

Polibotanica

ISSN electrónico: 2395-9525

polibotanica@gmail.com

Instituto Politécnico Nacional

México

<http://www.polibotanica.mx>

CIANOBACTERIAS Y MICROALGAS DE BIOPELÍCULAS SUPERFICIALES DE LA ZONA ARQUEOLÓGICA DE MALINALCO, MÉXICO

CYANOBACTERIA AND MICROALGAE FROM SURFACE BIOFILM FROM MALINALCO, MEXICO, AN ARCHAEOLOGICAL SITE

Galindo-Alcázar, O.; N.B. Medina-Jaritz, G. Garduño-Solórzano, R. Olvera-Ramírez

CIANOBACTERIAS Y MICROALGAS DE BIOPELÍCULAS SUPERFICIALES DE LA ZONA ARQUEOLÓGICA DE MALINALCO, MÉXICO.

CYANOBACTERIA AND MICROALGAE FROM SURFACE BIOFILM FROM MALINALCO, MEXICO, AN ARCHAEOLOGICAL SITE.

CYANOBACTERIAS Y MICROALGAS DE BIOPELÍCULAS SUPERFICIALES DE LA ZONA ARQUEOLÓGICA DE MALINALCO, MÉXICO

CYANOBACTERIA AND MICROALGAE FROM SURFACE BIOFILM FROM MALINALCO, MEXICO, AN ARCHAEOLOGICAL SITE

Galindo-Alcázar, O.;
N.B. Medina-Jaritz,
G. Garduño-Solórzano, y
R. Olvera-Ramírez

CYANOBACTERIAS Y
MICROALGAS DE
BIOPELÍCULAS
SUPERFICIALES DE LA
ZONA ARQUEOLÓGICA DE
MALINALCO, MÉXICO

CYANOBACTERIA AND
MICROALGAE FROM
SURFACE BIOFILM FROM
MALINALCO, MEXICO, AN
ARCHAEOLOGICAL SITE

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 45: 131-146. Enero 2018

DOI:
10.18387/polibotanica.45.10

O. Galindo-Alcázar

N.B. Medina-Jaritz

*Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN,
Prol. Carpio esq. Plan de Ayala s/n, Col. Sto. Tomás,
Ciudad de México, CP 11340, México.*

G. Garduño-Solórzano

*Herbario IZTA. FES-Iztacala-UNAM. Av. de los Barrios núm. 1,
Col. Los Reyes Iztacala, Tlanepantla de Baz, Edo. de México, México.*

R. Olvera-Ramírez/rolvera_2000@yahoo.com.mx

*Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN,
Prol. Carpio esq. Plan de Ayala s/n, Col. Sto. Tomás,
Ciudad de México, CP 11340, México.*

RESUMEN: La mayoría de las construcciones del patrimonio arquitectónico construido en roca está en riesgo, no sólo por los daños causados por el paso del tiempo y la exposición a distintas condiciones ambientales, sino también por las alteraciones producidas debido a la colonización de microorganismos (bacterias heterótrofas, cianobacterias, algas y hongos) en su superficie, los cuales inducen en ella un conjunto de procesos que derivan en alteración mecánica y química, a los que se les denomina biodeterioro. El objetivo de este trabajo fue identificar la entidad taxonómica a la que pertenecen los microorganismos fototróficos cultivables que se encontraron en biopelículas superficiales en los monumentos de la zona arqueológica de Malinalco, Estado de México, México, y caracterizar parcialmente las cepas de cianobacterias. El muestreo de las biopelículas se hizo en cuatro de los seis monumentos de dicha zona, en donde se observó crecimiento microbiano se tomó una porción con una espátula y se colocó en recipientes estériles, se cultivaron en medio sólido BG-11 y se aislaron mediante micromanipulación. Se obtuvieron 23 aislados que incluyen Cianobacterias y microalgas, que fueron determinados en 18 géneros de los cuales trece taxones son cianobacterias, siete son clorofitas y tres son carofitas. Los taxones mejor representados para esta zona arqueológica son las cianobacterias filamentosas del Orden Oscillatoriales que fueron encontradas en tres de los cuatro monumentos. Además, se extrajeron y cuantificaron las ficobiliproteínas de seis cepas de cianobacterias que presentaron un color pardo intenso debido a la presencia de ficoeritrina. La cepa con un alto contenido de este pigmento fue *Pseudanabaena* sp. con 0.7 mg/mL, aislada del templo monolítico. En siete cepas de cianobacterias se demostró la presencia de exopolisacáridos (EPS) en alguna de sus formas: cápsula, vaina, mucílago disperso o polisacáridos liberados al medio, mediante la técnica de azul de toluidina y se cuantificó la cantidad de EPS producido por estas cepas.

Palabras clave: biodeterioro, monumentos arqueológicos, cianobacterias, biopelículas, ficobiliproteínas, exopolisacáridos.

ABSTRACT: Most constructions of the architectural heritage built on rock are at risk, not only for damage caused by the passage of time and exposure to different environmental conditions, but also by the alterations produced due to the colonization of microorganisms (heterotrophic bacteria, cyanobacteria, algae and fungi) on its surface, which induce in it a set of processes that lead to mechanical and chemical alteration, called biodeterioration. The objective of this work was to identify to which taxonomic entity belong the cultivable phototrophic microorganisms that were found in superficial biofilms on the monuments of the archaeological zone of Malinalco, State of Mexico, Mexico and cyanobacteria partial characterization. Biofilm sampling was done in four of the six monuments of that zone, where microbial growth was observed, a portion was taken with a spatula and placed in sterile containers, cultured in BG-11 solid medium and isolated by micromanipulation. Twenty-three isolates including cyanobacteria and microalgae through literature were identified and grouped into 18 genera, of which thirteen taxa are Cyanobacteria, seven are Chlorophytes and three belong to Charophytes. The best represented taxa for this archaeological zone are the filamentous cyanobacteria of the Order Oscillatoriales that were found in three of the four monuments. In addition, phycobiliproteins were extracted and quantified from six strains of cyanobacteria that showed an intense brown color due to the presence of phycoerythrin. The strain with a high content of this pigment was *Pseudanabaena* sp. with 0.7 mg / mL, isolated from the monolithic temple. In seven strains of cyanobacteria the presence of exopolysaccharides (EPS) was demonstrated in some of its forms: capsule, sheath (o pod), dispersed mucilage or polysaccharides released into the medium, using the technique of toluidine blue and quantified the amount of EPS produced by these strains.

Key words: biodeterioration, archaeological monuments, cyanobacteria, biofilms, phycobiliproteins, exopolysaccharides.

INTRODUCCIÓN

La mayoría de los edificios, monumentos arqueológicos y esculturas construidos en roca están en riesgo, no sólo por los daños causados por el paso del tiempo y la exposición a distintas condiciones ambientales (erosión), sino también por las alteraciones producidas por la colonización de organismos y microorganismos (De los Ríos y Ascaso, 2008; Sameño-Puerto y García-Rowe, 1995).

Una vez que la roca es extraída de la cantera, entra en contacto de forma inmediata con diferentes factores (físicos, químicos y biológicos) que comienzan a actuar sobre ella. La combinación de todos éstos hace que la roca que constituye al monumento se convierta en el hábitat de distintos microorganismos: bacterias, microalgas, hongos, cianobacterias y otros organismos como líquenes, musgos, plantas vasculares, los cuales inducen cambios en la estética del monumento y provocan un conjunto de procesos de alteración mecánica y química más profundos (De los Ríos y Ascaso, 2008; Sameño-Puerto y García-Rowe, 1995). A estos cambios causados por la actividad metabólica de los organismos, en conjunto, se les denomina "biodeterioro" (De los Ríos y Ascaso, 2008; Kumar y Kumar, 1999).

Los microorganismos pueden modificar los mecanismos de meteorización química y física de las rocas (De los Ríos y Ascaso, 2005; Warsheid y Braams, 2000). Se ha estimado que del 20 al 30% del deterioro del material pétreo es el resultado de la actividad biológica (Wakefiel y Jones, 1998). El desarrollo de ciertas especies sobre una superficie en particular es determinado por la naturaleza y propiedades de la misma, componentes minerales, pH, salinidad, contenido de humedad y textura (porosa o lisa), entre otros. También depende de ciertos factores ambientales: temperatura, humedad relativa, condiciones de luz, niveles de contaminación atmosférica, viento y lluvia (Kumar y Kumar, 1999).

Los microorganismos se consideran agentes potenciales del biodeterioro del patrimonio cultural, ya que sobre las paredes de muchos monumentos y obras de arte desarrollan biopelículas

que se definen como “comunidades estructuradas de microorganismos protegidos por una matriz de exopolisacárido (EPS)”. (Gacto y Gacto, 2011; Guiamet *et al.*, 2008).

Estas se caracterizan por la heterogeneidad de la comunidad, la diversidad génica y las interacciones entre los organismos y por los diferentes exopolisacáridos producidos (Jayakuma y Saravanane, 2010; Guiamet *et al.*, 2008; Lasa *et al.*, 2005). Los EPS (sustancias poliméricas extracelulares) son los principales responsables de la integridad estructural y funcional de las biopelículas y son considerados los componentes clave que determinan las propiedades físico-químicas de éstas. El objetivo de este trabajo fue determinar y caracterizar parcialmente cianobacterias y algas cultivables de biopelículas que crecen sobre monumentos de la zona arqueológica de Malinalco y evaluar su producción de exopolisacáridos y de ficobiliproteínas (Tandean de Marsac, 2003; De los Ríos y Ascaso, 2005); De los Ríos y Ascaso, 2008; Aguilar-Moreno, 2008).

MATERIAL Y MÉTODOS

Área de estudio. Malinalco es una población situada al suroeste del Estado de México, a 1 740 m s.n.m. cuyas coordenadas son 18° 56' 54" N y 99° 29' 41" O, en el Cerro de los Ídolos o Texcaltepec. Es un sitio arqueológico mexica-tenochca que constituye el ejemplo más interesante de arquitectura monolítica prehispánica de grandes dimensiones. La zona arqueológica está conformada por seis monumentos, entre los que destaca el Templo Monolítico tallado directamente en la roca del cerro (Aguilar-Moreno, 2008).

Toma de muestras. Se colectaron diez muestras de biopelículas con la ayuda de una espátula, la fecha de colecta fue en septiembre de 2011. En el Templo Monolítico se colectaron dos muestras, en el monumento II una muestra, en el monumento IV seis muestras y en el monumento VI una muestra; se colocaron en cajas de Petri estériles y se sellaron con papel parafilm para su transporte. En el sitio de colecta se registró la consistencia de cada biopelícula (coriácea o gelatinosa).

Aislamiento y conservación de cultivos monoalgales. Las muestras coriáceas se hidrataron con agua destilada estéril. De cada muestra colectada (de los dos tipos de biopelículas) se sembraron viales de 8 mL con medio BG-11 líquido (Rippka, 1988) y se incubaron a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ con fotoperiodo de 16:8 h, hasta que se observó crecimiento.

A partir de este material, se realizaron aislamientos sucesivos por estría cruzada en cajas de Petri con medio mineral BG-11 y agar bacteriológico al 1.3%, las cuales se incubaron a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ con fotoperiodo de 16:8 h (luz: oscuridad), hasta obtener cultivos monoalgales.

Las cepas aisladas se conservaron en medio mineral BG-11 líquido o sólido, con aireación constante (las primeras), iluminación con luz blanca ($21.4 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y fotoperiodo de 16:8 h (luz: oscuridad) a $25 \pm 1^\circ\text{C}$.

Determinación taxonómica. Se tomó una alícuota del cultivo de cada una de las cepas obtenidas, se colocó en un portaobjetos y se tiñó con azul de cresil al 1% para observar la presencia de vainas y lugol para evidenciar los gránulos de almidón del cloroplasto que caracterizan a las Chlorophyta. Se observaron en un microscopio óptico Nikon Alphaphot 2 YS2. La determinación se apoyó en los criterios de claves taxonómicas de Wehr y Sheath (2003), John *et al.* (2003) Komárek y Anagnostidis (2005) y Novelo (2011). Los datos relativos a las publicaciones específicas de cada entidad taxonómica se tomaron de Guiry y Guiry (2017).

Detección, extracción y caracterización de exopolisacáridos (EPS). La presencia de los EPS en las células de las cianobacterias, se realizó con una tinción diferencial con azul de toluidina

(Vicente-García *et al.*, 2004, Ríos-Leal, Calderón-Domínguez, Canizares-Villanueva, & Olvera-Ramírez, 2004).

A partir de los cultivos monoalgales de un mes de crecimiento, se tomaron 150 mL del medio de cultivo y se centrifugaron a 3500 rpm durante 40 minutos para separar la biomasa, al sobrenadante se le adicionaron 300 mL de acetona, y se mantuvo en refrigeración durante 48 horas. Transcurrido este tiempo se centrifugó nuevamente a 3500 rpm durante 40 minutos para obtener los EPS (Vicente-García *et al.*, 2004). Obtenidos los exopolisacáridos se pesaron y se guardaron en refrigeración hasta su análisis.

La cuantificación de carbohidratos totales se realizó mediante el método colorimétrico del fenol-ácido sulfúrico (DuBois *et al.*, 1956).

Extracción y cuantificación de ficobiliproteínas. La extracción se realizó con regulador de fosfatos 100 mM pH 7.4 y se rompieron las células con cinco ciclos de congelación y descongelación, al extracto se le agregó sulfato de estreptomina al 1% y se refrigeró a 4°C en oscuridad, posteriormente se centrifugó a 3500 rpm por 30 minutos (Gallardo-Casas *et al.*, 2010). Para calcular las concentraciones de ficobiliproteínas se leyeron las muestras a tres longitudes de onda: 650 nm, 620 nm y 565 nm y los valores se sustituyeron en las fórmulas citadas por Tandeau de Marsac y Houmard (1988).

RESULTADOS

Diversidad de Cyanoprokaryota y microalgas

Se determinaron un total de 23 aislados, con base en sus características morfológicas hasta género y/o especie y fueron agrupados en 18 géneros. En la tabla 1 se muestra en que edificios de la zona arqueológica de Malinalco fueron tomadas las muestras y que consistencia tenía la biopelícula. De los 23 taxones, diez son Cyanoprokaryota, más diez distribuidos en los phylum Chlorophyta y Charophyta.

Uno de los taxa (*Dicellula* sp.) se registra por primera vez en zonas arqueológicas de México.

CYANOPROKARIOTA

Clase Cyanophyceae
Orden Oscillatoriales
Familia Cyanothecaceae
Cyanothece (Komárek, 1976).

Cyanothece aeruginosa (Nägeli) Komárek, Archiv für Protistenkunde 118: 119-179, 1976.
Células unicelulares ovales, solitarias o en pares después de la división celular con los extremos redondeados, células verde oliva, con una vaina delgada, tamaño: 4.5-8.1 µm largo y 4.5- 6.0 µm ancho. Biopelículas coriáceas, color verde oscuro en el Templo Monolítico, ES04, Fig. 1b.

Clase Cyanophyceae
Subclase Oscillatoriothycidae
Orden Chroococcales
Familia Chroococcaceae
Chroococcaceae (Rabenhorst, 1863).
Cyanosarcina sp. Kováčik, Algological Studies/ Archiv für Hydrobiologie, Supplement, 50-53: 149-190, 1988.

Formando agregados coloniales 2-16 células ovales o poliédricas de 4.5 – 7.0 μm de diámetro, división en tres planos, sin aerotopos. En biopelículas gelatinosas verdes en Monumento VI, M601, Fig. 1.

Tabla 1. Orientación del monumento, consistencia de la biopelícula, color y organismos encontrados en las biopelículas.

Zona de muestreo Sitio Muestra		Orientación del monumento	Consistencia de biopelícula	Color de la biopelícula	Organismos presentes
Templo monolítico Tercer escalón	muestra 1	Sur	coriácea	verde oscuro	<i>Graesiella emersonii</i> <i>Geitlerinema amphibium</i> <i>Pseudanabaena</i> sp. <i>Cyanothece aeruginosa</i> <i>Zygnema</i> sp.
	muestra 2	Sur	coriácea	naranja	<i>Klebsormidium flaccidum</i> <i>Desmodesmus</i> sp. <i>Leptolyngbya cebennensis</i> <i>Chlorella vulgaris</i>
Monumento II	muestra 3	Poniente	esponjosa y gelatinosa	verde oscuro	<i>Dicellula</i> sp. <i>Mastigocladus</i> sp.
Monumento IV	muestra 4	Oeste	gelatinosa	verde	<i>Lyngbya truncicola</i> <i>Lyngbya truncicola</i>
	muestra 5	Oeste	gelatinosa	verde	<i>Leptolyngbya</i> sp. <i>Geitlerinema amphibium</i>
	muestra 6	Oeste	gelatinoso	verde	<i>Geminella minor</i> <i>Leptolyngbya cebennensis</i>
	muestra 7	Oeste	coriácea	naranja	<i>Gloeocystis vesiculosa</i> <i>Chlorokybus</i> sp. <i>Gongrosira pseudoprostrata</i>
	muestra 8	Oeste	gelatinosa	verde	<i>Trichocoleus erectiusculus</i> <i>Leptolyngbya carnea</i>
	muestra 9	Oeste	gelatinosa	verde	
Monumento VI	muestra 10	Oeste	gelatinosa	verde	<i>Cyanosarcina</i> sp.

Familia Coleofasciculaceae

Coleofasciculaceae (Komárek *et al.*, 2014).

Geitlerinema amphibium (C. Agardh ex Gomont) Anagnostidis, *Plant Systematics and Evolution*, 164: 33-46, 1989.

Tricomas rectos y delgados con células cilíndricas, más largos que anchos: 1.0 μm de ancho y 4.0 μm de largo, sin pequeñas constricciones en las paredes transversales, móviles, sin aerotopos, la célula apical redondeada. Con gránulos de cianoficina a ambos lados de la pared. Forman tapetes delgados y en ocasiones filamentos solitarios. Biopelículas coriáceas verde oscuro en Templo Monolítico, ES02 y gelatinosa verde en Monumento IV, M406, Fig. 1a.

Familia Oscillatoriaceae

Oscillatoriaceae (Engler, 1898).

Lyngbya truncicola Ghose, *Journal of the Linnean Society (Botany)*, 46: 333-346, 1924.

Filamentos rectos, con una vaina hialina, los tricomas cilíndricos con células más cortas que anchas: 15.0 μm ancho y 3.0 μm largo, aerotopos de 1-2 por célula, sin constricciones en las paredes, no presentan gránulos cercanos a las paredes, con células necridiales y hormogonios. Se le encuentra formando tapetes sobre el sustrato, en películas gelatinosas verdes, fue localizada en el Monumento IV, M402, M405, Fig. 1d.

Pseudanabaena sp. Lauterborn, *Verhandlungen des Naturhistorisch-Medizinischen Vereins zu Heidelberg ser.*, 2 13: 395-481, 1915.

Filamentos solitarios, formando agregados muy finos, sin ramificación. Células rectangulares a cuadradas, con constricciones conspicuas en las paredes, siempre más largas que anchas: 2.7 μm largo y 1.8 μm ancho, con aerotopos localizados en los extremos de las células. Biopelículas coriáceas verde oscuro, en el Templo Monolítico, ES03.

Orden Synechococcales

Familia Leptolyngbyaceae

Leptolyngbyaceae Anagnostidis & J. Komárek (Komárek *et al.*, 2014).

Leptolyngbya carnea (Kützing ex Lemmermann) Anagnostidis & Komárek, *Archiv für Hydrobiologie, Supplement*, 80: 327-472, 1988.

Filamentos delgados, enredados densamente con tricomas rosas-pardo. Tricomas con células isodiamétricas de 1.7 μm de ancho y 1.8 μm de largo, no presenta constricciones con vaina gruesa y hialina en las paredes, células con dos gránulos polares y célula apical redondea. En biopelículas gelatinosas verdes en el Monumento IV, M4F12, Fig. 1h.

Leptolyngbya cebennensis (Gomont) I. Umezaki & M. Watanabe, *Japanese Journal of Phycology*, 42: 175-219, 1994.

Filamentos más o menos de 3.5 a 4 μm de ancho. Tricomas de color pardo con células cilíndricas de 1.8 μm de ancho y 1.8 μm de largo, célula apical redondeada sin caliptra, sin gránulos en las paredes, con vaina fina y firme. Forma tapetes sobre el sustrato. En biopelículas coriáceas pardo-anaranjadas, en el Templo Monolítico, TM05 y gelatinosos verdes en Monumento IV (M4CD11) Fig. 1f.

Leptolyngbya sp. Anagnostidis & Komárek, *Archiv für Hydrobiologie, Supplement*, 80: 327-472, 1988.

Filamentos muy delgados, ondulados a veces rectos y largos con ápices redondeados, presenta una vaina hialina y delgada, células en forma de barril más anchas que largas de 1.8 μm de ancho y 1.4 μm de largo, contenido homogéneo, sin aerotopos. Forma tapetes. En biopelículas gelatinosas verdes en el Monumento IV, M404 Fig. 1e.

Trichocoleus erectiusculus (Starmach) Anagnostidis & Komárek. *Anagnostidis, Preslia, Praha*, 73: 369, 2001.

Filamentos con uno o varios tricomas, filamento mide 5.5 μm de ancho, vaina hialina, cada tricoma ligeramente constreñido con células más largas que anchas de 2.7 μm de ancho y 6.4 μm de largo, células apicales cónicas. La reproducción por hormogonios. En biopelículas gelatinosas verdes en el Monumento IV, M4CD10, Fig. 1g.

Orden Nostocales

Familia Hapalosiphonaceae

Hapalosiphonaceae (Elenkin, 1916).

Mastigocladus sp. Cohn ex Kirchner in Engler & Prantl, *Die natürlichen Pflanzen familien*, Leipzig: Wilhelm Engelmann, pp. 45-92. 1898.

Tricomas uniseriados de forma irregular en espiral con una vaina delgada con ramificaciones verdaderas en forma de T, células de diferentes formas en el mismo tricoma (cortas, alargadas o en forma cilíndrica), tamaño de la célula 20 μm de largo y 7.5 μm de ancho, heterocito intercalar solitario de 10 μm de ancho y 12.5 μm de largo. En biopelículas gelatinosas, color verde oscuro en el Monumento II, M203 Fig. 1c.

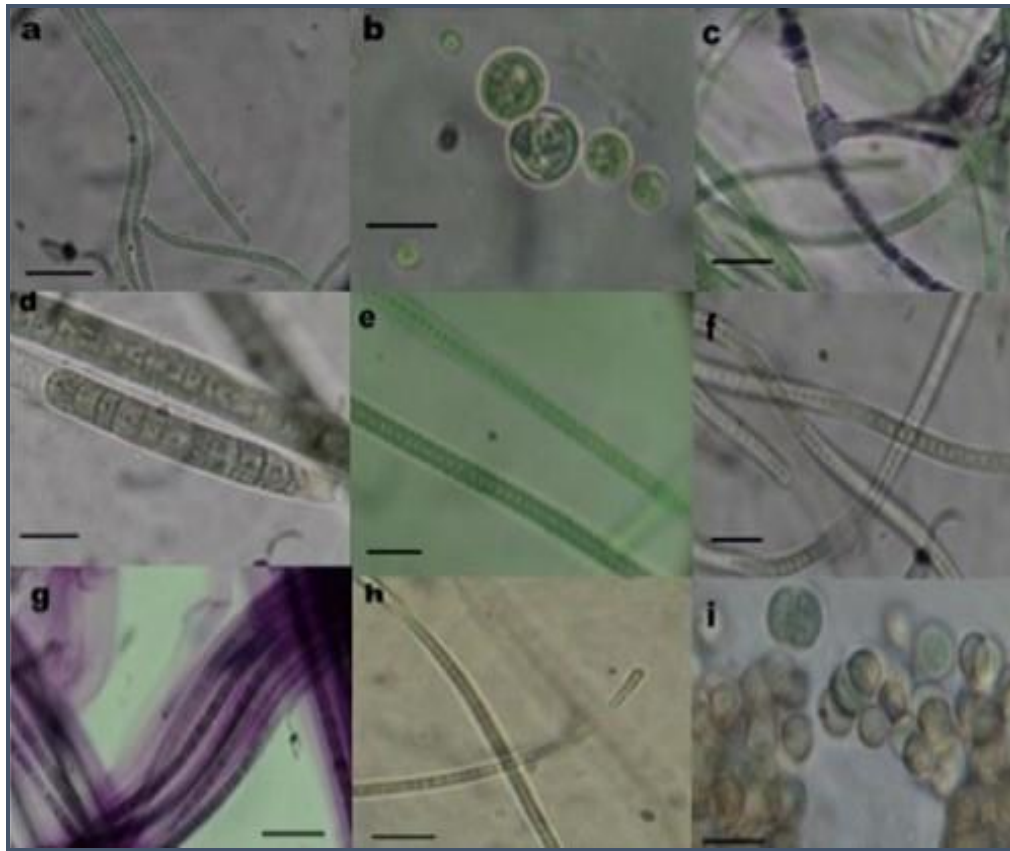


Fig. 1 Cianobacterias aisladas de biopelículas de la zona arqueológica de Malinalco. **a:** *Geitlerinema amphibium*; **b:** *Cyanothece aeruginosa*; **c:** *Mastigocladus* sp; **d:** *Lyngbya truncicola*; **e:** *Leptolyngbya* sp; **f:** *Leptolyngbya cebennensis*; **g:** *Trichocoleus erectiusculus*; **h:** *Leptolyngbya carnea*; **i:** *Cyanosarcina* sp. Barra = 10 μ m.

Phylum Chlorophyta

Clase Chlorophyceae

Orden Chlamydomonadales

Familia Chlamydomonadales *incertae sedis*

Graesiella emersonii (Shihara & R.W.Krauss) H. Nozaki, M. Katagiri, M. Nakagawa, K. Aizawa & M. M. Watanabe, *Microbial Culture Collection*, 11 (1): 11-18, 1995.

Células de 3-17 μ m de diámetro, esféricas a subsféricas, solitarias o agrupadas, cloroplasto inicialmente en forma de banda, más tarde en forma de cinta con fisuras, cubriendo la mayor parte de la célula. Pirenoide rodeado por 2-4 granos de almidón. En biopelículas coriáceas, color verde oscuro en el Templo Monolítico, ES01, Fig. 2g.

Clase Chlorophyceae

Orden Sphaeropleales

Familia Scenedesmaceae

Scenedesmaceae (Oltmanns, 1904).

Desmodesmus sp. (R. Chodat) S.S.An, T.Friedl & E.Hegewald, *Plant Biology*, 1: 418-428, 1999.

Células elipsoidales u ovals de 4 μm de ancho y 7 μm de largo, con ejes longitudinales paralelos, unicelulares o formando cenobios de 2, 4, 8, 16 células, espinas cortas en las células terminales, cloroplasto parietal con un pirenoide. En biopelículas coriáceas anaranjadas en el Templo Monolítico, TM03.

Clase Chlorophyceae

Orden Sphaeropleales

Familia Radiococcaceae

Radiococcaceae Fott ex P. C. Silva (Silva P. C., 1980).

Gloeocystis vesiculosa Nageli, Schweizerischen Gesellschaft für die Gesamten Naturwissenschaften, 1849.

Colonias esféricas con 2-8 células embebidas en un mucílago. Células elipsoidales, ovoides o más o menos esféricas 4-17 μm , cloroplasto en forma de copa con un pirenoide, reproducción asexual por 2, 4 u 8 autoesporas en cada esporangio. En biopelículas coriáceas anaranjadas en Monumento IV, M4D9, Fig 2c.

Clase Chlorophyceae

Orden Chaetophorales

Familia Chaetophoraceae

Chaetophoraceae (Greville, 1824).

Gongrosira pseudoprostrata L. R. Johnson. Johnson & John, *Br. Phycol. J.*, 27: 153-163, 1992.

Filamento ligeramente alargado, erguido con ramas muy cortas de 4.0 μm de ancho y 8.0 μm de largo, células cilíndricas, cloroplasto con un pirenoide. En biopelículas gelatinosas, color verde en el Monumento II, M202, Fig. 2e.

Clase Trebouxiophyceae

Orden Chlorellales

Familia Chlorellaceae

Chlorellaceae (Brunnthaler, 1913).

Chlorella vulgaris Beyerinck, *Botanische Zeitung*, 47: 725-739, 741-754, 757-768, 781-785, 1890.

Células de 1.5- 10 μm de diámetro, esféricas o subesféricas. Cloroplasto en forma de banda o copa, pirenoide esférico o ampliamente elipsoidal rodeado de 2-4 granos de almidón. En biopelículas coriáceas anaranjadas en el Templo Monolítico, TM06, Fig. 2f.

Clase Trebouxiophyceae

Orden Chlorellales

Familia Chlorellaceae

Chlorellaceae (Brunnthaler, 1913).

Geminella minor (Nägeli) Heering, Süßwasserflora Deutschlands, Österreich und der Schweiz. (Pascher, A. Ed.), pp. 1-250. Jena, 1914.

Filamento multicelular, con una sola hilera de células no ramificado, con vaina mucilaginosas de 2.0 μm de ancho, células cilíndricas de 2.0 μm de ancho y 2 veces más largas que anchas, el cloroplasto en forma de lámina, con un pirenoide. En biopelículas gelatinosas verdes en el Monumento IV, M408, Fig. 2a.

Dicellula sp. Svirenko. Koršikov, Arch. Protistenk. 55: 439-503, 1926.

Cenobios de 2 células, ovoides de 5.4 μm de diámetro envueltas en un mucílago muy delgado, espinas 4.5 μm de largo curvas y muy delgadas dispersas en la pared celular, cloroplasto parietal con un pirenoide. En biopelículas gelatinosas, color verde oscuro en el Monumento II, M202, Fig. 2b.

Phylum Charophyta

Clase Chlorokybophyceae

Orden Chlorokybales

Familia Chlorokybaceae

Chlorokybaceae (Rogers *et al.*, 1980).

Chlorokybus sp. Geitler, *Flora*, 136: 1-29, 1942.

Colonias cúbicas de 100 ó más células esféricas, ovoides o elipsoidales, unidas por una matriz mucilaginoso, por lo general, más largas que anchas 9.2 μm de largo y 7.3 μm de ancho, cloroplasto con dos pirenoides uno central con gránulos de almidón, el otro desnudo. En biopelículas coriáceas de color anaranjado en el Monumento IV, M4D10, Fig. 2d.

Clase Klebsormidiophyceae

Orden Klebsormidiales

Familia Klebsormidiaceae

Klebsormidiaceae (Stewart y Mattox, 1975).

Klebsormidium flaccidum (Kützing) P. C. Silva, K. R. Mattox & W. H. Blackwell, *Taxon*, 21: 639-645, 1972.

Filamento uniseriado más largo que ancho, sin ramificaciones, células cilíndricas o en forma de barril de 5-8 μm de ancho y 8-16 μm de largo, pared delgada y lisa, cloroplasto parietal con un pirenoide. No hay diferenciación polar. En biopelículas coriáceas anaranjadas en el Templo Monolítico, TM02, Fig. 2i.

Clase Zygnematophyceae

Orden Zygnematales

Familia Zygnemataceae

Zygnemataceae (Kützing, 1843).

Zygnema sp. Agardh, *Synopsis algarum Scandinaviae*, adjecta dispositione universali algarum. pp. [i]-xl, [1]-135. Lundae, ex officina Berlingiana, 1817.

Filamentos con células cilíndricas cortas o largas, de 6.4 μm de ancho y 18.4 μm de largo, células con septos de paredes planas, con dos cloroplastos axiales, en forma de estrella y un pirenoide central. En biopelículas coriáceas color verde oscuro en el Templo Monolítico, ES05 Fig. 2h.

Detección, extracción y caracterización de polisacáridos

En siete cultivos monoalgales se observó la presencia de exopolisacáridos en alguna de sus formas (tabla 2): cápsula, vaina, mucílago disperso o polisacárido liberado al medio. En la cepa *Trichocoleus* sp. se encontró una cápsula muy bien definida, pero no se pudo observar si libera exopolisacárido al medio ya que únicamente fue posible cultivarla en medio sólido. Las concentraciones de carbohidratos totales en el EPS liberado en mg/L obtenidas mediante el método colorimétrico del fenol-sulfúrico se presentan en la tabla 2, las de mayor cantidad obtenida fue para *Lyngbya truncicola* (M402) con 59 mg/L en contraste con *Leptolyngbya* sp. (M404) con la menor cantidad registrada (7.3 mg/l).

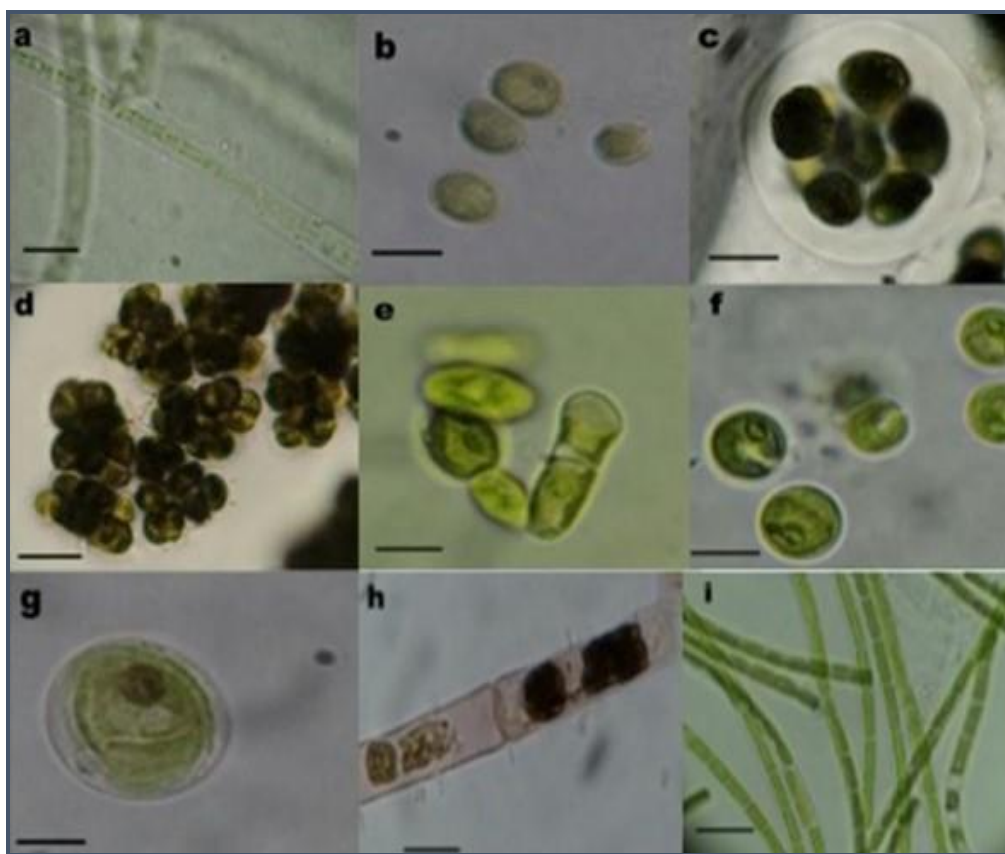


Fig. 2. Clorofitas aisladas de biopelículas superficiales de la zona arqueológica de Malinalco. a: *Geminella minor*; b: *Dicellula* sp.; c: *Gloeocystis vesiculosa* d: *Chlorokybus* sp; e: *Gongrosira pseudoprostrata*; f: *Chlorella vulgaris*; g: *Graesiella emersonii*; h: *Zygnema* sp.; i: *Klebsormidium flaccidum*. Barra = 10 µm.

Tabla 2. Tipo de exopolisacáridos observados mediante la tinción con azul de toluidina y concentración de carbohidratos totales.

Cepa	Tipo de exopolisacárido	Peso húmedo de exopolisacárido liberado (RPS) (g)	Concentración de carbohidratos totales presentes en el exopolisacárido liberado (mg/L)
<i>Lyngbya truncicola</i> (M402)	vaina y polisacáridos liberados (RPS)	0.6	59.0
<i>Leptolyngbya</i> sp. (M404)	mucílago disperso y polisacáridos liberados (RPS)	0.44	7.3
<i>Trichocoleus erectiusculus</i> (M4CD10)	cápsula	No se determinó	No se determinó
<i>Lyngbya truncicola</i> (M405)	vaina y polisacáridos liberados (RPS)	1.3	17.0
<i>Geitlerimena amphibium</i> (ES02)	mucílago disperso y polisacáridos liberados (RPS)	1.27	38.0
<i>Geitlerimena amphibium</i> (M406)	mucílago disperso y polisacáridos liberados (RPS)	0.55	56.0

Extracción y cuantificación de ficobiliproteínas

En las cepas de cianobacterias aisladas de color pardo se determinaron las concentraciones de ficobiliproteínas presentes en las condiciones en las que fueron cultivadas (tabla 3); las cepas con mayor concentración de ficoeritrina fueron *Pseudanabaena* sp. (0.7 mg/mL) y *Leptolyngbya cebennensis* (0.06 mg/mL).

Tabla 3. Proporción de ficobiliproteínas en las cepas de cianobacterias filamentosas aisladas.

Cepa	Ficocianina mg/mL	Aloficocianina mg/mL	Ficoeritrina mg/mL
<i>Leptolyngbya cebennensis</i> (M4CD11)	0.02	0.02	0.02
<i>Leptolyngbya cebennensis</i> (TM05)	0.04	0.04	0.06
<i>Lyngbya truncicola</i> (M402)	0.04	0.05	0.03
<i>Lyngbya truncicola</i> (M405)	0.03	0.05	0.05
<i>Leptolyngbya carnea</i> (M4F12)	0.02	0.02	0.03
<i>Pseudanabaena</i> sp (ES03)	0.02	0.05	0.7

DISCUSIÓN

De los 23 aislados determinados, las cianobacterias son el grupo más abundante con 13 (57%), siete pertenecen a las clorofitas (30%) y los tres restantes pertenecen a las carofitas (13%). Las cianobacterias filamentosas fueron las mejor representadas.

Los porcentajes de cianobacterias y clorofitas que se informan en este trabajo concuerdan con porcentajes reportados por Smith y Olson (2007) para algas y cianobacterias creciendo en las paredes de una cueva en Kentucky, E.U.A, entre los que encuentran géneros como *Leptolyngbya*, *Cyanothece*, *Chlorella* y *Lyngbya*.

Por otro lado, Novelo y Ramírez (2006), en un trabajo realizado en monumentos mayas de roca caliza en Palenque, encontraron cinco formas básicas de crecimiento (mucilaginoso, costrosos, irregulares, lisos y polvoriento), cada uno compuesto por diferentes especies y varios géneros de clorofitas; mientras que en este trabajo solamente se encontraron dos formas de crecimiento: mucilaginosos y costrosos.

Aunque la zona arqueológica de Malinalco está construida con toba volcánica, de las biopelículas encontradas se aislaron especies que coinciden con las halladas en biopelículas que se desarrollan en materiales diferentes: como las biopelículas verdes de las paredes graníticas de monumentos del noreste de España (Noguerol-Seoane y Rifón-Lastra, 1996 y 2000), en donde se encontraron *Klebsormidium flaccidum* y *Chlorella vulgaris*; en monumentos y obras de arte construidos con diferentes materiales en Italia (Tomaselli *et al.*, 2000), donde fueron halladas *Leptolyngbya*, *Gleiterinema* y *Chlorella*; en monumentos en Serbia (Ljaljevic-Grbic *et al.*, 2010); y en monumentos latinoamericanos de material calcáreo (Castañeda *et al.*, 2009; Gaylarde & Gaylarde, 2000; Novelo *et al.*, 2011).

En este trabajo se encontró que la mayoría de los aislados (once) son cianobacterias filamentosas, lo que coincide con los resultados de un estudio realizado en las superficies decoloradas de edificios de cinco países latinoamericanos, Argentina, Bolivia, Brasil, México y Perú (Gaylarde y Gaylarde, 2000); en los que se encontró que el grupo de cianobacterias más representado fue el de Oscillatoriales, lo que también coincide con lo obtenido en el presente estudio, ya que la mayoría de las cepas identificadas pertenecen, o pertenecieron a ese Orden.

Por otra parte, en dos de los monumentos de este estudio fueron encontrados representantes de *Leptolyngbya*, principalmente en el monumento IV, el cual presentaba un escurrimiento de agua muy importante. Belleza *et al.* (2003) trabajaron con dos cepas de este género aisladas de galerías subterráneas romanas y mediante una tinción con azul de alciano pusieron de manifiesto grupos carboxilos en los exopolisacáridos que constituyen a la vaina de dos capas diferentes, en el presente trabajo el colorante que se utilizó para evidenciar la presencia de exopolisacáridos fue el azul de toluidina, que actúa de manera similar que el colorante azul de alciano, poniendo de manifiesto a los grupos carboxilos (-COOH) y fosfatos (PO_4^{-3}) mediante una coloración violeta (Vicente-García *et al.*, 2004); por lo tanto, todas las cepas que presentaron algún tipo de exopolisacárido presentan carboxilos y fosfatos en su estructura.

La capacidad de producir exopolisacáridos se encuentra ampliamente distribuida entre las especies microbianas, especialmente entre los procariotas (Sutherland, 2001). Como ya se ha mencionado, los exopolisacáridos producidos por los microorganismos desempeñan múltiples funciones que generalmente se traducen en beneficio para los mismos, la función más importante es la adhesión a diversas superficies (Allison y Sutherland, 1987) donde colonizan y forman biopelículas (*biofilms*), que constituyen un entorno dinámico en el que los microorganismos parecen alcanzar un estado de homeostasis y una óptima organización para hacer uso de todos los nutrientes disponibles (Sutherland, 2001), hasta que la biopelícula se rompe y estos organismos se dispersan y colonizan otras partes del monumento. La formación de biopelículas sobre las superficies pétreas que constituyen al patrimonio arquitectónico es uno de los mayores problemas a los que estos están expuestos, ya que las biopelículas confieren a los microorganismos una gran resistencia y son muy difíciles de eliminar con métodos químicos como biocidas, o remover las biopelículas mecánicamente, esto último afectaría mucho más a los monumentos, ya que tendría que rasparse la piedra, lo que conlleva más daño a las estructuras. En este trabajo, la cantidad de exopolisacáridos obtenidos con cultivos de un mes de crecimiento no superó el gramo de peso húmedo en la mayoría de las cepas en las que se observaron EPS, sin embargo, *Lyngbya truncicola* y *Geitlerinema amphibium* produjeron más de un gramo (1.3 y 1.27 g/L respectivamente), lo que permite suponer que estas dos cepas son las principales responsables de la formación de la biopelícula en los monumentos de Malinalco. Con respecto a la presencia de ficoeritrina en gran parte de los aislados de cianobacterias, es importante señalar que los que pertenecen a los géneros *Lyngbya*, *Leptolyngbya* y *Pseudanabaena* presentaron una mayor proporción de ficoeritrina (tabla 3); otros autores (Belleza *et al.*, 2003) observaron mediante microscopía óptica células pigmentadas de color rojo de *Leptolyngbya* debido al alto contenido de ficoeritrina, este dato concuerda con los obtenidos en este trabajo en donde se encontraron cepas de la misma especie con un alto contenido de ficoeritrina. La presencia de pigmentos accesorios como la ficoeritrina en las cianobacterias es importante, ya que les confiere una ventaja adaptativa para que puedan vivir en condiciones limitadas de luz, por lo tanto, es posible encontrarlas colonizando diversas partes del monumento, incluso en lugares en donde la penetración de luz es mínima como grietas y lugares con mucha sombra (Tandeau de Marsac y Houmard, 1988) o en diferentes zonas de la biopelícula (Novelo *et al.*, 2011).

CONCLUSIONES

La mayor parte de los aislados son cianobacterias filamentosas de los órdenes Oscillatoriales y Synechococcales. Las microalgas mejor representadas fueron del phylum Chlorophyta. Se encontraron cianobacterias con un alto contenido de ficoeritrina, pertenecientes a los géneros *Lyngbya*, *Leptolyngbya* y *Pseudanabaena*; así como cianobacterias con un alto contenido de exopolisacáridos: *Lyngbya truncicola* y *Geitlerinema amphibium*. Por primera ocasión se reporta, para una zona arqueológica mexicana, un aislado perteneciente al género *Dicellula*.

AGRADECIMIENTOS

O. Galindo-Alcázar agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por la beca para realizar estudios de maestría. R. Olvera-Ramírez y N. B. Medina Jaritz agradecen al Instituto Politécnico Nacional (IPN) y en particular a la Secretaría de Investigación y Posgrado (SIP), al Sistema de Estímulo al Desempeño Docente (EDD) y a la Comisión de Operación y Fomento de Actividades Académicas del IPN (COFAA), por los apoyos recibidos para realizar este estudio.

LITERATURA CITADA

- Agarh, C. A. (1817). *Synopsis Algarum Scandinaviae, adjecta dispositione universali algarum*. 135 pp. Lund: Ex officina Berlingiana, Lundae.
- Aguilar-Moreno, M. (2008). *Aztec Architecture Part 2. From Foundation for the advancement of Mesoamerican Studies*.
http://www.famsi.org/research/aguilar/Aztec_Architecture_Part2.pdf
- Allison, D. G., & Sutherland W. I. (1987). The role of exopolysaccharides in adhesion of freshwater bacteria. *Journal of Genetic Microbiology*, 133, 1319-1327.
- Anagnostidis, K. (1988). Modern approach to the classification system of cyanophytes. 3. Oscillatoriales. *Archiv für Hydrobiologie, Supplement*, 80, 327-472.
- _____ (1989). *Gleiterinema*, a new genus of oscillatoriale cyanophytes. *Plant Systematics and Evolution*, 164, 33-46.
- Ann, S. S. (1999). Phylogenetic relationships of *Scenedesmus* and *Scenedesmus*-like coccoid green-algae as inferred from IT-2-rDNA sequence comparisons. *Plant Biology*, 1, 418-428.
- Belleza, S., Paradossi, G., De Philips, R., & Albertano, P. (2003). *Leptolyngbya* strains from Roman hypogea: cytochemical and physico-chemical characterization of exopolysaccharides. *Journal of Applied Phycology*, 15, 193-200.
- Beyerinck, M. W. (1890). Culturversuche mit Zoochlorellen. Lichenengonidien und Anderen niederen Algen. *Botanische Zeitung*, 47, 725-739, 741-754, 757-768, 781-785.
- Brunthaler, J. (1913). Die systematische Gliederung der Protococcales (Chlorophyceae). *Verh. K. K. Zool.-Bot. Ges. Wien*, 63, 76-91.
- Castañeda, J. F., Nakamura, S., & Ortega-Morales, O. (2009). *Aportes al estudio del biodeterioro en la Acrópolis del Norte, Tikal*. In J. P. Laporte, B. Arroyo y H. Mejía (Eds.), XXII Simposio de Investigaciones Arqueológicas en Guatemala (pp. 357-364). Guatemala: Museo Nacional de Arqueología y Etnología.
- De los Ríos, A., & Ascaso, C. (2005). Contributions of in situ microscopy to the current understanding of stone biodeterioration. *International Microbiology*, 8, 181-188.
- _____ (2008). *Diagnóstico de fenómenos de biodeterioro en materiales pétreos del patrimonio*. III Jornadas Técnicas. Durabilidad y conservación de materiales tradicionales naturales del patrimonio arquitectónico (pp. 13-22). INTROMAC.
- DuBois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., y Smith, F. (1956). Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Analytical Chemistry*, 28, 350-356.
- Elenkin, A. A. (1916). O znachenii nastoyashchago i lozhnago vetvleniya u sinezelenykh vodoroslej v sem. Stigonemataceae. *Izvestiia Imperatorskago Sankt-Peterburgskago botanicheskago sada*, 16, 272-280.
- Engler, H. G. (1898). *Syllabus der Pflanzenfamilien* (2 ed.). (G. Borntraeger, Ed.) Berlín: Verlag.
- Gallardo-Casas, C., Cano-Europa, E., López G, G., Blas V, V., Olvera-Ramírez, R., & Franco C. M. (2010). Las ficobiliproteínas de *Spirulina maxima* y *Pseudanabaena tenuis* protegen contra el daño hepático y el estrés oxidativo ocasionado por Hg²⁺. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 41 (2), 30-35.

- Gacto, M., & Gacto, M. (2011). Los microorganismos y el arte. *Anales de Biología*, 33, 107-115.
- Gaylarde, P. M., & Gaylarde, C. C. (2000). Algae and cyanobacteria on painted buildings in Latin America. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 46, 93-97.
- Ghose, S. L. (1924). A systematic and ecological account of a collection of blue-green algae from Lahore and Simla. *Journal of the Linnean Society (Botany)*, 46, 333-346.
- Greville, R. K. (1824). *Flora edinensis: or a description of plants growing near Edinburgh, arranged according to the Linnean System*. Edinburgo. Blackwood & Cadwell.
- Guiamet, P., Battistoni, P., & Gómez de Saravia, S. (2008). Biodeterioro, ¿dónde estás? *Desde la Patagonia difundiendo saberes*, 5, 34-38.
- Guiry, M. D., & Guiry, G. M. (2014). *AlgaeBase*. (National University of Ireland, Galway). <http://www.algaebase.org>
- Heering, W. (1914). *Chlorophyceae III. Ulothrichales, Microsporales, Oedogoniales*. En A. Pascher (Ed.), *Süßwasserflora Deutschlands, Österreich und der Schweiz* (pp. 1-250). Jena: Gustav Fischer.
- Jayakuma, S., & Saravanane, R. (2010). Biodeterioration of Coastal Concrete Structures by Marine Green Algae. *International Journal of Civil Engineering*, 8, 352-361.
- John, D. M., Whitton, A., & Brook, A. (2003). *The freshwater algal flora of the British Isles. An identification guide to freshwater and terrestrial algae*. Londres, Reino Unido: Cambridge University Press.
- Johnson, L. R. (1992). Taxonomic Observations on Some Uncommon and New *Gongrosira* Species (Chaetophorales *sensu stricto*, Division Chlorophyta). *British phycological Journal*, 27, 153-163.
- Komárek, J. K. (2014). Taxonomic classification of cyanoprokaryotes (cyanobacterial genera) 2014, using a polyphasic approach. *Preslia*, 86, 295-335.
- Komárek, J. (1976). Taxonomic review of the general *Synechocystis* Sauv. 1982, *Synechococcus* Näg. 1849, and *Cyanothece* gen nov (Cyanophyceae). *Archiv für Protistenkunde*, 118, 119-179.
- Korsikov, O. A. (1926). On some new organisms from the groups Volvocales and Protococcales, and the genetic relationship of these groups. *Archiv für Protistenkunde*, 55, 439-503.
- Kováčik, L. (1988). Cell division in simple coccal cyanophytes. *Algological Studies/Archiv für Hydrobiologie, Supplement*, 50-53, 149-190.
- Kumar, R., & Kumar, A. V. (1999). *Biodeterioration of Stone in Tropical Environments: an Overview*. Santa Monica, California, Estados Unidos de Norteamérica: The Getty Conservation Institute.
- Lasa, I., Del Pozo, J. L., Penadés, J. R., & Leiva, J. (2005). Biofilms bacterianos e infección. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 28, 163-175.
- Kürtzing, F. T. (1843). *Phycologia generalis oder Anatomie, Physiologie und Systemkunde der Tange. Mit 80 farbig gedruckten Tafeln, gezeichnet und gravirt vom verfasser (Vol. 2)*. (F. A. Brockhaus, Ed.) Leipzig.
- Lauterborn, R. (1915). Die sapropelische Lebewelt. Ein Beitrag zur Biologie des Faulschlammes natürlicher Gewässer. *Verhandlungen des Naturhistorisch-Medizinischen Vereins zu Heidelberg ser. 2*, 13, 395-481.
- Ljaljevic-Grbic, M., Vukojevic, J., Simic, G. S., Krizmanic, J., & Stupar, M. (2010). Biofilm forming cyanobacteria, algae and fungi on two historic monuments in Belgrade, Serbia. *Archives of Biological Sciences*, 62, 625-631.
- Noguerol-Seoane, A., & Rifón-Lastra, A. (1996). Aportación al conocimiento de la ficoflora epilítica en monumentos del noroeste de España. Estudio del monasterio de Samos (Lugo). *Anales de Jardín Botánico de Madrid*, 54, 37-42.
- _____ (2000). Estudio de la ficoflora de las paredes graníticas exteriores de la iglesia romana de ta. María de Fisterra (A Couña, N. O. España). *Portugaliae Acta Biologica*, 19, 92-96.

Recibido:

5/septiembre/2016

Aceptado:

28/septiembre/2017

- Novelo, E. (2011). *Cyanoprokaryota. Fascículo 90 Serie: Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán*. In: Medina, R. (Ed.) (pp. 96). México, D. F. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Novelo, E., & Ramírez, M. (2006). Algae and cyanobacterial diversity and distribution patterns on Mayan buildings in Palenque, Chiapas. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 48, 188-195.
- Novelo, E., Tavera, R., & Vidal, G. (2011). Las algas en los sitios arqueológicos mayas, biología y conservación del patrimonio. *Ciencia*, 104, 26-35.
- Nozaki, H. K. (1995). Taxonomic re-examination of the two strains labeled "*Chlorella*" in the Microbial Culture Collection of the National Institute for Environmental Studies (NIES-Collection). *Microbial Culture Collection*, 11 (1), 11-18.
- Oltmanns, F. (1904). *Morphologie und Biologie der Algen*. (V. v. Fischer, Ed.) Jena: Erster Band. Spezieller Teil.
- Rabenhorst, L. (1863). *Kryptogamen-Flora von Sachsen, Ober-Lausitz, Thüringen und Nord-Böhmen Abteilung I*. (E. Kummer, Ed.) Leipzig: Verlag.
- Rippka, R. (1988). Isolation and purification of cyanobacteria. *Methods in Enzymology*, 167, 3-27.
- Rogers, C. E. (1980). The zoospore of *Chlorokybus atmophyticus*, a charophyte with sarcinoid growth habit. *American Journal of Botany*, 67 (5), 774-783.
- Sameño-Puerto, M., & García-Rowe, J. (1995). Biodeterioro. Alteración biológica de monumentos y obras de arte. *Boletín del Instituto Andaluz del Patrimonio Histórico*, 10, 26-27.
- Silva, P. C. (1980). Names of classes and families of living algae: with special reference to their use in the Index Nominum Genericorum (Plantarum). *Regnum Vegetabile*, 103, 1-156.
- _____ (1972). The generic name Hormidium as applied to green algae. *Taxon*, 21, 639-645.
- Smith, T., & Olson, R. (2007). A Taxonomic Survey of Lamp Flora (Algae and Cyanobacteria) in Electrically Lit Passages within Mammoth Cave National Park, Kentucky. *International Journal of Speleology*, 36, 105-114.
- Stewart, K. D. (1975). Comparative cytology, evolution and classification of the green algae with some consideration of the origin of other organisms with chlorophylls a and b. *The Botanical Review*, 41, 104-135.
- Sutherland, I. W. (2001). Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework. *Microbiology*, 147, 3-9.
- _____ (2001). Microbial polysaccharide from Gram-negative bacteria. *International Dairy Journal*, 11, 663-674.
- Tandeau de Marsac, N. (2003). Phycobiliproteins and phycobilisomes: the early observations. *Photosynthesis Research*, 76, 197-205.
- Tandeau de Marsac, N., & Houmard, J. (1988). Complementary Chromatic Adaptation: Physiological Conditions and Action Spectra. *Methods in Enzymology*, 167, 318-328.
- Tomaselli, L., Lamenti, G., Bosco, M., & Tiano, P. (2000). Biodiversity of photosynthetic microorganisms dwelling on stone monuments. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 46, 251-258.
- Umezaki, I. W. (1994). Enumeration of the Cyanophyta (blue-green algae) of Japan I. Chroococcales and Oscillatoriales. *Japanese Journal of Phycology*, 42, 175-219.
- Vicente-García, V., Rios-Leal, E., Calderon-Dominguez, G., Canizares-Villanueva, R. O., & Olvera-Ramirez, R. (2004). Detection, isolation, and characterization of exopolysaccharide produced by a strain of *Phormidium* 94a isolated from an arid zone of Mexico. *Biotechnology and Bioengineering*, 85, 306-310.
- Wakefiel, D., & Jones, S. M. (1998). An introduction of stone colonizing micro-organisms and biodeterioration of building stone. *Quarterly Journal of Engineering Geology*, 31, 301-313.
- Warsheid, T., & Braams, J. (2000). Biodeterioration of stone: a review. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 46, 343-368.
- Wehr, J. D., & Sheath, R. G. (2003). *Freshwater Algae of North America: Ecology and Classification*. San Diego, California, Estados Unidos de Norteamérica. Academic Press.