



UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

REPÚBLICA DEL ECUADOR

**UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO
FACULTAD DE POSGRADO**

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

**ARTÍCULOS PROFESIONALES DE ALTO NIVEL
PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:**

MAGÍSTER EN BIOTECNOLOGÍA

TEMA:

**Identificación molecular de cianobacterias aisladas del río Manglaralto, Santa
Elena - Ecuador**

Autor:

Ing. Agropecuaria Fernanda Lissette Rochina Meza

Director:

Ms. Juan Diego Valenzuela Cobos

Milagro, 2026

Identificación molecular de cianobacterias aisladas del río Manglaralto, Santa Elena - Ecuador

Molecular identification of cyanobacteria isolated from the Manglaralto River, Santa Elena - Ecuador

Fernanda Lissette Rochina Meza ^{1*}, Jose Humberto Vera Rodriguez ² y Walter Ariel Rochina Meza ³.

¹ Universidad Estatal de Milagro, Facultad de Posgrados, Maestría en Biotecnología. Milagro, Ecuador, 091050, <https://orcid.org/0009-0001-2526-362X>

² Universidad Agraria del Ecuador, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Guayaquil, Ecuador 091307; <https://orcid.org/0000-0003-3027-059X>, [jhvera@uagraría.edu.ec](mailto:jhver@uagraría.edu.ec)

³ Universidad Estatal de Milagro. Milagro, Ecuador, 091050, <https://orcid.org/0009-0000-8521-4240>, wrochinam@unemi.edu.ec

* Correspondencia: vrochinam@unemi.edu.ec

Resumen:

Las cianobacterias son microorganismos fotosintéticos que forman parte dentro de la regulación de los ciclos biogeoquímicos, sin embargo, su proliferación desmedida puede provocar riesgos para la salud. El objetivo del estudio se centra en el aislamiento, cultivo e identificación molecular de cianobacterias del río Manglaralto. Se recolectó agua del río Manglaralto (Santa Elena) en noviembre de 2025. Mediante dilución seriada y micro-pipeteo capilar bajo microscopio, se aislaron filamentos individuales. Los géneros *Arthrospira* sp. fueron multiplicados en medio (Algae Culture Broth, pH 10.5) y *Anabaena* sp. en (medio BG-11, pH 7.0) se escalaron hasta 2 L con fotoperiodos controlados y aireación constante. La identificación morfológica se realizó mediante microscopía óptica y códigos taxonómicos. Finalmente, la validación molecular incluyó extracción de ADN, PCR con primers 16S (27F/1492R) y secuenciación Sanger, comparando los resultados en la base de datos GenBank (NCBI) para determinar las especies. Los resultados confirmaron la presencia de dos cianobacterias. El aislado ALG1 se identificó morfológicamente por sus filamentos en espiral y molecularmente como *Arthrospira platensis* (99 % identidad, 1500 pb), destacando su potencial biotecnológico. El aislado ALG2 presentó filamentos lineales con heterocistos, identificado como *Anabaena variabilis* (97.01% identidad, 1000 pb) aunque útil para fijar nitrógeno, su presencia alerta sobre procesos de eutrofización y posibles riesgos por cianotoxinas en el río. La caracterización molecular encontró en el río Manglaralto *A. platensis* con un potencial biotecnológico y *A. variabilis*, que podría generar riesgos ambientales y de toxicidad para el ecosistema.

Palabras clave: agua, algas, biotecnología, espirulina, genético.

Abstract:

Cyanobacteria are photosynthetic microorganisms that play a role in regulating biogeochemical cycles; however, their excessive proliferation can pose health risks. The objective of the study focuses on the isolation, cultivation, and molecular identification of cyanobacteria from the Manglaralto River. Water was collected from the Manglaralto River (Santa Elena) in November 2025. Individual filaments were isolated using serial dilution and capillary micropipetting under a microscope. The genera *Arthrospira* sp. were multiplied in medium (Algae Culture Broth, pH 10.5) and *Anabaena* sp. in (BG-11 medium, pH 7.0) were scaled up to 2 L with controlled photoperiods and constant aeration. Morphological identification was performed using optical microscopy and taxonomic codes. Finally, molecular validation included DNA extraction, PCR with 16S primers (27F/1492R), and Sanger sequencing, comparing the results in the GenBank database (NCBI) to determine the species. The results confirmed the presence of two cyanobacteria. Isolate ALG1 was identified morphologically by its spiral filaments and molecularly as *Arthrospira platensis* (99 % identity, 1500 bp), highlighting its biotechnological potential. Isolate ALG2 presented linear filaments with heterocysts, identified as *Anabaena variabilis* (97.01 % identity, 1000 bp). Although useful for nitrogen fixation, its presence warns of eutrophication processes and possible risks from cyanotoxins in the river. Molecular characterization found *A. platensis* with biotechnological potential and *A. variabilis* in the Manglaralto River, which could generate environmental and toxicity risks for the ecosystem filaments were isolated using serial dilution and capillary micropipetting under a microscope. The genera *Arthrospira* sp. were multiplied in medium (Algae Culture Broth, pH 10.5) and *Anabaena* sp. in (BG-11 medium, pH 7.0) were scaled up to 2 L with controlled photoperiods and constant aeration. Morphological identification was performed using optical microscopy and taxonomic codes. Finally, molecular validation included DNA extraction, PCR with 16S primers (27F/1492R), and Sanger sequencing, comparing the results in the GenBank database (NCBI) to determine the species. The results confirmed the presence of two cyanobacteria. Isolate ALG1 was identified morphologically by its spiral filaments and molecularly as *Arthrospira platensis* (99 % identity, 1500 bp), highlighting its biotechnological potential. Isolate ALG2 presented linear filaments with heterocysts, identified as *Anabaena variabilis* (97.01 % identity, 1000 bp). Although useful for nitrogen fixation, its presence warns of eutrophication processes and possible risks from cyanotoxins in the river. Molecular characterization found *A. platensis* with biotechnological potential and *A. variabilis* in the Manglaralto River, which could generate environmental and toxicity risks for the ecosystem.

Keywords: water, algae, biotechnology, spirulina, genetic.

Fecha recibido: 03/01/2026

Fecha revisado: 29/01/2026

Fecha aceptado: 02/02/2026

Fecha publicado: 05/02/2026

Introducción

Las cianobacterias corresponden a uno de los grupos de microorganismos más prehistóricos del planeta, desempeña un papel fundamental dentro de la ecología con la producción de sus compuestos metabólicos y la fijación de nitrógeno (Sánchez-Baracaldo et al., 2022). Son considerados organismos fotosintéticos oxigénicos, logrando colonizar una diversidad de ambientes acuáticos y terrestres, llegando a adaptarse hasta en condiciones extremas (Battistuzzi et al., 2023). Sin embargo, el cambio climático en cuerpos de agua a favorecido el crecimiento de algas nocivas, impactando significativamente sobre la calidad del agua y el equilibrio de los ecosistemas (Amorim & do Nascimento Moura, 2021).

El principal riesgo asociado al desarrollo de cianobacterias patógenas es su capacidad de producir cianotoxinas y metabolitos con potentes efectos neurotóxicos, hepatotóxicos y dermatotóxicos (Sini et al., 2021). La presencia de estas sustancias tóxicas en fuentes de agua destinadas al consumo humano representan una amenaza para la salud pública y la fauna local (Al Haffar et al., 2024). Por esta razón, estudiar la presencia de cianobacteriales en cuerpos de agua se ha vuelto una prioridad dentro de la gestión ambiental y sanitaria (Zuccarello et al., 2021).

Bajo el contexto ecuatoriano, el río Manglaralto, ubicado en la provincia de Santa Elena es considerado un recurso hídrico de agua dulce de vital importancia para las comunidades locales y actividades agrícolas (Pacheco Peñafiel, 2024). No obstante, este ecosistema está sujeto a contaminación humana y el uso de agroquímicos en zonas aledañas (Ulloa et al., 2022). La alteración en la composición química del agua crea un entorno propicio para el desarrollo de microorganismos potencialmente tóxicos, cuya identificación es escasamente documentada en la región (Cirelli, 2012).

Inicialmente, la identificación de cianobacterias estaba dada por criterios morfológicos mediante microscopía óptica (Vaughan et al., 2022). A pesar de que este método es validado, presenta ciertas limitaciones para su precisión de especies (Corkidi et al., 2008). En la actualidad, la identificación molecular permite la distinción entre géneros y especies que no se pueden distinguir a simple vista (Keshari et al., 2015). Este nivel de precisión es crucial cuando se trata de evaluar el beneficio o riesgo biológico en una fuente de agua compartida por poblaciones humanas. Dentro de las herramientas moleculares, la secuencia del gen 16S es una de las técnicas más empleada para la identificación filogenética de bacterias y cianobacterias (Keshari et al., 2015). Este gen posee regiones altamente conservadas y regiones hipervariables que permiten establecer relaciones evolutivas e identificar taxonomías con un alto grado de confianza (Valdés-Santiago et al., 2021). La aplicación de esta tecnología en los aislados del río Manglaralto permitirá determinar, por primera vez, la biodiversidad genética de las cianobacterias presentes en este ecosistema. El objetivo del estudio se centra en el aislamiento, cultivo e identificación molecular de cianobacterias del río Manglaralto. Los resultados obtenidos servirán como fundamento para posteriores investigaciones sobre su potencial toxigénico o posible aprovechamiento en aplicaciones biotecnológicas.

Materiales y Métodos

Lugar de estudio

La muestra de agua fue tomada en el cauce del río Manglaralto de la Provincia de Santa Elena - Ecuador, dentro de la coordenada 1°50'46.8"S 80°44'41.1"W (Figura 1), durante la época seca noviembre 2025.

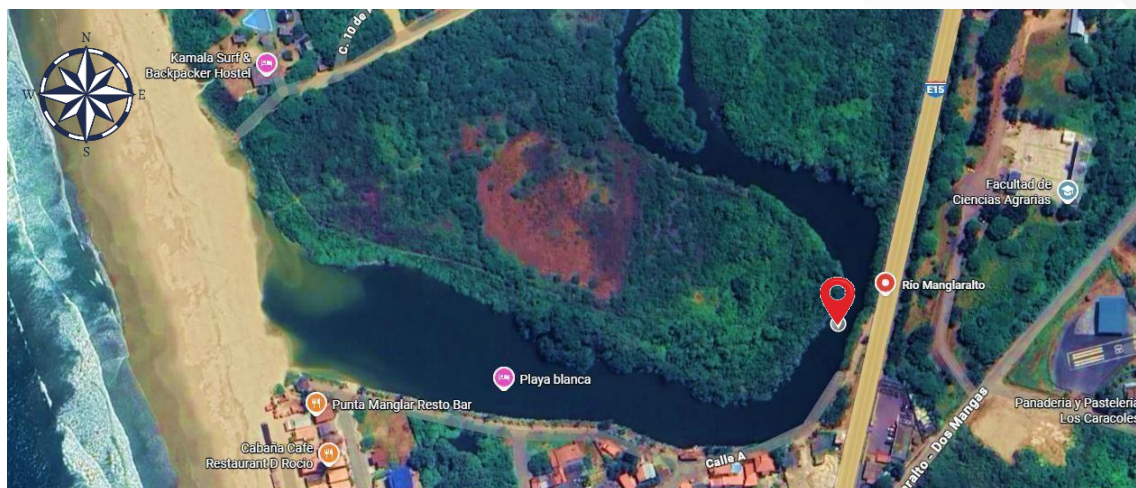


Figura 1. Ubicación del lugar de la toma de muestra para el estudio.

Aislamiento y producción de cianobacterias

La muestra madre contenida fue de 100 mL, la misma que fue sometida a un proceso de dilución seriada en tubos de ensayo con agua destilada estéril hasta eliminar impurezas y al observar una gota al microscopio se observen filamentos celulares individuales por separados.

Bajo microscopio óptico a 10 y 40x se utilizó una micropipeta capilar para capturar los filamentos de la especie deseada por separado, las mismas que pasaron por un escalamiento en tubos de ensayo con 10 mL con medios de cultivo específicos para microalgas a 28 °C durante 24 horas considerando 12h luz / 12h oscuridad con luz LED.

Algae Culture Broth HIMEDIA® se utilizó para *Arthrospira* sp. a dosis de 1,87 g del polvo en L⁻¹ de agua purificada ajustando el pH a 10,5 con bicarbonato de sodio. Mientras que para *Anabaena* sp. se usó el medio Blue Green 11 Medium (BG-11) PHYTOTECH® a dosis de 1,68 g del polvo en L⁻¹ de agua purificada ajustando el pH a 7,0 con ácido acético.

Luego el escalamiento se lo llevo a 2 L con las mismas soluciones nutritivas para cada género a 27 °C durante 8 días considerando 16h luz / 8h oscuridad. Para mantener una agitación constante se utilizo una bomba de acuario con un filtro de 0,22 µm, realizando un monitoreo y corrección del pH. El esquema del proceso del aislamiento y producción de cianobacterias se detalla a continuación en la Figura 2.



Figura 2. Esquema del proceso del aislamiento y producción de cianobacterias.

identificación morfológica y molecular de los aislados

La caracterización morfológica con proximidad al género fue validada mediante códigos taxonómicos para cianobacterias por microscopía óptica (Microscopio OLYMPUS CX23) ubicando una sola gota del cultivo sobre la placa portaobjetos y sobre esta un cubreobjetos realizando observaciones con los objetivos 10x y 40x.

Para la identificación molecular se prestaron los servicios del Laboratorio de Identificación Molecular IDgen de la ciudad de Quito, para el cual se enviaron 250 mL del cultivo líquido de cada aislado, para que por métodos convencionales se realice la extracción de ADN y por espectrofotometría de microvolúmenes visualizar en gel de agarosa al 1%. Los primers universales 16S utilizados para la amplificación mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) fueron: 27F/1492R (Wilson et al., 1990).

Los productos de la PCR fueron purificados previo a la secuenciación por el método SANGER. Las secuencias obtenidas fueron limpiadas y ensambladas usando programas bioinformáticos como el Geneious Prime. Se compararon las secuencias ensambladas de las muestras con la base de datos de nucleótidos de GenBank del NCBI para la identificación de especie.

Resultados y discusión

Identificación morfológica de los aislados.

La figura 3 muestra los resultados de la caracterización morfológica de los aislados de cianobacterias desde el río Manglaralto.

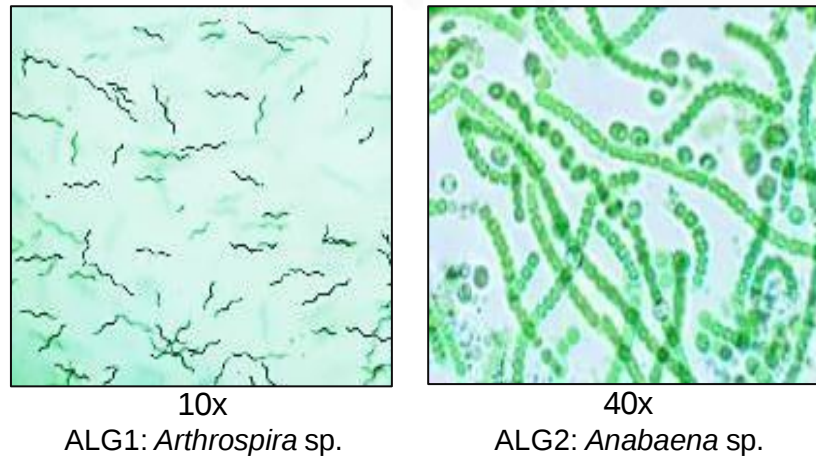


Figura 3. Microscopía para la caracterización morfológica de los aislados ALG1 (10x) ALG2 (40x).

Las muestras de los aislados identificados como (ALG1) apuntan al género *Arthrospira* sp. Dentro de las características se observan filamentos multicelulares en forma de espiral similar a un resorte abierto y en movimiento de rotación activo, estas células son de color verde azulado claramente visibles en el microscopio óptico. Estos datos concuerdan a los hallazgos de Palacios-Mayorga et al., (2025) al caracterizar sus aislados de *Arthrospira platensis* en muestras de agua dulce. Mientras que la muestra identificada como (ALG2) tendió a *Anabaena* sp. por sus filamentos de cadena lineal e irregular, sus células son de forma esféricas con forma de collar. Mavila et al., (2021) indica que sus rasgos distintivos es la presencia de los heterocistos, que son células más grandes, de paredes gruesas, color pálido o amarillento y con nódulos polares.

Identificación molecular de los aislados.

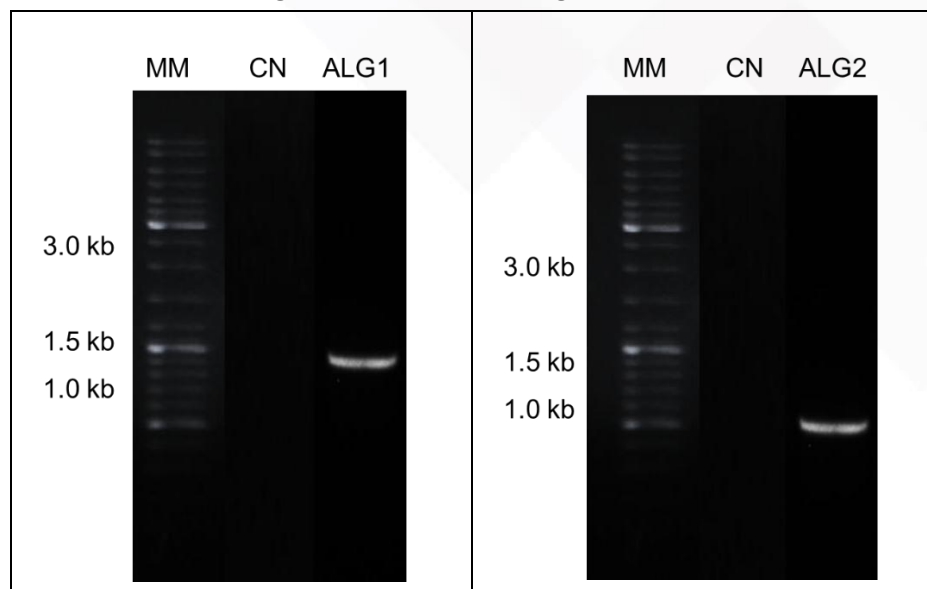
Los resultados moleculares de los aislados de cianobacterias se detallan en la Tabla 1.

Tabla 1. Resumen de resultados de la secuenciación.

Código	Longitud	Especie	Gen	Identidad	Nº Accesoión
ALG1	1500 pb	<i>Arthrospira platensis</i>	16S	99,00 %	OK586777.1
ALG2	1000 pb	<i>Anabaena variabilis</i>	16S	97,01 %	AF247593.1

A partir de las lecturas resultantes de la secuenciación SANGER se obtuvieron secuencias ensambladas que permitieron determinar la identidad de las especies

(*Arthrospira platensis*) y (*Anabaena variabilis*). La Figura 4 muestra los resultados de electroforesis de la PCR del fragmento 16S en Gel de agarosa al 1 %.



MM= Marcador de peso molecular. CN= Control negativo. ALG1= Aislado de *Arthrospira* sp. ALG2= Aislado de *Anabaena* sp.

Figura 4. Gel de agarosa al 1 % con productos de PCR para el fragmento 16S.

El proceso de amplificación visualiza bandas de aproximadamente 1500 pb correspondientes a los marcadores 16S para la especie *A. platensis* y 1000 pb para la especie *A. variabilis*. A través de estos hallazgos, *A. platensis* representa un hallazgo de alto valor biotecnológico beneficioso para diferentes campos como la salud humana, animal, la producción de biocombustibles, entre otros (Jeres-Caguana et al., 2025). En contraste, la identificación de *A. variabilis* introduce una connotación de perjuicio y alerta ambiental, aunque esta especie es capaz de fijar nitrógeno atmosférico lo que podría ser aprovechado en el sector agrícola para enriquecer suelos, su presencia en cuerpos de agua dulce suele asociarse a procesos de eutrofización y a la posible producción de cianotoxinas que afectan la salud humana y animal (Stanković et al., 2022).

Conclusiones

El presente estudio permitió identificar dos aislados de cianobacterias provenientes del río Manglaralto, combinando la caracterización morfológica con el análisis molecular del gen 16S ARNr. El aislado ALG1 corresponde a la especie *Arthrospira platensis* (99 % de identidad), caracterizada por su alto valor biotecnológico y nutricional. Por otro lado, el aislado ALG2 fue identificado dentro de la especie *Anabaena variabilis* (97,01 % de identidad), cuya presencia es un indicador crítico en el ecosistema debido a su capacidad de representa un riesgo potencial de toxicidad para la cuenca.

Contribución de los autores: Conceptualización, FLR-M.; metodología, FLR-M., JHV-R.; software, FLR-M.; validación, JHV-R.; análisis formal, JHV-R.; investigación, FLR-M.; recursos, FLR-M.; redacción del borrador original, FLR-M.; revisión y edición, WAR-M; visualización, JHV-R; supervisión, JHV-R. Todos los autores han leído y aceptado la versión publicada del manuscrito.

Financiamiento: Esta investigación no incurrió financiación externa.

Conflicto de intereses: Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Referencias Bibliográficas

Al Haffar, M., Fajloun, Z., Azar, S., Sabatier, J.-M., & Abi Khattar, Z. (2024). Lesser-known cyanotoxins: A comprehensive review of their health and environmental impacts. *Toxins*, 16(12), 551. <https://doi.org/10.3390/toxins16120551>

Amorim, C. A., & do Nascimento Moura, A. (2021). Ecological impacts of freshwater algal blooms on water quality, plankton biodiversity, structure, and ecosystem functioning. *Science of the Total Environment*, 758, 143605. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143605>

Battistuzzi, M., Cocola, L., Claudi, R., Pozzer, A. C., Segalla, A., Simionato, D., Morosinotto, T., Poletto, L., & La Rocca, N. (2023). Oxygenic photosynthetic responses of cyanobacteria exposed under an M-dwarf starlight simulator: Implications for exoplanet's habitability. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1070359. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1070359>

Cirelli, A. F. (2012). El agua: un recurso esencial. *Química Viva*, 11(3), 147–170. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=86325090002>

Corkidi, G., Serrano-Carreón, L., & Galindo, E. (2008). Análisis digital de imágenes para la caracterización microscópica de parámetros críticos en la producción fermentativa de metabolitos secundarios. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 10(1), 75–93. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=77610107>

Jeres-Caguana, G. A., Quiñonez-Portocarrero, D. K., Macías-Rojas, H. A., Vera-Rodriguez, J. H., & Lucas-Vidal, L. R. (2025). Efecto bioestimulante de algas (*Arthrospira platensis* y *Durvillaea antarctica*) sobre el desarrollo de plantas de maíz durante la etapa vegetativa V3. *Hombre, Ciencia y Tecnología*, 29(2), 100–110. <http://hct.cigetgtmo.co.cu/revistahct/index.php/hct/article/view/1511>

Keshari, N., Das, S. K., & Adhikary, S. P. (2015). Identification of cyanobacterial species with overlapping morphological features by 16S rRNA gene sequencing. *European Journal of Phycology*, 50(4), 395–399. <https://doi.org/10.1080/09670262.2015.1064548>

Mavila, M. A. G., Moreno, S. L. E., Mashacuri, H. N. R., Castro, C. G., & Ruiz, C. (2021). Aislamiento y caracterización molecular y bioquímica de una cianobacteria (*Anabaena* sp.) del río Amazonas, Loreto-Perú. *Revista ECIPerú Volumen*, 18(1). <https://doi.org/10.33017/RevECIPeru2021.0005/>

Pacheco Peñafiel, A. S. (2024). Acciones para la optimización del sistema de agua potable en Manglaralto, Ecuador. *Ingeniería Hidráulica y Ambiental*, 45(1), 45–53. <https://riha.cujae.edu.cu/index.php/riha/article/view/651>

Palacios-Mayorga, A. S., Humberto, J. H. J., Michelle, C. M. C., Mariuxi, S. M. S., & David, J. D. J. (2025). Aislamiento, caracterización y producción de *Arthrospira platensis*. *Multidisciplinary Collaborative Journal*, 3(2), 13–23. <https://doi.org/10.70881/mcj/v3/n2/49>

Sánchez-Baracaldo, P., Bianchini, G., Wilson, J. D., & Knoll, A. H. (2022). Cyanobacteria and biogeochemical cycles through Earth history. *Trends in Microbiology*, 30(2), 143–157. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2021.05.008>

Sini, P., Dang, T. B. C., Fais, M., Galioto, M., Padedda, B. M., Lugliè, A., Iaccarino, C., & Crosio, C. (2021). Cyanobacteria, cyanotoxins, and neurodegenerative diseases: dangerous liaisons. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(16), 8726. <https://doi.org/10.3390/ijms22168726>

Stanković, N., Jovanović, B., Kokić, I. K., Piperac, M. S., Simeunović, J., Jakimov, D., Dimkić, I., & Milošević, D. (2022). Toxic effects of a cyanobacterial strain on *Chironomus riparius* larvae in a multistress environment. *Aquatic Toxicology*, 253, 106321. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2022.106321>

Ulloa, M. A. A., Reyes, V. M., Mero, P. C., & Navarrete, C. A. D. (2022). Vulnerabilidad intrínseca del acuífero costero Manglaralto mediante el método DRASTIC. *Polo Del Conocimiento*, 7(11), 1007–1019. <https://www.polodelconocimiento.com/ojs/index.php/es/article/view/4904>

Valdés-Santiago, L., García-Chávez, J. N., & Castro-Guillén, J. L. (2021). Characterization of microbial communities associated with cyanoalgal bloom in a dam from León, Gto. México by sequencing of variable regions of the rRNA genes 16S and 18S. *Hidrobiológica*, 31(1), 93–105. <https://doi.org/10.24275/uam/izt/dcbs/hidro/2021v31n1/valdes>

Vaughan, L., Zamyadi, A., Ajjampur, S., Almutaram, H., & Freguia, S. (2022). A review of microscopic cell imaging and neural network recognition for synergistic cyanobacteria identification and enumeration. *Analytical Sciences*, 38(2), 261–279. <https://doi.org/10.1007/s44211-021-00013-2>

Wilson, K. H., Blitchington, R. B., & Greene, R. C. (1990). Amplification of bacterial 16S ribosomal DNA with polymerase chain reaction. *Journal of Clinical Microbiology*, 28(9), 1942–1946. <https://doi.org/10.1128/jcm.28.9.1942-1946.1990>

Zuccarello, P., Manganelli, M., Conti, G. O., Copat, C., Grasso, A., Cristaldi, A., De Angelis, G., Testai, E., Stefanelli, M., & Vichi, S. (2021). Water quality and human health: A simple monitoring model of toxic cyanobacteria growth in highly

variable Mediterranean hot dry environments. Environmental Research, 192, 110291. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110291>



Multidisciplinary
Collaborative Journal
ISSN: 3073-1356



CERTIFICACIÓN

Por medio de la presente, la revista científica multidisciplinaria **Multidisciplinary Collaborative Journal** (ISSN: 3073-1356), indexada en **Latindex catalogo 2.0**, certifica que el artículo titulado:

“Identificación molecular de cianobacterias aisladas del río Manglaralto, Santa Elena - Ecuador”, de autoría de los investigadores: **Fernanda Lissette Rochina Meza, Jose Humberto Vera Rodriguez y Walter Ariel Rochina Meza**, ha sido evaluado rigurosamente bajo el sistema de revisión por pares ciegos (**double-blind peer review**) y ha cumplido satisfactoriamente con los estándares editoriales y científicos.

En virtud de ello, informamos que el manuscrito ha sido aceptado con fecha **02/02/2026** y será **PUBLICADO** en el **Volumen 04 – Número 01 (publicación continua)** correspondiente al período **Enero – Marzo**, con fecha tentativa programada para el **05/02/2026** y DOI asignado: <https://doi.org/10.70881/mcj/v4/n1/123>

Constancia que se expide a petición en Ecuador, Quito a los 02 días del mes de febrero del 2026.

Cordialmente



Equipo editorial

<https://mcjournal.editorialdoso.com>



Celular: +593 98 951 2010

Ecuador, Pichincha, Quito, Cod.Post.170130

mcjournal@editorialdoso.com

www.mcjournal.editorialdoso.com

www.editorialdoso.com



UNEMI

UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

¡Evolución académica!

@UNEMIEcuador



