

Técnicas especiales de recolección  
y preparación de ejemplares  
de grupos selectos de plantas:

Algas

*Jorge González-González*  
*Eberto Novelo-Maldonado*

separata de

**Manual de herbario**

Antonio Lot y Fernando Chiang, *compiladores*



CONSEJO NACIONAL DE  
LA FLORA DE MEXICO, A.C.

México, 1986

# Algas

*Jorge González-González<sup>1</sup>*  
*Eberto Novelo-Maldonado<sup>1</sup>*

El término alga se aplica a un número variable de divisiones, de cuatro a más de quince, según los autores. Las reconocidas por la mayoría de los ficólogos son Cyanophyta, Rhodophyta, Cryptophyta, Chlorophyta, Charophyta, Euglenophyta, Dinophyta, Xanthophyta, Chrysophyta, Phaeophyta. La taxonomía de estas algas se basa principalmente en caracteres morfológicos de talos maduros y de estructuras de reproducción, que son accesibles con las técnicas de microscopía óptica y con material preservado. Las floras ficológicas realizadas en el mundo se han hecho gracias a estos dos tipos de caracteres. Sin embargo, en todas las algas hay problemas de delimitación taxonómica; la utilización de cultivos puros en condiciones controladas, de microscopía electrónica, de fisiología comparada y de otras técnicas modernas y sofisticadas han ido modificando la taxonomía de todos los grupos. Las recientes modificaciones tienen dos consecuencias: la primera es que los taxa superiores (división, clase, orden) son reubicados y redefinidos continuamente lo que dificulta el manejo de las características subordinadas y de las delimitaciones genéricas y aun específicas. La segunda es de carácter práctico, pues la utilización rutinaria de estas técnicas dificulta la elaboración de floras ficológicas en países con recursos limitados para la investigación.

Como las algas no son un grupo natural, sus diferencias se reflejan en los métodos para su estudio, cada taxon tiene metodologías propias de recolección, preservación y estudio posterior. Más aún, la diversidad de ambientes en los que proliferan modifica también las metodologías de colecta y estudio. Las algas no sólo están presentes en todos los ambientes acuáticos. También se encuentran en ambientes edáficos y subaéreos.

## Recolección

Las algas fijadas a un sustrato pueden recolectarse directamente con las uñas o utilizando una espátula flexible y delgada (las de yesero son excelentes para este efecto). Algunas natas, películas o espumas algales pueden tomarse con una red para pecera o directamente con la boca de un recipiente. Las algas que viven entremezcladas con macrófitas se pueden obtener con un exprimido de estas últimas dirigiendo con el pulgar el líquido al recipiente. Las algas planctónicas se recolectan con redes de plancton o colocando trampas con esponjas, telas, etc. Todas las técnicas pueden complicarse según el tipo de ambiente o los grupos taxonómicos que se quieren estudiar, pero de cualquier forma siempre se debe evitar la mezcla o contaminación entre las muestras.

<sup>1</sup> Laboratorio de Ficología, Facultad de Ciencias, UNAM, 04510 México, D.F.

En términos generales, en las recolecciones de algas se pretende reconocer los crecimientos visibles, formados de individuos o grupos de individuos de una o varias especies y, en tal caso, se refiere uno a recolecciones directas. Si se trata de algas microscópicas formando crecimientos intangibles, se utilizan diferentes tipos de artificios (redes, esponjas, etc.) para concentrar las muestras. También se pueden recolectar objetos, organismos, suelos, etc., donde se supone la existencia de algas; en la gran mayoría de los casos un examen cuidadoso de estas recolecciones revela una flora muy rica.

Las recolecciones pueden ser: a) puntuales (sólo crecimientos visibles, selectos, vigorosos, etc.); b) masivas (en una área determinada, en comunidades complejas, etc.), o c) selectivas (para trabajos taxonómicos particulares, o en ambientes definidos).

Si las recolecciones son selectivas y se restringen a un grupo (división, orden, familia, etc.) es necesario tener una idea previa de las características que se requieren para la determinación posterior; por ejemplo, estructuras reproductoras, formas de fijación al sustrato, conservador idóneo para la observación de estructuras celulares como flagelos, plastos, núcleo, necesidad de cultivos, etc.

En el momento de la recolección los datos a tomar en el campo y más útiles para la determinación son:

- Características ambientales generales y particulares del crecimiento (mientras más proliferas sean mejor, en cuanto a condiciones del cuerpo de agua o del lugar donde se encuentre el crecimiento algal)
- Tipo de muestreo (muestra directa, red de placton, raspado, etc.)
- Forma del crecimiento algal (flóculos filamentosos, natas, espumas, costras, colonias globosas o amorfas, películas, matas, formas erectas o prostradas, etc.)
- Relación con el sustrato (epífitas fuerte o flojamente adheridas, flotadoras, etc.)
- Crecimientos algales relacionados (mezclados, cercanos, delimitación precisa entre ellos, etc.)
- Coloración (dentro y fuera del agua)
- Textura (rasposa, suave, gelatinosa, etc.)
- Consistencia (dura, frágil, suave, etc.).

Quizá los datos más importantes son los relativos a la ubicación de la localidad o el cuerpo de agua en estudio, el carácter temporal de muchos de ellos obliga a ser sumamente cuidadoso con este punto. Otros datos a considerar son la temperatura, el pH, el tipo y grado de contaminación, macrofitas circundantes, etc.

Como práctica general, es recomendable triplicar las recolecciones, una para preservación en líquido o como material herborizado, otra para observación inmediata en vivo y otra para cultivar. Las muestras recolectadas deberán fijarse lo más pronto posible, para evitar la pudrición o pérdida por la actividad de bacterias y protozoarios. El material vivo debe conservarse a bajas temperaturas, con luz adecuada y el medio de cultivo o el agua del mar, en su caso, debe renovarse frecuentemente. La utilización de conservadores no permite la observación de algunas estructuras útiles para la identificación de muchas algas; en muchos casos es necesario cultivar para lograr las determinaciones a niveles genéricos o específicos. Sin embargo, el material fijado es un buen punto de partida para la búsqueda posterior.

### Material de recolección

- Espátula de yesero (llana)
- Recipientes (de preferencia irrompibles, bolsas o envases de plástico) y que sellen herméticamente
- Etiquetas para incluir (papel albanene)
- Fijador
- Prensas ficológicas (0.20 x 0.20 ó 0.20 x 0.30 m)
- Marcadores para el exterior del recipiente
- Reglas, cintas métricas, etc.
- Cuaderno de notas
- Red de plancton, manual o de arrastre (malla con una abertura máxima de 40 micras)
- Un microscopio para el campo
- Portaobjetos, cubreobjetos, goteros
- Para recolecciones de suelo pueden utilizarse bolsas de plástico estériles (para biberones)
- Ropa, calzado y sombrero adecuados a los sitios y ambientes de recolección.

### Fijadores

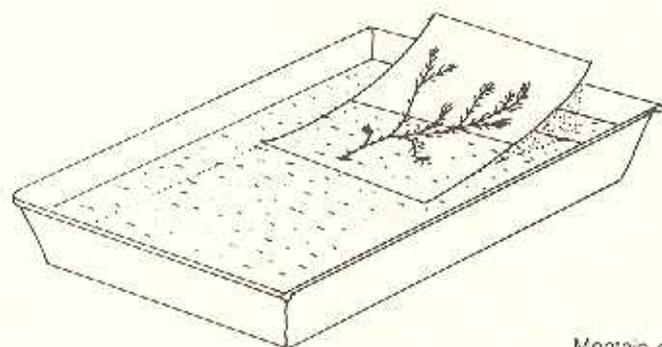
- Formol al 4%, de preferencia utilizando agua de la localidad; si es posible, neutralizar el formol (el formol comercial se toma como 100%).
- 6:3:1 (solución de Transeau): 6 partes de agua, 3 partes de alcohol etílico 96°, y 1 parte de formol.

La fijación se realiza con una parte de fijador por una de agua de la muestra.

• Formol neutro con glicerina para herborizaciones: 1 parte de formol neutro al 4%, 1 parte de glicerina; mantener el ejemplar en esta solución por tres semanas antes de prensar, secar y montar.

• Formol neutro: agregar una solución acuosa de rojo neutro al formol al 100% hasta lograr una coloración ligeramente violácea, después agregar una solución saturada de borato de sodio o carbonato de sodio hasta virar la coloración al naranja.

Poner el ejemplar en una charola con agua (agua de mar, en su caso), sumergir la cartulina de montaje y colocar en la posición definitiva con ayuda de un pincel.



Montaje de ejemplares de herbario

## Trabajo de laboratorio

Una vez en el laboratorio, el material vivo debe revisarse exhaustivamente, tratando de anotar y dibujar todas las algas presentes en las muestras; posteriormente el material a cultivar debe mantenerse en condiciones adecuadas. El material fijado en líquido debe mantenerse siempre en la obscuridad; el montaje de algas macroscópicas puede hacerse directamente sobre una cartulina dentro de una charola con agua; en el caso de algas marinas, se trata previamente el ejemplar en una mezcla de formol neutro con glicerina. El secado de las algas se realiza cambiando continuamente el papel secante que las contiene. El montaje se hace como en cualquier ejemplar de herbario.

Las preparaciones permanentes o semipermanentes también son de gran utilidad para el trabajo de herbario de algas. Para identificar diatomeas, estas deben ser "limpiadas", es decir, se elimina el contenido celular, dejando las frústulas vacías y haciendo preparaciones permanentes de ellas.

### *Etiquetas*

La información contenida en las etiquetas de muestras y de ejemplares es muy variable y depende de la organización de cada colección. Los datos mínimos para las muestras en líquido son: número de herbario, localidad, recolector, fecha de recolección. Los ejemplares herborizados deben tener la siguiente información: nombre científico, número de herbario, localidad, ambiente, recolector, fecha de recolección, determinador y fecha de determinación.

### *Cultivos*

Si se trabaja con cultivos no deben mezclarse el instrumental y la cristalería utilizada con los empleados para material fijado, pues los conservadores dejan residuos tóxicos.

En el desarrollo de cultivos para identificación, es necesario mantener los cultivos puros (libres de bacterias, si es posible); la formación de zoosporas, gametos y otros estados reproductivos o vegetativos puede inducirse con la utilización de preparaciones en gota pendiente y variando bruscamente las condiciones, por ejemplo fotoperíodo, intensidad de luz, pH, presiones osmóticas, temperatura, nutrientes, humedad accesible (cultivos en líquido o en sólido), etc. Los cultivos deben mantenerse en condiciones estándares (ver Stein, 1973).

### *Preparaciones*

#### *Permanentes*

Se monta el material con bálsamo de Canadá o resinas sintéticas. Esta técnica sólo se aplica a material previamente deshidratado, especialmente diatomeas desmídeas y algas con paredes gruesas.

### *Semipermanentes*

Antes de montar, fijar el material con formol.

1. Colocar el alga sobre un portaobjeto en una gota de agua.

2. Colocar una gota de gelatina glicerinada (que se prepara previamente, disolviendo en calor moderado 5 g de gelatina en 30 ml de agua y después añadir 0.125 g de fenol y 35 ml de glicerina. Según el material pueden hacerse distintas concentraciones).

3. Se distribuye el alga en la gota de gelatina.

4. Se coloca el cubreobjetos y se limpia el exceso de gelatina; cuando ésta endurezca se sella con barniz para uñas.

### *Limpieza de frústulas de diatomeas*

*Receta 1.* 1. Se concentra el material por centrifugación. 2. Se resuspende el material en 10 a 20 ml de agua destilada en una caja de petri, se añaden 5-10 gotas de peróxido de hidrógeno al 30%. 3. Se expone la caja de petri, destapada, a luz ultravioleta por 2 horas.

*Receta 2.* Un procedimiento simple que puede ser adecuado para propósitos muy generales es el de hacer un frotis delgado de material con diatomeas en un portaobjetos con abundante agua. Se lleva sobre la flama y se mantiene hasta que seque y carbonice. El frotis puede ser removido en una gota de agua o agua y glicerina y montado con un cubreobjetos.

### *Tinciones generales*

Las tinciones más empleadas en la identificación de algas son con azul de metileno, violeta de genciana, lugol, tinta china y en general muchos de los colorantes usados en las técnicas microscópicas para vegetales. Sin embargo, algunas sugerencias pueden hacerse:

Para disminuir el movimiento de las algas pueden utilizarse: a) una gota pequeña de lugol diluido en la preparación; b) una pizca de goma arábiga antes de colocar el cubreobjetos, o c) una gota de cloroformo diluido (una gota de cloroformo en 5 ml de agua destilada) antes de colocar el cubreobjetos.

La presencia de pared celular puede demostrarse por plasmólisis usando, por ejemplo, una solución de sacarosa al 10%.

La presencia de celulosa puede determinarse por su coloración azul, colocando el material en solución de lugol (IKI) por 15 minutos, después añadir una gota de ácido sulfúrico concentrado. Con este tratamiento el ácido disuelve la celulosa y la tinción desaparece después de un tiempo.

Los cloroplastos son más evidentes utilizando un filtro azul en el microscopio o hirviendo las células en una solución al 8% de nitrato de plata, que tiñe los cloroplastos de un color café negruzco.

Los núcleos pueden teñirse de un tono azulado con una solución muy diluida de azul de metileno.

## Identificación

Independientemente del estado de las muestras a identificar, ya sean vivas o fijadas, macro o microscópicas, unialgales o mixtas, los puntos de partida para la identificación son siempre un dibujo de la especie en estudio y una descripción muy amplia. Principio fundamental es el de identificar sobre estos materiales y no sobre la preparación fresca (o permanente en su caso). Es muy común, en el caso de preparaciones frescas que, mientras se sigue la clave de determinación, la preparación se seca, el ejemplar desaparece del campo del microscopio, se voltea y no es fácil regresarlo a su posición anterior, etc.

Para cualquier caso, tanto en material vivo o fijado, el primer paso es lograr una preparación que reúna las siguientes características: 1. Que posea suficiente material para obtener los intervalos de variación morfológica de los individuos a identificar; 2. Que este material esté disperso en todo el portaobjetos y no reunido en el centro (una pequeña presión sobre el cubreobjetos ayuda); en ocasiones es necesario manipular y separar el material bajo un microscopio estereoscópico para lograr una buena preparación; 3. Que tenga suficiente líquido para que se mantenga durante unos 30 minutos (2 o 3 gotas es suficiente). Demasiado líquido no permite la observación a grandes aumentos, mientras que con poco líquido se forman burbujas, es mayor el aumento de la temperatura de la preparación lo que produce colapso de algunas celulares, pérdida de flagelos, aumento de la movilidad, contracción de vainas, etc.

Los dibujos de una especie se harán en una sola hoja, en varios aumentos, mostrando la organización general del talo; en su caso, la organización de las células en el talo y, finalmente, las estructuras celulares visibles. En el caso de las macroalgas, es necesario hacer cortes transversales y en ocasiones longitudinales y dibujarlos. Para las algas unicelulares es muy importante dibujar la variación morfológica presente en cada muestra. Los dibujos deben tener su escala respectiva. Cada lámina debe tener el nombre específico y la muestra de donde proviene. Las descripciones deben ser sobre el material recolectado, no sobre las descripciones de otros autores, debe incluir todo lo que aparece en los dibujos y, a su vez, todo lo que se ha descrito debe dibujarse. Las partes de una descripción son:

- Aspecto general del talo
- Organización de las células y morfología celular
- Estructuras reproductoras
- Medidas
- Variación
- Anotaciones taxonómicas sobre diferencias con las referencias utilizadas en la identificación
- Anotaciones ecológicas sobre los ambientes donde se encuentra y las especies presentes en la misma muestra
- Referencias utilizadas en la identificación
- Referencia a otras fuentes, ficheros, fotografías, cultivos, etc. que formen parte de la colección.

La falta de estudios ficológicos amplios en nuestro país nos obliga a utilizar literatura proveniente principalmente de zonas templadas. Para el caso de las algas marinas, tanto del Pacífico como del Golfo, existen estudios más extensos y se tiene una idea más clara de las algas de estas zonas pero, en

el caso de las algas continentales, la flora se reduce a unos pocos inventarios de cuerpos de agua. Por esta razón, las descripciones y dibujos deben ser muy claros en marcar las diferencias y semejanzas con las especies utilizadas como referencia.

## Colecciones

Los dibujos y descripciones y más aún las floras, deben tener el respaldo de las muestras y recolecciones depositadas en un herbario. Para que cumplan su función, estas colecciones de muestras deben acompañarse de colecciones e información paralelas como:

- Registro de localidades recolectadas, número de muestras y fecha de recolección por localidad
- Especies presentes en cada muestra
- Registro de datos de recolección y ubicación de cada muestra
- Especies presentes en la colección y su ubicación en las muestras
- El número de herbario debe aplicarse a los ejemplares herborizados y a las muestras en líquido
- Iconoteca (de dibujos de las especies depositadas y dibujos de otras fuentes)
- Fototeca (fotografías de campo, macroscópicas y microfotografías)
- Preparaciones permanentes
- Ejemplares depositados también en colecciones de cultivos.

Este banco de información es sumamente útil cuando las colecciones incluyen muestras de algas microscópicas de recolecciones estacionales y en donde cada muestra tiene múltiples especies.

El almacenamiento de las muestras y recolecciones algales trae consigo algunos problemas por resolver:

1. Los recipientes que contienen muestras líquidas deben ser herméticos y mantenidos en la oscuridad para evitar la evaporación del fijador y la decoloración respectivamente. Los sellos de hule y tapas de metal no son tan durables como los sellos de cartón o plástico y las tapas de baquelita o plástico. Todos los recipientes deben estar accesibles y con una etiqueta visible, por lo que se recomienda que sean guardados primero por capacidad y después por número progresivo.

2. Al material herborizado debe añadirse una protección adicional, dada la fragilidad de las algas; esta puede consistir en lienzos o papel satinado. Los ejemplares pequeños se montan sobre tarjetas, estas se incluyen en un sobre pegado a la cartulina. La ubicación del sobre en la cartulina debe considerar el tipo y capacidad de las gavetas de guardado.

## Bibliografía recomendada

- Abbott, I.A. y E.Y. Dawson. 1978. *How to Know the Seaweeds*. 2ª. ed. Wm. C. Brown, Dubuque, Iowa. 141 p.
- Abbott, I.A. y G.J. Hollenberg. 1976. *Marine Algae of California*. Stanford University Press, Stanford. 827 p.
- Bicudo, C.E. y R.M.T. Ricudo. 1970. *Algas de águas continentais brasileiras*. Fundação Brasileira para o desenvolvimento do ensino de Ciências. USP, São Paulo. 228 p.
- Bold, H.C. y M.J. Wynne. 1978. *Introduction to the Algae. Structure and reproduction*. Prentice-Hall, New Jersey. 706 p.
- Bourelly, P. 1970. *Les algues d'eau douce. Initiation à la systématique* III. Les algues bleues et rouges. N. Boubée, Paris. 483 p.
- . 1972. *Les algues d'eau douce. Initiation à la systématique* I. Les algues vertes. N. Boubée, Paris. 572 p.
- . 1981. *Les algues d'eau douce. Initiation à la systématique* II. Les algues jaunes et brunes. N. Boubée, Paris. 483 p.
- Dawes, C.J. 1974. *Marine Algae of the West Coast of Florida*. University of Miami Press. 201 p.
- Dawson, E.Y. 1953. Marine red algae of Pacific Mexico, Part 1. Bangiales to Corallinaceae Subf. Comalinodeae. *Allan Hancock Pacific Expeditions* 17(1):1-239.
- . 1954. Marine red algae of Pacific Mexico, Part 2. Cryptonemiales. *Allan Hancock Pacific Expeditions* 17(2):241-397.
- . 1960. Marine red algae of Pacific Mexico, Part 3. Cryptonemiales, Corallinaceae Subf. Melobesioideae. *Pacific Naturalist* 2(1):1-125.
- . 1961. Marine red algae of Pacific Mexico, Part 4. Gigartinales. *Allan Hancock Pacific Expeditions* 2(5):191-341.
- . 1962. Marine red algae of Pacific Mexico, Part 7. Ceramiales: Ceramiaceae, Delesseriaceae. *Allan Hancock Pacific Expeditions* 26(1):1-207.
- . 1963a. Marine red algae of Pacific Mexico. Part 6. Rhodomentales. *Nova Hedwigia* 5:437-476.
- . 1963b. Marine red algae of Pacific Mexico, Part 8. Ceramiales: Dasyaceae, Rhodome-lareae. *Nova Hedwigia* 6:401-481.
- Edmonson, W.T. (ed.). 1959. [Ward, H.B. y G.C. Whipple] *Fresh-Water Biology*. 2ª. ed. Wiley, Nueva York. 95-189.
- George, E.A. 1976. A guide to algal keys (excluding seaweeds). *British Phycol. J.* 11:49-55.
- Prescott, G.W. 1962. *Algae of the Western Great Lakes Area*. Wm. C. Brown, Dubuque, Iowa. 977 p.
- . 1964. *How to Know the Fresh Water Algae*. 3ª. ed. Wm. C. Brown, Dubuque, Iowa. 272 p.
- Schneiter, R. 1976. Marine Algen der Karibischen Küsten von Kolumbien. I. Phaeophyceae. *Bibliotheca Phycologica* 24. J. Cramer, República Federal Alemana, 125 p.
- . 1978. Marine Algen der Karibischen Küsten von Kolumbien. II. Chlorophyceae. *Bibliotheca Phycologica* 42. J. Cramer, 199 p.
- Setchell, W.A. y N.L. Gardner. 1920. The marine algae of the Pacific Coast of North America. Part 2. Chlorophyceae. *Univ. Calif. Publ. Bot.* 8:139-381.
- Smith, G.M. 1950. *The Fresh Water Algae of the United States*. 2ª. ed. McGraw-Hill, Nueva York. 719 p.
- . 1969. *Marine Algae of the Monterey Peninsula, California*. Second edition, incorporating the 1966 Supplement by G.J. Hollenberg and I.A. Abbott. Stanford University Press, Stanford. 752 p.
- Stein, J.R. (ed.). 1973. *Handbook of Phycological Methods. Culture Methods and Growth Measurements*. Cambridge University Press, 448 p.
- Taylor, W.R. 1957. *Marine Algae of the Northeastern Coast of North America*. 2ª. ed. Univ. of Michigan Press, Ann Arbor. 509 p.
- . 1960. *Marine Algae of the Eastern Tropical and Subtropical Coasts of the Americas*. Univ. of Michigan Press, Ann Arbor. 870 p.