

Cyanoprocaryota y microalgas (Chlorophyceae y Bacillariophyceae) bentónicas dominantes en ríos de Costa Rica

Ana Margarita Silva-Benavides^{1,2}, Claudio Sili³ & Giuseppe Torzillo³

1. Centro de Investigación en Ciencias del Mar y Limnología (CIMAR), Ciudad de la Investigación, Universidad de Costa Rica, San Pedro, San José 2060, Costa Rica.
2. Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica, San Pedro, San José 2060, Costa Rica; msilva@biologia.ucr.ac.cr
3. Istituto per lo Studio degli Ecosistemi, Via Madonna del Piano 10-50019 Sesto F. no (Firenze), Italy; claudio.sili@ise.cnr.it

Recibido 30-IV-2008. Corregido 06-V-2008. Aceptado 03-IX-2008.

Abstract: Benthic cyanoprocaryota and microalgae (Chlorophyceae and Bacillariophyceae) dominant in rivers of Costa Rica. Samples taken from 17 Costa Rican rivers were analyzed for benthonic Cyanoprocaryota and microalgae (Chlorophyceae and Bacillariophyceae). The samples were observed under the light microscope for species identification, and then cultured with three artificial media: Z8, BG11 and BG11₀. In the field samples, four genera of Cyanoprocaryota were found; the most common were *Phormidium* sp. and *Scenedesmus dimorphus* (Chlorophyceae), there were also five genera and 52 species of Bacillariophyceae. In the isolates, the dominant species were Cyanoprocaryota (*Aphanocapsa hyalina*, *Cyanobium diatomicola*, *Haplosiphon fontinalis*, *Leptolyngbya boryana*, *Leptolyngbya*, *Pseudophormidium tenue* and *Xenococcus* sp.), and Chlorophyceae (*Chlorella vulgaris*, *Chlorococcum infusionum*, *Dilabiphilum printzii*, *Scenedesmus dimorphus*), while Bacillariophyceae (*Navicula minima*, *N. seminulum* and *Aulacoseira*) were less frequent. Rev. Biol. Trop. 56 (Suppl. 4): 221-235. Epub 2009 June 30.

Key words: microalgae, tropical rivers, culture, diatoms, Cyanoprocaryota, Chlorophyceae, Bacillariophyceae, limnology, Costa Rica.

Las microalgas son organismos fotosintéticos que contienen clorofila y pigmentos carotenoides, lo que las hace pioneras en la producción primaria de la cadena alimenticia acuática. Sostienen las pesquerías marinas y de agua dulce, son importantes en la acuicultura como alimento para larvas, en la biotecnología y biomedicina, como complemento alimenticio para humanos, uso como biofertilizantes, biorremediación y biocombustibles (Borowitzka 1995, Andersen 2005, Jong-Yuh 2005, Masojidek 2005).

Entre las microalgas de agua dulce que han sido estudiadas en ríos y lagos de Costa Rica se destacan principalmente las diatomeas (Bacillariophyceae), cuyos estudios se han concentrado en la presencia de grupos de especies y su

relación con la calidad de agua en ríos (Silva-Benavides 1996a, b, Michels 1998, Wydrzycka *et al.* 2001, Michels *et al.* 2006). Las cianofíceas (Cyanoprocaryota) también han sido estudiadas, principalmente como indicadoras de calidad de agua en ríos receptores de aguas residuales domésticas tratadas por medio de las lagunas de estabilización (Peinador 1999). Por otro lado, la composición del fitoplancton ha sido objeto de estudio en varios lagos de Costa Rica (Umaña 1988, Umaña *et al.* 1990, Umaña 1993, Haberyan *et al.* 1995). Parte del conocimiento de la biodiversidad microalgal de una región determinada se evidencia en cultivos realizados en el laboratorio. Actualmente en Costa Rica es importante ampliar la información relacionada con la biodiversidad

de microalgas en cuerpos de agua dulceacuícolas en condiciones naturales y en cultivos en el laboratorio. En esta dirección, el presente trabajo describe las poblaciones naturales y de cultivo de cianobacterias, clorofíceas y diatomeas de varios ríos de Costa Rica al final de la época lluviosa, diciembre 2006, con el objetivo de contribuir al conocimiento de las microalgas bentónicas de una zona tropical. Los sitios en los ríos Ciruelas y Quebrada Honda fueron escogidos al azar de un estudio que comprende sobre la calidad de aguas en ríos de baja altitud hacia el centro del país. Los sitios que comprenden los ríos de la cuenca del río Grande de Térraba, forman parte de un monitoreo sobre la biodiversidad de organismos acuáticos que se lleva actualmente en la región, como parte de una eventual construcción de una futura represa hidroeléctrica a realizarse en la parte sur del país.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras para microalgas se tomaron en los siguientes ríos (Cuadro 1):

I Cuenca del río Grande de Térraba, al sur de Costa Rica: En esta cuenca se escogieron los siguientes ríos:

Sector I: Ríos General en Remolino, Río General en China Kichá y Río Pejibaye.

Sector II: Ríos Volcán, Río Ceibo, Río Pilas y Río Concepción.

Sector III: Ríos Platanares, General Superior en Brujo, Coto Brus, Térraba en Paso Real, Limón y Térraba en Cajón.

Sector IV: Ríos Térraba en Palmar Norte y Balsar (Ciudad Cortés).

II Río Ciruelas, Miramar, Puntarenas.

III Río Quebrada Honda, San José

El muestreo se realizó una única vez durante diciembre de 2006. En cada sitio se

escogieron al azar diez rocas y las muestras de microalgas se obtuvieron raspando con un cepillo un área de 10x10cm de cada roca. Las muestras se conservaron vivas hasta su traslado al laboratorio donde se mantuvieron en condiciones adecuadas de luz y temperatura. Las microalgas se observaron y se fotografiaron usando el contraste de interferencia diferencial "Nomarski" con el microscopio de luz NIKON E600. Para la identificación de las diatomeas a nivel de especie fue necesario realizar una digestión con HCL y peróxido de hidrógeno; las cuales, una vez procesadas, se fijaron sobre portaobjetos con solución Naphrax.

Con el propósito de aislar las clorofíceas, las diatomeas y cianofíceas presentes en las muestras, se prepararon en el laboratorio los siguientes medios de cultivo: Z8 y Z8 SiO₃ (Kotai 1972) y BG11 y BG11₀ (Rippka *et al.* 1979) respectivamente. Para el aislamiento de las cianofíceas y microalgas, se usaron diluciones decimales de cada muestra que fueron inoculadas en medios nutritivos en cajas de "petri" usando Agar (0.8%, w/v) como sustrato. Para el cultivo de las cianofíceas, se añadió Cyclohexamide (100mg.l⁻¹) al medio nutritivo de BG11 and BG11₀ para evitar el crecimiento de organismos eucarióticos. Los cultivos fueron incubados a 26°C en condiciones de luz fluorescente, con una intensidad lumínica de 10μmol photon.m⁻².s⁻¹. Las colonias y filamentos observados al microscopio en los medios de cultivo sólidos fueron transferidos a un medio líquido enriquecido e incubado como se describe anteriormente.

La identificación de Cyanoprokaryota (Cianobacterias) encontradas en las muestras de los sitios y en los cultivos se realizó de acuerdo a Komárek *et al.* (1986, 1989, 1998, 2003b, 2005). Chlorophyta (Algas verdes) se identificaron según Bourrelly (1966, 1968) y Bacillariophyceae (diatomeas) se identificaron de acuerdo a Krammer & Lange-Bertalot (1986–1991) y Rumrich *et al.* (2000).

Las siguientes variables ambientales se midieron en cada sitio de muestreo: temperatura, pH, conductividad y oxígeno disuelto.

CUADRO I
Características ambientales de los sitios de muestreo. Costa Rica. Diciembre 2006

Cuenca Río Grande de Térraba Sector	Río	Coordenadas CRIM (X)	Coordenadas CRIM (Y)	Altitud (msnm)	T °C	pH	OD (mg/L)	Conductividad (µs/cm)	Precipitación (mm/año)
Sector I	Río General en Remolino	550902	1019544	395	24.0	7.0	8.0	60	
	Río General en China Kichá	555838	1016337	345	25.5	8.1	8.5	80	3500
	Río Pejibaye	549815	1011563	360	25.0	8.0	7.6	120	
Sector II	Río Volcán	562948	1014457	345	24.0	7.1	7.6	35	
	Río Ceibo	568327	1008329	235	26.0	7.8	7.5	60	3100
	Río Pilas	561238	1004407	250	28.0	8.4	7.5	300	
	Río Concepción	566978	1006385	185	28.0	8.4	7.5	300	
	Río Platanares	579267	1005474	145	25.0	7.5	7.6	50	
Sector III	Río General Superior en Brujo	579955	1005199	135	26.0	7.6	7.4	80	
	Río Coto Brus	588209	994907	95	25.5	7.5	7.8	70	
	Río Térraba en Paso Real	585347	995601	85	26.0	7.4	7.4	90	2680
	Río Limón	585637	994338	85	25.5	7.9	7.5	200	
Sector IV	Río Térraba en Cajón	572168	988540	45	25.5	7.3	7.4	120	
	Río Térraba en Palmar Norte	559932	990213	10	25.5	7.1	7.1	225	3900
	Río Balsar (Ciudad Cortés)	552008	989444	5	27.0	7.8	7.8	230	
Río Ciruelas (Miramat, Puntarenas)		1003639	08445607	350	28.0	8.1	7.5	180	2100
Río Quebrada Honda (San José)		0954844	8414197	800	25.0	7.8	8.1	200	1900

Los valores de temperatura, pH, OD y conductividad para los ríos que conforman la cuenca del R. Grande de Térraba están dados en promedios, base de datos 1993-2006 (Instituto Costarricense de Electricidad). Los valores de precipitación corresponden al promedio anual para todos los ríos.

Los sitios de muestreo se caracterizaron por presentar una alta temperatura (24-28°C), alto contenido de oxígeno disuelto (7.1-8.5mg/L) y un pH ligeramente alcalino (7-8.4). En el Cuadro 1 se observan las características ambientales y las coordenadas de cada sitio de muestreo.

En las muestras tomadas en los ríos se identificaron cuatro géneros del grupo Cyanoprocarvota (cianofíceas), una especie del grupo Chlorophyceae (clorofíceas), 52 especies y seis géneros del grupo Bacillariophyceae (diatomeas). Entre los géneros de cianofíceas identificadas están *Synechococcus* sp., *Leptolyngbya* sp., *Lyngbya* sp. y *Phormidium* sp. Los géneros *Leptolyngbya* sp. y *Phormidium* sp. son los géneros más abundantes en todos los sitios de muestreo. Entre las clorofíceas, se identificó la especie *Scenedesmus dimorphus* que se encontró en los sitios de los ríos de la cuenca del río Grande de Térraba. En estos mismos ríos, las especies de diatomeas dominantes fueron: *Cocconeis placentula*, *Cymbella silesiaca*, *C. turgidula*, *Fragilaria gouldarii*, *Frustulia romboides*, *Gomphonema clevei*, *G. parvulum* y *Navicula cryptotenella*. En los ríos Ciruelas y Quebrada Honda, las especies dominantes fueron: *Navicula* sp. aff. *ricula* y *Nitzschia amphibia*. El Cuadro 2 muestra la distribución de las especies identificadas en los diferentes sitios de muestreo.

En los medios de cultivo (Cuadro 3), las especies dominantes de cianofíceas fueron: *Aphanocapsa hyalina*, *Cyanobium diatomicola*, *Hapalosiphon fontinalis*, *Leptolyngbya boryana*, *Pseudophormidium tenue* y los géneros *Leptolyngbya* sp. y *Xenococcus* sp. Entre las clorofíceas, las especies dominantes fueron: *Chlorella ellipsoidea*, *Chlorella vulgaris*, *Chlorococcum infusionum*, *Dilabiphilum printzii* y *Scenedesmus dimorphus*. Del grupo de diatomeas, las especies que proliferaron fueron: *Navicula minima*, *N. seminulum* y *Aulacoseira* sp. Las Fig. 1 y 2 muestran las especies de cianofíceas y microalgas creciendo en medios unialgales nutritivos.

El grupo microalgal dominante en términos del número de especies y del número de individuos por especie en todos los sitios de muestreo, correspondió a las diatomeas (Bacillariophyceae) (Cuadro 2). Este grupo posee una amplia distribución, se encuentran en todo tipo de ambientes acuáticos, por lo que son buenas indicadoras de calidad de agua (Krammer *et al.* 1986-1991). Las especies, tanto de cianofíceas como de clorofíceas y diatomeas identificadas en el estudio, no representan la diversidad espacial ni temporal de la comunidad microalgal de los ríos estudiados; sin embargo, para el periodo de estudio, los sitios se pueden caracterizar por la dominancia de ciertas especies y géneros. Por ejemplo, en los sitios comprendidos de la cuenca del río Grande de Térraba, dominan las siguientes especies de diatomeas: *Cocconeis placentula*, *Cymbella silesiaca*, *Cymbella turgidula*, *Fragilaria gouldarii*, *Frustulia romboides*, *Gomphonema clevei*, *Gomphonema parvulum*, *Navicula cryptotenella*, *Rhoicosphenia abbreviata* (Cuadro 2). Para el río Ciruelas, predominó *Navicula* sp. aff. *ricula*, *N. minima* y *Nitzschia amphibia* y en el río Quebrada Honda, *Navicula* sp. aff. *ricula*, *Navicula* sp. aff. *indifferens* y *Nitzschia amphibia* fueron las especies que se encontraron con mayor frecuencia.

Es importante resaltar algunos aspectos ecológicos de las especies dominantes que pueden ser útiles desde el punto de vista de la caracterización de la calidad del agua. Por ejemplo, del grupo de las diatomeas, *Cocconeis placentula*, la cual es una especie sensitiva a la contaminación orgánica, tiene un desarrollo máximo en ambientes ricos en nutrientes y oxígeno y crece muy bien en ambientes de alcalinidad moderada (pH 6.2-8.0) (Krammer *et al.* 1986-1991). *Fragilaria gouldarii* es común en aguas cálidas y no contaminadas (Krammer *et al.* 1986-1991); por lo menos en el presente estudio, se encontró en mayor proporción en aguas que presentan estas características (Cuadros 1 y 2). *Navicula cryptotenella*, es una especie indicadora de condiciones de

CUADRO 2

Especies de Cyanoprocarvota y microalgas observadas en los ríos estudiados, Costa Rica. Diciembre 2006.
(Los sectores I, II, III y IV corresponden a los ríos de la cuenca del Río Grande de Térraba)

Ríos	Sector I	Sector II	Sector III	Sector IV	R. Ciruelas	R. Quebrada Honda
Cyanoprocarvota						
<i>Synechococcus</i> sp.	X	X	X	X	X	X
<i>Leptolyngbya</i> sp.	X	XX	XX	X	XX	X
<i>Lyngbya</i> sp.		X	X		X	
<i>Phormidium</i> sp.	XX	XX	XX	XX	XX	XX
Chlorophyceae						
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	X	X	X	X		
Bacillariophyceae						
<i>Achnanthes krauskii</i>					X	
<i>Achnanthes lanceolata</i>					X	X
<i>Achnanthes minutissima</i>	X	X	X	X	X	X
<i>Achnanthes praecipua</i>					X	
<i>Achnanthes subhodsonis</i>					X	
<i>Amphora</i> sp.	X	X	X		X	X
<i>Aulacoseira</i> sp.	X	X				
<i>Caloneis aerophila</i>						X
<i>Cocconeis placentula</i>	XXX	XXX	X	XXX	X	X
<i>Cymbella perpusilla</i>	X	X		X		X
<i>Cymbella silesiaca</i>	XXX	XXX	XXX	XXX		X
<i>Cymbella tumida</i>		X	X			
<i>Cymbella turgidula</i>	X	XXX	X	XXX		
<i>Diploneis elliptica</i>						X
<i>Epithemia</i> sp.	X	X	X	X	X	X
<i>Fragilaria bidens</i>	X	X	X	X		X
<i>Fragilaria gowlandii</i>	XX	XX	XX	X	X	X
<i>Fragilaria ulna</i>	X	X	X	X		X
<i>Fragilaria vaucheria</i>		X			X	
<i>Frustulia rhomboides</i>	XX	X	X	X	X	X
<i>Gomphonema affine</i>	X	X	X	X	X	X
<i>Gomphonema clevei</i>	XX	X		X		X
<i>Gomphonema parvalum</i>	XX	X	X	X	X	
<i>Gomphonema pumilum</i>	X	X	X	X		
<i>Gyrosigma</i> sp.	X	X	X	X	X	X
<i>Hantzschia amphioxys</i>					X	X
<i>Navicula accomoda</i>	X	X	X	X	X	X
<i>Navicula arvensis</i>		X	X		X	
<i>Navicula capitatorodiata</i>	X	X	X	X	X	X
<i>Navicula contenta</i>					X	X

CUADRO 2 (Continuación)

Especies de microalgas observadas en los ríos estudiados, Costa Rica. Diciembre 2006.
 (Los sectores I, II, III y IV corresponden a los ríos de la cuenca del Río Grande de Térraba)

Ríos	Sector I	Sector II	Sector III	Sector IV	R. Ciruelas	R. Quebrada Honda
<i>Navicula cryptocephala</i>	X	X		X		
<i>Navicula cryptotenella</i>	X	XX	X	X		
<i>Navicula erifuga</i>					X	
<i>Navicula gregaria</i>						X
<i>Navicula kuelbsii</i>					X	
<i>Navilula minima</i>					XX	
<i>Navicula</i> sp.aff. <i>ricula</i>					XX	XX
<i>Navicula phyllepta</i>			X			
<i>Navicula</i> sp. aff. <i>indiferens</i>						XX
<i>Navicula submuralis</i>					X	X
<i>Navicula tenelloides</i>		X				
<i>Navicula ventralis</i>		X				
<i>Nedium densestriatum</i>	X	X	X	X	X	X
<i>Nitzschia clausii</i>	X	X	X	X		
<i>Nitzschia amphibia</i>		X			XXX	XXX
<i>Nitzschia amphibioides</i>		X			X	
<i>Nitzschia bacillum</i>					X	
<i>Nitzschia fonticola</i>					X	
<i>Nitzschia frustulum</i>					X	
<i>Nitzschia incognita</i>		X				
<i>Nitzschia incospicua</i>		X			X	X
<i>Nitzschia nana</i>	X	X	X	X	X	X
<i>Nitzschia palea</i>	X	X	X	X	X	
<i>Pinnularia</i> sp.						X
<i>Pinnularia viridis</i>						X
<i>Rhoicosphenia abbreviata</i>	XX	X	X	X	X	
<i>Surirella</i> sp.		X				

XXX : dominante

XX : frecuente

X : rara

aguas mesosapróbicas; es común encontrarla en ambientes acuáticos con baja y alta conductividad, pero altamente sensitiva hacia la contaminación. Por lo general, estas especies fueron dominantes en aquellos sitios donde la calidad del agua parece ser relativamente buena, pues no se observaron indicios de contaminación como en los sitios de la cuenca del río

Grande de Térraba. Las especies de diatomeas dominantes en los ríos Ciruelas y Quebrada Honda; *Nitzschia amphibia* y *Navicula minima* son reportadas en aguas mesotróficas (Krammer *et al.* 1986-1991, Michels 1998). Los sitios donde se encontraron estas especies se caracterizan por encontrarse en lugares semi-urbanos, lo que probablemente incrementó la

CUADRO 3

Especies de microalgas observadas en los medios unialgales nutritivos. Costa Rica. Diciembre 2006.
(Los sectores I, II, III y IV corresponden a los ríos de la cuenca del Río Grande de Térraba)

Ríos :	Sector I	Sector II	Sector III	Sector IV	R. Ciruelas	R. Quebrada Honda
Cyanoprocaryota						
<i>Aphanocapsa hyalina</i>					X	X
<i>Cyanobium diatomicola</i>					X	X
<i>Hapalosiphon fontinalis</i>			X	X		
<i>Leptolyngbya boryana</i>		X			X	
<i>Leptolyngbya</i> sp.	X	X	X	X	X	X
<i>Pseudophormidium tenue</i>					X	X
<i>Xenococcus</i> sp.					X	X
Chlorophyceae						
<i>Chlorella ellipsoidea</i>					X	X
<i>Chlorella vulgaris</i>	X	X	X	X	X	X
<i>Chlorococcum infusionum</i>				X	X	X
<i>Dilabiphilum printzii</i>						X
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	X	X	X	X		
Bacillariophyceae						
<i>Aulacoseira</i> sp.	X	X				
<i>Navicula minima</i>	X	X	X	X	X	X
<i>Navicula seminulum</i>	X	X	X	X	X	X

contaminación en el agua y favoreció la proliferación de estas especies.

Entre las cianofíceas, *Synechococcus* sp. *Leptolyngbya* sp. y *Phormidium* sp. se encontraron presentes en todos los sitios de muestreos, con una alta dominancia de este último género. Estos géneros presentan una amplia distribución en aguas lénticas de ríos de zonas tropicales (Komárek 2003). Entre las clorofíceas, *Scenedesmus dimorphus* es una especie frecuente en los ríos de la cuenca del río Grande de Térraba. En general, las cianobacterias (Cyanoprocaryota) y las microalgas clorófitas (Chlorophyceae) se encontraron en

los sitios de muestreo pero en menor abundancia y diversidad que las diatomeas (Bacillariophyceae); sin embargo, en condiciones de laboratorio, cuando las muestras se cultivaron en medios nutritivos, los primeros dos grupos proliferaron con respecto a las diatomeas (Cuadro 3), lo que indica que los medios de enriquecimiento constituye un método selectivo para ciertas especies (Rippka 1988, León comunic. pers.).

Evaluaciones taxonómicas y ecológicas de las especies aisladas de los medios de cultivo de todas las muestras colectadas son resumidas a continuación (Fig. 1 y 2):

CYANOPROCARYOTA

Aphanocapsa hyalina (Lyngbye) Hansgirg 1892 (Fig. 1A)

Colonias grandes de 2-300µm de diámetro, más o menos esféricas. Presencia de mucílago gelatinoso y sin color. Células esféricas u ovoides antes de la división y densamente agregadas, de color verdusco intenso de 2-2.6µm de diámetro.

Este género ha sido reportado por Reymánková *et al.* (2004) en humedales de Belice, América Central y en diferentes cuerpos de agua dulce de Brazil (Sant' Anna *et al.* 2004), en México y en varios países tropicales (Komárek *et al.* 2003a). En Costa Rica ha sido reportada en muestras de ríos y en medios de cultivo WC por Peinador (1999). En el presente trabajo se presentó en los medios de cultivo de los ríos Ciruelas y Quebrada Honda.

Cyanobium diatomicola (Geitler) Komárek *et al.* 1999 (Fig. 1B)

Células solitarias, de forma de bastón, redondeadas en los extremos, protoplasma de color verde-azulado, 1-1.2µm ancho, 1.5-3µm de largo, no poseen mucílago.

El género *Cyanobium* ha sido reportado por Reymánková *et al.* (2004) en humedales de Belice, América Central y en México (Komárek *et al.* 2003b). Esta especie es común encontrarla en agua dulce, epífita sobre otras microalgas como diatomeas y algas filamentosas (Komárek *et al.* 1999). En el presente trabajo se reporta en los cultivos nutritivos del río Ciruelas y río Quebrada Honda, cuyas aguas se caracterizan por ser cálidas (28°C), pH 8.1 y una concentración de oxígeno de 7mg/l.

Hapalosiphon fontinalis (Agardh) Bornet 1889 (Fig. 1C)

Filamentos ligeramente flexibles, 7-10µm de ancho, ramificados, con una vaina delgada transparente. Las células presentan forma de barril, cuadradas-redondeadas o subcilíndricas.

Filamentos laterales erectos, delgados, gradualmente atenuados en los extremos, 3-5µm de ancho y 6-10µm de largo. Los heterocistes son poco comunes en los filamentos basales y están dispersos en los filamentos laterales, ovales 6-7µm ancho.

Especie frecuente en los medios de cultivo de los sectores III y IV del río Grande de Térraba. Se ha reportado en áreas tropicales, especialmente con hábitats inundados (Komárek 2003a).

Leptolyngbya boryana Anagnostidis et Komárek 1988 (Fig. 1D)

Filamentos curvados, densamente enmarañados, 2.9-3.5µm de ancho. Presenta pseudofilamentos más delgados que los filamentos basales, con vainas transparentes. Tricomas 1.8-2.5 (3)µm de ancho, con células ± isodiométricas, en algunos casos más cortos que anchos en los filamentos basales, y otras veces más largos que anchos en los pseudofilamentos. Células apicales redondeadas de color azul-verdoso pálido. En el presente trabajo se observó esta especie en los medios de cultivo del Sector II de la cuenca del río Grande de Térraba y en el río Ciruelas.

Leptolyngbya sp. Anagnostidis et Komárek 1988 (Fig. 1E)

Filamentos ligeramente tortuosos, no forman colonias compactas y no poseen pseudoramificación. La vaina que envuelve los filamentos es de textura delicada y transparente. Los tricomas tienen un color azul-verde pálido, 1.5-1.8µm de ancho, con las paredes ligeramente contraídas. Las células son 1.2-1.5µm de ancho y 2-3 (4)µm de largo. Los tricomas presentan células apicales redondeadas.

El género *Leptolyngbya* es frecuente en zonas tropicales (Reymánková *et al.* 2004, Soares *et al.* 2007). En Costa Rica se han reportado tres especies de *Leptolyngbya* en dos ríos que presentan contaminación orgánica y en lagunas de tratamiento (Peinador 1999). En el presente trabajo fue abundante en los medios de cultivo de todos los sitios de muestreo.

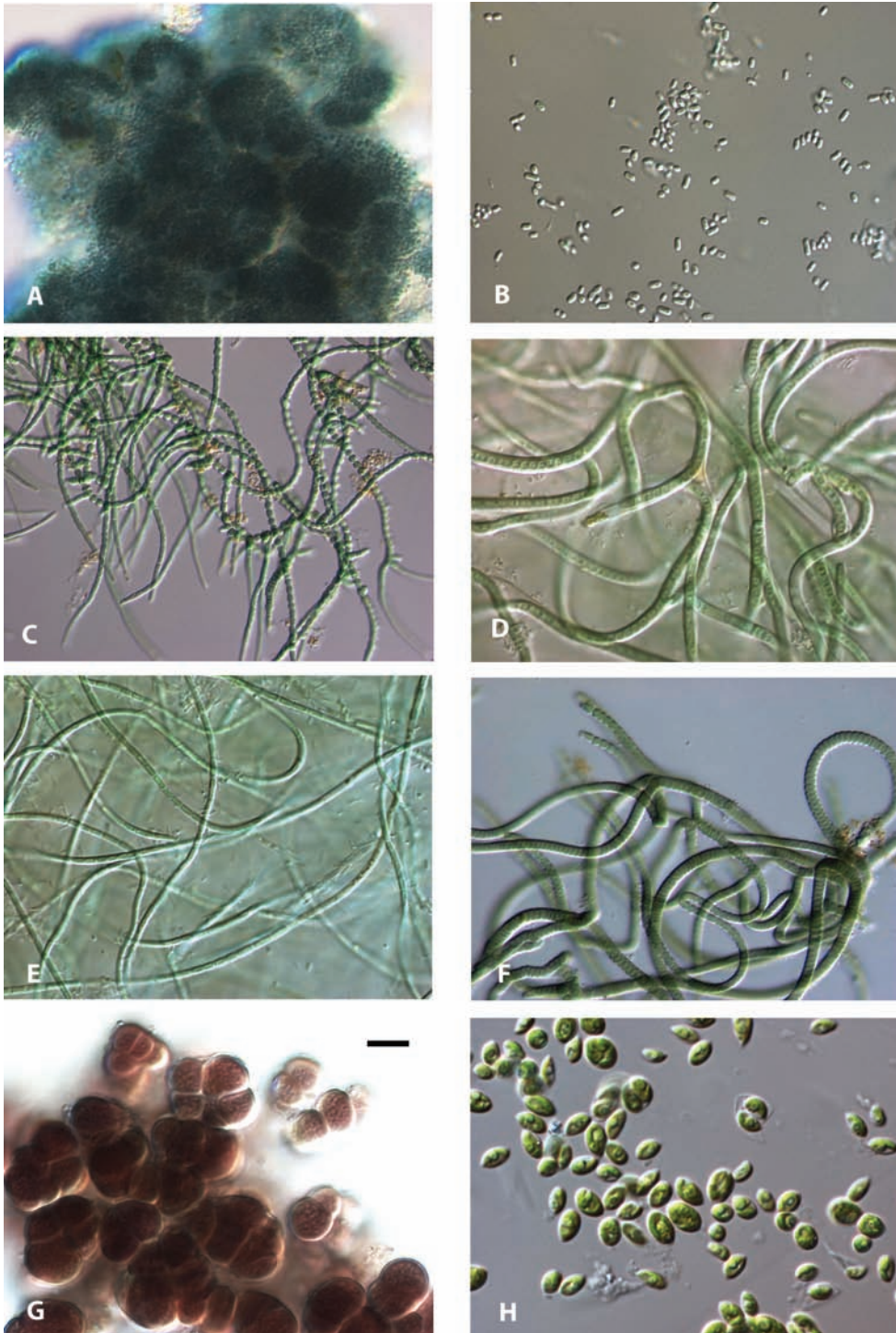


Fig. 1. a) *Aphanocapsa hyalina*; b) *Cyanobium diatomicola*; c) *Hapalosiphon fontinalis*; d) *Leptolyngbya boryana*; e) *Leptolyngbya* sp.; f) *Pseudophormidium tenue*; g) *Xenococcus* sp.; h) *Chlorella ellipsoidea*. (la barra incluida en G representa 40 μ m en C; 20 μ m en A y F; 10 μ m en B, D, E, G y H).

Pseudophormidium tenue (Thuret ex Gomont)
Anagnostidis et Komárek 1988 (Fig. 1F)

Filamentos densamente enmarañados, formando grupos redondeados, frecuentemente largos y curvados. Vainas incospicuas, sin color. Los tricomas son de color azul-verdoso pálido, (4,5) 5-6µm de ancho y gradualmente atenuados en los extremos. Las células ± isodiamétricas, 1.5-4µm de largo. Células apicales de forma obtusa-cónicas.

Esta especie se identificó en condiciones de cultivo en el río Ciruelas y en el río Quebrada Honda. Es una especie que crece abundantemente sobre piedras en ríos no contaminados (Komarek *et al.* 2003a).

Xenococcus sp. Thuret in Bornet et Thuret
1880 (Fig. 1G)

Forma colonias de células más o menos esféricas o aplanadas, usualmente formando una masa densa de una sola capa y en grupos irregulares. Las células son de color rojizo-violeta, 5-9µm ancho. No se observa formación de "beocyte". Este género se presentó en condiciones de cultivo en los ríos Ciruelas y Quebrada Honda. Komárek *et al.* 1999 señalan que este género puede encontrarse sobre las rocas o como epífita sobre diversas especies de microalgas.

CHLOROPHYCEAE

Chlorella ellipsoidea
Gerneck 1907 (Fig. 1H)

Células verdes de 3-5.5 (7)µm de ancho, 5-6 (9)µm de largo, simétricas. Los cloroplastos inicialmente tienen forma cóncava pero presentan una forma lobulada a medida que la célula envejece. Tiene márgenes ondulados y ligeramente hundidos. Se presentó en el presente trabajo en los medios de cultivo de los ríos Ciruelas y Quebrada Honda. Probablemente es una especie cosmopolita en el plancton de lagos pequeños y otros hábitas acuáticos, así como asociada con suelos (Bourrelly 1968).

Chlorella vulgaris
 Beijerinck 1890 (Fig. 2A)

Células verdes de 3-4µm de ancho, esféricas o casi esféricas, con cloroplastos en forma de banda. Es una especie con formas muy variables (comúnmente referida como una pequeña alga verde tipo coccoide, representada por un número grande de morfotipos creciendo en diferentes condiciones). Una especie común en los medios de cultivo.

Chlorococcum infusionum
(Schrank) Meneghini 1842 (Fig. 2B)

Células verdes de 4.5-17µm de ancho, esféricas. Los cloroplastos presentan una esfera cóncava con un poro lateral, el pirenoide se encuentra en una posición excéntrica, generalmente asociado con varios granos pequeños de almidón.

Esta especie se presentó en los medios de cultivo de los ríos del Sector IV de la cuenca del río Grande de Térraba y ríos Ciruelas y Quebrada Honda.

Dilabiphilum printzii (Vischer)
Tschermak-Woess 1970 (Fig. 2C)

Alga filamentosa, uniseriada, posee un filamento principal que se encuentra postrado y sostiene filamentos secundarios erectos. Los filamentos son moderadamente ramificados con células cilíndricas de 6-7µm de ancho y 15-30µm largo.

Scenedesmus dimorphus
(Turpin) Kützing 1833 (Fig. 2D)

Posee de 2 a 4 cenobios, dispuestos en línea o en forma alterna (zig-zag), con las células arregladas en 1 o 2 filas. Células de color verde, de 3-5µm de ancho, 11-16µm de largo y forma de huso. Esta especie se identificó en los medios de cultivo de los ríos de la cuenca del río Grande de Térraba. Uno de los géneros más ampliamente distribuidos en todo tipo de ambiente incluyendo las zonas tropicales (Shubert 2003).

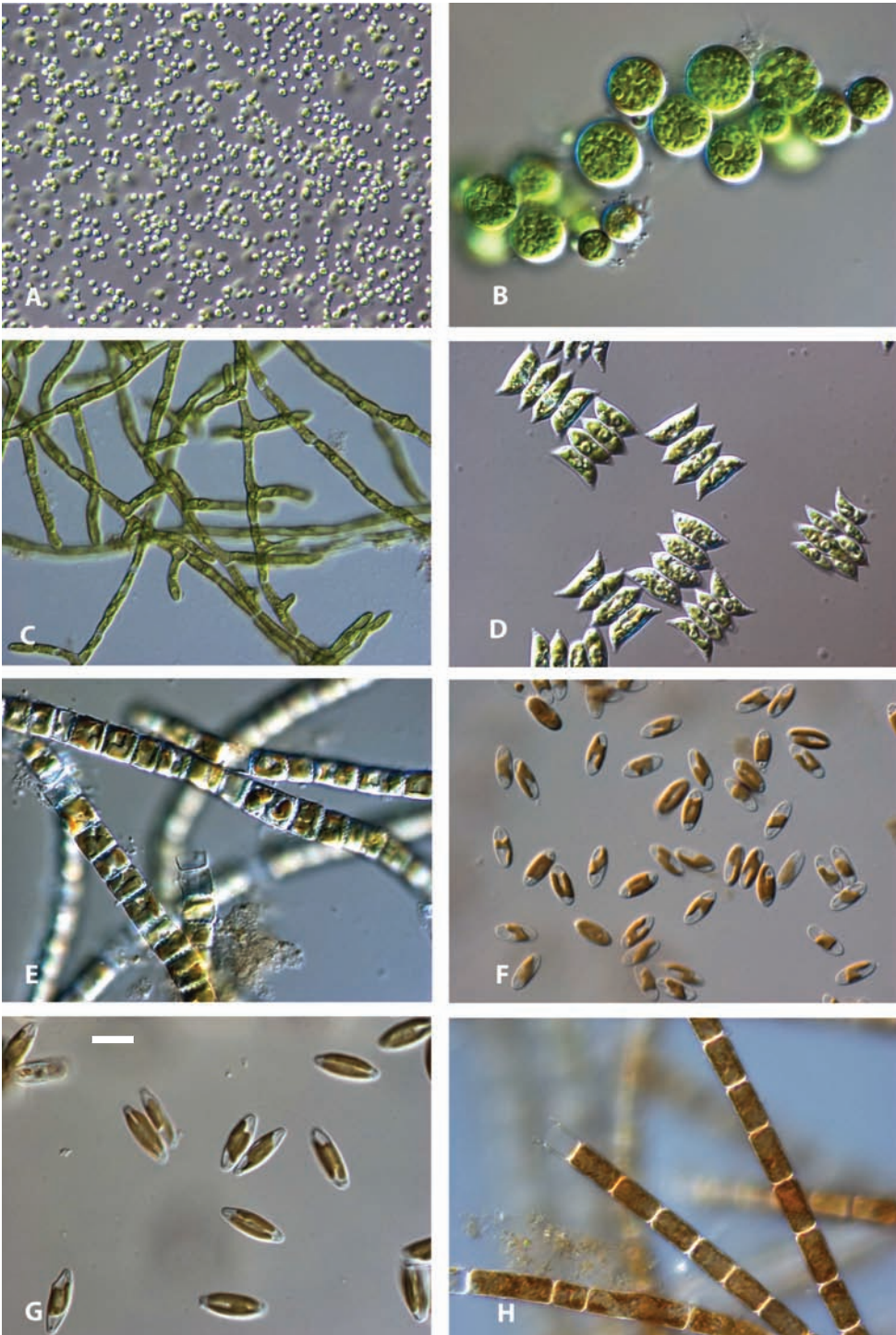


Fig. 2. a) *Chlorella vulgaris*; b) *Chlorococcum infusionum*; c) *Dilabiphilum printzii*; d) *Scenedesmus dimorphus*; e) *Aulacoseira* sp.; f) *Navicula minima*; g) *Navicula seminulum*; h) *Aulacoseira* sp. (la barra incluida en G representa 20 μm en A, C y H; y 10 μm en B, D, E, F y G).

BACILLARIOPHYCEAE

Navicula minima

Grunow in Van Heurck 1880 (Fig. 2F)

Células de 3-4µm ancho y 7-8µm largo, valvas con extremos redondeados. Esta especie puede ser planctónica pero principalmente se encuentra adherida a substratos.

Especie presente en todos los medios de cultivo de los sitios estudiados. Esta especie ha sido reportada para la parte superior de un río en Costa Rica que presenta una moderada contaminación orgánica (Silva 1998).

Navicula seminulum

Grunow 1860 (Fig. 2G)

Células de 4.5-5µm de ancho y 14µm de largo, con valvas lanceoladas y extremos redondeados. Especie estrictamente aerofítica. Esta especie se observó en los medios de cultivo de todos los sitios de muestreo. *N. seminulum* es una especie indicadora de condiciones mesosapróbicas a polisapróbicas en el agua (Krammer *et al.* 1986).

Aulacoseira sp.

(Fig. 2H)

Frústulas cilíndricas, formando cadenas largas pero frecuentemente aparecen como valvas únicas o como pares de valvas. Las areolas en el manto son claramente visibles al microscopio de luz y están dispuestas en línea recta o en filas curvadas. Las areolas son simples, redondas o rectangulares. Las espinas pueden estar presentes alrededor de la unión de la valva y en el manto, principalmente en el extremo de las células. La valva posee "puncta" que se encuentran dispuestos al azar. La forma de las espinas y el arreglo de las areolas en el manto son características que se consideran en la descripción taxonómica. Las células son café oscuras, 12-15µm de ancho, 15-25µm de largo.

Este género se conoce *Melosira*. Simonsen (1979) la colocó en el género *Aulacosira* y las especies (*italica*, *granulata*, *islandica*,

nyassensis y *distans*) del género *Melosira* fueron incluidas en *Aulacosira*.

Reportada en los medios de cultivo de los ríos Ciruelas y Quebrada Honda. Probablemente cosmopolita, con frecuencia se encuentra flotando en la columna de agua y varias especies sobreviven sobre el sedimento (Stoermer *et al.* 2003).

La combinación de procedimientos de identificación de microalgas en su medio natural y en condiciones de cultivo en el laboratorio, usando técnicas de enriquecimiento y de aislamiento, son importantes para obtener una especie en condición unialgal y lograr una mejor identificación taxonómica. Parte del conocimiento taxonómico, fisiológico, tasa de crecimiento y composición bioquímica de una especie en ciertas condiciones de luz, temperatura, nutrientes, pH, está basado en estudios con cultivos unialgales (Parker *et al.* 1999, Vonshak 1999). También, proveen información sobre la optimización del crecimiento, productividad de las microalgas, sus potenciales aplicaciones biotecnológicas y en el tratamiento de aguas de desecho (Vonshak 1999, Becker 2004, Spolaore *et al.* 2006). Facilita el diagnóstico taxonómico de ciertas especies, como cianofíceas (Peinador 1999, Komárek 2003), o cuando se quiere obtener ciertas cepas que no son obviamente visibles en las muestras originales (Rippka 1988, Yuan-Kun *et al.* 2004). La diferencia entre la composición de especies cuantificadas en el medio natural, las cuales crecen como una mezcla de comunidades y las especies aisladas en medios nutritivos, podrían indicar la especificidad de las especies ante ciertas concentraciones de diferentes nutrientes. Esta especificidad a uno o a varios nutrientes, promueve que una especie que se encuentre en bajas densidades en el medio natural, prolifera en número de individuos en un corto periodo de tiempo, constituyéndose en un cultivo unialgal. Es importante, en este sentido; considerar que debido a la especificidad que presentan las especies con respecto a un medio nutritivo (Andersen 2005), se recomienda realizar los cultivos en diferentes medios de

enriquecimiento; pues estos han sido formulados para cumplir con los requerimientos de varias algas y las necesidades de investigación (Becker 1994).

Las muestras unialgales obtenidas de los medios de cultivo, permitirán entre otras acciones y en el caso específico de Costa Rica, tener una colección de especies de microalgas aisladas de cuerpos de agua dulce de los ecosistemas locales, que contribuirán a un mejor entendimiento de la biodiversidad microalgal de una zona tropical.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo es la presentación de una parte de los resultados de una pasantía realizada en el Instituto de Estudios para los Ecosistemas, Florencia, Italia, con financiamiento de la Oficina de Asuntos Internacionales de la Universidad de Costa Rica y en el marco del convenio que existe entre ambas instituciones. Mi agradecimiento al Instituto Costarricense de Electricidad, oficinas de Palmar Norte y especialmente al Biólogo Jorge Picado Barboza, por facilitar el apoyo logístico en la toma de las muestras en los ríos de la cuenca del río Grande de Térraba, y al estudiante Humberto Romero por su colaboración en el procesamiento de las muestras de diatomeas. Parte del procesamiento de las muestras de microalgas se realizó en el laboratorio de microalgas del CIMAR, Universidad de Costa Rica.

RESUMEN

Se identificaron géneros y especies bentónicas del grupo Cyanoprocaryota y de las microalgas Chlorophyceae, y Bacillariophyceae de 17 ríos de Costa Rica, América Central. Las muestras se cultivaron en medios nutritivos sólidos y líquidos con el propósito de observar especies que no aparecieron en las observaciones preliminares. En condiciones naturales, se identificaron cuatro géneros de Cyanoprocaryota, una especie de Chlorophyceae (*Scenedesmus dimorphus*) y 52 especies y cinco géneros del grupo Bacillariophyceae. En los aislamientos, las siguientes especies de Cyanoprocaryota fueron comunes: (*Aphanocapsa hyalina*, *Cyanobium diatomicola*, *Hapalosiphon fontinalis*,

Leptolyngbya boryana, *Leptolyngbya*, *Pseudophormidium tenue* y *Xenococcus* sp.), Chlorophyceae (*Chlorella vulgaris*, *Chlorococcum infusionum*, *Dilabiphilum printzii*, *Scenedesmus dimorphus*) y Bacillariophyceae (*Navicula minima*, *N. seminulum* y *Aulacoseira* sp.)

Palabras clave: microalgas, ríos tropicales, diatomeas, Cyanoprocaryota, Chlorophyceae, Bacillariophyceae, limnología, Costa Rica.

REFERENCIAS

- Andersen, R.A. 2005. *Algal Culturing Techniques*. Elsevier Academic, California, USA.
- Becker, E.W. 1994. *Microalgae: Biotechnology and microbiology*. Cambridge University, Cambridge, Reino Unido.
- Becker, W. 2004. Microalgae in human and animal nutrition, p. 312-321. In A. Richmond (ed.). *Handbook of microalgal culture*. Blackwell, Oxford, Reino Unido.
- Borowitzka, M. 1995. Microalgae as sources of pharmaceuticals and other biologically active compounds. *J. Appl. Phycol.* 7: 3-15.
- Bourrelly, P. 1966. Les algues D'Eau Douce. Tome I: Les Algues Vertes. Ed. N. BOUBÉE. Paris. Ed. N. BOUBÉE. Paris, Francia.
- Bourrelly, P. 1968. Les algues D'Eau Douce. Algues jaunes et brunes. Ed. N. BOUBÉE. Paris, Francia.
- Haberyan, K.A., G. Umaña, C. Collado & S.P. Horn. 1995. Observations on the plankton of some Costa Rican lakes. *Hydrobiologia* 312: 75-85.
- Komárek, J. & K. Anagnostidis. 1986. Modern approach to the classification system of cyanophytes, 2. Chroococcales. *Arch. Hydrobiol./Algol. Stud.* 43: 157-226.
- Komárek, J. & K. Anagnostidis. 1989. Modern approach to the classification system of Cyanophytes. 4. Nostocales. *Arch. Hydrobiol./Algol. Stud.* 82: 247-345.
- Komárek, J. & K. Anagnostidis. 1998. 19/1. Cyanoprocaryota: Chroococcales. *Subwasserflora von Mitteleuropa*. Gustav Fisher, Jena-Stuttgart-Lübeck-Ulm, Alemania.
- Komárek, J., H. Kling & J. Komárková. 2003a. Filamentous cyanobacteria, p. 117-191. In J.D. Wehr & R. Sheath (eds.). *Freshwater algae of North America: ecology and classification*. Academic, California, EEUU.

- Komárek, J. & J. Komárková-Legnerová. 2003b. Contribution to the knowledge of planktic cyanoprokaryotes from Central Mexico. *Preslia*, Praha 74: 207-233.
- Komárek, J. & K. Anagnostidis. 2005. Teil: Cyanoprokaryota. Oscillatoriales. Subwasserflora von Mitteleuropa. Elsevier GmbH, München, Alemania.
- Köster, D. & T. Hübener. 2001. Application of diatom indices in a planted ditch. *Int. Rev. Hydrobiologie* 86: 241-252.
- Kotai, J. 1972. Instructions for the preparation of modified nutrient solution Z8 for algae. Publication B-11/69. Norwegian Institute for Water Research, Oslo, Noruega.
- Krammer, K. & H. Lange-Bertalot. 1986-1991. Süßwasserflora von Mitteleuropa, Bacillariophyceae. 2/1: Naviculaceae, p. 1-876; 2/2: Bacillariaceae, Epithmiaceae, Surirellaceae, p. 1-596; 2/3: Centrales, Fragilariaceae, Eunotiaceae, p. 1-576; 2/4: Achnantheaceae, p. 1-437. Gustav Fischer, Stuttgart, Alemania.
- Masojidek, J. & G. Torzillo. 2008. Mass cultivation of freshwater microalgae, p. 2226-2235. *In* S.E. Jørgensen & B.D. Fath (eds.), *Ecological Engineering*, Vol. 3, *Encyclopedia of Ecology* Elsevier, Oxford.
- Michels, A. 1998. Effects of sewage water on diatoms (Bacillariophyceae) and water quality in two tropical streams in Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 46: 143-152.
- Michels, A., G. Umaña & U. Raeder. 2006. Epilithic diatom assemblages in rivers draining into Golfo Dulce (Costa Rica) and their relationship to water chemistry, habitat characteristics and land use. *Arch. Hydrobiol.* 165: 167-190.
- Parker, N., D. Frampton, A. Negri, L. Rodolfi, M. Tredici & S. Blackburn. 1999. High density cultivation of dinoflagellates: effects on growth, life history and toxin production. 8th International Conference on applied algology: algae and human affairs in the 21st Century (R. Piccardi, R. Materassi & M. R. Tredici). 26 September - 1 October 1999. Montecatini Terme, Italy.
- Peinador, M. 1999. Las cianobacterias como indicadores de contaminación orgánica. *Rev. Biol. Trop.* 47: 1-12.
- Reymánková, E., J. Komárek & J. Komárková. 2004. Cyanobacteria-a neglected component of biodiversity patterns of species diversity in inland marshes of northern Belize (Central America). *Diversity Distrib.* 10: 189-199.
- Rippka, R. 1988. Isolation and purification of cyanobacteria. *Meth. Enzymol.* 167: 3-28.
- Rippka, R., J. Deruelles, J. Waterbury, M. Herdman & R. Stanier. 1979. Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. *J. Gen. Microbiol.* 111: 1-61.
- Rumrich, U., H. Lange-Bertalot & M. Rumrich. 2000. Diatomeen der Anden: Von Venezuela bis Patagonien/Feuerland und zwei weitere Beiträge. *Iconographia Diatomológica*, Koeltz Scientific Books, Koenigstein, Alemania.
- Silva-Benavides, M. 1996a. The epilithic diatom flora of a pristine and a polluted river in Costa Rica, Central America. *Diatom Research* 11: 105-142.
- Silva-Benavides, M. 1996b. The use of water chemistry and benthic diatom communities for qualification of a polluted river in Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 44: 395-416.
- Silva-Benavides, M. 1998. Use of diatoms (Bacillariophyceae) for water quality assessment in two tropical streams in Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 46: 153-175.
- Sant'Anna, C., M.T. De P. Azevedo, P.A.C. Senna, J. Komárek & J. Komárková. 2004. Planktic cyanobacteria from São Paulo State, Brazil: chroococcales. *Rev. Bras. Bot.* 27: 213-227.
- Schubert, E. 2003. Nonmotile coccoid and colonial green algae, p. 253-307. *In* J.D. Wehr & R. Sheath (eds.). *Freshwater algae of North America: ecology and classification*. California, EEUU.
- Soares, C.M.C., S. Maria da Graca & V.L. De Huszar. 2007. Phytoplankton flora of two rivers in Southeast Brazil-Paraibuna and Pomba rivers, Minas Gerais. *Rev. Bras. Bot.* 30: 433-450.
- Spolaore, P., C. Joannis-Cassan, E. Durán & A. Isambert. 2006. Commercial applications of microalgae. *J. Biosci. Bioeng.* 101: 87-96.
- Stoermer, E. & M.L. Julius. 2003. Centric diatoms, p. 559-588. *In* J.D. Wehr & R. Sheath (eds.). *Freshwater algae of North America: ecology and classification*. Academic, California, USA.
- Umaña, G. & C. Collado. 1990. Asociación planctónica en el Embalse Arenal, Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 38: 311-321.
- Umaña, G. 1988. Fitoplancton de las lagunas Barba, Fraijanes y San Joaquín, Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 36: 471-477.

- Umaña, G. 1993. The planktonic community of Laguna Hule, Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 41: 499-507.
- Vonshak, A. 1999. High density cultivation of dinoflagellates: effects on growth, life history and toxin production. 8th International Conference on applied algology: algae and human affairs in the 21st Century (R. Piccardi, R. Materassi & M.R. Tredici). 26 September - 1 October 1999. Montecatini Terme, Italia.
- Wydrzycka, U. & H. Lange-Bertalot. 2001. Las diatomeas (Bacillariophyceae) acidófilas del río Agrio y sitios vinculados con su cuenca, Volcán Poás, Costa Rica. *Brenesia* 55-56: 1-68.
- Jong-Yuh, S. Mei-Fen. 2005. Potential hypoglycemic effects of *Chlorella* in streptozotocin-induced diabetic mice. *Life Sci.* 77: 980-990.
- Yuan-Kun L. & S. Hui. 2004. Basic culturing techniques, p. 40-45. *In* E.A. Richmond (ed.). Handbook of microalgal culture. Blackwell Science Ltd., Iowa, EEUU.

