



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias

**Aspectos ecológicos, cultivo,
contenido de lípidos totales y
proteínas del fitoplancton nativo de
un lago polimíctico tropical (Lago de
Chapala)**

Tesis

que para obtener el grado de

**Maestro en Ciencias en Biosistemática y
Manejo de Recursos Naturales y
Agrícolas**

Presenta

Martha Alicia Lara González

Director

Dr. Ernesto López Uriarte

Zapopan, Jalisco

Julio de 2014



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias

Aspectos ecológicos, cultivo, contenido de lípidos totales y proteínas del fitoplancton nativo de un lago polimíctico tropical (Lago de Chapala).

Por
Martha Alicia Lara González

Maestría en Ciencias en Biosistemática y Manejo de Recursos
Naturales y Agrícolas


Aprobado por:



Dr. Ernesto López Uriarte
Director de Tesis e integrante del jurado

08/Julio/2014


Fecha



M en C. Eduardo Juárez Carrillo
Asesor del Comité Particular e integrante del jurado

08/Julio/2014

Fecha



Dr. Ramón Rodríguez Macías
Asesor del Comité Particular e integrante del jurado

08-Julio-2014

Fecha



Dr. Eduardo Ríos Jara
Asesor del Comité Particular e integrante del jurado

8 de Julio de 2014

Fecha



Dra. Rosalba Mireya Hernández Herrera
Integrante del jurado

08/Julio/2014

Fecha

Dedicatoria

A mi familia que siempre estuvo apoyando

Maestros y Amigos

A la doctora María del Refugio Mora Navarro, porque gracias a ella estoy en este camino de la psicología.

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la asignación de beca 330054/260299.

Quiero expresar un agradecimiento especial al M en C, Eduardo Juarez Carrillo, por ayudarme en la codirección de esta tesis, agradeciéndole por su guía y por brindarme todo su apoyo.

Al Dr. Ernesto López Uriarte mi director de tesis, por todo su apoyo y sus enseñanzas, ya que hizo posible que se llevara a cabo de este trabajo.

A mis asesores y sinodales Dra Mireya Hernández Herrera, Dr. Eduardo Rios Jara, Dr. Ramón Rodríguez Macias, por su ayuda y valiosas aportaciones además de sus consejos y apoyo.

A la maestra Silvia López Adrián, de la Universidad Autónoma de Yucatán, por su valiosa ayuda en la identificación de las especies de fitoplancton.

Al Dr, Fabián Rodríguez y al Dr. Martín Huerta por su gran ayuda y asesoría en la parte estadística.

A cada uno de los profesores del posgrado por su ejemplo y su paciencia.

A mis familiares y amigos que de una u otra forma estuvieron apoyándome a lo largo de este trabajo.

Índice

Dedicatoria	2
Agradecimientos.....	4
Índice de cuadros.....	9
Índice de figuras.....	11
RESUMEN.....	12
ABSTRACT	13
1. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	14
1.1. Definición de fitoplancton.....	14
1.2. Biología del fitoplancton de agua dulce.....	14
1.2.1. Cyanobacteria (Cyanophyta).....	14
1.2.2. Chlorophyta.....	14
1.2.3. Euglenophyta	15
1.2.4. Heterokontophyta.....	16
1.2.5. Dinophyta	16
1.2.6. Cryptophyta.....	16
1.3. Taxonomía y ecología del fitoplancton de agua dulce.....	17
1.4. Identificación.....	18
1.4.1. Distribución.....	18
1.4.2. Abundancia.....	19
1.4.3. Diversidad.....	19
1.4.4. Aislamiento, cultivo y contenido de metabolitos de microalgas con potencial biotecnológico.....	21
1.5. Características de aguas interiores (lagos y lagunas).....	21
1.6. Descripción de un lago polimíctico como el Lago de Chapala	23
1.6. ANTECEDENTES.....	24
1.6.1 Taxonomía y ecología del fitoplancton de agua dulce.....	24
1.6.2. Investigación en México.....	25
1.6.3. Experiencias sobre cultivo de microalgas	28
1.7. JUSTIFICACIÓN	30

1.8. HIPÓTESIS.....	31
1.9. OBJETIVO GENERAL	31
1.9.1 Objetivos Particulares	31
CAPÍTULO: COMPOSICIÓN Y ESTRUCTURA COMUNITARIA DEL FITOPLACTON NATIVO DE UN LAGO POLIMICTICO TROPICAL (LAGO DE CHAPALA)	32
2.1. INTRODUCCIÓN.....	32
2.2. ANTECEDENTES.....	33
2.3. OBJETIVOS.....	35
2.4. ÁREA DE ESTUDIO	36
2.5. MATERIALES Y MÉTODOS	38
2.5.1. Trabajo de Campo	38
2.6. RESULTADOS	42
2.6.1. Condiciones ambientales atmosféricas	42
2.6.2. Parámetros físico químicos en columna de agua en las fechas de muestreo	43
2.6.3. Composición del fitoplancton del lago de Chapala durante los tres tiempos muestreados.....	46
2.6.4. Variación espacial y temporal del fitoplancton con base en los índices ecológicos.....	52
2.7. DISCUSIÓN	63
2.8. CONCLUSIONES.....	68
CAPÍTULO: CONTENIDO DE LIPIDOS Y PROTEINAS DEL FITOPLANCTON NATIVO AISLADO Y CULTIVADO DE UN LAGO POLIMICTICO TROPICAL.	70
3.1. INTRODUCCIÓN.....	70
3.1.1. Cultivo de biomasa de algas.....	71
3.1.2. Sistemas de cultivos	71
3.1.3. Cultivos Discontinuos	71
3.1.4. Cultivos continuos.....	72
3.1.5. Cultivo masivo	72
3.1.6. Condiciones de cultivo	73
3.2. ANTECEDENTES.....	77
3.3. OBJETIVOS.....	78

3.4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	79
3.4.1. Aislamiento.....	80
3.4.2. Medios de cultivo.....	81
3.4.3. Evaluación experimental del crecimiento de microalgas.	81
3.4.4. Descripción de las condiciones en que se mantuvieron los cultivos	81
3.4.5. Los cultivos estáticos escalonados.....	82
3.4.6. Establecimiento del medio más adecuado para la reproducción masiva	82
3.4.7. Selección de cepas para su cultivo.....	83
3.4.8. Cosecha.	83
3.4.9. Análisis químico aproximado (AQA).....	83
3.4.10. Análisis de datos.....	85
3.5. RESULTADOS	86
3.5.1. Descripción de las especies aisladas	86
3.5.2. Establecimiento del medio más adecuado para la reproducción masiva	89
3.5.3. Analisis químico aproximado de las microalgas aisladas del Lago de Chapala... ..	90
3.6. DISCUSIÓN	93
3.6.1. Lípidos totales	94
3.6.2. Proteínas.	96
3.7. CONCLUSIÓN.....	100
LITERATURA CITADA.....	101
Anexo I	116
Anexo 2	119

Índice de cuadros

Cuadro 1. Tipos de lagos según Wetzel (1981).....	23
Cuadro 2. Microalgas reportadas para diversos cuerpos de agua en el estado de Jalisco....	27
Cuadro 3. Ubicación de los sitios de muestreo y sus coordenadas geográficas.....	36
Cuadro 4. Valores promedio de temperatura, irradiancia y velocidad del viento en enero, mayo y septiembre del año 2012 en el Lago de Chapala. \pm d.e., [] max-min	42
Cuadro 5. Valores atmosféricos de Temperatura , Irradiancia y velocidad del viento.....	43
Cuadro 6. Valores promedio de temperatura, oxígeno disuelto, potencial de hidrógeno e irradiancia, registrados en columna de agua para enero, mayo y septiembre de 2012 en el Lago de Chapala. \pm d.e., [] max-min	43
Cuadro 7. Profundidad y transparencia del Lago de Chapala en los meses de enero, mayo y septiembre de 2012.	45
Cuadro 8. Valores de la de temperatura, oxígeno disuelto, potencial de hidrógeno e irradiancia en superficie.....	45
Cuadro 9. Valores temperatura, oxígeno disuelto, potencial de hidrógeno e irradiancia a dos metros de profundidad.....	46
Cuadro 10. Especies de fitoplancton registradas en el Lago de Chapala y su aparición estacional enero mayo y septiembre durante 2012.....	47
Cuadro 11. Especies de fitoplancton registradas en el Lago de Chapala y su aparición vertical en la columna de agua durante 2012.....	49
Cuadro 12. Índices ecológicos de la comunidad de fitoplancton en las tres temporadas muestreadas del lago de Chapala. s: número de especies, d: Riqueza (Margalef) J' Equitatividad Pielou, H': Diversidad de Shannon, λ : Dominancia (Simpson).....	53

Cuadro 13. Índices ecológicos de la comunidad microalgal de los diez sitios de muestreo del lago de Chapala. s: número de especies, d: Riqueza (Margalef) J' Equitatividad Pielou, H': Diversidad de Shannon, λ : Dominancia (Simpson).	54
Cuadro 14. Índices ecológicos de la comunidad microalgal de la zona superficial del lago de Chapala en los meses de muestreo. s: número de especies, d: Riqueza (Margalef) J' Equitatividad Pielou, H': Diversidad de Shannon, λ : Dominancia (Simpson).....	54
Cuadro 15. Índices ecológicos de la comunidad microalgal a dos metros de profundidad del lago de Chapala en los meses de muestreo. s: número de especies, d: Riqueza (Margalef) J' Equitatividad Pielou, H': Diversidad de Shannon, λ : Dominancia (Simpson).....	55
Cuadro 16. Resultados del PERMANOVA de 3 vías de factores cruzados.	57
Cuadro 17. Disimilaridad de especies entre los meses muestreados.....	58
Cuadro 18. Resultados de la ordenación de Bray-Curtis con variables físicas del medio y densidades de microalgas	60
Cuadro 19. Coeficientes de correlación entre variables ambientales y ejes de la ordenación de Bray-Curtis para los datos obtenidos.....	61
Cuadro 20. Coeficientes de correlación entre especies y ejes de la ordenación de Bray-Curtis para los datos obtenidos	62
Cuadro 21. Aplicaciones biotecnológicas de las microalgas aisladas.....	76
Cuadro 22. Absorbancia de la biomasa de <i>Chlorella vulgaris</i> , probada en cinco medios de cultivo, F/2, Bristol, CHU 10, Zarrouk y OSJ. Subíndices con la misma letra no son diferentes.....	89
Cuadro 23. Absorbancia de la biomasa de <i>Phormidium</i> sp., y <i>Leptolyngbya</i> sp., probada en dos medios de cultivo, Zarrouk y OSJ. (\pm desviación estándar). Subíndices con la misma letra no son diferentes.....	90
Cuadro 24 Análisis químico aproximado de las microalgas aisladas del Lago de Chapala en porcentaje de peso seco	92

Índice de figuras

Figura 1. Representación esquemática de acuerdo con la clasificación térmica de los lagos organizados según la altitud y latitud, tomado de Wetzel, 1983.....	24
Figura 2. Localización de las estaciones de muestreo en el Lago de Chapala.....	37
Figura 3. Curva de acumulación de especies observadas y esperadas.....	52
Figura 4. Análisis de escalamiento multidimensional (MDS).....	56
Figura 5. Análisis exploratorio de similitud (SIMPER).....	56
Figura 6. Ordenación de Bray-Curtis con sitios (Δ) el color indica el mes de muestreo, y variables del paisaje (—) en el Lago de Chapala.....	59
Figura 7. Esquema general de trabajo.....	79
Figura 8. Técnica de aislamiento por diluciones seriadas.....	80
Figura 9. Técnica de aislamiento por estrías.....	81

RESUMEN

El presente trabajo maneja dos líneas de investigación: por un lado determina la riqueza de fitoplancton nativo y explora sus variaciones en tiempo y espacio en tres condiciones ambientales atmósfera-lago durante un ciclo anual y por otro, considera el aislamiento, cultivo y contenido de metabolitos en diez especies utilizando diversos medios de cultivo basados en una formulación asequible, económica y en condiciones mínimas de infraestructura para lograr una biomasa suficiente que permita llevar a cabo un análisis químico aproximado y determinar las proporciones de lípidos totales y proteínas. Como resultado de los muestreos realizados en diez sitios durante enero, mayo y septiembre de 2012, se determinaron 60 especies, 38 géneros, 32 familias, distribuidas en 25 órdenes, 13 clases y 6 divisiones taxonómicas. El taxón con más riqueza fue la división Cyanophyta, seguida por la división Chlorophyta. De las 10 especies aisladas, cinco fueron cianofitas y cinco clorofitas; la producción de lípidos fue mayor en este último grupo teniendo a *Monoraphidium tortile* con 22.9 % como la más eficiente en la generación de este metabolito, mientras que la Cyanophyta *Phormidium* sp., superó a todas las especies cultivadas en esta investigación con 17 % de proteínas. Así mismo, el medio de cultivo modificado de RM6, denominado como OSJ, fue eficiente en la producción de biomasa para cianobacterias y en el caso de clorofitas lo fue el medio CHU10; ambos medios fueron preparados con sales comerciales (fertilizantes), para abatir costos de producción.

ABSTRACT

This paper deals with two lines of research: one determines the species richness of native phytoplankton and explores their variations in time and space during three environmental conditions on a lake-atmosphere annual cycle, and secondly, the isolation, culture and content of metabolites of ten species using various culture media based on affordable and economic approach with a minimum infrastructure to ensure sufficient biomass to undertake an approximate chemical analysis and to determine the total lipids and proteins. As a result, of three surveys conducted in 10 sites during January, May and September 2012, a total of 60 species, 38 genera, 32 families distributed in 25 orders, 13 classes and 6 taxonomic divisions were determined. The taxa with higher species richness were the division Cyanophyta, followed by the division Chlorophyta. Of the 10 phytoplankton species isolated, five were cyanobacteria and five chlorophytes. The production of lipids was higher in the latter group with the species *Monoraphidium tortile* as the most efficient in the generation of this metabolite (22.9 %) while the cyanophyte *Phormidium* sp. had the highest proportion of proteins (17 %). The culture media OSJ, which is a modification of the culture media RM6, was efficient for the production of biomass of cyanobacteria and the culture media CHU10 for chlorophytes, both media were prepared using commercial salts (fertilizers) to reduce costs.

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

1.1. Definición de fitoplancton

Se denomina fitoplancton al conjunto de organismos fotosintéticos microscópicos cuya existencia transcurre la totalidad o la mayoría del tiempo en las zonas pelágicas de mares y cuerpos de aguas continentales, con poca o nula capacidad de movimiento a través del medio, pero con adaptaciones morfológicas y fisiológicas que permiten el crecimiento de las poblaciones (Wetzel, 1981). El término fitoplancton (del gr. φύτον= planta y πλαγκτος, = errante) incluye, por lo tanto todos los organismos autotróficos, fotosintéticos, que poseen adaptaciones morfológica y fisiológicas (tales como la posesión de vacuolas gaseosas y envolturas mucilaginosas que incrementan la flotabilidad) para explotar el medio acuático pelágico (Colé, 1988).

1.2. Biología del fitoplancton de agua dulce.

Las principales divisiones taxonómicas representadas en el fitoplancton de agua dulce, son las siguientes:

1.2.1. Cyanobacteria (Cyanophyta)

También conocidas como cianofíceas o mixofíceas, esta división taxonómica ha sido estructurada en base en los estudios de ADN y de microscopía electrónica que han permitido dilucidar gran parte de la filogenia de este grupo, con la consecuente inclusión del grupo dentro de los procariotas y arreglados cerca de otros organismos del grupo Monera (Doolittle, 2000). Este grupo comparte con las bacterias y las proclorofitas la característica de ser procariotas, es decir, de carecer de membrana nuclear, y por lo tanto tener su material genético en contacto con el protoplasma (Bold y Wynne, 1985).

Así mismo las cianobacterias se caracterizan por la posesión de clorofila a, β -caroteno, xantofilas (luteína, mixoxantina, osciloxantina, mixoxantofila, equinenona y biliproteínas (ficocianina y ficoeritrina) que determinan la apariencia azul-verdosa característica de estos organismos, y que sirvió como rasgos distintivo en la literatura antigua para denominarlas (Wetzel, 1981).

1.2.2. Chlorophyta

En esta división es donde se encuentra una gran cantidad de especies. Estructuralmente se presentan formas unicelulares, coloniales (cenobiales o no cenobiales), filamentosas,

membranosas, aplanadas o tubulares (Bold y Wynne, 1985). El organelo más conspicuo en estas algas es el cloroplasto, visible al microscopio fotónico con facilidad, pero cuya estructura compleja sólo ha podido ser dilucidada en su totalidad mediante estudios con microscopios electrónicos. Existen también estructuras asociadas a plastidios denominados pirenoides, que son sitios especializados en los que se lleva a cabo la formación de almidón. Los pigmentos fotosintéticos presentes en los clorofitos son la clorofila a y b; α , β , y γ carotenos y varias xantofilas y carotenoides secundarios tales como equinenona, cantaxantina, astaceno (Bold y Wynne, 1985). Entre las clorofitas existe tanto la reproducción sexual como la vegetativa, presentándose casos de isogamia, anisogamia y oogamia. Asimismo, pueden ser dioicas o monoicas. La gran mayoría de las especies de esta división se encuentran incluidas entre las volvocales, que son formas simétricas, generalmente esféricas y las clorococates, cuyas formas alargadas son predominantes, pero entre las que también existen diversas estructuras externas, como espinas, prolongaciones, ondulaciones, etc. (Wetzel, 1981).

1.2.3. Euglenophyta

Aunque la mayoría de los organismos que forman este grupo son fotosintéticos, algunas especies pueden ser facultativamente heterotróficas, despigmentadas y fagotróficas, pero en las formas fitoplanctónicas predominan las estrictamente fotosintéticas, entre los que géneros como *Euglena*, *Phacus*, *Trachelomonas*, etc., pueden encontrarse en números considerables (Wetzel, 1981). En años recientes, los estudios de microscopía electrónica han permitido dilucidar varias interrogantes acerca de la estructura y fisiología de las especies de este grupo, en especial de aquellas que poseen una lórica, teca o testa (*Trachelomonas*, *Strombomonas*, etc.) y cuya variabilidad llevó a muchos de los primeros investigadores a proponer especies nuevas, que en realidad son formas emparentadas, variedades o morfos modificados ante determinadas condiciones ambientales. Por otra parte, los estudios de ADN ribosomal y otras determinaciones genéticas han llevado a los modernos investigadores a reestructurar el arreglo taxonómico de muchos taxa, con la consecuente aparición de nuevos nombres, algunos de los cuales no han sido aún aceptados por unanimidad entre los ficólogos (Wehr y Sheat, 2003). Los euglenofitos poseen clorofilas a y b, β -caroteno, neoxantina, astaxantina, anteraxantina y equinenona, como pigmentos metabólicos principales (Wetzel, 1981).

1.2.4. Heterokontophyta

Anteriormente se les conocía como algas doradas, por su característica coloración que producen los cromatóforos, mismos que poseen clorofila a, β -caroteno, luteína, fucoxantina, diatoxantina y diadinoxantina como pigmentos fotosintéticos (Wetzel, 1981).

Algunas de las formas más son las unicelulares, pero también existen algunas coloniales y raramente filamentosas; pero entre las unicelulares la presencia de flagelos es variable. Más conspicua es la formación de cubiertas compuestas por placas o láminas finas, tanto silíceas como calcáreas, aunque también es común la existencia de células que carecen de dichas envolturas protectoras y sólo poseen membrana citoplásmica delgada. (Wetzel, op. cit.). La reproducción vegetativa es muy común entre estas algas, e implica generalmente la división longitudinal de la célula, especialmente entre los organismos unicelulares móviles; aunque también existe la reproducción sexual isogámica, de menor frecuencia entre las distintas especies que conforman esta división.

1.2.5. Dinophyta

Compuesta por organismos generalmente móviles, con dos flagelos de distinta ubicación y función. Son células solitarias (raramente coloniales), protegidas por un periplasto firme que en ocasiones está compuesto de placas gruesas (Prescott, 1979). Los pigmentos fotosintéticos son clorofilas a y c, β -caroteno, diadinoxantina, peridinina y dinoxantina (Wetzel, 1981). La reproducción es principalmente asexual, por división longitudinal de la célula y por formación de esporas; la reproducción sexual es muy rara (Prescott, 1979).

1.2.6. Cryptophyta

Una gran mayoría de los organismos pertenecientes a este grupo, son considerados protozoarios debido a su capacidad holotrófica puesto que muchos de estos seres son heterótrofos facultativos; a pesar de ello es más común la capacidad fotosintética por la existencia del gran cloroplasto que les caracteriza (Prescott, 1979). Las células son generalmente móviles, con una cutícula firme que permite mantener una forma constante al organismo. Poseen una o varias vacuolas contráctiles, expelentes de agua, casi siempre cercanas a la citofaringe. Los materiales de reserva suelen ser aceites, grasas y almidones. Su núcleo es central y relativamente grande (Wetzel, 1981). Tienen uno o dos flagelos de posición anterosuperior, casi siempre ubicados en una depresión longitudinal. Su

reproducción es exclusivamente asexual y se realiza mediante división longitudinal (Martínez y Gutiérrez, 1991).

La coloración de estos organismos muestra amplia variedad, pues las células pueden ser rojas, azules, amarillo-olivo, café o verde, aunque también existen los que son incoloros. Se ha demostrado que el cambio de coloración de algunos de los miembros de esta división obedece a condiciones del medio, en especial de aquellos artificiales. Un sólo cloroplasto existe en la célula de los organismos criptofitos, estando rodeado este orgánulo por cuatro membranas, siendo las dos interiores la envoltura propia del cloroplasto, mientras que las dos exteriores son parte del retículo endoplásmico del orgánulo (Bold y Wynne, 1985).

1.3. Taxonomía y ecología del fitoplancton de agua dulce

Las comunidades fitoplanctónicas de las aguas continentales, junto con las comunidades de macrófitos, representan los niveles tróficos primarios principales de los ambientes de aguas dulces. Por ello, su estudio no sólo es complementario al de las demás comunidades bióticas de dichos cuerpos de agua, sino que representa una proporción importante de la base trófica del ecosistema (Wetzel, 1981). En lagunas tropicales, el fitoplancton presenta una alta diversidad de especies que se relaciona con la estabilidad del ecosistema en su conjunto. Por otra parte, además de constituir un componente trófico importante del medio acuático, debido a que sirve de alimento a numerosas poblaciones de consumidores, desde protozoarios hasta peces y anfibios, el fitoplancton de las aguas continentales tropicales se diferencia de los macrófitos en que su productividad es aprovechada también de manera directa por consumidores externos al medio acuático, como el ganado cuando se usa el fitoplancton como forraje y los humanos cuando lo usan como suplemento alimenticio. Sin embargo, la abundancia y distribución del fitoplancton dependen de las características geomórficas, hidrológicas, climáticas y bióticas del cuerpo de agua, por lo que cada ambiente tendrá rasgos específicos correspondientes a los procesos ecológicos locales. Una manera sencilla de estimar las condiciones integrales del ecosistema acuático es conocer el patrón que muestra la diversidad de especies fitoplanctónicas y su distribución espacial y temporal. Generalmente se acepta que la diversidad de especies en una comunidad se puede describir con base en dos parámetros principales: la riqueza de especies y la abundancia relativa correspondiente a los individuos de cada especie (Magurran, 1989).

1.4. Identificación

Por tradición se han utilizado para la identificación de microalgas, las tablas dicotómicas con base en sus características morfológicas, que suelen prácticas sobre todo para la identificación de grandes volúmenes de estos organismos, actualmente existen técnicas moleculares para identificación como la del polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP, por sus siglas en ingles) que fue una de las primeras técnicas moleculares usadas en estudios de fitoplancton que, combinada con la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en ingles), resulta ser mas simple y rápida en la obtención de resultados (Bruin et al., 1993, Rodríguez-Herrera *et al.*, 2009).

1.4.1. Distribución

Se tienen datos de han realizado investigaciones acerca del fenómeno de la distribución horizontal del fitoplancton, pero Margalef (1983) ha resumido dicho análisis en los siguientes puntos 1) Distribución de contagio, con segregación en manchas; 2) Periodicidad en los valores de densidad a lo largo de una o más dimensiones; 3) Interacción entre especies, manifestada en forma de correlaciones estadísticas entre sus respectivas densidades; 4) estudio de los espectros de diversidad." Este mismo autor (Margalef, 1983) señala que el estudio de la distribución horizontal del fitoplancton se puede hacer utilizando la totalidad del fitoplancton, especies individuales de distinta abundancia o mediante muestras más amplias en las que se integran varias muestras próximas, pero en todos estos casos la varianza es mayor que en series de submuestras o partes alícuotas de material uniformemente mezclado. Desde el trabajo clásico de Hutchinson (1961), referente a la existencia de muchas más especies fitoplanctónicas de las que se esperaría encontrar si se cumpliera el principio de exclusión competitiva, a lo que dicho autor denominó "la paradoja del plancton", numerosas contribuciones se han hecho al respecto (Richerson et al., 1970; Tillman et al., 1982; Sommer, 1984; Grover, 1990; Siegal, 1998).

La importancia del movimiento del agua en la distribución del fitoplancton se relaciona con la dimensión horizontal y vertical, debido a que es un factor decisivo para el desarrollo de esta comunidad, pues no sólo regula el movimiento del fitoplancton entre la parte interior y exterior de la zona fótica, sino que también regula el transporte de materia mineralizada de zonas profundas y litorales hacia las aguas pelágicas. Por otra parte, el movimiento del fitoplancton en sentido vertical es un problema que muchas especies han resuelto mediante

adaptaciones morfológicas o fisiológicas (incremento de la fracción superficie-volumen, presencia de vacuolas de gas, producción de mucílago, etc), por lo que dicho transporte vertical es parcialmente regulado por los mismos organismos, sin descartar la participación de la turbulencia del agua (Wetzel, 1981).

1.4.2. Abundancia

La cuantificación del número de organismos fitoplanctónicos generalmente se reporta en relación a un volumen (frecuentemente en mililitros), pero en las aguas dulces su variación puede ser muy grande, hasta de 200 000 células por mililitro en lagunas sumamente eutróficas o en aguas superficiales dominadas por dinoflagelados o criptomonadales (Margalef, 1983). El papel de los nutrientes inorgánicos para el crecimiento de las poblaciones fitoplanctónicas como los elementos fósforo y nitrógeno ha sido de amplia importancia (FAO, 1989), encontrándose que su relación está siempre sujeta al denominado concepto de nutrientes limitantes. Aunque no es un hecho general suponer el aumento poblacional directo de todas las especies del fitoplancton a causa de un aumento de nutrientes inorgánicos, ya que deben considerarse otros aspectos ecológicos, tales como los requerimientos de nutrientes orgánicos, el papel de la competencia y la depredación, etc. (Margalef, 1983).

1.4.3. Diversidad

Una de las características más evidentes e importantes de la vida en el planeta es la diversidad de formas en que se manifiesta (Curtís y Barnes, 1999), aspecto que se reconoce en el concepto de diversidad biológica o biodiversidad, la cual ha sido definida como el rango completo de variedad y variabilidad dentro y entre los seres vivos, sus asociaciones, hábitats y complejos ecológicos, comprendiendo ecosistemas, especies, paisajes y niveles intraespecíficos (genéticos) (Perlman y Adelson, 1997). Por lo tanto, este concepto general incluye genes, especies, hábitats y ecosistemas que se categorizan a niveles de investigación diferentes (Moreno, 2001). Uno de estos niveles, es la diversidad que centra la atención en las identidades denominadas especies, las cuales son definidas como "poblaciones de organismos de cruzamiento libre, aisladas, en cuanto a la reproducción, de otras poblaciones similares (Lincoln *et al.*, 1995). Por su confiabilidad y sencillez, el índice de diversidad de Shannon y Weaver ha sido uno de los más empleados y según señala Margalef (1983), la diversidad medida con este índice muestra correlación positiva con la

temperatura, concentración de nutrientes y profundidad del lago, y negativa con su extensión superficial, probablemente porque en los lagos grandes es menor la mezcla de especies accidentales procedentes del litoral. La relación de la diversidad de especies con el espacio ocupado por la comunidad, está sujeta a dos patrones generales que son 1) un espectro paralelo, donde las poblaciones están bien mezcladas, alcanzándose una gran diversidad ya desde un volumen pequeño y en donde la diversidad no varía sensiblemente al ir aumentando la muestra; y, 2) un espectro diagonal, donde la diversidad es pequeña en un volumen limitado, que conduce a la dominancia de una o pocas especies, pero que con el aumento del tamaño de la muestra, la diversidad aumenta paulatinamente. En otras palabras, una fuerte turbulencia mezcla las poblaciones y conduce a un espectro paralelo, mientras que en un medio donde las poblaciones proliferan localmente y la turbulencia es baja, se produce un espectro más diagonal (Margalef, 1983).

En ocasiones la complejidad y variabilidad que presentan los ecosistemas impiden discriminar los efectos que producen los factores que causan diferentes tipos de actividades como las humanas o la misma naturaleza, para ello se utilizan herramientas estadísticas utilizadas en estudios ecológicos que permiten estimar la riqueza de especies, la diversidad, la estructura de la comunidad y ensamblaje entre otros, para lo cual se utilizan diversos programas estadísticos. La estadística si se usa de un modo adecuado, es muy útil y potente como herramienta para determinar los grados de certeza y confianza que toman las hipótesis y conclusiones. Existen varios métodos estadísticos como la estadística descriptiva, que se dedica a recolectar, ordenar, analizar y representar un conjunto de datos, con el fin de describir apropiadamente las características de este. Este análisis es muy básico. Los métodos univariados (de un solo factor) aplicado al análisis de poblaciones, en los cuales se deben proponer una hipótesis nula y una alterna; es importante notar que no siempre el rechazo de la hipótesis nula no comprueba la hipótesis alterna. El método multivariado, aplicado a análisis de comunidades, es donde se pueden comparar diferentes estratos definidos según sea el caso, por ejemplo: entre transectos, entre parcelas, entre métodos de captura, entre ecosistemas, etc. (Sarmiento, 2000; Sanjuan, 2006).

1.4.4. Aislamiento, cultivo y contenido de metabolitos de microalgas con potencial biotecnológico

Las microalgas son organismos que han despertado un gran interés científico en las últimas décadas, debido a su potencial biotecnológico y comercial, ya que son una fuente importante de una amplia gama de compuestos químicos, pigmentos, aceites, polisacáridos y a la vez, son útiles para el tratamiento de aguas residuales, entre otras aplicaciones (Martínez *et al.*, 2005). Actualmente, la investigación referente a este grupo de organismos, está relacionada principalmente con la producción de biomasa para la extracción de metabolitos secundarios, pero también su uso se extiende hacia la producción de alimento para animales y biofertilizantes, específicamente en cultivos de interés agronómico (Masojidek & Torzillo, 2008). Sumado a esto, en los últimos años, varias especies han sido estudiadas con mayor detenimiento con el fin de producir energía con emisiones bajas en dióxido de carbono (Torzillo, 2008).

Se han diseñado varios métodos para el aislamiento de especies, algunos de los principales métodos que se utilizan para aislar y purificar microalgas son el Pipeteo capilar que se utiliza para separar microalgas mayores de 10 μ , mediante una pipeta construída con un tubo capilar, a través del microscopio óptico se “pesca” las células y se separan en pequeñas gotas de nutrientes colocados alrededor de una Caja de Petri o en portaobjetos escabados, otro método es el Rayado de Placas de Agar donde se transfieren pequeñas gotas de plancton con una asa de siembra, extendiendo por estrías. Este agar se prepara con una solución nutritiva para microalgas y agar disuelto en el medio nutritivo, se incuba la placa bajo iluminación a 18–20° C. De este primer crecimiento se transfiere a tubos con agar inclinado sembrando por estrías o bien, se transfiere a medios líquidos en subcultivos sucesivos para su purificación, de tal manera que en cada dilución se reduzca el número de organismos en una gota, es recomendable combinar la técnica de diluciones con la de transferencia en placa de agar o tubo inclinado para obtener cultivos clonales y poder establecer el cultivo monoespecífico (Richmond, 1986; FAO, 1989; Andersen, 2005).

1.5. Características de aguas interiores (lagos y lagunas)

Se conocen como lagos a los cuerpos de agua naturales de condiciones lénticas (estancadas) y cuyo origen es continental; sin comunicación directa con el mar, generalmente son grandes, con más de 8 m de profundidad. Constituyen masas de agua permanentes y que se

depositan en una depresión del terreno (Cervantes, 2013). Según Hutchinson (1957) existen 76 tipos de lagos atendiendo el carácter geomorfológico, pero Wetzel (1981) los reduce a nueve grupos distintos de lagos que han sido formados por distintos procesos (cuadro 1).

En la República Mexicana existen 14,000 cuerpos de agua lagunares, de los cuales el mayor número se localiza en la zona centro occidente, que incluye a los estados de Jalisco y Michoacán, siguiendo en importancia la región centro sur y la norte (Cervantes, 2013). El Lago de Chapala en Jalisco es el más extenso de los lagos mexicanos, seguido por los de Cuitzeo y Pátzcuaro en Michoacán, Catazajá en Chiapas, del Corte en Campeche, Bavícora y Bustillos en Chihuahua y Catemaco en Veracruz (Aguilar, 2003). El lago se originó a causa de una falla de la corteza terrestre probablemente en el mioceno temprano o el mioceno tardío, mientras que su conformación actual data del pleistoceno, formando un graben o fosa tectónica, captando las aguas del sistema hidrológico Lerma-Santiago. Esta depresión tectónica forma parte de una fractura llamada línea de San Andrés-Chapala (Estrada *et al.*, 1983).

Cuadro 1. Tipos de lagos según Wetzel (1981)

Lago	Formación
Cubetas tectónicas	Depresiones formadas por movimientos de la corteza terrestre más profunda.
Lagos formados por actividad volcánica	Cuando hacen erupción los volcanes dejando espacios vacíos y no son porosos, pueden alojar lagos, que contienen bajas concentraciones de nutrientes y son improproductivos.
Lagos formados por aludes	Los movimientos de material no consolidado en forma de aludes que se dirigen hacia los valles fluviales
Lagos formados por actividad glacial	Son el resultado de la intensa dinámica climática y geológica de la dinámica glacial del Pleistoceno, en las últimas etapas de glaciación se crearon gran número de lagos.
Lagos cársticos	Son lagos que se alojan en una depresión cárstica, que se ha producido por la disolución de las calizas, por agua débilmente ácida.
Cubetas lacustres formadas por la actividad fluvial	Formados por las corrientes de los ríos, donde las pendientes son pronunciadas creando cuencas rocosas.
Cubetas lacustres formadas por la acción del viento	Creados por la acción del viento por efecto de la abrasión o erosión de las rocas disgregadas o por redistribución de la arena.
Lagos formados por la actividad costera	Se forman cuando la línea de costa del mar o un gran lago presenta una irregularidad o entrada; o cuando una corriente cargada de sedimento y paralela a la costa es alterada por la acción del oleaje, formando una barra a través de la boca del pequeño golfo.
Lagos de origen orgánico	Se forman por diques de castores, o por la acción de bloqueo debido al crecimiento de las plantas y detritus.

1.6. Descripción de un lago polimíctico como el Lago de Chapala

Chapala es un lago polimíctico cálido (permanentemente mezclado) (Wetzel 1983) (figura. 1), se considera un cuerpo de agua eutrofizado por tener aguas ricas en nutrientes, donde la luz penetra con dificultad, hay estancamiento de aguas y abundante vegetación litoral (Lind *et al.*, 1992).

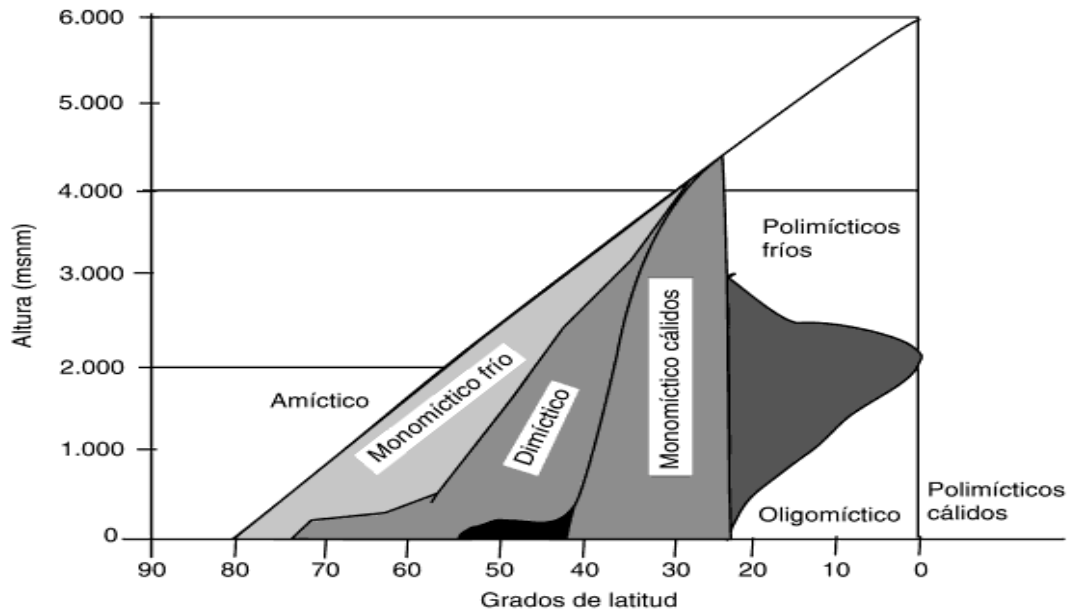


Figura 1. Representación esquemática de acuerdo con la clasificación térmica de los lagos organizados según la altitud y latitud, tomado de Wetzel, 1983.

1.6. ANTECEDENTES

1.6.1 Taxonomía y ecología del fitoplancton de agua dulce

La relevancia ecológica que tiene el fitoplancton de agua dulce ha sido estudiada desde la distribución y abundancia de manera general por Reynolds (1984). En estudios posteriores (Reynolds, 1992), trabajó con la composición y dinámica del fitoplancton en relación con la estructura vertical de los lagos, aspecto del que otros autores también se han encargado (Fee, 1976, 1978; Moll y Stoermer; Neill, 1994; Klausmeier y Litchman, 2001), aunque de manera menos precisa.

Debido a su importancia trófica, el fitoplancton de agua dulce ha sido estudiado en diferentes latitudes y condiciones geográficas. Desde el punto de vista de la productividad, Wright (1959), en una investigación realizada en el Canyon Ferry Reservoir, Estados Unidos, encontró que el fitoplancton ocupaba el 34.5 % del contenido promedio del seston, mientras que sólo el 9.8 % era zooplancton, lo cual representaba una tasa fotosintética óptima de la zona fótica de ese cuerpo de agua equivalente a 52 %. Asimismo, este estudio demostró el efecto de la temperatura, la intensidad de la luz y los fosfatos sobre la fotosíntesis fitoplanctónica.

Con relación a la temperatura, una característica de los lagos someros como lo es el de Chapala, es que la columna de agua se mezcla frecuentemente por la acción del viento. Los lagos someros son típicamente polimícticos, debido a que la acción del viento provoca la mezcla de la columna de agua, alterando su estabilidad e impidiendo la limitación de nutrimentos, lo cual favorece el crecimiento de especies algales con bajas tasas de sedimentación y altas tasas de crecimiento como son las de dimensiones pequeñas (Scheffer, 1998). Especies de los géneros *Monoraphidium* y *Microcystis*, al igual que el picofitoplancton, se consideran indicadores de la presencia de capas de agua mezcladas y poco profundas como también los generos *Pandorina*, *Eudorina*, *Coelastrum*, *Golenkinia*, *Pediastrum*, *Scenedesmus* y *Cryptomonas* (Reynolds *et al.*, 2002).

1.6.2. Investigación en México

En contraste con investigaciones realizadas en Europa y Norteamérica, los estudios limnológicos enfocados al fitoplancton en México son recientes, comenzando en las primeras décadas del siglo XX, con varios trabajos desarrollados inicialmente por Sámano-Bishop y Sokoloff (1931) y otros realizados por investigadores extranjeros, especialmente por el grupo español exiliado en nuestro país en los años 1938-1941, y en los que destacan científicos como Osorio Tafall, Rioja y De Buen (Ortega *et al.*, 1995).

Los estudios de fitoplancton en los cuerpos de agua dulce en particular de las lagunas continentales de México han sido estudiados desde el punto de vista taxonómico, y en este sentido están los trabajos realizados por Sámano-Bishop y Sokolof (1931), Sámano-Bishop (1940), Rioja (1940, 1942), Osorio (1941, 1942), Rioja y Herrera (1951), y Pérez y Salas (1958, 1961).

Más recientemente, Ortega *et al.* (1995) y Moreno (2000) han hecho referencia a la importancia del fitoplancton dulceacuícola como medio para investigar la calidad del agua y de la contaminación de los cuerpos de agua dulce del país.

Recientemente, una nueva generación de investigadores nacionales comenzó a interesarse por los estudios fitoplanctónicos de las lagunas continentales nacionales, pero todos ellos se dedicaron a investigaciones en el centro del país (Flores y Martínez, 1984, Novelo-Maldonado, 1998 y Herrera-Morales *et al.*, 2009). Es notoria la escasez de investigaciones

relacionadas con los recursos naturales de las aguas continentales del sureste de México, lo cual es palpable incluso en la actualidad (Ortega *et al*, 1995).

En las últimas décadas la investigación sobre algas en México ha aumentado de manera considerable, incrementándose el número de instituciones interesadas en el campo de la ficología nacional que requieren de información actualizada sobre los colectores, en particular del lapso de tiempo en que estuvieron activos, de los lugares que exploraron, herbarios y ceparios en que están depositados sus ejemplares y botánicos que estudiaron el material mexicano. Sin embargo, frecuentemente tal información no es fácil de conseguir, ya que se encuentra dispersa en herbarios principalmente extranjeros (Godínez, 2008).

En lo que respecta a las colecciones de microalgas mexicanas se tiene conocimiento de la del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR), que tiene en su haber ocho grupos pertenecientes a Bacillariophyceae, Chlorophyceae, Chrysophyceae, Cyanophyceae, Dynophyceae, Prasinophyceae, Prymnesiophyceae, Rhodophyceae. En las que se registra 55 especies; 12 dulceacuícolas, 23 marinas, y 20 cianobacterias (en cepario). La diversidad de ejemplares de la colección está constituida principalmente por especies de cianobacterias aisladas en Bahía Magdalena e Isla El Pardito, en el Golfo de California. Además de donaciones procedentes de Venezuela, Cuba y España, y adquiridas a otras colecciones (Arredondo, 2004).

En el sureste, el herbario Alfredo Barrera Marín, de la Universidad Autónoma de Yucatán, cuenta con colecciones de microalgas dulce acuícolas y marinas de la península. Existen además otras instituciones como el CICESE que cuenta con una colección de aproximadamente 122 ejemplares, seleccionadas con base en sus características biológicas, bioquímicas y nutricionales. La colección de fitoplancton marino y de lagunas costeras de México (FITOMEXU), del Instituto de Limnología de la UNAM, posee un total de 2140 ejemplares. La unidad de servicios de la colección de cepas microbianas y cultivos celulares (CDBB500), del centro de Investigación de Estudios Avanzados del IPN, unidad México, cuenta con 3000 ejemplares que incluyen bacterias, microalgas, hongos y protozoarios (Barrientos, 2005).

Por otro lado la colección de algas de Jalisco del herbario del instituto de botánica de la Universidad de Guadalajara (IBUG) contiene 1614 frascos con microalgas de diferentes

cuerpos de agua de la región occidente de México (López-González, comunicación personal, 9 de mayo de 2011) en la cual se tienen registrados 1025 microalgas en placas permanentes (Mora Navarro *et al.*, 2006). En el cuadro 2 se muestra el listado taxonómico de microalgas con potencial biotecnológico, reportadas en algunos cuerpos de agua delestado de Jalisco, por diversos autores se observa una lista de especies identificadas.

Cuadro 2. Microalgas reportadas para diversos cuerpos de agua en el estado de Jalisco.

Especie	Lugar de muestreo			
	Chapala	Zapotlán	Presa de la Vega	Presa Elías González
División Chlorophyta				
Clase				
Trebouxiophyceae				
Familia				
Chlorellaceae				
<i>Chlorella vulgaris</i>	X	X	X	
<i>C. ellipsoidea</i>			X	
Clase				
Chlorophyceae				
Familia				
Scenedesmaceae				
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	X	X	X	X
<i>S. dimorphus</i>	X	X	X	X
Clase				
Trebouxiophyceae				
Familia Trebouxiophyceae				
incertae sedis				
<i>Botryococcus braunii</i>	X			X
División Cyanobacteria				
Clase				
Cyanophyceae				
Familia				
Pseudanabaenaceae				
Subfamilia				
Spirulinoideae				
<i>Spirulina major</i>	X		X	
Fuente	Pum y Bretado (1989); Núñez y Reyes (1995); Mora-Navarro <i>et al.</i> , 1996	Romo-Barajas <i>et al.</i> , (1996)	Mercado-García <i>et al.</i> , (1996)	Campos-Trujillo y Mora-Navarro, (1996)

1.6.3. Experiencias sobre cultivo de microalgas

Una revisión sobre el desarrollo del cultivo de microalgas en el mundo fue realizada por Andersen (2005), y esta se remonta al año de 1900 cuando Zumstein, un estudiante de Klebs y Benecke en Basilea, Suiza, establecieron un cultivo de *Euglena gracilis* libre de bacterias donde se aislaron células individuales con una pipeta capilar, y para eliminar la contaminación de bacterias se hizo el medio lo más ácido posible sin matar el alga. Por otro lado las investigaciones de Chodat y sus colaboradores en Ginebra Suiza en 1913 con medios y condiciones de cultivos que no eran nada parecidos a las que imperaban en vida libre lo que ocasionaba que las células se desarrollaran morfológicamente anormales, pero durante más de 30 años de investigación estableció una colección de más de 300 especies de algas en cultivo puro. Richter (1903), trabajo cultivando diatomeas axénicamente, extendiendo su trabajo a otras algas, y en 1911 presentó una publicación detallada que resume todo el trabajo previo sobre la nutrición de las algas. En 1910, Edgar Johnson Allen, director de la Asociación de Biología Marina del Reino Unido, y su colaborador Edward W. Nelson hicieron contribuciones significativas al cultivo de algas, incluyendo algunos de los primeros intentos para cultivar algas para la cría de animales marinos. Se aislaron y cultivaron *Chaetoceros*, *Skeletonema* y *Thalassiosira*, entre otros géneros, para alimentar a las larvas marinas, siendo las principales fuentes de alimento en criaderos acuícolas. Allen y Nelson produjeron también un agua de mar artificial basada en las concentraciones moleculares de agua de mar determinadas por Van't Hoff en 1905, también reconocieron la importancia del hierro como metal traza. Sin embargo, lograron un buen crecimiento de las algas con sólo la adición de pequeñas cantidades de agua de mar natural (menos de 1 % a 4 %) para el agua de mar artificial. Allen en 1914 observa que estos efectos pueden deberse a los productos del metabolismo de las bacterias y sugirió un micronutriente orgánico similar a la primera vitamina, que acababa de ser descubierto por Casimir Funk. Warburg un renombrado fisiólogo celular bioquímico en Berlín, Alemania, descubrió en 1919, que las microalgas verdes como *Chlorella* son de crecimiento rápido, convirtiéndose así en materiales experimentales ideales en la investigación bioquímica y fisiológica y utilizó estos cultivos para su trabajo pionero en la fotosíntesis donde aireó los cultivos líquidos de algas con aire enriquecido con dióxido de carbono y utilizó una fuente de luz artificial, que

consistía en una lámpara de filamento de metal de 300 vatios en un vaso de precipitados de vidrio rodeada con agua de refrigeración, que actuó como una pantalla de absorción de la radiación infrarroja. Starr, alumno de Bold comenzó en 1953 a establecer una colección de cultivos importante de algas en la Universidad de Indiana, que, en 1976, se trasladó a la Universidad de Texas en Austin (UTEX Culture Collection de Algas. En un principio contenía cepas, principalmente, que él utilizó para su investigación sobre las algas verdes (especialmente Volvocales, Chlorococcales y Desmidiales), así como unas 200 cepas que él obtuvo de EG Pringsheim. Esta colección se ha ampliado en gran medida durante los años (con. 2000 cepas en 1976) y ahora contiene cerca de 2.300 cepas (aproximadamente 200 diferentes géneros), lo que representa hoy en día uno de los conjuntos más grandes y diversos de las algas que viven en el mundo. Desde la década de los 80' se tiene considerado a ciertas microalgas susceptibles de cultivo y con potencial económico, estas son del género *Chlorella*: *C. pyrenoidosa*, *C. vulgaris* y *C. ellipsoidea*; del género *Spirulina*: *S. platensis*, *Dunaliella*: *D. bardawil*, *Scenedesmus*: *S. quadricauda* y *S. dimorphus*, *Phaedactylum*: *P. tricornutum*; *Porphyridium*, *P. cruentum*; *Botryococcus*: *B. braunii* y los géneros *Chlamidomonas*, *Haematococcus* y *Nostoc*. (Richmond, 1986).

1.7. JUSTIFICACIÓN

El fitoplancton es la base de la cadena alimenticia, pues al ser productores son las primeras formadoras de materia orgánica lo que las hace imprescindibles como fuente de alimento vivo formando así parte importante de la dieta de los organismos acuáticos. Actualmente la función de estas algas microscópicas o microalgas y cianobacterias no es solamente el proporcionar alimento a los organismos acuáticos, sino que también son utilizadas con diversos fines, tales como el tratamiento de agua residual, producción de combustibles y complementos nutricionales, entre otros. La demanda de algas, ya sea para consumo humano o para la elaboración de diferentes productos industriales; se ha intensificado en los últimos años, reportándose según el informe Sofía de 2014 la producción mundial en 2012 fue de 3,583.00 tons anuales. En los cultivos de microalgas se plantea la problemática del empleo de cepas de microalgas que provienen de zonas templadas cuando son usadas en las zonas tropicales se requiere de una infraestructura con condiciones controladas donde la temperatura reviste una trascendental importancia, o comenzar a adaptar a estas a las nuevas condiciones climáticas, lo que hace que se pierda tiempo, o hasta la cepa misma si no se logra la adaptación. Este asunto para los acuicultores representa una considerable desventaja debido al incremento involucrado con los costos de producción. Es por esto que el aislamiento de especies o variedades nativas representa una alternativa interesante para el desarrollo de la acuicultura regional y el aprovechamiento de los recursos ficológicos del estado.

En el estado de Jalisco, donde existe una amplia variedad de ecosistemas acuáticos continentales, el conocimiento de los patrones de diversidad de especies del fitoplancton puede ayudar a comprender a dichos ecosistemas de una manera más completa, especialmente desde el punto de vista de su productividad. A pesar de que el Lago de Chapala es el más grande de México, existe escasa información del fitoplancton en general y debido a la importancia que tienen algunas especies como organismos indicadores de calidad del agua, depuradores de sustancias en procesos de biorremediación, productoras de oxígeno, como fuentes de alimento y productoras de metabolitos de interés comercial, es relevante determinar su riqueza y abundancia y analizar sus implicaciones ecológicas y económicas de tan valioso recurso natural.

1.8. HIPÓTESIS

El fitoplancton de un lago polimictico tropical, como el Lago de Chapala, contiene microalgas y cianobacterias que fluctuan en tiempo y espacio, debido a las condiciones ambientales, dinámica hidrológica, características biológicas y a las interacciones biológicas del sistema, lo que genera un ensamblaje florístico particular con posibles cambios en su contenido de metabolitos a nivel celular, los cuales al mantenerse en cultivos adecuados se obtienen compuestos orgánicos primarios en cantidad y calidad, susceptibles de ser aprovechables en la industria biotecnológica.

1.9. OBJETIVO GENERAL

Determinar la composición del fitoplancton nativo de un lago polimictico tropical explorando su presencia en tiempo y espacio y reconocer especies susceptibles de aislar y cultivar por el contenido de metabolitos potencialmente utilizables en el área biotecnológica.

1.9.1 Objetivos Particulares

- Determinar la composición taxonómica del fitoplancton nativo en tres condiciones ambientales atmósfera-lago en el año 2012
- Analizar la estructura de la comunidad del fitoplancton nativo en tiempo y espacio, y su posible relación con factores ambientales en el sistema atmósfera-lago en el año 2012
- Aislar y cultivar especies de fitoplancton nativo en medios sólido y líquido adecuados para la obtención de biomasa necesaria para su análisis químico aproximado
- Determinar la proporción de lípidos totales, proteínas, cenizas y humedad de las especies aisladas.

CAPÍTULO: COMPOSICIÓN Y ESTRUCTURA COMUNITARIA DEL FITOPLACTON NATIVO DE UN LAGO POLIMICTICO TROPICAL (LAGO DE CHAPALA)

2.1. INTRODUCCIÓN

Históricamente, el desarrollo de la limnología ha tenido como base el estudio de los lagos de la zona templada; sin embargo, en los últimos 20 años un número cada vez mayor de limnólogos ha orientado su atención hacia los lagos tropicales. El estudio de estos ambientes ha permitido reconocer que, frecuentemente su comportamiento no se ajusta a las predicciones que, desde un punto de vista teórico y un tanto especulativo, fueron planteadas en los modelos conceptuales vigentes. En consecuencia, hoy en día, los resultados de las investigaciones acerca de los lagos tropicales apuntan hacia el inicio de profundos cambios en la limnología teórica (Torres-Orozco *et al.*, 1994).

El conocimiento del fitoplancton de agua dulce, salobre y marino en México aún es pobre a pesar de la existencia de antecedentes que datan del siglo XIX, y que se concentran principalmente en la región central del país (Moreno-Ruiz *et al.*, 2008).

Sin embargo, dada la amplitud y extensión del territorio mexicano, se necesita aplicar un enfoque regional para conocer éstas características ecológicas en una escala que suministre mayor precisión a las investigaciones que aquí se desarrollan (Moreno *et al.*, 1996). En las últimas décadas se ha manifestado un interés creciente por el estudio del fitoplancton, dada la importancia que tiene como primer eslabón en la cadena trófica, productor de oxígeno, depurador de sustancias contaminantes y como bioindicador, entre otras propiedades (Margalef, 1983).

Entre los lagos tropicales, el de Chapala brinda algunas oportunidades especiales para enriquecer nuestro acervo. En su mayoría, la investigación sobre lagos tropicales incluye aquellos que se localizan en la región ecuatorial. El lago de Chapala es considerado un lago tropical polimíctico (Lind, *et al.*, 1992), estos lagos tropicales se caracterizan porque muestran periodos frecuentes de circulación a temperaturas muy superiores a 4°C. En los trópicos ecuatoriales las variaciones anuales de temperatura son pequeñas y provocan periodos repetidos de circulación entre intervalos cortos de calentamiento y de

estratificación débil, seguidos por periodos de enfriamiento rápido, bajo estas circunstancias, la circulación conveccional, reforzada por el viento es suficientemente intensa como para romper la estratificación (Wetzel, 1981). El viento es una de las variantes ambientales más importantes que afectan la ecología del lago de Chapala. Por su tamaño y poca profundidad, el viento mueve constantemente la columna de agua (Banks y Herrera, 1977; Simons, 1984)

2.2. ANTECEDENTES

Las investigaciones limnológicas realizadas en México son diversas, tratando aspectos diversos de florística, taxonomía y ecología (Ortega y Godínez 1995; Tavera-Sierra *et al.*, 1994; Tavera-Sierra 1996; Parra y Bicudo 1996; Ibarra-Vazquez y Novelo 1997; Alcocer *et al.*, 1998; Novelo-Maldonado 1998.

Sin embargo los estudios referentes al plancton han sido pocos, de los cuales sobresalen los trabajos realizados en algunos lagos como el de Pátzcuaro (Rioja, 1940) Lago Tezozomoc (Oliva *et al.*, 2008), Lago de Cuitzeo (Ortega-Murillo *et al.*, 2011), lago Zempoala (García *et al.*, 2010), Lago Tonatiahua (García-Rodríguez *et al.*, 2003), Laguna de Catemaco (Suárez *et al.*, 1986). Otros estudios refieren a la formación de florecimientos algales y a su toxicidad, principalmente la originada por cianobacterias (Lacoste *et al.*, 1987; Carmichael, 1994; Komárková-Legnerová y Tavera-Sierra 1996).

Las investigaciones en el Lago de Chapala son de diversas áreas, desde la medición de niveles de metales pesados (Hansen, 1992), el efecto del viento en el espejo de agua (Filonov *et al.*, 2001), sedimentos-viento en columna de agua (Lind y Dávalos Lind, 1991), localización y evaluación del agua subterránea (González-Hita, 1999), estudios sobre la producción bacteriana y su importancia en la cadena trófica (Dávalos-Lind *et al.*, 1992), estudios sobre pesca, ordenamiento y explotación racional (Guzmán, 1995), y estudios generales sobre niveles de agua, acueductos, extracciones de agua y manantiales entre otros (Guzmán, 2003).

En cuanto a investigaciones sobre de fitoplancton se tienen las de Espinosa-Camarena (1982), quien realizó estudios del plancton, identificando un total de 55 géneros de fitoplancton y 64 géneros de zooplancton. Cortes-Altamirano y Guzmán (1988), hicieron un estudio sobre fitoplancton, en el cual presentaron a *Ulothrix limnetica* var *minor* como

la más dominante con 87 % de abundancia, asociada con *Microcystis chroocoides*. Pum y Bretado-Aguirre (1989), realizaron estudios sobre la composición del fitoplancton, la especie dominante fue *Planctonema lauterbornii* (Chlorophyceae) seguida por *Melosira granulata* var. *angustissima* y *Cyclotella meneghiniana* (Diatomophyceae). Lind *et al.*, (1992), hacen una revisión de sobre la producción primaria de fitoplancton del lago de Chapala, basados en siete años de trabajos en colaboración con diversos grupos de investigación; donde encuentran que la producción de fitoplancton en el lago de Chapala está limitada por la alta turbidez arcillosa, el contenido de nutrientes en el agua del lago va de moderado a alto, los bioensayos de nutrientes algales dan una respuesta positiva sólo cuando se les sujeta a un incremento artificial de la intensidad de luz, bajo estas condiciones el nutriente limitante es el nitrógeno y nunca se detectó fijación de este elemento en el agua del lago. Núñez y Reyes (1995) realizaron un estudio de fitoplancton durante 3 años de muestreos donde encontraron a *Planctonema lauterbornii*, como la especie más abundante, seguida por *Microcystis aeruginosa* y *Closterium* spp como especies dominantes y de las más recientes investigaciones la de Mora-Navarro *et al.*, (2004), aplican una ordenación de comunidades algales, donde encuentra que los factores que explican la mayor parte de la variación en la estructura de la comunidad algal, son la concentración de sulfatos y la alcalinidad total, y registran 226 especies en 92 géneros y 44 familias.

2.3. OBJETIVOS

- Determinar la composición taxonómica del fitoplancton nativo en tres condiciones ambientales atmósfera-lago durante el año 2012
- Analizar la estructura de la comunidad del fitoplancton nativo en tiempo y espacio, y posible relación a factores ambientales atmósfera-lago en este mismo año 2012

2.4. ÁREA DE ESTUDIO

La elección de los sitios fueron con base en los antecedentes de trabajos realizados y el monitoreo que lleva a cabo la CONAGUA en este lago (De Anda y Harvey, 2001). En el cuadro 3 y la figura 2 se indican los sitios de muestreo y colecta realizados en el presente estudio.

Cuadro 3. Ubicación de los sitios de muestreo y sus coordenadas geográficas.

Sitio	Latitud (N)	Longitud (O)
1 Jocotepec	30°16' 37.9"	103°24' 35.6"
2 San Cristobal	20°13' 55.4"	103°21' 27.9"
3 Centro Chapala	20° 15' 49.6"	103° 18' 48.7"
4 Ajijic	20° 17' 19.5"	103° 17' 19.7"
5 Isla Alacranes	20° 15' 09.3"	103° 11' 14.3"
6 Frente Faro	20° 16' 39.7"	103° 1 49'4"
7 Zapotera	20° 18'15.1"	102° 56' 05.1"
8 Ocotlán	20° 16' 26.9"	102° 56'57.8"
9 Frente Lerma	20° 18' 59.0"	103° 47' 29.7"
10 Cojimatlán	20° 10' 50.6"	102° 48' 55.1"

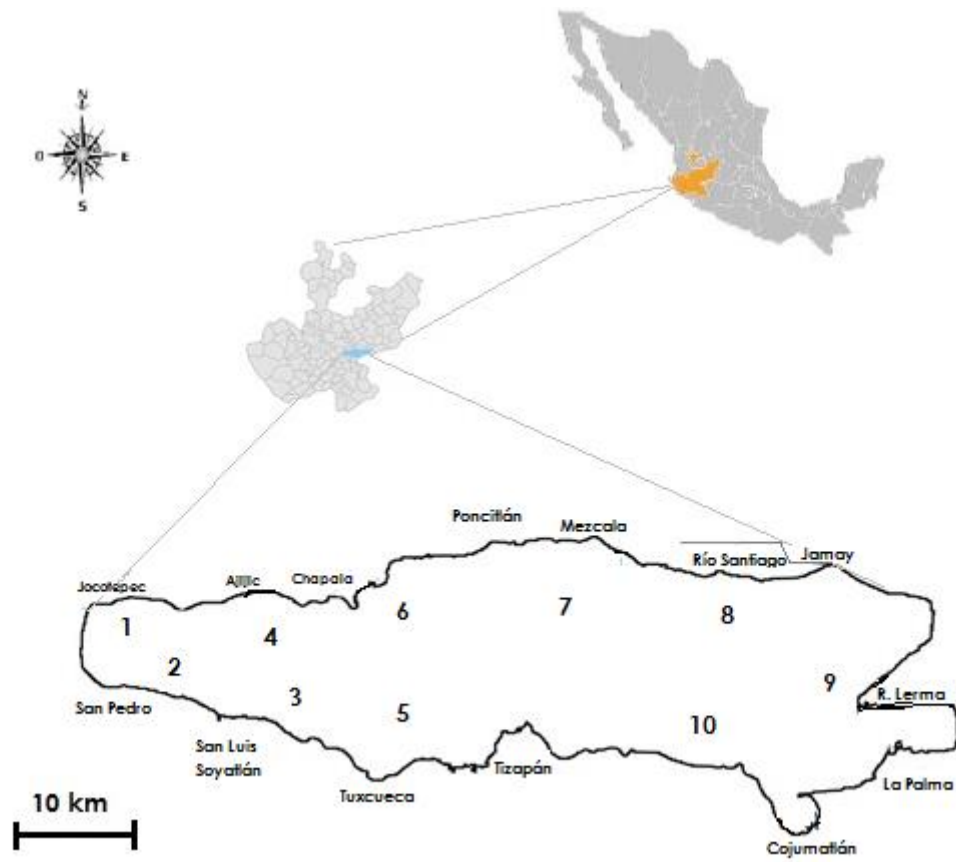


Figura 2. Localización de los sitios de muestreo en el Lago de Chapala

2.5. MATERIALES Y MÉTODOS

2.5.1. Trabajo de Campo

Colecta de muestras para análisis físico químico: Mediante técnicas estandarizadas propuestas por APHA (1981) se registraron parámetros físicoquímicos como pH con un potenciómetro marca HANNA HI9812, la temperatura y oxígeno disuelto con un oxímetro marca YSI 550A, la profundidad con un profundímetro, la transparencia con disco de Secchi y la cantidad de luz con un irradiómetro marca LI-COR modelo LI-250-Quantum/Radiometer/photometer. Estas determinaciones se realizaron en tres muestreos en 10 sitios en el lago de Chapala (figura 2), tomando en cuenta 3 temporadas del año, temporada templada en enero, cálida mayo y cálida con lluvias en septiembre. En cada sitio se registró a dos niveles de la columna de agua, superficie y dos metros.

Colectas de muestras de agua en fresco para determinación taxonómica: Se colectaron muestras de agua en fresco, para la identificación de varias especies en las que se requirió determinar características de movilidad y coloración, así como la posesión de organelos que suelen perderse durante la fijación y preparación de las muestras (flagelos, vacuolas expelentes de agua, depósitos de azufre, almidones, etc.). Las muestras se tomaron en frascos de plástico de 500 mL de capacidad transportadas lo más pronto posible al laboratorio para su observación al microscopio estándar.

Colecta de muestras de agua preservadas para conteo de organismos fitoplanctónicos: Las muestras destinadas a conteo se fijaron con formaldehído al 10 %. Para determinar la riqueza de especies y su abundancia se colectó 250 mL de agua. Se filtraron por sitio y nivel de columna de agua en promedio 2,228 L. Las muestras fueron transportadas al Laboratorio de Ecosistemas Marinos y Acuicultura del CUCBA de la Universidad de Guadalajara para su análisis y conservación.

La toma de muestra de fitoplancton se realizó mediante un arrastre circular a una velocidad de un nudo (1892 m/h) durante un minuto, con una red cónica de 30 cm de diámetro de boca y 65 μ de luz de malla, en un horario de 9 de la mañana a 2 de la tarde aproximadamente.

Identificación de especies del fitoplancton: Para la identificación de los organismos se utilizaron criterios y claves taxonómicas y trabajos especializados: Komárek, J. &

Anagnostidis, K. (2005) y Komarek, J. & J. Komarkova-Legnerova, J. (2007), para Cyanophyta. También se utilizaron los trabajos de Komárek, J. & Fott, B. (1983) para Chlorophyta y Krammer, K. & H. Lange-Bertalot, (1988) para la identificación de Bacillariophyceae. Los organismos se ordenaron por división, género y especie.

Cuantificación de especies del fitoplancton: Las muestras se fijaron con solución lugol. El conteo de microalgas se hizo con un hematocitómetro marca Fuchs-Rosenthal de 0.2 mm de profundidad. Los resultados de abundancia se expresaron en número de células por unidad de volumen (mL), estimándola por nivel de muestreo en superficie y a dos metros de profundidad, por estaciones y por meses.

Análisis ecológicos: Para evaluar la dinámica espacio-temporal de las microalgas presentes cada uno de los sitios de muestreo, se emplearon herramientas de ecología de comunidades, también se determinaron los siguientes índices ecológicos como (Ludwing y Reynolds, 1988; Reynolds, 2006):

- a) **Esfuerzo de muestreo**, Jackknife 1 y 2 y Chao 1 y 2, observada y esperada, constantes (alta frecuencia y baja abundancia) y raras (baja frecuencia y abundancia), todos los estimadores se corrieron con 9999 permutaciones.
- b) **Para determinar las especies raras** se calcularon los singletons, doubletons, únicas y duplicadas, con 100 aleatorizaciones mediante el programa EstimateS Win 9.1.0.
- c) **Índice de Riqueza específica (S)** La riqueza se calculó con el número total de especies obtenidas en el registro de especies de cada sitio.
- d) **Índice de diversidad de Shannon-Wiener (H')**, El índice de Shannon, expresa el grado de uniformidad de los valores de importancia a través de todas las especies presentes en la muestra.

La fórmula del índice de Shannon es la siguiente:

$$H' = - \sum_{i=1}^s p_i \log_2 p_i$$

S – número de especies (la riqueza de especies)

p_i – proporción de individuos de la especie i respecto al total de individuos (es decir la abundancia relativa de la especie i): expresada como n_i/N

donde n_i = número de individuos de la especie i

N = número de todos los individuos de todas las especies

Donde:

D = índice de diversidad

D_{\min} = valor mínimo de D

D_{\max} = valor máximo de D

e) **Índice de Dominancia (D')** La dominancia de Simpson (D') considera el número de especies presentes, así como la abundancia relativa de cada especie, representa la probabilidad que dos individuos aleatoriamente seleccionados en el hábitat pertenecen a la misma especie. Éste índice se realizara con la siguiente fórmula:

$$D' = \frac{\sum_{i=1}^S n_i(n_i - 1)}{N(N - 1)}$$

Donde:

S es el número de especies

N es el total de organismos presentes (o unidades cuadradas)

n es el número de ejemplares por especie.

f) **Índice de Equitatividad (J')** Mide la proporción de la diversidad observada con relación a la máxima diversidad esperada y su valor va de 0 a 1, de forma que 1 corresponde a situaciones donde todas las especies son igualmente abundantes.

$$J' = \frac{H'}{H'_{\max}}$$

Donde:

J' = índice de equidad de Pielou

H' = Índice de diversidad de Shannon-Wiener

H'_{\max} = $\ln(S)$.

Análisis del fitoplancton con las variables ambientales Las relaciones entre las comunidades de microalgas y el medio se exploraron mediante una ordenación de Bray-Curtis con los datos de la densidad de microalgas y los factores físicos del medio usando el paquete PC-ORD 5.31. La ordenación consistió de una matriz principal (sociológica) conformada por 60 sitios y 60 especies, así como una matriz secundaria (medio) conformada por 60 sitios y 7 variables. Con base en las disimilitudes Bray-Curtis (con datos transformados a raíz cuarta) de los datos para probar las diferencias entre tiempo, sitios y profundidad, se realizó un análisis de variación espacio temporal con una permanova de 3 vías, de factores cruzados con efectos mixtos, modelo: $\mu+Ti+Sj+Pk+TixSj+TxPk+Sj+Pk$.

Las variables ambientales que se tomaron fueron irradiancia o cantidad de luz con un irradiómetro marca LI-COR modelo LI-250- Quantum/Radiometer/photometer, temperatura y velocidad del viento con un anemómetro digital, marca Traceable®, modelo 4331, de cada uno de los sitios, en las tres fechas de muestro.

Para determinar las especies dominantes (alta frecuencia y alta abundancia), temporales (baja frecuencia y alta abundancia) se utilizaron descriptores ecológicos:

Se elaboró una gráfica bivariada de frecuencia y abundancia, un análisis de permanova de tres vías, un análisis de disimilaridad (SIMPER) de una vía, para éste análisis se tomó como criterio hacer un corte al 30 % porque es donde se encuentra la mayor contribución de las especies y un análisis de MDS, utilizando el programa PRIMER V6.

2.6. RESULTADOS

2.6.1. Condiciones ambientales atmosféricas

Los valores promedio de velocidad de viento, irradianza y temperatura registrada en los diez sitios y fechas de muestreo se indican en el cuadro 4. La temperatura y viento se incrementaron de enero a septiembre, e irradianza mostro un comportamiento inverso cronológicamente, disminuyendo de enero a septiembre. En mayo y septiembre se registraron 24° C promedio de temperatura, en tanto que enero osciló entre 18 y 21° C con un promedio de 19.04 °C. El mayor valor promedio de irradianza se registró en enero con 1186.49 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. En tanto que septiembre mostró la menor irradiancia con un valor promedio de 921.32 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Mayo obtuvo una irradiancia de 1121.08 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. La velocidad de viento alcanzó su punto más alto para el mes de septiembre con un promedio de 9.798 km/h, mientras que la velocidad más baja se registra para el mes de enero con un promedio de 6.98 km/h seguido por mayo con 7.17 km/h.

Cuadro 4. Valores medios, de temperatura, irradiancia y velocidad del viento en enero, mayo y septiembre del año 2012 en el Lago de Chapala. \pm d.e., [] max-min.

Variable	Enero	Mayo	Septiembre
Temperatura (°C)	19.04 \pm 0.94 [21-18]	24.26 \pm 0.76 [25.4-22.7]	24.34 \pm 1.95 [29-22.5]
Irradiancia ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	1186.49 \pm 97.92 [1309.7-1006.7]	1121.08 \pm 199.03 [1322-761.3]	921.32 \pm 186.50 [1150-512]
Velocidad del viento (km/h)	6.98 \pm 3.50 [12.5 – 1.9]	7.17 \pm 5.10 [17.1-1.2]	9.798 \pm 7.57 [20.8 – 1.5]

Respecto a lo espacial en la velocidad del viento el mes que obtuvo mayores variaciones fue septiembre acentuándose las velocidades más altas en las primeras horas de la mañana como se aprecia en los sitios uno a cuatro. La variación de temperatura provoca viento, llamado “Brisa”, esto es recurrente durante todo el año. La dirección del viento durante el día está dirigida del Lago hacia la parte terrestre y durante la noche del medio terrestre hacia el centro del Lago, los vientos dominantes son en dirección suroeste (Filonov, 1999), conforme aumenta la temperatura del día baja la velocidad del viento (cuadro 5).

Cuadro 5. Valores atmosféricos de temperatura, irradiancia y velocidad del viento.

Sitios	Enero			Mayo			Septiembre		
	Temp ° C	Irradiancia ($\mu\text{mol m}^{-2}$ s ⁻¹)	Vel viento (km/h)	Temp ° C	Irradiancia ($\mu\text{mol m}^{-2}$ s ⁻¹)	Vel viento (km/h)	Temp ° C	Irradiancia ($\mu\text{mol m}^{-2}$ s ⁻¹)	Vel viento (km/h)
1	18	1211.2	0.3	22.7	1170	1.3	24.4	512	14.9
2	18.6	1131.5	0.11	24	1250	0.4	23.3	1150	18.3
3	18	1118.61	0.12	24	1320	1.2	24.4	1059	16.68
4	19.3	1209.3	0.1	25.4	1322	0.5	23.5	1026	20.8
5	20	1209	0.1	24	1312	0.2	25.0	1088	6.8
6	18.6	1006.7	0.2	24.5	1203	0.1	25.8	1004	1.5
7	18.5	1296	0.3	24	761.3	1.2	22.5	820	1.6
8	18.8	1309.7	2.7	24	914.4	0.2	22.8	837	3.4
9	19.6	1280.1	0.19	25	1009.9	1.44	22.7	900.2	11.9
10	21	1092.8	0.11	25	948.2	0.3	26.0	817.08	2.1

2.6.2. Parámetros físico químicos en columna de agua en las fechas de muestreo

Los parámetros físico químicos registrados en columna de agua a nivel superficie y a dos metros en los 10 sitios de muestreo durante enero, mayo y septiembre observan una condición diferencial. La mayor transparencia de la columna de agua se observó en el mes de enero, con un promedio de 65.5 cm mientras que para el mes de septiembre fue en promedio 48 cm, reduciéndose en el mes de mayo a 30.5 cm, esto probablemente debido al bajo nivel del lago que se observó para esa fecha (cuadro 6).

Cuadro 6. Valores promedio de temperatura, oxígeno disuelto, potencial de hidrógeno, e irradiancia, registrados en columna de agua para enero, mayo y septiembre del año 2012 en el Lago de Chapala. \pm d.e., [] max-min.

Variable	Enero		Mayo		Septiembre	
	0	2	0	2	0	2
Nivel (m)						
Temperatura (°C)	18.52 \pm 0.38 [19.5-18.1]	17.98 \pm 0.32 [18.6-17.3]	23.63 \pm 0.70 [24.7-22.2]	23.04 \pm 0.67 [24-22]	24.43 \pm 0.55 [25.8-23.7]	24.22 \pm 0.39 [25-23.7]
Oxígeno (mg/L)	7.6 \pm 0.33 [8.1-7.2]	7.06 \pm 0.10 [7.2-6.9]	8.39 \pm 0.043 [8.9-7.6]	8.08 \pm 0.63 [9.3-7.2]	5.85 \pm 0.38 [6.46-5.45]	5.48 \pm 0.34 [5.92-4.98]
pH	8.61 \pm 0.22 [8.8-8.1]	8.66 \pm 0.15 [8.9-8.5]	8.38 \pm 0.10 [8.5-8.2]	8.38 \pm 0.07 [8.8-8.2]	8.8 \pm 0.09 [8.9-8.7]	8.76 \pm 0.08 [8.9-8.6]
Irradiancia ($\mu\text{mol m}^{-2}$ s ⁻¹)	407.01 \pm 61.73 [489.14-295.1]	129.97 \pm 39.15 [202.5-52]	437.08 \pm 85.05 [557-299]	97.61 \pm 74.37 [220-0]	427 \pm 116.54 [580-23]	13.3 \pm 26.45 [88.8-0]

En el cuadro 6, se indica el valor promedio de temperatura, oxígeno disuelto, pH, e irradiancia registradas a nivel superficie y dos metros de profundidad. La temperatura en ambos niveles fue similar, difiriendo por un grado aproximadamente de los meses entre mayo con un promedio de 23.63 °C en la superficie y a dos metros de 23.04 °C para septiembre fue de 24.43 °C en superficie, siendo para dos metros de 24.22 °C, mientras que las lecturas de enero fueron de 18.52 °C en superficie, en tanto que a 2 metros varió solo por un grado con 17.98 °C, debido a las bajas temperaturas que imperan en este mes.

La concentración de oxígeno disuelto registró valores más altos en superficie que a dos metros de profundidad. Enero en superficie registró un valor promedio de 7.6 mg/L y en dos metros 7.06 mg/L, mayo registró 8.39 mg/L y a dos metros 8.08 mg/L, mientras septiembre observó menor concentración en superficie con 5.85 mg/L y a dos metros 5.48 mg/L.

En el caso del potencial de hidrógeno o pH, fue homogéneo entre niveles, sitios y temporadas, con variaciones entre 8.1 a 8.9, septiembre registró el pH más alto con 8.8 y mayo el más bajo con 8.3 (cuadro 6).

Sobre la irradiancia en la columna de agua la mayor cantidad de luz se registra a 0m de profundidad con irradiancia mayor de los 400 $\mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en promedio para los 3 muestreos, teniendo en enero una irradiancia de 407 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en superficie, en cambio a dos metros fue de 129.91 $\mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$, para el mes de mayo en superficie se registró una lectura de 437.08 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y a dos metros de profundidad la irradiancia fue de 97.67 $\mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$ encontrándose en septiembre para la superficie una lectura de 427 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y para los dos metros de profundidad (cuadro 6).

Los meses de enero y septiembre registraron las mayores profundidades en el Lago de Chapala durante el año 2012, septiembre registró 4.45 m, seguramente por la temporada avanzada de lluvias. Enero registró 4.03 m y la menor profundidad promedio se observó para el mes de mayo con 3.73 m (cuadro 7).

Cuadro 7. Profundidad y transparencia del Lago de Chapala en los meses de enero, mayo y septiembre del año 2012. \pm d.e., [] max-min.

Variable	Enero	Mayo	Septiembre
Transparencia (cm)	65.5 \pm 17.23 [80-35]	30.5 \pm 10.66 [40-10]	48 \pm 11.59 [70-35]
Profundidad (m)	4.03 \pm 1.00 [5.5-2.8]	3.73 \pm 0.71 [4.7-2.7]	4.45 \pm 0.70 [5.5-3.1]

De manera espacial encontramos en la columna de agua la temperatura más alta a nivel de superficie se registro en el sitio 5 con 19.5° C, (cuadro 8) en el mes de enero, donde las temperatura promedio oscila entre los 18° C, para los meses de mayo y septiembre las más altas fueron en los sitios 6 y 4 respectivamente, donde la temperatura primedio era de 23 a 24° C. En cuanto al oxígeno en el mes de enero los mayores niveles de fueron registrados en los sitios 5, 9 y 10, en mayo en los sitios 3, 4 y 5, siendo en septiembre los sitios 1, 6, 9 y 10. El pH no obtuvo mayor variación ni por sitios ni por tiempos de muestreo, la irradiancia fue mayor en mayo y septiembre, particularmente en los sitios 4,5 y 6 del mes de mayo y los sitios 3,4 y 10 del mes de septiembre, la irradiancia más alta del mes enero estuvo en los sitios 4 y 8 (cuadro 8).

Cuadro 8. Valores de temperatura, oxígeno disuelto, potencial de hidrógeno, e irradiancia en superficie.

Sitios	Enero				Mayo				Septiembre			
	Temp °C	O ₂ mg/L	pH	Irrad $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	Temp °C	O ₂ mg/L	pH	Irrad $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	Temp °C	O ₂ mg/L	pH	Irrad $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
1	18.1	7.6	8.8	431	24	8.2	8.2	420	24.4	6.2	8.8	230
2	18.3	7.6	8.7	433	23.1	8.5	8.3	456	24.1	5.45	8.7	410
3	18.5	7.5	8.8	388	23.3	8.9	8.4	446	24.4	5.66	8.8	580
4	18.6	7.2	8.6	481	23.4	8.9	8.4	550	25.8	5.51	8.7	548
5	19.5	8.1	8.7	417	23.7	8.9	8.3	507	24.8	5.5	8.7	423
6	18.6	7.5	8.7	415	24.7	8.3	8.3	557	24.4	5.45	8.7	498
7	18.4	7.2	8.8	319	22.2	7.6	8.5	299	24.1	6.15	8.9	350
8	18.2	7.3	8.1	489	23.5	8	8.5	354.3	23.7	5.92	8.9	265
9	18.6	8	8.5	295	24.1	8.5	8.4	358	24.4	6.24	8.9	465
10	18.4	8	8.4	401	24.3	8.1	8.5	423.5	24.2	6.46	8.9	507

Para el caso de los sitios muestreados a dos metros de profundidad, la temperatura no observa mucha diferencia con la de superficie, en los meses de mayo y septiembre, no siendo así en el mes de enero, donde se tienen lugares muestreados con hasta un grado menos como es el caso de los sitios 2, 4 y 7. El oxígeno disuelto es menor en los sitios con mayor temperatura del mes de enero como el 1 y 3, en mayo no se muestra una tendencia en este sentido, mientras que para septiembre, donde las temperaturas son las mas altas respecto a los meses anteriores, la cantidad de oxígeno es más bajo que en enero y mayo, registrando valores cercanos a los 5 mg/L, al igual que en superficie el pH, no muestra mayores cambios ni entre niveles, ni muestreos, la irradiancia a dos metros como es de esperarse es mucho menor teniendo valores hasta de cero $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, como en el sitio 8, del mes de mayo y el mas alto en el sitio 5 del mes de enero (cuadro 9).

Cuadro 9. Valores de temperatura, oxígeno disuelto, potencial de hidrógeno, e irradiancia a dos metros de profundidad.

Sitios	Enero				Mayo				Septiembre			
	Temp °C	O ₂ mg/L	pH	Irrad $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	Temp °C	O ₂ mg/L	pH	Irrad $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	Temp °C	O ₂ mg/L	pH	Irrad $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
1	18.2	6.9	8.9	52	23.3	8.13	8.2	105	25	5.92	8.8	5.5
2	17.3	7	8.8	133.84	22	8.4	8.4	120.72	24.1	5.58	8.7	4.5
3	18	6.9	8.8	118.84	22.7	9.3	8.4	170	24.4	5.81	8.8	8
4	17.8	7	8.7	202.5	22.9	8.6	8.4	141.5	24.8	5.5	8.9	6.6
5	18.6	7.2	8.6	161.44	23	8.3	8.3	220	24	4.98	8.6	4.36
6	18	7.2	8.7	105.09	24	8.3	8.5	143.4	24.1	5.1	8.8	8.59
7	17.9	7.1	8.5	135.6	22	7.5	8.4	18.05	24.1	5.84	8.7	4
8	18	7.1	8.5	128.94	23.3	7.6	8.4	0	23.7	5.64	8.8	0.41
9	18	7.1	8.5	149.13	23.4	7.5	8.4	35.52	24	5.01	8.8	2.5
10	18	7.1	8.4	112.37	23.8	7.2	8.4	21.94	24	5.45	8.7	88.8

2.6.3. Composición del fitoplancton del lago de Chapala durante los tres tiempos muestreados.

Un total de 60 especies fueron identificadas, el grupo de Cyanophyta (20 especies), seguidas por Chlorophyta (17 especies), Heterokontophyta (13 especies), Charophyta (5 especies), Euglenophyta (4 especies) y el grupo de menor porcentaje fue Dinophyta con (1 especie).

Así mismo se elaboró el siguiente listado donde se determinaron 60 especies, 38 géneros, 32 familias, distribuidas en 25 órdenes, 13 clases y 6 divisiones taxonómicas (anexo 1).

De acuerdo a su aparición estacional (cuadro 10), se encontraron 23 especies que aparecen en los tres muestreos, mientras que sólo 16 especies aparecen en dos muestreos y 21 sólo en un muestreo, que por lo general son en los meses de mayo y septiembre.

Cuadro 10. Especies de fitoplancton registradas en el Lago de Chapala y su aparición estacional enero, mayo y septiembre durante el año 2012.

	Enero	Mayo	Septiembre
Especies			
Closteriaceae			
<i>Closterium aciculare</i>	x	x	x
<i>Closterium acutum</i>		x	x
<i>Closterium diana</i>			x
Desmidiaceae			
<i>Staurastrum longiradiatum</i>	x	x	x
<i>Staurastrum sebalzii</i> var. <i>ornatum</i>	x	x	x
<i>Staurastrum sebalzii</i>	x	x	x
Botryococcaceae			
<i>Botryococcus braunii</i>	x	x	x
Trebouxiophyceae			
<i>Crucigenia quadrata</i>		x	
Chlorellaceae			
<i>Chlorella vulgaris</i>	x	x	x
<i>Botryosphaerella</i> sp.		x	
Oocystaceae			
<i>Oocystis lacustris</i>			x
Scenedesmaceae			
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	x	x	x
<i>Scenedesmus acuminatus</i>		x	
<i>Scenedesmus bijuga</i>		x	
Selenastraceae			
<i>Monoraphidium</i> sp.	x	x	x
<i>Kirchneriella obesa</i>			x
Treubariaceae			
<i>Treubaria</i> sp.		x	
Volvocaceae			
<i>Eudorina elegans</i>		x	x
Coccomyxaceae			
<i>Gloeocystis major</i>	x	x	x
Hydrodictyaceae			
<i>Pediastrum simplex</i>	x	x	x
<i>Pediastrum duplex</i>	x	x	x
Ulotrichaceae			
<i>Ulothrix</i> sp.			x

Merismopediaceae

<i>Aphanocapsa rivularis</i>		X	
<i>Merismopedia glauca</i>	X	X	X
<i>Synechocystis aquatilis</i>	X	X	X

Synechococcaceae

<i>Synechococcus</i> sp. 1.	X	X	X
<i>Synechococcus</i> sp. 2	X	X	

Microcystaceae

<i>Microcystis aeruginosa</i>	X	X	
<i>Microcystis flos aquae</i>	X	X	X
<i>Gloeocapsa aeruginosa</i>	X	X	X

Nostocaceae

<i>Aphanizomenon</i> sp. 1	X	X	X
<i>Anabaena flos aquae</i>	X	X	X
<i>Aphanizomenon flos aquae</i>	X	X	X
<i>Anabaena</i> sp.	X	X	X
<i>Anabaena solitaria</i>	X	X	
<i>Aphanizomenon</i> sp. 2		X	X
<i>Aphanizomenon</i> sp. 3			X

Oscillatoriaceae

<i>Lyngbya</i> sp. 1.	X	X	X
<i>Lyngbya</i> sp. 2.		X	
<i>Lyngbya</i> sp. 3.		X	X

Pseudanabaenaceae

<i>Leptolyngbya</i> sp.1	X	X	X
<i>Leptolyngbya frigida</i>		X	

Ceratiaceae

<i>Ceratium</i> sp.	X	X	X
---------------------	---	---	---

Euglenaceae

<i>Euglena ovum</i>		X	X
<i>Euglena gracilis</i>		X	X

Phacaceae

<i>Phacus pleuronectes</i>		X	X
<i>Phacus</i> sp.		X	

Aulacoseiraceae

<i>Aulacoseira granulata</i>		X	X
------------------------------	--	---	---

Botrydiopsisidaceae

<i>Botrydiopsis</i> sp.		X	X
-------------------------	--	---	---

Cymbellaceae

<i>Cymbella aspera</i>			X
------------------------	--	--	---

Surirellaceae

<i>Surirella</i> sp.			X
----------------------	--	--	---

Naviculaceae

<i>Navicula gracilis</i>	X	X
<i>Navicula sp.</i>		X
<i>Caloneis sp.</i>		X
Rhopalodiaceae		
<i>Epithemia sp.</i>	X	X
Pinnulariaceae		
<i>Pinnularia viridis</i>		X
Fragilariaceae		
<i>Fragilaria sp.</i>		
Mallomonadaceae		
<i>Mallomonas sp.</i>	X	X
Bacillariophyceae		
<i>Cyclotella meneghiniana</i>		X

Según su aparición vertical encontraron nueve especies que aparecieron en todos los sitios en al menos 1 muestreo, cinco especies que aparecieron en todos los sitios menos uno, 4 especies que aparecieron en sólo dos sitios, y cuatro que sólo aparecieron en un solo sitio (cuadro 11).

Cuadro 11. Especies de fitoplancton registradas en el Lago de Chapala y su aparición vertical en la columna de agua durante el año 2012. El * significa las veces que apareció en los muestreos.

Especies	Sitios																				
	1		2		3		4		5		6		7		8		9		10		
	s	p	s	p	s	p	s	p	s	p	s	P	s	P	s	p	s	p	s	p	
Closteriaceae																					
<i>Closterium aciculare</i>	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	
<i>Closterium acutum</i>	*							*					*								
<i>Closterium diana</i>		*										*		*					*	*	
Desmidiaceae																					
<i>Staurastrum longiradiatum</i>	**	**	**	**	**	*	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	*	**
<i>Staurastrum sebaldii</i> var. <i>ornatum</i>	*		*	*	**	*			*	*	*	**	*	*	*				*	*	
<i>Staurastrum sebaldii</i>	*		**	**	*	*		**	*	**	*	**	*	*		*	*	*	*	*	
Botryococcaceae																					
<i>Botryococcus braunii</i>	**	*	**	**	*	**	*	**	**	**	**	**	**	**	*	*	**	*	**	*	**
Trebouxiophyceae																					
<i>Crucigenia quadrata</i>						*				*											

Chlorellaceae																				
<i>Chlorella vulgaris</i>	**	*	**	**	*	**	**	*	**	**	*	**	*	**	*	**	**	**	*	*
<i>Botryosphaerella sp.</i>					*	*	*		*		*									
Oocystaceae																				
<i>Oocystis lacustris</i>		*		*	*	*		*	*	*	*	**	*	*	*	*	*	*	*	*
Scenedesmaceae																				
<i>Scenedesmus quadricauda</i>		*	**	*	*		*				*		*	*		*	*	*	*	*
<i>Scenedesmus acuminatus</i>			*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	**	**	**
<i>Scenedesmus bijuga</i>	**	*	*									*		*						*
Selenastraceae																				
<i>Monoraphidium sp.</i>	*	**	**	*		**	*		*	*	**	*	**	*	**	**	*	*	*	*
<i>Kirchneriella obesa</i>										*	*	*								
Treubariaceae																				
<i>Treubaria sp.</i>						*														
Volvocaceae																				
<i>Eudorina elegans</i>	*	**	*	*	*	*	**	**	**	**	**	*		**	**	*	**	*	**	*
Coccomyxaceae																				
<i>Gloeocystis major</i>	**	*	**	**		*		*	*	**	*		*					*	*	
Hydrodictyaceae																				
<i>Pediastrum simplex</i>		*	**	**	*		**	*	*	*	*		*	*						*
<i>Pediastrum duplex</i>	*	**	*	**	*	*	**	**	*	**	*	**	*	*	*	**	**	**	**	**
Ulotrichaceae																				
<i>Ulothrix sp.</i>	*	*										*								
Merismopediaceae																				
<i>Aphanocapsa rivularis</i>						*	*		*											
<i>Merismopedia glauca</i>	*	**	*	**		**	*	*	*		*	*	**	*	**	*	**	*	*	*
<i>Synechocystis aquatilis</i>	**	*	*		**	**	*	*	*	*	*	*	*	*	**	*	**	**	*	*
Synechococcaceae																				
<i>Synechococcus sp 1.</i>	*	**	**	**		*		*		*		*					*	**		
<i>Synechococcus sp 2</i>			*			*		*	*	*		*					*			
Microcystaceae																				
<i>Microcystis aeruginosa</i>		*	*	**	*			*		*		*		*	*	*	*	*	*	*
<i>Microcystis flos aquae</i>	**	**	**	**	*	**	**	**	**	**	**	**	**	**	*	*	*	*	*	**
<i>Gloeocapsa aeruginosa</i>	**	*	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
Nostocaceae																				

<i>Aphanizomenon sp 1</i>	*	*	*	*	**	*	**	*	**	**	*	*	*	*	*	*	**	**	**
<i>Anabaena flos aquae</i>	**	**	**	**	**	*	*	**	*	**	**	**	**	*	*	*	**	**	**
<i>Aphanizomenon flos aquae</i>	**	**	*		**	*	*		**	**	*	**	**	**	*	**	**	*	**
<i>Anabaena sp</i>	**	**	*	**	**	**	*	*		*	**	*	**	*	*	*	**	*	**
<i>Anabaena solitaria</i>	*	*	**						**	*	*		*	**					**
<i>Aphanizomenon sp. 2</i>	**	*	*	*	*	*	*	*	**	*	*	**	*	*	*	*	*	*	**
<i>Aphanizomenon sp. 3</i>	*			*				*			*	*							**
Oscillatoriaceae																			
<i>Lyngbya sp. 1.</i>	**	**	*	*	**	*	*	*	*	**	**	*	*	**	**	**	**	**	*
<i>Lyngbya sp. 2.</i>													*			*	**	*	
<i>Lyngbya sp. 3.</i>		*										*							
Pseudanabaenaceae																			
<i>Leptolyngbya sp.</i>	*	*	**		**	*	*		**	**	*		*	*	*	*	*	*	*
<i>Leptolyngbya sp.</i>						*	*	*		*	*								
Ceratiaceae																			
<i>Ceratium sp.</i>	**	**	*	**	**	*	**	*		*	**	**	*	*	**	**	*	*	**
Euglenaceae																			
<i>Euglena ovum</i>			*	*	*	*	*			*									*
<i>Euglena gracilis</i>				*			*						*	*	*				
Phacaceae																			
<i>Phacus pleuronectes</i>	*		*									*					*		*
<i>Phacus Dujardin</i>		*	*	*	*	*	**	*	*	**	**	*	*	*	*	**	*	*	*
Aulacoseiraceae																			
<i>Aulacoseira granulata</i>	*	**		*	*	*	*	*	**	**	*	*	**	**	*	**	**	*	*
Botrydiopsidaceae																			
<i>Botrydiopsis sp.</i>	*		*			*				*		*	*	**	*	*	*	*	*
Cymbellaceae																			
<i>Cymbella aspera</i>			*	*	*	*	*	*	*	**	*	**	*	**	**		**	*	*
Surirellaceae																			
<i>Surirella sp.</i>	*																		
Naviculaceae																			
<i>Navicula gracilis</i>																			*
<i>Navicula sp.</i>																*			
<i>Caloneis sp.</i>	**	*	*	*	*	*	*	*	*		**	*	*			*			*
Rhopalodiaceae																			
<i>Epithemia sp.</i>	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	**	**	**	*	**
Pinnulariaceae																			
<i>Pinnularia viridis</i>	*					*													
Fragilariaceae																			
<i>Fragilaria sp.</i>	*		*	*	*	*	*	*	*	**	*	*	*	*	*	*	**	*	*

Mallomonadaceae

Mallomonas sp.

** * *

Total por sitio	25	37	35	37	30	33	34	32	28	33	34	39	35	36	32	30	31	39	31	34
-----------------	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----

2.6.4. Variación espacial y temporal del fitoplancton con base en los índices ecológicos

2.6.4.1. Análisis de fitoplancton mediante estimadores de la riqueza curva especie-área

La curva de acumulación de especies observadas y esperadas (figura 3) mostraron valores que oscilaron entre 60 (Chao 1) y 62 (Chao 2), para Jackknife1 y 2, estimaron 64 especies, por lo que el esfuerzo de muestreo fue el adecuado.

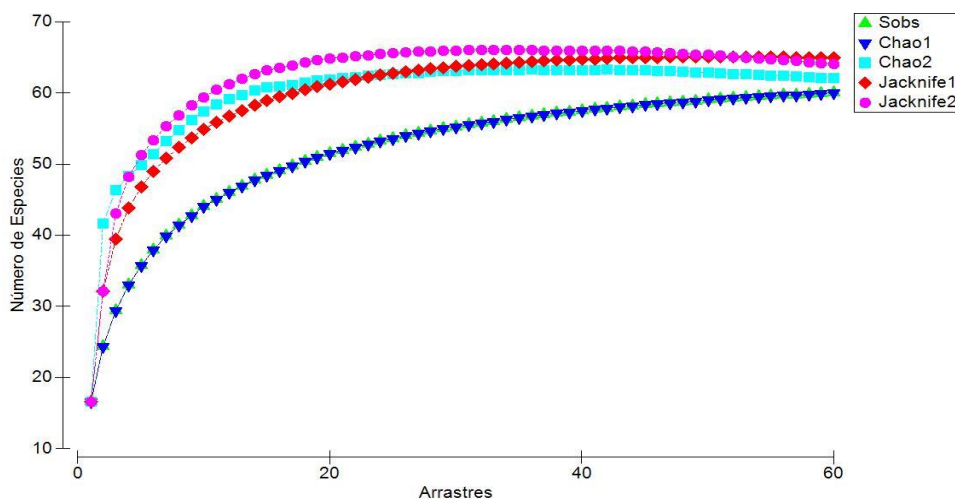


Figura 3. Curva de acumulación de especies observadas y esperadas.

2.6.4.2. Rareza de especies

La rareza de un organismo es la condición de ser infrecuente y puede presentarse como rareza de ocupación entre áreas ('range-size rarity') o bien como rareza de individuos dentro de un área. De las especies contabilizadas se encontró un singleton (1.6 %) *Treubaria* sp., encontrada en el mes de mayo en superficie en el sitio 4. Se identificaron siete doubletons (23 % de las especies muestreadas), la mayoría en el mes de mayo a 2 metros de profundidad, *Crucigenia quadrata*, *Surirella* sp., *Closterium diana*, *Aphanizomenon* sp., 3 pero en superficie. En el mes de septiembre se localizaron *Cymbella lanceolata*, *Cyclotella meneghiniana*, *Pinnularia viridis* esta última también en el mes de enero. De las especies únicas se encontraron cinco y duplicados seis.

2.6.4.3. *Análisis temporal de la dinámica del fitoplancton.*

Durante los tres muestreos, se registró para el mes de mayo la mayor cantidad de especies con un total de 54 (s) y riqueza (d) de 5.087, seguida por 44 especies en el mes de septiembre y riqueza de 4.420, siendo enero el mes que menos organismos registro, con un total de 27 y una riqueza de 2.483 (cuadro 12). La mayor diversidad (H') se encontró en el mes de enero con 1.797, así como la mayor equitatividad (J') 0.545 y teniendo la menor dominancia (λ) 0.301, seguido por el mes de septiembre cuya diversidad fue de 1.582, la equitatividad de 0.418 y la dominancia de 0.454. La menor una diversidad fue para el mes de mayo con 1.123 y la equitatividad de 0.281 y la mayor dominancia con 0.624.

Cuadro 12. Índices ecológicos de la comunidad de fitoplancton en las tres temporadas muestreadas del Lago de Chapala. s: número de especies, d: Riqueza (Margalef) J' Equitatividad Pielou, H': Diversidad de Shannon, λ : Dominancia (Simpson).

	s	d	J'	H'	λ
Enero	27	2.483	0.545	1.797	0.301
Mayo	54	5.087	0.281	1.123	0.624
Septiembre	44	4.420	0.418	1.582	0.454

2.6.4.4. *Análisis espacial de la dinámica del fitoplancton por sitio muestreado*

En los sitios de muestreo Frente Faro y Frente Lerma se registró el mayor número de especies con un total de 40 respectivamente. Así mismo en las localidades de San Cristobal y Jocotepec se presento la mayor riqueza de especies (4.33 y 4.36) respectivamente, esta última localidad también presento la mayor equitatividad (0.614) y diversidad (2.234), por otro lado el Centro Chapala fue el sitio con el menor numero de especies (34), menor equitatividad (0.334) y diversidad (1.177), sin embargo se observo la mayor dominancia de especies (0.592) (Cuadro 13).

Cuadro 13. Índices ecológicos de la comunidad microalgal de los diez sitios de muestreo del Lago de Chapala. S: número de especies, d: Riqueza (Margalef) J' Equitatividad Pielou, H': Diversidad de Shannon, λ : Dominancia (Simpson).

Sitios	s	d	J'	H'	λ
1 Jocotepec	38	4.333	0.614	2.234	0.169
2 San Cristobal	39	4.369	0.549	2.010	0.296
3 Centro Chapala	34	3.883	0.334	1.177	0.592
4 Ajijic	38	4.245	0.437	1.590	0.407
5 Isla Alacranes	35	3.743	0.459	1.631	0.345
6 Frente Faro	40	4.030	0.472	1.739	0.249
7 Zapotera	38	4.197	0.601	2.188	0.194
8 Ocotlán	35	3.526	0.437	1.552	0.304
9 Frente Lerma	40	4.159	0.502	1.853	0.263
10 Cojimatlán	37	4.274	0.531	1.919	0.312

2.6.4.5 Análisis vertical de la dinámica del fitoplancton por sitio muestreado

En el muestreo de superficie, el sitio 2 que corresponde a San Cristobal presento los valores más altos de los índices ecológicos en los meses de enero número de especies 16, la riqueza de 3.257, la equitatividad (0.963), diversidad de (2.669) y una dominancia de (0.933). Para el mes de mayo en el sitio 6 que corresponde a Frente Faro, obtuvo una cantidad superior de especies con 24, una riqueza de 4.994, la equitatividad 0.961, diversidad de 3.054 y una dominancia de 0.954, y para septiembre el sitio 9 que corresponden a Frente Lerma mostro el mayor número de especies obtuvo con un total de 21, riqueza de 4.343, dominancia 0.951 y diversidad de 2.943, equitatividad de 0.968 (Cuadro 14.)

Cuadro 14. Índices ecológicos de la comunidad microalgal de la zona superficial del Lago de Chapala en los meses de muestreo. S: número de especies, d: Riqueza (Margalef) J' Equitatividad Pielou, H': Diversidad de Shannon, λ : Dominancia (Simpson).

Sitio	Enero					Mayo					Septiembre				
	S	d	J'	H'	λ	S	d	J'	H'	λ	S	d	J'	H'	λ
1	12	2.389	0.952	2.366	0.902	15	3.040	0.980	2.654	0.936	16	3.257	0.959	2.660	0.929
2	16	3.257	0.963	2.669	0.933	16	3.257	0.951	2.637	0.926	19	3.909	0.966	2.845	0.944
3	9	1.737	0.977	2.146	0.886	16	3.257	0.961	2.664	0.931	17	3.474	0.976	2.765	0.941
4	13	2.606	0.945	2.424	0.908	22	4.560	0.961	2.970	0.949	15	3.040	0.964	2.612	0.927
5	11	2.171	0.939	2.253	0.890	14	2.823	0.939	2.478	0.907	15	3.040	0.970	2.628	0.931
6	13	2.606	0.913	2.341	0.888	24	4.994	0.961	3.054	0.954	13	2.606	0.975	2.501	0.922
7	11	2.171	0.937	2.247	0.886	18	3.692	0.972	2.810	0.943	19	3.909	0.969	2.852	0.946
8	10	1.954	0.913	2.103	0.863	19	3.909	0.957	2.819	0.938	19	3.909	0.971	2.860	0.947
9	14	2.823	0.920	2.427	0.902	18	3.692	0.948	2.741	0.933	21	4.343	0.967	2.943	0.951
10	6	1.086	0.986	1.767	0.833	17	3.474	0.956	2.707	0.932	18	3.692	0.974	2.814	0.945

En el muestreo a dos metros de profundidad, el sitio 2 San Cristobal también presento para el mes de enero el mayor número de especies 21 especies, riqueza de 4.343, diversidad de

2.954 y dominancia de 0.953, sin embargo la equitatividad de 0.970 no fue la más grande que se registro, para el mes de mayo en el sitio 1 Jocotepec obtuvo una cantidad superior de especies con 26, una diversidad de 5.429, diversidad de 3.207 y una dominancia de 0.967, equitatividad de 0.984, y para septiembre el sitio 7 Zapotera fue el que mayor cantidad de especies obtuvo con un total de 24, riqueza de 4.994, dominancia 0.957 y diversidad de 3.076, equitatividad de 0.968 (Cuadro 15).

Cuadro 15. Índices ecológicos de la comunidad microalgal a dos metros de profundidad del Lago de Chapala en los meses de muestreo. s; número de especies, d: Riqueza (Margalef) J' Equitatividad Pielou, H': Diversidad de Shannon, λ : Dominancia (Simpson).

Sitio	Enero					Mayo					Septiembre				
	s	d	J'	H'	λ	s	d	J'	H'	λ	s	d	J'	H'	λ
1	11	2.171	0.938	2.249	0.886	26	5.429	0.984	3.207	0.967	17	3.474	0.962	2.725	0.937
2	21	4.343	0.970	2.954	0.953	15	3.040	0.960	2.600	0.925	23	4.777	0.965	3.026	0.953
3	11	2.171	0.970	2.325	0.904	17	3.474	0.944	2.675	0.924	16	3.257	0.967	2.682	0.932
4	13	2.606	0.960	2.463	0.916	17	3.474	0.951	2.695	0.929	13	2.606	0.959	2.459	0.913
5	14	2.823	0.979	2.585	0.929	20	4.126	0.947	2.838	0.937	16	3.257	0.962	2.667	0.931
6	18	3.692	0.967	2.794	0.942	23	4.777	0.962	3.015	0.952	24	4.994	0.963	3.061	0.954
7	12	2.389	0.963	2.394	0.911	17	3.474	0.955	2.705	0.933	24	4.994	0.968	3.076	0.957
8	15	3.040	0.908	2.460	0.899	19	3.909	0.947	2.790	0.933	18	3.692	0.976	2.820	0.945
9	14	2.823	0.967	2.553	0.926	23	4.777	0.948	2.973	0.947	20	4.126	0.964	2.887	0.947
10	13	2.606	0.974	2.499	0.922	21	4.343	0.962	2.928	0.947	19	3.909	0.967	2.848	0.946

2.4. Variación espacial y temporal del fitoplancton en relación a los factores ambientales del lago de Chapala.

El análisis de escalamiento multidimensional, muestra una clara estratificación y separación del fitoplancton en dos grupos, el primero corresponde al fitoplancton presente en enero, que a su vez se subdivide en 2 subgrupos, los cuales corresponden a los niveles muestreados de profundidad de 0 y 2 m (figura 4), el segundo grupo es más homogéneo y corresponde al fitoplancton presente en los meses de mayo y septiembre, donde no se observa mucha separación entre ese grupo, eso se confirma con el análisis de clúster (figura 5) donde a un corte del 40 % se observan dos grupos, el primero con el muestreo de enero y el otro con los muestreos de mayo y septiembre.

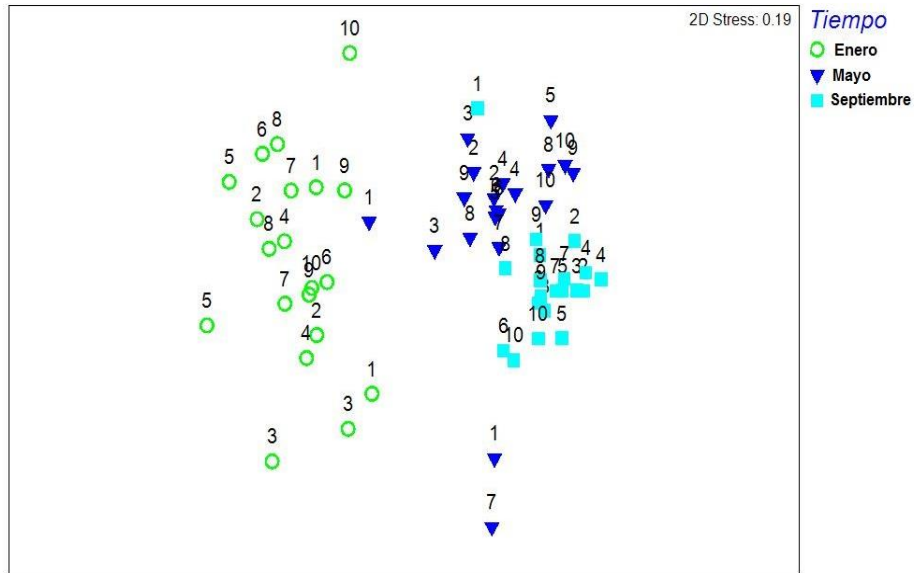


Figura 4. Análisis de escalamiento multidimensional (MDS)

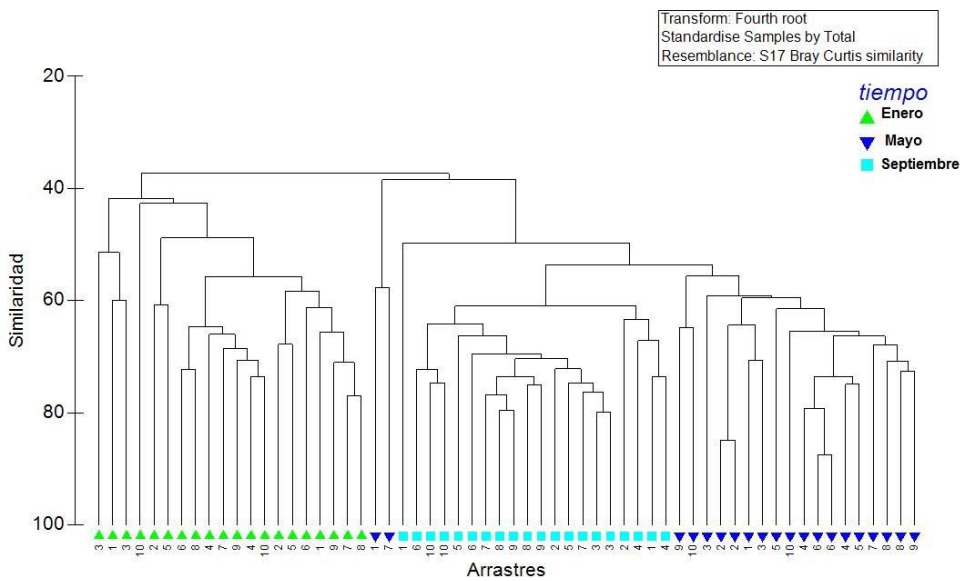


Figura 5. Análisis exploratorio de similitud (SIMPER)

Mediante un análisis de permanova de tres vías de factores cruzados (Cuadro 16.) se encontró que el tiempo, sitio y profundidad de muestreo afectan significativamente en el fitoplancton ($p \leq 0.05$), las interacciones de tiempo y sitio, así como el tiempo y la profundidad también influyen significativamente en la abundancia de las microalgas ($P \leq 0.05$).

Cuadro 16. Resultados del PERMANOVA de 3 vías de factores cruzados

Factores	g.l.	Sc	Sm	Pseudo-F	P(perm)	P(MC)
Tiempo	2	31651	15825	13.266	0.0001	0.0001
Sitio	9	11780	1308.9	2.101	0.0002	0.0003
Profundidad	1	2727.7	2727.7	4.1465	0.0036	0.0011
Tiempo x Sitio	18	21473	1192.9	1.9148	0.0001	0.0002
Tiempo x Profundidad	2	2847	1423.5	2.2849	0.0078	0.0105
Sitio x Profundidad	9	5920.5	657.83	1.0559	0.3787	0.3936
Residual	18	11214	623			
Total	59	87613				

Las microalgas que marcan la diferencia entre (enero y mayo) así como (enero y septiembre) son 4, *Synechocystis aquilitis*, *Lyngbya* sp. 1, *Aphanizomenon flos-aquae* y *Anabaena* sp., con una contribución acumulada por arriba del 30 %. El alga *S. aquilitis* es la que marca la diferencia de (enero contra mayo) y (enero contra septiembre), con un porcentaje de contribución de 10.77 y 10.44 respectivamente, seguida por *Lyngbya* sp1, con 10.32 y 8.42, *A. flos-aquae* con 6.3 y 5.8, siendo en menor cantidad *Anabaena* sp., con 5.03 y 4.99 % (Cuadro 17). En contraste en mayo contra septiembre, cambia la composición y contribución del fitoplancton, manteniéndose sólo *Lyngbya* sp. 1 e incorporándose clorofitas a las que mayormente contribuyen en la disimilitud. Para el caso de mayo contra septiembre el alga que da la diferencia entre estos dos grupos es *Ulothrix* sp., con una contribución de 6.16 %, seguida por *Lyngbya* sp. 2 con 5.81, y *Aphanizomenon* sp. 2 con 5.29 %, siendo la que menor contribución tiene en este grupo es *Aphanizomenon* sp. 1 con 3.68 % (Cuadro 17).

Cuadro 17. Disimilaridad de especies entre los meses muestreados

enero contra mayo		% de disimilaridad = 60.03		
	Enero	Mayo		
Especies	% Abundancia	% Abundancia	% Contrib	% Acum
<i>Synechocystis aquatilis</i>	14.05	1.4	10.77	10.77
<i>Lyngbya</i> sp. 1	3.98	15.15	10.32	21.09
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	7.99	1.02	6.3	27.4
<i>Anabaena</i> sp.	6.43	2.2	5.03	32.42
enero contra septiembre		% de disimilaridad = 64.47		
	Enero	Septiembre		
Especies	% Abundancia	% Abundancia	% Contrib	% Acum
<i>Synechocystis aquatilis</i>	14.05	0.93	10.44	10.44
<i>Lyngbya</i> sp. 1	3.98	14	8.42	18.87
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	7.99	1.49	5.8	24.66
<i>Anabaena</i> sp.	6.43	0.3	4.99	29.65
mayo contra septiembre		% de disimilaridad = 47.80		
	Mayo	Septiembre		
Especies	% Abundancia	% Abundancia	% Contrib	% Acum
<i>Ulothrix</i> sp.	0.62	6.32	6.16	6.16
<i>Lyngbya</i> sp. 2.	0.41	5.84	5.81	11.98
<i>Aphanizomenon</i> sp. 2	1.33	5.35	5.29	17.27
<i>Lyngbya</i> sp. 1	15.15	14	4.65	21.92
<i>Chlorella vulgaris</i>	3.35	3.02	3.76	25.68
<i>Aphanizomenon</i> sp. 1	4.25	1.98	3.68	29.36

De acuerdo al análisis de ordenación de Bray-Curtis hecho, con base en las asociaciones mediante las abundancias de las especies identificadas; en el Lago de Chapala, se pudieron observar distintos tipos de agrupaciones pertenecientes a mezclas de especies de los distintos grupos. Con este análisis se pudo constatar la presencia de 2 grupos formados por diferentes taxa filogenéticos que comparten características de éxito bajo diversas condiciones ambientales (figura 6). El grupo 1 estuvo representado por especies de cianofitas como *Synechocystis aquatilis*, *Aphanizomenon flos-aquae* (cuadro 17) estos grupos se presentaron con mayor abundancia en el mes mas frio de enero y las variable ambientales como transparencia, oxígeno, pH e irradiancia afectan la abundancia del fitoplancton permitiendo que abunden las especies con estrategias fisiológicas que las hacen tener éxito.

En el grupo 2 estuvo formado por una mezcla de cianofitas (*Anabaena* sp., *Lyngbya* sp. 1, *Gloeocapsa aeruginosa*,) y clorofitas (*Staurastrum longiradiatum*, *Aulacoseira granulata*, *Gloeocystis major* y *Eudorina elegans*) (cuadro 18) se encuentran los sitios con temperaturas más altas (23 a 25 °C), a su vez este grupo se subdivide en dos subgrupos.

El subgrupo **a** relacionado además con una mayor cantidad de oxígeno disuelto en el agua (principalmente al muestreo de mayo) y el otro (subgrupo **b**) relacionado con la una mayor velocidad del viento, además de la alta temperatura, correspondiente a los muestreos realizados en el mes de septiembre.

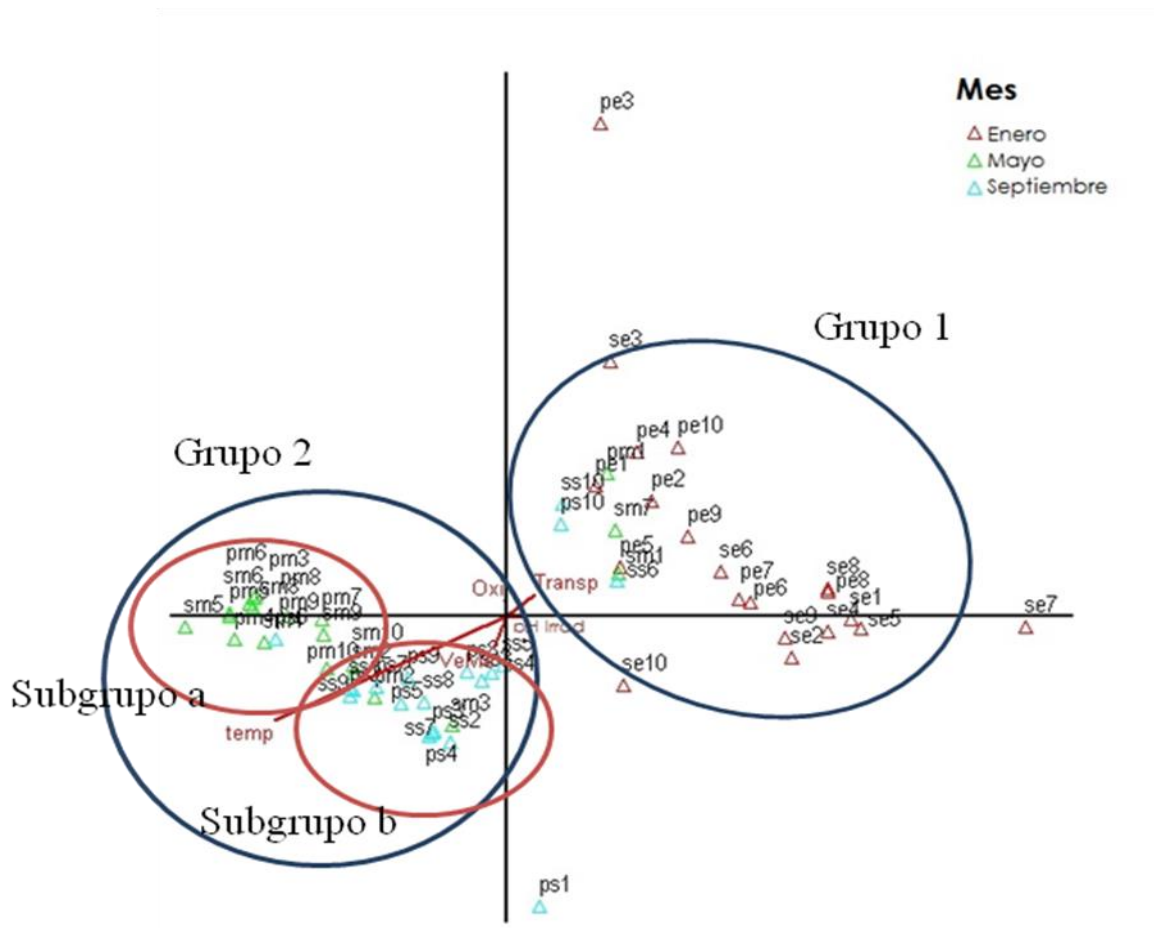


Figura 6. Ordenación de Bray-Curtis con sitios (Δ) el color indica el mes de muestreo, y variables del paisaje (—) en el Lago de Chapala. El orden de las letras significa (s) somero, (p) profundo, (e) enero, (m) marzo, (s) septiembre, y los números del 1-10 indican los sitios de muestreo.

Cuadro 18. Coeficientes de correlación entre especies y ejes de la ordenación de Bray-Curtis para los datos obtenidos

Especies	Eje 1	Eje 2	Eje 3
<i>Synechococcus</i> sp. 1.	-.023	.139	.460
<i>Aphanizomenon</i> sp. 1	.069	.032	.165
<i>Staurastrum longiradiatum</i>	-.406	-.179	-.050
<i>Synechocystis aquatilis</i>	.541	.034	.374
<i>Anabaena flos aquae</i>	.325	-.030	.248
<i>Ankistrodesmus</i> sp. 1	-.147	-.014	.158
<i>Ceratium</i> Schrank,	.286	.340	.119
<i>Microcystis aeruginosa</i>	.127	.255	.141
<i>Microcystis flos aquae</i>	.267	-.001	-.094
<i>Botryococcus braunii</i>	.372	.118	.302
<i>Anabaena solitaria</i>	.063	.068	.206
<i>Chlorella vulgaris</i>	.201	-.064	.096
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	.475	.080	.178
<i>Closterium aciculare</i>	-.360	-.023	.276
<i>Merismopedia glauca</i>	-.290	.050	.052
<i>Pediastrum simplex</i>	-.334	-.167	-.183
<i>Staurastrum sebalzii</i>	-.303	.011	.196
<i>Gloeocystis major</i>	-.362	-.450	-.240
<i>Synechococcus</i> sp. 2	.168	.051	.196
<i>Leptolyngbya</i> sp	.154	.513	.209
<i>Cymbella aspera</i>	-.211	.062	.076
<i>Fragilaria</i> sp.	.192	.129	.124
<i>Anabaena</i> sp.	.175	.472	.391
<i>Pediastrum duplex</i>	-.416	-.131	-.125
<i>Lyngbya</i> sp. 1.	-.854	-.257	-.067
<i>Gloeocapsa aeruginosa</i>	-.491	.045	-.146
<i>Staurastrum sebaldi</i> var. ornatum	-.299	.021	.066
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	-.299	-.100	.024
<i>Euglena ovum</i>	-.182	-.310	-.160
<i>Aulacoseira granulata</i>	-.471	-.195	-.193
<i>Botryosphaerella</i> sp.	-.348	-.004	.055
<i>Crucigenia quadrata</i>	-.245	.021	.061
<i>Aphanocapsa rivularis</i>	-.239	.001	.039
<i>Eudorina elegans</i>	-.590	-.213	-.120
<i>Leptolyngbya frigida</i>	-.354	-.017	.069
<i>Phacus</i> sp.	-.342	-.033	.026
<i>Treubaria</i> sp.	-.158	-.033	-.006
<i>Mallomonas</i> sp.	-.180	-.004	-.216
<i>Botrydiopsis</i> sp.	-.226	-.073	-.079
<i>Euglena gracilis</i>	-.285	-.092	.070
<i>Epithemia</i> sp.	-.293	-.221	-.194
<i>Scenedesmus acuminatus</i>	-.196	-.081	.054
<i>Navicula gracilis</i>	-.110	-.068	.005
<i>Aphanizomenon</i> sp. 2	.038	.093	-.128
<i>Phacus pleuronectes</i>	-.094	.054	-.086
<i>Scenedesmus bijuga</i>	.043	.131	.080
<i>Lyngbya</i> sp. 2	-.088	-.038	-.540
<i>Closterium acutum</i>	.030	.051	.032

<i>Cymbella lanceolata</i>	-.010	-.070	-.149
<i>Ulothrix</i> sp.	-.190	-.261	-.620
<i>Lyngbya</i> sp. 3.	.001	-.387	.043
<i>Navicula</i> sp.	-.024	-.366	.062
<i>kirchneriella obesa</i>	-.163	-.123	-.193
<i>Cyclotella meneghiniana</i>	-.082	.060	-.192
<i>Pinnularia viridis</i>	.071	.203	-.087
<i>Surirella</i> sp.	.065	.173	.065
<i>Closterium diana</i>	.065	.173	.065
<i>Aphanizomenon</i> sp. 3	.070	.104	.088
<i>Caloneis</i> sp.	.097	.198	.109
<i>Oocystis lacustris</i>	.086	.150	.104

La ordenación de Bray-Curtis realizada reveló la correlación que hay entre el fitoplancton y las variables fisicoquímicas que están determinando la distribución de las especies de microalgas. El primer eje de ordenación para el Lago de Chapala explicó el 59.21 % de la variación total, dice la variable que principalmente está definiendo la distribución del fitoplancton, el segundo 17.91 % y el tercero 11.25 %. La variación total acumulada y explicada por estos tres primeros ejes fue de 88.36 % (Cuadro 19).

Cuadro 19. Resultados de la ordenación de Bray-Curtis con variables físicas del medio y densidades de microalgas.

Variación explicada	Eje 1	Eje 2	Eje 3
% Extraído	59.21	17.91	11.25
% Acumulado	59.21	77.12	88.36

El primer eje de la ordenación correlacionó de manera positiva con transparencia, irradiancia, pH, y menor medida oxígeno, y en forma negativa con temperatura, velocidad del viento, y profundidad (Cuadro 20). El segundo eje correlacionó positivamente con el oxígeno y transparencia, de manera negativa con la temperatura y velocidad del viento, mientras que el tercero correlacionó positivamente con transparencia, oxígeno, velocidad del viento y profundidad, y de manera negativa con temperatura, pH e irradiancia.

Cuadro 20. Coeficientes de correlación entre variables ambientales y ejes de la ordenación de Bray-Curtis para los datos obtenidos.

Variable	Eje 1	Eje 2	Eje 3
T° C agua	-.744	-.515	-.659
Oxígeno	-.072	.200	.536
pH	.202	-.052	-.232
Irradiancia del agua	.165	-.020	-.063
Transparencia	.256	.232	.258
Profundidad	-.092	.020	-.132
Velocidad del viento	-.172	-.286	-.034

2.7. DISCUSIÓN

La composición de microalgas en un lago eutrófico esta conformada principalmente por el grupo de Cyanophitas, con algunas especies dominantes como *Microcystis*, *Aphanizomenon* y *Anabaena*, además de diatomeas como *Asterionella* sp., *Fragilaria* sp., *Synedra* sp., *Stephanodiscus* sp., acompañadas de otras cianobacterias y algas verdes en los periodos más calidos, desmidiaceas y eugleonoficeas, siempre y cuando haya abundante materia orgánica disuelta (Wetzel, 1981). Los grupos taxonómicos encontrados en el Lago de Chapala (cuadro 6 y 7), fueron similares a lo citado por Wetzel (1981). La riqueza específica del fitoplancton del Lago de Chapala (60 especies), es similar a la de otros lagos eutróficos (monomícticos) como Arancio y Rosamaría en Italia, donde se registraron 56 y 46 especies, respectivamente (Naselli-Flores y Barone, 2000). Resultados similares presentó el Lago Pampulha, Brasil, donde Figueredo y Giani (2001) identificaron 46 especies. Algunos lagos polimícticos con características de eutrofia además presentaron mayor riqueza de especies posiblemente debido a que se hicieron muestreos más continuos como es el caso del cuerpo de agua denominado Laguna Aeroclub, que registró un total de 137 especies, siendo la mayoría de la división Chlorophyta (47 especies), seguidas de la división Cyanophyta (21 especies) (Zalocar *et al.*, 1998).

En México, la riqueza específica es similar o superior o en algunos cuerpos de agua como el Lago Catemaco en Veracruz con 30 especies y 25 géneros, teniendo al grupo de Cyanophyta como el más dominante (Alvarado *et al.*, 2009). En el Lago Tezozomoc se determinaron 50 especies distribuidas en 26 géneros, las Chlorophyta fueron el grupo más abundante y con mayor número de especies (Martínez *et al.*, 2008), Lago de Tacámbaro donde 42 especies fueron determinadas y pertenecen a Chlorophyta (52 %), Bacillariophyta (26 %), Chrysophyta (2 %), Dinophyta (7 %) y Cyanophyta (12 %) siendo las Chlorophytas el grupo dominante (Hernández-Morales *et al.*, 2009), entre otros. Para Jalisco otros lagos de Jalisco, la riqueza esta es menor como en la laguna de Zapotlán con 97 especies, 20 familias y 40 géneros, dominando el grupo de Cyanophyta (Velasco-Navarro, 2004), la presa Elías González con 125 especies en 27 familias y 66 géneros, donde el grupo de las Chlorophytas fue el dominante (Campos Trujillo y Mora-Navarro, 2006) mientras que en la presa de La Vega, la riqueza fue similar a la del Lago de Chapala pues se contabilizaron un

total de 66 especies, 34 géneros y 19 familias donde el grupo dominante fue Chlorophyta (Mercado *et al.* 2006). Finalmente en un estudio previo realizado en el Lago de Chapala Mora-Navarro *et al.*, (2004) reporta 116 especies de fitoplancton, pues se muestrearon 16 sitios del lago, en cada sitio se obtuvieron seis muestras en total: tres durante 1996 (septiembre, octubre y diciembre: 1-48), dos durante 1997 (febrero y junio: 49-80), y una muestra durante 1998 (marzo: 81-96); el total de muestras fueron 96, lo que contribuyó a registrar una mayor riqueza, que en el presente estudio, donde sólo se muestreó un año en tres meses diferentes, con 10 estaciones, a dos niveles, y obteniendo 60 muestras en total.

Otro de los puntos importantes a tomar en cuenta en la diversidad, es la rareza de especies. Sin embargo, no todas las especies con rangos geográficos relativamente restringidos son localmente poco abundantes y viceversa (Williams *et al.*, 1997). Rabinowitz *et al.*, (1986), encontraron que las causas de la rareza ecológica de las especies dependen, al menos, de la combinación de tres factores: distribución geográfica, especificidad del hábitat y tamaño local de la población. Entre las 60 especies registradas en el Lago de Chapala, se encontró un singleton (1.6 %) y 7 doubletons (23 %), las cuales fueron encontradas casi en su totalidad en el mes de mayo y unas pocas en septiembre, cuando se obtuvo la mayor riqueza y número de especies, pero menor diversidad.

Los factores ambientales y físico-químicos más importantes en la presente investigación fueron la temperatura, transparencia, velocidad del viento, oxígeno, pH, irradiancia, y oxígeno disuelto los cuales correlacionaron con el eje 1 de la ordenación de Bray-Curtis. Es de resaltar que existen efectos combinados que ejercen influencia sobre la composición de las comunidades microalgales, en particular con la temperatura, la cual nos marca siempre 2 grupos, el que prefiere temperaturas bajas del muestreo de enero donde la especie más abundante fue *Synechocystis aqualitis*, y *Apahanizomenon flos-aquae* y el otro con temperaturas un poco más cálidas que a su vez se subdivide en dos más, por la influencia de la velocidad del viento y el oxígeno disuelto que corresponde a los muestreos de los meses de mayo y septiembre, donde la especies más abundantes para el mes de mayo fueron *Lyngbya* sp. 1, *Synechococcus* sp., y *Anabaena* sp., y para septiembre fueron *Lyngbya* sp. 1, *Lyngbya* sp. 2, *Closterium aciculare*, y *Ulothrix* sp.

Se encuentran algunas zonas que se separan como la estación tres a dos metros de profundidad del muestreo de enero (pe3), se diferencia porque fue la única que no reportó la especie *Staurastrum longiradiatum*, además de la baja abundancia de *Closterium aciculare*, que son especies que crecen en aguas con una mejor calidad y la más alta de *Leptolyngbya* sp., característica de las aguas eutrofizadas, además esta estación reporta la cantidad más baja de oxígeno disuelto a esa profundidad, la estación 3 del muestreo de enero (se3) en superficie, también se aleja un poco, esto se debe probablemente a que fue el único sitio donde se reportó *Synechococcus* sp. 1, el sitio siete en superficie del muestreo de enero (se7), se diferencia porque es el que tiene la mayor abundancia de *Staurastrum longiradiatum*, muy poca abundancia respecto de los otros sitios de *Anabaena* sp., y además del sitio 9 este tiene un sólo ejemplar de la especie *Staurastrum sebaldi* var. *Ornatum*, mientras que el sitio 10 del muestreo de enero (se10), se diferencia del resto del grupo porque registró la menor cantidad de especies encontradas, sólo una clorofita y cuatro cianofitas, reportándose además las abundancias más bajas de tres especies de cianofitas que son: *Aphanizomenon* sp. 1, *Synechocystis aquatilis*, y *Anabaena flos aquae*. Para el sitio 1 a dos metros de profundidad del mes de septiembre (ps1), se caracteriza por que tiene *Synechocystis aquatilis*, sólo en ese sitio y en el siete se registraron, siendo el sitio 1, quien tiene la mayor abundancia, esta especie sólo se había registrado como abundante para el muestreo de enero, por lo que es probable que por eso se haya localizado en los cuadrantes donde aparecen los sitios muestreados en enero, además es el único sitio donde no se encontraron *Aphanizomenon* sp. 2, *Lyngbya* sp. 2, especies muy características del muestreo de septiembre, que refuerzan los factores de sucesión ecológica, los cuales muestran ciclos de especies muy marcados anualmente. El sitio 10 a dos metros de profundidad del muestreo de septiembre, se encuentra muy asociado a los sitios muestreados en enero, esto debido tal vez a que de las 19 especies encontradas 12 están presentes en el muestreo de enero. En tanto que el grupo 2 se muestra más uniforme, puesto que los factores ambientales que predominan en ese grupo son más constantes.

En el año 2012, que fue muestreado para este trabajo, se observó que el mes con la menor cantidad de oxígeno disuelto fue el de septiembre en los dos niveles, con 5.85 y 5.48, se sabe que a mayor temperatura menor oxígeno disuelto (Mora *et al.*, 2011), las bajas concentraciones también son debidas a altas concentraciones de materia y nutrientes

orgánicos (NOM-001-ECOL-1996), lo que también pudo ser observado al ver que en ese mismo mes con la menor transparencia 30.5 cm, debido a la cantidad de sólidos suspendidos en el agua y también que al tener la menor profundidad registrada en el año, la columna de agua está más concentrada. La temperatura del agua está relacionada con la del aire, lo cual puede ser útil para estimar con cierta anticipación el riesgo de estratificación, (Alzieu, 1994), observando como en el mes de enero donde la temperatura promedio en la atmosfera fue de 19.04° C, influyendo en la temperatura promedio del agua la cual fue de 18.52 °C, y a 2 m fue de 17.98°C, la temperatura también fue un factor importante el comportamiento y diversidad de las especies de microalgas encontradas en los tres muestreos.

Así mismo se observa la conformación de tres grupos (figura 4 y 5) acordes a los tres muestreos, dos grandes grupos, uno tendiente a las bajas temperaturas y el otro a las temperaturas más altas, subdividiéndose en dos grupos, donde la velocidad del viento (cuadro 4) y la incorporación de nutrientes debido a las lluvias influye en esa conformación.

En lo que respecta a los sitios de muestreo, según los resultados del PERMANOVA de 3 vías, se obtuvieron diferencias significativas por tiempo, sitio y profundidad, que en cada muestreo se tomaban organismos de los mismos sitios, las temporadas de colecta se ven claramente marcadas tanto en las variables ambientales, como en las físico – químicas de la columna de agua y esto se refleja en los análisis de SIMPER y MDS, donde se muestra muy marcada la estacionalidad, formando los 3 grupos mencionados anteriormente.

Con respecto a cuales microalgas hacen la diferencia entre los meses muestreados, encontramos a las cianofitas como *Synechocystis aquatilis* que se asocia con valores de pH altos y bajas concentraciones de nitrógeno y fosforo (Odebrecht *et al.*, 2002), lamentablemente no se tomaron los valores de estos nutrientes y los datos que -proporciona CONAGUA, no cuenta con los registros para esos meses, sin embargo se tienen datos de pH donde se observa que en el mes de enero comparado con mayo, este es ligeramente más alto en ambos niveles teniendo 8.61 y 8.66 para el mes de enero y 8.38 y 8.38. Las cianofitas se caracterizan por fijar nitrógeno y encontrarse en estratos por arriba de las clorofitas, formando los llamados afloramientos, que generalmente son de este tipo de

microalgas, para disminuir su densidad, estas células acumulan vesículas de gas, lo que varía según el tamaño de la célula y el nivel de organización del organismo (Visser et al., 2005). Esto con el objetivo de mejorar la exposición a la luz y reducir la mortalidad por sedimentación.

La cualidad de las cianofitas de dominar el fitoplancton es gracias a su capacidad para explotar intensidades de luz muy bajas o altas desde 10-20 hasta mayores a $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Sommaruga *et al.*, 2008), optimizar la fotosíntesis mediante la flotación en la columna de agua, soportar amplios rangos de temperatura que van desde 0°C pasando por su rango óptimo de 25 a 30°C hasta mayores que esta como el caso de las termófilas (Vicent, 2000), por lo que encontramos diversas especies de este grupo de microalgas presentes en todo el lago y niveles de la columna de agua, presentando una sucesión ecológica, donde dependiendo de las condiciones ambientales predominantes en el ecosistema van cediendo su nicho ecológico a otras especies, marcando así la diferencia entre las cianofitas encontradas por estaciones y su dominancia sobre otros grupos de microalgas. Teniendo así para el caso de mayo contra septiembre que la diferencia la marca una microalga del grupo de las clorofitas *Ulothrix* sp., la cual se presenta con gran abundancia en este mes, sin aparecer en los anteriores.

2.8. CONCLUSIONES

- Se determinaron 60 especies de fitoplancton nativo en 10 sitios, en enero, mayo y septiembre del año 2012.
- El grupo predominante en la riqueza de especies fue el de las Cyanophytas con un 33.3 %, seguido por las Chlorophytas con 28.3 %, siendo el de menor riqueza el de los Dinophyta con 1.6 %.
- Respecto a la rareza de especies, se obtuvo 1 singleton y 7 doubletons, en los nuestros de mayo y septiembre.
- El Lago de Chapala al ser polimíctico se encuentra mezclado siempre, por lo que sus características físico-químicas no varían mucho a lo largo del año, a excepción de la temperatura, lo que hace que esto sea un factor influyente en la estructura de la comunidad fitoplanctónica. Debido a esto se encontraron 2 grupos asociados a la temperatura, uno para temperaturas templadas y otro para cálidas, que a su vez se subdivide en dos por la influencia del viento.
- Las especies que marcan la diferencia entre enero -mayo son *Synechocystis aquatilis* y entre mayo – septiembre es *Ulothrix* sp., la cual es muy abundante en el mes de septiembre.
- Existe una evidente periodicidad estacional o sucesión de la biomasa fitoplanctónica, a lo largo del año, la baja temperatura y menor cantidad de horas de luz presentes en el mes de enero, propician la baja riqueza y número de especies, mientras que en los meses de mayo y septiembre al cambiar estas condiciones aumenta considerablemente la cantidad de organismos del lago. Además, debido a que es un lago tropical tiende a ser más cálido, favoreciendo al desarrollo de las cianofitas, tornándose dominantes, sobre las otras especies.
- La cantidad de especies de Cianophyta y su abundancia en relación con el resto del fitoplancton identificado, indican una gran cantidad de nutrientes en el lago, condiciones de mala calidad del agua relacionada con una creciente tendencia a la eutrofización.
- El conocimiento de estas especies puede ser útil para aplicaciones tecnológicas, aprovechamiento en alimentos, medicina, biorremediación, entre otros, así como para la protección del ambiente en donde estas se encuentran, ya que sólo estamos

aprovechando un mínimo porcentaje de estas por la falta de estudios en torno la diversidad biológica.

CAPÍTULO: CONTENIDO DE LÍPIDOS Y PROTEÍNAS DEL FITOPLANCTON NATIVO AISLADO Y CULTIVADO DE UN LAGO POLIMICTICO TROPICAL.

3.1. INTRODUCCIÓN

Tradicionalmente, las algas microscópicas han sido cultivadas para diferentes fines, tales como en la acuicultura (Voltolina *et al.*, 2000) bioremediación, (Peyon *et al.*, 2003, Ferrera-Cerrato *et al.*, 2006; Andrade *et al.*, 2009; Rawat *et al.*, 2011) producción de lípidos (Cleber *et al.*, 2006; Stansell, 2011; Wang y Wang, 2011), proteínas (Alvarez y Gallardo, 1989, García-Cuadra *et al.*, 2012; Morris *et al.*, 2009), biocombustibles (Schenk, 2008, Griffiths y Harrison, 2009; Loera-Quezada y Olguín, 2010) y fármacos (Torres-Ariño, 2004, Morris *et al.*, 2009, Popowski *et al.*, 2001), entre otros. Por otra parte, se han utilizado condiciones naturales favorables para su desarrollo, por lo que se conocen lagos donde aparecen floraciones masivas temporales de especies beneficiosas para el hombre, explotándose el cultivo *in situ* (Andersen, 2005).

Las ventajas del cultivo de microalgas se pueden resumir en tres puntos según Cohen (1986):

1. El cultivo de microalgas es un sistema biológico eficiente en el aprovechamiento de la energía solar, para producir materia orgánica. Las microalgas crecen más rápido que las plantas terrestres y es posible obtener mayores rendimientos de biomasa.
2. La composición bioquímica pueden modificarse fácilmente variando las condiciones ambientales y/o la composición del medio de cultivo.
3. Bajo ciertas condiciones, algunas especies de microalgas pueden acumular en altas concentraciones compuestos de interés comercial, como proteínas, lípidos, almidón, glicerol, pigmentos naturales o biopolímeros.

Existen varios métodos de aislamiento, que dependen de las dimensiones de las microalgas, de su movilidad y morfología. Los más utilizados son el aislamiento con micropipeta, en placas de agar y con diluciones seriadas (Vega y Voltolina, 2007). En los cultivos de microalgas se plantea la problemática del empleo de cepas de microalgas que provienen de zonas templadas cuando son usadas en las zonas tropicales se requiere de una infraestructura con condiciones controladas donde la temperatura reviste una trascendental

importancia o adaptar a estas a las nuevas condiciones climáticas, lo que hace que se pierda tiempo, o hasta la cepa misma si no se logra la adaptación. Este factor para los acuicultores representa una considerable desventaja debido al incremento de costos de producción. Es por esto que el aislamiento de especies o variedades nativas representa una alternativa interesante para el desarrollo de la acuicultura regional y el aprovechamiento de los recursos ficológicos del estado (Reyes y Gelabert. 2008).

3.1.1. Cultivo de biomasa de algas

Las microalgas están adaptadas para recoger recursos de su ambiente, almacenarlos, o incrementar su eficiencia en su reutilización. Existen tres grandes condiciones de cultivo de las microalgas: fotoautótrofos, heterótrofos, mixotróficos. Las algas son capaces de crecer en un amplio rango de condiciones ya que se encuentran en cualquier zona del planeta: dentro de plantas acuáticas, sobre sustrato artificial como madera o botellas, en lagunas, ciénagas, pantanos, nieve, lagos de agua dulce o salina, sobre rocas, etc. Por lo que no es difícil encontrar zonas para cultivarlas. (Richmond, 1986, Andersen, 2005).

3.1.2. Sistemas de cultivos

Los cultivos tanto de microalgas, pueden dividirse con base en su volumen, así como en la renovación del medio de cultivo y cosecha. De esta manera se puede hablar de cultivos experimentales en volúmenes pequeños, que generalmente se realizan en tubos de ensaye; cultivos a mediana escala, que se efectúan en volúmenes medios (litros) y cultivos a gran escala a nivel de tanques. Otra forma de dividirlos es considerando la renovación del medio de cultivo y la cosecha; de esta manera Richmond (1986) divide los cultivos en: discontinuos, continuos y masivos.

3.1.3. Cultivos Discontinuos

Este es el método más común para el cultivo de células de microalgas. En un sistema de cultivo discontinuo simple, una cantidad limitada de medio de cultivo completo y el inóculo de algas se colocan en un recipiente de cultivo y se incuban en un entorno favorable para el crecimiento. Alguna forma de agitación, tal como agitación o impulsor de mezcla, es necesario para garantizar el intercambio de nutrientes y gases en la interfase célula-agua (Richmond, 1986).

3.1.4. Cultivos continuos

Un cultivo continuo es aquel en donde la cosecha y renovación de nutrientes es constante dependiendo de la tasa de división de la microalga. Lo anterior permitiendo teóricamente el crecimiento exponencial continuo del cultivo. Cuando se requiere de grandes cantidades de células a intervalos frecuentes para alimentar especies en cultivo (peces, crustáceos, moluscos), los cultivos continuos proveen un gran número con mayor consistencia en forma uniforme y constante. En estos cultivos es importante determinar la concentración óptima de los nutrientes por unidad de tiempo en relación a la tasa de dilución o cosecha del cultivo. Cuando se establece el estadio de equilibrio del sistema, la producción es máxima (FAO, 1989 y Romo, 2002)

3.1.5. Cultivo masivo

Se considera cultivo masivo a aquellos que se utilizan como alimento vivo de peces crustáceos y moluscos y cuya producción es a gran escala en tanques u otros recipientes de volumen no controlado.

Existen muchas alternativas para la producción de microalgas en cultivo masivo, desde la utilización de tanques de plástico, madera, concreto hasta los estanques rústicos, así como la utilización de fertilizantes minerales de tipo agrícola hasta una gran variedad de excretas de ganado como fuentes de nutrientes (FAO, 1989).

Actualmente, la producción comercial de microalgas que se cultivan a gran escala en estanques abierto es poca, debido a que la mayoría de microalgas no se pueden mantener el tiempo suficiente en sistemas abiertos al aire libre, debido al riesgo de contaminación por hongos, bacterias y protozoos, además la competencia por otras especies de microalgas que tienden a dominar las especies originales utilizadas como inóculo; aunque existe otras opciones como los fotobiorreactores que ofrecen un ambiente de cultivo cerrado, protegido de la lluvia directa, relativamente a salvo de la invasión de microorganismos competidores, y donde las condiciones están mejor controlados para asegurar la dominación de las especies deseadas (Richmond, 2004).

3.1.6. Condiciones de cultivo

Para el mantenimiento de un cultivo, es importante que la sala o el ambiente en el cual se mantienen estos estén en condiciones adecuadas para garantizar tal disponibilidad, por lo que hay que tener en cuenta los siguientes aspectos.

Iluminación: Para el mantenimiento de las cepas, es recomendable utilizar luz artificial, ya que es posible controlarla de acuerdo a las necesidades del cultivo. La intensidad luminosa que se utiliza puede variar con el volumen, densidad del cultivo y con la especie. Las lámparas fluorescentes más utilizadas son del tipo luz blanca fría de 40 W, aunque también se pueden emplear lámparas “day-light”, “warm-white” o “Gro-lux” (Abalde *et al.*, 1995). El fotoperíodo es un factor que regula la división celular, en diatomeas, la reproducción asexual (división) ocurre durante el período de luz y éste es acelerado bajo iluminación continua. En contraste las especies formadoras de auxosporas (ésporas sexuales), dan lugar a células del mismo tamaño y esto ocurre en el período de oscuridad. Por lo tanto, el período de iluminación puede ajustarse de acuerdo a los objetivos del cultivo: el fotoperíodo continuo (horas de iluminación prolongada) produce crecimientos rápidos, un fotoperíodo con horas de luz y oscuridad semejante al fotoperíodo solar mantiene un crecimiento normal y saludable (FAO, 1989).

Temperatura: Para el mantenimiento de las cepas es recomendable mantener temperaturas de 18-22 °C, aunque se pueden usar temperaturas menores para disminuir la frecuencia de las diluciones de mantenimiento. Para fines de reproducción, los cultivos se mantienen a la temperatura más conveniente para acelerar la tasa de crecimiento, la cual depende de los límites de tolerancia de cada especie. Es necesario recordar que el sistema de alumbrado es también una fuente de calor, por lo cual las salas que se usan para el mantenimiento de cepas deben considerar la necesidad de un sistema confiable de control térmico, con un sistema adicional de seguridad (Richmond, 2004).

Aireación y agitación: En cultivos de volúmenes pequeños (1-2 L) no es necesaria aireación, una agitación manual diaria es suficiente. En cultivos a mayor escala, la aireación debe ser leve durante la fase inicial de crecimiento (hasta 1-2 días después de la inoculación) que puede ser aumentada, dependiendo de la sensibilidad de la especie, cuando aumenta la concentración del cultivo con esto se logra una dispersión efectiva de

los nutrientes, se mejora la disponibilidad de luz para las células y se aporta CO₂ ayudando a estabilizar el cultivo (Richmond, 2004).

Condiciones que afectan la producción de lípidos y proteínas.

La producción de lípidos en las microalgas, depende principalmente de la especie y en última instancia de su constitución genética y es afectada por diversas condiciones físicas y químicas de cultivo, tales como la fase de crecimiento, la disponibilidad y la clase de nutrientes, la salinidad, el tipo, periodos e intensidad de luz, la temperatura, el pH, e incluso, la asociación con otros microorganismos. La limitación de Nitrógeno es considerada como la estrategia más eficiente para incrementar el contenido de lípidos neutros en las microalgas, en particular el de triglicéridos conformados por ácidos grasos con un elevado grado de saturación. Respuestas similares son inducidas por la deficiencia de fósforo y azufre. Asimismo, la disponibilidad de Hierro (+3) influye en el contenido oleaginoso, aunque el mecanismo se desconoce. Sin embargo, el comportamiento de las microalgas ante la restricción de nutrientes es considerablemente variable y por lo tanto, no es posible establecer una tendencia generalizada entre las especies microalgales (Cohen, 1986, Garibay *et al.*, 2009; Gouveia y Oliveira, 2009; Rodolfi *et al.*, 2009)

Todas las algas y en especial las microalgas, contienen una o más de las diferentes variedades de clorofila, las cuales forman comúnmente un complejo con proteínas in vivo. Los distintos complejos proteína-clorofila exhiben varios espectros de absorción dependiendo del tipo de proteína así como de la clorofila (Abalde *et al.*, 1995). Diversos nutrientes tienen un marcado efecto sobre la formación de clorofilas en las microalgas. Deficiencias en hierro, nitrógeno y magnesio inhiben su síntesis y acumulación. Así como también la abundancia de carbono orgánico en el medio de cultivo y la alta intensidad luminosa (Becker, 1995).

3.1.7. Recuperación de biomasa de microalgas

Las microalgas tienen un rápido aumento en su masa celular en 24 horas y alcanzan una fase exponencial cerca de 3.5 h alcanzando contenidos en aceite aproximadamente mayores al 80 % en peso en base seca (Chisti, 2007). Las principales técnicas aplicadas actualmente en la recolección de microalgas incluyen la centrifugación, floculación, filtración y cribado, sedimentación por gravedad, flotación, y las técnicas de electroforesis. El costo de la

recolección de algas puede ser alto, ya que las fracciones de masa en caldo de cultivo son generalmente bajas, La selección de la técnica de la cosecha depende de las propiedades de las microalgas, como la densidad, el tamaño y el valor de los productos deseados (Belarbi y Chisti, 2000; Jena *et al.*, 2011) . En la obtención de biomasa, son usados generalmente la centrifugación, filtración, sedimentación y floculación, dependiendo del diámetro de partícula de las células de alga que oscila entre 3 y 30 μm (Richmond, 1986; Andersen, 2005; Brennan y Owende, 2010).

3.1.8. Procesamiento de la biomasa de fitoplancton y recuperación de metabolitos.

La pasta obtenida de la cosecha de la microalga se somete a un proceso de extracción de metabolitos vía lisis celular o con solvente de los ácidos grasos en el interior del alga. Comúnmente se utilizan técnicas de ruptura celular con homogenizadores de alta presión o lisis alcalina, acida o enzimática, o técnicas de extracción con solvente utilizando hexano, etanol, dimetil éter, cloroformo y fluidos supercríticos. La ruptura celular por lo general es necesaria para recuperar productos intracelulares del alga. Existen variadas técnicas desarrolladas para romper células de organismos no fotosintéticos que son aplicables al fitoplancton. La extracción con solvente ha sido ampliamente utilizada para extraer metabolitos como β -caroteno y ácidos grasos esenciales como EPA, DHA, ácido α -linolenico, ácido araquidonico entre otros utilizando como solventes hexano, etanol, dimetil éter y cloroformo (Herrero e Ibañez, 2006; El Hattab *et al.*, 2007; Lee, *et al.*, 2010).

3.1.9. Aplicaciones biotecnológicas de las especies aisladas

En el cuadro 21 se muestra a las microalgas aisladas del Lago de Chapala y el potencial biotecnológico de las especies ya establecido por otros autores.

Cuadro 21. Aplicaciones biotecnológicas de las microalgas aisladas.

Especie	Potencial biotecnologico	Referencia bibliografica
<i>Chlorella vulgaris</i>	Obtención de proteínas, luteína, e inmunonutrición, obtención de lípidos de cadena larga, biorremediación	Yongmanitchai & Ward, 1991; Bich <i>et al.</i> , 1999; Clever <i>et al.</i> , 2006 ; Morris <i>et al.</i> , 2006; Chader <i>et al.</i> , 2011
<i>Scenedesmus</i> sp.	Alimento vivo en acuicultura, biorremediación de aguas residuales y obtención de lípidos	Richmond, 1986; Gladue & Maxey, 1994; Abalde <i>et al.</i> , 1995; González <i>et al.</i> , 1997; Ördög <i>et al.</i> , 2004; Chisti, 2007; Badwy <i>et al.</i> , 2008
<i>Monoraphidium tortile</i>	Producción de biodiesel Alimento en acuicultura	Bogen <i>et al.</i> , 2013, Zarbulin <i>et al.</i> , 2010
<i>Trichodesmium</i> sp.	Fijadora de nitrógeno	Mayz-Figueroa, 2004
<i>Pseudonabaena</i> sp.	Fuente potencial de pigmentos ficocianina, clorofila a y carotenoides, exopolisacáridos, ficobiliproteínas protegen contra el daño hepático y el estrés oxidativo ocasionado por el Hg ²⁺ , Fertilizante, Biohidrógeno	Moreno <i>et al.</i> , 1998; Leal <i>et al.</i> , 2001; Moreno <i>et al.</i> , 2003; Gallardo <i>et al.</i> , 2010; García, 2011
<i>Leptolyngbya</i> sp.	Producción de exopolisacáridos	Bellezza <i>et al.</i> , 2003
<i>Planktolyngya</i> sp.	Producción biocombustibles	Chinnasamy, 2010
<i>Phormidium</i> sp.	Producción de antibióticos, de clorofila a, ficocianina y proteínas	Torres-Ariño; 2004; Jonte, <i>et al.</i> , 2003

3.2. ANTECEDENTES

Quin 2008 y Bitog *et al.*, 2009 señalan que las microalgas son de gran importancia comercial, por su capacidad de producir compuestos de interés como materia prima para la fabricación de biodiesel, son una fuente de pigmentos (astaxantina y β -caroteno), luteína, cantaxantina y clorofila, teniendo a su favor que no compiten con tierras de cultivo y se pueden producir con diferentes fuentes de nutrientes que contienen las aguas residuales y fertilizantes agrícolas.

Lo que deriva en un gran potencial de explotación para el aprovechamiento del fitoplancton presente en los cuerpos de agua continentales. Como se ha venido haciendo ya en el Lago de Catemaco en Veracruz, donde se han purificado cepas para estudiar su potencial biotecnológico (Garduño-Solórzano *et al.*, 2011). En la laguna de Términos en Campeche, se han aislado y caracterizado microalgas nativas de esa zona, logrando mantener varias especies y conocer el efecto de distintas condiciones fisicoquímicas, nutricionales y bioquímicas para determinar los límites de tolerancia de cada uno de los factores a los que han sido sometidas.

Así mismo, se han experimentado cultivos con base en fertilizantes para disminuir costos de producción, aprovechando la capacidad de absorción de nutrientes que tienen las microalgas. Nieves-Soto *et al.*, (1994), realizó una investigación con *Monoraphidium* sp., utilizando cuatro medios de cultivo con base en fertilizantes agrícolas observando que éstos últimos tienen un desempeño semejante a los medios de cultivo estándar (medio F/2). Valenzuela-Espinoza *et al.*, (2005) cultivaron la microalgas marina *Rhodomonas* sp., con fertilizantes agrícolas y a semejanza de Nieves-Soto *et al.*, (1994) obtuvieron resultados competitivos con los medios estándares. Por otra parte Piña *et al.*, (2007), realizaron un experimento con *Chaetoceros muelleri*, *Thalassiosira weissflogii*, *Isochrysis* sp., y *Tetraselmis suecica*, utilizando dos tipos de fertilizantes como medio para su crecimiento donde obtuvieron concentraciones mayores o iguales de biomasa según la especie, pero mayor cantidad de proteínas que con los medios convencionales. Así mismo Ortega-Salas y Reyes-Bustamante (2012) trabajaron con tres especies de agua dulce *Kirchneriella obesa*, *Scenedesmus quadricauda* y *Chlorococcum infusorium*, las cuales fueron cultivadas con tres medios de cultivos también con base en fertilizantes con resultados similares al medio convencional contrastante.

3.3. OBJETIVOS

- Aislar y cultivar especies de fitoplancton nativo en medios sólido y líquido, para la obtención de biomasa necesaria en un análisis químico aproximado.
- Determinar la proporción de lípidos totales, proteínas, cenizas y humedad de las especies aisladas y cultivadas.

3.4. MATERIALES Y MÉTODOS.

Todos los procedimientos para el cultivo de microalgas se muestran en el diagrama general de trabajo (figura 7) se llevaron a cabo en la unidad de cultivos de apoyo y de organismo acuáticos del Laboratorio de Ecosistemas Marinos y Acuicultura (LEMA) del Departamento de Ecología del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Guadalajara.

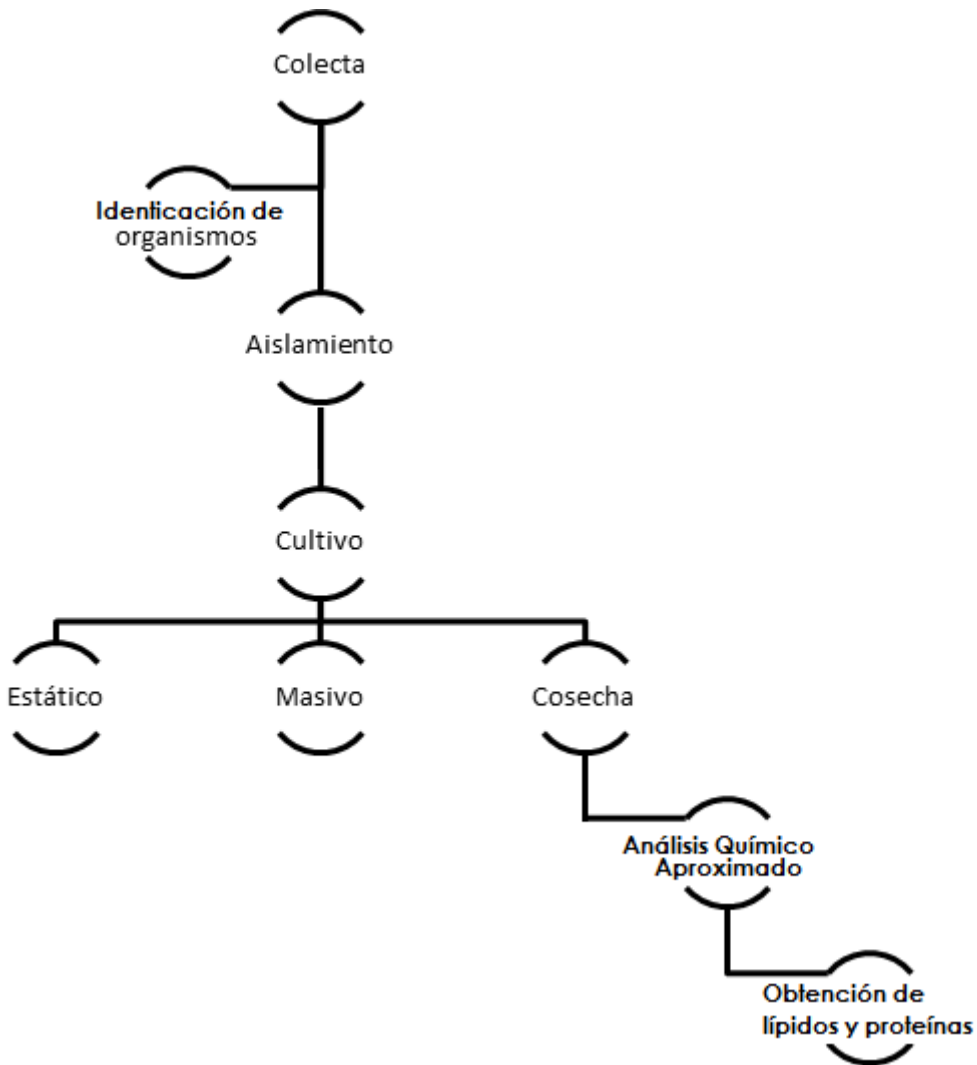


Figura 7. Esquema general de trabajo.

3.4.1. Aislamiento

Para esta etapa se considero el fitoplancton colectado de cada sitio, nivel y mes de muestreo, con un total de 60 frascos de un litro de capacidad, como se describe en el inciso 2.5.1 de materiales y métodos del capítulo: COMPOSICIÓN Y ESTRUCTURA COMUNITARIA DEL FITOPLACTON NATIVO DE UN LAGO POLIMICTICO TROPICAL (LAGO DE CHAPALA). El aislamiento de las cepas se llevó a cabo por la combinación de dos métodos: diluciones sucesivas o seriadas y aislamiento en placas.

El método de las diluciones fue el primero en aplicarse. Para este método de dilución seriada (Andersen, 2005), se tomó 1 mL de muestra, diluyendo en tubos de vidrio 13 x 100 mm con tapón de baquelita de 15 mL con 9 ml de medio de cultivo F/2 (Guillard, 1975) haciendo 5 diluciones por muestra, (1×10^1 , 1×10^2 , 1×10^3 , 1×10^4 y 1×10^5), con el fin de que las microalgas más abundantes se vayan aislando de las menos abundantes y tener en algún un cultivo axénico (figura 8).

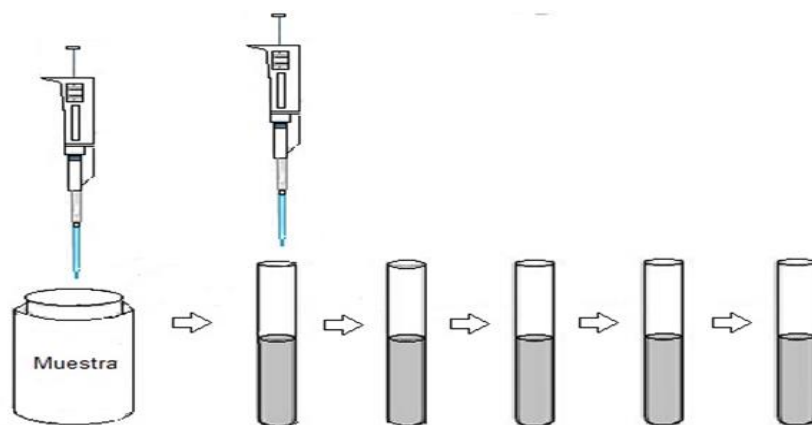


Figura 8. Técnica de aislamiento por diluciones seriadas.

Una vez que apareció coloración en los tubos se seleccionaron aquellos cuya muestra estaba más diluida, convirtiéndose en puntos de partida para la aplicación del aislamiento en placas. A la par de las diluciones se hizo también aislamiento en placas de agar-agar (Richmond, 1986; Andersen, 2005) enriquecidas con medio F/2 (Guillard, 1975), Zarrouk (Vonshak *et al.*, 1982) y Bristol (Bold, 1949) con F/2 en proporción de 1 mL por litro. Para esta técnica se tomó 1mL de muestra y se agregó sobre el agar, cuando aparecieron las

colonias (aproximadamente de 8 a 10 días) se tomó una muestra de cada colonia diferente y se sembró mediante la técnica de rayado en estrías en una caja de Petri con agar-agar a razón de 17 gr/L, para asegurar el aislamiento y purificación del cultivo, una vez aislado se vuelve a tomar muestra de la caja de Petri y se lleva a medios líquidos para su cultivo (figura 9).

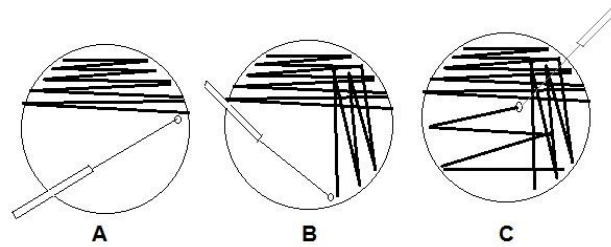


Figura 9. Técnica de aislamiento por estrías.

3.4.2. Medios de cultivo

Los medios de cultivo utilizados en este trabajo fueron: Zarrouk (Vonshak *et al.*, 1982), F/2 (Guillard, 1975), Bristol (Bold, 1982), CHU10 (Chu, 1942), CHU 13 (Chu, 1942) y el RM6 de Raouf *et al.*, (2006) modificado por Ochoa *et al.*, (2011) y designado como OSJ. Los medios Zarrouk, Bristol, Chu10 y OSJ, fueron formulados con sales de fertilizantes agrícolas empresa Fertecza y Cámara Suárez (ubicadas en Jalisco), en lugar de sales de grado técnico para abatir costos (ver anexo 2). En el caso del medio de cultivo Bristol se elaboró un concentrado de un litro para la producción de 100 L conforme se fue necesitando, esto agilizaba el llevar a cultivo masivo (2 a 18 L) y el mantenimiento de las microalgas aisladas.

3.4.3. Evaluación experimental del crecimiento de microalgas.

El crecimiento se determinó mediante densidad óptica a 565 nm utilizando un espectrofotómetro Hach DR2010, monitoreando cada cultivo de 24 a 48 horas, con muestras por triplicado de cada medio y especie.

3.4.4. Descripción de las condiciones en que se mantuvieron los cultivos

Para evaluar el crecimiento de las microalgas se identificó y formuló un medio de cultivo adecuado a los requerimientos de nutrientes y minerales necesarios para su desarrollo

basados en la literatura. Los métodos y etapas de crecimiento, recolección y extracción de metabolitos de biomasa se describen a continuación.

3.4.5. Los cultivos estáticos escalonados

Consistió en iniciar con pequeños volúmenes, en tubos de ensayo de 13 por 100 con 4 mL de medio y uno de muestra, posteriormente se pasaron a matraces de 125 mL, con 50 mL de medio y 5 mL de muestra, para luego pasarlos a matraces de 500 mL con 400 mL de medio y 100 de muestra, luego en matraces frenbach con 1.5 L de medio y 500 mL de muestra, pasando luego a garrafones con 4 litros de medio y 1 litro de muestra, agregando medio periódicamente hasta alcanzar un volumen de 18 litros.

Los cultivos de 50 hasta 150 mL permanecieron en agitación constante durante 24 h, los volúmenes de 500 mL a dos litros se agitaron de manera manual dos veces por día y a partir de cinco litros hasta los biorreactores (Carboy de 20 L) la agitación fue mediante aireación constante hasta su cosecha. Se procuró mantener la temperatura ambiental entre 25 y 28 °C. La iluminación de los cultivos fue constante durante las 24 h del día a una intensidad aproximada de $45 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

3.4.6. Establecimiento del medio más adecuado para la reproducción masiva

Buscando el más eficiente para la producción masiva de las microalgas seleccionadas, utilizando los siguientes criterios:

- Primer criterio para la selección del medio de cultivo fue que crecieran en placas (medios de cultivo sólidos), con base en ese criterio se pasaron a medios de cultivo líquidos.
- El segundo criterio fue que crecieran en los medios de cultivo líquidos que se consideraban los apropiados para su crecimiento con base en la literatura.
- Para el tercer criterio se tomó en cuenta que sobrevivieran en medios líquidos creciendo sólo *Phormidium* sp., *Leptolyngbya* sp., y *Chlorella vulgaris*, por esto se trabajó sólo con estas especies.
- En el cuarto criterio se observó si se adaptaban a las condiciones de laboratorio, puesto algunas lograban sobrevivir a los medios de cultivo sólidos y líquidos, pero cuando se sometían a crecimientos masivos, el cultivo decaía.

- Por último el quinto criterio fue el costo, donde se consideró que los medios de cultivo más económicos fueron CHU10 y OSJ, por la naturaleza de las sales utilizadas, pues estos últimos medios estaban elaborados con sales de grado comercial (fertilizantes).

3.4.7. Selección de cepas para su cultivo.

De 15 especies aisladas sólo se utilizaron 10 cepas considerando los siguientes criterios; adaptación a las condiciones de laboratorio, producción de biomasa contenido de lípidos y proteínas, tiempo para procesar dichas microalgas ya que algunas fueron aisladas hacia el final de la fase de experimentación pero no lograron desarrollarse en cultivos masivos.

3.4.8. Cosecha.

Las muestras se colectaron de cultivos masivos en biorreactores de 18 L cosechado en su fase exponencial. Se filtraron de 2 a 10 L, utilizando filtros Whatman GFC de 25 mm de diámetro en un sistema de embudos con bomba de vacío. La biomasa se extrajo del filtro colocándola en tubos Eppendorf® de 1.5 mL de 2 mL congelándose a -20 °C para posteriormente realizar los análisis químicos proximales.

3.4.9. Análisis químico aproximado (AQA)

a) Determinación de Proteínas.

La cuantificación de las proteínas se realizó de acuerdo al método de Bradford (1976). Se pesaron 50 mg de biomasa en tubos Eppendorf de 2 mL; agregándose 500µl de NaOH 0.1N como buffer. Posteriormente se homogenizó en un Ultraturrax (ultrahomogenizador) durante 3 minutos a 10,000 rpm. Se utilizó el protocolo estándar sugerido por la marca BIO-RAD para determinar las concentraciones de las proteínas en un rango de 20-150 µg de proteína, se realizaron 2 muestras madre, para hacer 5 repeticiones de cada una con 5 µL de muestra en microplacas y se añadieron 250 µL de colorante Azul Brillante de Coomassie G-250 a cada uno, las muestras se leyeron en un Elisómetro THERMO Multiskan Ascent para su lectura con un filtro de 595 nanómetros, el programa del elisómetro muestra resultados mediante una correlación la cantidad de proteína conocida y su valor de absorbancia, se calcula mediante el valor de absorbancia de las muestras para saber la cantidad de proteína presente en esta.

b) Determinación de Lípidos.

Los lípidos se extrajeron mediante la técnica de Folch (1957). Se pesaron 150 µg de biomasa algal, en tubos de 13 x 100 con tapón de baquelita en una balanza analítica (Sartorius capacidad de 250g y precisión de 0.0001g), agregando 5 mL de solución Cloroformo-Metanol (C:M) 2:1 con BHT (Butil hidroxitolueno) al 0.01 % (C:M BHT), posteriormente fueron homogenizados con un Ultraturrax a 20,000 rpm durante 4 min, enjuagando la cuchilla del ultrahomogenizador con 5 mL de C:M, a este homogenizado se agregaron 2 mL de KCl al 0.88 % y fue centrifugado a 2000 rpm en una centrifuga (marca Hermle Z233 Mk-2) durante 6 min. Se obtuvieron 2 fases, la superior es eliminada y la inferior es extraída con una pipeta de vástago largo, se filtró con papel secante empapado con cloroformo y cloruro de potasio (KCl) en polvo (para secuestrar el exceso de agua en el extracto) a tubos de vidrio de 13 x 100 mm previamente etiquetados y pesados. Se dejaron en reposo por 24 h en el congelador a una temperatura de -4 °C. El extracto fue sumergido a baño maría (34°C) y se evaporó a sequedad con nitrógeno. Los tubos con lípidos fueron transferidos a un desecador con sílica gel por 1.5 h para eliminar la humedad y posteriormente fueron pesados y cuantificados respecto a la muestra obtenida. Se hicieron tres replicas por especie.

c) Humedad.

Para conocer el contenido de agua que tienen las microalgas, se determinó la humedad de acuerdo con el método propuesto por la AOAC (1980), se obtuvo el peso húmedo por gravimetría utilizando una balanza analítica (Sartorius®), se registraron los pesos de los portaobjetos de vidrio vacíos, después se colocó 1 g de la muestra húmeda en el portaobjetos y se anotaron los pesos, finalmente las muestras fueron puestas a secar a 100°C durante 24 h, transcurrido el tiempo eran extraídas del horno y puestas sometidas una hora en desecador de sílica gel, se calculó el contenido de humedad como el peso perdido de la muestra durante el secado con la siguiente fórmula:

Dónde:

Pi = Peso inicial.

Pf = Peso final.

d) Cenizas.

El contenido de cenizas nos indica de manera indirecta la cantidad de minerales presentes en la muestra. El método para obtener el porcentaje de cenizas en seco fue realizado de acuerdo con los métodos propuestos por la AOAC (1980), se pesaron y registraron por separado los crisoles de porcelana en una balanza analítica que permanecieron 24 h en un desecador de sílica gel y posteriormente se pesó el crisol junto con la muestra. Aproximadamente 0.1 g de muestra fue carbonizado en el crisol y sometido a 550° C por un periodo de 8 h, en un horno mufla modelo SX2 -2.5 – 12N, retirada del horno y enfriado en un desecador de sílica gel por un par de horas, luego pesado en la balanza analítica para registrar, el peso y el porcentaje de cenizas obtenido mediante la siguiente fórmula:

Dónde:

%CbH= Porcentaje de Cenizas en Base Seca.

Mc = Peso de muestra cenizas.

Mh = Peso de muestra húmeda.

3.4.10. Análisis de datos

El análisis estadístico que se empleó fue el de varianza (ANOVA) de una vía, con el cual es posible determinar si las diferencias de resultados son reales o debidas a las variaciones de cada repetición. Para esto se utilizó el programa SIGMASTAT 2.1, con el que se analizaron los datos de absorbancia de las curvas de crecimiento.

3.5. RESULTADOS

Se aislaron 10 especies con potencial biotecnológico, cinco Cyanophyta y cinco Chlorophyta, las cuales se describen a continuación.

3.5.1. Descripción de las especies aisladas

Cyanophyta:

1) *Leptolyngbya* sp. Anagnostidis & Komárek, 1988

Microalga de filamentos largos, solos o en racimos en espiral, arqueados, ondulados o intensamente enrollados, isopolares, finos, de 0.5 a 3.2 micras de ancho, con vainas delgadas pero firmes y generalmente incoloras que envuelven uno o rara vez dos tricomas. Los tricomas son finos y cilíndricos, ligeramente o nada atenuados en los extremos, con células apicales redondeadas o cónicas y pueden o no presentar constricciones en las paredes transversales. Las células son isodiamétricas o más largas que anchas, cilíndricas con un contenido homogéneo, raramente con escasos gránulos prominentes verde-azules, grises, verde olivo, amarillentos o rojizos. Las células se dividen por una simétrica (rara vez asimétrica) fisión binaria transversal, crecen a su tamaño original antes de la siguiente división. Las especies de *Leptolyngbya* son muy comunes en los suelos y perifiton de agua dulce y están disponibles para el cultivo (Guiry y Guiry, 2013)

2) *Planktolyngbya limnetica* (Lemmermann) J. Komárková-Legnerová & G. Cronberg.

Filamentosas; filamentos solitario, con recubrimientos delgados simples, incoloros firmes, raramente ramificado falsa ; tricomas cilíndrica , isopolar , recto, ondulado, enrollado a más o menos similar a un tornillo o en espiral enrollada , estrecho de 3 μ , uniseriados, por lo general no se reduce en los extremos, constreñida o no en las paredes, siempre inmóviles. Pilas cilíndricas, rara vez más cortas que de anchas, por lo general más largo que ancho, sin aerotopos o con aerotopos polares facultativos, a veces con gránulos solitarios; celdas extremas redondeadas o se estrecharon, redondeada, siempre sin caliptra. Contenido celular pálido, tilacoides de color azul grisáceo, azul verdoso, amarillento o verde oliva, localizados periféricamente a lo largo de las paredes celulares. La división celular por la fisión binaria transversal, perpendicular al eje longitudinal de un tricomas, las células hijas crecen al tamaño original antes de la siguiente división. Todas las células son capaces de

división. La reproducción es por fragmentación de los tricomas y sin células necridiales inmóviles. Forma hormogonios. Especies planctónicas, por lo general en los grandes embalses, mesotróficas; algunas especies limitadas a las zonas tropicales y templadas, varias especies presumiblemente nórdico (Guiry y Guiry, 2013).

3) *Phormidium* sp. Kützing ex Gomont, 1892: 156

Filamentos formando tapetes, de 103.5 - 1043 μm de largo. Con vaina en forma de tubo, incolora. Tricomas isopolares, más o menos rectos, enrollado en la punta, de 2.3 - 4.2 μm de ancho, con movilidad (arrastrándose, oscilaciones). Células de forma cilíndrica, sin aerotopos, con gránulos prominentes en todo el volumen celular; célula final ampliamente redondeada, sin caliptra. Células con tilacoides situados perpendicularmente a la pared celular, Sin heterocitos y acinetos (Pineda *et al.*, 2011).

4) *Pseudanabaena cf papillaterminata* (Kiselev) Kukk, 1959

Filamentos solitarios, muy finos, rectos o curvos, simples, de 5.3 - 29.7 μm de largo y 0.9 - 1.6 μm de ancho, sin ningún tipo de ramificación, compuesto de células cilíndricas, con ligeras constricciones en las paredes, sin vaina, extremos de los tricomas no atenuados; célula apical cónica; células isodiamétricas, sin aerotopos. Tricomas con ligera movilidad (Pineda, 2009).

5) *Trichodesmium cf. lacustre* Klebahn, 1895

Los tricomas rectos en fascículos flotantes, móviles, raramente solitarias, por lo general aglomerados en fascículos microscópicos con varios tricomas, claramente constreñidos transversalmente en las paredes, células cilíndricas, a veces reducidas en los extremos, o terminaciones desde esféricas hasta alargadas, tricomas 5.4 hasta 6.4 μm de ancho, las células terminales ensanchadas hasta medir 7,6 μ de ancho; Células de discoidales a isodiamétricas, de 3-6 μm de longitud, con numerosos aerotopos a menudo se encuentran algunas sin aerotopos (Komárek y Komárková-Legnerová, 2007).

Chlorophyta:

1) *Monoraphidium tortile* (Komárková-Legnerová, 1969)

Organismos unicelulares. Las células miden 2-182 x 1-8 micras y tienen forma semilunar, de sigmoide o de torsión helicoidal, generalmente con extremos alargados. Las paredes

celulares son suaves. Tienen un solo núcleo y un solo cloroplasto. Generalmente sin pirenoide. Reproducción asexual ocurre por la ruptura longitudinal o transversal de la pared parental. La reproducción sexual y las etapas de los flagelos son desconocidas. Crece en agua dulce o en el suelo y ha sido reportada en Europa, Asia y Norteamérica (Guiry y Guiry, 2013). Se ha utilizado en la producción de biodiesel (Bogen *et al.*, 2013)

2) *Chlorella vulgaris* (M. Beijerinck, 1890)

Células solitarias o en grupos pequeños; células de forma elipsoidal, con paredes lisas y que contienen glucosamina. Con un solo núcleo, un solo cloroplasto y una sola pirenoide cubierta de almidón. Reproducción asexual, ocurre por la ruptura de las paredes de la célula parental. Las etapas y la reproducción sexual de los flagelados son desconocidas. La *Chlorella* puede existir en todos los hábitats acuosos, ya sean marinos o de agua dulce (Guiry y Guiry, 2013).

3) *Scenedesmus acuminatus* (Lagerheim) R. Chodat 1902:

Cenobios rectos a levemente curvos, 2-4-8 células lunadas dispuestas linealmente; cloroplasto único, parietal, 1 pirenoide. Comprende células 9-12 μm , largo 1-2 μm (Silva, 1999). Las células internas ligeramente torcidas en forma de arco hasta casi rectas, el extremos siempre arqueado hacia afuera del cenobio. En cenobios alternos los extremos celulares salientes son más extendidos. Pared celular lisa, cloroplasto parietal con un pirenoide con almidón. Reproducción mediante autocenobios (Fanés, 2008)

4) *Scenedesmus quadricauda* (Turpin) Brébisson in Brébisson & Godey 1835:

Colonias de 2, 4 u 8 células pueden organizarse de forma lineal; cuerpo celular elipsoidal alargado, 11-18 micras de largo, 3.5-7 μm de ancho; células terminales con proyecciones espinosas largas ($b > 10-17$ micras de largo); pared celular lisa (protist.i.hosei.ac.jp, 2013).

5) *Scenedesmus obliquus* (Turpin) Kützing, 1833

Cenobios de 2-4-8 células, alineados, ligera o irregularmente alternos; células más o menos fusiformes hasta cilíndrico-fusiformes, con los extremos atenuados, cónicos o puntiagudos, con o sin engrosamientos apicales; rectos o curvos; células rectas o curvas, principalmente las externas. Cloroplasto parietal con pirenoide rodeado de almidón.

3.5.2. Establecimiento del medio más adecuado para la reproducción masiva

En general, las cianofitas registraron una producción mayor de biomasa, según los valores de absorbancia que las clorofitas, que las clorofitas. En *Chlorella vulgaris*, los medio de cultivo con mayor eficiencia en producción de biomasa algal, fueron CHU10 y Zarrouk sin mostrar diferencias significativas entre estos medios según la prueba de ANOVA (cuadro 22) los medios con menor eficiencia en la producción de biomasa fueron F/2 y Bristol.

Cuadro 22. Absorbancia de la biomasa de *Chlorella vulgaris*, probada en cinco medios de cultivo, F/2, Bristol, CHU 10, Zarrouk y OSJ. Subíndices con la misma letra no son diferentes.

Días	F/2	Bristol	CHU 10	Zarrouk	OSJ	P
1	0.199 ±0.09 ^b	0.189±0.02 ^b	0.486±0.07 ^a	0.156±0.06 ^b	0.156±0.04 ^b	<0.001
3	0.295±0.08 ^b	0.236±0.05 ^b	0.628±0.03 ^a	0.42±0.05 ^c	0.419±0.06 ^c	<0.014
4	0.317±0.03 ^b	0.262±0.03 ^b	0.661±0.04 ^a	0.438±0.08 ^c	0.431±0.02 ^c	<0.001
6	0.347±0.05 ^b	0.317±0.02 ^b	0.705±0.07 ^a	0.539±0.09 ^c	0.486±0.01 ^c	<0.001
9	0.351±0.07 ^b	0.261±0.05 ^b	0.700±0.09 ^a	0.629±0.07 ^c	0.502±0.04 ^c	<0.001
10	0.404±0.05 ^b	0.293±0.09 ^b	0.873±0.08 ^a	0.795±0.05 ^a	0.661±0.03 ^b	<0.001
12	0.457±0.08 ^b	0.296±0.04 ^b	0.806±0.07 ^a	0.864±0.07 ^a	0.669±0.07 ^b	<0.001
15	0.499±0.02 ^b	0.291±0.06 ^b	0.848±0.05 ^a	0.905±0.04 ^a	0.703±0.08 ^b	<0.001
16	0.518±0.06 ^b	0.268±0.03 ^b	0.902±0.09 ^a	0.68±0.06 ^a	0.68±0.09 ^b	<0.001
17	0.583±0.03 ^b	0.258±0.08 ^b	0.995±0.03 ^a	1.071±0.04 ^a	0.774±0.02 ^b	<0.001
\bar{x}	0.3970	0.2671	0.7604	0.6497	0.5481	

En el cuadro 22 se indican los valores de absorbancia de la biomasa algal por medio de cultivo por día. Al inicio de los ensayos, del día uno al día seis, el ANOVA nos indica que *C. vulgaris*, registró diferencias significativas sólo con el medio CHU 10 con respecto a los demás medios de cultivo. Después del día nueve, en CHU10 y Zarrouk las diferencias de producción de biomasa fueron significativas según el ANOVA, respecto a los medios F/2, Bristol y OSJ. A partir del día 10 los medios Zarrouk y CHU10 tienen un crecimiento similar hasta el día 17 del experimento, por lo tanto, estos dos medios de cultivo fueron los

más adecuados y eficientes para la producción de biomasa en el menor tiempo para esta clorofita.

Para las cianofitas *Phormidium* sp., y *Leptolyngbya* sp., los medios de cultivo utilizados para la producción de biomasa fueron Zarrouk y OSJ (cuadro 23). *Leptolyngbya* sp., registró el valor promedio más alto absorbancia que *Phormidium* sp., de hecho el doble. Además presento incrementos sustanciales, al inicio del cultivo es decir desde al día uno. Para *Leptolyngbya* sp., la fase exponencial, del día uno al nueve fue significativamente mayor con el medio OSJ y al final del cultivo ambos medios muestran biomásas similares, según los valores de absorbancia. Para el caso de *Phormidium* sp., no hay diferencias significativas entre OSJ y Zarrouk durante los días de cultivo.

Cuadro 23. Absorbancia de la biomasa de *Phormidium* sp., y *Leptolyngbya* sp., probada en dos medios de cultivo, Zarrouk y OSJ. (\pm desviación estándar). Subíndices con la misma letra no son diferentes.

Días	<i>Phormidium</i> sp.		<i>Leptolyngbya</i> sp.		P
	OSJ	Zarrouk	OSJ	Zarrouk	
1	0.312 \pm 0.06 ^a	0.292 \pm 0.02 ^a	0.766 \pm 0.03 ^b	0.741 \pm 0.01 ^b	<0.001
4	0.352 \pm 0.01 ^a	0.390 \pm 0.05 ^a	0.949 \pm 0.04 ^b	0.784 \pm 0.03 ^c	<0.001
5	0.472 \pm 0.01 ^a	0.366 \pm 0.03 ^a	0.999 \pm 0.03 ^b	0.856 \pm 0.03 ^c	<0.001
6	0.371 \pm 0.03 ^a	0.382 \pm 0.01 ^a	1.134 \pm 0.04 ^b	0.978 \pm 0.02 ^c	<0.001
7	0.493 \pm 0.02 ^a	0.371 \pm 0.06 ^a	1.202 \pm 0.04 ^b	0.968 \pm 0.01 ^c	<0.001
9	0.457 \pm 0.11 ^a	0.469 \pm 0.05 ^a	1.252 \pm 0.06 ^b	1.097 \pm 0.04 ^c	<0.001
10	0.501 \pm 0.09 ^a	0.461 \pm 0.05 ^a	1.251 \pm 0.12 ^b	1.135 \pm 0.05 ^b	<0.001
14	0.596 \pm 0.03 ^a	0.527 \pm 0.03 ^a	1.289 \pm 0.09 ^b	1.174 \pm 0.10 ^b	<0.001
17	0.567 \pm 0.08 ^a	0.401 \pm 0.05 ^a	1.349 \pm 0.09 ^b	1.235 \pm 0.13 ^b	<0.001
\bar{x}	0.459	0.406	1.132	0.996	

3.5.3. Análisis químico aproximado de las microalgas aisladas del Lago de Chapala.

Cyanophytas

En el Cuadro 24 se observan los resultados de las cianofitas evaluadas, encontrando el mayor porcentaje de lípidos con base en el peso seco en *Pseudanabaena cf papillaterminata*, con 10.56, seguido por *Phormidium* sp., 10.40, *Leptolyngbya* sp., 10.02,

los que tuvieron menor cantidad de lípidos fueron *Trichodesmium cf lacustre* con 7.65 y *Planktolyngbya cf limnetica* con 4.46.

Respecto al porcentaje de las proteínas *Phormidium* sp., destaca con un porcentaje de 16.98, con base en el peso seco, seguido por *Leptolyngbya* sp., con 13.45 %, *Planktolyngbya cf limnetica* sp., 8.70 %. Siendo las especies de *Trichodesmium cf lacustre* y *Pseudanabaena cf papillaterminata*, las que registraron las cantidades más pequeñas de proteínas con 5.48 y 6.02 % respectivamente.

Respecto a humedad, las cianofitas con mayor cantidad fueron *Planktolyngbya cf limnetica* con un porcentaje de 87.17, seguida por *Trichodesmium cf lacustre* con 86.63 y *Pseudanabaena cf papillaterminata*, con 84.96, mientras que las que menor porcentaje fueron *Leptolyngbya* sp., con 77.13, y *Phormidium* sp., con 71.98 %. En cenizas el mayor porcentaje lo tuvo *Planktolyngbya cf limnetica* con 4.64, seguida por *Phormidium* sp., 4.02, luego *Pseudanabaena cf papillaterminata* con 3.42, después *Trichodesmium cf lacustre* con 3.29 y por último la que menos cenizas tuvo fue *Leptolyngbya* sp., con 1.79.

Chlorophytas

En el Cuadro 24 se encuentran los resultados de las especies pertenecientes a la división Clorofita, observando la mayor cantidad de lípidos en la especie *Monoraphidium tortile* con un porcentaje de 22.9, seguido por *Chlorella vulgaris* con 20.57 %, *Scenedesmus quadricauda* y *S. obliquus* con una cantidad similar de lípidos con 17.75 % y 17.14 % respectivamente, siendo el de menor cantidad *S. acuminatus* con 14.81 %.

Respecto a las proteínas la especie con mayor cantidad fue *S. quadricauda*, con 14.52 %, seguido por *S. acuminatus* y *S. obliquus* con 13.87 y 13.03 % respectivamente, siendo las de menor cantidad las especies de *Chlorella vulgaris* con 10.53 y *Monoraphidium tortile* 2.78.

El porcentaje de humedad más grande fue para la especie *Monoraphidium tortile* con 75.27, seguido por *S. acuminatus* con 72.96, luego *S. obliquus* con 70.23, después *Chlorella vulgaris* con 69.34, y por último *S. quadricauda* con 67.78. Respecto a las cenizas el mayor porcentaje fue de *Chlorella vulgaris* con 4.54, seguido por *S. quadricauda* con 4.48, luego la especie *S. acuminatus* con 2.94, después 2.92, y el que menos tuvo fue *Monoraphidium tortile* con 2.22.

Cuadro 24. Análisis químico aproximado de las microalgas aisladas del Lago de Chapala en porcentaje de peso seco

Grupo	Parámetros			
	Lípidos	Proteínas	Humedad	Cenizas
Cyanophyta				
<i>Trichodesmium cf lacustre</i>	7.65 ± 1.11	5.48±0.16	86.63±1.54	3.29±0.29
<i>Pseudanabaena cf papillaterminata</i>	10.56±1.05	6.02±0.03	84.96±1.38	3.42±0.28
<i>Planktolyngbya cf limnetica</i>	4.46±0.81	8.70±4.3	87.17±3.26	4.64±0.19
<i>Leptolyngbya sp.</i>	10.02 ±1.93	13.45±0.09	77.13±1.94	1.79±0.05
<i>Phormidium sp.</i>	10.40±7.6	16.98±0.39	71.98±0.97	4.02±0.33
Chlorophyta				
<i>Scenedesmus acuminatus</i>	14.81±3.66	13.87±0.3	72.96±0.09	2.94±0.09
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	17.75±2.29	14.52±0.04	67.78±0.98	4.48±0.04
<i>Scenedesmus obliquus</i>	17.14±1.70	13.03±0.11	70.23±1.35	2.92±0.65
<i>Chlorella vulgaris</i>	20.57±0.63	10.53±0.69	69.34±0.17	4.54±0.89
<i>Monoraphidium tortile</i>	22.9±0.72	2.78±0.28	75.27±0.11	2.22±0.28

3.6. DISCUSIÓN

Se trato de tener las condiciones ambientales de los cultivos lo más cercano a sus propios requerimientos, manteniendo una temperatura de 25 a 28°C, y el fotoperiodo fue de 24 horas, lo que favorece la producción de biomasa, en cuanto a las condiciones químicas, la calidad del agua fue apropiada, utilizando agua de pozo, pues tenía un pH (7.5) que favorecía el crecimiento de las microalgas al mezclarse con los medios de cultivo, (Andersen 2005).

Para lograr la mayor eficiencia de los cultivos los parámetros fisicoquímicos del agua se mantuvieron en niveles apropiados durante todo el periodo experimental propiciando las condiciones para el cultivo de las microalgas, con los medios de cultivo modificados para cada grupo de algas, tratando de buscar que fuesen más económicos y que favorecieran el crecimiento de las microalgas de una producción de biomoléculas similares a las reportadas para esas especies con base en los requerimientos nutricionales de macronutrientes como C, P, N y S y sales como Na, K, Ca, Mg, Fe, Zn, Mn, B, Br, Si, Cu, Co, Cl, I, etc (FAO, 1989) de cada grupo de microalgas.

Los medios más apropiados por la producción de biomasa, contenido de macronutrientes, sales y bajo costo fueron CHU10 y OSJ, ya que estos se prepararon sustituyendo las sales de grado técnico y reactivo por fertilizantes, observando resultados muy buenos en cuanto a producción de biomasa, debido probablemente a la disponibilidad de nutrientes y mejor adaptación de la microalga a las sales del medio nuevo, donde se observa como en el caso de las algas verdes como *Chlorella vulgaris* (cuadro 22), la comparación entre el crecimiento de los diferentes medios de cultivos, en donde el medio de cultivo Zarrouk y CHU10 son muy similares en cuanto al desarrollo de biomasa y no tienen diferencias estadísticas en la fase final del crecimiento exponencial.

En el caso de las cianofitas con *Phormidium* sp., no hubo diferencias estadísticas a lo largo del experimento, mientras que para *Leptolyngbya* sp., al final de la fase exponencial, los medios no muestran diferencias significativas, siendo para ambos casos el medio más recomendable para la producción de biomasa, OSJ, que entre otros atributos sus bajos costos lo ponen por encima del medio Zarrouk.

3.6.1. Lípidos totales

En general la biomasa de microalgas está constituida por un 20-30% de lípidos, de 40-50% de proteínas y la parte restante subdividida entre los carbohidratos, que en algunas especies pueden llegar hasta el 55% de la biomasa y otros compuestos de importancia menor, constituyendo así el producto más eficiente de producción de biomasa en el ciclo de la naturaleza (Borowitzka, 1999).

Lípidos totales en Cyanophytas aisladas.

En las últimas décadas, cientos de especies de microalgas oleaginosas con alto contenido de lípidos han sido examinadas y caracterizadas. Las algas oleaginosas se distribuyen en diversos grupos taxonómicos y su contenido de lípidos varía significativamente por ejemplo bajo condiciones normales de cultivo las clorofitas tienen 25.5 %, las diatomeas 22.7 % y las cianofitas 9.8 %; en condiciones de estrés las clorofitas pueden llegar a tener hasta un 45.7 % y las diatomeas 37.8 % (Hu *et al.* 2013). Respecto al contenido de lípidos en las cianofitas, *Phormidium* sp., obtuvo en el presente estudio 10.40 %, mientras que en otros con medios de cultivo similares se obtuvieron porcentajes de 9.84 a 15 % (Kodandoor y Madaiah, 2011; El-Ardi *et al.*, 2012) dependiendo de la especie, edad y condiciones de cultivo, por lo que los resultados obtenidos están dentro del rango promedio, reportado para esta especie con medios convencionales. La especie *Pseudanabaena cf papillaterminata*, no muestra registros sobre caracterización bioquímica de lípidos y/o proteínas, pues se tenía clasificada hasta antes de 2005 como *Phormidium papillaterminatum* (Komárek, y Anagnostidis, 2005, Guiry y Guiry, 2013) por lo que los datos que se tienen en el presente estudio respecto a lípidos (10.56), se contrastan con los obtenidos del género *Phormidium*, el cual tiene una cercanía notable con los resultados obtenidos, incluso entre la especie *Phormidium* sp., estudiada en este trabajo los datos son muy similares, por lo que los datos también entran dentro del promedio de lípidos que puede producir esta especie con medios estándares. En el caso de *Leptolyngbya* sp., en el presente estudio se obtuvo un porcentaje lipídico de 10.02, en lo reportado en medios convencionales se registran 15.6 % (Taton *et al.*, 2012), no muy lejano de lo mencionado en este trabajo, la diferencia entre los porcentajes reportados contra los obtenidos, puede radicar en el medio y condiciones de cultivo, la disponibilidad del nitrógeno, y el fotoperiodo (Mora *et al.*, 2002) que pueden ser determinantes para la producción de este metabolito.

Para el caso de *Trichodesmium cf lacustre*, debido a que se ha clasificado como el género *Oscillatoria*, incluso como sinónimo de otras especies como *Oscillatoria lacustris* (Klebahn) Geitler 1925 y *Skujaella lacustris* (Klebahn) J.de Toni 1939 (Guiry y Guiry, 2013) se encuentran pocos datos acerca de este género en cuanto a composición química, por lo que se toman los datos de estudios basados en la microalga *Oscillatoria* sp., la cual se han registrado porcentajes de lípidos de 11.3 a 16.62 % (Kodandoor y Madaiah, 2011; Abdo *et al.*, 2013) en estos reportes no se menciona sobre qué medio de cultivo se obtuvieron ni las condiciones del mismo, comparándolo con el presente estudio, se registró un porcentaje de tan sólo 7.65 con medios de cultivos convencionales y 24 horas de luz, lo que supone el estrés de no tener un foto periodo 12:12 como ocurriría en condiciones naturales, pudo afectar la producción de este metabolito, aún así no se encuentra muy lejos de las cantidades reportadas por los autores antes citados. La microalga *Planktolyngbya cf limnetica* registró el más bajo porcentaje de todas las algas estudiadas en este trabajo, con tan sólo 4.46 %, reportándose en otros estudios donde se cultivaron con medios de cultivo similares pero con un fotoperiodo de 10 horas de oscuridad y obteniendo un porcentaje de 18.10 (Kodandoor y Madaiah, 2011), se ha reportado que la producción y acumulación de metabolitos de interés comercial se ve afectada por la radiación de luz blanca en algas, hongos y bacterias (Martin, 2010) y esto es probablemente lo que haya afectado la producción de proteínas en este caso pues mientras otra investigación en condiciones de fotoperiodo se obtiene una cantidad más alta de lípidos, sin embargo, esto no es un factor determinante, pues la intensidad y el régimen de la iluminación varían con el género de microalga.

Lípidos totales en Chlorophytas aisladas.

La concentración de lípidos reportada para el género *Scenedesmus*, de 15 a 35 % por Chisti (2007), y para el caso particular de *Scenedesmus obliquus* es de 11-22% con medios de cultivo convencionales (Gouveia y Oliveira, 2009), en este trabajo se registra bajo las condiciones de cultivo y los medios modificados un 17.14 % de lípidos con base al peso seco, más alto de lo reportado por Mandal y Mallick (2009) registran un 12.7 % bajo condiciones controladas de N y P, un poco más bajo que lo reportado por Mata *et al.*, (2013) donde publican un 27 % de lípidos con base al peso seco, cultivándose en medios no

convencionales como desechos de la industria cervecera, manteniéndose así en la media de los resultados reportados por otros autores aun en condiciones de estrés.

Para *Scenedesmus acuminatus* en este estudio obtuvimos un 14.81 %. En estudios similares, cultivado con medio Bristol, que es un medio estándar, se registra un 15.3 % (Montero-Sánchez *et al.*, 2012) y 17 % (Gulam *et al.*, 2012). *Scenedesmus quadricauda* encontrados en este trabajo un porcentaje de 17.75 %, Se tienen registros que van desde 1.9 % (Becker, 1995), 17 % en cultivos con Bristol (Gulam *et al.*, 2012) de lípidos, mientras que Zhao y colaboradores (2012) registran de un 14 a 28 %, en cultivos con medios convencionales como BG-11, se obtuvo un 11 % (Dev y Kalita, 2011), sin embargo en cultivos no convencionales estos se elevan hasta un 33.1 % (Zhao *et al.*, 2012). Por lo que se el medio de cultivo utilizado para esta especie resulta eficiente en la producción de lípidos.

Para el caso de *Chlorella vulgaris* se determinó un 20.57 % de lípidos, debido a ser esta una de las microalgas más estudiadas se tiene datos que reportan desde un 5.1 hasta 56.0 % de lípidos (Garibay *et al.*, 2009) en cultivos que van desde los medios tradicionales y no convencionales, Gouveia y Oliveira, 2006; Halim *et al.*, (2012)

Monoraphidium tortile en cultivos convencionales muestra una cantidad de 31.5 % (Bogen, *et al.*, (2013) por lo que con un 22.9 %, reportado en esta investigación estamos muy cerca de lo mencionado aun en condiciones de estrés con cultivos no convencionales con diferentes concentraciones de nitrógeno y CO₂ donde la producción de lípidos va de 8.2 a 33.4 % (Eustance *et al.*, 2013).

3.6.2. Proteínas.

Proteínas en Cyanophytas aisladas.

Las microalgas *Leptolyngbya* sp., y *Phormidium* sp., demostraron ser más productivas en cuanto a proteínas respecto de las otras cianofitas estudiadas en esta investigación, pues el porcentaje de proteínas obtenido en *Leptolyngbya* sp fue de 13.45, mientras que Taton *et al.*, (2004) registra 35.4 %, cultivada en medios convencionales, aun así se considera aceptable, debido al estrés que se manejó, pues no hubo condiciones de fotoperiodo, si no que estuvo sometida a 24 horas luz, mismo caso que se maneja para e *Phormidium* sp., se obtuvo un total de 16.98, que comparado con otros estudios que reportan un porcentaje que

va de 29.98 a 40.72 (Jonte *et al.*, 2003). Respecto a *Pseudanabaena cf papillaterminata*, de la cual casi no se reportan datos de caracterización bioquímica en cuanto su contenido de lípidos y proteínas, si los hay en cuanto producción de pigmentos como clorofila *a* (Mora *et al.*, 2002) y su distribución en diversos cuerpos de agua (Hojda, 1976, Starmach, 1995), por lo que al igual que en el caso de los lípidos se tomará su sinónimo, que este caso es del género *Phormidium*, en cual como se mencionó anteriormente la cantidad de proteínas reportadas es muy alta en comparación con la obtenida que fue de 6.02 % para este estudio.

Para *Trichodesmium cf lacustre*, debido a lo mencionado en el párrafo de lípidos, es el mismo, se tiene poco conocimiento en cuanto al contenido de lípidos y proteínas, ya que las observaciones respecto a su caracterización se basan principalmente en su capacidad fijadora de nitrógeno (Mayz-Figueroa, 2004; Zehr, 2007), se han registrado datos de contenido de proteínas para el género *Oscillatoria*, pero están expresadas en $\mu\text{g mL}$ (Fuenmayor, 2009), por lo que resulta difícil la comparación, aunque en términos de aprovechamiento esta microalga, no tiene gran potencial en cuestión de proteínas pues de todo el elenco de cianofitas estudiadas, esta fue la que obtuvo menor porcentaje de proteínas al igual que *Planktolyngbya cf limnetica*, las cuales su principal aprovechamiento es como fijadoras de nitrógeno.

Proteínas en Chlorophytas aisladas.

Scenedesmus quadricauda fue la que obtuvo una mayor cantidad de proteínas en comparación con las otras especies de clorofitas trabajadas en este estudio, con un valor de 14.52 %, con el medio modificado, en otras investigaciones se reportan valores de 27.93 % (Morison *et al.*, 2008) llegando a registrarse valores de 47 % pero en condiciones de estrés (Becker, 1995). Por lo que para el caso de esta microalga, el medio de cultivo utilizado no fue tan efectivo en la producción de proteínas.

En el caso de *Scenedesmus obliquus*, se reporta en este trabajo un porcentaje de 13.03, mientras que para otros trabajos con medios de cultivo no convencionales se reportan valores que van desde 11.8 % (Martínez *et al.*, 2000), 15-16 % (Ruíz-Marín *et al.*, 2011) hasta 24.8 % (Quevedo *et al.*, 2008), demostrando que el medio de cultivo utilizado en este trabajo se muestra competitivo en la producción de proteínas frente a cultivos no convencionales.

Con *Scenedesmus acuminatus*, se obtuvieron 13.87 %, muy bajo comparándolo con lo reportado por 52.3 % (Saleh *et al.*, 1985, Fodorpataki *et al.*, 2013), donde se observa que al igual que *S. obliquus*, no es un medio de cultivo eficiente para la producción de proteínas en esta especie.

Para *Chlorella vulgaris*, obtuvimos un total de 10.53 %, en otros trabajos con cultivos no convencionales se reporta el contenido de proteína con valores que van desde 30 % - 38 % (Liang *et al.*, 2009, Batista *et al.*, 2013) hasta 56 % (Andrade *et al.*, 2006), por lo que se observa que el medio Chu 10 modificado usado en este trabajo, no es tan eficiente en la producción de proteínas, pero si en la producción de biomasa y lípidos, debido a que el contenido proteico de las microalgas depende de la fuente de nitrógeno suministrada. De tal manera, que para la producción de proteínas es necesario nitrógeno disponible en cantidad suficiente (Becker, 1995).

La especie con menor cantidad de proteínas fue *Monoraphidium tortile*, la cual registro sólo 2.78 %, debido a que esta especie había estado clasificada dentro del género *Ankistrodesmus*, se tiene poca información detallada del género como tal y más sobre la especie (Nieves-Soto, 1994). Actualmente, las especies solitarias y sin mucílago fueron separadas del género *Ankistrodesmus* y corresponden a *Monoraphidium sp.*, (Legnerová, 1969). Debido a esta gran variabilidad y a la escasez de información que existe sobre cultivos de *Monoraphidium sp.*, se dificulta hacer un análisis comparativo del presente estudio con trabajos anteriores, por lo que sólo se cita la cantidad de proteínas registrada para el género *Ankistrodesmus*, el cual tiene un porcentaje del 12 al 35 % (Prieto *et al.*, 2006)

La cantidad de metabolitos de las microalgas se podría considerar como un criterio subjetivo y dependiente de los organismos de prueba, de las técnicas que se utilizan para su cultivo y además de la estabilidad de las condiciones de cultivo y de la escala en la cual se está experimentando, pues en algunas publicaciones no se manejan todos estos datos, por lo que resulta difícil que se obtengan los mismos resultados que los estudios reportados por otras investigaciones si no se replican las condiciones estudiadas. Por lo que no es suficiente la observación de lo que sucede en un laboratorio, pues al mantener condiciones controladas, no estamos tomando en cuenta lo que sucede con la microalgas de vida libre, o

en un sistema comercial solamente, sino que para dar respuestas válidas, es importante investigar la calidad de las microalgas de varios laboratorios comerciales, obtener información y muestras de sus cultivos, revisar cuidadosamente las técnicas y las condiciones de cada laboratorio y estudiar cómo éstas se reflejan en la calidad de sus dietas, para intentar de identificar patrones de respuesta comunes, los factores ambientales y humanos que los determinan y finalmente definir los diseños adecuados para producir dietas cualitativamente constantes y similares (Voltolina *et al.*, 2000).

3.7. CONCLUSIÓN

- Un lago polimítico como el Lago de Chapala por sus características presenta una riqueza de fitoplancton nativo susceptible de ser aislado y cultivado.
- Los medios de cultivo con mayor producción de biomasa en las cianofitas y clorofitas cultivadas y con menor costo en su formulación fueron OSJ y CHU10.
- El contenido de metabolitos como lípidos y proteínas en las cianofitas y clorofitas, están dentro del rango reportado por otros autores; entre las clorofitas *Monoraphidium tortile* se sugiere como la microalga en la producción de lípidos totales y para proteínas la cianofita *Phormidium* sp.
- Se sugiere el cultivo de *Scenedesmus quadricauda* como una microalga balanceada en la producción de lípidos y proteínas.
- Las condiciones ambientales de cultivo durante los experimentos son las mínimas necesarias para obtener biomasa, así como lípidos y proteínas susceptibles de ser usadas en el área biotecnológica.

LITERATURA CITADA.

- Abdo, S., E. Ahmed, S. Abo, R.El Din, G. El Diwani, G. Ali. 2013. Growth Rate and Fatty Acids Profile of 19 Microalgal Strains Isolated from River Nile for Biodiesel Production. *J. Algal Biomass Utiln.* 2013, 4 (4): 51–59.
- Abalde, J., Cid, A., Fidalgo, J.P., Torres E. Guerrero, C. 1995. *Microalgas: Cultivo y Aplicaciones*. Edición Universidad Da Coruña. Servicio de Publicaciones. Universidad Da Coruña, España. 210 pp.
- Aguilar. V. 2003. Aguas continentales y diversidad biológica de México: un recuento actual. *Biodiversitas*. Año 8 Núm. 48 mayo de 2003
- Alcocer, J., A. Lugo, M. R. Sánchez y E. Escobar, 1998. Isabela Crater-Lake: a Mexican insular saline lake. *Hydrobiologia*381: 1-7.
- Álvarez, C. M., T. Gallardo. 1989. Una Revisión sobre la Biotecnología de las Algas. *Bot. Complutensis* 15: 9-60.
- Álvarez, C. 2007. Lago de Chapala, contaminación y riesgo genético. CONACyT y Universidad de Guadalajara. 115 pp.
- Alzieu, C. 1994. El agua medio de cultivo. In: G. Barnabé, (Ed.). *Acuicultura (I)*. Ediciones Omega, S. A. España. p. 1-27.
- Andersen, R. 2005. *Algal Culturing Techniques*, 1st Edition. Elsevier Academic Press.
- Andrade, C., R. A. Vera, B. Cárdenas y E. Morales. 2009. Biomass production of microalga *Scenedesmus* sp., with wastewater from fishery. *Rev. Téc. Ing. Univ. Zulia*. Vol. 32, Nº 2, 126 – 134.
- Andrade, R. D., R. Torres, E. J. Montes y A. C. Fernández.2007. Obtención de harina a partir del cultivo de *Chlorella vulgaris* y su análisis proteico. *Temas Agrarios - Vol. 12:(1)*, Enero - Junio (50 - 57)
- AOAC. 1980. *Official Methods of Analysis*. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C.
- Arredondo-Figueroa, J.L., Aguilar, C. 1987. Bosquejo histórico de las investigaciones limnológicas realizadas en lagos mexicanos, con especial énfasis en la ictiofauna. En: Gómez-Aguirre, S. y V. Arenas (Eds.) *Contribuciones en Hidrobiología*. "Memorias de la Reunión Alejandro Villalobos" (24 al 26 de octubre de 1993). Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. pp. 91-133.
- Arredondo, V. B. O. 2004. Colecciones Biológicas de los Centros de Investigación CONACYT. CONACYT Sistema de centros de investigación. <http://www.conacyt.gob.mx/comunicacion/Publicaciones/Documents/ColeccBiologicas.pdf>. (Consulta realizada 30 de abril de 2011).
- Banks, R., y F. Herrera.1977. "Effect of wind and rain on surface reaeration", *J. Environ. Eng. Div., ASCE*, 103(EE3): 489-504.
- Barrientos, M, R. La colección de microalgas dulceacuícolas y marinas de la Península de Yucatán. UADY. 55 pp.

- Batista, A.P. L. Gouveia, N. M. Bandarra, J. M. Franco, A. Raymundo. 2013. "Comparision of microalgal biomass profiles as novel functional ingredient for food products". *Algal Research* 2 (2): 164–173
- Belarbi, H., Y. Chisti. 2000. A Process For High And Scaleable Recovery Of High Purity Eicosapentaenoic Acid Esters From Microalgae And Fish Oil. *Enzyme Microb Technol.* 26: P. 16-29.
- Benavides, J. y R. Palomares. 2008. Aplicación genérica de sistemas de dos fases acuosas polietilén glicol – sal para el desarrollo de procesos de recuperación primaria de compuestos biológicos. *Revista mexicana de ingeniería química.* Vol. 7, No. 2 (2008) 99-111.
- Bernal-Brooks, F., L. Dávalos-Lind y Owen T. Lind. 2003. Seasonal and spatial variation in algal growth potential and growth-limiting nutrients in a shallow endorheic lake: Lake Pátzcuaro (Mexico). Volume 8, Issue 2, pages 83–93.
- Bradford, M. M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Becker, E. 1995. "Microalgae Biotechnology and Microbiology". Cambridge, University. 304pp.
- Bitog, JP, I.B.Lee, J. I. Yoo, S.B. Hwang, S. W. Hong y I.H. Seo. 2009. Development of a large-sized photobioreactor for microalgae production. In *Proceedings of the 2009 CIGR International Symposium of the Australian Society for Engineering in Agriculture*, Brisbane, Queensland, Australia, September 13–16.
- Bold, H. C., and M. J. Wynne. 1985. *Introduction to the Algae: structure and reproduction.* Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, 720 pp., ISBN 0-13-47746-8.
- Bogen, C., V. Klassen, J. Wichmann, M. La Russa, A. Doebbe, M. Grundmann, P. Uronen, O. Kruse, J. H. Mussnug. 2013. Identification of *Monoraphidium contortum* as a promising species for liquid biofuel production. *Bioresour Technol.* 2013 Apr;133:622-6.
- Borowitzka, M.A. 1999. Commercial Production Of Microalgae: Ponds, Tanks, Tubes And Fermenters. *Journal of Biotechnology.* 70: P. 313-321.
- Brennan, L. y P. Owende. *Biofuels.* 2010. From Microalgae — A Review Of Technologies For Production, Processing, And Extractions Of Biofuels And Co-Products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews.* Volume 14, Issue 2, Pages 557–577
- Bruin, A, B. Ibelings y E. Van Dorn (2003), Molecular techniques in phytoplankton research: from allozyme electrophoresis to genomics. *Hydrobiol.* 491:47-63.
- Camargo, J. A. y A. Alonso. 2007. Contaminación por nitrógeno inorgánico en los ecosistemas acuáticos: problemas medioambientales, criterios de calidad del agua e implicaciones del cambio climático. *Ecosistemas* 16: 98-110.
- Carmichael, W. W., 1994. The toxins of Cyanobacteria. *Scientific American* 270 (1): 78-86.

- Carpenter, S., N. F. Caraco, D. L. Correll, R. W. Howarth, A. N. Sharpley y V. H. Smith. 1998. Nonpoint pollution of surface waters with phosphorus and nitrogen. *Issues in Ecology* 3: 1-12.
- CEA-Jalisco. "Lago de Chapala". <http://www.ceajalisco.gob.mx/chapala.html> (consulta realizada el 26 de agosto de 2013).
- CEA-Jalisco, "Niveles máximos y mínimos del lago de Chapala, 1900-2011", <<http://www.ceajalisco.gob.mx/sia/niveles/niveles.html>> (consulta realizada el 15 de febrero de 2013).
- Cervantes, M. Conceptos fundamentales sobre ecosistemas acuáticos y su estado en México. <<http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones/libros/533/conceptos.pdf>> (Consulta realizada el 10 de julio de 2013).
- Cleber, F., E. Sant'Anna, M. Villela, J. Barcelos. 2006. Lipids, fatty acids composition and carotenoids of *Chlorella vulgaris* cultivated in hydroponic wastewater. *GRASAS Y ACEITES*, 57 (2), JULIO-SEPTIEMBRE, 270-274.
- Chisti, Y. (2007). Biodiesel from microalgae – a review. *Biotechnol. Adv.* 1 (25): 294–306
- Chu, S. P. 1942 The influence of the mineral composition of the medium on the growth of planktonic algae. Part I. Methods and culture media. *J. Ecol.*, 30, 284-325
- Chu, S.P. (Aug., 1942) *The Journal of Ecology*, Vol. 30, No. 2, pp. 284-325.
- Cohen, Z., *Products of Microalgae*, in *Handbook of Microalgae Mass Culture*. Richmond, A. (ed.). C. R. C. Press. Florida, 1986, pp: 41-453.
- Cortez-Altamirano, R. y Guzmán, A.M. 1988. Microalgas del Lago de Chapala, Jalisco. *Micro-algae of the lake of Chapala, Jalisco*. Instituto de Limnología. Universidad de Guadalajara.
- Curtís, H. y N. S. Barnes, 1999. *Biología*. Editorial Médica Panamericana. México. XXVI. 1496 págs.
- Dávalos-Lind, L., R. Sada, A. Guerra, G. Velarde, L.J. Orozco, T. Chrzanowski y O.T. Lind. 1992. La producción bacteriana y su importancia en la cadena trófica en el lago de Chapala. *Ingeniería Hidráulica en México/mayo-diciembre 1992*.
- De Anda, Jose y H. Shear. 2001. Nutrients and Eutrophication in Lake Chapala. In: Anne M. Hansen and Manfred van Afferden (eds.). *The Lerma-Chapala Watershed: Evaluation and Management*, Ch. 8, p. 183-198. Kluwer Academic / Plenum Publishers, London.
- Doolittle, W. F. 2000. Uprooting the Tree of Life. *Scientific American*, Vol.282: 72-77.
- El-Arady, O., S.A. El-Enin, N. El-Sissi, N. A. El Smary. 2012. Microalgal culture in photobioreactor for biodiesel production: case studies from Egypt. *Revista de química teórica y aplicada*, ISSN 0001-9704, Vol. 69, N°. 558, 2012, págs. 137-143.
- El Hattab, M, Culioli G, Piovetti L, Chitour S, Valls R. 2007. Comparison Of Various Extraction Methods For Identification And Determination Of Volatile Metabolites From The Brown Alga *Dictyopteris Membranacea*. *Journal Of Chromatography A*.

- Fuenmayor, G. L. Jonte, N. Rosales-Loaiza, E. Morales. 2009. Crecimiento de la cianobacteria marina *Oscillatoria* sp. MOF-06 en relación al pH en cultivos discontinuos. Rev. Soc. Ven. Microbiol. v.29 n.1 Caracas.
- Espinosa-Camarena, P. I. 1982. Contribución al conocimiento del plancton de Chapala. Tesis Profesional. Universidad Autónoma de Guadalajara.
- Estrada-Faudon, E., E. Flores-Tritschler & J. R. Michel, 1983. Lago de Chapala, investigación actualizada. Instituto de Geografía y Estadística-Instituto de Astronomía y Meteorología, Universidad de Guadalajara. Guadalajara, México. 67 p. Geocentro, Análisis Geoespacial Chapala. <http://www.centrogeo.org.mx/internet2/chapala/preocu_amb/cali_agu/cali_agu_pp.ht> (consulta realizada el 23 de febrero de 2013)
- Eustance, E., R. D. Gardner, K. M. Moll, J. Menicucci, R. Gerlach y B. M. Peyton. 2013. Growth, nitrogen utilization and biodiesel potential for two chlorophytes grown on ammonium, nitrate or urea. J Appl Phycol (2013) 25:1663–1677.
- FAO, 1989. La producción de alimento vivo y su importancia en acuicultura. <<http://www.fao.org/docrep/field/003/AB473S/AB473S00.htm>> (Consulta realizada el 23 de mayo de 2013)
- Fee, E. J., 1976. The vertical and seasonal distribution of chlorophyll in lakes of the Experimental Lakes Area, northwestern Ontario: Implications for primary production estimates. Limnol. and Oceanog., 21: 767-783.
- Ferrera-Cerrato, R., N. Rojas-Avelizapa, H. Poggi-Varaldo, A. Alarcón, R. Cañizares-Villanueva. 2006. Procesos de biorremediación de suelo y agua contaminados por hidrocarburos del petróleo y otros compuestos orgánicos. Rev Latinoam Microbiol 2006; 48 (2): 179-187.
- Filonov, A.E., I.E. Tereshchenko y C.O. Monzón, 2001, Hydro-metereology of Lake Chapala. En The Lerma-Chapala Watershed. Evaluation and Management, Hansen, A.M. y M. van Afferden (eds.), Kluwer Academic/Plenum Publishers, pp. 151-182.
- Flores, F. Y J. Martínez, 1984 a. Estudio limnológico de la Presa Media Luna. Universidad Autónoma de Aguascalientes. Aguascalientes, Aguase. 19 págs. Mimeogr.
- Fodorpataki, L., J.Geráj, H. Deák, S. Barna, B. Kovács. 2013. Influence of inorganic nutrients on parameters of biomass production in a local strain of the microalga *Scenedesmus acuminatus*. Contribuții Botanice, XLVIII: 83-94
- Folch, J., M. Lees, and H. Sloanestanley. 1957. A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. Journal of Biological Chemistry. 226: 497-509.
- Fon, S.S., A. Isdepsky, M.A. Borowitzka, N. R. Moheimani. 2011. Production of biofuels from microalgae. DOI 10.1007/s11027-011-9294-x.

- García, Alea Alina, 2005, Introducción a la psicología ambiental, en http://www.monografias.Com/trabajos26/psicología-ambiental/psicología_ambiental.shtml, (consultado el 17 de octubre de 2011).
- García, E. (1989) Modificaciones al sistema climático de Köppen; UNAM, México, D.F. 35 pp.
- García-Cuadra, F., Jawiarczyk N., González-López C.V., Fernández-Sevilla J.M. y Ación Fernández F.G. 2012. Valorización de biomasa de microalgas: Aprovechamiento de proteínas, carbohidratos y lípidos. *Rev Latinoam Biotecnol Amb Algal* 3(2):147-161
- García, J., I. Molina, M. Díaz y H. Quiroz. 2010. Componentes fitoplanctónicos y zoobentónicos en el lago Zempoala, Morelos, México. *Acta Universitaria*. Vol. 20 no. 2.
- García-Rodríguez, J., Molina-Astudillo, F., Quiroz H y Trejo R. 2003. Especies del Fitoplancton Presentes en el Lago Tonatiahua, Morelos, México. *Acta Universitaria*. VOL. 13 No. 2
- Garduño- Solórzano, G., Rodríguez - Palacio M.C., Martínez- García M. et al. 2011. Cultivos de microalgas del Lago de Catemaco, Veracruz. *Rev Latinoam Biotecnol Amb Algal* 2(2):67- 80
- Garibay-Hernández, A.R., R. Vázquez-Duhalt, M. P. Sánchez-Saavedra, L. Serrano-Carreón, y A. Martínez-Jímenez. 2009. Biodiesel a partir de microalgas. *Biotecnología*, 13 (3), 3861.
- Ghulam, M. S., M. A. Ahmed, N. Zehra, N. Kabir, M. I. Choudhary, A. Rahman. 2012. Biodiesel production from microalgal isolates of southern Pakistan and quantification of FAMES by GC-MS/MS analysis. *Chemistry Central Journal*, 6:149
- Figueredo, C. C. y A. Giani, 2001. Seasonal variation in the diversity and species richness of phytoplankton in a tropical eutrophic reservoir. *Hydrobiologia* 445: 165-174.
- Godínez, O., J. L. 2008. Colectores de algas de México (1787-1954). *Act. Bot. Mex.* n. 85 Michoacán
- González-Hita, L., 1999. Localización y evaluación de agua subterránea en el Lago de Chapala, Informe técnico, Instituto Mexicano de Tecnología del Agua.
- Gouveia, L. y A. C. Oliveira. 2009. Microalgae as a raw material for biofuels production. *J Ind Microbiol Biotechnol* 36:269–274.
- Griffiths, M. y S. Harrison. 2009. Lipid productivity as a key characteristic for choosing algal species for biodiesel production. *J Appl Phycol* (2009) 21:493–507.
- Grover, J. P., 1990. Resource competition in a variable environment: phytoplankton growing according to Monod's model. *Amen Nat*, 136: 772-789.
- Guiry, M.D. & Guiry, G.M. 2013. *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <<http://www.algaebase.org>>; (Consulta realizada el 30 de junio de 2013).

- Guzmán, M. 1995. La pesca en el lago de Chapala: hacia su ordenamiento y explotación racional. Universidad de Guadalajara, Comisión Nacional del Agua. 302 pp.
- Guzmán, M. 1997. Programa de Ordenamiento Ecológico y Territorial del Estado de Jalisco. “Marco Físico”. Las Aguas Superficiales. <<http://siga.jalisco.gob.mx/moet/SubsistemaNatural/Agua/AguaSuperficial/AguaSu pP1.htm>> (Consulta realizada el 23 de junio de 2014).
- Guzmán, M. 2003. Chapala una crisis programada. Universidad de Guadalajara. Partido Verde Ecologista. México, D. F. 388 pp.
- Hansen, A. 1992. Metales pesados en el sistema Lerma-Chapala: distribución y migración. Ingeniería Hidráulica en México/mayo-septiembre 1992.
- Hansen, A. M. y M. van Afferden. 2001. Summary and Conclusions. En The Lerma-Chapala Watershed. Evaluation and Management. Hansen, A.M. y M. van Afferden (eds.), Kluwer Academic/Plenum Publisher, pp. 373-377
- Hernández Becerril, D. U. y M. I. Tapia Peña. 1987. Ecología del fitoplancton primaveral de superficie en el lago de Tequesquitengo, Morelos, México. Revista de Biología Tropical. 35(1): 31-39.
- Hernández-Morales, R. M. Ortega-Murillo, J. Sánchez, R. Alvarado y M. Aguilera. 2009. Ocurrencia nictimeral del fitoplancton en la época de lluvias en el lago tropical profundo de Tacámbaro, Michoacán, México. Biológicas, no. 11, pp. 48 – 55
- Herrera-Silveira, J., F. Comin, S. López-Adrian, and Isabel Sánchez. 1998. Limnological characterization of aquatic ecosystems in Yucatán Peninsula (SE México). Verhandlungen. Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie 26: 1348-1351.
- Hojda, K., 1976: *Pseudanabaena papillaterminata* new record and *pseudanabaena galeata* new record of algae in poland. *Fragmenta Floristica et Geobotanica* 22(1-2): 229-233
- Hu, G. S. Ji, Y. Yu, S. Wang, G. Zhou, F. Li. 2013. Organisms for Biofuel Production: Natural Bioresources and Methodologies for Improving Their Biosynthetic Potentials. *Adv Biochem Eng Biotechnol.* Springer-Verlag Berlín Heidelberg. DOI: 10.1007/10_2013_245.
- Hutchinson, G. 1957. A Treatise on Limnology. I. Geography, Physics, and Chemistry. New York, Jhon Wiley & Sons, Inc., 1015 pp.
- Hutchinson, G. E., 1973. Eutrophication. The scientific background of a contemporary practical problem. *Am. Sci.*, 61: 269-279.
- Ibarra-Vázquez, C. y E. Novelo, 1997. Diatomeas de Texcala, Puebla. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 61: 49-57.
- INE, “Diagnóstico biofísico y socioeconómico de la cuenca Lerma-Chapala”, Instituto Nacional de < http://www.ine.gob.mx/descargas/cuencas/diag_lerma_chapala.pdf> Ecología, México, 2003, <<http://goo.gl/UsFvN>> (consulta realizada el 17 de mayo de 2012).

- INEGI, "Regiones hidrológicas", Instituto Nacional de Estadística y Geografía, México, 2010,
 <http://mapserver.inegi.gob.mx/geografia/espanol/datosgeogra/basicos/hidrologia/rios/regiones_hidrologicas.cfm?c=519> (consulta realizada el 22 de febrero de 2013).
- Jena, U., N.Vaidyanathan., S.Chinnasamy, K.C. Das. 2011. Evaluation Of Microalgae Cultivation Using Recovered Aqueous Co-Product From Thermochemical Liquefaction Of Algal Biomass. *Bioresource Technology*. 102(3): P. 3380-3387.
- Jonte, L., Rosales N., Briceño B., Morales E. 2003. La salinidad y la irradiancia modulan el crecimiento de la cianobacteria *Synechocystis minuscula* en cultivos discontinuos. *Multiciencias*. 3 (1): 1-14.
- Klausmeier, C. A. y E. Litchman, 2001. Algal games: The vertical distribution of phytoplankton in poorly mixed water column. *Limnol and Oceanog*. 46(8): 1998-2007.
- Krammer, K. & H. Lange-Bertalot. (1988). Bacillariophyceae 2. . Teil: Bacillariaceae, Epithemiaceae, Surirellaceae. in Ettl, H., Gerloff, J., Heynig, H. and Mollenhauer, D. (eds) *Süßwasserflora von Mitteleuropa*, Band 2/2. VEB Gustav Fischer Verlag: Jena. 596 pp.
- Kodandoor, S. & Madaiah, R. 2011. Total lipid and fatty acid composition in some freshwater cyanobacteria. *J. Algal Biomass Utln*. 2 (2): 83– 97
- Komárek, J. & Anagnostidis, K. 2005. *Süßwasserflora von Mitteleuropa. Cyanoprokaryota: 2. Teil/2nd Part: Oscillatoriales*. Vol. 19 pp. 1-759. München: Elsevier Spektrum Akademischer Verlag.
- Komárek, J. & Fott, B. 1983. Chlorophyceae (Grünalgen), Ordnung Chlorococcales". *Nordic journal of botany* (0107-055X), 5 (1), p. 111.
- Komarek, J. & J. Komarkova-Legnerova. 2007. Several rare freshwater planktic Cyanobacteria (Cyanoprokaryotes) from reservoirs in South America. *Hoehnea*, vol.34, n.1, pp. 49-58. ISSN 2236-8906.
- Komárkova-Legnerová, J. y R. Tavera-Sierra, 1996. Cyanoprokaryota (Cyanobacteria) in the phytoplankton of lake Catemaco (Veracruz, Mexico). *Algological Studies*83: 403-422.
- Lacoste, E. N., M. S. Vigna, S. Maccarthy y N. I. Maidana, 1987. Algas de aguas continentales de Argentina VII. Entre ríos II. *Darwiniana*28(1-4): 105–145.
- Lee, J.Y., C. Yoo, S.Y. Jun, A. Chi-Yong, O.Hee-Mock. 2010. Comparison Of Several Methods For Effective Lipid Extraction From Microalgae. *Bioresource Technology*. 101: P. S75-S77.
- Legnerová, K. J. Preslia. 1965. The genera *Ankistrodesmus* (Corda 1838) y *Rajohidium* (Kützing 1845) and their position in the family *Ankistrodesmaceae*. 1-8 37
- Liang, Y., N. Sarkany, And Y. Cui. 2009. Biomass And Lipid Productivities Of *Chlorella vulgaris* under autotrophic, heterotrophic and mixotrophic growth Conditions. *Biotechnology Letters*, 2009. 31(7): P. 1043-1049.

- Lind, O.T., R. Doyle, D. S. Vodopich, B. T. Trotter, J. Glass, L. Dávalos-Lind y J. G. Limón. 1992. Lago de Chapala: factores que controlan la producción de fitoplancton. Ingeniería Hidráulica en México/mayo-diciembre de 1992.
- Lincoln, R. J.; G. A. Boxshall y P. F. Clark, 1995. Diccionario de ecología, evolución y taxonomía. Fondo de Cultura Económica. México. 488 págs.
- Loera-Quezada, M. y E. Olguín, 2010. Las microalgas oleaginosas como fuente de biodiesel: retos y oportunidades. Rev Latinoam Biotecnol Amb Algal 1(1):91-116.
- López-Caloca, A. *et al.*, "Lake Chapala change detection using time series," Proceedings of the International Society for Optics and Photonics, Remote Sensing for Agriculture, Ecosystems, and Hydrology X, vol. 7104, 2008, pp. 710405-710511, <http://verona.fi-p.unam.mx/boris/articulos/2008/SPIE_2008_7104_4.pdf> (consulta realizada el 21 de febrero de 2013).
- Ludwing, J. A., y Reynolds, J. F. (1988). Statistical ecology, a primer on methods and computing. New York: John Wiley. 337p.
- Martínez, J. A. y M. E. Gutiérrez, 1991. Introducción a la Protozoología Editorial Trillas. México. 207 págs.
- Magurran, Anne E., 1989. Diversidad ecológica y su medición Ediciones Vedral. Barcelona. 193 págs.
- Mayz-Figueroa, J. 2004. Fijación biológica de nitrógeno. Revista Científica UDO Agrícola Vol. 4, Núm. 1, pp. 1-20
- Martin, FPH. 2010. Optimization of photobioreactor for astaxanthin production in *Chlorella zofingiensis*. Tesis de Maestría en Ingeniería. National University of Singapore
- Margalef, R., 1983. Limnología. Editorial Omega, Barcelona. 1010 p.
- Martínez, M.R. 1994, Historia Natural de los Cuerpos Acuáticos, 3ª. Ed, editorial Letras, S. A., España, 270.
- Mandal, S, Mallick N. 2009. Microalga *Scenedesmus obliquus* as a potential source for biodiesel production. Appl Microbiol Biotechnol. Aug; 84(2):281-91.
- Martínez, M.E., S. Sánchez, J.M. Jiménez, F. El Yousfi, L. Muñoz. 2000. Nitrogen and phosphorus removal from urban wastewater by the microalga *Scenedesmus obliquus*, Bioresource Technology, Volume 73, Issue 3. Pages 263-272, ISSN 0960-8524.
- Mata, M.T., A. C. Melo, S. Meireles, A. M. Mendes, A. A. Martins y N. S. Caetano. 2013. Potential of Microalgae *Scenedesmus obliquus* Grown in Brewery Wastewater for Biodiesel Production. Chemical Engineering Transactions. VOL. 32
- Moll, R. A y E. F. Stoermer, 1982. A hypothesis relating trophic status and subsurface chlorophyll maxima of lakes. Arch Hydrobiol, 94: 425-440.
- Montero-Sánchez, Y., A. Gallo, L. M. Gómez, I. Álvarez, L. C. Sabina, Y. Támbara, A. Álvarez, M. C. Alfonso, L. R. Ramírez. 2012. Productividad de lípidos y composición de ácidos grasos de cinco especies de microalgas. Investigación y Saberes, Vol. I No. 2: 37-43.

- Mora-Navarro, M. R., Vázquez-García J.A. y Vargas-Rodríguez Y. L. 2004. Ordenación de comunidades de fitoplancton en el lago de Chapala, Jalisco-Michoacán, México. *Hidrobiológica* 14 (2): 91-103.
- Mora-Navarro, M.R., Vázquez-García J.A., Vargas-Rodríguez Y. L. y Hernández-Herrera, M. 2006. *Algas del Occidente de México: Florística y Ecología*. ISBN 970270896-6. Guadalajara, Jalisco, México.
- Mora, R, N. Ortiz, Y. Clemente, J. Bermúdez, D. Avendaño y E. Morales. 2002. Efecto del nitrato, irradiancia y salinidad sobre la producción de clorofila a de microalgas cultivadas y aisladas en la región noroccidental de Venezuela. *Oceánides*, 17(2):73-83.
- Moreno, J., 2000. Fitoplancton. En: De la Lanza Espino, G.; S. Hernández Pulido y J. L. Carvajal Pérez (Comp.) *Organismos indicadores de la calidad del agua y de la contaminación SEMARNAP/ CNA/ Plaza y Valdés Editores/ UNAM/ Instituto de Biología*. México, pp. 43 - 108.
- Morison, C., I. Albarracín, M. Cingolani. 2008. Utilización de *Scenedesmus quadricauda* como alimento funcional. *Memorias del II Congreso Latinoamericano de Biotecnología algal*. ISBN 978-607-7579-00-7. Xalapa, Veracruz, México.
- Morris, Q.H.J., M.M. Quintana, A. Almarales y L. H. 1999. Composición bioquímica y evaluación de la calidad proteica de la biomasa autotrófica de *Chlorella vulgaris*. *Rev Cubana Aliment Nutr*; 13(2):123-8
- Morris, H., O. Carrillo, A. Almarales, R. Bermúdez, M. Alonso. L. Borges. M. Quintana, R. Fontaine, G. Llauro y M. Hernandez. 2009. Protein hydrolysates from the alga *Chlorella vulgaris* 87/1 with potentialities in immunonutrition. *Biotecnología Aplicada* 2009; Vol.26, No.2
- Naselli-Flores, L. y R. Barone, 2000. Phytoplankton dynamics and structure: a comparative analysis innatural and man-made water bodies of different trophic state. *Hydrobiologia* 438: 65–74.
- Neill, W. E., 1994. Spatial and temporal scaling and the organization of limnetic communities. In: Giller, P. S.; A. G. Hildrew y D. G. Raffaelli (Eds.), *Aquatic ecology. Scale. pattern and process* Blackwell Scientific. p. 189-231
- Nieves-Soto, M. 1994. Producción de fitoplancton a bajo costo. Aislamiento y cultivo de *Monoraphidium* sp. (chlorophyceae) en un sistema estático en medio F y cuatro a base de fertilizantes agrícolas. *Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología*. <<http://biblioweb.tic.unam.mx/cienciasdelmar/instituto/1994-1-2/articulo443.html>> (Consulta realizada el 14 de diciembre de 2013).
- Novelo, E., 1998. *Floras ficológicas del valle de Tehuacán, Puebla*. Tesis Doctorado. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 599 págs.
- Núñez-Márquez, I. G. y M. E. Reyes-González, 1995. Contribución al conocimiento del fitoplancton del lago de Chapala, Jalisco, México. Durante el período de febrero a mayo de 1989, 1990 y 1991. Tesis de Licenciatura (Biología). Universidad de Guadalajara, Guadalajara, México. 69 p

- Odebrecht, C, Azevedo SMEO, García VMT, Huszar VLM, Magalhães VE, Menezes M, Proença LAO, Rörig LR, Tenenbaum DR, Villac MC, Yunes JS (2002) Floraciones de microalgas nocivas en Brasil: Estado del arte y proyectos en curso. En Sar EA, Ferrario ME, Reguera B (Eds.) Floraciones algales nocivas en el cono Sur Americano. Instituto Español de Oceanografía. IOC Harmful Algal Bloom Programme. Vigo, España. pp. 219-233.
- Odlare, M., E. Nehrenheim, V. Ribé, E. Thorin, M. Gavare, M. Grube. 2011. Cultivation of algae with indigenous species – Potentials for regional biofuel production. *Applied Energy* 88, 3280–3285
- Quevedo, O.C., S.P. Morales Y A. Acosta. 2008. Crecimiento de *Scenedesmus* sp., en diferentes medios de cultivo para producción de proteína microalga. ISSN 0121-4004 volumen 15 número 1, año 2008. *vitae*, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. Págs. 25-31
- Quiroz, H., L. Mora, I. Molina y J. García. 2004. Variación de los Organismos Fitoplanctónicos y la Calidad del Agua en el Lago de Chapala, Jalisco, México. *Acta Universitaria*. Vol. 14 No.1 Enero-Abril 2004.
- Oliva, M.G., A. Lugo, J. Alcocer, L. Peralta, and Ma. Rosario Sánchez. 2001. Phytoplankton dynamics in a deep, tropical, hyposaline lake. *Hydrobiologia* 466(1-3): 299-306.
- Oliva, M.G, A. Rodríguez, A. Lugo, y M. Sánchez. (2008). Composición y dinámica del fitoplancton en un lago urbano hipertrófico. *Hidrobiológica*, 18(1, Supl. 1), 1-13. Recuperado en 18 de junio de 2014, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-88972008000400004&lng=es&tlng=es.
- Oliver, R. L. y G. G. Ganf (2000). Freshwater blooms. En: *The Ecology of Cyanobacteria*. B. A. Whiton and M. Potts (Eds.) Dordrecht, Kluwer Academic Press: 149-194.
- Ortega, M. M.; J. L. Godínez; G. Garduño y M. G. Oliva, 1995. Ficología de México. Algas continentales. AGT Editor. México, XXII. 221 págs.
- Ortega-Murillo, M., R. Alvarado-Villanueva, J. Sánchez-Heredia, R. Hernández-Morales, M. Arredondo-Ojeda e I. Martínez. 2011. Abundancia y distribución del fitoplancton en un lago hiposalino, Michoacán, México. *Biológicas*, 13(2): 15–20.
- Ortega-Salas, A. A. y Reyes-Bustamante, H. 2012. Cultivo de las microalgas dulceacuícolas. *Kirchneriella obesa*, *Scenedesmus quadricauda* y *Chlorococcum infusorium* empleando tres medios de cultivo. *Avances en Investigación Agropecuaria*. 16(2): 35-44.
- Osorio, B. 1941. Materiales para el Estudio del Microplancton del Lago de Pátzcuaro. I. Generalidades y Fitoplancton. *An. Esc. Nac. Cieñe. Biol. Méx.* III (2-3): 331-383.
- Osorio, B., 1942. Estudios sobre el plancton de México. II. El género *Trachelomonas* Ehrenberg, con descripción de nuevas especies (Euglenophyta, Euglenaceae). *Ciencia*, III (8-9): 249-254.

- Padisák, J., Soróczyki-Pintér, E. and Rezner, Z. (2003). Sinking properties of some phytoplankton shape and the relation of form resistance to morphological diversity of plankton: an experimental study. *Hydrobiologia*, 500, 243–57.
- Parra, O. O. y C. E. M. Bicudo, 1996. Algas de aguas continentales: Introducción a la biología y sistemática. Ed. Universidad de Concepción, Chile. 268 p
- Paulson, J. 2005. Development and assessment of models for predicting the phytoplankton assemblage patterns in Lake Kemp. Thesis in Fisheries Science, Faculty of Texas Tech University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science. 68 p.
- Pellón, A., E. Benítez, J. Frades, L. García, A. Cerpa y E.J. Alguacil. 2003. Empleo de microalga *Scenedesmus obliquus* en la eliminación de cromo presente en aguas residuales galvánicas. *Rev. Metal Madrid* 39 (2003) 9-16.
- Pérez, R. y E. Salas, 1958. Euglenae del Valle de México. I. Algunas especies encontradas en el estanque de Chapultepec. *Rev. Latinoamer. Microbiol.*, 1: 303-325.
- Perlman, D. L. y G. Adelson, 1997. Biodiversity. Exploring values and priorities in conservation. Blackwell Science Editorial. Malden, Massachusetts. IX. 182 págs.
- Pineda-Mendoza, R., F. Martínez-Jerónimo, G. Garduño-Solórzano y R. Olvera-Ramírez. 2011. Caracterización morfológica y molecular de cianobacterias filamentosas aisladas de florecimientos de res lagos urbanos eutróficos de la ciudad de México. Núm. 31, pp. 31-50, ISSN 1405-2768; México
- Piña, P., M. A. Medina, Ma. Nieves, S. Leal, J. A. López-Elias y M. A. Guerrero. 2007. Cultivo de cuatro especies de microalgas con diferentes fertilizantes utilizados en acuicultura. *Rev. Invest. Mar.* 28(3):225-23
- Popowski, G., M. Sánchez y J. Alvarez-Cadena. 2001. Composición y abundancia de las microalgas halino-resistentes en los sedimentos minero-medicinales en salinas de Cuba. *Hidrobiológica*, 11 (1): 61-67.
- Prescott, G.W. 1979. How to know the freshwater algae. 3rd ed. William C. Brown co., Publishers, Dubuque, Iowa.
- Pum, M. y Bretado-Aguirre. 1989. Una contribución a la posición del fitoplancton del Lago de Chapala, Jalisco. A contribution to the phytoplankton species composition of lake Chapala, Jalisco. Instituto de Limnología. Universidad de Guadalajara.
- Qin S, G. Liu, y Z. Hua. 2008. The accumulation and metabolism of astaxanthin in *Scenedesmus obliquus* (Chlorophyceae). *Process Biochemistry* 43: 795–802.
- Rabinowitz, D., Cairns, S. & Dillon, Th., 1986. Seven forms of rarity and their frequency in the flora of British Isles. En: *Conservation Biology. The Science of Scarcity and Diversity*. Ed. Michael E. Soulé. pp. 182-204. Sinauers Associates, Inc. Massachusetts 584 pp.
- Raouf, B., Kaushika, B.D. & Prasanna, R. 2006. Formulation of a low-cost medium for mass production of *Spirulina*. Division of Microbiology, Indian Agricultural Research Institute, New Delhi 110 012, India and the Centre for Conservation and

- Utilization of Blue–Green Algae, Indian Agricultural Research Institute, New Delhi, 110 012, India. <http://www.aseanbiotechnology.info/Abstract/21019148.pdf>
- Rawat, I., R. Ranjith Kumar, T. Mutanda, F. Bux. 2011. Dual role of microalgae: Phycoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production. *Applied Energy* 88 (2011) 3411–3424
- Reynolds, C. S., 1984. *The ecology of freshwater phytoplankton* Cambridge University Press. New York.
- Reynolds, C. S., 1992. Dynamics, selection and composition of phytoplankton in relation to vertical structure in lakes. *Ergeb. Limnol.*, 35: 13-31.
- Reynolds, C. S., V. Huszar, C. Kurk, L Naselli–Flores & S. Melo. 2002. Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. *Journal of Plankton Research* 24: 417–428.
- Reynolds, C.S. 2003. Pelagic community assembly and the habitat template. *Bocconeia*, 16, 323–39.
- Reynolds, C. S. 2006. *Ecology of phytoplankton*. Cambridge, UK: Cambridge University Press
- Reyes, Z. y R. Gelabert. 2008. Cepas de microalgas aisladas de la laguna de términos, Campeche. *Congresos Biotecnología Algal y Biotecnología Ambiental 2008*. ISBN: 978-607-7579-007
- Rioja, E., 1940. Observaciones acerca del plancton del Lago de Pátzcuaro. *An. Inst Biol. Univ. Nac. Autón. México*, 1 1 : 41 7-425.
- Rioja, E., 1942. Estudios hidrobiológicos. VII. Apuntes para el estudio de la laguna de San Felipe Xochiltepec (Puebla) I. *An. Inst. Biol. Univ. Nac. Autón. México*, 13:503-517.
- Rioja, E. y T. Herrera, 1951. Ensayo ecológico sobre el limnobia de Lerma y sus alrededores. *An. Inst. BioL Univ. Nac. Autón. México.*, 22: 565-591.
- Romo, P. A. K. 2002. Manual para el cultivo de microalgas. Memoria técnica profesional. Tesis. UABCS. 50pp.
- Richerson, P.; R. Armstrong y C. R. Goldman, 1970. Contemporaneous disequilibrium, a new hypothesis to explain "the paradox of the plankton". *Proc. Nat. Acad. ScL*, 67 1710-1714.
- Richmond, A. 1986. *Handbook of microalgal mass cultura*. CRC. Press. Florida. 528 pp.
- Rodolfi, L., GC. Zittelli, N. Bassi, G. Padovani, N. Biondi, G. Bonini & MR. Tredici. 2009. Microalgae for oil: strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor. *Biotechnol. Bioeng.* 102: 100-112.
- Rodríguez-Herrera, R., C. N. Aguilar-González, L. A. Ayala-Labarríos, J.C. Rocha-Revilla, V. Padilla-García, y T. C. Espinosa-Hernández. 2009. Detección De Microorganismos Mediante Métodos Moleculares. *AQM Revista de Divulgación Científica*. Año 1, No. 1.

<<http://www.postgradoeinvestigacion.uadec.mx/AQM/No.%201/AQMmicroorganismos.html>> (consultada el 23 de mayo de 2014)

- Ruiz-Marín, A., Mendoza-Espinosa, L. G., & Sánchez-Saavedra, M. del P. (2011). Photosynthetic characteristics and growth of alginate-immobilized *Scenedesmus obliquus*. *Agrociencia*, 45(3), 303-313. Recuperado en 05 de enero de 2014, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952011000300004&lng=es&tlng=.
- Saleh, A. M., L. A. Hussein, F. E. Abdalla, M. M. El-Fouly, A. B. Shaheen. 1985. The nutritional quality of drum-dried algae produced in open door mass culture. *Zeitschrift für Ernährungswissenschaft*. Volume 24, Issue 4, pp 256-263.
- Sámamo-Bishop, A. y D. Sokolof, 1931. La flora y fauna de aguas dulces del Valle de México Monografía (1). Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México, fase. 1-2: 5-49.
- Sámamo-Bishop, A., 1940. Algas del Valle de México. Parte II. *An. Inst Biol Univ. Nac. Autón. México*, 11: 41-50.
- Sanjuan, A. 2006. Estadística aplicada a la ecología. Presentaciones digitales del curso de Ecología II. Facultad de Biología Marina. Universidad Jorge Tadeo Lozano. Santa Marta.
- Sarmiento, F. 2000. Diccionario de ecología. Paisajes, conservación y desarrollo sustentable para Latinoamérica. Quito. 362 p.
- Scheffer, M. 1998. *Ecology of Shallow Lakes*. Chapman & Hall. London. 357 p.
- Schenk, P., R. Thomas-Hall, E. Stephens, U. Marx, J. Mussnug, C. Posten, O. Kruse, B. Hankamer. 2008. Second Generation Biofuels: High-Efficiency Microalgae for Biodiesel Production. *Bioenerg. Res.* (2008) 1:20–43
- Secretaría de Salud (ss.). 2002. Primer diagnóstico nacional de salud ambiental y ocupacional, México, Comisión Federal para la Protección Contra Riesgos Sanitarios, Dirección General de Salud Ambiental.
- Semarnat-Conagua, Compendio de estadísticas ambientales: calidad del agua conforme a parámetros físicos, químicos y biológicos, Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales y Comisión Nacional del Agua, Gerencia de Saneamiento y Calidad del Agua, México, 2007, <http://aplicaciones.semarnat.gob.mx/estadisticas/compendio2010/10.100.13.5_8080/ibi_apps/WFServletad33.html > (consulta realizada el 22 de febrero de 2012).
- Semarnat 2012. Informe de la situación del medio ambiente en México. Compendio de estadísticas ambientales, indicadores clave y de desempeño ambiental. Edición 2012. http://app1.semarnat.gob.mx/dgeia/informe_12/06_agua/cap6_3.html (consulta realizada el 29 de enero de 2014)
- Serrano, B.L.M. 2012. Estudio de cuatro cepas nativas de microalgas para evaluar su potencial uso en la producción de biodiesel. Tesis de maestría. Colombia. Universidad Nacional de Colombia.

<<http://www.bdigital.unal.edu.co/7825/1/299883.2012.pdf>> (Consulta realizada el 29 de octubre de 2013).

- Siegal, D. A., 1998. Resource competition in a discrete environment: Why are plankton distribution paradoxical? *Limnol. and Oceanog.*, 43: 13-146.
- Simons, T. 1984. Effect of outflow diversion on circulation and water quality of Lake Chapala, Report prepared for Centro de Estudios Limnológicos of SARH, OPS project MEX-CWS-010.
- Starmach, K. 1995. Freshwater algae of the Thala Hills oasis (Enderby Land, East Antarctic) *Polish Polar Research* 16:3-4 113-148.
- Stansell, G., V. Myles y S. David. 2011. Microalgal fatty acid composition: implications for biodiesel quality. *J Appl Phycol*. Springer.
- Sommaruga, R., Y. Chen & Z. Liu. 2008. Multiple strategies of bloom-forming *Microcystis* to minimize damage by solar radiation in surface waters. *Microbial Ecology*. Doi: 10.1007/s00248-008-9425-4
- Sommer, U., 1984. The paradox of the plankton: fluctuations of phosphorus availability maintain diversity of phytoplankton in flow-through cultures. *Limnol. and Oceanog.*, 29: 633-636.
- Suárez, M. E., L. Segura P. y M. A. Fernández. 1986. Diversidad y abundancia del plancton en la Laguna de Catemaco, Veracruz durante un ciclo anual. *Anales Del Centro De Ciencias Del Mar Y Limnología*. <http://biblioweb.tic.unam.mx/cienciasdelmar/instituto/1986-3/articulo256.html> (Consultado el día 25 de noviembre de 2013)
- Taton, A., L. Ewa, D.M. Adin, G. Dong, S. Cookson, S. A. Kay, S.S. Golden, J. W. Golden (2012) Gene Transfer in *Leptolyngbya* sp. Strain BL0902, a Cyanobacterium Suitable for Production of Biomass and Bioproducts. *Plos ONE* 7(1): e30901.
- Tavera-Sierra, R., 1996. Phytoplankton of the tropical lake Catemaco. Ph. D. Thesis. Faculty of Biological Sciences, University of South Bohemia. České Budejovice, Czech Republic. 108 p.
- Tavera-Sierra, R., J. Elster y P. M Arvan, 1994. Diatoms from Papa-loapan basin communities, Mexico. *Algological Studies* 74: 35-65
- Tillman, D.; S. S. Kilham y P. Kilham, 1982. Phytoplankton community ecology: the role of limiting nutrients. *Annual Rev. Ecol. Syst.*, 13: 349-372.
- Torres-Ariño, A. 2004. Uso de cianobacterias en la producción de antibióticos. *Ciencia y Mar*, VIII (23); 43-52.
- Torres-Orozco, R., C. Jiménez-Sierra, J. Buen Abad. 1994. Caracterización limnológica de dos cuerpos de agua tropicales de Veracruz, México. *Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología*. <http://biblioweb.tic.unam.mx/cienciasdelmar/instituto/1994-1-2/articulo442.html> (consultado el día 22 de abril de 2014)

- Valenzuela-Espinoza, E., F. Lafarga-De la Cruz, R. Millán-Núñez, F. Núñez-Cebrero. 2005. Crecimiento, consumo de nutrientes y composición proximal de *Rhodomonas* sp. cultivada con medio f/2 y fertilizantes agrícolas. *Ciencias Marinas*, 31(1A):79–89
- Vicent, W.F. (2000). Cyanobacterial dominance in the polar regions. En: *Cyanobacteria: Their diversity in time and space*. B. Whitton and M. Potts (Eds.) Dordrecht, Kluwer Academic Publishers: 321-338.
- Voltolina, D., M. Nieves y P. Piña. 2000. Calidad de microalgas para la acuicultura. pp 28-32 En: Civera-Cerecedo, R., Pérez-Estrada, C.J., Ricque-Marie, D. y Cruz-Suárez, L.E. (Eds.) *Avances en Nutrición Acuícola IV. Memorias del Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. Noviembre 15-18, 1998. La Paz, B.C.S., México.
- Wang, G. T. Wang. 2011. Characterization of Lipid Components in Two Microalgae for Biofuel Application. *J Am Oil Chem Soc*. Springer AOCS.
- Wetzel, R.G., 1981. *Limnología*. Ed. Omega. Barcelona. 679 págs.
- Williams, P. H., Vane-Wright, D., Humphries, C., Kitching, I., Lees, D., Araujo, M. & Gaston, K., 1997 b. Biodiversity. Measuring the variety of Nature & Selecting priority Areas for Conservation. Copyright Ó ‘The Natural History Museum Web Site’: <http://www.nhm.ac.uk/science/projects/worldmap>
- Wright, John C. 1959. Limnology of Canyon Ferry Reservoir. II. Phytoplankton standing crop and primary production. *Limnol. and Oceanog.* 4(3): 235.
- Zalocar, Y., V., Asselborn y S. Casco. 1998. Variaciones espaciales y temporales del fitoplancton en un lago subtropical de Argentina. *Rev. Brasil. Biol.*, 58(3): 359-382
- Zehr, J., Bench S.R., Mondragon E.A., McCarren J., De-Long E.F. 2007. Low genomic diversity in tropical oceanic N₂-fixing cyanobacteria. *Proc Nat Acad Sci* 104: 17807–17812.
- Zhao, G., J. Yu, F. Jiang, X. Zhang. 2012. The effect of different trophic modes on lipid accumulation of *Scenedesmus quadricauda*. *Bioresour Technol.* Jun; 114:466-71

Anexo I

Listado taxonómico

Charophyta

Conjugatophyceae

Desmidiaceae

Closteriaceae

Closterium aciculare T. West, 1860

Closterium acutum Brébisson in Ralfs 1848

Closterium diana Ehrenberg ex Ralfs 1848

Desmidiaceae

Staurastrum longiradiatum West & G.S. West 1896

Staurastrum sebaldi var. *ornatum* f. *quadribrachiata* P. Bourrelly 1978

Chlorophyta

Trebouxiophyceae

Treboxiales

Botryococcaceae

Botryococcus braunii Kützing 1849

Trebouxiophyceae

Crucigenia quadrata Morren 1830

Chlorophyceae

Chlorellales

Chlorellaceae

Chlorella vulgaris Beijerinck Nováková, 1890

Botryosphaerella sp. P.C. Silva, 1970

Oocystaceae

Oocystis lacustris Chodat 1897

Sphaeropleales

Scenedesmaceae

Scenedesmus quadricauda (Turpin) Brébisson in Brébisson & Godey 1835

Scenedesmus acuminatus (Lagerheim) Chodat 1902

Scenedesmus bijuga (Turpin) Lagerheim 1893

Selenastraceae

Monoraphidium sp. Komárková-Legnerová 1969

Kirchneriella obesa (West) West & G.S. West

Chlamydomonadales

Treubariaceae

Treubaria sp. C. Bernard, 1908

Volvocaceae

Eudorina elegans Ehrenberg 1832

Chlorococcales

Coccomyxaceae

Gloeocystis major Gerneck ex Lemmermann 1915

Hydrodictyaceae

Pediastrum simplex Meyen 1829

Pediastrum duplex Meyen 1829
 Zygnematales
 Desmidiaceae
Staurastrum sebaldii Reinsch 1866
 Ulvophyceae
 Ulotrichales
 Ulotrichaceae
 Ulothrix sp. Kützing, 1833
 Cyanophyta
 Cyanophyceae,
 Synechococcales,
 Merismopediaceae
Aphanocapsa rivularis (Carmichael) Rabenhorst 1865
Merismopedia glauca (Ehrenberg) Kützing 1845
Synechocystis aquatilis Sauvageau 1892
 Synechococcaceae
Synechococcus sp 1 Nägeli, 1849
Synechococcus sp 2 Nägeli, 1849
 Chroococcales,
 Microcystaceae
Microcystis aeruginosa (Kützing) Kützing 1846
Microcystis flos aquae (Wittrock) Elenkin 1938
Gloeocapsa aeruginosa Kützing 1843
 Nostocales,
 Nostocaceae
Aphanizomenon sp. 1 A.Morren ex Bornet & Flahault, 1888
Anabaena flos aquae Rébisson ex Bornet & Flahault
Aphanizomenon flos-aquae Ralfs ex Bornet & Flahault
Anabaena sp. Bory de Saint-Vincent ex Bornet & Flahault, 1886
Anabaena solitaria Klebahn 1895
Aphanizomenon sp. 2 A.Morren ex Bornet & Flahault, 1888
Aphanizomenon sp. 3 A.Morren ex Bornet & Flahault, 1888
 Oscillatoriales
 Oscillatoriaceae
Lyngbya sp. 1. C.Agardh ex Gomont, 1892
Lyngbya sp. 2. C.Agardh ex Gomont, 1892
Lyngbya sp. 3. C.Agardh ex Gomont, 1892
 Pseudanabaenales
 Pseudanabaenaceae
Leptolyngbya sp. Anagnostidis & Komárek, 1988
Leptolyngbya frigida (F.E. Fritsch) Anagnostidis & Komárek 1988
 Dinophyta
 Dinophyceae
 Gonyaulacales
 Ceratiaceae
Ceratium sp. Schrank, 1793
 Euglenophyta

Euglenophyceae
 Euglenales
 Euglenaceae
Euglena ovum Ehrenberg 1840
Phacus sp. Dujardin, 1841
Euglena gracilis Klebs 1883
 Phacaceae
Phacus pleuronectes (O.F. Müller) Nitzsch ex Dujardin 1841
 Heterokontophyta
 Coccinodiscophyceae
 Aulacoseirales
 Aulacoseiraceae
Aulacoseira granulata (Ehrenberg) Simonsen 1979
 Xanthophyceae
 Mischococcales
 Botrydiopsidaceae
Botrydiopsis sp. Borzi, 1889
 Bacillariophyceae
 Thalassiosirales
 Stephanodiscaceae
Cyclotella meneghiniana Kützing 1844
 Cymbellales
 Cymbellaceae
Cymbella aspera (Ehrenberg) Cleve 1894
 Surirellales
 Surirellaceae
Surirella Turpin, 1828
 Naviculales
 Naviculaceae
Navicula gracilis Ehrenberg 1832
Navicula sp.
Caloneis sp. Cleve, 1894
 Rhopalodiales
 Rhopalodiaceae
Epithemia sp. Kützing, 1844
 Pinnulariaceae
Pinnularia viridis (Nitzsch) Ehrenberg 1843
 Fragilariophyceae
 Fragilariales
 Fragilariaceae
Fragilaria sp. Lyngbye, 1819
 Synurophyceae
 Synurales
 Mallomonadaceae
Mallomonas sp. Perty, 1852

Anexo 2

Medios de Cultivo para Microalgas

Medio para CIANOFITAS

Zarrouk modificado para *Spirulina* de Vonshak *et al.*, 1982

NaCl	1.0 g
K ₂ SO ₄	1.0 g
KNO ₃	3.0 g
H ₃ PO ₄	0.25 mL
NaHCO	16.8 g
EDTA	0.08 g
FeSO ₄ 7H ₂ O	0.01 g
Solución de elementos traza A*	1 mL
Solución de elementos traza B**	1 mL

*Solución de elementos A (para un litro)

H ₃ BO ₃	2.86 g
MnCl ₂	1.81 g
ZnSO ₄ 7H ₂ O	0.22 g
CuSO ₄ 5 H ₂ O	0.079 g
MoO ₃	0.015 g

**Solución de elementos B (para un litro)

NH ₄ VO ₃	22.96 mg
K ₂ Ca(SO ₄) ₄ 24 H ₂ O	96.0 mg
NiSO ₄ 7H ₂ O	47.85 mg
NaWO ₂ 2H ₂ O	17.94 mg
Te ₂ (SO ₄) ₂	40.00 mg
Co(NO ₃) ₂ 6H ₂ O	43.98 mg

Medios para CLOROFITAS

Medio de Bristol (H.C. Bold, 1949)

Sales	1000 mL de H ₂ O destilada
NaNO ₃	1 g
CaCl ₂ • 2H ₂ O	0.025 g
MgSO ₄ • 7H ₂ O	0.075 g
K ₂ HPO ₄	0.075 g
KH ₂ PO ₄	0.075 g
NaCl	0.025 g
Solución de oligoelementos*	5 mL
Solución de Vitaminas**	5 mL

* Solución de oligoementos

Sales	1000 mL de H₂O destilada
ZnCl ₂	1 µg
MnCl ₂	1 µg
Na ₂ MoO ₄	1 µg
CoCl ₃	0.1 µg
CuSO ₄	0.1 µg
Citrato férrico	20 µg
Na ₂ EDTA	26.4 µg

** Solución de Vitaminas:

Vitaminas	1000 mL de H₂O destilada
Tiamina*	35 µg/l
Biotina*	5 µg/l
pH del medio	7.5

Por separado se preparan las soluciones de *oligoelementos y ** vitaminas. Los *oligoelementos se disuelven en 1000 ml de H₂O destilada y se esterilizan en autoclave a 15 lb/120°C durante 15 minutos. Dejar enfriar y mantener en frasco ámbar. Las ** vitaminas se pesan y se disuelven en H₂O destilada, se esterilizan por filtración a través de una membrana fibra de vidrio GF/C previamente estéril. Mantener en refrigeración. Los nitratos, fosfatos, sulfatos y cloruros, se disuelven en 1000 mL de H₂O destilada y se

esterilizan a 15 lb/120°C durante 15 minutos. La mezcla total se hace una vez que las soluciones están a temperatura ambiente.

Medio CHU10

Sales	1000 mL de H ₂ O destilada
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	0.232 g
K ₂ HPO ₄	0.01 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.025 g
Na ₂ CO ₃	0.02 g
Na ₂ SiO ₃ ·5H ₂ O	0.044 g
Citrato férrico	3.5 mg
Ácido Cítrico	3.5 mg
Soluciones de metales	1.0 mL

Soluciones de metales:

Sales	1000 mL de H ₂ O destilada
H ₃ BO ₃	2.4 g
MnCl ₂ ·4H ₂ O	1.4 g
ZnCl ₂	0.4 g
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.02 g
CuCl ₂ ·2H ₂ O	0.1 mg

Medio F/2

Sales	1000 mL de H ₂ O destilada
NaNO ₃ (75.0 g/L dH ₂ O)	1.0 ml
NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O (5.0 g/L dH ₂ O)	1.0 ml
Na ₂ SiO ₃ ·9H ₂ O (30.0 g/L dH ₂ O)	1.0 ml
f/2 Solución de metales traza*	1.0 ml
f/2 Solución de vitaminas**	0.5 ml

Nota: La solución de Na₂SiO₃·9H₂O se precipita, esto sólo hay que agregarlo si se quiere cultivar diatomeas.

* Solución de Metales traza

Sales	1000 mL de H ₂ O destilada
FeCl ₃ ·6H ₂ O	3.15 g
Na ₂ EDTA·2H ₂ O	4.36 g
CuSO ₄ ·5H ₂ O (9.8 g/L dH ₂ O)	1.0 ml
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O (6.3 g/L dH ₂ O)	1.0 ml
ZnSO ₄ ·7H ₂ O (22.0 g/L dH ₂ O)	1.0 ml
CoCl ₂ ·6H ₂ O (10.0 g/L dH ₂ O)	1.0 ml
MnCl ₂ ·4H ₂ O (180.0 g/L dH ₂ O)	1.0 ml

f/2 Solución de Vitaminas:

Vitaminas	1000 mL de H ₂ O destilada
Vitamina B ₁₂ (1.0 g/L dH ₂ O)	1.0 ml

Biotina (0.1 g/L dH ₂ O)	10.0 ml
Tiamina HCl	200.0 mg

Medios solidos

Para medios sólidos agregar 15 gramos de agar-agar a un litro de medio de cultivo de algas, esterilizar a 15 lb/120°C durante 15 minutos.

Nota: Algunos medios después de esterilizar cambian el color, esto es normal.