text{g.mL}^{-1}$) y valores máximos en el día 3 ($0,0771 \mu\text{g.mL}^{-1}$). En el T2, el promedio fue de $0,0135 \pm 0,0027 \mu\text{g.mL}^{-1}$, con valores mínimos en el día 17 ($0,0003 \mu\text{g.mL}^{-1}$) y valores máximos en el día 13 ($0,0644 \mu\text{g.mL}^{-1}$) (Figura 24, Anexo 9)

De acuerdo con Rosales,(2007), la concentración de pigmentos depende de la cantidad de nitrato presente. La baja producción de ficocianina en cultivos sin nitrógeno o con limitaciones se debe a procesos de degradación, con el objetivo de movilizar el nitrógeno de esta cromoproteína hacia rutas metabólicas asociadas al crecimiento y síntesis de otras macromoléculas. Estos resultados, en consonancia con los de Fuenmayor *et al.*, (2009), confirman que se requiere la adición de concentraciones adecuadas de nitrato para una síntesis significativa de clorofila a, carotenoides y ficocianina en *Oscillatoria*, bajo las

condiciones de cultivo establecidas. Esta diferencia en la síntesis de pigmentos es evidente al finalizar el cultivo, presentando una coloración verde-azul intensa en el cultivo con BG11 y un tono verde amarillento en el cultivo con F/2 Guillard.

Estudios anteriores realizados por Loreto *et al.*, (2003) y Rosales, (2007) con cianobacterias como *Anabaena* PCC 7120 y *Nostoc sp.* LAUN0015 demostraron que la producción de ficocianina se estimula en los cultivos con mayores concentraciones de nutrientes. Al comparar estos resultados, se encuentran similitudes en el comportamiento de *O. limosa* frente a las concentraciones de nutrientes en los tratamientos utilizados en este estudio.

5.1.8.5.2 Aloficocianina.

En el tratamiento 1, los valores de aloficocianina promedio fueron de $0,0096 \pm 0,0019 \mu\text{g.mL}^{-1}$, mientras que en el tratamiento 2, los valores fueron de $0,0081 \pm 0,0015 \mu\text{g.mL}^{-1}$ (Figura 24B, Anexo 8), sin mostrar diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos. En el T1, los rangos de aloficocianina más elevados se registraron en el día 5 ($0,0422 \mu\text{g.mL}^{-1}$), mientras que los valores más bajos se observaron en los días 17 y 19, con un valor de $-4,98e-4 \mu\text{g.mL}^{-1}$ respectivamente. En el T2, el valor más alto se registró en el día 13 ($0,0316 \mu\text{g.mL}^{-1}$), mientras que para el día 19 se obtuvo el valor más bajo, $0,0001 \mu\text{g.mL}^{-1}$.

Escudero *et al.*, (2023) en su investigación con *Scenedesmus sp.*, presentaron la mayor concentración de pigmentos hidrosolubles, específicamente aloficocianina, con valores entre $0,034 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Estos resultados difieren ligeramente de los obtenidos en este estudio, donde los valores de aloficocianina se encuentran entre $0,0096 \pm 0,0081 \mu\text{g.mL}^{-1}$ entre tratamientos. Esta variación se explica por las diferencias en los nutrientes y el aprovechamiento de los tratamientos utilizados por *O. limosa*.

Garzón y González, (2019) señalan en su investigación el efecto de la intermitencia de la luz en el crecimiento y la producción de metabolitos de *O. limosa*, ya que estos factores influyen en la expresión de los pigmentos fotosintéticos.

Al igual que Bermúdez-Sierra *et al.*, (2013) en su cultivo con *Scenedesmus sp.*, realizamos

para el cultivo de *O. limosa* el rompimiento celular en muestras liofilizadas, permitiendo expresar los porcentajes de los pigmentos hidrosolubles como aloficocianina, ficoeritrina y ficocianina. Escudero *et al.*,(2023) obtuvieron resultados similares, debido al rompimiento celular realizado en su investigación, mostraron en mayor proporción aloficocianina en comparación con los otros pigmentos hidrosolubles. Estos resultados podrían atribuirse al método mecánico de rompimiento celular, que favorece en mayor medida la extracción de aloficocianina y en menor proporción la extracción de los otros pigmentos hidrosolubles.

5.1.8.5.3 Ficoeritrina

En la Figura 24C, Anexo 9 se presentan los resultados del comportamiento de la ficoeritrina en función del tiempo durante el cultivo de *O. limosa*. La ficoeritrina alcanzó un valor máximo de $0,2569 \mu\text{g.mL}^{-1}$ en el día 0 del T1 y de $0,2490 \mu\text{g.mL}^{-1}$ en el T2 durante el día 3 del cultivo. Por otro lado, en el día 17 se observa el valor mínimo de esta variable en T1 ($0,0016 \mu\text{g.mL}^{-1}$) y T2 ($0,0014 \mu\text{g.mL}^{-1}$). En el T1 se registró un contenido promedio de ficoeritrina de $0,0596 \pm 0,0114 \mu\text{g.mL}^{-1}$ y en el T2 fue de $0,0474 \pm 0,0090 \mu\text{g.mL}^{-1}$, sin que se establecieran diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los días muestreados a lo largo del estudio.

En la investigación de Escudero *et al.*,(2023), realizada con *Scenedesmus* sp. en diferentes concentraciones de nitrógeno, se presentaron concentraciones de ficoeritrina de $0,026 \text{ mg.mL}^{-1}$ en la cepa N 7. Estos resultados muestran ligeras diferencias con los obtenidos en este estudio, ya que los mayores valores registrados en el cultivo de *O. limosa* fueron de $0,2569 \pm 0,2490 \text{ mg.mL}^{-1}$ entre tratamientos.

Garzón y González, (2019), en su investigación con *Scenedesmus obliquus*, informaron que la ficoeritrina presentó la mayor concentración de los pigmentos hidrosolubles, seguida de la aloficocianina y la ficocianina, en condiciones de luz intermitente en comparación con luz constante. A partir de este reporte, podemos comparar en nuestro estudio la expresión de estos pigmentos y la liberación de toxinas, la cual se atribuye a la intensidad lumínica y al estrés que puede provocar en *O. limosa*.

5.1.8.5.4 Ficobiliproteínas totales

La Figura 24D, Anexo 9 se observa los resultados del comportamiento de las ficobiliproteínas totales en función del tiempo en día del cultivo de *O. limosa*. Los valores de ficobiliproteínas totales presento un valor máximo $0,3359 \mu\text{g.mL}^{-1}$ en el día 0 del T1, y de $0,2931 \mu\text{g.mL}^{-1}$ en T2 durante el día 3 del cultivo, en tanto en el día 17 se aprecia el valor mínimo de esta variable en T1 ($0,0042 \mu\text{g.mL}^{-1}$) y T2 ($0,0027 \mu\text{g.mL}^{-1}$).

En el T1 se registró un contenido de ficobiliproteína totales promedio de $0,0872 \pm 0,001 \mu\text{g.mL}^{-1}$ y $0,0690 \pm 0,0119 \mu\text{g.mL}^{-1}$ en T2. Sin establecer diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los días muestreadas durante el tiempo del estudio. Aunque no se presente diferencias significativas entre los tratamientos utilizados, se puede apreciar que las mayores concentraciones de ficobiliproteinas se presentaron el T1, en el que alcanzan su mayor expresión de los pigmentos fotosintéticos, siendo este tratamiento el que presenta menores concentraciones de nitrógeno y fosforo. Rivera González *et al.*, (2016) evaluaron el crecimiento y producción de pigmentos de *A. platensis* bajo la influencia de seis de carbón de bajo rango (CBR) tipolignito (10, 20, 30, 40, 50, 60 mg.L) frente a una concentración de AIA (80 mg.L) en el que observaron que los mayores porcentajes de ficobiliproteinas y crecimiento se presentaron en los tratamientos que se emplearon 50 y 60 mg.mL de CBR tipo lignito. los tratamientos no presentando diferencias mínimas significativas en el contenido de aloficocianina ($p=0.861 > 0.05$), ficoeritrina ($p=0.253 > 0.05$) y ficocianina ($p=0.259 > 0.05$). La mayor producción de ficocianina se observó entre los días 11-15 del cultivo para ambos tratamientos respectivamente, luego para aloficocianina se observa en día 5 para el T1 la mayor producción de aloficocianina, aunque se puede apreciar que en el día 11 al 13 del cultivo para ambos tratamientos logran alcanzar la mayor proporción de esta. Para ficoeritrina esta presenta su mayor producción para ambos tratamientos entre los días 3 y 7 del cultivo (Anexo 9)

Rivera González *et al.*, (2016) alcanzan sus mayores valores de ficocianina el día 21; luego para aloficocianina la producción más alta fue constante desde el día 12 y sigue el 15, continúa 18 y el 24 y finalmente ficoeritrina su producción tuvo más relevancia los días 12 y 24. Esto se debe a la concentración de los nutrientes de los medios de cultivos empleados, debido que las cianobacterias tienen la capacidad de aprovechar y expresar

los pigmentos fotosintéticos de acuerdo a las condiciones que son expuestas.

Streit *et al.*,(2017) evaluaron la producción de ficobiliproteínas y clorofila-a de *Aphanothece microscópica Nageli* cultivada en sistemas autotróficos (BG11) y heterotróficos (efluente de industria láctea con relación C:N 20 y N:P 10) en el que se puede apreciar que esta cepa obtuvo mayor crecimiento los mayores valores de ficobiliproteínas en los sistemas autotrófico (BG11) esto se debe a que el medio de cultivo utilizado, tiene una influencia marcada sobre el crecimiento celular. De esta forma, el metabolismo celular y, por consiguiente, la formación de bioproductos, estará fuertemente influenciada por el medio de cultivo utilizado. Podemos comparar de acuerdo en nuestra investigación del T1 presenta los mayores valores de ficobiliproteínas totales del cultivo de *O. limosa* se presentan en los días donde el cultivo presenta una degradación de los nutrientes, esto se puede explicar de la forma que al cultivo realizar heterotrofia y la cianobacteria alcanzar su máximo crecimiento exponencial logra aprovechar nuevamente los nutrientes y debido a la intensidad lumínica que hace que esta exprese liberándose y generando toxinas (Anexo 9).

Chen *et al.*,(2014) afirma que, en cianobacterias, el número de moléculas de ficobiliproteínas aumenta en relación a la ficocianina al compararse con las otras fracciones proteínicas. Zeng *et al.*, (2012), la ficocianina, ha sido descrita como la principal ficobiliproteína que constituye los pigmentos que caracterizan a las cianobacterias. Es por esto que con estudios realizados con *Spirulina platensis* La aloficocianina y ficocianina representan normalmente el 20% de la proteína celular, siendo los pigmentos dominantes desde el punto de vista cuantitativo

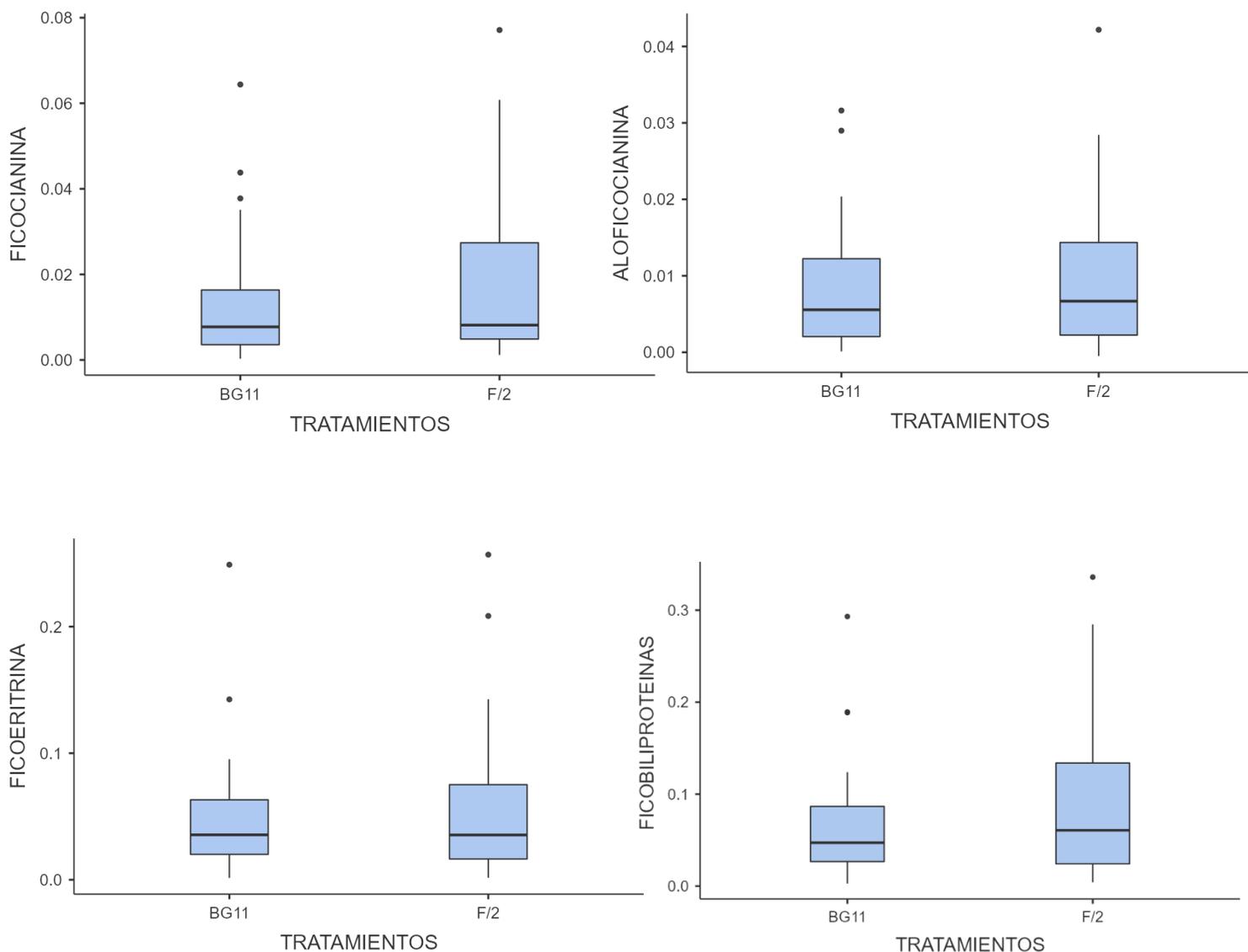


Figura 24. Comportamiento de las ficobiliproteínas: ficocianina (A), Aloficocianina(B), Ficoeritrina (C) y Ficobiliproteínas totales en el cultivo *O. limosa* en los T1 y T2.

5.1.9 Concentración de microcistina por prueba ELISA

Los resultados de la cuantificación intracelular por técnica ELISA en el cultivo de la cepa *Oscillatoria limosa* a partir de sonicado, se demostraron una totalidad de 4 muestras tomadas los días 0, 11, 15 y 20 del cultivo, comprobando la presencia de microcistina intracelular en ambos tratamientos. En el tratamiento T1 (F/2) la Concentración de

microcistina fluctuó entre 2,839 $\mu\text{g.L}^{-1}$ y 3,521 $\mu\text{g.L}^{-1}$ en el tiempo del cultivo. En T2 (BG11), la concentración varió entre 4,004 $\mu\text{g.L}^{-1}$ y 6,636 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (Figura 25)

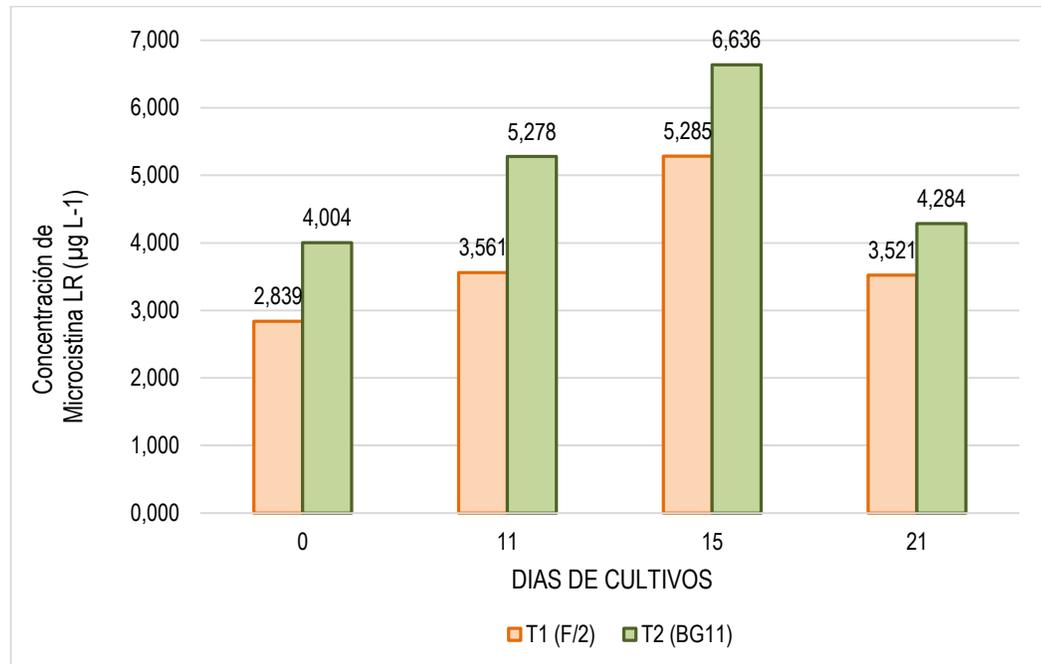


Figura 25. Concentración de MC ($\mu\text{g.L}^{-1}$) en agua durante las fases de crecimiento del cultivo de *O. limosa* T1(F/2) y T2(BG11).

Izaguirre *et al.*, (2007), reportan en 11 cultivos de cepas aislada altas concentraciones de microcistina-LR (90–432 $\mu\text{g.L}^{-1}$), dentro de las cuales, la cepa de *Oscillatoria limosa* cultivada en BG11 modificado, reportan que la concentración de microcistina osciló entre 1,33 y 4,15 $\mu\text{g.L}^{-1}$, al compararse con los datos obtenidos durante los cuatro días muestreados para el T2 (BG11) nuestras concentraciones variaron de 4,004 $\mu\text{g.L}^{-1}$ y 6,636 $\mu\text{g.L}^{-1}$. Mohamed, (2007) reportan a través de ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA), concentraciones de hasta 32 $\mu\text{g.L}^{-1}$ y 0,3 $\mu\text{g.L}^{-1}$, respectivamente de mix de cianobacterias, realizando la purificación de la cepa *oscillatoria limosa* y detectando concentración de microcistina intracelular (1585712,7 mg.g^{-1}) por ELISA, concluyendo que al cultivar esta especie a altas temperaturas, altas concentración de nitrógeno y fosforo puedan expresar su toxicidad. En nuestro ensayo el tratamiento 2 (BG11 modificado) se

aumentaron las concentraciones de estos nutrientes, reportándose la concentración de microcistina intracelular en cultivo por encima del límite permisible ($1 \mu\text{g L}^{-1}$) decretado por la OMS.

6 CONCLUSIONES

Dado que el CCBS constituye un ecosistema eutroficado, enriquecido con nutrientes nitrógeno y fósforo, se convierte en un entorno propicio para el florecimiento de cianobacterias potencialmente tóxicas. Según los resultados obtenidos en esta investigación, se puede afirmar que la abundancia y diversidad absoluta mas elevadas se observaron en periodos de aguas bajas.

En la cienaga de San Sebastián, las especies más predominantes fueron *Aphanocapsa delicatissima*, *Oscillatoria limosa*, *Microcystis aeruginosa*, *Microcystis wessenbergii* y *Dolichospermum circinalis*. Mientras, la cienaga de Momil, las especies más dominantes fueron *Microcystis wesenbergii*, *Aphanocapsa delicatissima*, *Dolichospermum circinalis*, *Oscillatoria limosa* y *Microcystis aeruginosa*.

A partir de los resultados obtenidos en el cultivo de *O. limosa* no se presentaron diferencias significativas entre los tratmientos. Sin embargo, cabe resaltar que aunque el T2 (BG11) no es un medio adecuado para cianobacterias sin heterocitos demostro ser muy eficiente y rentable en comparacion con el T1(F/2) que es uno de los medios de cultivo mas utilizados en microalgas.

Durante el tiempo de que duro el cultivo de *O.limosa* el pigmento fotosintetico que se presento en mayor concentracion en ambos tratamientos fue ficoeritrina ficoeritrina $0,0596 \pm 0,0114 \mu\text{g.mL}^{-1}$ (T1) , $0,0474 \pm 0,0090 \mu\text{g.mL}^{-1}$ (T2) , esto se puede atribuir a que el cultivo se mantuvo en una luminosidad constante

En el marco de este estudio, logramos resaltar de manera consistente los resultados

obtenidos al evaluar las discrepancias entre los tratamientos T1 y T2, observándose al incrementar la cantidad de nutrientes, especialmente nitrógeno y fósforo, la especie *Oscillatoria limosa* respondía a una mayor expresión de cianotoxina. Este fenómeno se atribuye a la presencia de mayores niveles de estrés, especialmente bajo condiciones de luz constante, lo que condujo a la producción significativa de concentraciones elevadas de toxinas.

7 RECOMENDACIONES

En futuras investigaciones, considerar la importancia de los metabolitos secundarios de la especie *O. limosa* para aplicaciones en la biotecnología, debido a que las toxinas que contienen esta especie pueden ser utilizadas como bioprospección.

Realizar pruebas de niveles de toxicidad a través de bioensayos con dosis letal 50, en organismos acuáticos en diferentes etapas de crecimiento del animal para observar el tiempo en que tarda en afectarlo.

Efectuar futuros ensayos en cianobacterias con distintos fotoperíodos (12:12, 18:6, 24:0) y temperatura (26-30°C) para evaluar el crecimiento y obtención de biomasa en diferentes medios de cultivo.

Dependiendo la cantidad de pigmentos fotosintéticos $0,2569 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ que puede expresar la cepa *O. limosa*, se pueden implementar en las industrias farmacéuticas, agrícolas, entre otras.

Tener en cuenta que el implementar el medio de cultivo adecuado para el crecimiento y desarrollo de cianobacterias filamentosas, garantizan resultados en términos de biomasa y producción de pigmentos fotosintéticos.

Establecer medidas preventivas para disminuir el aporte excesivo de nutrientes de origen doméstico y agrícola que generan las floraciones algales principalmente de grupos de cianobacterias potencialmente tóxicas en las cienagas de San Sebastián y Momil.

Es de suma importancia en la Acuicultura reconocer el impacto negativo que pueda presentarse en estanques de producción Acuícolas, si no tienen control en la relación nitrógeno y fósforo, al momento de realizar la fertilización, abonamiento y suministrar el alimento concentrado, para prevenir excesos de productividad primaria especialmente de cianobacterias con potencial tóxico.

Al no brindar condiciones de excesos de nutrientes que puedan provenir de actividades como anteriormente mencionamos, se puede minimizar el riesgo de proliferación de consorcios de cianobacterias, especialmente la especie *Oscillatoria limosa*, que puede dar lugar a floraciones perjudiciales. Este fenómeno ha sido documentado previamente en investigaciones realizadas Chamorro y Martínez(2023) quienes destacaron la importancia

de abordar este aspecto con atención para preservar la salud y el rendimiento óptimo de las especies cultivadas en estudios anteriores

8 BIBLIOGRAFIA

Roset J. Detección de cianobacterias y sus toxinas: Una revisión. *Revista de Toxicología*. 2001;18:65–71.

Romero NG. Estudio de microorganismos fotosintéticos como indicadores de cambios ambientales en las Islas Greenwich. 2013.

Whitton B, Potts M. *The ecology of cyanobacteria. Their diversity time and space*. Springer; 2000.

Sánchez AI. Ecología y distribución de cianobacterias en los lagos del Parque Nacional "Lagunas de Montebello", Chiapas y su potencial riesgo toxicológico. Facultad de Ciencias, UNAM. (2021). Recuperado de <https://repositorio.unam.mx/contenidos/3558510>

Cremella B. Factores involucrados en la expansión de la cianobacteria *Cylindrospermopsis raciborskii* en el continente americano. 2014.

Carvajal, GE. Ocurrencia de floraciones de cianobacterias tóxicas en cuerpos de agua dulce, Argentina (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de La Plata).2011.

Fay, P. *The Blue-greens*. Londres, Inglaterra: Hodder; 1983.

Vasconcelos V, Morais J, Vale M. Microcystins and cyanobacteria trends in a 14 year monitoring of a temperate eutrophic reservoir (Aguieira, Portugal). *Journal of Environmental Monitoring*. 2011;13(3):668–72.

Nandini S, Sarma S, Ramírez S, García P. Life table demography and population growth of *Daphnia leveis* (Cladocera, Anomopoda) under different densities of *Chlorella vulgaris* and *Microcystis aeruginosa*. *Crustaceana*. 2000.

Aguilar, MCV. Comparación de la proliferación de cianobacterias y sus métodos de gestión en lagos templados y tropicales del continente americano,2017.

Patterson GML, Larsen LK, Moore RE. Bioactive natural products from blue-green algae. *J Appl Phycol* [Internet]. 1994;6(2):151–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/bf02186069>

Papke U, Gross EM, Francke W. Isolation, identification and determination of the absolute configuration of Fischerellin B. A new algicide from the freshwater cyanobacterium *Fischerella muscicola* (Thuret). *Tetrahedron Lett* [Internet]. 1997;38(3):379–82. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/s0040-4039\(96\)02284-8](http://dx.doi.org/10.1016/s0040-4039(96)02284-8)

Papendorf O, König GM, Wright AD. Hierridin B and 2,4-dimethoxy-6-heptadecylphenol, secondary metabolites from the cyanobacterium *Phormidium ectocarpi* with antiplasmodial activity. *Phytochemistry*. (1998),49(8), 2383–2386. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(98\)00440-3](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(98)00440-3)

Kajiyama SI, Kanzaki H, Kawazu K, Kobayashi A. Nostofungicide, an antifungal lipopeptide from the field-grown terrestrial blue-green alga *Nostoc commune*. *Tetrahedron Lett* [Internet]. 1998;39(22):3737–40. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/s0040-4039\(98\)00573-5](http://dx.doi.org/10.1016/s0040-4039(98)00573-5)

Dahms HU, Ying X, Pfeiffer C. Antifouling potential of cyanobacteria: a mini-review. *Biofouling*,. (2006). 22(5–6), 317–327. <https://doi.org/10.1080/08927010600967261>

Abed RMM, Dobretsov S, Sudesh K. Applications of cyanobacteria in biotechnology. *Journal of Applied Microbiology*. (2009).106(1), 1–12. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2672.2008.03918.X>

Luu PT, Duy ND, Long LT. Toxicity of the cyanobacteria *Oscillatoria limosa* isolated from Tri An reservoir. *Journal of Biology*, 41(January), 2019.467–474. <https://doi.org/10.15625/0866-7160/v41n2se1>

Sikdar J, Keshri JP. The Genus *Oscillatoria* Vaucher (Oscillatoriales: Cyanoprokaryota) in West Bengal, India. *India International Journal of Current Research and Review*. 2014;6(21).

- Salamanca E.J.P. Algas como indicadores de contaminación. Universidad del Valle. 2005.
- Kruk C, Huszar V, Peeters E, Bonilla S, Costa L, Lurling M. A morphological classification capturing functional variation in phytoplankton. *Freshwater Biology*. 2010;55:614–27
- Bonilla S, Haakonsson S, Somma A, Gravier A, Britos A, Vidal L. Cianobacterias y cianotoxinas en ecosistemas límnicos de Uruguay. *Innotec*. 2015;9–22.
- Paerl HW, Otten TG. Harmful cyanobacterial blooms: Causes, consequences, and controls. *Microb Ecol* [Internet]. 2013;65(4):995–1010. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s00248-012-0159->
- Bauzá L, Giannuzzi L. Métodos de control del desarrollo de floraciones cianobacterianas en ambientes acuáticos: Revisión actualizada. 2017
- Mercado I, Montero X. Catálogo de microalgas y cianobacterias. *Environmental Science and Technology*. 2022;44(18):1995–2037.
- Callejas MC. Metabolismo del nitrógeno en cianobacterias formadoras de heterocistos. UDELAR, Montevideo; 2007.
- Web C, Ackerly D, Mcpeek A, Donoghue M. Phylogenies and community ecology. *Phylogenies and community ecology*. 2002
- Nogueira I, Júnior G. Cianobacterias planctónicas de un lago artificial urbano en la ciudad de Goiânia, GO. *Revista Brasileira de Botânica*. 2011;34:575–92
- Nogueira L. Efectos del gradiente ambiental sobre floraciones fitoplanctónicas en el sistema Río Uruguay-Río de la Plata: una aproximación funcional, 2017.
- Reynolds C. Vegetation Process in the pelagic: a model for ecosystem theory: Excellence in Ecology Phytoplankton ecology. Ecology Institute. 1997.
- Salmaso N, Padisák J. Morpho-functional groups and phytoplankton development in two deep lakes (Lake Garda, Italy and Lake Stechlin, Germany). *Hydrobiologia*. 2007;578:97–112.

Kruk C, Peeters E, Van Nes E, Huszar V, Costa L, Scheffer M. Phytoplankton community composition can be predicted best in terms of morphological groups. *Limnology and Oceanography*. 2011;56:110–8.

Costa L, Huszar V, Ovalle A. Phytoplankton Functional Groups in a Tropical Estuary: Hydrological Control and Nutrient Estuaries and Coasts. 2009;32:508–21.

Osorio FJ. Grupos funcionales fitoplanctonicos y su relación con variables ambientales en una ciénaga costera tropical. 2021.

Kruk C, Segura A. The hábitat template of phytoplankton morphology -based functional groups. *Hydrobiologia* [Internet]. 2012;698(1):191–202. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s10750-012-1072-6>

Colina M. Pastoreo del zooplancton sobre Grupos Funcionales Basados en Morfología de fitoplancton. 2013.

Fussmann GF, Blasius B. Community response to enrichment is highly sensitive to model structure. *Biology letters*. 2005;1(1):9–12.

Komárek J. Diversidad de fenotipos del género cianoprocariótico heterocitoso *Anabaenopsis*. *Fottea*. 2005;5(1):1–35.

Gomont M. Monographie des Oscillariées. *Ann Sci Nat Bot Ser* 1892; 16:198-246.

Tucci A, Santana CL, Azevedo MDP, Melcher SS, Werner VR, Malone CFS. Atlas de cianobactérias e microalgas de águas continentais brasileiras. Instituto de Botânica. São Paulo, Brazil; 2012.

Rodríguez-Cuesta, A. R., Triana-Serrano, F. C. Evaluación del pH en el cultivo de *Spirulina* spp. (*Arthrospira*) bajo condiciones de laboratorio. Pontificia Universidad Javeriana Facultad De Ciencias. Bogotá, D.C.2006.

Vonshak A, Tomaselli L. *Arthrospira* (*Spirulina*): systematics and ecophysiology. In *The ecology of cyanobacteria* (pp. 505-522). Springer, Dordrecht,2000.

- Ramírez-Moreno L, Olvera-Ramírez, R. Uso tradicional y actual de *Spirulina* sp. (*Arthrospira* sp.). *Interciencia*, 2006, 31(9), 657-663.
- Van Der Hoek DG, Mann HM. An introduction to Phycology. Vol. 627. Edimburgo, Inglaterra: Cambridge, University Press; 1998
- Canoana y Cardona . cianobacterias (cyanophyta) bacterias fototroficas oxigénicas.2015
- Watanabe MF, Harada KI, Carmichael WW, Fujiki H. Toxic microcystis. CRC press. 1995
- Sivonen K. Cyanobacterial toxins and toxin production. *Phycologia* [Internet]. 1996;35(6S):12–24. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.2216/i0031-8884-35-6s-12.1>
- Dokulil MT, Teubner K, Dyle J, Tester PA, Litaker RW. Cyanobacterial dominance in lakes. Effects of light intensity on *cylindrospermopsi*. 2000;438:1–12
- Oliver RL, Ganf GG. Freshwater blooms. En: *The ecology of cyanobacteria*. Dordrecht: Springer; 2000.
- Paerl HW, Huisman J. Climate change: a catalyst for global expansion of harmful cyanobacterial blooms. *Environ Microbiol Rep* [Internet]. 2009;1(1):27–37. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1758-2229.2008.00004.x>
- Hernández H. Efectos del fenómeno de El Niño como factor condicionante de las floraciones algales en el Embalse el Hato municipio de Carmén de Carupa. Cundinamarca, Colombia; 2015.
- Reynolds CS. *The Ecology of Phytoplankton*. Cambridge: Cambridge University Press; 2006. p. 387–436.
- Parra O, Avilés D, Becerra J, Dellarossa V, Montoya R. First toxic blue-green algal bloom recorder for Chile: A preliminary report. *Gayana Bot*. 1986;43(1–4):15–7.
- Rosso L, Giannuzzi L. Cianobacterias como determinantes ambientales de la salud. Ciudad Autónoma de Buenos Aires. 2011;5:72–3.

Fernandez L, Facundo Á. Variables ambientales que influyen en la abundancia y diversidad de genotipos tóxicos de *Microcystis* spp. 2019.

Giráldez-Ruiz N, Mateo P, Bonilla I, Fernández-Piñas F. La relación entre el pH intracelular, las características de crecimiento y el calcio en la cianobacteria *Anabaena* PCC 7120 expuesta a pH bajo. *Nuevo fitol.* 1997; 137: 599-605

Fuenmayor G, Jonte L, Rosales-Loaiza N, Morales E. Crecimiento de la cianobacteria marina *Oscillatoria* sp. MOF-06 en relación al pH en cultivos discontinuos. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología.* 2009;29(1):21–5.

Moronta R, Mora R, Morales E. Respuesta de la microalga *Chlorella sorokiniana* al pH, salinidad y temperatura en condiciones axénicas y no axénicas. *Revista de la Facultad de Agronomía LUZ.* 2006;23(1):28–43

Martínez L. Eliminación de CO₂ con microalgas autóctonas. Tesis Doctoral, Instituto de Recursos Naturales. León; 2008.

Park JBK, Craggs RJ, Shilton AN. Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. *Bioresour Technol* [Internet]. 2011;102(1):35–42. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.158>

Graham JE, Wilcox LW, Graham LE. *Algae*. 2a ed. Upper Saddle River, NJ, Estados Unidos de América: Pearson; 2008.

Martínez PM. Evaluación del potencial alelopático de la pajilla de arroz en el control de las floraciones algales producidas por *Microcystis aeruginosa* (KÜTZING), 2018

Reynolds, C. S. *The Ecology of Freshwater Phytoplankton*. Cambridge University, London, 1984, 384 p.

Fabre A, Carballo C, Hernandez E, Piriz P, Bergamino L, Mello L, Kruk C. El nitrógeno y la relación zona eufótica/zona de mezcla explican la presencia de cianobacterias en pequeños lagos subtropicales, artificiales de Uruguay. 2010.

Herazo DS. Identificación y cuantificación de cianobacterias tóxicas y detección de microcistina en el complejo cenagoso del bajo sinú (ccbs), departamento de córdoba. colombia. 2016.

O'Neil JM, Davis TW, Burford MA, Gobler CJ. The rise of harmful cyanobacteria blooms: The potential roles of eutrophication and climate change. *Harmful Algae* [Internet]. 2012;14:313–34. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.hal.2011.10.027>

Jöhnk KD, Huisman J, Sharples J, Sommeijer B, Visser PM, Stroom JM. Summer heatwaves promote blooms of harmful cyanobacteria. *Global Change Biology*. 2008;14 (3): 495-512. Doi:10.1111/j.1365-2486.2007.01510

Rigosi A, Carey CC, Ibelings BW, Brookes JD. The interaction between climate warming and eutrophication to promote cyanobacteria is dependent on trophic state and varies among taxa. *Limnology and Oceanography* [Internet]. 2014;59(1):99–114. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4319/10.2014.59.1.0099>

Paterson AM, Rühland KM, Anstey CV, Smol JP. Climate as a driver of increasing algal production in Lake of the Woods, Ontario, Canada. *Lake Reserv Manag* [Internet]. 2017;33(4):403–14. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1080/10402381.2017.1379574>

Huisman J, Codd GA, HW, Ibelings BW, Verspagen JMH, Visser PM. Cyanobacterial blooms. *Nat Rev Microbiol* [Internet]. 2018;16(8):471–83. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/s41579-018-0040-1>

Zapata A, Rivera Rondón CA, Páez V, Pedraza Garzón E, García R. Factors controlling continual cyanobacterial bloom in a tropical urban wetland. *Verhandlungen des Internationalen Verein Limnologie*. 2009;30: 813-816. Doi:10.1080/03680770.2009.11902244 [Links]

Salomón S, Rivera-Rondón, CA, Zapata AM. Floraciones de cianobacterias en Colombia: estado del conocimiento y necesidades de investigación ante el cambio global. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 2020;44(171), 376-391.

Sánchez G. Aislamiento de Microalgas y Cianobacterias: técnicas y métodos. Memorias II curso teórico práctico. Microalgas y Cianobacterias: Aislamiento, cultivo y fisioecología. Santa Marta; 2001.

Comba, N. Las cianobacterias como indicadores de la calidad del agua en el embalse de Betania (Cuenca Alta del río Magdalena). [Internet]. 2009. [citado: 2023, diciembre] Disponible en: <http://hdl.handle.net/20.500.12010/17694>.

Avendaño EM, Pérez RM, Rodríguez GS. Aislamiento, cultivo, viabilidad y evaluación de un consorcio cianobacteria-microalga como acondicionador de suelos. Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas, 2014;35(1-2), 51-71.

Soeder CJ. Massive cultivation of microalgae: Results and prospects. Hydrobiologia [Internet]. 1980;72(1–2):197–209. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/bf00016247>

Ferris MJ, Hirsch C. Method for isolation and purification of cyanobacteria. Applied and environmental microbiology. 1991;57(5):1448–52.

Leal EF. Manual de cultivo para microalgas. Universidad del Atlántico. 117p. 1998.

Markou G. Effect of various colors of light-emitting diodes (LEDs) on the biomass composition of *Arthrospira platensis* cultivated in semi-continuous mode. Appl Biochem Biotechnol. 2014;172(5):2758–68.

Clemente M. Estudios de evolución experimental en microorganismos: análisis de la tolerancia al sulfuro en las cianobacterias *Microcystis aeruginosa* y *Oscillatoria* sp. 2021.

Flotats X, HL Foged, AB Blasi, J Palatsi, A Magri y KM Schelde. Manure Processing Activities in Europe - Project reference: ENV.B.1/ETU/2010/0007 Manure Processing Technologies. Technical Report 2, European Commission, Directorate-General Environment, 184 pp. 2011.

Yunga Atapuma JP. Caracterización de la microalga *fischerella muscicola*, para evaluar la biomasa y su potencial uso en la industria alimenticia. 2018

- Grobbelaar JU. Handbook of microalgal culture: Biotechnology and applied phycology. Richmond A, editor. Iowa: Blackwell Science; 2004
- Park J, Craggs A. Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. *Bioresource Technology*. 2011;102:35–42.
- Borowitzka MA. Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters. *Journal of Biotechnology*. 1999;70:313–32
- Contreras-Flores C, Peña-Castro L, Flores-Cotera RC-. Avances en el diseño conceptual de fotobiorreactores para el cultivo de microalgas. *Interciencia*. 2003;28(8):450–6.
- Tredici MR. Handbook of microalgal culture: Biotechnology and applied phycology. Richmond A, editor. Iowa: Blackwell Science; 2004
- Mérida LGR, Jacob-Lopes E, Zepka LQ. Fotobiorreactor: herramienta para cultivo de cianobacterias. *Ciencia y Tecnología*, 6(2), 9-19,2013
- Arredondo B, Voltolina D, Esquivel B. Aislamiento, purificación y mantenimiento de cepas de microalgas. MexicoConacyt.; 2017
- Arredondo B, Voltolina D. Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal. Mexico; 2007
- Andersen RA, Kawachi M. Traditional Microalgae Isolation Techniques. In: *Algal Culturing Techniques*. Elsevier; 2005. p. 83–100.
- Schwartz W. Methods for microscopic algae; isolation and purification. Stein Jr (Ed) en: *handbook phycological methods ,culture methods and growth measurements*. Cambridge university press.1975.
- Fulks W, Main K. Rotifer and Microalgae Culture Systems. In: *Proc US-Asia Workshop*. Honolulu; 1991.
- Paniagua J, Lobina D. Manual de metodologías y alternativas para el cultivo de microalgas. CICESE. 1989.

Pérez SL. Evaluación de la remoción de contaminantes en lixiviado empleando tres especies de microalgas oleaginosas amazónicas. 2015.

Fernández L. Producción de un ensilado de residuos de Lisa (*Mugil cephalus*) para el cultivo de la microalga *Tetraselmis suecica* (Chlorophyta). 2018.

Abalde J, Cid A, Fidalgo P, Giménez G, Herrero C. Microalgas: Cultivo y aplicaciones. España; 1995.

Richmond A. Handbook of microalgal culture: Biotechnology and Applied Phycology. Biotechnology and Applied Phycology Blackwell Science. 2008;545.

Plasencia J. Cultivo de microalgas (*Chlorella sorokiniana*) con iluminación mediante LEDs. 2012.

Schulze PSC, Barreira LA, Pereira HGC, Valera JCS. Light emitting diodes (ILEDs) applied to microalgal production. Trends in biotechnology, 2014;32(8):422-430.

Ochoa ME. Evaluación del crecimiento de cianobacterias en relación a los parámetros físico-químicos del agua en el lago Yahuarcocha (Bachelor's thesis). 2017.

Walter A, Carvalho JC, Soccol VT, Faria ABB, Ghiggi V, Soccol CR. Study of phycocyanin production from *Spirulina platensis* under different light spectra. Braz Arch Biol Technol [Internet]. 2011;54(4):675–82. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1590/s1516-89132011000400005>

Bezerra RP, Sato S, Perego P, Converti A. Efectos de la configuración del fotobiorreactor, la fuente de nitrógeno y la intensidad de la luz en el cultivo en lotes alimentados de *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis*. Aspectos bioenergéticos. Biomasa y Bioenergía. 2012;37:309–17.

Cordero Ocampo, J, González Berrio, M Cultivo de *limnospira* (*Arthrospira*) *maxima* en laboratorio, expuesto a diferentes longitudes de onda y fuentes de nitrógeno, y en escala piloto, a condiciones ambientales. Montería, Córdoba, Colombia: Universidad de Córdoba; 2023

Beltrán-Rocha JC, Guajardo-Barbosa C, Barceló-Quintal ID, López-Chuken UJ. Biotratamiento de efluentes secundarios municipales utilizando microalgas: Efecto del pH, nutrientes (C, N y P) y enriquecimiento con CO₂. Rev Biol Mar Oceanogr. 2017; 52(3):417–27

Fábregas J, Herrero C. Marine microalgae as a potential source of minerals in fish diets. Aquaculture, 1986, 51: 237-243

Helm M, Bourne A, Lovatelli A. Cultivo de bivalvos en criadero. Un manual práctico. FAO Documento Técnico de Pesca 471. 2006.

Parra E. Cultivo de La Microalga *Chaetoceros Gracilis* Utilizando Como Medio De Crecimiento Agua De Coco Modificada. 2015.

Romo A. Manual para el Cultivo de Microalgas [Memoria técnica de trabajo profesional. La Paz. 2002

Mamani Condori LM. Determinación de la productividad de la microalga *Chaetoceros gracilis* cultivada con fertilizantes inorgánicos y el medio F/2 Guillard, 2018.

Gómez O, Subero S. Cultivo polialgal (*Chaetoceros gracilis*, *Chlorella* sp. Y *Tetraselmis chuii*) en medios de cultivo no convencionales. Venezuela; 2011

Stein R. Métodos fisiológicos, medios de cultivo. McGraw-Hill. 234p. 1973.

Vásquez A. Distribución de las bacillariophytas *Cyclotella glomerata* y *Nitzschia* sp2., y la cianobacteria *Oscillatoria* sp. en la Ciénaga Grande de Santa Marta. 2001.

Zevallo S. Tecnología de Cultivo de Microalgas Como Alimento de Moluscos. Instituto del Mar del Perú. Ilo – Perú, 2010.

Rippka R. Isolation, Identification and Culturing of Cyanobacteria. Methods Enzymology. 1988; 167:27–100.

Leal M, Ortiz N, Mora R, Ruiz G, Perona E. Caracterización de la cianobacteria *Pseudanabaena galeata* a diferentes condiciones de cultivo. Boletín del Centro de

Investigaciones Biológicas. 2012;35(3).

Sivonen K, Jones G. Toxic Cyanobacteria in Water: A Guide to Public Health Significance, Monitoring and Management. Chorus I, Bartram J, editores. London; 1999.

Bell SG, Codd GA. Cyanobacterial toxins and human health. Reviews and Research in Medical Microbiology, 1994;5(4), 256-264

Codd GA, Morrison LF, Metcalf JS. Cyanobacterial toxins: risk management for health protection. Toxicology and applied pharmacology. 2005;203(3):264–72.

Msagati TA, Siame BA, Shushu DD. Evaluation of methods for the isolation, detection and quantification of cyanobacterial hepatotoxins. Aquatic toxicology.2006

Mankiewicz-Boczek J. Effects of microcystins-containing cyanobacteria from a temperate ecosystem on human lymphocytes culture and their potential for adverse human health effects. Harmful Algae. 2011;10:356–65.

Andrinolo D, Sedan D, Petcheneshsky T, Giannuzzi L. Cianotoxinas. Farmacología y efectos de las principales toxinas presentes en Argentina.2017.

García SI. Cianobacterias y cianotoxinas, impactos sobre la salud humana 2009. Obtenido de [www. ataonline. org](http://www.ataonline.org): http://www. ataonline. org. ar/bibliotecavirtual/documentos_utilies/Cianobacterias_y_Cianotoxinas. pdf.

Mcgregor GB, Stewart I, Sendall BC, Sadler R, Reardon K, Carter S, et al. First report of a toxic *Nodularia spumigena* (Nostocales/Cyanobacteria) bloom in sub-tropical Australia. I. Phycological and public health investigations. International journal of environmental research and public health. 2012;9(7):2396–411

Vasconcelos V, Morais J, Vale M. Microcystins and cyanobacteria trends in a 14 year monitoring of a temperate eutrophic reservoir (Aguieira, Portugal). Journal of Environmental Monitoring. 2011;13(3):668–72.

Vasconcelos V. Cyanobacteria toxins: diversity and ecological effects. Limnetica.

2001;20(1):45–58.

Uriza EAC, Martínez ADA, Sanjurjo MA. Cianotoxinas: efectos ambientales y sanitarios. Medidas de prevención. *Hidrobiológica*, 2017. 27(2), 241-251.

Ibelings BW, Chorus I. Accumulation of cyanobacterial toxins in freshwater “seafood” and its consequences for public health: a review. *Environ Pollut* [Internet]. 2007;150(1):177–92. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2007.04.012>

Bordet HF. Factores reguladores de floraciones potencialmente tóxicas en el Embalse de Salto Grande (Doctoral dissertation). 2019.

Best JH, Eddy FB, Codd GA. Effects of *Microcystis* cells, cell extracts and lipopolysaccharide on drinking and liver function in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* Walbaum. *Aquatic Toxicology*, (2003). 64(4), 419–426. [https://doi.org/10.1016/S0166445X\(03\)00105-X](https://doi.org/10.1016/S0166445X(03)00105-X)

Guzman E, Paez C. Alteraciones histológicas en branquias e hígado de tilapia nilotica *oreochromis niloticus* (L,1758) asociados con microcistinas, en el complejo cenagoso del bajo sinu (CCBS). 2015; Cordoba-Colombia.

Dyble J, Tester PA, Litaker RW. Effects of light intensity on cylindrospermopsin production in the cyanobacterial HAB species *Cylindrospermopsis raciborskii*. *African Journal of Marine Science*. 2006;28:309–12.

Quesada A. Cyanobacteria in Spanish reservoirs. How frequently are they toxic? *Limnetica* [Internet]. 2004;23(1):109–18. Available from: <http://dx.doi.org/10.23818/limn.23.09>

Chamorro MJ, Martínez N. Alteraciones histológicas asociadas a microcistina en cultivo de tilapia *oreochromis niloticus*, Montería – Córdoba: un estudio de caso. [Internet]. Montería, Córdoba, Colombia: 2023

Barrios J, Otero J. Alteraciones histológicas asociadas con microcistinas en Hígado y Branquias de Bocachico, *Prochilodus Magdalenae* (Stenidachner, 1878), en las Ciénagas de Momil y San Sebastián, complejo cenagoso del bajo Sinú, Córdoba-Colombia.

[Internet]. 2020

Saker ML, Jungblut A-D, Neilan BA, Rawn DFK, Vasconcelos VM. Detection of microcystin synthetase genes in health food supplements containing the freshwater cyanobacterium *Aphanizomenon flos-aquae*. *Toxicon* [Internet]. 2005;46(5):555–62. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2005.06.021>

Castenholz RW, Norris TB. Revisionary concepts of species in the Cyanobacteria and their applications. *archiv_algolstud* [Internet]. 2005;117(1):53–69. Available from: <http://dx.doi.org/10.1127/1864-1318/2005/0117-0053>

Ruffino C. Estudio de correlación entre parámetros biológicos y microbiológicos con parámetros fisicoquímicos en agua para consumo humano (Doctoral dissertation). 2021.

Chen W, Peng L, Wan N, Song L. Mechanism study on the frequent variations of cell-bound microcystins in cyanobacterial blooms in Lake Taihu: Implications for water quality monitoring and assessments. *Chemosphere* [Internet]. 2009;77(11):1585–93. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.09.037>

Cheng evaluación de un consorcio cianobacteria-microalga como acondicionador de suelos. *Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas*. 2014;35(1–2):51–71.

Forero Cujíño, M Determinación de Cyanoprokaryotas planctónicas y su potencial en la producción de cianotoxinas en un embalse de la sabana de Bogotá - Colombia. [Internet] 2019.

Baker PD, Humpage AR. Toxicity associated with commonly occurring cyanobacteria in surface waters of the Murroliay-Darling Basin, Australia. *Mar Freshw Res* [Internet]. 1994;45(5):773. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1071/mf9940773>

Galeano J, Villalobos J. Cyanoprokaryotes y microcistinas en el Caribe Colombiano: identificación de cyanoprokaryotes y detección de microcistinas en el antiguo delta del río Sinú Córdoba - Colombia. Editorial Académica Española; 2011

Rivera M, Gonzalez L. identificación de cianobacterias potencialmente productoras de

cianotoxinas en la curva de salguero del rio Cesar. Revista Luna. azul, 2010. 31(31), 17-25

Lucena E. Aspectos sanitarios de las cianotoxinas. Higiene y Sanidad Ambiental. 2008;8:291–302.

plan de manejo y ordenamiento ambiental del Complejo Cenagoso del Bajo Sinú (2007). CVS-Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín, Colombia.

Alcaldía Del Municipio De Momil (2010-2022). Esquema de Ordenamiento Territorial del Municipio de Momil. Momil.

Gómez y Cajiao LTDA. Estudios hidrológicos Ciénaga Grande de Loricá. CVS. Bogotá. 1991.

Salazar I. Lugar encantado de las aguas: Aspectos económicos de la Ciénaga Grande del Bajo Sinú. Cartagena de Indias; 2008

Aguilera M. La economía de las ciénagas del Caribe colombiano. Bogotá: Banco de la República; 2011.

Esteves F. Fundamentos de Limnología. Editora Interciencias Ltda. Brasil. 1988. 575 Pp

Sant'anna L, Zanin L, Azevedo M. Generos de Algas de Agua continentais Do Brasil Chave para identificação E descrucoes segunda Edicao.Rima sao CARLOS. En: Cyanophyceae CyanobacteriaEn:Carlos E.de MBicudo,Mariangela Menezes. 2004. p. 19–82.

Crispino LMB, Sant'anna CL. Cianobactérias marinhas bentônicas de ilhas costeiras do Estado de São Paulo, Brasil. Rev Bras Bot [Internet]. 2006;29(4). Available from: <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-84042006000400014>

Silva L. Fitoplancton de um reservatitioeutrofico (lago monte alegre), ribeiro preto,sio paulo,Brasil.laboratorio de Ficologia,departamento de botanica,museu nacional, UFRJ,quinta da Boa vista. :P20940-20940.1999

Rivera Ramírez P. Estado de conocimiento de las diatomeas dulceacuícolas de Chile. Gayana (Concepción). 2006;70(1):1–7.

Vollerweider RA. Scientific fundamentals of the Eutrophication lakes and flowing waters, with particular referent to Nitrogen and phosphorus as factors Eutrophication.paris.re.organization for economic cooperation and development. 1968.

Ramirez JJ. Fitoplancton de agua dulce: aspectos ecológicos, taxonómicos y sanitarios. 2000

CRIP 2015. Protocolo de Microalgas. Centro regional de investigación pesquera (crip) manzanillo, colima

Vaara T, Vaara MS. Niemela Two improved methods for obtaining axenic cultures of cyanobacteria. Appl. Environ. Microbiol. 38, 1011 – 1014. . 1979.

Allen, MM y Stanier, RY. Crecimiento y división de algunas algas verdiazules unicelulares. Microbiología , 51 (2), 199-202. 1968

Rippka R, Deruelles J, Waterbury JB, Herdman M, Stanier RY. Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. Microbiology, 111(1), 1-61. (1979).

Bold HC. Trichosarcina polimorfa gen. y sp. nov. Revista de psicología. 1965;1(1):34–8.

Mukhtar RB. Influence of light intensity on early growth of Adansonia digitata (L.). Research Journal of Recent Sciences. 2016;5(12):5–9.

Ortiz-Moreno ML, Cárdenas-Poblador J, Agredo J, Solarte-Murillo LV. Modeling the effects of light wavelength on the growth of Nostoc ellipsosporum. Universitas Scientiarum. 2020;25(1):113–48.

Deblois CP, Aranda R, Giani A, Bird DF. Acumulación de microcistina en hígado y músculo de tilapia en dos grandes embalses hidroeléctricos brasileños. Toxico ;2008,51 (3), 435-448.

Palacio HM, Ramírez JJ, Echenique RO, Palacio JA, Santanna CL. Floristic composition of cyanobacteria in a neotropical, eutrophic reservoir. *Brazilian Journal of Botany*. 2015;38:865–76.

Vela L, Sevilla E, Martín B, Pellicer S, Bes MT, Fillat MF. Las microcistinas. *Rev Real Academia de Ciencias*. 2007;62:135–46.

Briand J F, Jacquet S, Bernard C, Humbert J F. Health hazards for terrestrial vertebrates from toxic cyanobacteria in surface water ecosystems. *Vet Res [Internet]*. 2003;34(4):361–77. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1051/vetres:2003019>

Meichtry N, Martens I, Llano V. Cyanobacterias planctónicas: su impacto en ambientes acuáticos continentales. Descripción de los géneros más frecuentes. En *Cianobacterias y cianotoxinas. Identificación, toxicología, Monitoreo y evaluación de riesgo*. 2009;17–23.

WHO. Management of cyanobacteria in drinking-water supplies: information for regulators and water suppliers;2015 (en línea). Consultado el 3 de setiembre de 2017. Disponible en <http://apps.who.int/iris/handle/10665/153970>

Chorus I, Bartram J. Toxic cyanobacteria in water. A guide to their public health consequences monitoring and management. 1999

Kruk C, Martínez A, Martínez G, Trinchin R, Manta G, Segura A, Piccini C, Breana B, Fabiano G, Pirez M, Gabito L, Alcántara I, Yanicelli B. Floración excepcional de cianobacterias tóxicas en la costa de Uruguay, verano 2019. *Revista del laboratorio tecnológico de Uruguay*. 18: 36-68

Petcheneshky T, Hansen M, Compilado Por L, Giannuzzi Crettaz M, Sedan D, Giannuzzi L. Bioacumulación y biomagnificación de cianotoxinas en organismos acuáticos de agua dulce. 2017.

Mogollón M, Aycardi M P, Galeano J, Villalobos J, Arango C. Variación espacio-temporal de las cianoprocaritas del antiguo delta del río Sinú, Córdoba, Colombia. *Intropica*, 2014, 92-101.

Betancourth BL, Arismendy MM, Duque SR, López W. Caracterización de la comunidad fitoplanctónica de la cienaga de San Sebastian, Complejo Ciénago del Bajo Sinú, departamento de Córdoba--Colombia. *Revista de Ciencias*. 2008;12:11–31.

Arango C, Hernandez K. Caracterización de la comunidad fitoplanctónica de las cienagas de momil y purísima (CCB), Córdoba-colombia. trabajo de pregrado. universidad de Córdoba, Montería. 170p, 2009

Mogollón M. Ecología del fitoplanctónica en dos sistemas cénagosos del Caribe colombiano. Trabajo de investigación presentado como requisito para optar el título de magister en ciencias ambientales. Universidad del Magdalena. 2011.

Ruiz M, Rodríguez MI, Ruibal AL, González I, Alasia V, Pellicioni P. Exposición al uso y consumo de agua con cianobacterias: Efectos en la salud. In: I Congreso internacional de ambiente y energías renovables. 2009.

Dow CS, Swoboda UK. The Ecology of Cyanobacteria: Their Diversity in Time and Space. *Cyanotoxins* Pp. 2000;613–32.

Yunes J, De La Rocha S, Giroldo D, Silveira SBD, Comin R, Bicho MD. Release of carbohydrates and proteins by a subtropical strain of *Raphidiopsis brookii* (cyanobacteria) able to produce saxitoxin at three nitrate concentrations. *Journal of Phycology*. 2007;45:585–91.

Leflaive J, Ten-hage L. Algal and cyanobacterial secondary metabolites in freshwaters: a comparison of allelopathic compounds and toxins. *Freshw Biol* [Internet]. 2007;52(2):199–214. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2427.2006.01689.x>

INVEMAR-URRA. Plan de seguimiento y monitoreo de la zona deltaico estuarina Del río Sinú (noviembre de 2000 – noviembre de 2007). Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras “José Benito Vives de Andreis”. 444 p. 2007.

Carey C C, Ibelings BW, Hoffmann E P, Hamilton D P, Brookes J D. Eco-physiological adaptations that favour freshwater cyanobacteria in a changing climate. *Water*

research;2012, 46(5), 1394-1407.

Bonilla S. Cianobacterias planctónicas del Uruguay. Manual para la identificación y medidas de gestión. Documento técnico PHI-LAC. 2009.

Chorus I, Welker M. Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management. Taylor y Francis; 2021.

Fogg GE, Stewart WDP, Fay P, Walsby AE. Marine blue-green algae. En: The Bluegreen Algae. Elsevier. 1973; 298–310.

Barsanti L, Gualtieri P. Algae: Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology. 2014; Second Edition (2nd ed.). CRC Press.

Echeverry MC. Cultivo in vitro de cianobacterias marinas bentónicas: obtención de biomasa influenciada por la adición de nutrientes. 2015.

Villa A, Herazo D, Torregroza AC. Efecto del fotoperiodo sobre el crecimiento de la diatomea *Chaetoceros calcitrans* (clon c-cal) en cultivos estáticos. Intropica. 2014;111–7.

Ferrero I. Producción de biodiesel a partir de microalgas como alternativa a los cultivos clásicos. Monografía Universidad Nacional del Litoral. Santa Fé. Argentina. 2011. <http://institutoideal.org/ecologicas/wp-content/uploads/2012/08/03-Ignacio-Ferrero.pdf>.

Humphrey GF. Photosynthetic characteristics of algae grown under constant illumination and light-dark regimes. J Exp Mar Bio Ecol [Internet]. 1979;40(1):63–70. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/0022-0981\(79\)90034-0](http://dx.doi.org/10.1016/0022-0981(79)90034-0)

Shruthi MS, Rajashekhar M. Effect of salinity and pH on the growth and biomass production in the four species of estuarine cyanobacteria. J Algal Biomass Utln. 2014;5:29–36.

Morales E, Luna V, Navarro L, Santana V, Gordillo A, Arévalo A. Diversidad de microalgas y cianobacterias en muestras provenientes de diferentes provincias del Ecuador, destinadas a una colección de cultivos. Rev Ecuat Med Cienc Biol [Internet]. 2017;34(1–2):129–49. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.26807/remcb.v34i1-2.240>

Fabregas J, Abalde J, Herrero C, Cabezas B, Veiga M. Growth of the marine microalga *Tetraselmis suecica* in batch cultures with different salinities and nutrient concentrations. *Aquaculture* [Internet]. 1984;42(3–4):207–15. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/0044-8486\(84\)90101-7](http://dx.doi.org/10.1016/0044-8486(84)90101-7)

Fabregas J, Patino M, Morales ED, Cordero B, Otero A. Optimal renewal rate and nutrient concentration for the production of the marine microalga *Phaeodactylum tricornutum* in semicontinuous cultures. *Appl Environ Microbiol* [Internet]. 1996;62(1):266–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1128/aem.62.1.266-268.1996>

González LM. Influencia de la deficiencia de nitrógeno y fósforo en las interacciones competitivas entre *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus acutus*. 2010.

García S. Bacteria's simbióticas fijadoras de nitrógeno. 2011; CT 3 173-186.

Liu Q, Miron A, Klímová B, Wan D, Kuča K. The antioxidant, immunomodulatory, and anti-inflammatory activities of *Spirulina*: an overview. *Arch Toxicol*. 2016Aug;90(8):1817-40

Ciferri O. *Spirulina*, the edible microorganism. *Microbiological Reviews*.1983;47(4), 551-578.

Fernández-Robledo A. Efecto de la composición espectral de la luz en el crecimiento y en la composición proximal de *Scenedesmus obliquus*. *Facultad de Ciencias Marinas*. 2013;48.

Sánchez M P, Maeda A N Acosta S. Effect of different light spectra on the growth and biochemical composition of *Tisochrysis lutea*. *Journal of Applied Phycology*. 2015.

Godoy E, Rangel C, Sato S, Monteiro J. Growth and content of *Spirulina platensis* biomass chlorophyll cultivated at different values of light intensity and temperature using different nitrogen sources. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2011; 42, 362-373

Mateucci R. Efecto de diferentes fuentes de nitrógeno y de fósforo sobre la producción y la composición de la biomasa microalgal de *Arthrospira* (*Spirulina*) plantesis LMPA55. *Escuela de Posgrado - Facultad Regional Buenos Aires*; 2018.

Hill R W, Wyse GA, Anderson M. Fisiología animal. Médica Panamericana. España. 2006; 1038 pp.

Kim SK. Handbook of marine microalgae: Biotechnology advances. Elsevier. Estados Unidos. 2015. 604 pp

McNichol J, Mcginn PJ. The science of algal fuels: phycology, geology, biophotonics, genomics and nanotechnology. Gordon E, y Sechback R, editores. Springer; 2012

Moreno JA , Gómez-Baena G, Díez J, García JM. "Integrated Proteomic and Metabolomic Analyses Show Differential Effects of Glucose Availability in Marine *Synechococcus* and *Prochlorococcus*", *Microbiology Spectrum*, vol. 0, 2023.

Muñoz-Marín MDC. Mixotrophy in depth. *Nat Microbiol* 7, 1949–1950 (2022)

Vieira-Costa JA, Cozza KL, Oliveira L, Magagnin G. Different nitrogen sources and growth responses of *Spirulina platensis* in microenvironments. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2001; 17(5).

Rosales N. Evaluación de la actividad biológica de extractos de la cianobacteria *Nostoc LAUN 0015*, en condiciones de laboratorio (Maestría en Microbiología). Facultad Experimental de Ciencias. 2007;101.

Loreto C, Rosales N, Bermúdez J, Morales E. *Gay Bot* 60: 83-90. 2003

Escudero JCD, Cárdenas DA, Ayala DG. Cinética de crecimiento y producción de pigmentos de cepas nativas de *Scenedesmus* sp. aisladas de un sistema de tratamiento de agua residual en La Guajira colombiana. *Ciencia e Ingeniería*. 2023;10(1):e8091836–e8

Garzón A, Gonzalez JD. Efecto de la intermitencia de la luz led sobre el crecimiento y producción de metabolitos de *Scenedesmus obliquus*. 2019.091836.

Bermúdez-Sierra JJ, Oliveira-Leite M, Reis-Coimbra JS, Aredes-Martins M. Desempeno de dos tecnicas de rompimiento celular en la caracterizacion de ficobiliproteinas en la

microalga *scenedesmus* sp. *Revista Tumbaga*. 2013;2(8):65–80.

Rivera Gonzalez MV, Gómez Gómez L, Cubillos Hinojosa JG, Peralta Castilla A. Efecto de carbón tipo lignito sobre el crecimiento y producción de pigmentos de *Arthrospira platensis*. *Rev Colomb Biotecnol* [Internet]. 2016;18(1). Disponible en:<http://dx.doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v18n1.49994>

Streit NM, Ramírez-Mérida LG, Queiroz Zepka L, Jacob-Lopes E, Queiroz MI. Producción de pigmentos por *Aphanothece* microscópica Nageli a partir de residuos industriales lácteos. *Ingeniare Revista chilena de ingeniería*. 2017;25(2):350–8.

Chen HW, Yang TS, Chen MJ, Chang YC, Wang EIC, Ho CL, et al. Purification and immune modulating activity of C-phycoyanin from *Spirulina platensis* cultured using power plant flue gas". *Process Biochemistry*. 2014;49(8):1337–44.

Zeng X, Danquah MK, Zhang S, Zhang X, Wu M, Chen XD, et al. Autotrophic cultivation of *Spirulina platensis* for CO₂ fixation and phycocyanin production". *Chemical Engineering Journal* [Internet]. 2012;183:192–7. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2011.12.062>.

Izaguirre G, Jungblut AD, Neilan BA. Cianobacterias bentónicas (*Oscillatoriaceae*) que producen microcistina-LR, aisladas de cuatro reservorios en el sur de California. *Investigación del agua* , 41 (2), 2007; 492-498

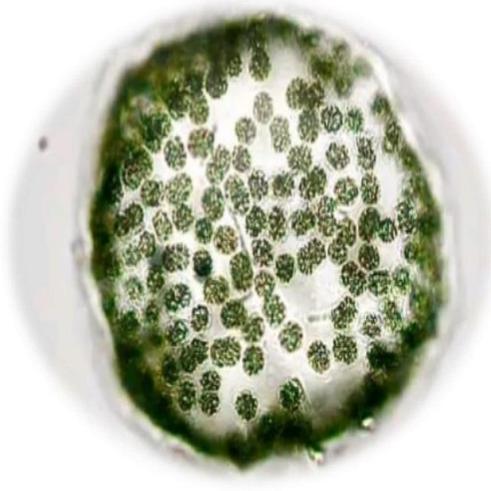
Mohamed Z A. Cianobacterias tóxicas y cianotoxinas en aguas termales públicas de Arabia Saudita. *Toxico*. 2007;51(1):17–27

ANEXOS

Anexos 1. Especies encontradas en los conteos de los muestreos realizados en el CCBS 2021



Microcystis aureginosa



Microcystis wessenbergii



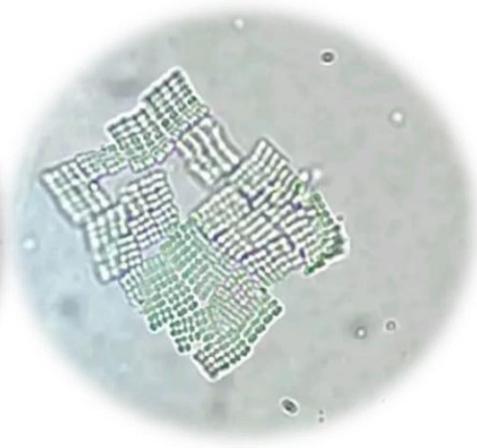
Oscillatoria limosa



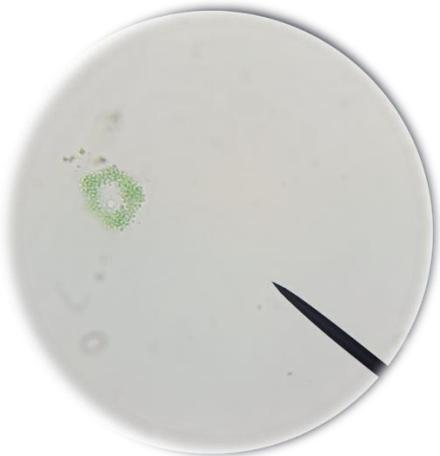
Planktothrix agardhii



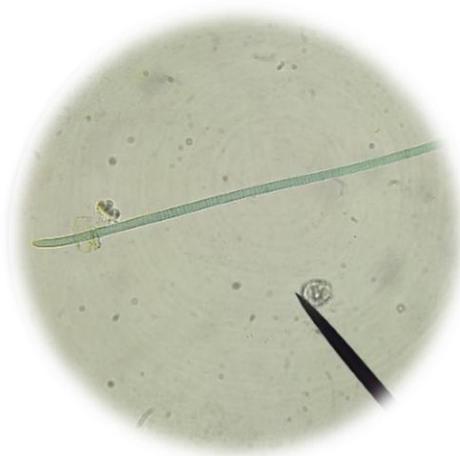
Dolichospermum circinalis



Merismopedia punctata



Aphanocapsa annulata



Phormidium tergestinum

Anexos 2.Conteo celular realizado en los seis meses de muestreos en las ciénagas de Momil 2021

MUESTR EO	ESPECIE	N° TOTA L	N°GOT AS	VOLUME N GOTA (ml)	AREA DEL CAMP O (mm ²)	AREA DEL CUBREOBJE TO (mm ²)	ORGANISM OS POR GOTAS	ORGANISM OS POR MILILITROS
1	<i>Microcystis aeruginosa</i>	1215	60	0,04545	0,1963 5	484	2994957,98 3	65895665,2
	<i>Microcystis wesenbergii</i>	942	60	0,04545	0,1963 5	484	2322016,80 7	51089478,7
	<i>Aphanocapsa delicatissima</i>	1613 4	60	0,04545	0,1963 5	484	39770084,0 3	875029351, 7
	<i>Oscillatoria limosa</i>	1028	60	0,04545	0,1963 5	484	2534005,60 2	55753698,6 2
	<i>Chroococcus dispersus</i>	32	60	0,04545	0,1963 5	484	78879,5518 2	1735523,69 2
	<i>komvophoron schmideli</i>	11	60	0,04545	0,1963 5	484	27114,8459 4	596586,27
	<i>phormidium tergestinum</i>	2	60	0,04545	0,1963 5	484	4929,97198 9	108470,23
	<i>Dolichosperm um circinalis</i>	125	60	0,04545	0,1963 5	484	308123,249 3	6779389,42 4
	2	<i>Microcystis aeruginosa</i>	1287	60	0,04545	0,1963 5	484	3172436,97 5
<i>Microcystis wesenbergii</i>		3036	60	0,04545	0,1963 5	484	7483697,47 9	164657810, 3
<i>Aphanocapsa delicatissima</i>		1316 0	60	0,04545	0,1963 5	484	32439215,6 9	713734118, 5
<i>Oscillatoria limosa</i>		3268	60	0,04545	0,1963 5	484	8055574,23 1	177240357, 1
<i>Chroococcus</i>		101	60	0,04545	0,1963	484	248963,585	5477746,7

3	<i>dispersus</i>				5		4		
	<i>komvophoron schmideli</i>	26	60	0,04545	0,1963	484	64089,6358	1410113,0	
	<i>rhabdoderma lineare</i>	1	60	0,04545	0,1963	484	2464,98599	54235,1	
	<i>Merismopedi a punctata</i>	1	60	0,04545	0,1963	484	2464,98599	54235,1	
	<i>microcisty wessenbergui</i>	4275	60	0,04545	0,1963	484	105392941,	231887659	
	<i>microcisty aureginosa</i>	6			5		2	3,5	
	<i>oscillatoria limosa</i>	243	60	0,04545	0,1963	484	598991,596	13179133,0	
	<i>aphanocapsa delicatissima</i>	4922	60	0,04545	0,1963	484	12132661,0	266945237,	
	<i>chroococcus dispersus</i>	2088	60	0,04545	0,1963	484	51478767,5	113264614	
	<i>dolichospermum circinalis</i>	4			5		1	9,8	
	<i>merismopedia puntacta</i>	156	60	0,04545	0,1963	484	384537,815	8460678,0	
	<i>oscillatoria limosa</i>	2840	60	0,04545	0,1963	484	70008067,2	154033151	
	<i>aphanocapsa delicatissima</i>	1			5		3	2,1	
	<i>chroococcus dispersus</i>	23	60	0,04545	0,1963	484	56694,6778	1247407,7	
	<i>oscillatoria limosa</i>				5		7		
	4	<i>Oscillatoria limosa</i>	345	60	0,04545	0,1963	484	850420,168	18711114,8
		<i>Chroococcus dispersus</i>	130	60	0,04545	0,1963	484	320448,179	7050565,0
		<i>Microcisty wessenbergui</i>	7872	60	0,04545	0,1963	484	19404369,7	426938828,
		<i>Microcisty aureginosa</i>	1068	60	0,04545	0,1963	484	2632605,04	57923103,2
<i>Aphanocapsa delicatissima</i>		1179	60	0,04545	0,1963	484	2906218,48	63943201,0	
<i>oscillatoria limosa</i>					5		7		
5	<i>Oscillatoria limosa</i>	2307	60	0,04545	0,1963	484	5686722,68	125120411,	
	<i>aphanocapsa delicatissima</i>				5		9	2	
	<i>chroococcus dispersu</i>	1189	60	0,04545	0,1963	484	29308683,4	644855522	
	<i>microcisty wessenbergui</i>	0			5		7		
	<i>komvophoron schmideli</i>	125	60	0,04545	0,1963	484	308123,249	6779389,4	
	<i>oscillatoria limosa</i>	2333	60	0,04545	0,1963	484	57517983,1	126552218	
	<i>aphanocapsa delicatissima</i>	4			5		9	2,5	
6	<i>oscillatoria limosa</i>	3	60	0,04545	0,1963	484	7394,95798	162705,3	
	<i>oscillatoria limosa</i>				5		3		
	<i>aphanocapsa delicatissima</i>	3433	60	0,04545	0,1963	484	8462296,91	186189151,	
	<i>chroococcus dispersus</i>	1980	60	0,04545	0,1963	484	4880672,26	107385528,	
	<i>komvophoron</i>	68	60	0,04545	0,1963	484	167619,047	3687987,8	
<i>komvophoron</i>	56	60	0,04545	0,1963	484	138039,215	3037166,5		

	<i>schmideli</i>				5		7	
	<i>microcisty</i>	300	60	0,04545	0,1963	484	739495,798	16270534,6
	<i>wessenbergui</i>				5		3	
	<i>microcisty</i>	144	60	0,04545	0,1963	484	354957,983	7809856,6
	<i>aureginosa</i>				5		2	
	<i>merismopedia</i>	30	60	0,04545	0,1963	484	73949,5798	1627053,5
	<i>punctata</i>				5		3	
	<i>dolichosperm</i>	90	60	0,04545	0,1963	484	221848,739	4881160,4
	<i>un circinalis</i>				5		5	

Anexos 3. conteo celular realizado en los seis meses de muestreos en las ciénagas de San Sebastian 2021.

MUESTREO	ESPECIE	N° TOTAL	N°GOTAS	VOLUMEN GOTAS (ml)	AREA DEL CAMPO (mm2)	AREA DEL CUBREO BJETO (mm2)	ORGANISMOS POR GOTAS	ORGANISMOS POR MILILITROS
1	<i>Microcystis wesembergii</i>	150	60	0,04545	0,19635	484	369747,8992	8135267,308
	<i>Dolicospermum circinalis</i>	1593	60	0,04545	0,19635	484	3926722,689	86396538,81
	<i>Aphanocapsa delicatissima</i>	18679	60	0,04545	0,19635	484	46043473,39	1013057720
	<i>microcystis aureginosa</i>	4767	60	0,04545	0,19635	484	11750588,24	258538795,1
	<i>Chroococcus disperso</i>	60	60	0,04545	0,19635	484	147899,1597	3254106,923
	<i>komvophon schimedli</i>	3	60	0,04545	0,19635	484	7394,957983	162705,3462
	<i>planktotrix isotriix</i>	5	60	0,04545	0,19635	484	12324,92997	271175,5769
	<i>Oscillatoria limosa</i>	2127	60	0,04545	0,19635	484	5243025,21	115358090,4
2	<i>Microcystis aeruginos</i>	4902	60	0,04545	0,19635	484	12083361,34	265860535,6

	a							
	Microcystis wesembergii	117	60	0,04545	0,19635	484	288403,3613	6345508,5
	Aphanocapsa delicatissima	24402	60	0,04545	0,19635	484	60150588,24	1323445286
	Oscillatoria limosa	980	60	0,04545	0,19635	484	2415686,275	53150413,08
	Chroococcus dispersus	70	60	0,04545	0,19635	484	172549,0196	3796458,077
	komvophon schmideli	6	60	0,04545	0,19635	484	14789,91597	325410,6923
	planktotrix isotriix	4	60	0,04545	0,19635	484	9859,943978	216940,4616
	Dolicospermum circinalis	2422	60	0,04545	0,19635	484	5970196,078	131357449,5
3	oscillatoria limosa	1254	60	0,04545	0,19635	484	3091092,437	68010834,7
	chroococcus dispersus	281	60	0,04545	0,19635	484	692661,0644	15240067,42
	limnococcus limneticus	4	60	0,04545	0,19635	484	9859,943978	216940,4616
	rhabdoderma lineare	5	60	0,04545	0,19635	484	12324,92997	271175,5769
	aphanocapsa delicatissima	42738	60	0,04545	0,19635	484	105348571,4	2317900361
	microcystis aureginosa	383	60	0,04545	0,19635	484	944089,6359	20772049,19
	merismopedia puntacta	4	60	0,04545	0,19635	484	9859,943978	216940,4616

4	<i>oscillatoria limosa</i>	222 7	60	0,0454 5	0,19635	484	5489523,8 1	12078160 2
	<i>aphanocapsa delictissima</i>	235 35	60	0,0454 5	0,19635	484	58013445, 38	12764234 41
	<i>chroococcus dispersus</i>	369	60	0,0454 5	0,19635	484	909579,83 19	20012757 ,58
	<i>microcystis wessenbergii</i>	191 2	60	0,0454 5	0,19635	484	4713053,2 21	10369754 0,6
	<i>microcystis aureginosa</i>	282	60	0,0454 5	0,19635	484	695126,05 04	15294302 ,54
	<i>aphanocapsa anulata</i>	120	60	0,0454 5	0,19635	484	295798,31 93	6508213, 847
	<i>komvophon schimdeli</i>	77	60	0,0454 5	0,19635	484	189803,92 16	4176103, 885
	<i>phormidium tergestinum</i>	5	60	0,0454 5	0,19635	484	12324,929 97	271175,5 769
<i>planktonia agardii</i>	30	60	0,0454 5	0,19635	484	73949,579 83	1627053, 462	
5	<i>oscillatoria limosa</i>	336 7	60	0,0454 5	0,19635	484	8299607,8 43	18260963 3,5
	<i>aphanocapsa delicatissima</i>	254 56	60	0,0454 5	0,19635	484	62748683, 47	13806090 97
	<i>microcystis wessenbergii</i>	297 1	60	0,0454 5	0,19635	484	7323473,3 89	16113252 7,8
	<i>chroococcus dispersus</i>	90	60	0,0454 5	0,19635	484	221848,73 95	4881160, 385
	<i>komvophon scmideli</i>	39	60	0,0454 5	0,19635	484	96134,453 78	2115169, 5

6	<i>oscillatoria limosa</i>	277 3	60	0,0454 5	0,19635	484	6835406,1 62	15039397 5
	<i>aphanocapsa delicatissima</i>	197 0	60	0,0454 5	0,19635	484	4856022,4 09	10684317 7,3
	<i>chroococcus dispersus</i>	120	60	0,0454 5	0,19635	484	295798,31 93	6508213, 847
	<i>planktonia isotriix</i>	10	60	0,0454 5	0,19635	484	24649,859 94	542351,1 539

Anexos 4. Aislamiento y purificación de la cepa *Oscillatoria limosa* extraída del CCBS 2021



Anexos 5. Cultivo de *Oscillatoria limosa* con dos medios de cultivo durante 20 días de muestreos



Anexos 6. Datos de ficobiliproteínas, densidad óptica y peso seco obtenidos en el cultivo de *O. limosa* bajo dos medios de cultivos durante un periodo de cultivo de 20 días.

DIAS DE CULTIVO												
VARIABLES	MEDIOS		Día 1	Dia3	Dia5	Dia7	Dia9	Dia11	Dia13	Dia15	Dia17	Dia20
	DE	CULTIVO										
FICOCIANINA	F/2		0,035	0,039	0,025	0,015	0,007	0,035	0,007	0,008	0,003	0,004
	BG11		0,022	0,013	0,031	0,004	0,005	0,008	0,040	0,020	0,001	0,006
ALOFICOCIANINA	F/2		0,017	0,013	0,020	0,017	0,003	0,016	0,004	0,006	0,001	0,001
	BG11		0,010	0,016	0,013	0,006	0,005	0,005	0,018	0,009	0,000	0,004
FICOERITRINA	F/2		0,145	0,056	0,087	0,117	0,018	0,085	0,031	0,027	0,009	0,016
	BG11		0,093	0,117	0,045	0,018	0,028	0,038	0,068	0,022	0,003	0,031
FICOBILIPROTEINAS	F/2		0,196	0,108	0,133	0,150	0,027	0,136	0,042	0,046	0,014	0,021
	BG11		0,125	0,146	0,090	0,028	0,037	0,051	0,125	0,043	0,005	0,041
PESO SECO	F/2		0,002	0,003	0,004	0,009	0,011	0,018	0,016	0,013	0,008	0,007
	BG11		0,003	0,003	0,005	0,008	0,011	0,013	0,024	0,020	0,016	0,008
DENSIDAD OPTICA	F/2		0,099	0,219	0,278	0,299	0,326	0,401	0,302	0,314	0,273	0,262
	BG11		0,161	0,178	0,207	0,310	0,459	0,495	0,541	0,316	0,240	0,231

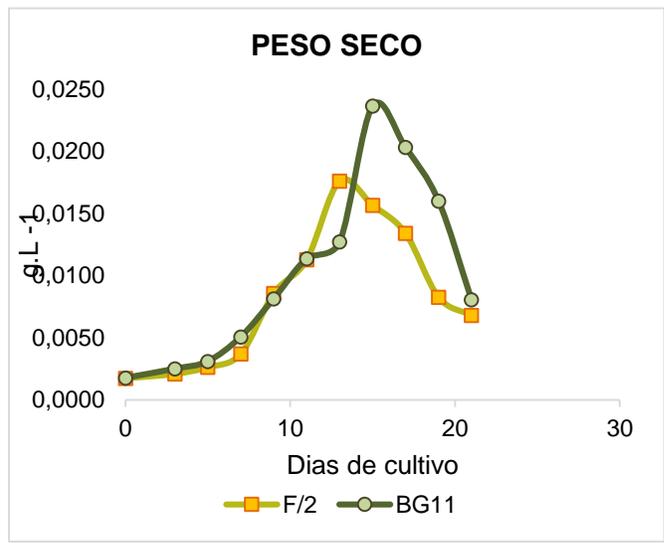
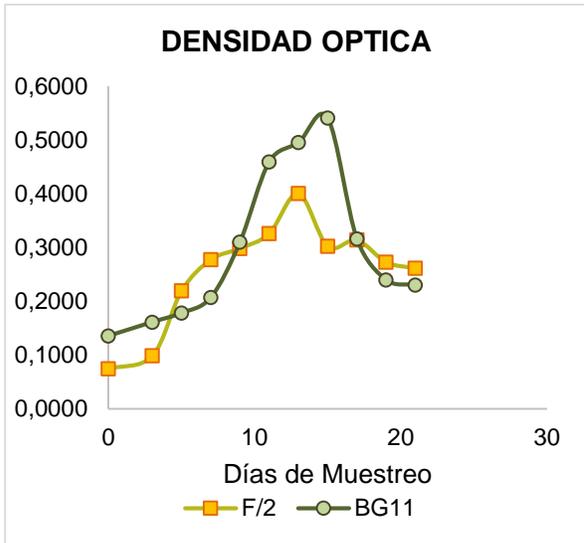
Anexos 7 . Estadística descriptiva de la cinética del cultivo de *O. limosa* en los tratamientos

Descriptivas

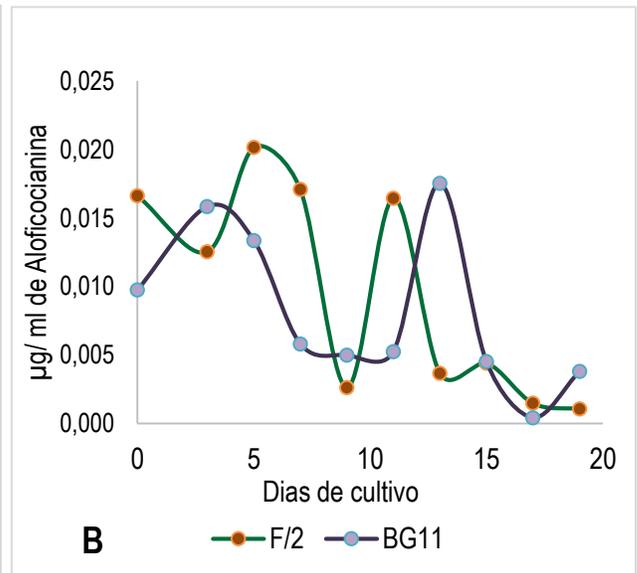
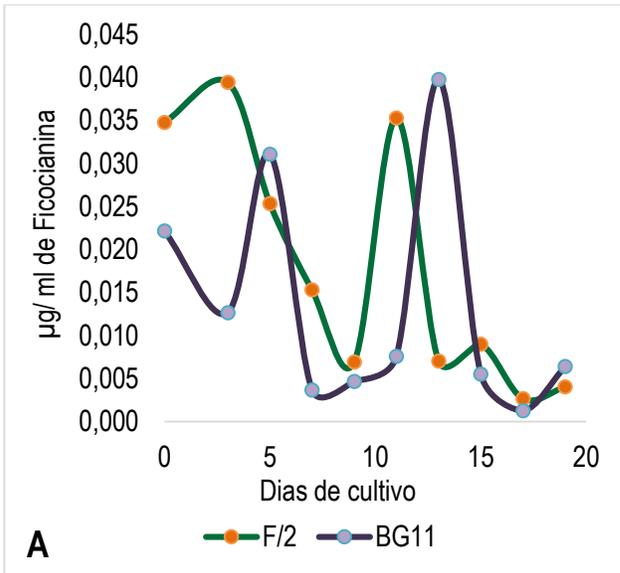
		TRATAMIENTOS	N	Media	EE	Mediana	DE	Varianza	Mínimo	Máximo
FICOCIANINA	BG11		30	0.01347	0.00277	0.00773	0.01519	2.31e-4	2.86e-4	0.0644
	F/2		30	0.01796	0.00372	0.00815	0.02040	4.16e-4	0.00116	0.0771
ALOFICOCIANINA	BG11		30	0.00813	0.00147	0.00556	0.00807	6.52e-5	1.15e-4	0.0316
	F/2		30	0.00961	0.00186	0.00668	0.01020	1.04e-4	- 4.98e-4	0.0422
FICOERITRINA	BG11		30	0.04743	0.00899	0.03550	0.04922	0.00242	0.00141	0.2490
	F/2		30	0.05963	0.01141	0.03540	0.06249	0.00390	0.00159	0.2569
FICOBILIPROTEINAS	BG11		30	0.06903	0.01188	0.04721	0.06505	0.00423	0.00270	0.2931
	F/2		30	0.08720	0.01527	0.06070	0.08363	0.00699	0.00418	0.3359
PESO SECO	BG11		30	0.18232	0.03773	0.08530	0.20664	0.04270	0.00190	0.6710
	F/2		30	0.15664	0.03169	0.08010	0.17355	0.03012	4.00e-4	0.6230
DENSIDAD OPTICA	BG11		30	0.14358	0.03225	0.07200	0.17665	0.03120	0.00550	0.6100
	F/2		30	0.12956	0.02544	0.04370	0.13935	0.01942	0.00390	0.4910

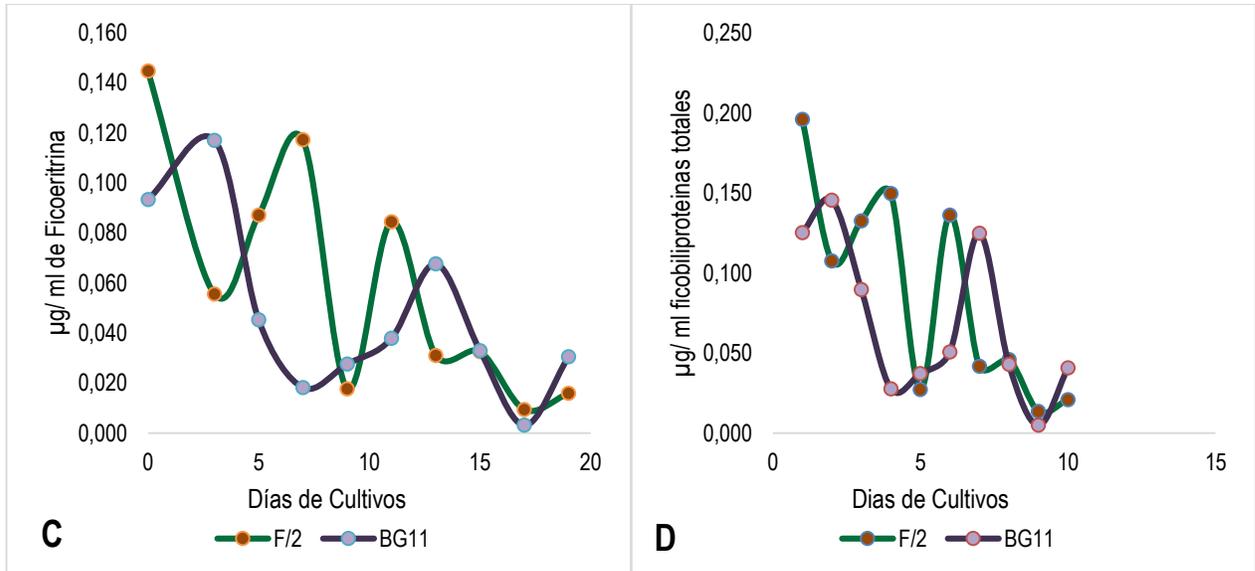
EE (Error típico), Var (Varianza), DE (Desviación estándar), Mín. (Mínimo), Máx. (Máximo)

Anexos 8 . Graficas de los datos obtenidos del cultivo de *O. limosa* para densidad óptica y peso seco durante un periodo de cultivo de 20 días.



Anexos 9: Graficas de los datos obtenidos del cultivo de *O. limosa* para ficobiliproteínas (Ficocianina, aloficocianina, ficoeritrina y ficobiliproteínas totales)





Anexos 10. Prueba de Normalidad (Shapiro-Wilk) utilizado en el cultivo de *O. limosa* en dos medios de cultivos diferentes.

Prueba de Normalidad (Shapiro-Wilk)		
	W	P
FICOCIANINA	0.782	< .001
ALOFICOCIANINA	0.860	< .001
FICOERITRINA	0.787	< .001
FICOBILIPROTEINAS	0.855	< .001
PESO SECO	0.847	< .001
DENSIDAD OPTICA	0.800	< .001

Nota. Un valor p bajo sugiere una violación del supuesto de normalidad

Anexos 11. Prueba de Levene para homogeneidad de varianzas utilizado en el cultivo de *O. limosa* en dos medios de cultivos diferentes.

Prueba de Levene para homogeneidad de varianzas				
	F	gl	gl2	p
FICOCIANINA	2.6595	1	58	0.108
ALOFICOCIANINA	1.4630	1	58	0.231
FICOERITRINA	1.7812	1	58	0.187
FICOBILIPROTEINAS	2.1622	1	58	0.147
PESO SECO	1.0916	1	58	0.300
DENSIDAD OPTICA	0.0787	1	58	0.780

Nota. Un valor p bajo sugiere una violación del supuesto de varianzas iguales

Anexos 12. Prueba T para Muestras Independientes Independientes (U de mann Whitney) utilizado en el cultivo de *O. limosa* en dos medios de cultivos diferentes.

Prueba T para Muestras Independientes Independientes

	Estadístico	p		
FICOCIANINA	U de Mann-Whitney	393	0.406	
ALOFICOCIANINA	U de Mann-Whitney	439	0.878	
FICOERITRINA	U de Mann-Whitney	421	0.676	
FICOBILIPROTEINAS	U de Mann-Whitney	405	0.513	
PESO SECO	U de Mann-Whitney	416	0.620	
DENSIDAD OPTICA	U de Mann-Whitney	441	0.894	

Nota. $H_a \mu_{BG11} \neq \mu_{F/2}$