

# MICROALGAE OF THE BOSQUE AZUL LAKE, FIRST REPORT OF *Limnothrix planctonica* IN MONTEBELLO, CHIAPAS, MÉXICO

## MICROALGAS DEL LAGO BOSQUE AZUL, PRIMER REPORTE DE *Limnothrix planctonica* EN MONTEBELLO, CHIAPAS, MÉXICO

Olán-Jiménez, K.<sup>1</sup>; Rosales-Quintero, A.<sup>1</sup>; Novelo, E.<sup>2</sup>; Álvarez-Gutiérrez, P.E.<sup>3</sup>;  
Castañón-González, J.H.<sup>1</sup>; Enciso-Saénz, S.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez, Maestría en Ciencias en Ingeniería Bioquímica, Carretera Panamericana Km 1080, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. 29050.

<sup>2</sup>Universidad Nacional Autónoma de México, Departamento de Biología Comparada, Facultad de Ciencias, México. <sup>3</sup>Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez Catedrática-CONACYT. Carretera Panamericana Km 1080, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. 29050.

\*Autor de correspondencia: arnol122@gmail.com

### ABSTRACT

**Objective:** To identify microalgae morphologically from Bosque Azul Lake from Montebello Lakes National Park, Chiapas.

**Design/methodology/approach:** The samples were collected in April 2018 using a conical network by horizontal dragging for five minutes at 30 cm below the water surface. The samples were inoculated in test tubes in Guillard F/2 and BBM culture media to observe the presence of microalgae in optical microscope (10X and 40X). For the isolation, striation technique and serial dilutions in relation to 1:10 was applied, white LED lamps of 18 watts were used as a source of illumination, a photoperiod of 12:12 and a temperature of 25°C±2. For the morphological identification, semipermanent preparations were made for observation in two types of microscope: one of phase contrast and another of differential interference (20X, 40X and 100X). The morphological characteristics were compared with specialized bibliography according to their microalgal group.

**Results:** It was possible to isolate and morphologically identify two microorganisms from the Bosque Azul lake, belonging to the Lagunas de Montebello National Park, a *Pectinodesmus pectinatus* microalgae and a cyanobacterium *Limnothrix planctonica*.

**Limitations of the study/implications:** It is necessary to investigate the implications of these microalgae groups in the trophic state of the Bosque Azul lake, as well as the possible toxicity that *Limnothrix planctónica* may cause in the lake fish's.

**Findings/conclusions:** There are reports of lipid accumulation in *Pectinodesmus pectinatus* that could be used for the production of biofuels such as biodiesel. In the other hand, *Limnothrix planktonic* has been reported as a producer of metabolites with biotechnological potential in the production of lipids, pigments, carbohydrates and exopolysaccharides. Both microorganisms are the first reports in Chiapas and in the case of *Limnothrix planctónica*, the first report in Mexico.

**Keywords:** Isolation, identification, freshwater.

## RESUMEN

**Objetivo:** Identificar morfológicamente microalgas del lago Bosque Azul del Parque Nacional Lagunas de Montebello, Chiapas.

**Diseño/metodología/aproximación:** Las muestras se recolectaron en abril de 2018 usando una red cónica por arrastre horizontal durante cinco minutos a 30 cm por debajo de la superficie de agua. Las muestras fueron inoculadas en tubos de ensayo en los medios de cultivo Guillard F/2 y BBM para observar la presencia de microalgas bajo microscopio óptico (10X y 40X). Para el aislamiento se aplicó la técnica de estriado y diluciones seriadas en relación 1:10, usando lámparas LED blancas de 18 watts como fuente de iluminación, un fotoperiodo de 12:12 y temperatura de 25 °C±2. Para la identificación morfológica se realizaron preparaciones semipermanentes para su observación en dos tipos de microscopio uno de contraste de fases y otro de interferencia diferencial (20X, 40X y 100X). Las características morfológicas obtenidas se compararon con bibliografía especializada de acuerdo a su grupo microalgal.

**Resultados:** Se logró aislar e identificar morfológicamente dos microorganismos de la laguna Bosque Azul del Parque Nacional Lagunas de Montebello una microalga *Pectinodesmus pectinatus* y una cianobacteria *Limnothrix planctónica*.

**Limitaciones del estudio/implicaciones:** Es necesario investigar las implicaciones de estos grupos algales en el estado trófico del lago Bosque Azul, así como la posible toxicidad que pueda causar *Limnothrix planctónica* en los peces del lago.

**Hallazgos/conclusiones:** Existen reportes de acumulación de lípidos en *Pectinodesmus pectinatus* que podrían ser utilizados para la producción de biocombustibles como el biodiesel. Por otro lado, *Limnothrix planctónica* ha sido reportada como productora de metabolitos con potencial biotecnológico en la producción de lípidos, pigmentos, carbohidratos y exopolisacáridos. Ambos microorganismos son los primeros reportes en Chiapas y en el caso de *Limnothrix planctónica*, el primer reporte en México.

**Palabras clave:** Aislamiento, identificación, agua dulce

este ecosistema para su conservación y el aseguramiento de la biodiversidad. Entre los estudios previos sobre la diversidad de microalgas en Chiapas, está el realizado por Novelo (2013), quien reporta que existen al menos 81 especies de microalgas, de las cuales 39 fueron aisladas en la zona arqueológica de Palenque. Recientemente, Sánchez-Roque *et al.* (2018) estudiaron ocho diferentes recursos hídricos de Chiapas, de los que reportan que 90% de las microalgas encontradas pertenecen a la clase de Chlorophyceae. En general los estudios sobre el conocimiento de la biota microalgal para Chiapas es escasa, y se consideran importantes dadas las condiciones que prevalecen actualmente en la zona, donde se ha declarado, como una posibilidad del cambio de coloración en las lagunas, por la presencia de estos organismos. Desde el punto de vista fisicoquímico y con presencias de metales pesados, destaca el trabajo de Díaz *et al.* (2018), donde se muestra la presencia de Pb, Cr, Cd, Cu, Mn, Zn y Hg; y niveles de pH de 9.0 en la laguna La Encantada del PNLM cercana a la de este estudio. Con base en lo anterior, y con la finalidad de generar conocimiento sobre las microalgas del Parque Nacional Lagunas de Montebello (PNLM), el objetivo fue, identificar taxonómicamente las microalgas presentes en la laguna Bosque Azul del PNLM.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La recolecta de muestras fue en la laguna Bosque Azul del Parque Nacional Lagunas de Montebello (16° 11' 99" N y 91° 72' 90" O), con una longitud estimada de 1.32 km y 0.82 km de ancho y 58 m de profundidad (Alcocer *et al.*, 2016).

## INTRODUCCIÓN

Chiapas, México, es una de las regiones con mayor biodiversidad del planeta y cuenta con reservas de biósferas, áreas naturales protegidas y parques nacionales. Uno de ellos es el Parque Nacional Lagunas de Montebello (PNLM), que está ubicado en la frontera de México con Guatemala. Este es un destino turístico ampliamente reconocido, y uno de los ecosistemas más importantes de Chiapas. La superficie del parque es aproximadamente de 6,425 Ha, y se han reportado 59 lagos dentro del parque. Esta localizado en los municipios de La Trinitaria y la Independencia y fue declarada área natural protegida, por el decreto presidencial del diario oficial de la federación el 16 de diciembre de 1959 (CONANP, 2007).

Debido a la importancia de este parque como reserva natural y atractivo turístico, es de particular importancia conocer la biodiversidad presente en

A las muestras de agua recolectada, se les midió el pH, temperatura y conductividad eléctrica con un potenciómetro marca HANNA HI981 en cinco puntos del lago Bosque Azul; cada determinación se realizó por triplicado. Para la toma de muestras se usaron frascos de vidrio previamente esterilizados de 120 mL de capacidad mediante un arrastre horizontal por 5 min a 30 cm de profundidad.

### Aislamiento

El aislamiento preliminar se llevó a cabo por observación directa en un microscopio óptico binocular AmScope, para determinar la presencia de microalgas. Las muestras aisladas fueron inoculadas en tubos de ensayo con los medios de cultivo líquidos Guillard F/2 y BBM, para el cultivo en medio sólido, se aplicó la técnica de sembrado en estrías, y diluciones seriadas en relación 1:10 (Andersen y Kawachi, 2005). La propagación de las algas en medios líquidos y sólidos, se llevó a cabo en una cámara bioclimática en las que se usaron lámparas LED blancas de 18 watts como fuente de iluminación, con una intensidad de 9000 luxes, fotoperiodo de 12:12 y temperatura de 25 °C (Garduño et al., 2011). La identificación morfológica se realizó por observación directa en microscopio óptico Nikon Eclipse E400 y Nikon Eclipse 80i, usando como referencia los manuales de: Komárek y Fott (1983); Ettl y Gärtner (1995); Lara-Villa et al. (1996) y Novelo (2012) para comparación e identificación.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Parámetros fisicoquímicos de agua del lago Bosque Azul

El muestreo de agua se llevó a cabo en distintos puntos del lago. Los resultados de la caracterización fisicoquímica se presentan en el Cuadro 1. Los puntos de muestreo obtenidos mediante un GPS, correspondieron a las coordenadas P1: N 16° 07' 31.3" N, 91° 43' 52.3" O; P2: 16° 07' 32.1" N, 91° 44' 00.1" O; P3: 16° 07' 41.3" N, 91° 44' 03.3" O; P4: 16° 07' 36.4" N, 91° 44' 18.9" O; P5: 16° 07' 42.4" N, 91° 44' 05.2" O.

Los registros mostraron que el valor de pH es superior al valor neutro, con un promedio de 8.95. La temperatura en todos los puntos fue la misma. La conductividad fue similar en tres puntos de muestreo, presentándose solo ligera diferencia en los puntos 3 y 4, de 10 y 20 S/m respectivamente.

De acuerdo a Hernández y Labbé (2014), la temperatura registrada para el lago Bosque Azul está dentro del rango óptimo establecido para el crecimiento microalgal (16 a 35 °C). La alcalinidad del lago (pH 8.9), es ligeramente superior al óptimo para el crecimiento de microalgas de acuerdo a lo reportado por Park et al. (2011), que sugiere que pH 8.0, es el más indicado para especies dulceacuícolas. Sin embargo, la FAO (1991) reporta que los rangos de pH para el crecimiento de las microalgas pueden ser de entre 7.0 y 9.0. De acuerdo a lo anterior, las condiciones del lago Bosque Azul puede ser nicho para el crecimiento algal. La conductividad eléctrica varió en dos de los puntos muestreados, esto probablemente debido a un efecto de dilución de los iones en el agua del lago, cuyas dimensiones son grandes.

### Identificación taxonómica

En este estudio del lago Bosque Azul del PNLM, fue posible identificar dos especies de microalgas: una cianoprocariota: *Limnothrix planctonica*, y una clorofita: *Pectinodesmus pectinatus*.

#### *Limnothrix planctonica*

La cepa de *Limnothrix planctonica*, presentó una morfología de filamentos onduladas o intensamente enrolladas, isopolares, delgadas, finas, 1.66-1.88  $\mu\text{m}$  de ancho, con simples, delgadas pero firmes. Tricomas finos, cilíndricos, generalmente no atenuados a los extremos o ligeramente atenuados, con células apicales redondeadas o cónicas. Células isodiamétricas o más largas que anchas (varias veces), cilíndricas azul verdoso pálido, grisáceo. Comunes en los suelos, en agua dulce y agua de mar. De acuerdo a estas características morfológicas, se obtuvo la siguiente taxonomía hasta nivel de especie:

Clase Cyanophyceae

Orden Synechococcales

Familia Pseudanabaenaceae

Subfamilia Pseudanabaenoideae

Género *Limnothrix*

Especie planctónica

**Cuadro 1.** Parámetros fisicoquímicos del agua del lago Bosque Azul, del PNLM.

	P1	P2	P3	P4	P5
pH	8.93±0.00	8.90±0.00	9.04±0.02	8.94±0.03	8.97±0.01
T (°C)	23±0.00	23.1±0.00	23.1±0.00	23±0.00	23.1±0.00
CE (S/m)	600±0.00	600±0.00	610±0.00	620±0.00	600±0.00



**Figura 1.** *Limnothrix planctonica*, aislada del lago Bosque Azul del PNLM.

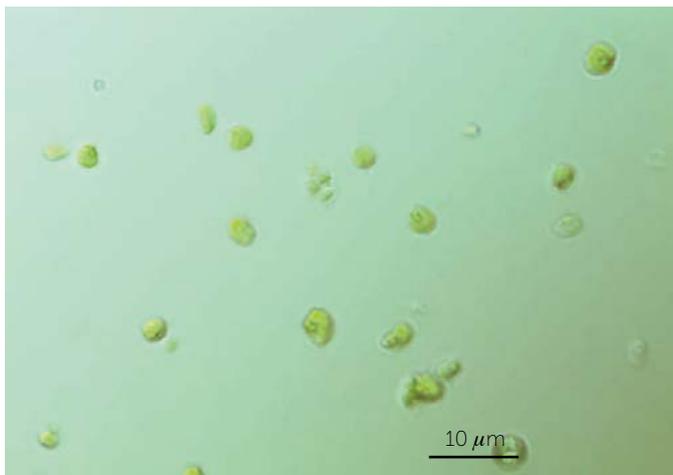
*L. planctonica* ha sido aislada en Polonia (Lenard y Ejankowski 2017), China (Zhu et al. 2012), Tailandia (Som-dee et al., 2013), Estonia (Piiirsoo et al. 2008) y Canadá (Kelly et al., 2006).

### *Pectinodesmus pectinatus*

La cepa de *Pectinodesmus pectinatus* presenta células fusiformes, a veces elipsoidales; las células externas están arqueadas y las internas son rectas. Hay un cloroplasto parietal con un pirenoide por célula. Longitud y anchura de las células de 3-5 μm. De acuerdo a estas características morfológicas, se obtuvo la siguiente taxonomía hasta nivel de especie:

- Clase Chlorophyceae
- Orden Sphaeropleales
- Familia Scenedesmaceae
- Subfamilia Scenedesmoidea
- Género *Pectinodesmus*
- Especie *pectinatus*

Esta microalga es abundante en ambientes eutróficos, lo que significa que es necesario poner atención en cual-



**Figura 2.** *Pectinodesmus pectinatus* aislada del lago Bosque Azul del PNLM.

quier modificación del nivel trófico del cuerpo de agua, también es una especie que tiene registros muy prometedores para su utilización en biorrefinerías, y obtención de metabolitos secundarios de gran demanda.

## CONCLUSIONES

La calidad de agua del lago es aceptable en cuanto a los parámetros determinados; un pH alcalino de 8.9 y conductividad eléctrica de 606 s/m. En este estudio se demostró la presencia de *Pectinodesmus pectinatus*, y *Limnothrix planctonica* en el lago Bosque Azul del PNLM siendo ambas primer reporte para el estado de Chiapas y *L. planctonica* primer registro para México.

## AGRADECIMIENTOS

Al Tecnológico Nacional de México por el financiamiento recibido a través del proyecto 6208.17-P, "Construcción y operación de un fotobiorreactor de agitación neumática para el cultivo de microalgas".

## LITERATURA CITADA

- Alcocer, J., Oseguera, L.A., Sánchez, G., González, C.G., Martínez, J.R., González, J.R. (2016). Bathymetric and morphometric surveys of the Montebello Lakes. Chiapas. J Limnol. 75:56-65.
- Andersen, R.A., Kawachi, M. (2005). Traditional Microalgae Isolation Techniques. Algal Culturing Techniques. Elsevier Academic Press. E.U.A., 83-100.
- CONANP, 2007. Programa de Conservación y Manejo, Parque Nacional Lagunas de Montebello, SEMARNAT, México.
- Díaz C, C.E.; Castañón-G, J.H.; Villalobos-M, J.J.; Ruiz-V, V.M.; Báez-S, R; Gómez J, A., Trejo-V, R. (2018). Quantification of pesticides and heavy metals in sediments of the "Enchanted" lake of the national park ponds of Montebello, Chiapas, México. Revista Internacional de Contaminación Ambiental. (34),99-104.
- Ettl, H., Gärtner, G. (1995). Germany: SEMPER BONIS ARTIBUS.
- FAO. (2011). Desarrollo de la acuicultura. 4. Enfoque ecosistémico a la acuicultura. FAO Orientaciones Técnicas para la Pesca Responsable. 5(4). 60.
- Garduño-Solórzano G, Rodríguez-Palacio M.C, Martínez-García, M. (2011). Cultivos de microalgas del Lago de Catemaco, Veracruz. Rev Latinoam Biotecnol Amb Algal 2(2):67-80.
- Hernández-Pérez, A., Labbé, J.I. (2014) Microalgas, cultivo y beneficios, 49(2), 157-173.
- Kelly, D., Budd, K., Lefebvre, D.D. (2006). Mercury analysis of acid- and alkaline-reduced biological samples: Identification of meta-Cinnabar as the major biotransformed compound in algae. Applied And Environmental Microbiology, 72(1), 361-367.
- Komárek, J., Fott, B. (1983). Alemania: Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung.
- Lara-Villa, M.A., Moreno-Ruiz, J.L., Amaro-Mauricio, E.J. (1996). Fitoplancton: Conceptos Básicos y Técnicas de Laboratorio. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa, México, D. F.

- Lenard, T., Ejankowski, W. (2017). Natural water brownification as a shift in the phytoplankton community in a deep hard water lake. *Hydrobiologia*, 787, 153-166.
- Novelo, E. (2012). México: Instituto de Biología, UNAM.
- Novelo, E. (2013). Diversidad de algas dulceacuícolas. Una riqueza y un potencial por descubrir. pp. 97-102. En: La biodiversidad en Chiapas: Estudio de Estado. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO) y Gobierno del Estado de Chiapas, México.
- Park, J. B. K.; Craggs, R. J.; Shilton, A. N. (2011) Wastewater Treatment High Rate Algal Ponds for Biofuel Production. *Bioresour. Technol.*, 102 (1), 35-42.
- Piirsoo, K., Pall, P., Tuvikene, A., Viik, M. (2008). Temporal and spatial patterns of phytoplankton in a temperate lowland river (Emajõgi, Estonia). *Journal of Plankton Research*, 30(11), 1285-1295.
- Sánchez-Roque, Y., Pérez-Luna, Y., Moreira-Acosta, J., Farrera-Vázquez, N., Berrones-Hernández, R., Saldaña-Trinidad, S., Pathiyamattom J. (2018) Evaluation of the population dynamics of microalgae isolated from the state of Chiapas, México with respect to the nutritional quality of water. *Biodiversity Data Journal* 6: e28496.
- Somdee, T., Tunyalu, K., Somdee, A. (2013). Monitoring toxic cyanobacteria and cyanotoxins (microcystins and cylindrospermopsins) in four recreational reservoirs (Khon Kaen, Thailand). *Environ Monit Assess*, 185, 9521-9529.
- Zhu, M., Yu, G., Li, X., Tan, W., Li, R. (2012). Taxonomic and phylogenetic evaluation of *Limnothrix* strains (Oscillatoriales, Cyanobacteria) by adding *Limnothrix planktonica* strains isolated from central China. *Hydrobiologia*, 698, 367-374.

