

Presencia de *Haematococcus pluvialis* (Flotow, 1844) en la provincia de Zamora (Haematococcaceae)

Revealing the presence of *Haematococcus pluvialis* (Flotow, 1844) in Zamora province (Haematococcaceae)

Javier Fernández-Lozano¹, Antonio Guillén-Oterino², Gabriel Gutiérrez-Alonso^{1,3},
José Abel-Flores¹ y Joaquín Pérez-Turrado⁴

1. Dpto. Geología. Facultad de Ciencias. Universidad de Salamanca.
Plaza de la Merced s/n. 37008 Salamanca, jfl@usal.es; gabi@usal.es; flores@usal.es

2. IES "Escultor Daniel" Logroño, La Rioja, aguilleno@gmail.com

3. Geology and Geography Department. Tomsk State University. Lenin Street, 36.
Tomsk, 634050 Russian Federation.

4. C/ El Canto 12, 49619 Ayoó de Vidriales, Zamora, tj.ayoo@hotmail.com

Recibido: 11-mayo-2015. Aceptado: 10-septiembre-2015.

Publicado en formato electrónico: 21-septiembre -2015

PALABRAS CLAVE: *Haematococcus pluvialis*, Algas verdes, Continentales, Zamora, España.
KEY WORDS: *Haematococcus pluvialis*, Green algae, fresh water, Zamora, Spain.

RESUMEN

Haematococcus pluvialis es un alga verde unicelular productora de astaxantina, un ketocarotenoide, de uso habitual en la industria piscícola y con importantes propiedades antioxidantes. Este tipo de algas es característica de ambientes dulceacuícolas restringidos como lagos o pequeños charcos, donde proliferan con rapidez, en función de las condiciones ambientales de luz, salinidad y alimento. Son asimismo estas condiciones las que condicionan el ciclo vital de este organismo unicelular que atraviesa cuatro estadios diferentes: crecimiento vegetativo celular, enquistamiento, maduración y germinación. La distribución geográfica de esta microalga es amplia, habiendo sido descrita en continentes del hemisferio norte, siempre en ambientes continentales. En este trabajo se describe el hallazgo de *H. pluvialis* en agua de lluvia recogida en la localidad zamorana de Ayoó de Vidriales. El estudio mediante microscopía óptica permitió determinar la especie y el estadio vital de desarrollo en el que se encontraban las células, caracterizadas por la presencia de una envuelta proteica transparente y un núcleo de pared celular de aspecto rojizo en aquellos especímenes en estado de quiste inmaduro o transparente, en aquellas en las que el ciclo vital del alga coincide con la fase de enquistamiento temprano (elevados niveles de clorofila y proteínas, pero bajos contenidos de carotenoides). El análisis de datos meteorológicos llevado a cabo y la comparación con otros especímenes, como *Vitreochlamys velata*, de características similares y descritos por vez primera en nuestro país (en el lago de Sanabria), aportan nuevos datos acerca de su dispersión geográfica, que se interpreta por su vinculación a los vientos dominantes de componente oeste que afectaron a la parte noroccidental de la península ibérica durante el otoño de 2014.

ABSTRACT

Haematococcus pluvialis is a unicellular green algae which produces astaxanthin, a type of ketocarotenoide, commonly used in the aquaculture industry and with major antioxidant properties. This type of algae is characteristic of freshwater environments such as lakes or small ponds, where they proliferate rapidly depending on the ambient light conditions, salinity and nutrients. These are also the conditions that determine the life cycle of this unicellular organism that goes through four different stages: vegetative cell growth, encyst, maturation and germination. The geographical distribution of this algae is extensive, it has been widely described within large distances over different continental areas of the northern hemisphere. In this work, we described the finding of *Haematococcus pluvialis* in rainwater collected in the town of Ayoó de Vidriales (Zamora). The determination of this specie using an optical microscopy allowed us to determine the presence of different species and a diversity of stages comprising the life cycle of the cells, characterized by the presence of a clear and transparent protein shell and a core cell wall specimens in those immature stage of cyst; whereas those in which the life cycle coincides with the early phase of encyst, the core cell acquires a high level of chlorophyll and protein, but substantially reduces the carotenoid content. The analysis of meteorological data and comparison with other similar specimens such as *Vitreochlamys velata* (recorded in the nearby Sanabria Lake), revealed the geographical dispersion suffered by this type of microalgae, controlled by the strong westerlies that affected the northwestern part of the Iberian Peninsula during the past autumn 2014.

1. INTRODUCCIÓN

Haematococcus pluvialis (Volvocales, Chlorophyceae), también conocida como *Haematococcus lacustris* o *Sphaerella lacustris* es un tipo de microalga verde dulceacuícola y unicelular, capaz de sintetizar astaxantina, un pigmento rojo con propiedades antioxidantes, bajo condiciones de estrés y cuyo uso se ha extendido en la industria farmacéutica y agroalimentaria en los últimos años (GUERIN *et al.*, 2003; GUERRERO *et al.*, 1999). Su distribución geográfica es amplia, habiéndose descrito su presencia en todas las masas continentales del hemisferio norte, especialmente en Norteamérica y la fachada atlántica europea, siendo notable su ausencia en ambientes perimediterráneos (MARTÍNEZ-SILVA, 2011).

Este tipo de algas es autótrofa, capaz de obtener mediante la fotosíntesis, la energía necesaria para fijar el carbono (KERBY Y RAVEN, 1985; LORENZ Y CYSEWSKI, 2000); asimismo, son especialmente sensibles a las variaciones de intensidad, cantidad y calidad lumínica que pueden afectar a la distribución, tamaño y morfología de sus células (DOMÍNGUEZ-BOCANEGRA *et al.*, 2004; HARKER *et al.*, 1996; KOBAYASHI *et al.*, 1997).

El ciclo celular de crecimiento de *H. pluvialis* es complejo, cambiando a distintas formas celulares en función de las condiciones ambientales (ELLIOT, 1934). En condiciones ambientales favorables las masas de microalgas están compuestas de células vegetativas flageladas, mientras que en reposo presentan una forma esférica o elipsoidal (Fig.1). Sin embargo, bajo condiciones de estrés ambiental las células sufren cambios morfológicos dando lugar a la formación de grandes aplanosporas sin flagelos, inmóviles y de color rojo, que permiten

al organismo sobrevivir en un estado latente en condiciones extremas para facilitar de nuevo su germinación. Una vez las condiciones adversas reversionen, se produce la pérdida de la pared celular rígida de las aplanosporas, transformándose la envuelta que recubre el núcleo en una capa gelatinosa e iniciándose la degradación de la astaxantina (BOUSSIBA *et al.*, 1992; DROOP, 1955). Aunque la aparición de pequeñas cantidades de este compuesto en el citoplasma perinuclear aparece en las primeras células móviles, no se produce un aumento significativo del pigmento hasta la maduración de los quistes (MARTÍNEZ-SILVA, 2011; TRIKI *et al.*, 1997). Además, el pigmento se moviliza hacia la periferia de las células bajo la aplicación de luz, desplazándose hacia el interior tras su interrupción (YONG Y LEE, 1991). Este proceso es reversible, siempre y cuando los quistes maduros se transfieran a un medio con escasa intensidad lumínica.

En los últimos años, la mayoría de los registros de *Haematococcus* han sido descritos en zonas pantanosas del norte de Europa (Alemania, Inglaterra, Polonia, Suecia) (BURCHARDT, 2006; TOEPEL *et al.*, 2005); siendo muy escasos los casos de descripciones de la presencia de esta microalga en la península ibérica, localizados en: Asturias, Castellón, Cataluña, Granada, Guadalajara, La Rioja, Madrid, Murcia, Portugal, Sevilla y Valladolid (ABOAL, 1988; Álvarez-Cobelas, 1984; CABALLERO, 1929; CAMBRA, 1989; GONZÁLEZ-FRAGOSO, 1893; GUERRERO, 1927; LÁZARO IBIZA, 1900; MARGALEF, 1954; RINO, 1968; SÁNCHEZ-CASTILLO, 1983, respectivamente). En este trabajo presentamos un nuevo hallazgo de esta especie en la localidad zamorana de Ayoó de Vidriales, su identificación y los distintos estadios vitales observados en las muestras analizadas. El estudio fue completado con el análisis de datos meteorológicos realizado en las fechas en las que se produjo su registro. Estos datos, junto con la comparación con otros ejemplares de *Vitreochlamys velata* (hallados recientemente en el lago de Sanabria (PROYECTO AGUA, 2015), permiten realizar interpretaciones sobre la procedencia de los individuos de *H. pluvialis*, descartando un origen local. Nuestros resultados contribuyen a precisar la distribución espacial de este tipo de microalgas, transportadas por la acción de los vientos predominantes de componente oeste durante el otoño de 2014 que afectaron a la zona occidental de la península ibérica.

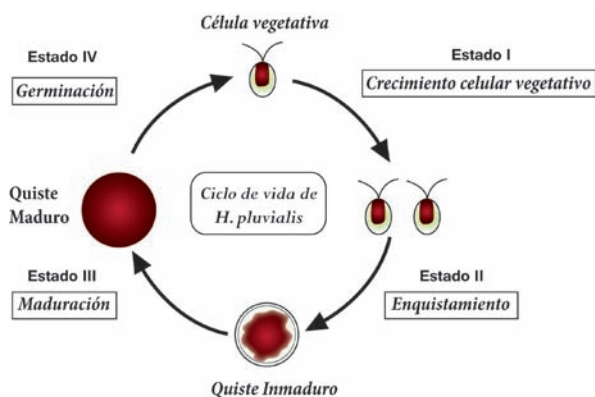


Figura 1. Diferentes estadios del ciclo evolutivo de *H. pluvialis*. Modificado de KOBAYASHI *et al.* (1997).

— Different stages of *H. pluvialis* life cycle. Modify after KOBAYASHI *et al.* (1997)

2. MARCO GEOGRÁFICO Y CLIMÁTICO

La localidad zamorana de Ayoó de Vidriales se sitúa en el límite provincial de León y Zamora (Fig.2). La distribución geográfica de los valles que conforman la comarca de Benavente, principalmente orientados NO-SE, facilita la formación de un microclima caracterizado por temperaturas suaves y lluvias estacionales. Las

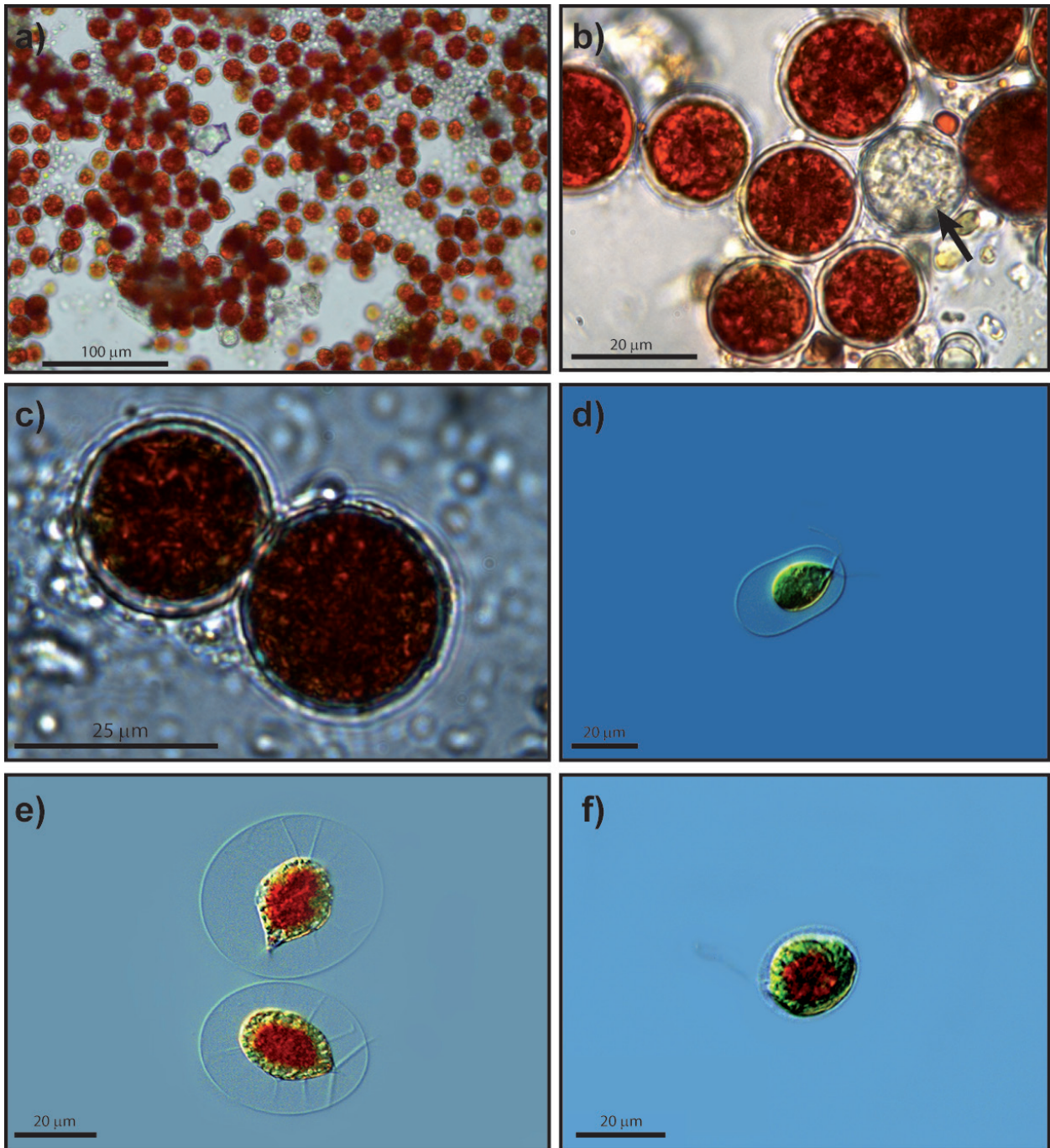


Figura 2. A) Colonia de microalgas *H. pluvialis* en estadio II (enquistamiento). B) Aplanosporas de *H. pluvialis*. El color rojo del núcleo celular corresponde a la producción de astanaxima. En la imagen se identifica un espécimen en fase vegetativa sin flagelos, también llamada palmella (núcleo y pared celular transparente), producto de la inhibición de carotenoides. C) Quistes coalescentes de *H. pluvialis*. D) Aspecto de la microalga *Vitreochlamys velata* (Korshikov) procedente del lago de Sanabria (PROYECTO AGUA (2015)). Obsérvese la diferencia con *Haematococcus* tanto en el tamaño como su morfología (elipsoidal).

— A) *H. pluvialis* sample during life cycle stage II (cyst). B) *H. pluvialis* aplanospores. Red color covering the cell nucleus corresponding to the astaxanthin production. The image shows a vegetative stage of a microalgae without flagella, also known as palmellae (transparent cellular nucleus and wall), as a result of the inhibition of carotenoids. C) *H. pluvialis* coalescent cysts. D) *Vitreochlamys velata* (Korshikov) from the Sanabria Lake (PROYECTO AGUA (2015)). Observe the differences in size and morphology (ellipsoidal) in comparison with *Haematococcus*.

condiciones meteorológicas en el 2014 fueron anormalmente cálidas y húmedas, especialmente en la mitad noroccidental de la península, registrándose fluctuaciones de temperaturas medias, entre octubre y diciembre de 16°-4° C; mientras que las precipitaciones presentaron valores en torno a 15-150 mm (MUNDOMANZ, 2015; AEMET 2014). La pluviosidad local está condicionada por el efecto pantalla que producen las montañas próximas y la condensación causada por los vientos, al poner en contacto masas de aire cálido y húmedo (procedentes del Atlántico), con las masas frías de la vertiente montañosa. La presencia de los relieves circundantes de la Cordillera Cantábrica y el Sistema Central, así como las montañas Galaico-Portuguesas, ofrecen características climáticas intermedias entre atlánticas y de meseta (NAFRÍA-GARCÍA *et. al.*, 2013). A ello contribuye de manera significativa la presencia de vientos con influencia continental del noroeste que arrastran las bajas temperaturas del norte; mientras que los vientos dominantes procedentes del oeste (de carácter atlántico), presentan unas condiciones templadas y húmedas, condicionando el régimen pluviométrico. Estas condiciones se ven perturbadas por procesos estacionarios como el reciente anticiclón, situado frente a las costas atlánticas, que durante semanas produjo la entrada de aire caliente y altas presiones entre los meses de noviembre y diciembre de 2014. Esta circunstancia contribuyó significativamente al desarrollo de las perturbaciones meteorológicas observadas, durante las cuales tuvo lugar el depósito aéreo de las microalgas estudiadas en este trabajo.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

Las muestras fueron recogidas en la comarca de Benavente, en la localidad de Ayoó de Vidriales (Zamora). El registro comprende tres meses de muestreo del agua, procedente de la lluvia, recogida entre el otoño y principios del invierno de 2014. Las muestras fueron examinadas bajo microscopio óptico petrográfico de luz polarizada Nikon Eclipse LV100 POL (dotado de analizador con platina giratoria) con un objetivo de 100× H/N2 aumentos y dos placas de $\lambda/4$. Las imágenes fueron tomadas con una cámara digital Nikon DS-Fi1.

Con el fin de acotar la procedencia de esta microalga, se procedió a analizar el registro meteorológico durante los meses de muestreo, analizando estadísticamente los datos aportados por el Global Forecast System (GFS) procedentes de Mundomanz (2015). Se tomó información de temperatura, régimen de pluviosidad y dirección del viento, permitiendo la obtención de rosas de direcciones para constreñir el periodo de aparición del alga y su posible área fuente de procedencia. Para ello se seleccionó la estación meteorológica más próxima (Santibañez de Vidriales \approx 7km), y

se tomaron datos de otras adyacentes para cubrir los periodos sin registro (Villardecievros \approx 29 km y Benavente \approx 35 km). Se tuvieron en cuenta los días de lluvia, que sirvieron posteriormente para fijar la ventana de búsqueda para otras estaciones a nivel regional (Bragança, León, Orense, Oviedo, Valladolid y Zamora), estableciéndose finalmente las direcciones predominantes de viento en esos días. Con estos datos se obtuvo un mapa de direcciones de viento dominante y para los días de lluvia ocurridos durante los meses de estudio.

4. RESULTADOS

En las muestras estudiadas, los especímenes de *H. pluvialis* se presentan en agrupamientos, formando *clusters* de dos o más células (Fig.2 a y b). Se han identificado dos estadios diferentes: pre- y post- producción de carotenoide. Aquellos organismos que se presentan en la primera fase (vegetativa sin flagelos, también llamada palmella) tienen diámetros en torno a 25-40 micras. Presentan una cubierta externa de 2-3 micras y son de color verde-transparente (Fig. 2 c). Sin embargo, la gran mayoría de las células estudiadas se presentan en el estadio de aplanospora con inclusiones de astaxantina en el interior de glóbulos citoplasmáticos y rodeadas por una biomembrana transparente a modo de pared celular extremadamente resistente. Las células maduras presentan una tonalidad roja uniforme, mientras que las jóvenes presentan una coloración clara y semitransparente.

En algunas muestras se ha observado la presencia de depredadores (células ameboides) unicelulares que se alimentan de estas algas, produciéndose un cambio de color en su tejido celular cuando las microalgas se encuentran en fase de enquistamiento.

El análisis de los datos meteorológicos permitió obtener rosas de direcciones de los vientos. Por un lado se obtuvieron las direcciones dominantes durante cada uno de los meses de registro y, por otro, los de aquellos días de cada mes en los que se produjo precipitación. El mapa de la Figura 3 muestra un fuerte contraste entre los valores de precipitación de la parte noroccidental de la península y del sureste (mucho mayores en el caso del primero), así como unos valores anómalos de precipitación en todo el noroeste peninsular. Los resultados del análisis de procedencia de los vientos indican direcciones SO-NE con una componente del SE para el mes de octubre. Mientras que los días de lluvia, los vientos principales tienen una procedencia del SO. En el mes de noviembre, la componente global de vientos mensuales se mantiene, indicando direcciones SO-NE. Sin embargo, los días de precipitación las masas de aire proceden del SO-NO (océano Atlántico). Finalmente, durante el mes de diciembre los vientos presentan una componente N-S, mientras que la componente

durante los días de lluvia es netamente del oeste (Fig.3).

5. DISCUSIÓN

La presencia de *H. pluvialis* en la provincia de Zamora, supone el primer registro de esta especie en la parte más occidental de la península ibérica. Sin embargo, su distribución geográfica sigue resultando incierta y parcial. En la actualidad se reconoce la afinidad de esta microalga, dulceacuícola por las aguas estancadas. Para poder delimitar su área de procedencia es necesario identificar las posibles fuentes de transmisión,

bien a través del agua o por la acción del viento o incluso ambas.

Un reciente trabajo desarrollado por PROYECTO AGUA (2015) para el estudio de especies dulceacuícolas en el lago de Sanabria ha permitido identificar la microalga *Vitreochlamys velata* ((Korshikov) (GERLOFF, 1940) *Chlamydomonas velata* Korshikov) (Fig.2 d). Esta especie está estrechamente emparentada con representantes del género *H. pluvialis* en cuanto a condiciones de vida y ecosistema acuático se refiere (continental de grandes masas de agua) y que ha sido descrita previamente. Por otro lado, *V. velata* se caracteriza por un tamaño que oscila entre las 15-38 micras

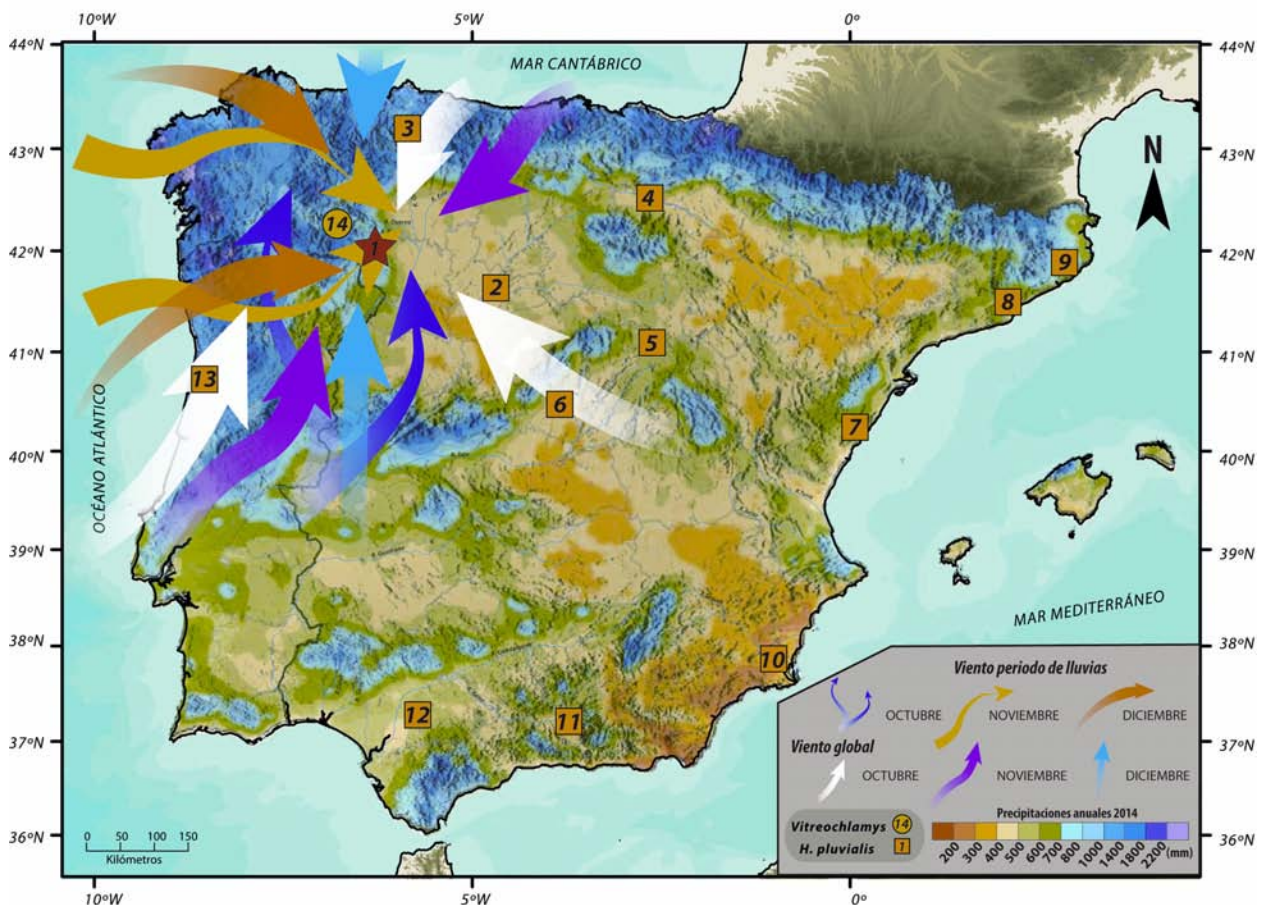


Figura 3. Localización de hallazgos *H. pluvialis* y *V. velata* en la península ibérica: (1) La estrella roja marca el hallazgo en la localidad de Ayoó de Vidriales (Zamora); (2) Valladolid, (3) Asturias, (4) La Rioja, (5) Guadalajara, (6) Madrid, (7) Castellón, (8) Barcelona, (9) Girona, (10) Murcia, (11) Granada, (12) Sevilla, (13) Beira y (14) Zamora. El mapa de precipitaciones medias anuales para 2014 muestra valores elevados en la zona noroccidental en comparación con la parte más meridional de la península. Las flechas marcan la trayectoria de los vientos calculados para las variaciones mensuales y el registro de direcciones de viento para los días de lluvia (ver detalles en el texto). Datos de precipitación anual procedentes de NAFRÍA-GARCÍA *et al.* (2013).

— Distribution of *H. pluvialis* and *V. velata* in the Iberian Peninsula: (1) red star marks the location of Ayoó de Vidriales (Zamora); (2) Valladolid, (3) Asturias, (4) La Rioja, (5) Guadalajara, (6) Madrid, (7) Castellón, (8) Barcelona, (9) Girona, (10) Murcia, (11) Granada, (12) Sevilla, (13) Beira y (14) Zamora. The mean annual rainfall map in the period of 2014 shows high precipitation values in the northwestern area of Iberia in comparison with the southernmost part of the peninsula. Arrows mark the distribution of mean winds observed for mean-monthly variations and the directions record calculated for raining days (see the text for details). Annual precipitation data from NAFRÍA-GARCÍA *et al.* (2013).

de largo y las 8-20 micras de ancho; el protoplanto suele mostrar forma elipsoidal o de huso y la longitud de los flagelos suele ser muy parecida a la del cuerpo de la célula. Además, *V. velata* presenta un cloroplasto en forma de copa y un único pirenoide esférico situado en la parte posterior y central de la célula; también posee un estigma (mancha ocular), elíptico, en la parte anterior. En la zona apical presenta dos pequeñas vacuolas contráctiles y el núcleo se sitúa en la parte anterior de la célula (ETTL, 1983).

El estudio de las variaciones meteorológicas producidas durante los tres meses de estudio a partir de datos de la AEMET, revela la entrada de frentes con lluvias y vientos dominantes procedentes del oeste y suroeste (Fig.3). Estudios llevados a cabo mediante modelos baroclínicos lineales muestran la respuesta atmosférica a las anomalías de temperatura superficial en el Atlántico Norte, principales precursoras de las corrientes de chorro originadas durante los meses del otoño e invierno (TING Y PENG, 1995). En particular, durante los meses de registro se observaron varios intervalos de actividad obtenidos de la base de datos del California Regional Weather Server (DEMPSEY, 2014). Durante el mes de octubre las corrientes atmosféricas mostraron una proveniencia del noroeste, entrando por el borde occidental de la península; mientras que en noviembre estos vientos afectaron a la fachada atlántica procedentes del norte y el oeste, cambiando a componente sur en las últimas semanas. El inicio de diciembre mantuvo componente norte, pero fue desplazándose hacia el noreste y sur para afectar de nuevo a la fachada atlántica a finales de mes. Recientemente, durante las últimas lluvias caídas el pasado 20 de febrero, se volvió a muestrear el agua de lluvia en busca de microorganismos, apareciendo nuevamente *H. pluvialis*. Se analizó la distribución de vientos para las mismas estaciones seleccionadas verificándose una fuerte componente de dirección oeste-suroeste en la entrada de vientos desde el Atlántico.

Los resultados de este estudio indican que *H. pluvialis* sólo aparece en las muestras de agua de lluvia, mientras que en el lago de Sanabria se registró exclusivamente la presencia de *V. velata*. La llegada de vientos procedentes del oeste, noroeste y el suroeste parece apuntar a la entrada de las microalgas desde la fachada atlántica. En este caso, las condiciones meteorológicas que gobernaron el otoño de 2014 podrían ser un mecanismo eficiente para el transporte de este tipo de microorganismos, capaces de resistir condiciones extremas en estado latente, hasta que las condiciones ambientales mejoren (ELLIOT, 1934).

5. CONCLUSIONES

En este trabajo se describe el hallazgo de la microalga *H. pluvialis* en la localidad zamorana de Ayoó de Vidriales. El análisis de los

especímenes permite: i) diferenciar dos estadios vitales diferentes, caracterizados por la síntesis de carotenoide en los ejemplares recogidos; y ii) añadir un nuevo dominio a la distribución geográfica de esta especie. El estudio documenta la ausencia de *H. pluvialis* en masas lacustres próximas. El hallazgo permite interpretar la contribución de los vientos del oeste, que afectaron a la parte occidental de la península ibérica durante el otoño de 2014, a la dispersión de esta especie en el hemisferio norte. Aunque desconocemos su procedencia exacta, podemos interpretar la entrada de vientos y lluvia desde poniente como principal responsable del transporte de este organismo.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado bajo el Programa de Financiación de Grupos de Investigación 2014 de la Universidad de Salamanca. Javier Fernández Lozano desea agradecer a la Junta de Castilla y León por la concesión de su contrato postdoctoral. Los autores agradecen a Enrique Rico y Piedad Franco por los comentarios y sugerencias que han ayudado a mejorar este manuscrito, y a Marta Martínez Sánchez por su asistencia en la toma de imágenes, todos ellos de la Universidad de Salamanca.

BIBLIOGRAFÍA

- ABOAL, M., 1988. Aportación al conocimiento de las algas epicontinentales del SE de España. VII. Clorofíceas (Chlorophyceae Wille in Warming 1884). *Candollea*, **43**: 521-548.
- AEMET, 2014. Agencia Estatal de Meteorología. <http://www.aemet.es/es/portada> [Consulta: 01/12/2014].
- ÁLVAREZ - COBELAS, M., 1984. Catálogo de las algas continentales españolas. II." Craspedophyceae, Cryptophyceae, Chrysophyceae, Dinophyceae, Euglenophyceae, Haptophyceae, Phaeophyceae, Rhodophyceae, Xanthophyceae. *Actas de Botánica Malacitana*, **9**: 27-40.
- BOUSSIBA, S., FAN, L. & VONSHAK, A., 1992. Enhancement and determination of astaxanthin accumulation in green alga *Haematococcus pluvialis*. *Methods in enzymology*, **213**: 386-391.
- BURCHARDT, L., BALCERKIEWICZ, S., KOKOCINSKI, M., SAMARDAKIEWICZ, S. & ADAMSKI, Z., 2006. Occurrence of *haematococcus pluvialis* florum emend while in a small artificial pool on the university campus of the collegium biologicum in poznan (Poland). *Biodiversity Research and Conservation*, **1-2**: 163-166.
- CABALLERO, S., 1929. Datos sobre la flora algológica de Guadalajara, I-III. *Boletín de la Real Sociedad Española de Historia Natural*, **29**: 217-225.
- CAMBRA, J.A.H.-M., M.C., 1989. Observaciones sobre las algas corticócoales del nordeste y sudeste de España. *Anales del Jardín Botánico*, **46**: 115-126.
- DEMPSEY, D., 2014. North Atlantic Jet Stream Maps [en línea] http://squall.sfsu.edu/crws/archive/jet_atl_arch.html [Consulta: 25/02/2015].

- DOMINGUEZ-BOCANEGRA, A., LEGARRETA, I.G., JERONIMO, F.M. & CAMPOCOSIO, A.T., 2004. Influence of environmental and nutritional factors in the production of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*. *Bioresource technology*, **92**: 209-214.
- DROOP, M., 1955. Carotenogenesis in *Haematococcus pluvialis*. *Nature*, **175**: 42.
- ELLIOT, A., 1934. Morphology and life history of *Haematococcus pluvialis*. *Arch. Protistenk*, **82**: 250-272.
- ETTL, H., 1983. H. Ettl, J. Gerloff, D. Mollenhauer (Eds.). *Chlorophyta I. Phytomonadina*. Süßwasserflora von Mitteleuropa. Stuttgart 9.
- FAVET, J., LAPANJE, A., GIONGO, A., KENNEDY, S., AUNG, Y.-Y., CATTANEO, A., DAVIS-RICHARDSON, A.G., BROWN, C.T., KORT, R. & BRUMSACK, H.J., 2013. Microbial hitchhikers on intercontinental dust: catching a lift in Chad. *The ISME Journal*, **7**: 850-867.
- GERLOFF, J., 1940. Beiträge zur Kenntnis der Variabilität und systematik der Gattung Chlamydomonas. *Arch. Protistenk*, **94**: 311-502.
- GONZÁLEZ-FRAGOSO, R., 1893. Notas algológicas. Algas de las costas de Cádiz. *Anales de la Sociedad Española de Historia Natural*, **22**: 162-163.
- GUERIN, M., HUNTLEY, M.E. & OLAIZOLA, M., 2003. *Haematococcus* astaxanthin: applications for human health and nutrition. *Trends in Biotechnology*, **21**: 210-216.
- GUERRERO, M.G., RODRIGUEZ, H., VARGAS, M., GARCÍA-GONZÁLEZ, M., CAMPO, J.A.D., MORENO, J. & RIVAS, J., 1999. Las microalgas como productoras de pigmentos con interés comercial. *Simposio Científico en Biología Celular y Molecular*. La Coruña. **48**: 215-232.
- GUERRERO, P.G., 1927. *Contribución al estudio de las algas y esquizófitas de España*. Junta para Ampliación de Estudios e investigaciones Científicas, Instituto Nacional de Ciencias Físico-Naturales.
- HARKER, M., TSAVALOS, A.J. & YOUNG, A.J., 1996. Factors responsible for astaxanthin formation in the chlorophyte *Haematococcus pluvialis*. *Bioresource Technology*, **55**: 207-214.
- KERBY, N., RAVEN, J.A., 1985. Transport and fixation of inorganic carbon by marine algae. *Advances in Botanical Research*, **11**: 71-123.
- KOBAYASHI, M., KURIMURA, Y. & TSUJI, Y., 1997. Light-independent, astaxanthin production by the green microalga *Haematococcus pluvialis* under salt stress. *Biotechnology letters*, **19**: 507-509.
- LÁZARO IBIZA, B., 1900. Contribuciones a la flora de la Península Ibérica. Notas críticas acerca de la flora española (Segunda serie). *Anales de la Sociedad Española de Historia Natural*, **29**: 125-176.
- LORENZ, R.T. & CYSEWSKI, G.R., 2000. Commercial potential for *Haematococcus* microalgae as a natural source of astaxanthin. *Trends in biotechnology*, **18**: 160-167.
- MARGALEF, R., 1954. Materiales para una flora de las algas del NE de España, V a, Bacillariophyta. *Collectanea Botanica*, **4**: 53-79.
- MARTÍNEZ-SILVA, A.S., 2011. *Evaluación del crecimiento celular y de los pigmentos obtenidos de la microalga Haematococcus pluvialis (CHLOROPHYTA: VOLVOCALES) cultivada en diferentes medios*. Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada. Instituto Politécnico Nacional., México, D.F., págs. 103.
- MUNDOMANZ, 2015. *Base de datos meteorológicos SYNOPSIS* [en línea] http://www.mundomanz.com/meteo_p/main [Consulta: 05/02/2015]
- NAFRÍA-GARCÍA, D., GARRIDO DEL POZO, N., ÁLVAREZ-ARIAS, M.A., CUBERO JIMÉNEZ, D., FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ, M., VILLARINO-BARRERA, I., GUTIÉRREZ-GARCÍA, A. & ABIA-LLERA, I., 2013. *Atlas agroclimático de Castilla y León*. Junta de Castilla y León, 137 págs.
- PROSPERO, J., BLADES, E., MATHISON, G., NAIDU, R., 2005. Interhemispheric transport of viable fungi and bacteria from Africa to the Caribbean with soil dust. *Aerobiologia*, **21**: 1-19.
- PROYECTO AGUA, 2009. IES Escultor Daniel [en línea] <https://www.flickr.com/photos/microagua/3241509981/> [Consulta: 18/02/2015].
- PROYECTO AGUA, 2015. IES Escultor Daniel [en línea] <https://www.flickr.com/photos/microagua/3274215777/> [Consulta: 18/02/2015].
- RINO, A.J., 1968. Subsídios para o conhecimento das algas de Portugal. *An. Soc. Brot., Sér. 2*, **37**: 45-69.
- SÁNCHEZ CASTILLO, P., 1983. Clorofitas de la ciudad de Granada. Trabajos del Departamento de Botánica. *Universidad de Granada*, **8**: 63-79.
- TING, M., PENG, S., 1995. Dynamics of the early and middle winter atmospheric responses to the northwest Atlantic SST anomalies. *Journal of climate*, **8**: 2239-2254.
- TOEPEL, J., LANGNER, U. & WILHELM, C., 2005. Combination of Flow Cytometry and Single Cell Absorption Spectroscopy To Study the Phytoplankton Structure and To Calculate the Chl a Specific Absorption Coefficients At the Taxon Level. *Journal of phycology*, **41**: 1099-1109.
- TRIKI, A., MAILLARD, P. & GUDIN, C., 1997. Gametogenesis in *Haematococcus pluvialis* Flotow (Volvocales, Chlorophyta). *Phycologia*, **36**: 190-194.
- YONG, Y. & LEE, Y.-K., 1991. Do carotenoids play a photoprotective role in the cytoplasm of *Haematococcus lacustris* (Chlorophyta)? *Phycologia*, **30**: 257-261.

