

AUTORIZACIÓN DE USO DE DERECHOS DE AUTOR OTORGADO POR

Ruth Torres Moreno, mayor de edad, con domicilio ubicado en Río Pánucó 321, Los Encinos, Altamira, Tamps., en mi calidad de titular y autor de la tesis denominada "ESTUDIO DE MICROALGAS DEL SISTEMA LAGUNARIO DEL SUR DE TAMAULIPAS" quien para todos los fines del presente documento se denominará **EL AUTOR Y/O TITULAR**, suscribo el presente documento de autorización de uso de derechos patrimoniales de autor a favor del Instituto Tecnológico de Ciudad Madero el cual se registrá por clausulas siguientes:

PRIMERA - AUTORIZACIÓN: **EL AUTOR Y/O TITULAR**, mediante el presente documento autoriza la utilización de los derechos patrimoniales de autor al Instituto Tecnológico de Ciudad Madero, de la tesis denominada "ESTUDIO DE MICROALGAS DEL SISTEMA LAGUNARIO DEL SUR DE TAMAULIPAS", a través del Repositorio Institucional del Tecnológico Nacional de México (en lo sucesivo TecNM) y en el Repositorio Nacional, que puede ser consultado en la liga electrónica: (<https://www.repositorionacionalcti.mx/>).

SEGUNDA - OBJETO: Por medio del presente escrito, **EL AUTOR Y/O TITULAR** Autoriza al Instituto Tecnológico de Ciudad Madero, a través del Repositorio Institucional del Tecnológico Nacional de México (en lo sucesivo TecNM) y en el Repositorio Nacional para que de conformidad con la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley de la Propiedad Industrial, use los derechos del documento antes referido, con fines exclusivamente académicos.

TERCERA - TERRITORIO: Los derechos aquí Autorizados se dan sin limitación geográfica o territorial alguna.

CUARTA - ALCANCE: La presente autorización se da tanto para formato o soporte material, y se extiende a la utilización en medio óptico, magnético, electrónico, en red, mensajes de datos o similar conocido o por conocer, del ejemplar o número respectivo de la publicación.

QUINTA - EXCLUSIVIDAD: La autorización de uso aquí establecida no implica exclusividad en favor del Instituto Tecnológico de Ciudad Madero. Por lo tanto **EL AUTOR Y/O TITULAR** en su carácter de autor de la obra objeto del presente documento se reserva el derecho de publicar directamente, u otorgar a cualquier tercero, autorizaciones de uso similares o en los mismos términos aquí acordados.

SEXTA - DERECHOS MORALES (Créditos y mención): La Autorización de los derechos antes mencionados no implica la cesión de los derechos morales sobre los mismos por cuanto en conformidad con lo establecido en los artículos 18, 19, 20, 21, 22 y 23 de la Ley Federal de Derechos de Autor, dada la cuenta que estos derechos son inalienables, imprescriptibles, irrenunciables e inembargables. Por lo tanto, los mencionados derechos seguirán radicados en cabeza de **EL AUTOR Y/O TITULAR**, y siempre deberá mencionarse su nombre cuando se utilice la obra.

SÉPTIMA - AUTORIA: **EL AUTOR Y/O TITULAR**, declara y ratifica que el material objeto de la presente y fue realizada por él (o ella) sin violar o usurpar derechos de Propiedad Intelectual de terceros.

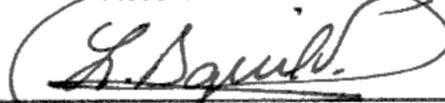
Ciudad Madero, Tamps. a 11 días del mes de noviembre de 2020.

Autor de la Tesis



Ruth Torres Moreno
No. CVU 934379

Asesor de la Tesis



Luciano Aguilera Vázquez
No. CVU 123018

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE CIUDAD MADERO
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA INGENIERÍA



TESIS

**ESTUDIO DE MICROALGAS DEL SISTEMA LAGUNARIO DEL SUR DE
TAMAULIPAS**

Que para obtener el grado de:
Maestra en Ciencias de la Ingeniería

Presenta:
Ing. Ruth Torres Moreno
G18073008

Director de Tesis:
Dr. Luciano Aguilera Vázquez

Co-Directora de Tesis:
Dra. Mónica Cristina Rodríguez Palacio.



"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

Cd. Madero, Tam. 05 de noviembre de 2020

OFICIO No. : U.051/20
ÁREA: DIVISIÓN DE ESTUDIOS
DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
ASUNTO: AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN DE TESIS

ING. RUTH TORRES MORENO
No. DE CONTROL G18073008
P R E S E N T E

Me es grato comunicarle que después de la revisión realizada por el Jurado designado para su Examen de Grado de Maestra en Ciencias de la Ingeniería, se acordó autorizar la impresión de su tesis titulada:

"ESTUDIO DE MICROALGAS DEL SISTEMA LAGUNARIO DEL SUR DE TAMAULIPAS"

El Jurado está integrado por los siguientes catedráticos:

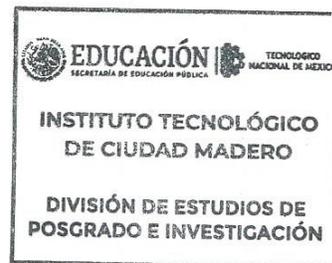
PRESIDENTE:	DR. LUCIANO AGUILERA VÁZQUEZ
SECRETARIO:	DRA. MARÍA LUCILA MORALES RODRÍGUEZ
VOCAL:	DR. ULISES PÁRAMO GARCÍA
SUPLENTE:	DR. PEDRO MARTÍN GARCÍA VITE
DIRECTOR DE TESIS:	DR. LUCIANO AGUILERA VÁZQUEZ
CO-DIRECTOR DE TESIS:	M.C. MÓNICA CRISTINA RODRÍGUEZ PALACIOS

Es muy satisfactorio para la División de Estudios de Posgrado e Investigación compartir con Usted el logro de esta meta. Espero que continúe con éxito su desarrollo profesional y dedique su experiencia e inteligencia en beneficio de México.

ATENTAMENTE

*Excelencia en Educación Tecnológica.
"Por mi patria y por mi bien"*

JOSÉ AARÓN MELO BANDA
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE
POSGRADO E INVESTIGACIÓN



c.c.p.- Archivo

JAMB 'MCI 'ALMS**



Dedicatoria

A mis padres, esto es para ustedes que son mi sostén y apoyo incondicional; a tía Lore, tus consejos han sido parte fundamental de este proceso y a mi hermano.

A mis asesores y profesores, que si bien dijo Isaac Netwon *"Si he logrado ver más lejos, ha sido porque he subido a hombros de gigantes"* y aquí ustedes son mis gigantes.

Y también a ti mi amor, por ser la luz que necesito siempre que la mía esta por extinguirse.

Agradecimientos

A mis padres, Rogelio y Antonia, que jamás me han dejado sola y me han apoyado en cada paso que doy, sin lugar a dudas no habría llegado hasta donde estoy sin ustedes, los adoro con el alma, son los mejores. A mi tía Lorena, aún a la distancia la he sentido cerca con su apoyo y consejo, te quiero. A mi hermano por ser ese apoyo silencioso en ocasiones necesarias.

A mis asesores, Dr. Luciano y Dra. Mónica, que sin su guía, su apoyo, su consejo y por su puesto de no ser porque ustedes vieron en mí el potencial que ni yo sabía que tenía este proyecto jamás hubiera salido adelante, los consideres más que mis asesores, mis amigos, familia de hecho.

A Florencia, mi mejor amigo, que en todos los años que tenemos de conocernos siempre ha dicho que puedo llegar lejos y aquí estamos, un paso a la vez.

Agradecimientos

Y por último pero no menos importante a mi amor, José Luis, quién se quedo a mi lado incluso cuando ni yo me hubiese quedado. Te amo.

Agradecimientos especiales:

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo brindado a través de la beca 934379.

Al Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Ciudad Madero por las facilidades para la realización de este proyecto.

Estudio de microalgas del sistema lagunario del sur de Tamaulipas

Ruth Torres Moreno

Resumen

La presente investigación realiza un análisis al sistema lagunario del sur de Tamaulipas, en específico a dos lagunas: Champayán y El Conejo; el objetivo principal es la identificación de la biodiversidad microalgal con la que cuenta cada laguna, aislar microalgas de ambos cuerpos y realizar una caracterización de dichas lagunas para el futuro aprovechamiento biotecnológico de las microalgas aisladas. A ambas lagunas se les realizaron pruebas de Demanda Química de Oxígeno (DQO) y Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) para determinación de carga orgánica, además de mediciones de temperatura y pH. Aunado a ello se realizaron revisión de muestras de agua al microscopio para la identificación de especies microalgales; todo esto realizado en un tiempo que abarca desde el mes de julio 2019 a noviembre 2019 en períodos bimestrales, llevando a cabo tres tomas de muestras por bimestre en ambos cuerpos de agua; en cada laguna se seleccionaron cinco puntos para la obtención de muestras.

Se obtuvieron resultados promedios en El Conejo de 143.62 mg O₂/L y 60.12 mg O₂/L para DQO y DBO respectivamente; en Champayán los resultados fueron de 27.98 mg O₂/L para la

DQO y 15.87 mg O₂/L para DBO. Esto nos indica que la calidad del agua de Champayán se encuentra clasificada como Aceptable y la de El Conejo como Contaminada, mismo que se pudo corroborar en las muestras de agua analizadas para identificación de microalgas. Mientras que en Champayán se detectaron especies como *Desmodesmus*, *Chlorella*, *Scendesmus*, *Ankistrodesmus* y *Pediastrum*, esta última identificada como bioindicador de buena calidad del agua. En cambio, en El Conejo fue detectado un Florecimiento Algal Nocivo (FAN) de una especie identificada como *Planktothrix*, esta microalga está catalogada como productora de toxinas por lo que se sugiere continuar trabajando en El Conejo para obtener más información al respecto. Por último, se lograr aislar y crear cultivos monoespecíficos y mixtos de *Chlorella sp*, *Desmodesmus*, *Ankistrodesmus sp*, *Scendesmus acuminatus*, *Coelastrum sp* y *Oocystis*, especies que cuentan con potencial biotecnológico en diversas áreas.

(Palabras clave: microalgas, carga orgánica, dco, dbo, toxina)

Study of microalgae in the southern lagoon system of Tamaulipas

Ruth Torres Moreno

Abstract

The present investigation carries out an analysis of the lagoon system of southern Tamaulipas, specifically two lagoons: Champayán and El Conejo; the main objective is to identify the microalgal biodiversity of each lagoon, isolate microalgae from both bodies and characterize these lagoons for future biotechnological use of the isolated microalgae. Both lagoons were tested for Chemical Oxygen Demand (COD) and Biochemical Oxygen Demand (BOD) for the determination of organic load, as well as temperature and pH measurements. In addition, water samples were checked under the microscope for the identification of microalgal species; all this was done during the period from July 2019 to November 2019 in bimonthly periods. Three samples were taken per bimonth in both water bodies; five points were selected in each lagoon to obtain samples.

Average results were obtained for El Conejo of 143.62 mg O₂/L and 60.12 mg O₂/L for COD and BOD respectively; in Champayán the results were 27.98 mg O₂/L for COD and 15.87 mg O₂/L for BOD. This indicates that the quality of water in Champagne is classified as acceptable

and El Conejo as contaminated, which could be corroborated in the water samples analyzed for identification of microalgae. While in Champayán were detected species such as *Desmodesmus*, *Chlorella*, *Scendesmus*, *Ankistrodesmus* y *Pediastrum*, the latter identified as a bioindicator of good water quality. On the other hand, in El Conejo a Harmful Algal Bloom (HAB) was detected of a species identified as *Planktothrix*, this microalgae is catalogued as a producer of toxins so it is suggested to continue working in El Conejo to obtain more information about it. Finally, it is possible to isolate and create monospecific and mixed cultures of *Chlorella sp*, *Desmodesmus*, *Ankistrodesmus sp*, *Scendesmus acuminatus*, *Coelastrum sp* y *Oocystis*, species that have biotechnological potential in various areas.

(Keywords: microalgae, organic load, cod, bod, toxin)

Índice general

Resumen	VIII
Abstract	X
Índice de Tablas	XV
Índice de Figuras	XVII
1 Introducción	1
1.1 Planteamiento del problema	6
1.2 Objetivos	9
1.3 Justificación del estudio	10
2 Antecedentes	12
2.1 Ecosistema	12
2.2 Diversidad microalgal	14
2.3 Biocombustibles	16
2.4 Otros productos de interés que se obtienen de las microalgas	18
2.5 Fundamento teórico	20
2.5.1 El ciclo trófico	20
2.5.2 Impacto Ambiental	22
2.5.3 Eutrofia	23
2.5.4 Materia orgánica en cuerpos de agua	24
2.5.5 Urbanización	25
2.5.6 Microalgas en lagunas cercanas a zonas urbanas	26

2.6	Métodos de aislamientos de microorganismos acuáticos	28
2.6.1	Métodos de Aislamiento	29
3	Metodología	34
3.1	Muestreo	36
3.2	Caracterización de la carga orgánica en el agua	38
3.2.1	Determinación de la demanda química de oxígeno	40
3.2.2	Medición de la demanda bioquímica de oxígeno	41
3.3	Aislamiento	43
3.3.1	Obtención de muestras	44
3.3.2	Revisión de muestras	45
3.3.3	Métodos de Aislamiento	45
4	Equipos y Materiales	49
4.1	Muestreo	49
4.2	Demanda Química de Oxígeno	50
4.3	Demanda Bioquímica de Oxígeno	51
4.4	Aislamiento	51
5	Evolución de parámetros relacionados con la carga orgánica	53
5.1	Caracterización de las Lagunas El Conejo y Champayán	53
5.1.1	Laguna El Conejo	55
5.1.2	Laguna Champayán	58
6	Evaluación de la flora y fauna presente	60
6.1	Revisión de muestras al microscopio	60
6.2	Identificación de especies	61
6.3	Aislamiento de cepas específicas con interés biotecnológico	66
6.3.1	<i>Chlorella</i>	68

6.3.2	<i>Desmodesmus</i>	70
7	Conclusiones y Trabajos Futuros	73
7.1	Conclusiones	73
7.2	Trabajos Futuros	75
7.3	Productos académicos	75
	Bibliografía	76

Índice de Tablas

Tabla 3.1	Volúmenes de muestra simplificados	42
Tabla 5.1	Datos de muestreos en Lagunas El Conejo y Champayán	54
Tabla 5.2	Clasificación DQO y DBO ₅	54
Tabla 5.3	Valores de DQO y DBO ₅ en la Laguna El conejo	55
Tabla 5.4	Valores de DQO y DBO ₅ en la Laguna de Champayán	58
Tabla 6.1	Muestras Microalgas	61
Tabla 6.2	Microagas encontradas en Laguna Champayán	62
Tabla 6.3	Cepas obtenidas por diluciones seriadas - Noviembre	71
Tabla 6.4	Cepas obtenidas por diluciones seriadas - Diciembre	72

Índice de Figuras

Figura 1.1	Zona Sur del Estado de Tamaulipas	7
Figura 2.1	Esquema simplificado de un tipo de ecosistema	13
Figura 2.2	Cadena trófica	21
Figura 2.3	Impacto ambiental	22
Figura 2.4	Aislamiento con pipeta	30
Figura 2.5	Diluciones seriadas	31
Figura 2.6	Cultivo en medio sólido	33
Figura 3.1	Diagrama de flujo	35
Figura 3.2	Puntos de muestreo	37
Figura 3.3	Muestreo en la Laguna El Conejo.	39
Figura 3.4	Montaje de equipo DQO	40
Figura 3.5	Cambios de color en la titulación del DQO.	41
Figura 3.6	Análisis de DBO ₅	43
Figura 3.7	Muestreo con red.	44
Figura 3.8	Primeras muestras revisadas	45
Figura 3.9	Tubo Eppendorf con medio	46
Figura 3.10	Aislamiento por diluciones seriadas	47
Figura 3.11	Cultivo de microalga en medio bacteriológico	48
Figura 5.1	Resultados de DQO y DBO ₅ de la Laguna El Conejo.	55
Figura 5.2	Punto de descarga de residuos en laguna El Conejo	57

Figura 5.3	Resultados DQO y DBO ₅ de la Laguna Champayán	58
Figura 6.1	Revisión de muestras	61
Figura 6.2	Especies encontradas en laguna Champayán 1	62
Figura 6.3	Especies encontradas en laguna Champayán 2	63
Figura 6.4	Muestra de laguna El Conejo	65

Nomenclatura

Abreviaciones

DBO₅ Demanda Bioquímica de Oxígeno

CONAGUA Comisión Nacional del Agua

DQO Demanda Química de Oxígeno

FAN Florecimiento Algal Nocivo

Fórmulas químicas

(NH₄)₂Fe(SO₄)₂·6H₂O Sulfato Ferroso Amónico

HgSO₄ Sulfato de Mercurio II

Ag₂SO₄ Sulfato de plata

CO₂ Dióxido de carbono

H₂SO₄ Ácido Sulfúrico

K₂Cr₂O₇ Dicromato de potasio

O₂ Oxígeno

Introducción

Las algas juegan un papel muy importante en la evolución de la vida en nuestro planeta como lo conocemos hoy en día. Estos microorganismos presentan gran diversidad de formas, pueden ser seres microscópicos unicelulares, flagelados u organismos multicelulares y medir hasta 50 metros de largo. Su origen se remonta al inicio de la vida en el planeta, ya que la atmósfera terrestre estaba compuesta principalmente por dióxido de carbono (CO_2), así que para sobrevivir las primeras formas de vida iniciaron a captar energía de la luz solar y utilizaron el carbono como bloque de construcción para almacenar energía y construir biomasa. Inicialmente, esta función recayó en cianobacterias y posteriormente, en microalgas verdes por su capacidad fotosintética. Su evolución y dispersión en las aguas de dicha era permitieron un importante cambio en la composición de la atmósfera produciendo O_2 como subproducto, hasta alcanzar las concentraciones que se tienen hoy en día [1]. Las microalgas son microorganismos identificados como la primera forma de vida en el planeta, responsables

de la fijación de grandes cantidades de dióxido de carbono, y de la producción y mantenimiento del oxígeno atmosférico, permitiendo el crecimiento evolutivo de todas las formas de vida superior [2].

Las microalgas son el primer eslabón de la cadena trófica o alimentaria, aunque generalmente microscópicas pueden crecer tanto poblacionalmente hablando que pueden hacer visibles a simple vista, la mayoría de las veces de forma agregada, otras incluso, generan una turbiedad evidente en los cuerpos de agua [3]. Debido a la capacidad anteriormente descrita, pueden contribuir de forma importante a subsanar problemas ambientales como el cambio climático, identificado como de especial atención en las últimas tres décadas [4]. De igual modo, cuando crecen en ambientes ricos en materia orgánica, es posible que tengan una participación considerable en la bioremediación de estos ecosistemas con altas cantidades de materia orgánica.

Los microorganismos fotótrofos microscópicos (fitoplancton) juegan un papel crucial en el mantenimiento del equilibrio de los ecosistemas acuáticos, representando aproximadamente la mitad de la producción primaria de la Tierra y jugando un papel de importancia para la regulación del clima y los ciclos biogeoquímicos. Además las algas contribuyen al balance de oxígeno, dan inicio al flujo de energía en estos ecosistemas [5].

Las cianobacterias se han identificado tanto como fuente de diversas proteínas, minerales y vitaminas A, B, C y E, así como yodo, carbohidratos, potasio y pigmentos, que son utilizados como nutraceuticos, antioxidantes y complementos alimenticios [6]. En las últimas décadas se han realizado estudios del uso de las microalgas como fuente de carbohidratos o aceites que sirven para sintetizar biocombustibles de cuarta generación [7]. De igual modo, las microalgas han sido utilizadas para la generación de biohidrógeno que es un subproducto de su metabolismo [8].

Para la realización de la fotosíntesis, las algas verdes contienen los pigmentos clorofila A y B [9], y metabólicamente tienen la capacidad de almacenar carbohidratos o lípidos de acuerdo a las condiciones ambientales en las que habitan. Esta característica las hacen atractivas para su uso en la generación de biocombustibles. Dentro de las especies de microalgas, en la división *Chlorophyta* existen varios grupos de estas que acumulan como una estrategia de supervivencia ácidos grasos de interés, y en algunos casos son constituidas en su mayor parte por dichos compuestos [10]. A nivel mundial, algunas especies de microalgas como *Chlorella*, *Dunaliella*, *Nannochloropsis*, *Scenedesmus* y *Schizochytrium* se utilizan para la producción de aceites, encontrándose en algunas especies concentraciones de lípidos en el rango del 20 al 50% en base seca [11, 12].

Las microalgas y cianobacterias han sido utilizadas como suplemento nutritivo desde la época prehispanica, así también como materia prima para la producción de fármacos y cosméticos en nuestros días; además, de la obtención a partir de ellas de biomasa que puede ser utilizada en la producción de biofertilizantes y biocombustibles.

La biorremediación es otro campo en donde estos microorganismos han sido ampliamente utilizadas [13], dada la capacidad de éstas de potenciar su crecimiento en aguas con nutrientes como compuestos orgánicos y sustancias químicas ricas en nitrógeno y fósforo, mismos que son abundantes en las descargas de aguas residuales tanto industriales como urbanas. Esta capacidad de transformar rápidamente elementos inorgánicos a orgánicos sustentan el desarrollo y el crecimiento de organismos heterótrofos.

Cualquier cambio en la base de la cadena alimentaria acuática puede tener consecuencias importantes para todo ecosistema y como consecuencia tendrá un efecto indirecto sobre el cambio climático y viceversa. Es posible que el grupo de fitoplancton dominante en los cuerpos de agua experimente cambios. En términos generales, la cubierta de hielo de los lagos de altura

situados en zonas de latitud elevada se reducirá, las aguas serán más cálidas, la temporada de crecimiento se prolongará y la abundancia de algas y la productividad serán mayores. Por el contrario, algunos lagos tropicales experimentarán una menor abundancia de algas y pérdida de productividad, probablemente a causa de una limitada reposición de nutrientes [14].

México es una nación geográficamente privilegiada al ocupar el lugar 17 entre los países con mayor megadiversidad, posee características únicas que posibilitan la existencia de una gran cantidad de especies [15], de las cuales destacan las algas, mismas que son un recurso de gran importancia para el ser humano debido a que como ya se mencionó, son las responsables de la transformación y el mantenimiento de la atmósfera actual que contiene 20% de oxígeno, gas vital que usamos para respirar [16].

En la región Sur del Estado de Tamaulipas se encuentran tres municipios importantes por su actividad económica e historia, a saber, Tampico, Ciudad Madero y Altamira. El municipio de Altamira ha cobrado vital importancia debido a que se ubica gran parte del corredor industrial Tampico-Madero-Altamira. Parte de la actividad económica que se observa en la región depende de los puertos de altura de Tampico y de Altamira. Estos tres municipios de la zona Sur están rodeados por un extenso sistema lagunario el cual ha sido poco estudiado en cuanto a nivel de calidad de agua y biodiversidad microalgal.

El propósito de este proyecto es conocer la biodiversidad microalgal presente en el agua del sistema lagunario de dos cuerpos de agua principales en el municipio de Altamira, en el Sur del Estado de Tamaulipas. Así como determinar las condiciones de carga orgánica que condicionan su crecimiento y la calidad del agua de dichos cuerpos. Se identificarán las especies de microalgas y cianobacterias presentes en las lagunas logrando con esta investigación tener los primeros listados de ficoflora en la zona de estudios. Así mismo es establecer cultivos

de algunos de los microorganismos presentes, los cuales además, de ser un acervo genético brindarán la oportunidad de realizar estudios posteriores en procesos de bioremediación, producción de lípidos, biofertilizantes, entre otros.

1.1. Planteamiento del problema

Hoy en día uno de los problemas más graves a los que se enfrenta la humanidad es el deterioro medio ambiental, que en gran medida es provocado por la quema de combustibles fósiles derivados de actividades industriales y principalmente del transporte, aunado a la generación de los residuos industriales que son expulsados a la atmósfera y cuencas. El uso de microalgas en el aprovechamiento de dióxido de carbono es una estrategia explorada para buscar diferentes productos de interés a partir de su biomasa, como carbohidratos, lípidos, proteínas, colorantes, nutrientes y fármacos. En el presente proyecto se pretende conocer las condiciones en las que se encuentran dos lagunas del sistema lagunario del Sur de Tamaulipas; colocando particular interés en la carga orgánica de las mismas. Además, se busca identificar la diversidad microalgal de ambas lagunas ya que, es posible encontrar especies que podrían ser productoras de carbohidratos o lípidos, y/o con potencial para la bioremediación.

Por otra parte, el sistema lagunario del Sur de Tamaulipas (Figura 1.1) se compone de varios cuerpos de agua, de los cuales se han seleccionado dos para su estudio; a saber, las lagunas Champayán y El Conejo, estos cuerpos de agua son rodeados tanto por zonas urbanas como por empresas e industrias del sector de la petroquímica secundaria. En estos, dada su localización, se vierten tanto descargas urbanas como industriales en forma clandestina.

Aunque por parte del sector industrial se han realizado importantes avances para el cumplimiento de regulaciones ambientales vigentes en el país, aún se presentan elevadas concentraciones de materia orgánica en las inmediaciones de las lagunas, presumiblemente derivadas de descargas de aguas residuales.

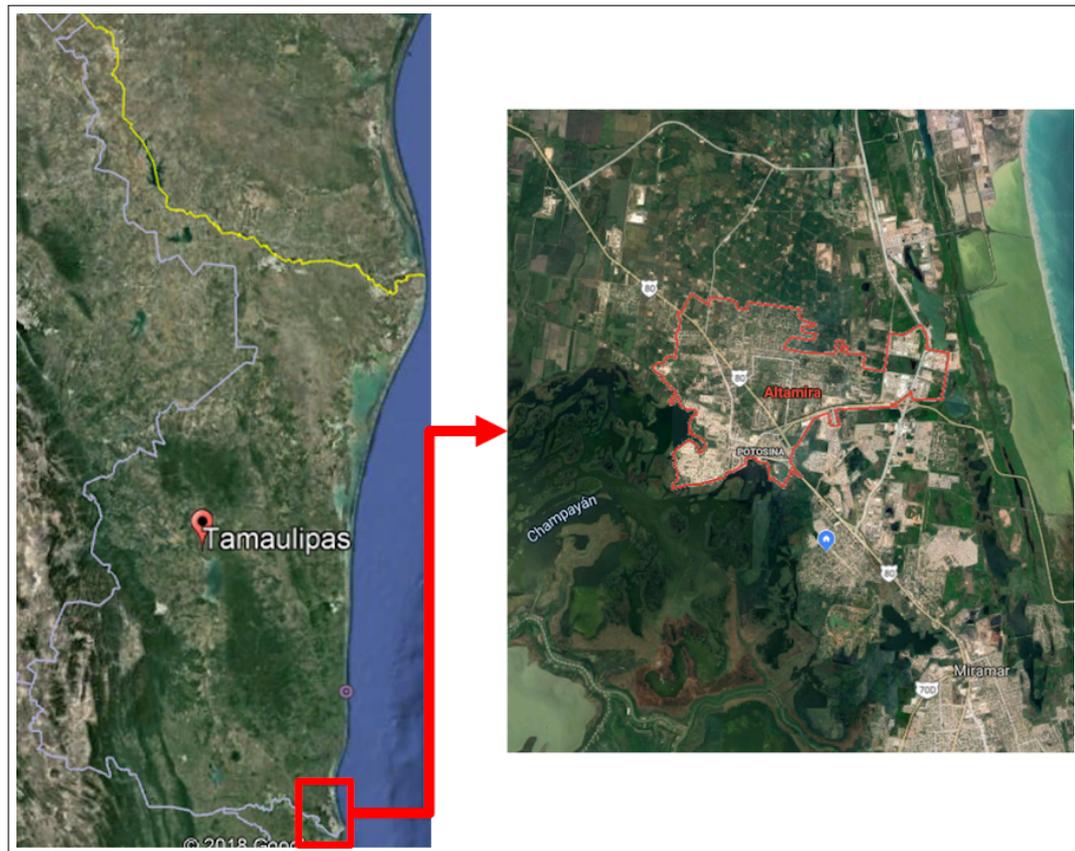


Figura 1.1: Zona Sur del Estado de Tamaulipas

Lo anterior, constituye por sí solo un problema de contaminación importante, ya que algunas de estas lagunas son empleados como reservorios acuáticos para el municipio de Altamira, y por ello, es de suma importancia monitorear la calidad del agua en esta región. Dicha contaminación, también tiene un impacto negativo sobre los ecosistemas de humadales y ciénagas de la región, al cambiar sus efluentes y dando pie a un deterioro importante de la flora y fauna de la zona.

Es de importancia de conocer la biodiversidad microalgal de las dos lagunas a estudiar ya que algunas especies de microalgas pueden utilizarse como microorganismos depuradores de agua residuales, debido al aprovechamiento de los nutrientes inorgánicos, además por su capacidad

de almacenar carbohidratos y lípidos, del 20 al 50% en base seca gracias a la fotosíntesis, son atractivas para su uso en la generación de biomasa. Para hacer uso de ellas es que debe realizar primeramente un estudio al agua para determinar las condiciones iniciales de esta.

El municipio de Altamira también presenta una fuerte actividad agrícola, es el principal productor de soya del país, se llegan a sembrar hasta 40 mil hectáreas de este cultivo al año [17]; también se realizan cultivos de sorgo, maíz blanco y chile verde, en superficies de 5 mil, 580 y 147 hectáreas, respectivamente [18]. La agricultura es una de las actividades más importantes que tiene influencia en la calidad del agua, debido a que puede causar la degradación del recurso por el uso de fertilizantes y plaguicidas; esto es originado por cambios bioquímicos en la zona del suelo donde los fertilizantes nitrogenados fosfatados pueden percolar al agua subterránea, ocasionando un aumento en la cantidad de sólidos totales, nitratos, cloruros y sodio [19]. Se calcula que entre un 50 y un 90 % de la carga de nitrógeno en las aguas superficiales tiene su origen en las actividades agrarias [20].

La caracterización de la calidad del agua de las lagunas a estudiar es de importancia; en primera instancia ya que la laguna Champayán es utilizada para abastecer a la población de Altamira de agua potable y por otro lado la laguna El Conejo se ha detectado como zona de pesca por la población. Por lo que, el conocimiento de la biodiversidad algal de ambas lagunas es de suma importancia para conocer la salud del ecosistema y además los recursos que se tienen disponibles para explotar de manera sustentable para beneficio del hombre y del ambiente.

1.2. Objetivos

General

Aislar microalgas de dos cuerpos de agua del sistema lagunario del Sur del Estado de Tamaulipas, realizando una caracterización de los mismos para el futuro aprovechamiento biotecnológico de las microalgas.

Específicos

- Caracterizar fisicoquímicamente el agua del sistema lagunario.
- Identificar las especies de microalgas presentes en las lagunas.
- Aislar microalgas con potencial para la biorremediación y producción de lípidos.
- Establecer cultivos de microalgas con potencial biotecnológico

1.3. Justificación del estudio

La poca información sobre la caracterización del ecosistema del sistema lagunario del Sur del Estado de Tamaulipas, específicamente en el municipio de Altamira, conlleva al estudio del mismo para contar con un banco de información de las especies de microalgas que en este habitan. El conocimiento de las especies de microalgas presentes en las lagunas es de vital importancia para los registros en la zona de estudio donde no se cuenta con estudios previos, logrando con este trabajo los primeros listados taxonómicos de la ficoflora presente. Así mismo, al conocer las especies presentes es posible seleccionar aquellas que tengan potencial para futuras aplicaciones biotecnológicas y establecer cultivos de las mismas, ya que las microalgas tienen alta capacidad de crecer, producción de alto rendimiento, facultad de cultivo no dependiente de suelo, ni dependiente de la época del año, puesto que pueden cultivarse a lo largo del mismo a diferencia de los cultivos terrestres convencionales; y las más importantes para su estudio que son: la absorción de dióxido de carbono de la atmósfera y su alto potencial para su utilización en biorefinerías gracias a la acumulación de lípidos y/o carbohidratos, los cuales las microalgas los obtienen de la materia orgánica de la que se alimentan. Es por ello, que su estudio es de gran relevancia en nuestros días puesto que atacan dos grandes problemas que aquejan a la humanidad en la actualidad: la sobreproducción de dióxido de carbono y la acumulación de materia orgánica en el sistema lagunario del Sur de Tamaulipas.

Queda por lo tanto establecido que la presente investigación abarcará una caracterización a dos lagunas del Sur de Tamaulipas, caracterización que tiene como objetivo principal conocer la carga orgánica de dichas lagunas, aunado a ello, la detección de la biodiversidad microalgal de éstas mismas y el aislamiento de diferentes especies encontradas con potencial

biotecnológico. No serán llevados a cabo análisis más específicos al agua hasta contar con resultados consistentes de las especies de microalgas encontradas en ellas. Caso que aplica también a las microalgas identificadas. Se abre la posibilidad de esto en trabajos futuros

Antecedentes

2.1. Ecosistema

Un sistema es un conjunto de elementos que interaccionan entre ellos; cuando tales elementos son organismos vivos, estamos ante un ecosistema (Figura 2.1). Los ecosistemas son entidades formadas por organismos de diferentes especies que actúan e interactúan entre sí en el seno de un ambiente físico que repercute sobre sus acciones. Constituyen el nivel más alto de complejidad en la naturaleza.

Tradicionalmente, un ecosistema se considera como la suma de elementos denominados como biotopo y biocenosis. Un biotopo se refiere a un espacio físico ocupado por seres vivos y Biocenosis, por otra parte, es sinónimo de comunidad; es decir, es el conjunto de individuos

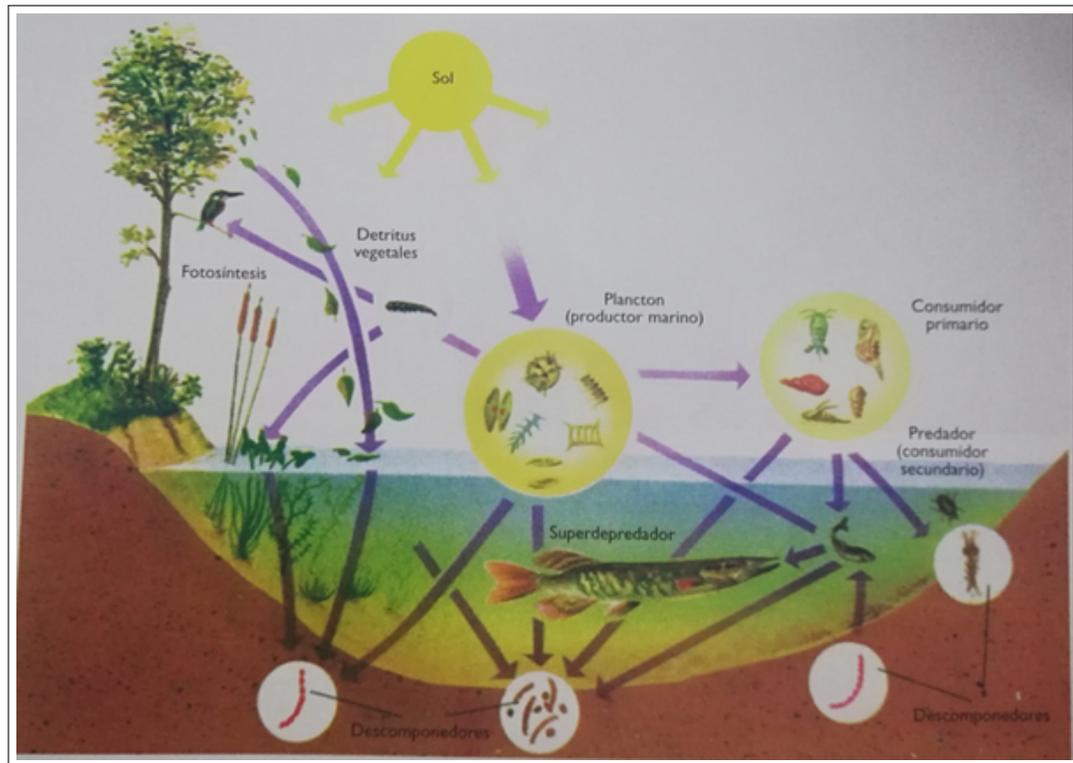


Figura 2.1: Esquema simplificado de un tipo de ecosistema: una charca, tomado de [21].

de diferentes especies que viven estableciendo unas interacciones entre sí [21]. En la región de Altamira, Tamaulipas, se pueden encontrar ecosistemas de Selva, Pastizales y Tular. La mayor parte de su territorio es aprovechado para la agricultura (70%). Cuenta con diversos cuerpos de agua como las lagunas de Champayán, Santa Elisa, San Andrés, Las Marismas, El Jos, El Gringo, La Escondida, El Conejo, San Jaurey, La Toquilla, La Alameda y El Corozo. Además de ríos como: Barberena, Estero El Caiman, Estero La Tuna, Raya del Espartal, Raya Salada, Tamesí y Estero La Tapa; otras corrientes son intermitentes como: Estero Cebadilla, El Camote, Raya de Vista Alegre, Raya El Caiman y Raya La Bolsa [22].

Un ecosistema acuático es aquel donde los seres vivos que interactúan en él desarrollan sus actividades en el agua, sea esta dulce o salada. Desafortunadamente con frecuencia no se le da la importancia que se debería, ni mucho menos se les da el cuidado que estos ameritan,

puesto que usualmente la sociedad le da más importancia a los ecosistemas terrestres y a su conservación, dejando en segundo plano a los ecosistemas acuáticos. Sin embargo, estos son los más afectados cuando de daño ambiental hablamos [23].

2.2. Diversidad microalgal

La diversidad es un concepto biológico que implica el reconocimiento de la naturaleza, en aspectos que van desde los propios ecosistemas hasta los genes mismos. En general y con mayor frecuencia la diversidad se refiere a las especies potencialmente presentes en un área geográfica [24]. México es el país con mayor diversidad ecológica de América Latina y el Caribe, al poseer cinco tipos de ecosistemas y nueve de los once tipos de hábitat [25]. La diversidad de algas marinas mexicanas se estima en 1,100 especies en el Pacífico, mientras que para el Atlántico oscila en 800 especies. Para el Golfo de México y el Mar Caribe, señalan que se han registrado 238 géneros y 651 especies de algas marinas benthicas [26].

Se puede describir a las microalgas como organismos unicelulares, coloniales y filamentosos, conducidos por la luz, que habitan diversos ambientes acuáticos en todas las latitudes y ecosistemas del planeta y que, como ya se ha mencionado, convierten CO₂ en biocombustibles potenciales [27], [28], además de otros recursos que se pueden obtener de estas. La cantidad total de lípidos que se puede obtener de las microalgas para la producción de biocombustibles, la tipología de los ácidos grasos presentes, además de ser específica para cada especie, está ligada a factores ambientales tales como: la intensidad luminosa, el pH, la salinidad, la temperatura, concentración de nitrógeno y otros nutrientes en el medio de cultivo [29].

Una gran ventaja de la utilización de microalgas para la producción de biocombustibles es que estas son microorganismos depuradores de aguas residuales debido al aprovechamiento de los nutrientes [30], por esta característica es que a los cultivos de microalgas adquieren un gran protagonismo, al ser considerados “eco-amigables”, ya que reciclan eficientemente contaminantes desde medios líquidos (aguas residuales) y gaseosos (CO₂) [31]. El rápido desarrollo industrial impone un alto riesgo a la disponibilidad y calidad de las aguas y del aire, debido a la cantidad de productos contaminantes generados, como nutrientes y CO₂ [4], [32], [33].

La clasificación de las microalgas cubren un grupo diverso de organismos: cianobacterias (*Cyanoprocyota*), algas verdes (*Chlorophyceae*), diatomeas (*Bacillariophyceae*), algas amarillo verdosas (*Xanthophyceae*), algas doradas (*Chrysophyceae*), algas rojas (*Rifophyceae*) algas (*Phaeophyceae*), dinoflagelados (*Dinophyceae*) y "picoplancton" (*Prasinophyceae* y *Eustigmatophyceae*). La biodiversidad de las microalgas es enorme, y se ha estimado que existen más de 50,000 especies de microalgas, de las cuales alrededor de 30,000 han sido investigadas y analizadas en este momento. El cultivo de microalgas es respetuoso con el medio ambiente porque no requiere pesticidas y la biomasa residual resultante se utiliza como fertilizante. Dado que las microalgas se pueden nutrir en tierras marginales, no compiten con los cultivos alimentarios por recursos naturales como la tierra y el agua [34], de aquí la importancia de su estudio.

La composición de las aguas residuales es un reflejo de los estilos de vida y las tecnologías para la producción de la sociedad. El agua residual contiene sustancias indeseadas, como materia orgánica, sólidos en suspensión, compuestos inorgánicos (principalmente nitrógeno y fósforo) y/o compuestos xenobióticos. Se estima que más de 80 % del agua utilizada en todo el mundo no se recoge ni se trata. Por tanto, existe la necesidad de inversión y mejora en los procesos de recogida, tratamiento y eliminación de aguas residuales [35]. Esto repercute directamente las

microalgas puesto que la composición del medio de cultivo y las condiciones de crecimiento de estas tienen un efecto importante en el rendimiento de biomasa y en el contenido de lípidos [36]. Se ha demostrado que la limitación de nitrógeno y fósforo, incrementan el contenido lipídico en microalgas [37]; es por ello que el enfoque de esta investigación es el conocimiento de la biodiversidad algal de dos cuerpos de agua del sistema lagunario del Sur del Estado de Tamaulipas, la caracterización de los ecosistemas y el establecimiento de cultivos algales con potencial biotecnológico.

2.3. Biocombustibles

Los combustibles fósiles han sido la principal fuente energética y también el principal motor de la economía mundial de las últimas décadas, tanto que en el 2008 se establecieron como fuente primaria de energía [38]. Sin embargo, no se han descubierto nuevos yacimientos petroleros de gran importancia o impacto en la producción mundial [39]. La crisis del petróleo de 1970 provocó gran interés a nivel mundial en el desarrollo de biocombustibles como fuente alterna al uso de combustibles derivados de petróleo [40], no solo debido a la rápida disminución de sus reservas mundiales sino también por el nocivo efecto ambiental que estos producen [41]. Sin lugar a dudas, el cambio climático es uno de los más grandes problemas del siglo XXI puesto que sus impactos son cada vez más severos afectando la estabilidad no solo ambiental del planeta sino también social y económica [42]. De los efectos más graves del cambio climático se cuenta el aumento en el promedio mundial de la temperatura del aire y del océano provocando el deshielo de los glaciares y el consecuente incremento en el nivel medio del mar. La magnitud de este fenómeno es tal, que forma parte de la agenda política de estados y organismos internacionales [32] alineados al Protocolo de Kioto y el acuerdo de París.

Una propuesta de solución a la problemática del cambio climático y a la generación de gases de efecto invernadero, es fomentar el uso de biocombustibles en las políticas ambientales a nivel mundial [43]. El término biocombustible se da a cualquier tipo de combustible cuyo origen es la biomasa, de cualquier materia orgánica haya derivado de animales o vegetales como resultado de un proceso de conversión [44]. Potencialmente es renovable y puede utilizarse en la cogeneración de electricidad, calor y energéticos. En los últimos años, los biocombustibles líquidos han mostrado un rápido incremento en su producción a nivel mundial, se espera que el biodiesel y bioetanol puedan sustituir al diesel y la gasolina respectivamente.

Para la generación de biocombustibles se han invertido grandes esfuerzos en encontrar nuevas fuentes de biomasa y en los procesos de producción en los últimos veinte años. Se ha demostrado que el bioetanol puede producirse a partir subproductos agroindustriales, como puede ser: cascarilla de arroz, bagazo de caña, desechos cítricos (bagazo y cáscara) y cáscara de plátano [45] y el biodiesel a partir de aceites vegetales obtenidos de diversas oleaginosas tales como soja, palma, girasol, cotza, jatropha. maní, algodón y ricino [46], también de residuos de aceite usado [47] y por microalgas [48]. Sin embargo, no son los únicos biocombustibles, también se encuentran: hidrógeno, que también podemos obtener por microalgas; butanol y metano [49].

Lamentablemente, el uso de los biocombustibles y la sustentabilidad inherente a su producción se han visto fuertemente cuestionados considerando la gran demanda de espacio que se requiere para producirlos, espacio que es tomado de bosques o áreas naturales convirtiéndolas en superficies agrícolas, lo que conlleva a producir un efecto de competencia entre la producción alimentaria y la de biocombustibles, resultando en el aumento del precio de la comida [44], [50].

La biomasa obtenida a partir de microalgas presenta beneficios potenciales, como [51], [12]:

- La captura del dióxido de carbono asociada al crecimiento de las microalgas.
- Menor uso de superficie terrestre para su explotación.
- Alta productividad en su producción.
- No hay competencia con los cultivos agrícolas destinados a la alimentación.

Estos y otros resultados han despertado el interés de algunas compañías por invertir en la búsqueda de estrategias de cultivo de especies de microalgas denominadas oleaginosas para producir biocombustibles para diferentes usos [52]. Aunque cabe mencionar que la idea de producir biocombustibles a partir de microalgas no es nueva, desde la época de los 60's se dieron a conocer los primeros intentos relevantes de llevar este proceso a gran escala. Sin embargo, debido a los altos costos de producción de la biomasa comparado con los precios del petróleo y sus combustibles derivados de la época, no se alcanzó el desarrollo a nivel comercial [53].

2.4. Otros productos de interés que se obtienen de las microalgas

Uno de los principales usos de las microalgas es la producción de biocombustibles [54], [55] como lo son el biohidrógeno [56], [57], bioetanol [58], [59], biodiesel [60] y biogas [61]. También han sido utilizada ampliamente para el tratamiento de aguas residuales por la capacidad de remover elementos como el nitrógeno [62] y el fósforo [63]; incluso existen estudios que combina ambas técnicas, utilizar las microalgas en el tratamiento de aguas residuales y así obtener biomasa para la producción de biocombustibles [64], [65]. También

han sido identificadas como agentes utilizados en la biorremediación de metales pesados de gases producidos por la combustión de carbón [66] inclusive han sido utilizadas en la eliminación de CO₂ de los gases de combustión [67].

Hay que resaltar la aplicación de las microalgas en el sector nutricional, así como su influencia positiva en la salud de los seres humanos, pues pueden considerarse bioactivas si se consumen con regularidad y en cantidades significativas [68], debido a su riqueza en nutrientes resultan de interés en la producción de alimentos y suplementos. Las microalgas son una fuente de proteínas ricas en aminopácidos esenciales, ayudan en la eliminación de sustancias tóxicas del cuerpo tales como arsénico, plomo, mercurio y otras toxinas depositadas en la sangre [69]. Entre las sustancias de importancia que son extraídas de las microalgas se encuentran los carotenoides [70], [71] importantes ya que representan compuestos antioxidantes benéficos para la prevención de diversas enfermedades, como el cáncer y los trastornos oculares, cardiovasculares; también ayudan a mejorar el sistema inmunológico gracias a sus propiedades antioxidantes y hepatoprotectoras, así como sus efectos antibacterianos, además los carotenoides son los principales pigmentos que dan la mayoría de los colores amarillos, anaranjados o rojos de los alimentos vegetales y animales [72].

Y no solo son utilizadas en la nutrición de los humanos, sino también en la de los animales [6]; las microalgas han sido utilizadas desde hace varias décadas para la nutrición larvarias de diversas especies, sobre todo de camarones y peces [73]. Su uso en alimentos en la acuicultura es conocido por los numerosos beneficios que eso implica, incluyendo una mejor nutrición, puesto que son un alimento acuícola altamente nutritivo debido a su composición favorable de micronutrientes y macronutrientes, que incluyen un alto contenido de proteínas y una presencia adicional de ácidos grasos omega-3 [74]. Incluso han sido estudiadas como sustituto parcial de alimento para ganado vacuno [75].

Las microalgas pueden ser utilizadas como indicador del estado trófico los cuerpos de agua [76], [77]. En sistemas de agua no contaminados las microalgas forman parte de los organismos que habitan el mismo, especies como *Pediastrum* se encuentran presentes en este tipo de cuerpos de agua, con buena calidad [78], en cambio la especie *Planktothrix* es común encontrarla en medios contaminados, con niveles altos de eutrofización [79], aunado a esto, si las condiciones del agua en la que habitan lo permite, este último tipo de especies pueden proliferar causando problemas al ecosistema del cuerpo de agua [80].

2.5. Fundamento teórico

De las relaciones entre especies y elementos de un ecosistema, se desprenden los siguientes conceptos.

2.5.1. El ciclo trófico

Para funcionar, los ecosistemas necesitan el aporte de energía exterior procedente del Sol. Sólo una pequeña parte de esa energía es necesaria para sustentar a todos los ecosistemas. Primeramente, los vegetales fijan dicha energía mediante la fotosíntesis y retenida brevemente antes de ser devuelta al espacio en forma de calor. Gracias a este proceso, la energía queda almacenada en los enlaces químicos de las moléculas de glucosa, y posteriormente, debido a una serie de reacciones metabólicas se convierten en carbohidratos complejos. Con la respiración, los organismos oxidan el alimento asimilado y rompen los enlaces liberando energía para aprovecharla en otras reacciones metabólicas, generan biomasa y realizan sus actividades vitales [21].

En los ecosistemas, la energía sufre tales transformaciones dentro de un ciclo que se establece como un conjunto de relaciones tróficas entre los componentes del ecosistema. A este ciclo se le denomina *cadena trófica* (Figura 2.2) y en él los organismos se descomponen en cuatro escalones o niveles básicos que se describen a continuación:

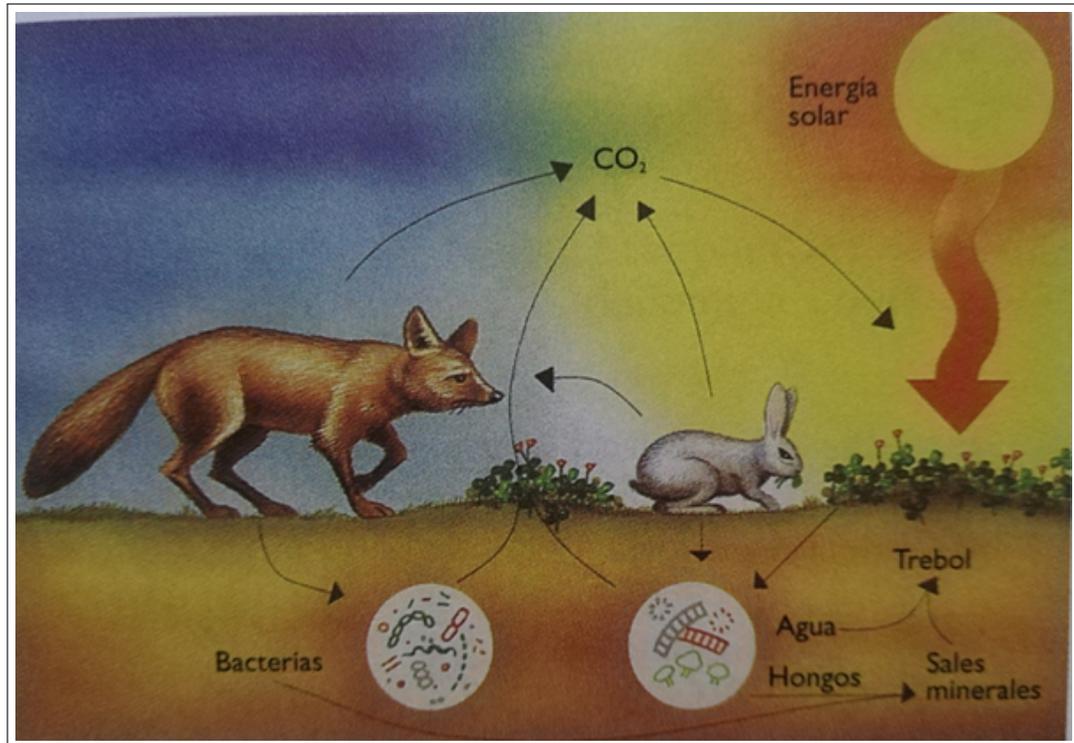


Figura 2.2: La energía en los ecosistemas fluye de forma unidireccional. La pequeña parte de energía del Sol que es aprovechada va a dispersarse en forma de calor después de su utilización; tomada de [21].

- 1. Productores** Son los organismos capaces de realizar la fotosíntesis. Producen y almacenan materia orgánica.
- 2. Consumidores** En este grupo se diferencian dos tipos. Por un lado se encuentran aquellos que se alimentan de materia orgánica de los productores y se denominan consumidores primarios o herbívoros. Los consumidores que se alimentan de la materia orgánica contenida en los herbívoros se denominan consumidores secundarios o carnívoros.

3. Descomponedores Son aquellos organismos, como las bacterias y los hongos, que descomponen la materia orgánica procedente de los restos de animales y vegetales muertos.

4. Transformadores Por lo general son bacterias que transforman la materia inorgánica en sustancias aprovechables por los vegetales o productores.

2.5.2. Impacto Ambiental

Un impacto ambiental es la alteración de la calidad del medio ambiente producida por una actividad humana. Siempre se deberían incluir todos los elementos ambientales posibles, estudiando para cada uno de ellos, los factores ambientales que mejor definan el cambio en su calidad (Figura 2.3). La demanda bioquímica de oxígeno del agua o la concentración de un contaminante en la atmósfera son ejemplos de ello [81].

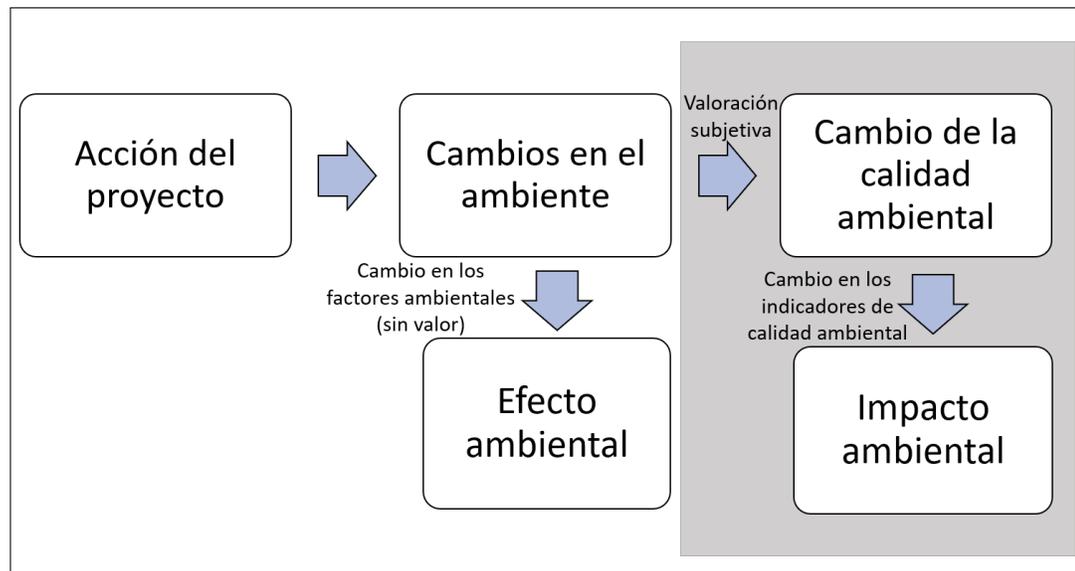


Figura 2.3: Un impacto ambiental proviene del cambio de la valoración del medio (calidad ambiental) debido a los cambios en el ambiente producidos por una acción humana.

La disponibilidad del agua está muy relacionada con su calidad, ya que la contaminación es una de las principales causas de su escasez para consumo humano, industrial, agrícola y para la conservación de la biodiversidad. Una fuente de abastecimiento de agua de pobre calidad implica mayor tiempo de tratamiento y costo más elevado. Se requieren entonces estrategias apropiadas para el manejo sustentable de los recursos hídricos [82].

La gran cantidad de agua utilizada para fines agrícolas, municipales o industriales supone la generación de grandes volúmenes de aguas residuales, presentando una elevada concentración de nutrientes, tales como nitrógeno y fósforo. Así como también la acumulación de metales pesados y semipesados. Estos son necesarios disminuirlos hasta un límite aceptable antes de su vertido para evitar problemas de eutrofización y sus consecuentes impactos ecológicos [83].

2.5.3. Eutrofia

La eutrofización es el enriquecimiento de las aguas superficiales con nutrientes disponibles para las plantas. Si bien la eutrofización se produce en forma natural, normalmente está asociada a fuentes antropogénicas de nutrientes. El “estado trófico” de los lagos es un concepto fundamental en la gestión de los mismos, en él se describe la relación entre el estado de nutrientes en un lago y el crecimiento de la materia orgánica en el mismo. La eutrofización es el proceso de cambio de un estado trófico a otro de nivel superior por adición de nutrientes ya sea de forma artificial o natural. Aunque tanto el nitrógeno como el fósforo contribuyen a la eutrofización, la clasificación del estado trófico normalmente se basa en el nutriente que representa una limitación. En la mayoría de los casos, el factor de limitante es el fósforo [84].

Las principales causas antropogénicas de procesos de eutrofización pueden ser:

- La deforestación y la erosión en suelos agrícolas influyen en la carga de nutrientes, ya que los escurrimientos al pasar por una tierra que no tiene protección, “lavan” la capa fértil, llevándose consigo los nutrientes de la misma.
- El uso excesivo de fertilizantes, que genera una contaminación del agua fundamentalmente mediante el aporte de nitrógeno (en forma de sales de nitrato y amonio) y fósforo (como fosfato).
- Una de las más antiguas causas es la descarga de aguas residuales, las cuales son ricas en nutrientes, contribuyendo al cambio trófico del cuerpo de agua receptor.

2.5.4. Materia orgánica en cuerpos de agua

Como materia orgánica se define toda clase de sustancia en conjunto que incluye dentro de su estructura molecular el carbono, en el estudio ambiental hace referencia a dos tipos:

1. La de origen viviente: que comprende todos los residuos y desechos provenientes de organismos vivos, incluso los mismos organismos.
2. La de origen antrópico, en la que entran todas las sustancias sintetizadas por el hombre a través de procesos industriales.

La determinación del contenido orgánico del agua se lleva a cabo por ensayos específicos para medir las concentraciones de compuestos específicos y ensayos no específicos para medir la concentración total del contenido orgánico. Entre los ensayos para la concentración total de materia orgánica se utilizan los siguientes [85]:

- Demanda química de oxígeno (DQO).
- Demanda bioquímica de oxígeno 5 (DBO₅).

La DQO indica el contenido de materia orgánica del cuerpo de agua; se usa para medir el oxígeno equivalente a la materia orgánica oxidable mediante un agente químico oxidante, generalmente el dicromato de potasio es el agente oxidante por su característica de oxidar casi todos los compuestos orgánicos, en un medio ácido y a temperatura elevada. Esto es muy usado para medir la materia orgánica en las aguas residuales urbanas e industriales [31] [86].

Por otra parte la DBO₅ se refiere a la cantidad de oxígeno que necesitan los microorganismos para oxidar residuos orgánicos de modo aerobio en un período de 5 días. La actividad biológica es provocada por microorganismos en condiciones aeróbicas, dando como consecuencia que la materia orgánica pierda sus propiedades contaminantes debido a su mineralización. Aquí se da el fenómeno de intercambio del oxígeno del aire con el agua [86].

La cantidad de materia orgánica y la posibilidad de biodegradación está dada entonces por la relación entre DQO y DBO₅.

2.5.5. Urbanización

En el último medio siglo las ciudades mexicanas y latinoamericanas han experimentado un crecimiento urbano desmedido que se ha traducido en la presencia de grandes áreas urbanas congestionadas que presentan graves problemas de la calidad de vida. La falta de ordenamiento urbano explica la pérdida progresiva del bienestar de sus habitantes, la degradación de su habitabilidad y la depredación de los recursos naturales urbanos [87].

El sistema costero de México, conformado en su mayoría por lagunas y cuerpos de agua, cubre 720,000 hectáreas, de las cuáles el 40% se ubican en el Golfo de México y el resto en el Pacífico. La importancia de estos recursos hídricos costeros no radica en su extensión exclusivamente sino también en la cantidad y diversidad de su flora y fauna. Esta riqueza en biodiversidad se encuentra presente en las lagunas urbanas, las cuales son decantaciones acuáticas, de aguas someras cuya profundidad media varía de 1 a 2 metros, de pendiente suave, rodeada por un cinturón urbano, generalmente agredida física y ambientalmente por la actividad industrial y/o el proceso demográfico expansivo e incontrolado [87].

Esto último pone de manifiesto los riesgos que implica la saturación prematura de sus reservas territoriales, como consecuencia de la total transformación del espacio rural en espacios urbanos, con los efectos acordes a la pérdida de los recursos naturales por la depredación y contaminación de las acciones antrópicas que incurren las ciudades en su proceso de conurbación. En Altamira, Tamaulipas, solo el 4% de su espacio territorial es zona urbana, en su mayoría el espacio es utilizado para la agricultura, el 70% de este. Los recursos hidrográficos con que cuenta están constituidos por el Río Barberena, ubicado en la parte norte del Municipio, que sirve como límite entre Aldama y Altamira; nace en la sierra de Tamaulipas en el Municipio de Aldama; el Río Tamesí que marca los límites con el Estado de Veracruz. Además cuenta con otros recursos como son las lagunas de los Esteros, El Salado, El Conejo y el del Norte, así como las lagunas del Camalote y Champayán, por mencionar algunas [22].

2.5.6. Microalgas en lagunas cercanas a zonas urbanas

A pesar de que son identificadas como la primera forma de vida en el planeta, muchos cuerpos de agua se mantienen a la fecha inexploradas, desconociendo la biodiversidad que estos

tienen. Algunas especies de nuestros ecosistemas tienen alto potencial para ser explotadas, por lo que su cultivo representa una gran oportunidad para muchas investigaciones [88], en este aspecto, la productividad de estos cultivos depende de diversos factores, no sólo de la especie, para que las microalgas tengan un crecimiento normal necesitan ciertas condiciones, tanto físicas como químicas, tales como: suministro de dióxido de carbono, pH, deficiencia o presencia de nutrientes tales como nitrógeno, fósforo, azufre y silicio; y temperatura e intensidad luminosa [89]

La capacidad de crecer de las microalgas y de hacer fotosíntesis ocupando diferentes fuentes de carbono así como sales minerales, en condiciones autotróficas y sustancias orgánicas (como estiércoles y aguas residuales), en condiciones mixotróficas. Adicionalmente, algunas microalgas pueden crecer en condiciones heterotróficas, usando carbono orgánico en ausencia de luz. Esta capacidad metabólica que les permite adaptarse a diferentes ecosistemas y procesos biotecnológicos, es por esta razón que se encuentran en abundancia en el entorno natural debido a su alta supervivencia y tasa de crecimiento. A través del proceso de fotosíntesis, las microalgas convierten el CO₂, el agua y la luz solar para generar lípidos, carbohidratos y proteínas, biomasa que puede ser usada en la producción de alimentos, concentrados, compuestos bioactivos, biocombustibles, en la biorremediación y la producción de biofertilizantes [34], [90].

En la zona conurbada del sur de Tamaulipas existen pocos estudios que abunden en el tema de la biodiversidad microalgal del sistema lagunario [91], [92], es esto una de las razones por lo que se enfatiza el estudio de las especies que habitan en las lagunas a estudiar en este proyecto.

2.6. Métodos de aislamientos de microorganismos acuáticos

Dependiendo del tipo de alga que se pretende aislar, de su abundancia absoluta y relativa en el ambiente seleccionado en el cual se está colectando y de la finalidad del aislamiento; los métodos e instrumentos que se utilizan para obtener las muestras pueden variar ampliamente, pero, en todos los casos, todos los materiales deben ser escrupulosamente limpios y libres de sustancias tóxicas o contaminantes, como referencia para la toma de muestras se puede utilizar la NOM-014-SSA1-1993; denominada "Procedimientos sanitarios para el muestreo de agua para uso y consumo humano en sistemas de abastecimiento de agua públicos y privados".

Para el aislamiento de especies raras o poco abundantes, ya que se encuentran pocas células presentes en un espacio específico de la columna de agua, se sugiere realizar arrastres de corta duración sobre el punto de muestreo para no causar daños celulares, utilizando redes de plancton con una malla apropiada (20 μm es probablemente la más indicada). Por otra parte, si son especies abundantes o frecuentes se pueden usar botellas oceanográficas, tubos de PVC o mangueras que permiten obtener muestras integradas en aguas de poca profundidad. Para fines de esta investigación se utilizó red de poros de 20 μm .

Después de la obtención de la muestra, es recomendable eliminar organismos fitoplanctófagos de tamaño mayor de las microalgas, filtrando la muestra a través de un tamiz con una luz de malla apropiada y proceder al aislamiento en un lapso corto de tiempo. Por otra parte, si esto no fuera posible, sería necesario considerar la posibilidad de cambios importantes de la comunidad presente en la muestra. Por este motivo, se recomienda transportarla en una hielera,

evitando el contacto directo con el hielo y la exposición directa a la luz. Algunas especies son delicadas, por lo cual es preferible evitar la agitación manual de la muestra o mediante un burbujeo con aire [93].

2.6.1. Métodos de Aislamiento

La finalidad de aislar microalgas es la de obtener cultivos monoespecíficos a partir de un solo individuo (célula, filamento o quiste), que en este caso se definen como cultivos clonales, o iniciados con varios individuos de la misma especie. Estos cultivos pueden contener bacterias o ser libres de ellas y en el segundo caso se definen como cultivos axénicos.

Existen varios métodos de aislamiento, que dependen de las dimensiones de las microalgas, de su movilidad y de su morfología. Los más utilizados son el aislamiento con pipeta, en placas de agar y con diluciones seriadas. La combinación de dos o más de estas técnicas es lo más recomendable, ya que permite el aislamiento de un solo organismo con mayor facilidad.

En todos los casos, los aislamientos se realizan verificando los resultados de la secuencia de operaciones con la ayuda de un microscopio de campo oscuro [93].

Aislamiento con pipeta

Este método se utiliza para separar microalgas mayores a 10 μm de diámetro en forma de quistes, células vegetativas, dinoflagelados, formas coloniales o filamentosas. El método consiste en aislar una microalga con la ayuda de una pipeta Pasteur con punta reducida y/o con un capilar. Una gota que proviene de una muestra de fitoplancton se coloca en un portaobjeto

(laminilla) y se observa al microscopio, bajo el cual las células de interés se succionan por capilaridad en la micropipeta y se transfieren a un portaobjetos limpio o a una lámina excavada con una gota de agua de mar estéril. El procedimiento se repite, “lavando” la célula en medio o agua estéril hasta cuando no se observan contaminantes y la gota contiene un solo tipo de células, que requiere generalmente al menos cinco transferencias sucesivas repitiendo este procedimiento (Figura 2.4).

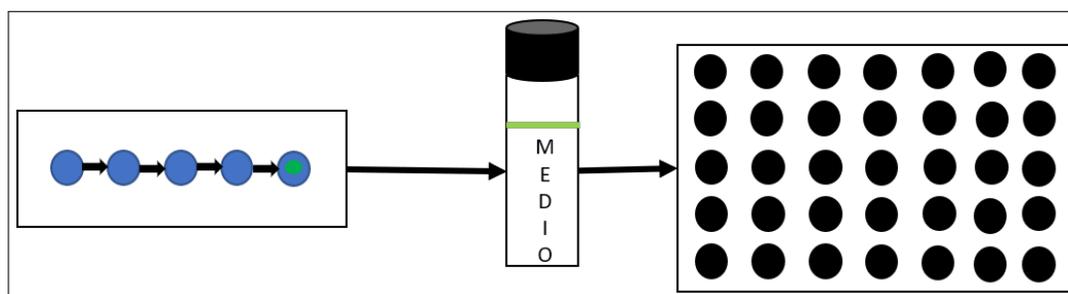


Figura 2.4: Método de aislamiento con pipeta.

Una vez realizadas las transferencias, la célula aislada se puede colocar en una placa con pocillos múltiples o en un tubo de ensayo con 2 - 5 mL de medio de cultivo estéril. Esta técnica se recomienda para microorganismos que no sean sensibles a la manipulación. Se debe tener cuidado de evitar cambios bruscos de las condiciones originales de la muestra, por lo que la transferencia se debe hacer de manera rápida y cuidadosa [93].

Diluciones seriadas

Este método se utiliza cuando la microalga que se desea aislar tiene un tamaño inferior a 10 μm de diámetro y es muy útil para aislar las especies que son más abundantes en la muestra. Antes de iniciar las operaciones de aislamiento, es necesario estimar la concentración celular de la especie de interés, con el fin de calcular el número de diluciones necesario para reducir la concentración a unas pocas células/mL. Generalmente, se toma 1 mL de la muestra

original y se agrega a un tubo de ensayo que contiene 9 mL de medio de cultivo estéril, se homogeniza y luego se agrega 1 mL a un segundo tubo con 9 mL de medio, se homogeniza y así sucesivamente. El número de diluciones depende de la concentración de la microalga que se desea aislar y el intervalo de dilución que se utiliza normalmente es de 10^{-3} a 10^{-6} , dependiendo de la densidad poblacional (Figura 2.5).

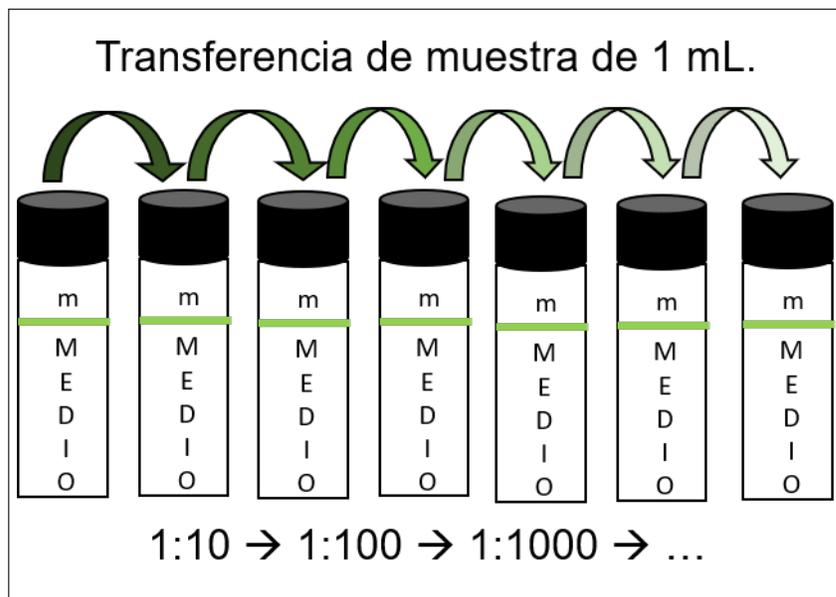


Figura 2.5: Esquema que representa el método de aislamiento por diluciones seriadas.

Cuando la concentración de la microalga a aislar es baja, se recomienda utilizar placas con pocillos múltiples con capacidad de $250 \mu\text{L}$, y diluciones sucesivas de 1:10, 1:100, 1:1000 y 1:10000. Las transferencias se van realizando en cada una de las diluciones, y al mismo tiempo se pueden ir observando los resultados en el microscopio invertido y/o estereoscopio. En el campo, se recomienda llevar tubos estériles vacíos. La dilución se lleva a cabo hasta que haya un organismo por 8 - 10 mL. Después de 1 a 15 días de incubación se toma una muestra de cada tubo para observarla bajo el microscopio y si es necesario se repite el proceso hasta obtener el cultivo de una sola especie. La presencia de otras especies de algas y hongos se puede detectar al microscopio sobre todo en el caso de períodos largos de incubación [93].

Aislamiento en placas de agar

Varias especies de microalgas se pueden aislar mediante la técnica de rayado en estrías en una caja de Petri con agar. El agar es un elemento solidificante ampliamente empleado para la preparación de medios de cultivos. Este método también se emplea para purificar cultivos contaminados con otros microorganismos. No todas las especies se pueden mantener en medio sólido, especialmente especies flageladas y algunas diatomeas, pero esta técnica suele dar buenos resultados con especies bentónicas, clorofitas, cocoidales y cianofitas.

Para llevar a cabo este procedimiento, se prepara el medio de cultivo apropiado, adicionado entre 0.8 y 2% de agar. Se esteriliza en autoclave a 120°C y 1.1 kg/cm² de presión durante 15 minutos. Posteriormente, se deja a temperatura ambiente y antes que se solidifique se vacía en cajas de Petri estériles. Se colocan una o dos gotas, en las cajas con medio sólido, que se esparcen con un asa para bacteriología o con una varilla de vidrio doblada, previamente esterilizadas. La caja se cubre con su tapa, se invierte y se coloca en un ambiente con temperatura y luz controladas; se incuba de 4 a 8 días y posteriormente se observa al microscopio invertido y/o estereoscopio y con la ayuda del asa se seleccionan las colonias libres de otros microorganismos, que se transfieren a otra caja de Petri (Figura 2.6).

Esta tarea se realiza las veces que sea necesario hasta asegurar el éxito del aislamiento de un solo tipo de microalga y para lograrlo con mayor seguridad se recomienda utilizar esta técnica en combinación con la de diluciones seriadas que se indicó anteriormente. En ocasiones es difícil obtener cultivos monoalgales debido a la contaminación con otras algas como cianofitas o diatomeas. El crecimiento de las diatomeas no deseables se puede controlar agregando 1 - 10 mg/L de dióxido de germanio (GeO₂). Las cianofitas se pueden eliminar utilizando antibióticos. Sin embargo, para garantizar el éxito de esta técnica es recomendable probar diferentes concentraciones y tiempos de exposición para cada especie [93].

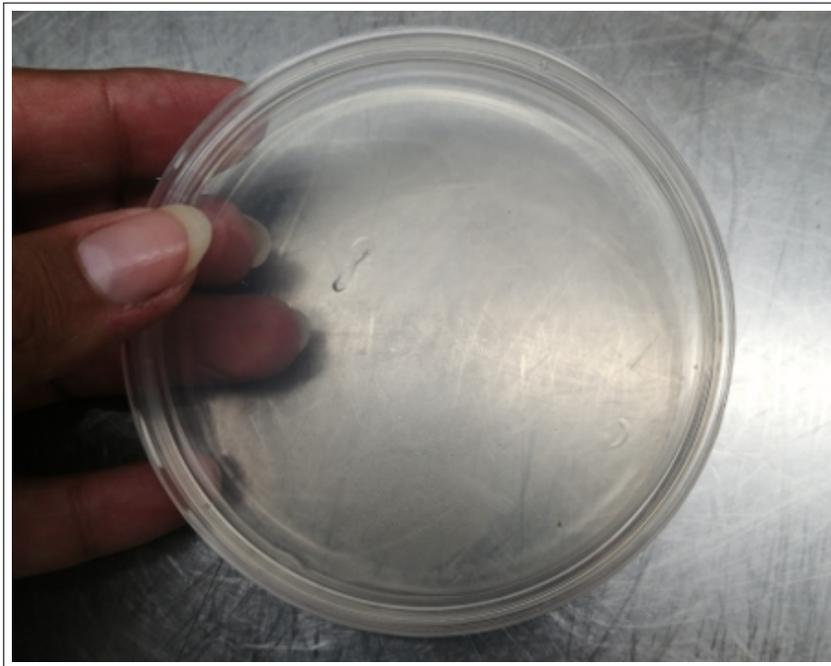


Figura 2.6: Cultivo de una cepa de microalga en medio sólido.

Metodología

Para cumplir con los objetivos propuestos por el presente trabajo de tesis, se propone la siguiente metodología para alcanzar las metas planteadas. En la Figura 3.1 se presenta el diagrama de flujo propuesto donde se muestran las actividades a realizar.

Para alcanzar el objetivo de la presente investigación el cual es: Aislar microalgas de dos cuerpos de agua del sistema lagunario del sur del Estado de Tamaulipas, realizando una caracterización de los mismos para el futuro aprovechamiento biotecnológico de las microalgas, se propone la siguiente metodología, misma que se describirá a lo largo de este capítulo.

Diagrama de flujo

Se presenta el diagrama de flujo propuesto para esta investigación (Figura 3.1), con el objetivo de realizar las siguientes actividades, las cuales corresponden a los objetivos específicos planteados para esta investigación:

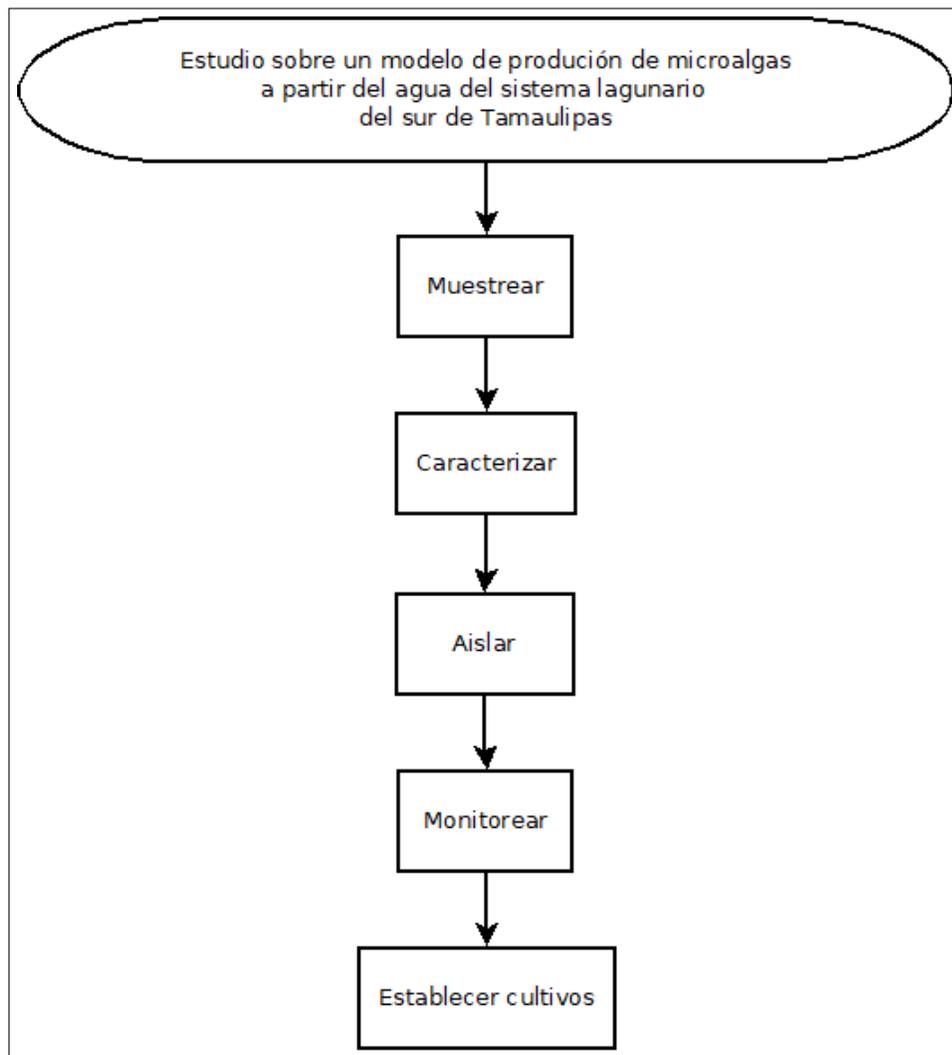


Figura 3.1: Diagrama de flujo del presente proyecto

3.1. Muestreo

Se llevaron acabo muestreos bimestrales en ambas lagunas, El Conejo Figura 3.2-A y Champayán Figura 3.2-B para realizar análisis de la Determinación de la Demanda Química de Oxígeno y Medición de la Demanda Bioquímica de Oxígeno, siguiendo las indicaciones de la Norma Oficial Mexicana NOM-014-SSA1-1993: "Procedimientos sanitarios para el muestreo de agua para uso y consumo humano en sistemas de abastecimiento de agua públicos y privados", por lo se tomaron muestras en envases de polietileno de 2 L, mismas que fueron tomadas de manera simple y aleatoriamente, con las siguientes especificaciones por cada tipo de análisis.

- Demanda Química de Oxígeno: agregar solución de ácido sulfúrico a 4 mol/L a la muestra hasta que el pH baje a 2.
- Demanda Bioquímica de Oxígeno: preservar la muestra en 4°C máximo por 24 horas antes de su análisis.
- Análisis de microorganismos: 1. Muestra Viva, preservarla a 20° C y a la luz (no directa) del sol; 2. Muestra Fija, preservada con Formol y 3. Muestra Red, tomada con red de poro de 20 μm y preservada con Formol.



Figura 3.2: Puntos de muestreo en: (A) Laguna El Conejo y (B) Laguna Champayán.

3.2. Caracterización de la carga orgánica en el agua

La carga orgánica es el contenido de compuestos de carbono en un efluente, cualquiera sea su origen. Dichos compuestos de carbono son estructuras químicas (moléculas) donde el carbono está enlazado a hidrógeno y otros elementos como azufre, oxígeno, nitrógeno, fósforo y cloro, entre otros. Para realizar la caracterización de la carga orgánica en los cuerpos de agua de interés se realizaron las siguientes determinaciones:

- Determinación de la Demanda Química de Oxígeno (NMX-AA-030/1-SCFI-2012).
- Medición de la Demanda Bioquímica de Oxígeno 5 (Método HACH).

Se tomaron muestras (Figura 3.3) de 5 puntos en cada laguna, de manera bimestral en ambas lagunas para su análisis, durante de período de dos bimestres, abarcando los meses de Julio - Agosto y Septiembre - Octubre.



Figura 3.3: Muestreo en la Laguna El Conejo.

3.2.1. Determinación de la demanda química de oxígeno

De acuerdo a la norma NMX-AA-030-1-SCFI-2012, el procedimiento para la determinación de la demanda química de oxígeno (DQO) se indica a continuación, En la Figura 3.4 se muestra el equipo de laboratorio empleado para realizar esta determinación:



Figura 3.4: Montaje del equipo de destilación para la determinación de la DQO.

- Transferir 10 mL de la muestra al matraz de reacción.
- Añadir 0.4 g de sulfato de mercurio (II) HgSO_4 .
- Añadir 5 mL de dicromato de potasio.
- Agregar 5 perlas de ebullición.
- Añadir 15 mL de sulfato de plata-ácido sulfúrico.

- Insertar el matraz al condensador.
- Llevar la mezcla a ebullición en 10 minutos
- Continuar en ebullición por 110 minutos.
- Dejar enfriar y enjuagar el condensador con 50 mL de agua.
- Titular con sulfato ferroso amoniacal agregando 1 o 2 gotas de ferroín.
- Detener titulación hasta observar vire a color cafe rojizo (rojo ladrillo), Figura 3.5. ¹



Figura 3.5: Cambios de color en la titulación del DQO.

3.2.2. Medición de la demanda bioquímica de oxígeno

En cada muestreo se obtuvieron 5 muestras para el análisis del DBO_5 las cuales se procesaron en un BODTrack II HACH de acuerdo a las instrucciones del fabricante. En la Figura 3.6 se muestra una fotografía del equipo empleado en esta determinación. Este equipo es de uso generalizado.

- Crear una muestra compuesta de las 5 muestras simples originales.

¹En el proceso de titulación se observa un color amarillo en la muestra que corresponde al estado más oxidado del cromo (Cr^{+3}). Al añadir la solución de sulfato ferroso amoniacal, se presenta un cambio de color a verde debido a la reacción de óxido - reducción entre el cromo y el hierro. Posteriormente, se oxida a Cr^{+6} para alcanzar el equilibrio en el punto de equivalencia con el hierro (Fe^{+2}). El color café rojizo de esta solución corresponde a esta última especie de hierro.

- Calentar o enfriar la muestra entre 19 y 20° C.
- Utilizar los datos de la DQO para estimar el valor estimado de DBO de acuerdo a $DBO=DQO*0.68$
- Elegir el tamaño correcto de la alicuota de acuerdo a la Tabla 3.1 y medir en una probeta graduada.
- Agregar el contenido de 1 sobre de solución tampón de nutrientes a la probeta graduada.
- Trasferir el contenido de la probeta graduada a la botella del BODTrack.
- Colocar una barra agitadora para BODTrack dentro de cada botella.
- Cerrar con un tapón hermético en el cuello de la botella.
- Agregar 2 comprimidos de hidróxido de sodio en el tapon hermético.
- Repetir los pasos anteriores para cada una de las botellas del BODTrack.
- Poner las botellas en el BODTrack y comenzar con el análisis con duración de 5 días.

Tabla 3.1: Volúmenes de muestra de la DBO₅ de acuerdo al dato obtenido por:
 $DBO=DQO*0.68$.

Escala de medición de DBO en mg/L	Volumen de la muestra en mL
0 a 35	420
0 a 70	355
0 a 350	160
0 a 700	95



Figura 3.6: Equipo BOD Track II HACH utilizado para la esta determinación.

3.3. Aislamiento

Como se indicó en la sección 3.1, la mayoría de las cepas de microalgas que se utilizan para diversos fines, se obtienen generalmente de colecciones ya establecidas y conocidas. Sin embargo existen muchos motivos para seguir aislando especies de microalgas, sobre todo de poblaciones naturales locales, ya que estas se encuentran adaptadas a las condiciones ambientales dominantes del ecosistema que las rodea. Se realizaron muestreos de cuerpos de agua ubicados en el municipio de Altamira, en las coordenadas: Latitud 22.379589, Longitud -97.978332 para la Laguna Champayán; y Latitud 22.4333, Longitud -97.8833 para la laguna El Conejo, que se muestran en la Figura 3.2. A continuación se describe el proceso para obtener las cepas de las mismas.

3.3.1. Obtención de muestras

Se tomaron muestras para la extracción de células microalgales de las lagunas Champayán y El Conejo, empleando envases de polietileno de 500 mL y se utilizó una red de poros de $20\ \mu\text{m}$, Figura 3.7. Para evitar que los microorganismos existentes fueran dañados, se trasladaron en una hielera evitando el contacto directo con el hielo y la exposición a la luz directa. Se conservaron a temperatura ambiente y en exposición no directa a la luz del sol hasta su análisis.



Figura 3.7: Muestreo con red.

3.3.2. Revisión de muestras

Con el fin de identificar los microorganismos presentes en ambas lagunas se revisaron 10 alícuotas de las muestras 3.8, se tomaron fotos y realizaron dibujos de las microalgas observadas al microscopio. Se revisó literatura de apoyo para la identificación taxonómica, teniendo así una primera aproximación de la biodiversidad microalgal del sistema así como tener noción de que tipo de medio utilizar para el asilamiento de las diversas especies.



Figura 3.8: Primeras muestras revisadas

3.3.3. Métodos de Aislamiento

Aislamiento con pipeta

Como se indicó en la sección 2.6, se tomó una gota de la muestra con una pipeta Pasteur para observación al microscopio. Con ayuda de una pipeta de punta capilar se succiona la célula de interés a aislar misma que se trasfiere a una gota de agua destilada previamente preparada en otro portaobjeto. A esto se le conoce como lavado y debe realizarse hasta cerciorarse de que en la gota de agua destilada solo se encuentra la célula que se desea aislar. Una vez realizado esto, se transfirió la muestra lavada a un tubo Eppendorf preparado previamente con medio de cultivo, se utilizaron los medios BG11, F2 y Bayfolan Forte (Figura 3.9).

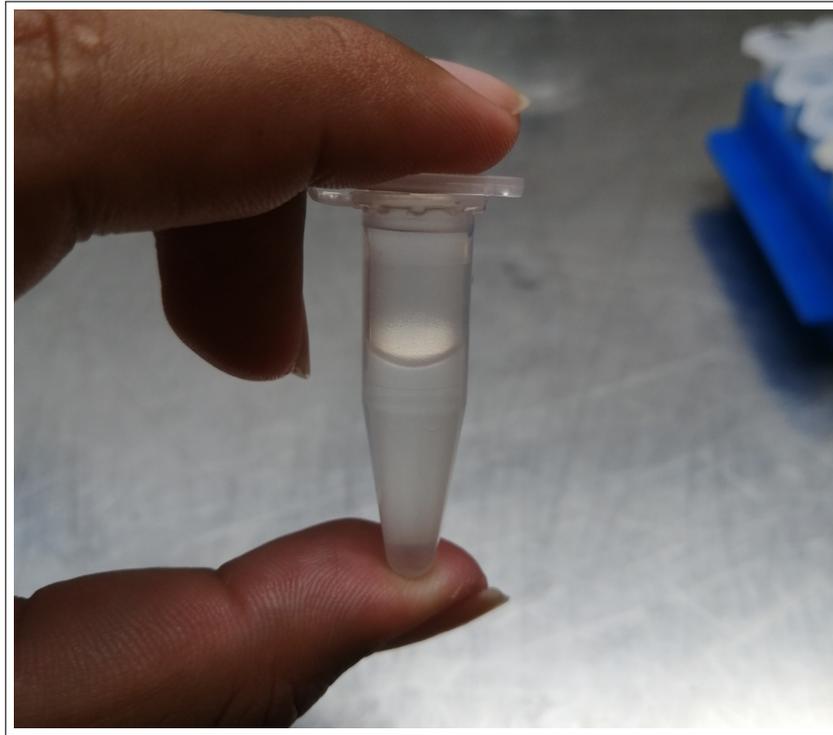


Figura 3.9: Tubo Eppendorf con medio y con muestra lavada para aislamiento.

Diluciones seriadas

Se prepararon tubos Eppendorf con 1 mL de medio de cultivo, cabe hacer mención de que se utilizaron tres tipos de medio de cultivo: BG11, F2 y Bayfolan Forte. Para llevar a cabo las diluciones seriadas. Al tubo Eppendorf de la primera fila de 5 se le adicionaron 0.5 mL de muestra, se agitó y se transfirió un volumen de 0.5 mL al segundo y así sucesivamente hasta llegar al quinto microtubo. Se repitió este procedimiento con todas las muestras disponibles de ambas lagunas. Posteriormente, todos los tubos Eppendorf fueron llevados a una cámara de incubación, en la Figura 3.10 se muestra la gradilla con los tubos Eppendorf de diluciones seriadas listos para su incubación.



Figura 3.10: Fotografía de gradilla con los tupos Eppendorf empleados para el método de diluciones seriadas.

Aislamiento en placas de agar

Se preparó agar bacteriológico, mismo que fue vaciado en cajas Petri estériles de plástico, para realizar siembra por rayadura. Se esperó el tiempo suficiente para su enfriamiento y solidificación. Una vez que se llevó a cabo el estriado como se describe en la sección 2.6 se dejó incubar por 15 días, ver Figura 3.11. Las placas fueron revisadas bajo el microscopio óptico directamente en las cajas Petri.



Figura 3.11: Cajas Petri en incubación.

Equipos y Materiales

A continuación se enlista los equipos y materiales utilizados en el desarrollo de este proyecto:

4.1. Muestreo

Para la realización del muestreo según la metodología indicada en la sección 3.1 se utilizan los materiales que se muestra a continuación:

- Envases de polietileno, capacidad de 1 L y 2 L.
- Termómetro.
- Tiras pH Fermont.

- Guantes de latex.
- Guantes de nitrilo largos.
- Disolución de ácido sulfúrico H_2SO_4 Fermont 98 % - 99 % RA. A una concentración de 4 M.
- Formol.
- Red para fitoplancton de abertura de poro de aproximadamente 20 μm , según [93].

4.2. Demanda Química de Oxígeno

Para la determinación de la DQO se utilizaron los siguientes reactivos y materiales:

- Soluciones y Reactivos
 - Disolución de sulfato de plata J.T.Baker 98 % Ag_2SO_4 – ácido sulfúrico Fermont 98 % - 99 % RA (10g/965mL).
 - Dicromato de potasio Fermon 99 % ($K_2Cr_2O_7$) a una concentración de 0.040 M.
 - Sulfato ferroso amoniacal (FAS) Fermon 98.5 %, $((NH_4)_2Fe(SO_4)_2 \cdot 6H_2O) \approx 0.12$ M.
 - Disolución Ferroín.
 - Sulfato de Mercurio II Emplura 99 %.
- Materiales y equipos
 - Pipeta graduada 10 mL.

- Matraz de reacción 500 mL con boca de vidrio esmerilado.
- Condensador Friedrichs.
- Parrilla.
- Bureta clase A con capacidad de 10 mL.
- Perlas de ebullición.

El montaje del equipo de destilación se muestra en la Figura 3.4 empleado como se indica en la sección 3.2.1.

4.3. Demanda Bioquímica de Oxígeno

Para esta determinación se empleo un equipo HACH BOD TRAK II con accesorios, modelo 205 y número de serie 16050C006548.

4.4. Aislamiento

Para llevar a cabo el aislamiento de las microorganismos según la sección 3.3, se utilizaron los siguientes materiales empleando un Microscopio vertical CX31 - Olympus.

- Portaobjetos y cubreobjetos.
- Pipeta Pasteur de punta capilar.

- Tubo eppendorf.
- Medio de cultivo Bay.
- Caja de Petri.
- Agar bacteriologico.

Evolución de parámetros relacionados con la carga orgánica

5.1. Caracterización de las Lagunas El Conejo y Champayán

El período en el cual se realizó esta caracterización incluyó los meses de junio a noviembre del 2019. Las lagunas El Conejo y Champayán fueron muestreadas para determinar valores como: temperatura del agua, pH, DQO y DBO₅, cabe mencionar que durante el período de muestreo se tuvo un nivel de precipitación pluvial promedio 72.783 mm en el estado. Se seleccionaron cinco puntos de muestreos de tal forma se cubriera un área similar en ambos cuerpos de agua. En total, las lagunas se muestrearon seis veces cada una en este período (ver Tabla 5.1).

Capítulo 5. Evolución de parámetros relacionados con la carga orgánica

Tabla 5.1: Datos de muestreos en Lagunas El Conejo y Champayán

Datos de muestreos					
El Conejo			Champayán		
Fecha	pH	Temperatura	Fecha	pH	Temperatura
02/07/2019	7	32°C	30/07/2019	7	31°C
09/07/2019	7	31°C	06/08/2019	7	32°C
20/08/2019	7	33°C	03/09/2019	7	29°C
11/09/2019	7	33°C	17/09/2019	7	31°C
24/09/2019	7	31°C	01/10/2019	7	30°C
08/10/2019	7	30°C	11/11/2019	7	22°C

De cada muestreo se obtuvieron diez muestras de agua, cinco para análisis de DQO y cinco para DBO₅. De cada muestra de agua se tomaron tres alícuotas para realizar la determinación de DQO por triplicado empleando un sistema de destilación con condensadores Friedrichs.

En cambio para la DBO₅ se creó una muestra compuesta de las cinco muestras tomadas inicialmente para su procesamiento en un equipo HACH BOD TRAK II, siguiendo las instrucciones del fabricante.

La Comisión Nacional del Agua (CONAGUA) publicó una escala de clasificación de la calidad de agua [94] con base en los valores del parámetro DQO y DBO₅, ver Tabla 5.2.

Tabla 5.2: Resumen de la clasificación de la calidad del agua en base los niveles de DQO y DBO₅ [94]

Rango de DQO (mg O ₂ /L)	Rango de DBO ₅ (mg O ₂ /L)	Clasificación
DQO ≤ 10	DBO ₅ ≤ 3	EXCELENTE
10 < DQO ≤ 20	3 < DBO ₅ ≤ 6	BUENA CALIDAD
20 < DQO ≤ 40	6 < DBO ₅ ≤ 30	ACEPTABLE
40 < DQO ≤ 200	30 < DBO ₅ ≤ 120	CONTAMINADA
DQO > 200	DBO ₅ > 120	FUERTEMENTE CONTAMINADA

5.1.1. Laguna El Conejo

Los resultados obtenidos de las determinaciones de DQO y DBO₅ realizados a la laguna El Conejo de manera bimestral en un período que comprende del mes de julio a octubre del 2019 se muestra en la Figura 5.1.

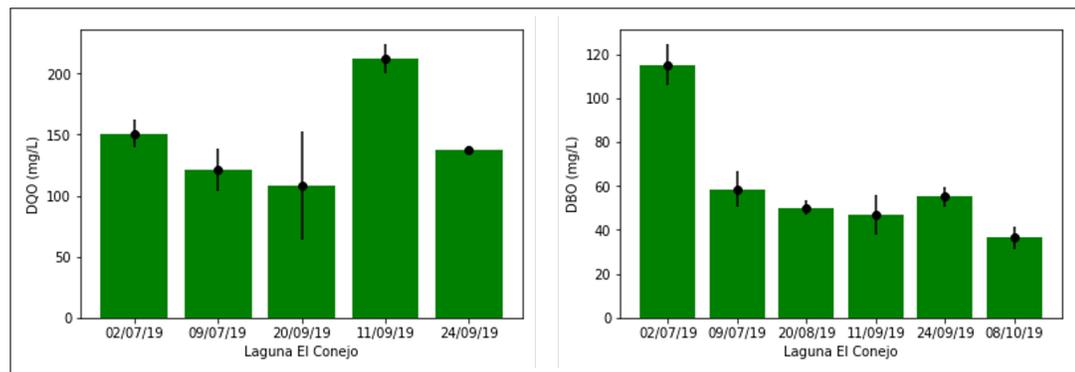


Figura 5.1: Resultados de DQO y DBO₅ de la Laguna El Conejo.

En la Tabla 5.3 se muestran estos resultados y la clasificación correspondiente de acuerdo con la escala indicada por la CONAGUA de los niveles de DQO y DBO₅ de la laguna El Conejo en cada muestreo, los cuales muestran que se clasifican casi siempre como contaminada.

Tabla 5.3: Valores de DQO y DBO₅ y su clasificación encontrados en la laguna El Conejo durante el período de muestreo

DQO (mg O ₂ /L)		DBO ₅ (mg O ₂ /L)	
151.4	Contaminada.	115.25	Contaminada.
121.28	Contaminada.	58.5	Contaminada.
96.66	Contaminada.	50	Contaminada.
212.48	Fuertemente contaminada.	42	Contaminada.
136.32	Contaminada.	52	Contaminada.
		43	Contaminada.

Se pueden detectar muchos compuestos como aquellos que contengan nitrógeno y fósforo; y microorganismos como bacterias y microalgas en las aguas residuales, que son capaces de causar la contaminación de un cuerpo de agua. La contaminación de estos cuerpos de

Capítulo 5. Evolución de parámetros relacionados con la carga orgánica

agua por aguas residuales puede manifestarse en tres grandes categorías: materiales orgánicos, materiales inorgánicos y contenidos microbianos. Los compuestos orgánicos de las aguas residuales comprenden una gran cantidad de compuestos (como hidrocarburos y/o derivados de estos, detergentes entre otros), que tienen al menos un átomo de carbono. Estos átomos de carbono pueden oxidarse química y biológicamente para producir dióxido de carbono. De manera química el ensayo se realiza generalmente con dicromato de potasio como agente oxidante por su característica de oxidar casi todos los compuestos orgánicos, lo que se denomina como Demanda Química de Oxígeno [86]; mientras que la DBO₅ es cuando se emplea oxidación biológica. Es decir, la DBO explota la capacidad de los microorganismos para oxidar el material orgánico en dióxido de carbono y agua utilizando oxígeno molecular como agente oxidante. Por lo tanto, la demanda bioquímica de oxígeno es una medida de la demanda respiratoria de las bacterias que metabolizan la materia orgánica presente en las aguas residuales. [33].

Se puede observar que los valores de DQO y DBO₅ para la laguna El Conejo se mantuvieron constantes en la clasificación de “Contaminada” durante el período de estudio, a excepción de el resultado de las muestras del 11/09/2019 para la DQO, que se obtuvo un resultado de 212.48 mg O₂/L, clasificándolo como “Fuertemente contaminada”. También se destaca el resultado obtenido para la DBO₅ de la muestra del 02/07/2019, que sin bien, aún se encuentra en la clasificación de “Contaminada”, es casi el doble del resultado más alto obtenido de las demás muestras. Esto posiblemente ocasionado por los escurrimientos que llegaron a la laguna debido a las lluvias presentadas en los días cercanos a la toma de muestra, se ha estudiado ya el efecto que esto tiene en la calidad del agua de los cuerpos receptores de este tipo de escurrimientos. La urbanización produce sustanciales alteraciones del medio ambiente, los cuales aumentan de gran manera el volumen de escurrimiento y con esto paralelamente aumenta la contaminación asociada al escurrimiento pluvial [95].

Capítulo 5. Evolución de parámetros relacionados con la carga orgánica

Uno de los principales factores de los altos niveles tanto de DQO como de DBO₅ de este cuerpo de agua, indica que el agua presenta niveles de contaminación que pueden deberse a la ubicación de la misma ya que se encuentra en la zona industrial de Altamira y se halla rodeada por empresas como Sabc, Mexichem, BASF Altamira, Styroloution Mexicana, Kaltex Fibers y Absormex Altamira. En la laguna existen descargas de agua residuales como se muestra en la Figura 5.2 donde se observa el punto de descarga y el área donde se encuentran concentrada materia orgánica.



Figura 5.2: Punto de descarga de residuos ubicado en la laguna El Conejo, así como la concentración de agua residuales.

5.1.2. Laguna Champayán

A continuación se describen los resultados obtenidos de las determinaciones de DQO y DBO₅ realizados a laguna de Champayán, de manera bimestral en un período que compren del mes de julio a noviembre del año 2019, ver Figura 5.3.

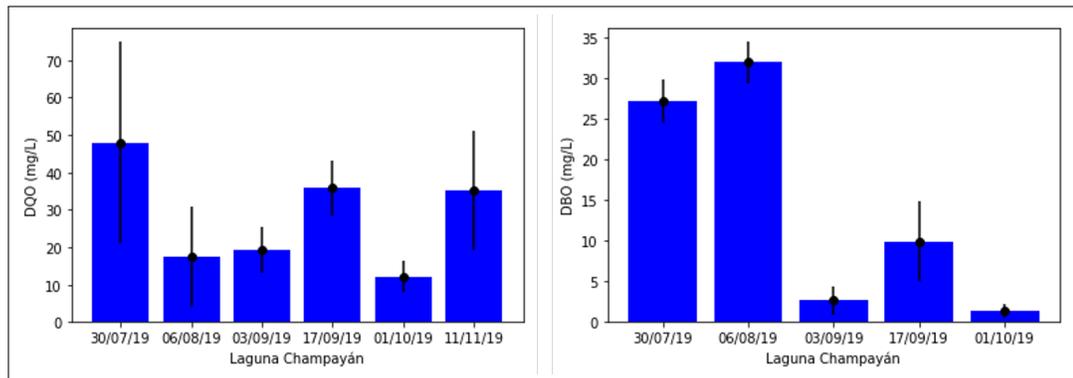


Figura 5.3: Resultados de DQO y DBO₅ de la Laguna Champayán.

De acuerdo a los estándares ya mencionados de la CONAGUA, los niveles de DQO y DBO₅ del cuerpo de agua Champayán en cada muestreo, permitió realizar la siguiente clasificación de resultados ver Tabla 5.4.

Tabla 5.4: Valores de DQO y DBO₅ y su clasificación encontrados en la laguna de Champayán durante el período de muestreo

DQO (mg O ₂ /L)		DBO ₅ (mg O ₂ /L)	
48	Contaminada.	27.2	Aceptable.
17.49	Buena Calidad.	32	Contaminada.
19.2	Buena Calidad.	2.66	Excelente.
35.84	Aceptable.	16	Aceptable.
12.16	Buena Calidad.	1.5	Excelente.
35.2	Aceptable		

En la laguna Champayán, se encuentra un casa similar a El Conejo, ya que los días próximos a la toma de muestra para ambos casos en donde los resultados para DQO y DBO₅ fueron de

Capítulo 5. Evolución de parámetros relacionados con la carga orgánica

“Contaminada” se presentaron precipitaciones; si bien el resultado de la DBO₅ del 30/07/2019 entra en .Aceptable"quedó muy cerca de clasificar en Contaminadaçaso en el que se encuentra el resultado de DQO de la misma fecha.

Como se mencionó anteriormente, los escurrimientos que se presentan en los cuerpos de agua ocasionados por las precipitaciones en la zona, pueden llegar alterar la calidad del agua de los mismos, aunado a ello la laguna Champayán es uno fuente de abastecimiento de agua potable de la zona, motivo por lo que la calidad de esta se mantiene en buen estado.

Evaluación de la flora y fauna presente

6.1. Revisión de muestras al microscopio

Se tomaron muestras vivas en ambas lagunas, ver Tabla 6.1, en envases de polietileno de 500 mL de capacidad. En primera instancia se observan las muestras al microscopio para una identificación de las especies de microalgas que se encuentran en las lagunas Champayán y El Conejo, ver Figura 6.1, de esta manera se determina el medio de cultivo que se utilizará en los métodos de aislamiento. De manera preliminar se decetaron algunas especies de microalgas como *Scenedesmus*, *Coelastrum*, entre otras que serán descritas más adelante.

Tabla 6.1: Muestreo de Microalgas

Fecha de muestreo: 09/Octubre/2019		
Laguna	pH	Temperatura
El Conejo	7	30°C
Champayán	7	29°C

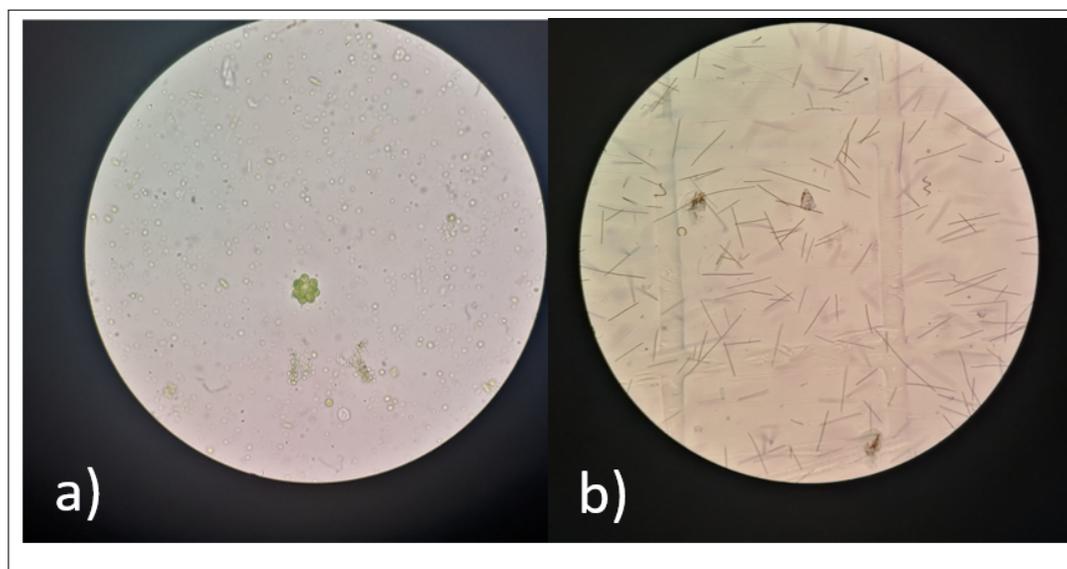


Figura 6.1: Micrografías iniciales de las muestras observadas al microscopio; a) Laguna Champayán y b) Laguna El Conejo.

6.2. Identificación de especies

A continuación se muestran algunas de las especies encontradas en la laguna de Champayán Figuras 6.2 y 6.3. Las muestras obtenidas de la Laguna Champayán en estudio fueron observadas al microscopio con aumentos de 10X, 40X y con aceite de inmersión a 100X en algunos casos y se identificaron por comparación con los catálogos de Gómez & Bauner y Guamán & González [96], [97]

A las especies encontradas en la laguna Champayán corresponden las siguientes descripciones
Tabla 6.2:

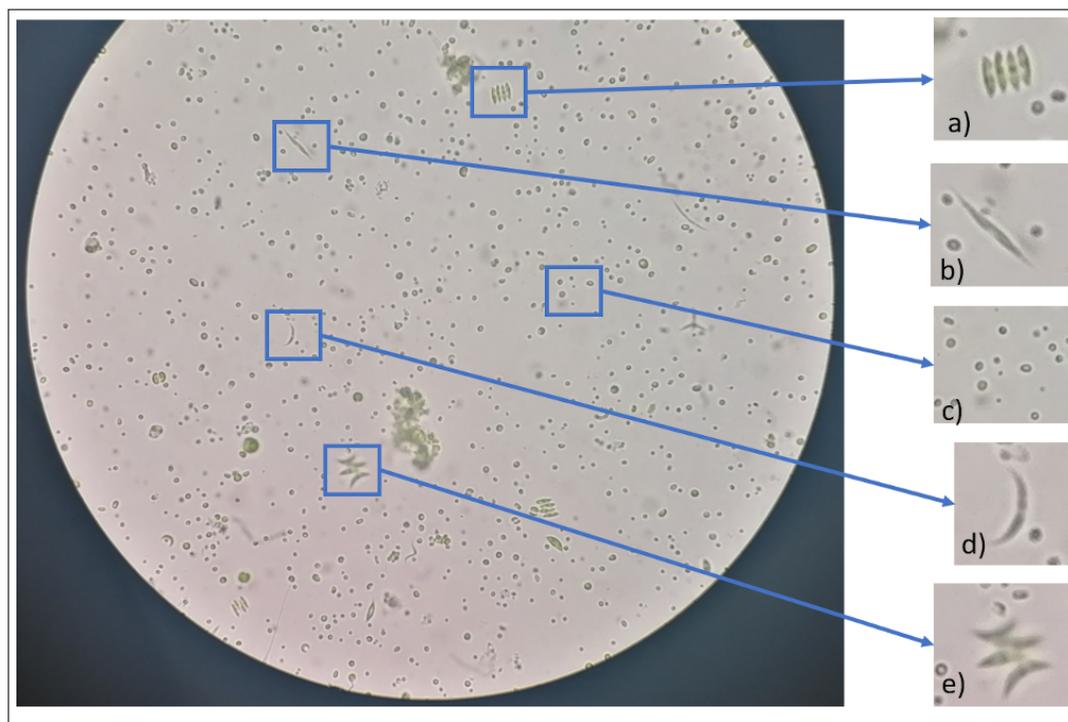


Figura 6.2: Micrografía de las muestras de la laguna Champayán, encontrando las especies: a) *Desmodesmus*, b) *Monoraphidium tortile*, c) *Chlorella sp.*, d) *Ankistrodesmus sp.*, e) *Scenedesmus acuminatus*

Tabla 6.2: Descripción de dimensiones de microlagas encontradas en Laguna Champayán, según [96] y [97].

Microalga	Largo	Ancho	Diámetro
<i>Ankistrodesmus sp</i>	22.4 μm	3.2 μm	No aplica
<i>Monoraphidium tortile</i>	16 - 32 μm	1 - 3.2 μm	No aplica
<i>Pediastrum boryanum</i>	15 - 19 μm	9 - 18 μm	No aplica
<i>Pediastrum simplex</i>	12.8 μm	8.3 - 12.8 μm	No aplica
<i>Phormidium sp</i>	50 μm	2.5 - 11 μm	No aplica
<i>Scenedesmus acuminatus</i>	8 - 22.4 μm	2.5 - 4.8 μm	No aplica
<i>Desmodesmus</i>	6.4 - 9.6 μm	3 - 4.8 μm	No aplica
<i>Chlorella sp</i>	No aplica	No aplica	2 - 10 μm
<i>Coelastrum sp</i>	No aplica	No aplica	6 μm
<i>Pediastrum duplex</i>	No aplica	No aplica	4 - 30 μm

Estas especies de microalgas son en su mayoría cosmopolitas. En forma general, son consideradas como indicadores de una buena calidad del agua ya que estas especies son encontradas en ambientes mesotrópicos, lo que significa que la Laguna Champayán contiene una cantidad

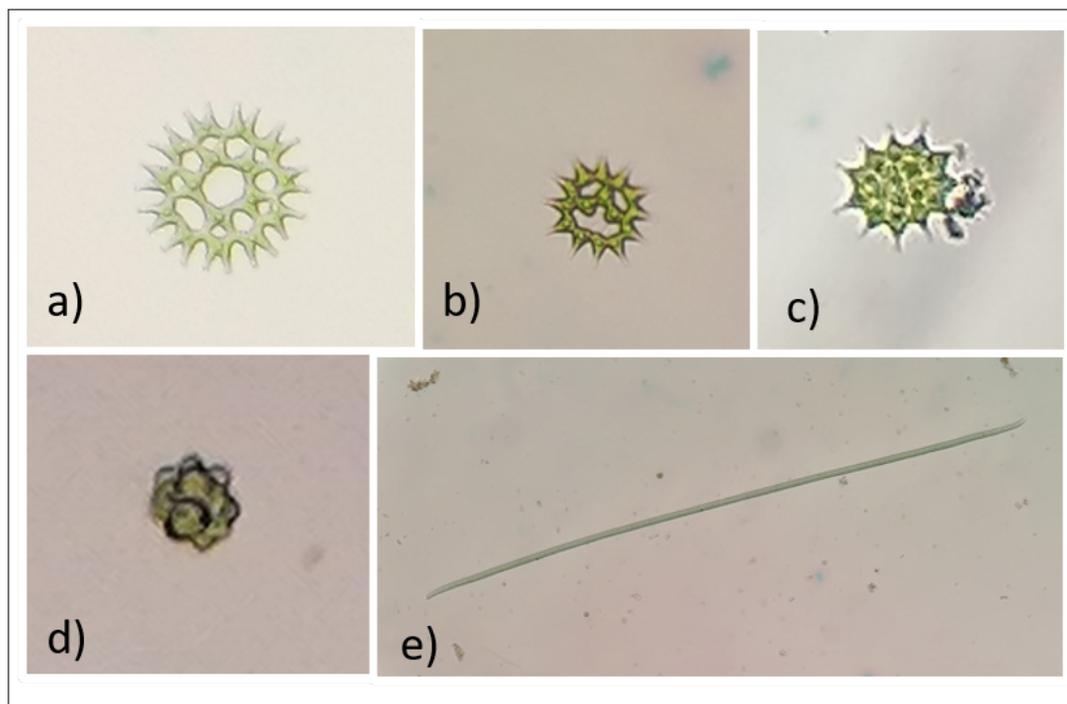


Figura 6.3: Especies encontradas en laguna Champayán: (a) *Pediastrum duplex*, (b) *Pediastrum simplex*, (c) *Pediastrum boryanum*, (d) *Coelastrum*, (e) *Phormidium sp*

moderada de nutrientes y es moderadamente productiva en términos de la vida acuática de su flora y fauna. Otro indicador que puede destacar es la presencia de especies perifíticas como *Pediastrum boryanum*, *Pediastrum duplex* y *Pediastrum simplex*, las cuales son muy sensibles a los cambios ambientales en los cuerpos del agua donde habitan [26], [77].

Es de mencionarse que en ambas lagunas el pH se mantuvo constante durante todo el período de estudio de las mismas, obteniendo un valor de 7 en todas las mediciones; además de que la temperatura fue similar para las dos lagunas, siendo de +2°C en el rango de El Conejo (30 - 33°C) comparada con el de Champayán (29 - 31°C), a excepción de la última toma del 11/11/2019 que fue de 22°C, temperatura típica por la época del año.

Sin embargo, por otra parte, como se puede observar en la Figura 6.4 que corresponde a la laguna El Conejo, se observó una población excesiva de una especie de microalga en particular,

lo que se conoce como Florecimiento Algal Nocivo (FAN). Esta especie se identificó como *Planktothrix* sp., debido a las observaciones realizadas al microscopio. Las células de esta especie de cianobacteria presentan características morfológicas como filamentos con una vaina mucilaginosa muy delgada, con células de 1.6 a 2.0 μm de largo y de 6.6 a 7.0 μm de ancho [98].

Si bien las condiciones de pH y temperatura fueron similares para ambas lagunas, en la laguna de El Conejo se presenta el crecimiento desmedido de la especie *Planktothrix* sp., debido tanto a las descargas que se realizan en esta laguna, así como su ubicación (rodeada de industrias) es otro probable factor, aunado a que, a diferencia de la laguna Champayán donde existe tránsito de lanchas que la utilizan como medio llegar para al Río Tamesí, lo que promueve la aireación del agua, en la laguna El Conejo, el tamaño de la misma no es transitada por gran número de lanchas.

Al crecimiento excesivo de una sola especie se le conoce como Florecimiento Algal Nocivo (FAN), y tiene un impacto negativo en el cuerpo de agua ya que representa una amenaza a la biodiversidad de los invertebrados, peces y mamíferos marinos, así como a la salud de seres humanos consumidores de pescados y mariscos intoxicados por toxinas sintetizadas por esta especie [76]. En el caso particular de *Planktothrix* sp. produce neurotoxinas, como Anatoxina-a que actúan afectando la transmisión del impulso nervioso y pueden provocar la muerte por parálisis respiratoria en casos extremos [99].

Los FANs como el observado en la laguna El Conejo, por la cianobacteria *Planktothrix* sp., afectan los ecosistemas acuáticos, influyendo en las características fisicoquímicas, entre ellas disminuyen las condiciones de luz y afecta el potencial de redox del agua, entre otros. Este último dado que al existir un exceso de población de un solo microorganismo la posibilidad de



Figura 6.4: Vista de muestra viva perteneciente a la laguna El Conejo a 10X.

que los demás microorganismos ayuden con la degradación de la materia orgánica del cuerpo de agua en cuestión. Además de lo anterior la producción de toxinas por cianobacterias es una amenaza para organismo vivos, incluidos los humanos [100, 101].

El cambio climático y la eutrofización son los fenómenos predominantes que estimulan las formaciones de FANs de las cianobacterias, ya que podría afectar el régimen térmico de los lagos, aumentar la temperatura de las aguas superficiales y como consecuencia afectar su etapa trófica, lo que significaría un cambio en las condiciones de nutrientes que se encuentran en el cuerpo de agua.

Aunado a esto, las actividades antropogénicas se consideran los principales factores para favorecer la proliferación de cianobacterias [102]. Presumiblemente, en este caso se encuentra

la laguna El Conejo, puesto la temperatura superficial del agua es relativamente alta, además de que El Conejo en la zona industrial y se identificaron descargas de aguas residuales, ver Figura 5.2 lo que crea un ambiente propicio para que *Planktothrix* sp. prolifere.

La cianobacteria *Planktothrix* sp. es conocida como una de las principales cianobacterias causante de problemas de sabor y olor en el agua, ya que se ha detectado como productora de sustancias que causan olor a “tierra / humedad”, otra característica de los cuerpos de agua eutróficos y con bajo un nivel de agua [103], [104].

El principal daño causado a peces por la ingesta de *Planktothrix* sp., es desde la afectación en su desarrollo y crecimiento, su muerte. Esto registrado durante FAN's de esta cianobacteria [105]. Es de mencionarse que en comparación con otras cianobacterias *Planktothrix* sp., se ha demostrado que contiene las cantidades más altas de toxinas por gramo de peso seco [106], los peces expuestos a esta toxina presentaron severo daño al hígado (necrosis), también se detecto daño en el riñon, tejido intestinal (en menor medida) e inclusive, los peces presentaron obstrucción en las branquias por filamentos de *Planktothrix* sp. [107].

6.3. Aislamiento de cepas específicas con interés biotecnológico

Se hicieron pruebas para el aislamiento de microalgas con los medios de cultivo BG11, F2 y Bayforlan Forte descritos en la sección 3.3.3, de los cuales, el tercer medio resultó más exitoso en la proliferación y aislamiento de microalgas muestreadas.

Por el método de diluciones seriadas se obtuvieron cultivos monoespecíficos y de cepas mixtas, 19 y 23 en total respectivamente, mismos que se muestran en las Tablas 6.3 y 6.4, que se encuentran al final de este capítulo.

Se puede observar que en la Tabla 6.3 la columna con números del **1** al **10** corresponde a las muestras y la fila con las letras de la **a** a la **e** identifica a los tubos Eppendorf de las diluciones seriadas. En el caso de la Tabla 6.4 la columna con las letras de la **A** a la **H** representan a las muestras y los números del 1 al 5 a los tubos Eppendorf.

Como se identifica en las Tablas 6.3 y 6.4, las especies que se lograron aislar con éxito, ya sean en cultivos monoespecíficos o mixtos son:

- *Chlorella sp.*
- *Desmodesmus.*
- *Ankistrodesmus sp.*
- *Scendesmus acuminatus.*
- *Coelastrum sp.*
- *Oocystis.*

De estas, podemos observar que las especies *Chlorella* y *Desmodesmus* las que se lograron aislar con mayor facilidad al tener la característica de que se adaptan más fácilmente a diferentes ecosistemas, es decir son cosmopolitas. Estas microalgas han sido utilizadas ampliamente por su capacidad de degradar contaminantes orgánicos peligrosos en el tratamiento de aguas residuales [108–111]; esto por mencionar un ejemplo de los diferentes usos que se le dan a estas microalgas. A continuación se describen más a detalle cada una de estas dos especies.

6.3.1. *Chlorella*

Entre las especies de microalgas, los miembros del género *Chlorella* ganaron importancia como cepas de acumulación de biomasa, permitiendo producciones industriales sostenibles de productos de alto valor [112]. Este género ha sido aplicado al tratamiento biológico de aguas residuales, probando su efectividad en la remoción de nitrógeno, fósforo [113], demanda química de oxígeno [114] y metales. Su uso en aplicaciones de biorremediación ha sido bastante amplio, en forma suspendida o inmovilizada, como cepa pura o en asociación con otros microorganismos no fotosintéticos [115]. Se ha encontrado que *Chlorella* puede crecer adecuadamente en aguas residuales y esto puede conducir a una mayor productividad de lípidos o carbohidratos que las obtenidas con medio artificial [116].

Las microalgas pueden producir péptidos capaces de unirse a los metales, formar complejos organometálicos, en particiones dentro de las vacuolas para facilitar el control adecuado de la concentración de iones de metales pesados en el citoplasma, y así prevenir o neutralizar los efectos tóxicos potenciales que éstos presentan [109], lo que significa que el género *Chlorella* es también utilizado en la remoción de metales pesados [117].

En general, *Chlorella* es eficiente en biosecuestrar gases de combustión que contiene CO₂. De hecho las microalgas son de 10 a 50 veces más eficientes en biosecuestrar CO₂ que las plantas terrestres, lo cual hace que este género sea muy atractivo para producir lípidos y carbohidratos y la subsecuente producción de biocombustibles de cuarta generación [118]. Considerando todo lo anterior *Chlorella* es el género más prometedor, tanto para la biomitigación de CO₂ como para el tratamiento de aguas residuales [119].

Además de biodiesel [37], se puede producir bioetanol a partir de carbohidratos obtenidos de *Chlorella*, ya que este género posee más del 50 % de almidón en peso seco. El bioetanol se usa como una alternativa a la gasolina, debido a su alto índice de octanaje, entre otras cualidades [118].

Un método alternativo para la sostenibilidad agrícola es la utilización de biopelículas de microalgas en de la fertilización de los suelos, *Chlorella* es una de las especies más predominantes en este aspecto [120].

Por otra parte las microalgas de agua dulce, como lo es *Chlorella*, pueden ser utilizadas como suplemento dietético potencial y actualmente pueden ser uno de los métodos alternativos para proporcionar fuentes de alimento a bajo costo [121].

Algunas especies del género *Chlorella*, se han utilizado como medicina alternativa desde la antigüedad y son conocidas por ser un alimento tradicional en Oriente, el cual es ampliamente producido y comercializado como suplemento alimenticio en muchos países, incluidos China, Japón, Estados Unidos y Europa. La *Chlorella* se considera como una fuente potencial de un amplio espectro de nutrientes, carotenoides, vitaminas y minerales. Se ha reportado su importancia como un factor que promueve la salud en muchos tipos de trastornos, como úlceras gástricas, heridas, estreñimiento, anemia, hipertensión, diabetes y desnutrición infantil. En relación con la composición química, *Chlorella* contiene aproximadamente 50 % de proteína, sin embargo, la sustancia más importante en *Chlorella* es un inmunoestimulador activo, que elimina radicales libres y es un reductor de lípidos en la sangre [122].

6.3.2. *Desmodesmus*

Entre las miles de especies de microalgas que se encuentran en la naturaleza, solo unas pocas son estudiadas actualmente y que se sabe son resistentes a vivir en aguas residuales o en biodigestión, *Desmodesmus* es una de estas [123]. Es debido a esto que *Desmodesmus* se han utilizada en el tratamiento de aguas residuales [124]. Además ya se ha estudiado el concepto de un sistema integrado de tratamiento de aguas residuales y la obtención de biomasa microalgal [125], donde nuevamente los protagonistas para el aprovechamiento de esta biomasa son biocombustibles, más frecuentemente el biodiesel [126], ya que en rendimientos (teóricos) la extracción de lípidos de *Desmodesmus* es mayor a la de cultivos como la soja y el girasol [127].

La biorremediación es un proceso que se define como la utilización de microalgas en el tratamiento de aguas residuales contaminadas. Este proceso contribuye de manera significativa a la eliminación de nutrientes y metales de las aguas residuales. Las microalgas verdes eliminan el N y el P de las aguas residuales por asimilación, mientras que los iones metálicos se eliminan por "biosorción", *Desmodesmus* ha demostrado ser eficiente en la eliminación de metales de aguas residuales, metales como el cobre y el níquel fueron eliminados en un 94 % y 85 % respectivamente de dichas aguas por esta microalga [128].

Otro uso que se le da a *Desmodesmus* es en la industria de los alimentos acuícolas por su alto contenido nutricional, muy similar al de la harina y aceite de pescado, esta similitud que a pesar de ser buscada en las plantas terrestres no fue encontrada alguna que llegase a sustituir, en valor nutrimental a estos alimentos acuícolas [129].

Como se menciona, ambas microalgas se han utilizado ampliamente en el tratamiento de aguas residuales, así como en remoción de metales pesados, lo que nos da una probabilidad del por qué la calidad del agua de la laguna de El Champayán se encuentra en condiciones aceptables.

Capítulo 6. Evaluación de la flora y fauna presente

Tabla 6.3: Cepas obtenidas por diluciones seriadas (Fecha de realización: 22-11-2019).

Diluciones seriadas (22/noviembre/2019)					
	a	b	c	d	e
1	<i>Oocystis</i> y <i>Ankistrodesmus</i> sp	<i>Chlorella</i> sp	<i>Chlorella</i> sp, <i>Desmodesmus</i> , <i>S. acuminatus</i> y <i>Ankistrodesmus</i> sp	<i>Chlorella</i> sp y <i>S. acuminatus</i>	<i>Chlorella</i> sp, <i>Ankistrodesmus</i> sp, <i>Desmodesmus</i>
2	<i>Chlorella</i> sp	<i>Chlorella</i> sp	<i>Chlorella</i> sp y <i>S. acuminatus</i>	-	<i>Chlorella</i> sp, <i>S. acuminatus</i> y <i>Ankistrodesmus</i> sp
3	<i>Chlorella</i> sp	-	<i>Chlorella</i> sp	<i>Chlorella</i> sp y <i>Coelastrum</i> sp	-
4	<i>Chlorella</i> sp y <i>Desmodesmus</i>	-	<i>Chlorella</i> sp, <i>Desmodesmus</i> , <i>Ankistrodesmus</i> sp y <i>Coelastrum</i> sp	<i>Chlorella</i> sp	<i>Chlorella</i> sp, <i>Desmodesmus</i> , <i>Ankistrodesmus</i> sp
5	<i>Chlorella</i> sp	-	-	<i>Chlorella</i> sp	<i>Chlorella</i> sp
6	-	<i>Chlorella</i> sp y <i>Ankistrodesmus</i> sp	-	-	-
7	<i>Desmodesmus</i> , <i>Chlorella</i> sp y <i>Oocystis</i>	-	<i>Chlorella</i> sp	<i>Chlorella</i> sp, <i>Desmodesmus</i> , <i>Ankistrodesmus</i> sp y <i>S. acuminatus</i>	<i>Chlorella</i> sp
8	-	-	-	-	<i>Chlorella</i> sp
9	<i>Coelastrum</i> sp y <i>Chlorella</i> sp	<i>Chlorella</i> sp y <i>Desmodesmus</i>	-	<i>Chlorella</i> sp, <i>Ankistrodesmus</i> sp y <i>Desmodesmus</i>	<i>Chlorella</i> sp, <i>Ankistrodesmus</i> sp y <i>Desmodesmus</i>
10	-	-	-	-	<i>Chlorella</i> sp, <i>Desmodesmus</i> , <i>S. acuminatus</i>
11	<i>Chlorella</i> sp	-	-	<i>Chlorella</i> sp, <i>Ankistrodesmus</i> sp y <i>S. acuminatus</i>	<i>Chlorella</i> sp, <i>Ankistrodesmus</i> sp, <i>Desmodesmus</i> y <i>S. acuminatus</i> .

Nota: Las celdas marcadas con (-) corresponden a tubos en los que no se encontraron células de ningún microorganismo.

Tabla 6.4: Cepas obtenidas por diluciones seriadas (Fecha de realización: 12-12-2019).

Diluciones seriadas (12/diciembre/2019)					
	1	2	3	4	5
A	<i>Chlorella</i> , <i>Ankistrodesmus sp</i> y <i>Desmodesmus</i>	-	<i>Chlorella sp</i>	-	<i>Chlorella sp</i>
B	<i>Chlorella sp</i> y <i>Desmodesmus</i>	-	-	-	-
C	-	-	-	-	-
D	-	-	-	-	-
E	-	-	-	-	<i>Chlorella sp</i>
F	-	-	-	-	-
G	-	-	-	-	-
H	<i>Desmodesmus</i>	<i>Ankistrodesmus</i> <i>sp</i>	<i>Desmodesmus</i>	-	<i>Coelastrum sp</i> y <i>Desmodesmus</i>

Nota: Las celdas marcadas con (-) corresponden a tubos en los que no se encontraron células de ningún microorganismo.

Conclusiones y Trabajos Futuros

7.1. Conclusiones

Las lagunas Champayán y El Conejo, si bien, están ubicadas en el mismo municipio, Altamira Tamaulipas, su ubicación geográfica exacta es uno de los factores que afectan en la calidad de agua de la mismas. La primera ubicada en la zona centro de la ciudad y la segunda en la zona industrial de esta. Además de esto el tamaño y el transito que reciben repercute en factores como la Demanda Química y Bioquímica de Oxígeno, análisis que se llevaron a cabo en este proyecto para la caracterización del agua. Aunque factores como el pH y la temperatura fueron sumamente similares en ambas lagunas, los resultados de DQO, DBO₅ y de la biodiversidad microalgal observados apuntaron resultados opuestos.

Para Champayán, en general, la calidad del agua por DQO se puede clasificar como de "Buena Calidad", por el análisis de DBO₅ los resultados se apega más a la clasificación de "Excelente", esto también es corroborado por las especies de microalgas encontradas en esta laguna; por ejemplo especies del género *Chlorella*, *Desmodesmus* y la más sobresaliente *Pediastrum*. Las microalgas *Pediastrum boryanum*, *Pediastrum simplex* y *Pediastrum duplex* fueron detectadas en todas las muestras obtenidas de la Laguna Champayán, mismas que ha son identificadas bioindicadores de la buena calidad del agua, además tanto *Chlorella* como *Desmodesmus* se han utilizado ampliamente como agentes depuradores del agua, lo que las convierte en factores del mantenimiento de la buena calidad en Champayán.

Por otra parte, en El Conejo, los resultados de DQO y DBO₅ clasifican la calidad del agua de la laguna en "Contaminada"; la mala calidad se debe presumiblemente a las descargas tanto industriales como municipales que se efectúan en la laguna, aunado a la poca aireación que recibe el agua de El Conejo. Estos factores crean el ambiente ideal para que un Florecimiento Algal Nocivo (FAN) pueda efectuarse, resultado que se encontró al observar las muestras de microalgas obtenidas de estas lagunas, ya que al ser revisadas al microscopio se detectó un crecimiento excesivo de una sola especie de microalga, esta fue identificada como *Planktothrix* sp., una cianobacteria estudiada por su factor de producir toxinas y compuestos que provocan un olor a humedad y/o tierra en el agua. El dato alarmante en la laguna El Conejo es el FAN provocado por *Planktothrix* sp. y que esta sea productora de toxinas mismas que han estudiado provocan daño en peces, algunos moluscos y seres humanos.

En este trabajo se da la primera información sobre la calidad del agua en los sistemas estudiados y los primeros registros de la composición fitoplanctónica de las mismas. Se lograron establecer cultivos monoalgales y mixtos de varias especies de importancia biotecnológica.

7.2. Trabajos Futuros

Por las razones mencionadas en la sección anterior se sugiere continuar con la investigación en la laguna El Conejo, para la evaluación de las condiciones de esta a profundidad y del impacto que esto tiene en el ambiente. Es imperativo la realización de más análisis para determinar el grado del daño en el que se encuentra la laguna además de cómo esto impacta en el ecosistema a su alrededor. Un hecho importante a considerar es que pobladores de Altamira utilizan la laguna de El Conejo para la pesca, actividad que, con los datos obtenidos en esta investigación, no es de recomendarse por el FAN detectado en la laguna. Se reitera la sugerencia de la realización de más estudios en la laguna El Conejo para tener una visión completa del estado en el que se encuentra la laguna y como esto afecta tanto a la misma como al ecosistema aledaño a ella.

7.3. Productos académicos

- Póster "*Diversidad microalgal de la laguna El Conejo en Altamira, Tamaulipas para la eliminación de agentes contaminantes. Propuesta de Estudio*". En Simposio Internacional "Biodiversidad, plásticos y alternativas para su eliminación", realizado del 6 al 7 de Junio de 2019 en Veracruz, Veracruz.
- Ponencia "*Caracterización de las lagunas Champayán y El Conejo*". En el "7° Encuentro de Jóvenes Investigadores de Tamaulipas 2019", realizado del 13 al 14 de Noviembre de 2019 en Cd. Victoria, Tamaulipas.

- Ponencia "*Microalgas como bioindicador de la calidad del agua - Primera aproximación*". En el 12° Congreso Internacional "La Investigación Científica y Tecnológica impulsando la creatividad para innovar", realizado del 19 al 21 de Agosto de 2020 en Transmisión en Línea, sede Tampico, Tamaulipas.

Bibliografía

- [1] M. Moreno Sanz, “La Colonización De La Tierra Por Los Vegetales,” *Monografías del Real Jardín Botánico de Córdoba*, vol. 11, pp. 11–27, 2003.
- [2] S. S. Bolaños Ortiz y G. N. Martínez Caranguay, “Producción de lípidos a partir de la microalga *Chlorella vulgaris*,” *II Exposición de Trabajos de Investigación UNIMAR*, pp. 345–355, 2016.
- [3] B. Hernández Reyes, M. Rogríguez Palacio, C. Lozano Ramírez, y P. Castilla Hernández, “Remoción de nutrientes por tres cultivos de microalgas libres e inmovilizados,” *Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal*, vol. 1, no. 2, pp. 80–94, 2012.
- [4] C. González López, F. Acién, J. Fernández Sevilla, y E. Molina, “Uso de microalgas como alternativa a las tecnologías disponibles de mitigación de emisiones antropogénicas de CO_2 ,” *Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal*, vol. 2, pp. 93–106, 2011.
- [5] L. M. Gómez Luna, “Microalgas: aspectos ecológicos y biotecnológicos,” *Revista Cubana de Química*, vol. 9, no. 2, pp. 3–20, 2015.

- [6] A. Valenzuela B., J. Sanhueza C., y R. Valenzuela B., “Las microalgas: una fuente renovable para la obtención de ácidos grasos omega-3 de cadena larga para la nutrición humana y animal,” *Revista Chilena de Nutrición*, vol. 42, no. 5, pp. 306–310, 2015.
- [7] R. Wirth, G. Lakatos, T. Böjti, G. Maróti, Z. Bagi, G. Rákhely, y K. Kovács, “Anaerobic gaseous biofuel production using microalgal biomass – A review,” *Anaerobe*, vol. 52, pp. 1–8, 2018.
- [8] V. Bayro-Kaiser y N. Nelson, “Microalgal hydrogen production: prospects of an essential technology for a clean and sustainable energy economy,” *Photosynthesis Research*, 2017.
- [9] J. B. K. Park y R. J. Craggs, “Nutrient removal in wastewater treatment high rate algal ponds with carbon dioxide addition,” *Water Science & Technology*, vol. 63, no. 8, pp. 1758–1764, 2011.
- [10] G. Breuer, W. A. C. Evers, J. H. de Vree, D. M. M. Kleinegris, D. E. Martens, R. H. Wijffels, y P. P. Lamers, “Analysis of Fatty Acid Content and Composition in Microalgae,” *Journal of Visualized Experiments*, vol. 5, no. 80, pp. 1–9, 2013.
- [11] A. Converti, A. A. Casazza, E. Y. Ortiz, P. Perego, y M. Del Borghi, “Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris* for biodiesel production,” *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, vol. 48, no. 6, pp. 1146–1151, 2009.
- [12] G. Wang y T. Wang, “Characterization of lipid components in two microalgae for biofuel application,” *Journal of the American Oil Chemists’ Society*, vol. 89, no. 1, pp. 135–143, 2012.
- [13] W. H. Leong, S. N. Azella Zaine, Y. C. Ho, Y. Uemura, M. K. Lam, K. S. Khoo, W. Kiatkittipong, C. K. Cheng, P. L. Show, y J. W. Lim, “Impact of various microalgal-

- bacterial populations on municipal wastewater bioremediation and its energy feasibility for lipid-based biofuel production,” *Journal of Environmental Management*, vol. 249, p. 109384, 2019.
- [14] M. Barange y R. I. Perry, *Repercusiones físicas y ecológicas del cambio climático en la pesca de captura marina y continental y en la acuicultura*, K. Cochrane, C. De Young, D. Soto, y T. Bahri, Eds., 2009. [Online]. Available: <http://www.fao.org/docrep/015/i0994s/i0994s01.pdf>
- [15] CONANP, “México Megadiverso,” pp. 1–5, 2020. [Online]. Available: <https://www.gob.mx/conanp/articulos/mexico-megadiverso-173682>
- [16] A. López-Cortés, L. E. De-Beshan, M. Bacilio Jiménez, and Y. Bashan, “La Investigación en Microbiología Ambiental en Baja California: Importancia y Usos,” *Recursos Naturales y Sociedad*, vol. 1, no. 7, pp. 83–98, 2015.
- [17] T. Gobierno del Estado, “Agricultores de altamira esperan buena cosecha de soya,” pp. 1–6, 2019. [Online]. Available: <https://www.tamaulipas.gob.mx/desarrollorural/2019/08/agricultores-de-altamira-esperan-buena-cosecha-de-soya/>
- [18] A. Gobierno Municipal, “NUESTRA CIUDAD: CAMPO,” pp. 2–3, 2018. [Online]. Available: <https://www.altamira.gob.mx/version-movil/campo-altamira-tamaulipas.html>
- [19] J. Pacheco y A. Cabrera, “Efecto del uso de fertilizantes en la calidad del agua subterránea en el estado de Yucatan,” *Ingeniería Hidráulica en México*, vol. 11, no. 1, pp. 53–60, 1996.
- [20] Y. Martínez Martínez, S. Uku Karaj, y J. Albiac Murillo, “El control de la contaminación por nitratos en el regadío,” *Economía Agraria y Recursos Naturales*, vol. 2, no. 2, pp. 115–131, 2002.

- [21] M. Á. Zamora, F. León, C. Martínez, R. Guerra, M. Á. Martín, y C. Álvarado, “Los ecosistemas y su dinámica,” in *Enciclopedia Global Interactiva*. Grupo Editorial Cultural, 2005, ch. Ciencias d, p. 1248.
- [22] I. Instituto Nacional de Estadística y Geografía, “Prontuario de Información Geográfica Municipal,” Instituto Nacional de Estadística y Geografía, INEGI, Ciudad de México, Tech. Rep., 2009. [Online]. Available: <http://www.beta.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos{ }geograficos/31/31038.pdf>
- [23] O. Sánchez, “Ecosistemas acuáticos: diversidad, procesos , problemática y conservación,” *Perspectivas sobre la conservación de ecosistemas en México.*, pp. 11–36, 2007.
- [24] A. Tolivia, A. Boltovskoy, E. J. Barón, L. J. Marciales Caro, L. M. González-González, M. Nuñez Avellaneda, M. S. Vigna, R. O. Echenique, S. E. Sala, y V. Conforti, *Microalgas acuáticas: La otra escala de la biodiversidad en la Amazonía colombiana*, 1st ed., M. Nuñez Avellaneda, Ed., 2008, vol. 1.
- [25] L. Díaz Batalla, C. A. Gómez Aldapa, J. Castro Rosas, and A. Téllez Jurado, *Biotecnología y Alimentos en Hidalgo; Transitando a la Bioeconomía .*, Ciudad de México, 2016.
- [26] N. Quiroz González, D. León Álvarez, y M. G. Rivas Acuña, “Nuevos registros de algas verdes marinas (Ulvophyceae) para Tabasco, México,” *Acta Botanica Mexicana*, vol. 118, pp. 121–138, 2017.
- [27] M. A. Colorado Gómez, D. A. Moreno Tirado, y J. L. Pérez Posada, “Desarrollo , producción y beneficio ambiental de la producción de microalgas,” *Ambiente y Desarrollo*, vol. 17, no. 32, pp. 113–126, 2013.

- [28] C. A. Estrada, Y. C. Noguera, y J. E. Lopez, “Desarrollo tecnológico prototipo para la producción de biodiesel a partir de microalgas en sistemas cerrados, como biocombustible de segunda generación,” *Eighth LACCEI Latin American and Caribbean Conference for Engineering and Technology (LACCEI'2010)*, pp. 1–10, 2010.
- [29] J. Silva B, V. Vásquez V, y F. Merino M, “Producción de biomasa de *Tetraselmis suecica* empleando agua de mar con sanguaza.” *Scientia Agropecuaria*, vol. 2, no. 1, pp. 13–23, 2011.
- [30] A. L. Roa Parra y R. O. Cañizares Villanueva, “Bioremediación de aguas con fosfatos y nitratos utilizando *Scenedesmus incrassatulus* inmovilizado,” *Bistua: revista de la facultad de ciencias básicas*, vol. 10, no. 1, pp. 71–79, 2012.
- [31] A. Hernández Pérez y J. I. Labbé, “Microalgas, cultivo y beneficios,” *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, vol. 49, no. 2, pp. 157–173, 2014.
- [32] S.-Y. Chiu, C.-Y. Kao, T.-T. Huang, C.-J. Lin, S.-C. Ong, C.-D. Chen, J.-S. Chang, y C.-S. Lin, “Bioresource Technology Microalgal biomass production and on-site bioremediation of carbon dioxide, nitrogen oxide and sulfur dioxide from flue gas using *Chlorella sp.* cultures,” *Bioresource Technology*, vol. 102, no. 19, pp. 9135–9142, 2011.
- [33] N. Abdel-Raouf, A. A. Al-Homaidan, y I. B. Ibraheem, “Microalgae and wastewater treatment,” *Saudi Journal of Biological Sciences*, vol. 19, no. 3, pp. 257–275, 2012.
- [34] R. Sankaran, P. L. Show, D. Nagarajan, y J.-S. Chang, “Exploitation and Biorefinery of Microalgae,” *Waste Biorefinery*, pp. 571–601, 2018.
- [35] C. C. García-Gozalbes, Z. Arbib, y J. A. Perales-Vargas-Machuca, “Cinéticas de crecimiento y consumo de nutrientes de microalgas en aguas residuales urbanas con diferentes niveles de tratamiento,” *Tecnología y Ciencias del Agua*, vol. 6, no. 1, pp. 49–68, 2015.

- [36] L. Christenson y R. Sims, “Production and harvesting of microalgae for wastewater treatment, biofuels, y bioproducts,” *Biotechnology Advances*, vol. 29, no. 6, pp. 686–702, 2011.
- [37] S. A. Scott, M. P. Davey, J. S. Dennis, I. Horst, C. J. Howe, D. J. Lea-smith, y A. G. Smith, “Biodiesel from algae: challenges and prospects,” *Current Opinion in Biotechnology*, vol. 21, no. 3, pp. 277–286, 2010.
- [38] M. Balat y H. Balat, “Progress in biodiesel processing,” *Applied Energy*, vol. 87, no. 6, pp. 1815–1835, 2010.
- [39] L. C. Fernández Linares, J. Montiel Montoya, A. Millán Oropeza, y A. Badillo Coronado, “Producción de biocombustibles a partir de microalgas,” *Ra Ximhai - Revista De Sociedad, Cultura, Desarrollo*, vol. 8, no. 3, pp. 543–558, 2012.
- [40] G. R. Timilsina y A. Shrestha, “How much hope should we have for biofuels?” *Energy*, vol. 36, no. 4, pp. 2055–2069, 2011.
- [41] Y. Montero Sánchez, A. Gallo, L. M. Gómez Luna, I. Álvarez, L. C. Sabina, Y. Támara, A. Álvares, M. C. Alfonso, y L. R. Ramírez, “Productividad de Lípidos y composición de ácidos grasos de cinco especies de microalgas.” *Investigación y Saberes*, vol. 1, no. 2, pp. 37–43, 2012.
- [42] M. M. Loera Quezada y E. J. Olgún, “Las microalgas oleaginosas como fuente de biodiesel: retos y oportunidades,” *Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal*, vol. 1, pp. 91–116, 2010.
- [43] A. Palomino M., C. Estrada F., y J. López G., “Microalgas: Potencial para la producción de Biodiesel,” *IV Congresso Brasileiro de Mamona e I Simpósio Internacional de Oleaginosas Energéticas , João Pessoa , P B – 2010*, pp. 149–157, 2010.

- [44] F. Serna, L. Barrera, y H. Montiel, “Impacto Social y Económico en el Uso de Biocombustibles,” *Journal of Technology Management & Innovation Received*, vol. 6, no. 1, pp. 100–114, 2011.
- [45] A. Sánchez Riaño, A. Gutiérrez Morales, J. Muñoz Hernández, y C. Rivera Barrenco, “Producción de bioetanol a partir de subproductos agroindustriales lignocelulósicos,” *Tumbaga*, vol. 5, pp. 61–91, 2010.
- [46] E. Moreira Santos, “Principales características de las materias primas utilizadas en la producción de biodiesel: la influencia del contenido y la concentración de los ácidos grasos,” *Ingenium*, no. 25, pp. 53–61, 2012.
- [47] M. Bautista Vargas, J. García Navarro, R. Cabrera Cruz, and R. Torres Moreno, “Proceso sustentable de obtención de biodiesel,” *Revista de Sistemas Experimentales.*, vol. 3, no. 8, pp. 27–35, 2016.
- [48] G. Dragone, B. Fernandes, A. Vicente, y J. Teixeira, “Third generation biofuels from microalgae,” *Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology*, pp. 1355–1366, 2010.
- [49] D. R. Lovley, “Powering microbes with electricity: Direct electron transfer from electrodes to microbes,” *Environmental Microbiology Reports*, vol. 3, no. 1, pp. 27–35, 2011.
- [50] A. K. Vuppaladadiyam, P. Prinsen, A. Raheem, R. Luque, y M. Zhao, “Sustainability Analysis of Microalgae Production Systems: A Review on Resource with Unexploited High-Value Reserves,” *Environmental Science & Technology*, vol. 52, pp. 14 031–14 049, 2018.
- [51] J. Montiel Montoya, “Potencial y riesgo ambiental de los bioenergéticos en México,” *Ra Ximhai - Revista De Sociedad, Cultura, Desarrollo*, vol. 6, pp. 57–62, 2010.

- [52] M. T. Arias Peñaranda, A. d. J. Martínez Roldán, and R. O. Cañizares Villanueva, “Producción de biodiesel a partir de microalgas: parámetros del cultivo que afectan la producción de lípidos.” *Acta Biológica Colombiana*, vol. 18, no. 1, pp. 43–68, 2013.
- [53] F. Ación, J. Fernández Sevilla, J. Magán, A. González Céspedes, y E. Molina, “Evaluación global de la producción de biocombustibles con microalgas: Establecimiento de capacidades, limitaciones y factores determinantes de la viabilidad del proceso.” *Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal*, vol. 3, no. 1, pp. 41–58, 2012.
- [54] A. Malik, M. Lenzen, P. J. Ralph, y B. Tamburic, “Bioresource Technology Hybrid life-cycle assessment of algal biofuel production,” *Bioresource Technology*, vol. 184, pp. 436–443, 2015.
- [55] D. Mu, R. Ruan, M. Addy, S. Mack, P. Chen, y Y. Zhou, “Life cycle assessment and nutrient analysis of various processing pathways in algal biofuel production,” *Bioresource Technology*, vol. 230, pp. 33–42, 2017. [Online]. Available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2016.12.108>
- [56] K.-y. Show, Y. Yan, C. Zong, N. Guo, J.-s. Chang, y D.-j. Lee, “State of the art and challenges of biohydrogen from microalgae,” *Bioresource Technology*, vol. 289, p. 121747, 2019.
- [57] T. Pinto, L. Gouveia, J. Ortigueira, G. D. Saratale, y P. Moura, “Enhancement of fermentative hydrogen production from *Spirogyra sp.* by increased carbohydrate accumulation and selection of the biomass pretreatment under a biorefinery model,” *Journal of Bioscience and Bioengineering*, vol. 126, no. 2, pp. 226–234, 2018.
- [58] C. Simas-Rodrigues, H. D. M. Villela, A. P. Martins, L. G. Marques, P. Colepicolo, y A. P. Tonon, “Microalgae for economic applications: advantages and perspectives for bioethanol,” *Journal of Experimental Botany Advance*, vol. 66, no. 14, pp. 4097–4108, 2015.

- [59] C. K. Phwan, K. W. Chew, A. H. Sebayang, H. C. Ong, T. C. Ling, M. A. Malek, Y. C. Ho, y P. L. Show, “Effects of acids pre-treatment on the microbial fermentation process for bioethanol production from microalgae,” *Biotechnology for Biofuels*, vol. 12, no. 191, pp. 1–8, 2019.
- [60] H. M. Amaro, A. C. Guedes, y F. X. Malcata, “Advances and perspectives in using microalgae to produce biodiesel,” *Applied Energy*, vol. 88, no. 10, pp. 3402–3410, 2011.
- [61] M. Sakarika y M. Kornaros, “*Chlorella vulgaris* as a green biofuel factory: comparison between biodiesel, biogas and combustible biomass production,” *Bioresource Technology*, vol. 273, pp. 237–243, 2019.
- [62] Y. Zhang, Z. Xiong, L. Yang, Z. Ren, y P. Shao, “Successful isolation of a tolerant co- flocculating microalgae towards highly efficient nitrogen removal in harsh rare earth element tailings (REEs) wastewater,” *Water Research*, vol. 166, no. 3, p. 115076, 2019.
- [63] F. M. Santos y J. C. M. Pires, “Nutrient recovery from wastewaters by microalgae and its potential application as bio-char,” *Bioresource Technology*, vol. 267, pp. 725–731, 2018.
- [64] Y. Li, W. Zhou, B. Hu, M. Min, P. Chen, y R. R. Ruan, “Integration of algae cultivation as biodiesel production feedstock with municipal wastewater treatment: Strains screening and significance evaluation of environmental factors,” *Bioresource Technology*, vol. 102, no. 23, pp. 10 861–10 867, 2011.
- [65] K. Stemmler, R. Massimi, y A. E. Kirkwood, “Growth and fatty acid characterization of microalgae isolated from municipal waste-treatment systems and the potential role of algal-associated bacteria in feedstock production,” *PeerJ*, vol. 4, pp. 1–17, 2016.

- [66] A. Aslam, S. R. Thomas-hall, T. Mughal, Q.-u. Zaman, N. Ehsan, S. Javied, and P. M. Schenk, “Heavy metal bioremediation of coal-fired flue gas using microalgae under different CO_2 concentrations,” *Journal of Environmental Management*, vol. 241, no. October 2018, pp. 243–250, 2019.
- [67] A. Toledo-Cervantes, T. Morales, Á. González, R. Muñoz, and R. Lebrero, “Long-term photosynthetic CO_2 removal from biogas and fl ue-gas : Exploring the potential of closed photobioreactors for high-value biomass production,” *Science of the Total Environment*, vol. 640-641, pp. 1272–1278, 2018.
- [68] M. L. Malagón Micán, R. J. Corzo Piñeros, y I. G. Manrique Ruiz, “Uso potencial de fitoquímicos derivados de microalgas para la obtención de nutracéuticos,” *Semilleros: Formación Investigativa*, vol. 3, pp. 91–100, 2017.
- [69] L. D. Martínez Angulo y L. G. Ramírez Mérida, “Estado actual de las empresas productoras de microalgas destinadas a alimentos y suplementos alimenticios en América Latina,” *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, vol. 8, pp. 130–147, 2017.
- [70] A. Terra-Soares, D. Cristina da Costa, A. A. Henriques Vieira, y N. R. Antoniosi Filho, “Analysis of major carotenoids and fatty acid composition of freshwater microalgae,” *Heliyon*, vol. 5, no. 4, p. e01529, 2019.
- [71] M. N. Rammuni, T. U. Ariyadasa, P. H. V. Nimarshana, y R. A. Attalage, “Comparative assessment on the extraction of carotenoids from microalgal sources: Astaxanthin from *H. pluvialis* and Betha-carotene from *D. salina*,” *Food Chemistry*, vol. 277, pp. 128–134, 2019.
- [72] D. Rubio Fernández, N. A. Barrera Flórez, L. A. Fonseca Buitrago, y C. E. Jaimes Basquero, “Aspectos teóricos de la extracción de carotenoides a partir de microalgas,” *Semilleros: Formación Investigativa*, vol. 3, pp. 35–48, 2017.

- [73] L. R. Martínez Córdova, M. Martínez Porchas, J. A. López Elías, y L. F. Enríquez Ocaña, “Uso de microorganismos en el cultivo de crustáceos,” *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*, vol. XVI, pp. 50–55, 2014.
- [74] A. Pudney, C. Gandini, C. K. Economou, R. Smith, P. Goddard, J. A. Napier, A. Spicer, y O. Sayanova, “Multifunctionalizing the marine diatom *Phaeodactylum tricornutum* for sustainable co- production of omega-3 long chain polyunsaturated fatty acids and recombinant phytase,” *Scientific Reports*, vol. 9, no. 11444, pp. 1–10, 2019.
- [75] M. Lamminen, A. Halmemies-Beauchet-Filleau, T. Kokkonen, A. Vanhatalo, and S. Jaakkola, “The effect of partial substitution of rapeseed meal and faba beans by *Spirulina platensis* microalgae on milk production, nitrogen utilization, y amino acid metabolism of lactating dairy cows,” *Journal of Dairy Science*, vol. 102, no. 8, pp. 7102–7117, 2019. [Online]. Available: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2018-16213>
- [76] Y. B. Okolodkov y R. Pérez Blanco, “Diversidad de microalgas marinas y de aguas salobres,” in *La biodiversidad en Veracruz estudio de estado*, A. Cruz Angón, Ed., México, 2011, no. May 2011, ch. Diversidad, pp. 59–69.
- [77] A. Medina Jasso, P. Piña Valdez, M. Nieves Soto, J. Arzola González, y M. Guerrero Ibarra, “La importancia de las microalgas,” *Biodiversitas*, vol. 103, pp. 1–5, 2012.
- [78] K. Sarmaja-korjonen, A. Seppänen, y O. Bennike, “*Pediastrum* algae from the classic late glacial Bølling Sø site , Denmark : Response of aquatic biota to climate change,” *Review of Palaeobotany & Palynology*, vol. 138, pp. 95–107, 2006.
- [79] S. Jacquet, J.-f. Briand, C. Lebourlangier, C. Avois-jacquet, L. Oberhaus, B. Tassin, B. Vinçon-leite, G. Paolini, J.-c. Druart, O. Anneville, and J.-f. Humbert, “The proliferation of the toxic cyanobacterium *Planktothrix rubescens* following restoration of the largest natural French lake (Lac du Bourget),” *Harmful Algae*, vol. 4, pp. 651–672, 2005.

- [80] J. Osswald, S. Rellán, A. Gago, y V. Vasconcelos, “Toxicology and detection methods of the alkaloid neurotoxin produced by cyanobacteria, anatoxin-a,” *Environment International*, vol. 33, no. 8, pp. 1070–1089, 2007.
- [81] A. Garmendia Salvador, A. Salvador Alcaide, C. Crespo Sánchez, and L. Garmendia Salvador, *Evaluación de impacto ambiental*, 2005.
- [82] M. J. Ulloa, R. d. C. Vargas-Castilleja, y J. C. Rolón-Aguilar, “Hacia la evaluación del estado trófico de la Laguna de Champayán en Tamulipas: condiciones de primavera y otoño 2006-2016,” *Investigaciones actuales en medio ambiente*, vol. 3, no. October 2017, pp. 59–68, 2018.
- [83] C. Escapa y A. I. Garcia, “Eliminación de nutrientes en agua residuales y biofijación de CO_2 mediante el cultivo de microalgas,” *Science Society of Galicia*, vol. 12, pp. 63–76, 2013.
- [84] D. P. Moreno Franco, J. Quintero Manzano, y A. López Cuevas, “Métodos para identificar, diagnosticar y evaluar el grado de eutrofia,” *ContactoS* 78, pp. 25–33, 2010.
- [85] J. B. Vives De Andrés, *Manual de técnicas analíticas para la determinación de parámetros fisicoquímicos y contaminates marinos (aguas, sedimentos y organismos)*, J. Garay Tinoco, G. Ramírez T., y J. Betancourt P., Eds. Santa Marta: Cargraphis, 2003.
- [86] E. Raffo Lecca y E. Ruiz Lizama, “Caracterización de las aguas residuales y la demanda bioquímica de oxígeno,” *Industrial Data*, vol. 17, no. 1, pp. 71–80, 2014.
- [87] J. J. Batres González, V. Ortells Chabrera, y J. Lorenzo Palomera, “Diseño Y Ordenamiento De La Dinámica Urbana, Medio Ineludible En La Preservación Sustentable De Los Recursos Hídricos Naturales Urbanos En México, Caso Lagunas Urbanas Del Sur De Tamaulipas (Tampico-Madero-Altamira),” *Quivera*, vol. 1, pp. 1–13, 2010.

- [88] G. Garduño Solórzano, M. Rodríguez Palacio, M. Martínez García, R. Quintanar Zúñiga, C. Lozano Ramírez, J. Campos Contreras, y A. Monsalvo Reyes, “Cultivos de microalgas del Lago de Catemaco, Veracruz,” *Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal*, vol. 2, no. 2, pp. 67–80, 2011.
- [89] M. M. Pérsico, M. Moris, E. D. Tranier, A. N. Zanazzi, A. A. Saubidet, y M. V. Beligni, “Evaluación de un sistema exterior de cultivo masivo de la microalga marina *Nannochloropsis oculata*, en una zona templada oceánica de Argentina,” *Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal*, vol. 2, pp. 30–48, 2011.
- [90] M. L. Ortiz Moreno, C. E. Cortés Castillo, J. Sánchez Villarraga, J. Padilla, y A. M. Otero Paternina, “Evaluación del crecimiento de la microalga *Chlorella Sorokiniana* en diferentes medios de cultivo en condiciones autotróficas y mixotróficas,” *Concrete International*, vol. 16, no. 1, pp. 11–20, 2012.
- [91] M. Martínez-Hernández, S. L. Suastes-Acosta, C. Lozano-Ramírez, y M. C. Rodríguez-Palacio, “Perfil Lipídico de *Lagerheimia* sp. aislada de aguas residuales industriales. Tamaulipas, México.” *Avances en Ciencias e Ingeniería*, vol. 9, no. 1, pp. 25–33, 2018.
- [92] L. Crisóstomo-Vázquez, C. Alcocer-Morales, C. Lozano-Ramírez, y M. C. Rodríguez-Palacio, “Fitoplancton de la laguna del Carpintero, Tampico, Tamaulipas, México,” *Interciencia*, vol. 41, no. 2, pp. 103–109, 2016.
- [93] B. O. Arredondo Vega y D. Voltolina, *Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal*, 1st ed. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. La Paz, B.C.S., México., 2007.
- [94] Conagua, “Monitoreo de la calidad del agua en México. De los sitios muestreados por la Red Nacional de Monitoreo del 2012-2015.” *Comisión Nacional del Agua*, p. 9, 2016.

- [95] G. A. Riccardi, “La calidad del escurrimiento pluvial urbano y el impacto sobre cuerpos receptores,” *Cuadernos del Curiham*, vol. 4, no. 1, pp. 1–19, 1998.
- [96] N. Gómez y D. E. Bauer, “Diversidad Fitoplanctonica en la franja costera sur del rio De la Plata,” *Biología Acuática*, vol. 19, pp. 7 – 26, 2000.
- [97] M. C. Guamán Bumeo y N. P. González Romero, *Catálogo de microalgas y cianobacterias de agua dulce del Ecuador*, 1st ed., L. Re de Guillén, Ed. Corporación para la Investigación Energética, 2016, vol. 1.
- [98] B. Hernández-Rodríguez, L. Estrada-Vargas, y E. Novelo, “Las microalgas de *Tillandsia multicaulis*,” *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, vol. 17, no. 2, pp. 117–125, 2014.
- [99] M. Rivera González y L. Gómez Gómez, “Identificación de cianobacterias potencialmente productoras de cianotoxinas en la Curva de Salguero del Río Cesar,” *Revista Luna Azul*, vol. 31, no. 31, pp. 17–25, 2010.
- [100] M. Toporowska, B. Pawlik-Skowrońska, y R. Kalinowska, “Mass development of diazotrophic cyanobacteria (nostocales) and production of neurotoxic anatoxin-a in a planktothrix (oscillatoriales) dominated temperate lake,” *Water, Air, & Soil Pollution*, vol. 227, no. 9, Aug. 2016. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1007/s11270-016-3004-y>
- [101] E. Chernova, S. Sidelev, I. Russkikh, E. Voyakina, y Z. Zhakovskaya, “First observation of microcystin- and anatoxin-a-producing cyanobacteria in the easternmost part of the gulf of finland (the baltic sea),” *Toxicon*, vol. 157, pp. 18–24, Jan. 2019. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2018.11.005>

- [102] A. Minasyan, C. Christophoridis, A. E. Wilson, S.-K. Zervou, T. Kaloudis, and A. Hiskia, “Diversity of cyanobacteria and the presence of cyanotoxins in the epilimnion of lake yerevan (armenia),” *Toxicon*, vol. 150, pp. 28–38, Aug. 2018. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2018.04.021>
- [103] M. Su, J. Yu, J. Zhang, H. Chen, W. An, R. D. Vogt, T. Andersen, D. Jia, J. Wang, y M. Yang, “MIB-producing cyanobacteria (*Planktothrix sp.*) in a drinking water reservoir: Distribution and odor producing potential,” *Water Research*, vol. 68, pp. 444–453, Jan. 2015. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.09.038>
- [104] Z. Jia, M. Su, T. Liu, Q. Guo, Q. Wang, M. Burch, J. Yu, y M. Yang, “Light as a possible regulator of MIB-producing *Planktothrix* in source water reservoir, mechanism and in-situ verification,” *Harmful Algae*, vol. 88, p. 101658, Sep. 2019. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1016/j.hal.2019.101658>
- [105] B. Ernst, B. Hitzfeld, y D. Dietrich, “Presence of *Planktothrix sp.* and cyanobacterial toxins in lake ammersee, germany and their impact on whitefish (*coregonus lavaretus l.*),” *Environmental Toxicology*, vol. 16, no. 6, pp. 483–488, 2001. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1002/tox.10006>
- [106] B. Ernst, S. J. Hoeger, E. O’Brien, y D. R. Dietrich, “Oral toxicity of the microcystin-containing cyanobacterium *planktothrix rubescens* in european whitefish (*coregonus lavaretus*),” *Aquatic Toxicology*, vol. 79, no. 1, pp. 31–40, Aug. 2006. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2006.04.013>
- [107] B. ERNST, S. HOEGER, E. OBRIEN, y D. DIETRICH, “Physiological stress and pathology in european whitefish (*coregonus lavaretus*) induced by subchronic exposure to environmentally relevant densities of *planktothrix rubescens*,” *Aquatic Toxicology*, vol. 82, no. 1, pp. 15–26, Apr. 2007. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2007.01.007>

- [108] I. Rawat, R. R. Kumar, T. Mutanda, y F. Bux, “Dual role of microalgae: Phycoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production,” *Applied Energy*, vol. 88, no. 10, pp. 3411–3424, 2011.
- [109] V. A. Cerón Hernández, C. A. Madera Parra, y M. Peña Varón, “Uso de lagunas algales de alta tasa para tratamiento de aguas residuales.” *Ingeniería y Desarrollo*, vol. 33, no. 1, pp. 98–125, 2015.
- [110] C. Barrera Bernal, G. Vázquez, I. Barceló Quintal, y A. L. Bussy, “Microalgal Dynamics in Batch Reactors for Municipal Wastewater Treatment Containing Dairy Sewage Water,” *Water Air Pollut*, vol. 190, pp. 259–270, 2008.
- [111] M. M. Pacheco, M. Hoeltz, M. S. A. Moraes, y R. C. S. Schneider, “Microalgae: Cultivation techniques and wastewater phycoremediation,” *Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic/ Hazardous Substances and Environmental Engineering*, vol. 50, no. 6, pp. 585–601, 2015.
- [112] L. Dall’Osto, S. Cazzaniga, Z. Guardini, S. Barera, M. Benedetti, G. Mannino, M. E. Maffei, y R. Bassi, “Combined resistance to oxidative stress and reduced antenna size enhance light - to - biomass conversion efficiency in *Chlorella vulgaris* cultures,” *Biotechnology for Biofuels*, vol. 12, no. 221, pp. 1–17, 2019.
- [113] M. C. Rodríguez-Palacio, R. B. E. Cabrera Cruz, J. C. Rolón-Aguilar, L. J. Galeana-Hurtado, y E. D. Morales-Avenidaño, “Comparative study of the efficiency of removal of N and P of municipal wastewater and leached of vermicomposting with five strains of micro algae,” *Desalination and Water Treatment*, vol. 131, p. 23035, 2018.
- [114] C. Chacón, C. Andrade, C. Cárdenas, I. Araujo, y E. Morales, “Uso de *Chlorella sp.* y *Scenedesmus Sp.* en la remoción de nitrógeno, fósforo y DQO de aguas residuales urbanas de Maracaibo, Venezuela,” *Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas*, vol. 38, no. 2, pp. 94–108, 2004.

- [115] C. Infante, E. Angulo, A. Zárate, J. Z. Florez, F. Barrios, and C. Zapata, “Propagación de la microalga *Chlorrella sp.* en cultivo por lote: Cinética del crecimiento celular.” *Avances en Ciencias e Ingeniería*, vol. 3, no. 2, pp. 159–164, 2012.
- [116] F. Wang, B. Gao, M. Su, C. Dai, L. Huang, y C. Zhang, “Integrated biorefinery strategy for tofu wastewater biotransformation and bio-mass valorization with the filamentous microalga *Tribonema minus*,” *Bioresource Technology*, vol. 292, p. 121938, 2019.
- [117] N. Akhtar, J. Iqbal, y M. Iqbal, “Microalgal-luffa sponge immobilized disc: a new efficient biosorbent for the removal of Ni (II) from aqueous solution,” *Letters in Applied Microbiology*, vol. 37, pp. 149–153, 2003.
- [118] W. Y. Cheah, T. C. Ling, J. C. Juan, D.-j. Lee, J.-s. Chang, y P. L. Show, “Biorefineries of Carbon Dioxide: From Carbon Capture & Storage (CCS) to Bioenergies Production,” *Bioresource Technology*, vol. 215, pp. 346–356, 2016.
- [119] C. V. DiezMartínez, J. A. Villalobos, y K. O. Ruiz, “Desarrollo sustentable e innovación: una simbiosis industrial para la biomitigación del CO_2 ,” *13th LACCEI Annual International Conference*, pp. 1–7, 2015.
- [120] J. D. Siqueira, M. Lúcia, P. Peixoto, P. Roberto, I. Rodrigues, D. Assis, y V. José, “Science of the Total Environment Microalgae biofilm in soil: Greenhouse gas emissions, ammonia volatilization and plant growth,” *Science of the Total Environment*, 2016.
- [121] R. Mora, R. Moronta, J. Ortega, y E. Morales, “Crecimiento y producción de pigmentos de la microalga nativa *Chlorella sp.* aislada de la Represa de Tulé, Municipio Mara, Estado Zulia, Venezuela,” *Ciencia Completa*, pp. 1–9, 2005.
- [122] M. Vanthoor-Koopmans, M. V. Cordoba-Matson, B. O. Arredondo-vega, C. Lozano-Ramírez, J. F. Garcia-Trejo, y M. C. Rodríguez-Palacio, “Microalgae and Cyanobacteria

- Production for Feed and Food Supplements,” in *Biosystems Engineering: Biofactories for Food Production in the Century XXI*, R. Guevara-Gonzalez and I. Torres-Pacheco, Eds., 2014, pp. 253–275.
- [123] W. A. V. Stiles, D. Styles, S. P. Chapman, S. Esteves, A. Bywater, L. Melville, A. Silkina, I. Lupatsch, C. Fuentes Günewald, R. Lovitt, T. Chaloner, A. Bull, C. Morris, y C. A. Llewellyn, “Using microalgae in the circular economy to valorise anaerobic digestate: Challenges and Opportunities,” *Bioresource Technology*, vol. 267, pp. 732–742, 2018.
- [124] L. Delgadillo-Mirquez, F. Lopes, B. Taido, y D. Pareau, “Nitrogen and phosphate removal from wastewater with a mixed microalgae and bacteria culture,” *Biotechnology Reports*, vol. 11, pp. 18–26, 2016.
- [125] G. Samori, C. Samori, F. Guerrini, y R. Pistocchi, “Growth and nitrogen removal capacity of *Desmodesmus communis* and of a natural microalgae consortium in a batch culture system in view of urban wastewater treatment : Part I,” *Water Research*, vol. 47, no. 2, pp. 791–801, 2013.
- [126] F. Ji, Y. Zhou, A. Pang, L. Ning, K. Rodgers, Y. Liu, y R. Dong, “Bioresource Technology Fed-batch cultivation of *Desmodesmus* sp . in anaerobic digestion wastewater for improved nutrient removal and biodiesel production,” *Bioresource Technology*, vol. 184, no. May 2015, pp. 116–122, 2015.
- [127] L. F. Rios, B. C. Klein, L. F. . Luz Jr, R. Maciel Filho, y M. Wolf Maciel, “Nitrogen Starvation for Lipid Accumulation in the Microalga Species *Desmodesmus* sp.” *Applied Biochemistry and Biotechnology*, vol. 175, no. January 2015, pp. 469–476, 2015.
- [128] L. Rugnini, G. Costa, R. Congestri, S. Antonaroli, L. Sanità, and L. Bruno, “Plant Physiology and Biochemistry Phosphorus and metal removal combined with lipid production by the green microalga *Desmodesmus* sp.: An integrated approach,” *Plant Physiology and Biochemistry*, vol. 125, no. January, pp. 45–51, 2018.

- [129] C. M. Beal, L. N. Gerber, S. Thongrod, W. Phromkunth, V. Kiron, J. Granados, I. Archibald, C. H. Greene, y M. E. Huntley, *Scientific Reports*.