

Artículo original de investigación

Cultivos de microalgas del Lago de Catemaco, Veracruz

Garduño-Solórzano, G.,¹ Rodríguez-Palacio, M. C.,^{2*} Martínez-García, M.,¹ Quintanar-Zúñiga, R. E.,¹ Lozano-Ramírez, C.,² Campos-Contreras, J. E.,¹ y Monsalvo-Reyes, A. C.¹

¹ Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM, Av. de los Barrios No. 1, Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México, C.P. 54090.

² Laboratorio de Ficología Aplicada, Departamento de Hidrobiología, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa C.P. 09340, México, D.F.

* Autor de correspondencia: mony@xanum.uam.mx

Resumen

Se aislaron microalgas del Lago de Catemaco, Veracruz, utilizando diferentes técnicas y se establecieron cultivos utilizando medios tales como el F/2, Provasoli y el fertilizante foliar Bayfoland forte. Estos cultivos no axénicos, “semi-continuos” se mantuvieron con ciclo de 12:12, a $20 \pm 1^\circ\text{C}$ y $167 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Se determinaron 17 taxa infraespecíficos, una Cyanoprokaryota y 16 Chlorophyta; de ellas se logró el cultivo clonal de 11 especies: *Acutodesmus acuminatus*, *Closteriopsis acicularis*, *Coelastrum microporum*, *Chlorella minutissima*, *Desmodesmus quadricauda*, *Monactinus simplex*, *Oocystis marssonii*, *Pseudanabaena limnetica*, *Scenedesmus aculeolatus*, *S. obliquus* y *Staurastrum gracile*. Adicionalmente, a partir del material preservado, se determinaron taxonómicamente 6 taxa de *Pediastrum sensu latum*. La obtención del ADN total de *M. simplex* y *Scenedesmus obliquus* se realizó mediante el Kit DNeasy Plant. Se amplificaron las regiones ITS 1, 5.8S e ITS2; *rbc-L* y del *trn-L*. Esta contribución incrementa el conocimiento de algunos géneros de microalgas dulce-acuícolas en México y constituye la primera descripción de la ultra-estructura de poblaciones silvestres y en cultivo para *Monactinus simplex*. Los cultivos establecidos servirán para la búsqueda de sustancias de uso industrial, alimenticio y farmacológico.

Palabras clave: Cultivos, microalgas dulce-acuícolas, ADN de microalgas, Lago Catemaco, Veracruz.

Microalgae cultures from Catemaco Lake, Veracruz, Mexico

Abstract

Various microalgae were isolated from Lake Catemaco, Veracruz, Mexico using different techniques and cultures were established in F/2, Provasoli and foliar fertilizer Bayfoland forte. These non-axenic and semi-continuous cultures were maintained on a 12:12 cycle at $20 \pm 1^\circ\text{C}$ and $167 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Seventeen intraspecific taxa were identified: one Cyanoprokaryota and sixteen Chlorophyta. Eleven clonal cultures were established of the following species: *Acutodesmus acuminatus*, *Closteriopsis acicularis*, *Coelastrum microporum*, *Chlorella*

minutissima, *Desmodesmus quadricauda*, *Monactinus simplex*, *Oocystis marssonii*, *Pseudanabaena limnetica*, *Scenedesmus aculeolatus*, *S. obliquus* y *Staurastrum gracile*. Furthermore, six taxa of *Pediastrum sensu latum* were taxonomically identified using the preserved material. The isolation of the total DNA of *M. simplex* and *S. obliquus* was performed using the DNeasy Plant Kit. The regions ITS 1, 5.8S, ITS, *rbc-L* and *tnr-L*, were amplified. This contribution increases the knowledge of some genera of freshwater algae in Mexico and provides the first description of the ultrastructure of wild populations and cultivated cells of *Monactinus simplex*. The established cultures will be used to search for the presence of compounds with potential use in the food and pharmacological industry.

Key Words: *Microalgae cultures, freshwater microalgae, microalgae DNA, Catemaco Lake.*

1. Introducción

Muchas microalgas se mantienen hasta la fecha inexploradas, por lo que su cultivo representa una gran oportunidad para futuras investigaciones biotecnológicas (Catarina-Guedes *et al.* 2011). Las investigaciones mundiales de las últimas décadas de estos organismos han demostrado que algunos de ellos, producen sustancias anti-inflamatorias, anti-tumorales, antivirales y antimicrobianas; por ejemplo en *Staurastrum gracile* se demostró actividad antibacteriana (Cannell *et al.* 1988), el género *Chlorella* ha sido ampliamente utilizado principalmente para la obtención de luteína (Yongmanitchai & Ward, 1991), varias especies de *Scenedesmus* se cultivan con el propósito de obtener alimento vivo en acuicultura, para bioremediación de aguas residuales y para la producción de biocombustibles por la cantidad de lípidos que produce (Richmond, 1986; Gladue & Maxey, 1994; Abalde *et al.* 1995; González *et al.* 1997; Ördög *et al.* 2004; Chisti, 2007; Badwy *et al.* 2008).

En México los estudios taxonómicos registran más de 837 taxa, de ellos 15 taxa infraespecíficos corresponden a *Pediastrum* y 60 de *Scenedesmus* en 24 localidades del D.F., Estado de México, Veracruz, Puebla y Jalisco (Osorio-Tafall, 1941; Mendoza-

González, 1985; Margain-Hernández, 1989; Carmona & Montejano, 1993; Ortega *et al.* 1995; Banderas-Tarabay, 1997; Torres-Orozco & Estrada-Hernández, 1997; Lugo *et al.* 1998; García Rodríguez y Tavera, 1998; Novelo, 1998; Quiroz-Castelán *et al.* 1999; Tavera *et al.* 2000; Ramírez *et al.* 2001; Escobar-Briones *et al.* 2002; González-Villela & Banderas-Tarabay, 2002; Comas *et al.* 2007; Novelo *et al.* 2007; Oliva-Martínez *et al.* 2008). La filogenia molecular realizada por Buchheim *et al.* (2005), con base a datos de ADNr, no soportan que *Pediastrum* sea monofilético y por tanto proponen la existencia de cuatro géneros más (*Monactinus*, *Parapediastrum*, *Pseudopediastrum* y *Stauridium*). Asimismo, An *et al.* (1999) y Hannen *et al.* (2002) evaluaron a través de la secuenciación del espaciador transcrito interno 2 (ITS-2) del ADNr algunas especies de *Scenedesmus*, como resultado indicaron que este taxón fuera dividido en *Scenedesmus sensu stricto* y *Desmodesmus*.

A lo largo del territorio mexicano encontramos diferentes climas, cuencas, vegetación, topografía, entre otros factores que favorecen el desarrollo de una alta diversidad algal. La República Mexicana cuenta con cerca de 12 mil cuerpos de agua epicontinentales que representan en conjunto 862 mil ha inundadas, ocho lagos

naturales poseen una extensión mayor a 10 mil ha, entre éstos destacan Chapala, Cuitzeo y Pátzcuaro (Arredondo-Figueroa & Aguilar, 1987). El Lago de Catemaco por su extensión ocupa el décimo lugar, pero su mayor importancia radica en sus elevados rendimientos pesqueros de Poeciliidae y Characidae (*Dorosoma petenense*, *Bramocharax caballeroi*, *Astyanax mexicanus*) y la tilapia *Oreochromis niloticus* (Tavera, 1996; Torres-Orozco & Pérez-Rojas, 2002; Komárková & Tavera, 2003).

La cuenca ha sufrido un acelerado proceso de deterioro ambiental, la tala inmoderada de los bosques ha convertido la selva tropical, en agroecosistemas de baja diversidad. La pérdida de cubierta vegetal en esta zona de gran precipitación, ha provocado el acarreo de materiales alóctonos. La ciudad de Catemaco con aproximadamente 60 000 habitantes descargan sus aguas residuales en el mismo lago (Tavera & Castillo, 2000; Komárková & Tavera, 2003). Además el uso de altas cantidades de pesticidas y fertilizantes en las actividades agrícolas y de ganadería han alterado el ecosistema (Torres-Orozco & Pérez-Rojas, 2002). Estas sustancias disueltas en el Lago de Catemaco explican los altos aportes de nitrógeno y fósforo y generan un ambiente eutrófico (Amateco, 2011).

Las publicaciones sobre fitoplancton del Lago de Catemaco, Veracruz, surgen con Suárez *et al.* (1985) quienes determinaron la diversidad, abundancia y distribución del plancton durante un ciclo anual. Más tarde, Tavera (1996) estudió 17 especies de Cyanoprokaryota, 22 de Chlorophyta y 8 de Bacillariophyta. Komárková & Tavera (1996) describieron tres nuevas especies de Cyanoprokaryota: *Cylindrospermopsis catemaco*, *Planktolynghya regularis* y *Aphanothece comasii*. Tavera & Castillo (2000) estudiaron como influye la eutrofización en la composición del

fitoplancton. Komárek & Komárková-Legnerová (2002) publicaron sobre las Cyanoprokaryota del centro de México; ellos indicaron 13 especies para el Lago de Catemaco, donde registran otra especie endémica (*Cyanotetras aerotopa*). También, Komárková & Tavera (2003) investigaron la trama alimenticia, donde *Aulacoseira* y *Pediastrum* son los taxa más consumidos por los peces. Amateco (2011) señaló la composición fitoplanctónica constituida por 64 especies, de ellas 38 nuevos registros para el lago. En este trabajo se desarrollaron cultivos clonales de las microalgas del Lago de Catemaco. Se presenta un listado de los mismos, así como la determinación del género *Monactinus* a través del estudio morfológico, ultraestructural y por técnicas de biología molecular. La aportación de esta investigación es importante al conocimiento de las cepas y especies de microalgas nativas, además servirá para futuras investigaciones en biotecnología algal, así como para delimitar la identidad taxonómica de algunos taxa.

2. Material y Métodos

2.1 Área de Estudio

La Sierra de Los Tuxtlas es un campo volcánico localizado en la costa sur del Estado de Veracruz. Tiene dos volcanes principales, hacia el sur el volcán Santa Martha y hacia el norte el San Martín, entre ambos se localizan varios cuerpos de agua, entre ellos el Lago de Catemaco.

Este se ubica entre las coordenadas geográficas 18° 21' - 18° 27' N y 95° 01' - 95° 07' O, a una altitud de 334 m s.n.m. (Figura 1). En su margen noroeste se asienta la ciudad del mismo nombre, al norte hay algunos manantiales de aguas carbonatadas que sirven para elaborar bebidas gaseosas. El Lago es polimítico, bien oxigenado y eutrófico (Torres-Orozco & Pérez-Rojas, 2002; Amateco, 2011).

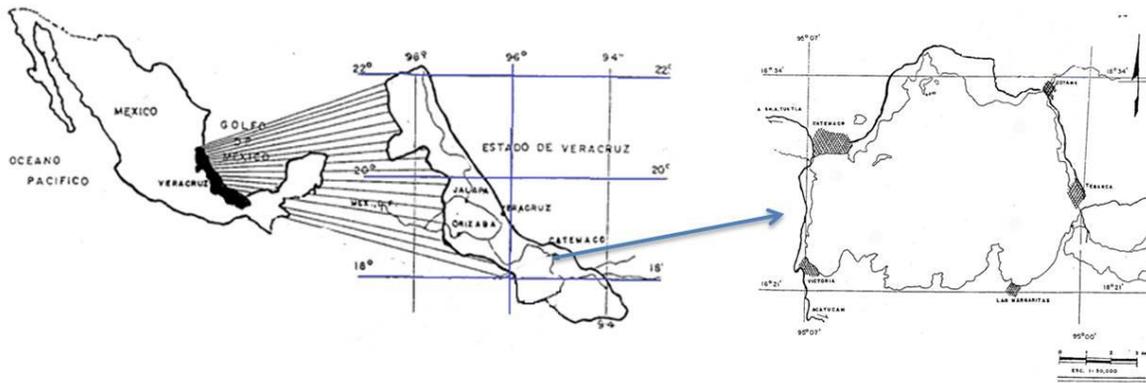


Figura 1. Localización del Lago de Catemaco, Veracruz, México.

El clima corresponde al cálido húmedo (Am), con abundantes lluvias de julio a noviembre (García, 2004). La precipitación promedio anual es de 1935 mm. Los vientos del norte dominan durante los meses de noviembre a enero y el resto del año los del noreste (Torres Orozco *et al.* 1996). Tavera (1996) señala que el promedio de retención del agua es de 0.87 años, esto implica que el volumen del Lago se renueva por lo menos cada año. La temperatura promedio anual es de 24°C y oscila entre los 16 y 34°C (Torres-Orozco & Pérez-Rojas, 2002).

La profundidad máxima es de 22 m y corresponde a una pequeña fosa situada entre la isla de Agaltepec y el poblado de Catemaco, otras áreas profundas se localizan al sur; salvo estos accidentes, la profundidad promedio es de 11 m. El Lago tiene una superficie de 72.54 km² y alberga un volumen de 552 Mm³. El índice de desarrollo litoral es de $D_L=1.65$, su eje principal tiene 12 km de longitud y está orientado en dirección WSW-ENE, con islas en su interior producto de explosiones piroclásticas (Pérez-Rojas & Torres-Orozco, 1992; Torres-Orozco & Pérez-Rojas, 2002).

2.2 Muestreo

El material biológico fue colectado durante octubre 2009, abril 2010 y enero 2011 en cinco zonas, cuatro de ellas abarcaron los puntos cardinales en el litoral y una central. Cada muestra se obtuvo a través de un

arrastre horizontal en la superficie del Lago durante cinco minutos para obtener un concentrado del fitoplancton utilizando una red cónica con una abertura de malla de 20 μm (Ferrario *et al.* 1995). Éste material se dividió en tres porciones iguales: la primera se mantuvo *in vivo* a baja temperatura hasta su traslado al laboratorio para desarrollar los cultivos y las dos siguientes fueron preservadas, una de ellas con formalina al 4% y la otra con glutaraldehído al 4% (Boltovskoy, 1976).

2.3 Medios de Cultivo

Se prepararon los siguientes medios de cultivo, según las formulaciones establecidas: F/2 (Guillard, 1975; Guillard & Ryther, 1962), Provasoli (P) (Andersen *et al.* 1997) y un medio alternativo con el fertilizante foliar Bayfoland Forte (1ml L⁻¹) en agua destilada esterilizada. Asimismo, se utilizó el medio F/2 sólido con agar bacteriológico.

2.4 Aislamiento

Las microalgas se aislaron utilizando diferentes técnicas de cultivo: diluciones seriadas, aislamiento con micropipeta de punta adelgazada, y rayado en estrías en medio sólido (Becker, 1994; Abalde *et al.* 1995; González *et al.*, 1995; Arredondo-Vega & Voltolina, 2007; Rodríguez-Palacio, 2006; Rodríguez-Palacio *et al.* 2011).

A medida que la concentración celular se incrementó los cultivos, se escalaron a

recipientes de mayor volumen, iniciando desde 0.5, 1, 2, 5 y 10 ml. Los cultivos clonales, no axénicos y “semicontinuos” se mantuvieron en un ciclo de luz oscuridad de 12:12, a 20°C, con irradiación de 167 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en las Cámaras de Cultivo del Laboratorio de Ficología Aplicada del Departamento de Hidrobiología en la UAM-Iztapalapa.

2.5 Determinación Taxonómica

El material biológico fue observado con Microscopía de luz (ML) Nikon YS2-T, equipado con una cámara Sony DSC-P200 de 8.2 megapíxeles, y con Microscopía electrónica de barrido (MEB) para registrar los caracteres morfológicos y con ello determinar cada taxón apoyados en las claves de Comas (1996), Komarék & Jankovská (2001), John *et al.* (2002) y Wehr & Sheath (2003). Los taxa se citan según Hoek *et al.* (2003) para la división Chlorophyta y Komárek *et al.* (2003) para la Cyanoprokaryota.

2.6 Microscopía Electrónica de Barrido (MEB)

Para las observaciones en el MEB el material se procesó según Boltovskoy (1976). Las observaciones se realizaron en un MEB marca JEOL modelo JSM6380LV localizado en el Laboratorio de Fisiología Vegetal de la Unidad de Biotecnología y Prototipos (UBIPRO) de la FES-Iztacala, UNAM. Los materiales estudiados fueron depositados en el herbario IZTA (Holmgren *et al.* 1990) con los números de referencia 1197 al 1211.

2.7 Técnicas Moleculares

La obtención de ADN total de *Monactinus simplex* y *Scenedesmus obliquus*, se realizó utilizando el Kit DNeasy Plant de QIAGEN siguiendo el protocolo incluido en el “DNeasy Plant Handbook” (QIAGEN, 2006). El ADN se almacenó a una temperatura de -20°C. Para la verificación

del ADN, se visualizó por medio de la electroforesis horizontal en geles de agarosa al 0.8 % adicionando Midori Green™ como intercalante.

Para realizar las reacciones de amplificación del ADN de las algas mediante la técnica de PCR, se utilizaron los iniciadores para amplificar regiones de los genes *rbcL* y *trnL*, mismas que se encuentran entre las sugeridas por el grupo internacional que dirige los trabajos del código de barras en plantas (Working Group paper, CBOL Plant Working Group 2009). Otras regiones analizadas fueron los ITS 1, 5.8S e ITS2 (Hannen *et al.* 2002). Los amplicones (fragmentos de ADN resultado de la reacción en cadena de la polimerasa) se observaron de igual forma por electroforesis horizontal en geles de agarosa al 1 %.

Los amplicones obtenidos para *rbcL* de *Monactinus simplex* se secuenciaron, en la FES-Iztacala, con el equipo Genetic Analyzer 3100 de 16 capilares 36 cm y 50 cm llenados con soporte POP 6, y las reacciones con el paquete BigDye 3.1; los reactivos y equipo son de marca Applied Biosystem.

Para el análisis de las secuencias se utilizaron los paquetes computacionales Chromas y Genius. Las comparaciones de las secuencias se lograron mediante el uso de los bancos de datos del NCBI (National Center for Biotechnology Information).

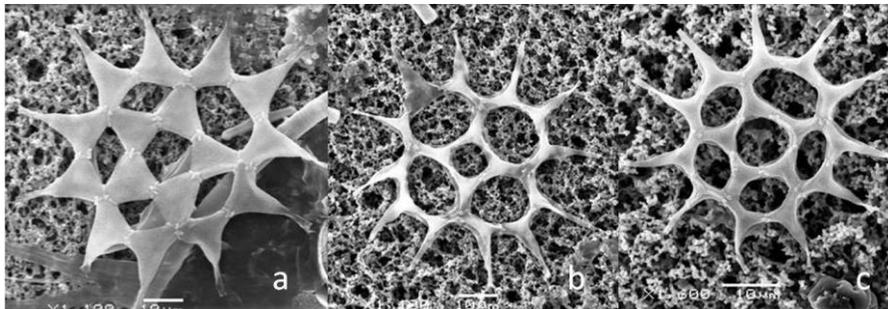
3. Resultados

3.1 Cultivos y material preservado

En la Tabla 1 se presenta la lista sistemática de los 17 taxa infraespecíficos determinados, una especie corresponde a Cyanoprokaryota y 16 a Chlorophyta, de ellos 11 taxa se lograron establecer en cultivos clonales.

Tabla 1. Lista de microalgas del Lago de Catemaco obtenidas durante el periodo 2009-2011, C (cultivo) y material preservado (P).

	C	P
Cyanoprokaryota		
Oscillatoriales		
Pseudanabaenaceae		
<i>Pseudanabaena limnetica</i> (Lemmermann) Komárek	X	X
Chlorophyta		
Sphaeropleales		
Hydrodictyaceae		
<i>Monactinus simplex</i> Meyen (Figuras 2a, 3a-b)	X	X
<i>Pediastrum simplex</i> var. <i>biwaense</i> Fukushima (Figuras 2c, 5a-b)		X
<i>Pediastrum simplex</i> var. <i>clathratum</i> Schröter (Figuras 2b, 4a-d)		X
<i>Pediastrum simplex</i> var. <i>sturmii</i> (Figuras 6a-b)		X
<i>Pediastrum simplex</i> var. <i>echinulatum</i> (Figuras 7a-b)		X
<i>Pseudopediastrum boryanum</i> var. <i>cornutum</i> (Raciborski) Sulek		X
<i>Stauridium tetras</i> (Ehrenberg) Ralfs		X
Scenedesmaceae		
<i>Acutodesmus acuminatus</i> (Lagerheim) Tsarenko	X	X
<i>Coelastrum microporum</i> Nägeli	X	X
<i>Desmodemus quadricauda</i> (Turpin) Hegewald	X	X
<i>Scenedesmus aculeolatus</i> Reinsch	X	X
<i>Scenedesmus obliquus</i> (Turpin) Kützing	X	X
Chlorellaceae		
<i>Closteriopsis acicularis</i> (Chodat) Belcher et Swale	X	X
<i>Chorella minutissima</i> Fott et Nováková	X	X
Oocystaceae		
<i>Oocystis marssonii</i> Lemmermann	X	X
Zygnematales		
Desmidiaceae		
<i>Staurastrum gracile</i> Ralfs	X	X

**Figura 2.** a) *Monactinus simplex*, b) *Pediastrum simplex* var. *clathratum*, y c) *P. simplex* var. *biwaense*. Aspecto general de los cenobios en MEB.

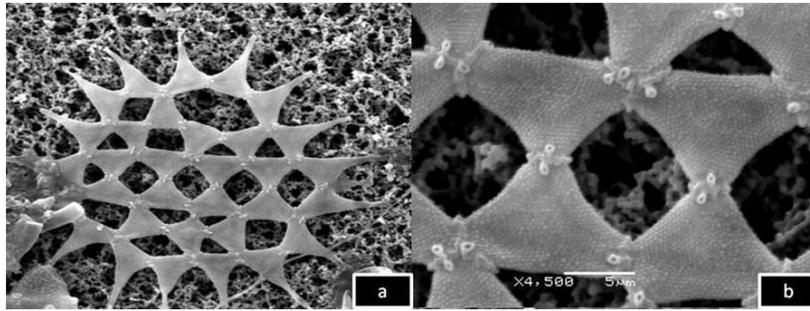


Figura 3. *Monactinus simplex* en MEB **a)** aspecto general del cenobio; **b)** pared celular con verrugas, tipo 3 según Komárek y Jankovská (2001).

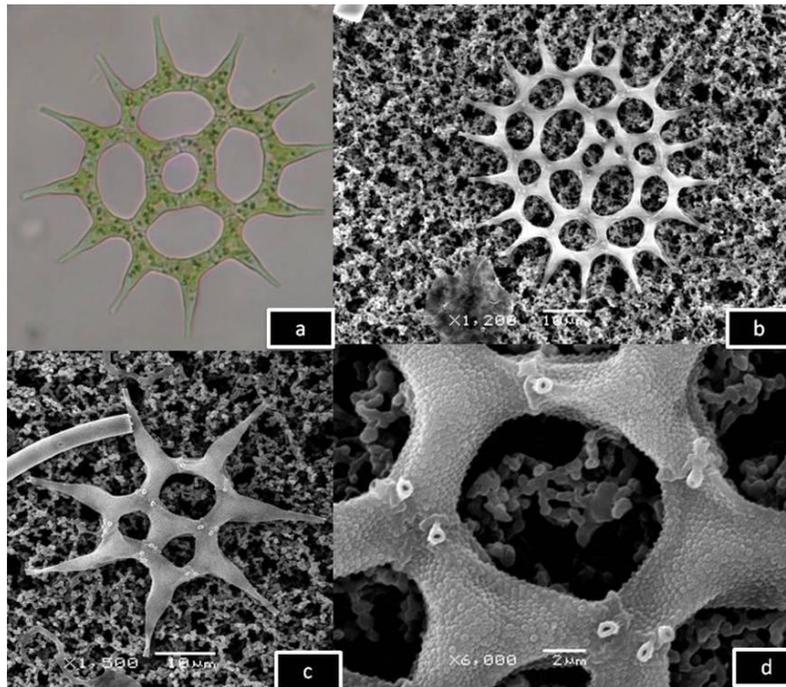


Figura 4. *P. simplex* var. *Clathratum*, aspecto general del cenobio **a)** ML y **b)** MEB, **c)** cenobio joven, **d)** detalle de pared con verrugas y rosetas, tipo 5, según Komárek y Jankovská (2001).

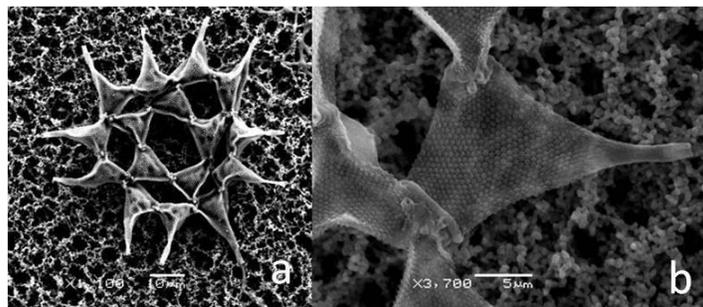


Figura 5. *P. simplex* var. *biwaense* (MEB) **a)** aspecto general del cenobio **b)** detalle de pared con verrugas y rosetas, tipo 4, según Komárek y Jankovská (2001).

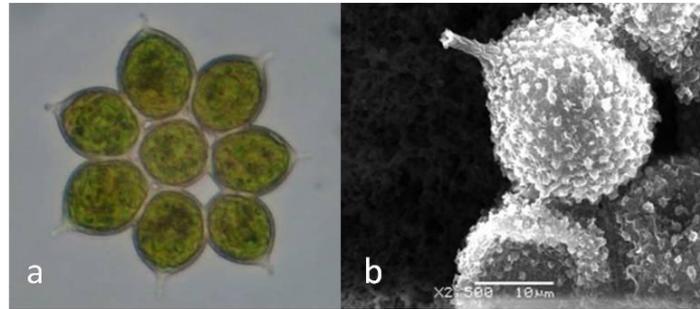


Figura 6. *P. simplex* var. *sturmii* **a)** aspecto general del cenobio (ML) **b)** detalle de pared con verrugas, tipo 6 (MEB), según Komárek y Jankovská (2001).

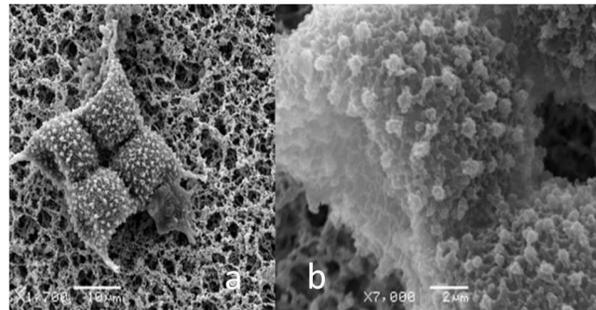


Figura 7. *P. simplex* var. *echinulatum* **a)** aspecto general del cenobio **b)** detalle de pared con verrugas y roseta, tipo 6 (MEB), según Komárek y Jankovská (2001).

3.2 Determinación taxonómica de *Pediastrum*

Adicionalmente se determinaron taxonómicamente con el material preservado 6 taxa de *Pediastrum sensu latum*, apoyados en la ultraestructura de la pared celular y en algunos casos con datos moleculares.

3.3 Datos moleculares

Para *Monactinus simplex* y *Scenedesmus obliquus*, se obtuvo la amplificación de la región de los ITS 1, 5.8S e ITS2; tnr-L y rbc-L. Donde para la primera especie, se obtuvieron amplicones de 1800, 320 y 600 pb; mientras que para la segunda se

registró 670, 300 y 1400 pb respectivamente (Figura 8). Los datos de la secuencia del fragmento de 600 pb correspondiente a la región de rbc-L, se comparó con las secuencias de los bancos públicos mediante la herramienta de alineamientos BLAST. El resultado de éste alineamiento indica un 91% de cobertura y una máxima identidad del 99% con *Monactinus simplex*, cuyo número de acceso es EF078333.1 correspondiente a una cepa de UTEX con código LB 1601.

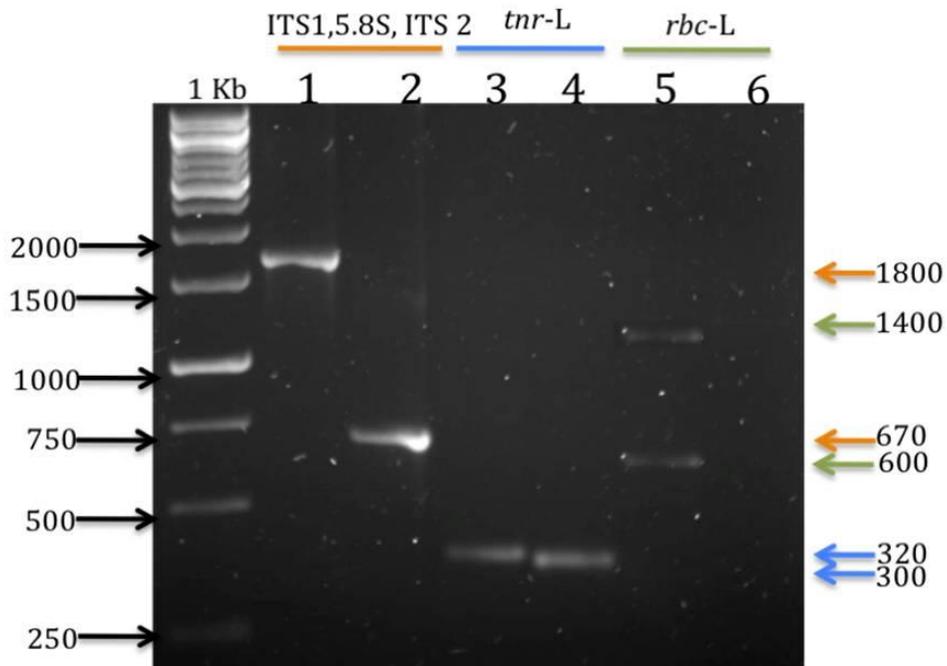


Figura 8. Amplificación del ADN genómico de *Monactinus simplex* (carriles 1, 3 y 5) y *Scenedesmus obliquus* (carriles 2, 4 y 6) aislados del Lago de Catemaco, usando iniciadores para PCR de las regiones de ITS1, 5.8S e ITS2 (barras naranjas); *tnr-L* (barras azules) y *rbc-L* (barras verdes) respectivamente. En la primer columna se muestra el marcador de peso molecular de 1Kb (Fermentas^{MR}), a la izquierda las flechas indican el intervalo entre 250 y 2000 pb.

4. Discusión

4.1 Cultivos

Para el Lago de Catemaco se conocen 64 especies de fitoplancton (Amateco, 2011), de ellas se lograron establecer once especies en cultivos clonales: *Acutodesmus acuminatus*, *Closteriopsis acicularis*, *Coelastrum microporum*, *Chlorella minutissima*, *Desmodesmus quadricauda*, *Monactinus simplex*, *Oocystis marssonii*, *Pseudanabaena limnetica*, *Scenedesmus aculeolatus*, *Scenedesmus obliquus*, *Staurastrum gracile*. Este 17% de la ficoflora del área de estudio, representa en general organismos que crecen en ambientes eutróficos y tienen un amplio espectro de adaptación a diferentes circunstancias e incluso el género *Chlorella* crece en condiciones

heterotróficas (Yongmanitchai & Ward, 1991; Comas *et al.* 2007; Pérez-García *et al.* 2011). En contraste, ninguna de las especies abundantes, ni endémicas, por ejemplo *Cylindrospermopsis catemaco* (Amateco, 2011) se logró su cultivo por lo cual sugiere que estos organismos requieren condiciones específicas para su cultivo *in vitro* (Becker, 1994).

Para lograr establecer los cultivos de algunas de las microalgas del Lago de Catemaco, estas tuvieron que adaptarse a los medios de cultivo utilizados, siendo el F/2 líquido el que brindó mejores resultados para todas las especies en cultivo, determinándose esto último, por el aumento en biomasa algal en menor tiempo, así mismo, se decidió un fotoperiodo de 12:12 ya que por la ubicación geográfica de nuestro país los

ciclos naturales de luz y oscuridad siguen este patrón. Las cepas se resiembran en su fase de crecimiento exponencial cada 20 días (Arredondo-Vega & Voltolina, 2007; Rodríguez-Palacio, 2006).

4.2 Determinación taxonómica de *Pediastrum*

Komárek & Jankovská (2001) proponen siete tipos de ornamentación en la pared celular de *Pediastrum*. Por ejemplo en *P. simplex* var. *simplex* la superficie de la pared es arrugada (tipo 3), mientras *P. simplex* var. *clathratum* y *P. simplex* var. *echinulatum* presentan verrugas redondas o cónicas (tipos 5 y 6) respectivamente. Las observaciones al MEB de nuestro material preservado y en cultivo permitieron reconocer cada uno de estos caracteres morfológicos señalados. Buchheim et al. (2005) transfieren a *Pediastrum simplex* var. *simplex* a *Monactinus simplex*, *Pseudopediastrum boryanum*=*Pediastrum boryanum*, *Stauridium tetras*=*Pediastrum tetras* con base en sus investigaciones moleculares. Por tanto, sólo la variedad *simplex* se ha colocado en el estatus de *M. simplex*, mientras que las otras cuatro variedades mencionadas se han mantenido en *Pediastrum simplex* hasta no contar con más información.

Los cultivos de microalgas son por sí mismos una aportación importante para la ciencia, ya que son un acervo de los recursos genéticos del país y nos proveen de materia prima para realizar diversos estudios de aplicaciones. De los cultivos que establecimos en este trabajo la mayoría de las especies no han sido aun estudiadas en la búsqueda de aplicaciones. Cannell et al. (1988) demostraron la actividad antibacteriana de *Staurastrum gracile*, el género *Chlorella* se ocupa para la producción de luteína (Yongmanitchai & Ward, 1991). También, *Desmodesmus quadricauda* y varias especies del género *Chlorella* han presentado actividad hemaglutinante y antibiótica (Chu

et al., 2004; Abedin & Taha, 2008) y presentan una sobresaliente capacidad bacteriostática con bacterias Gram negativas, donde los antibióticos comunes son menos eficaces debido a la compleja estructura de la pared (Scheffer & Krylov, 2000) por lo que será útil el estudio de estos cultivos de microalgas.

Por otra parte, Loera-Quezada & Olgún (2010) mencionan que en las últimas décadas se ha demostrado que las microalgas pueden ser una alternativa eficiente para la producción de triacilglicéridos y su conversión a biodiesel, ya que algunas especies oleaginosas, ya que por ser organismos fotosintéticos, sólo necesitan energía solar, agua, CO₂ y algunas sales para producir altos rendimientos de biomasa algal rica en lípidos. Al tener en cultivo organismos nativos, podremos realizar estudios, de producción de biomasa en diferentes sistemas y medios de cultivo, para determinar en qué condiciones se pueden lograr una mayor producción de lípidos susceptibles a transformarse en biocombustibles.

Los cultivos de microalgas también son una fuente potencial de alimento para animales y el hombre; en el Lago de Catemaco, al analizar el contenido estomacal del charal (*Dorosoma petenense*) se ha encontrado *Pediastrum*, por lo que este hallazgo dio indicio de que forma parte importante de la dieta del charal (Komárková y Tavera, 2003). En este trabajo se logró el cultivo de *Monactinus simplex* (*Pediastrum simplex*) el cual si se cultiva a gran escala, podría ser una alternativa para sostener la acuicultura de los charales tan importantes en la dieta mexicana, ya que les provee de una fuente importante de proteínas.

5. Conclusiones

De las cepas obtenidas del Lago de Catemaco, se propone continuar con los análisis moleculares, ahora incluyendo

secuencias de otras regiones, lo que nos ayudará a dilucidar diversos aspectos sobre la biología de estos organismos, particularmente en lo referente a su variabilidad morfológica y plasticidad fisiológica y se realizarán estudios para determinar su potencial farmacológico y como fuentes potenciales de bioenergéticos.

6. Agradecimientos

Agradecemos el apoyo recibido del Proyecto PAPCA: Caracterización morfológica y molecular de algunas especies de algas mexicanas con uso potencial en aplicaciones ecológicas e industriales (Número 33) FES Iztacala.

7. Referencias

- 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.
- Abedin, R.M.A., Taha, H.M. 2008. Antibacterial and antifungal activity of Cyanobacteria and green microalgae. Evaluation of medium components by plackett-Burman desing for antimicrobial activity of *Spirulina platensis*. *Global J Biotech Biochem* 3(1): 22-31.
- Amateco, F.S. 2011. Composición del fitoplancton del Lago de Catemaco, Veracruz, México. Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM, 86 pp.
- An, S.S., Friedl, T., Hegewald, E. 1999. Phylogenetic relationships of *Scenedesmus* and *Scenedesmus*-like coccoid green algae as inferred from ITS-2 r DNA sequence comparisons. *Plant Biology* 1(4):418-428.
- Andersen, R.A., Morton, S.L., Sexton, J.P. 1997. CCMP-Provasoli-Guillard National Center for Culture of Marine Phytoplankton. List of strains. *J Phycol* 33(S):1-75.
- 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-Vega, B.O. y Voltolina, D. 2007. Métodos y Herramientas Analíticas en la Evaluación de la Biomasa Microalgal. Centro de Investigaciones Biológicas del Noreste, S.C., La Paz, B.C.S., México. 197 pp.
- Badwy, T.M., Ibrahim, E.M., Zeinhon, M.M. 2008. Partial replacement of fish meal with dried microalgae (*Chlorella* sp. and *Scenedesmus* sp.) in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) diets. 8th International Symposium on Tilapia in Aquaculture 2008; Cairo, Egypt.
- Banderas-Tarabay, A.G. 1997. Phycoflora of the tropical high-mountain lake El Sol, Central Mexico, and some biogeographical relationships. *Hydrobiologia* 354(1): 17-40.
- Becker, E. W. (Ed.) 1994. Microalgae. Biotechnology and Microbiology. Cambridge University Press, USA. 293 pp.
- Boltovskoy, A. 1976. Técnica simple para la preparación de microinvertebrados tecados y loricados lábiles para su examen con el microscopio electrónico de barrido. En: Manual de métodos ficológicos. K. Alveal, E. Ferrario, C. Oliveira & E. Sar (Eds). 1995. Ed. Universidad de Concepción. Concepción, Chile. pp. 119-138.
- Buchheim, M., Buchheim, J., Carlson, T., Braband, A., Hepperle, D., Krienitz, L., Wolf, M., Hegewald, E. 2005. Phylogeny

- of the Hydrodictyaceae (Chlorophyceae) inferences from rDNA data. *J Phycol* 41(5): 1039-1054.
- Cannell, R.J.P., Owsianka, A.M., Walker, J.M. 1988. Results of a large-scale screening programme to detect antibacterial activity from freshwater algae. *Br Phycol J* 23(1):41-44.
- Catarina-Guedes, A., Amaro H.M., Malcata, F.X. 2011. Microalgae as sources of high added-value Compounds - A Brief Review of recent work. *Biotechnol Prog* 27(3):597-613.
- Carmona, J.J. y Montejano, G. 1993. Caracterización ficológica en manantiales de la cuenca baja del sistema hidrológico del Pánuco, México. *Bol Soc Bot Mex* 53:21-41.
- Comas, G. A. 1996. Las Chlorococcales dulceacuícolas de Cuba. Biblioteca Phycologica, Band 99. J. Cramer, Berlin. 192 pp.
- Comas, A., Novelo E., Tavera, R. 2007. Coccal green algae (Chlorophyta) in shallow ponds in Veracruz, Mexico. *Algol Stud* 124(1): 29-69.
- Chisti, Y. 2007. Biodiesel from microalgae. *Biotechnol Adv* 25(3):294-306.
- Escobar-Briones, E., Cortez-Aguilar, A.M., García-Ramos, M., Mejía-Ortíz, L.M., Simms-del Castillo, A.Y. 2002. Structure of a pond community in Central Mexico. *Hydrobiologia* 467(1-3): 133-139.
- Ferrario, M.E., Sar, E., Sala, S.E. 1995. Metodología básica para el estudio del fitoplancton con especial referencia a las diatomeas. *En: Manual de Métodos Ficológicos*. Alveal K., Ferrario, M.E.E., Oliveira C., Sar, E. (Eds). Universidad de Concepción. Concepción, Chile. pp. 1-24.
- García, E. 2004. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen, Serie Libros No. 6. 5ª. Ed. Instituto de Geografía, UNAM. México. 90 pp.
- García-Rodríguez, J. y Tavera, R.L. 1998. Fitoplancton del lago Zempoala. *Bol Soc Bot Mex* 63:85-100.
- Gladue, R.M. y Maxey, J.E. 1994. Microalgal feeds for aquaculture. *J Appl Phycol* 6(2):131-141.
- González, M.A., Parra O.O., Cifuentes, A.S. 1995. Técnicas de Cultivo de Microalgas en Laboratorio. *En: K. Alveal., Ferrario, M.E., Oliveira, E.C., Stein, E. (Eds.). Manual de Métodos Ficológicos*. Universidad de Concepción. Concepción, Chile. pp. 219-249.
- González, L.E., Cañizares, R.O., Baena, S. 1997. Efficiency of ammonia and phosphorus removal from Colombian agroindustrial wastewater by the microalgae *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus dimorphus*. *Bior Tech* 60(3):259-262.
- González-Villela, R. & Banderas-Tarabay, A. 2002. Multivariate Analysis of the Primary Production in a Tropical High Mountain Lake in Mexico. *J Freshwat Ecol* 17(1):75-83.
- Guillard, R. L. 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. *In: Smith, W.L. & Chanley, M.H. (Eds.) Culture of Marine Invertebrates Animals*. Plenum Publishing. New York, USA. Pp. 29-60.
- Guillard, R.R.L. & Ryther, J.H. 1962. Studies on the Marine Planktonic Diatoms. I *Cyclotella nana* Husted and *Detonella cofervacea* (Cleve). *Can J Microbiol* 8:229-239.
- Hannen, E.J.V., Fink, P., Lürling, M. 2002. A revised secondary structure model for the internal transcribed spacer 2 of the green algae *Scenedesmus* and *Desmodesmus* and its implication for the phylogeny of these algae. *Eur J Phycol* 37:203-208.
- Holmgren, K.H., Holmgren, N.H., Barnett, L.C. 1990. Index herbariorum. Part I: The herbaria of the world. 8th ed. New York Botanical Garden, New York, USA. 693 pp.

- John, M.D., Whitton, B.A., Brook, A.J. 2002. The freshwater Algal Flora of the British Isles. An Identification guide to freshwater and terrestrial Algae. Cambridge University Press. United Kingdom. 702 pp.
- Komárková, J. & Tavera, R.L. 1996. Cyanoprokaryota (Cyanobacteria) in the phytoplankton of the lake Catemaco (Veracruz, Mexico). *Algol Stud S* 83:403-422.
- Komárek, J. & Jankovská, V. 2001. Review of the Green Algal Genus *Pediastrum*; Implication for Pollen-analytical Research. *Bibliotheca Phycologica*. Band 108. J. Cramer. Berlin. 127 pp.
- Komárek, J. & Komárková-Legnerová, J. 2002. Contribution to the knowledge of planktic cyanoprokaryotes from central Mexico. *Preslia, Praha*, 74:207-233.
- Komárková, J. & Tavera, R.L. 2003. Steady state of phytoplankton assemblage in the tropical Lake Catemaco (Mexico). *Hydrobiologia* 502(1-3):187-196.
- Loera-Quezada, M.M. y Olgúin, E.J. 2010. Las microalgas oleaginosas como fuente de biodiesel: retos y oportunidades. *Rev Latinoam Biotecnol Amb Algal* 1(1):91-116.
- Lugo, A., Bravo-Inclán, L.A., Alcocer, J., Gaytán, M.L., Oliva, M.G., Sánchez, M.R., Chávez, M., Vilaclara, G. 1998. Effect on the planktonic community of the chemical program used to control water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) in Guadalupe Dam, Mexico. *Aquat Ecosyst Health* 1:333-343.
- Margain-Hernández, R.M. 1989. Lista Ficoflorística de la cuenca del río Pánuco, México. I. Cuerpos de agua temporales (Regiones Oriental y Sur). *Biotec Ambiental* 1(3): 24-38.
- Mendoza-González, A.C. 1985. Estudio florístico ficológico estacional de la laguna de Victoria o de Santiago Tilapa. *Phytologia* 58(7):479-488.
- Novelo Maldonado, E. 1998. Floras ficológicas del Valle de Tehuacán, Puebla. Tesis de Doctorado en Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. 599 pp.
- Novelo, E., Ponce, E., Ramírez, R., Ramírez, M. 2007. Algas. *En: Lot A. (Coord.) Guía ilustrada de la Cantera Oriente: caracterización ambiental e inventario biológico*. Coordinación de la Investigación Científica. Secretaria Ejecutiva de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel de Ciudad Universitaria, UNAM. México. pp. 63-95.
- Oliva-Martínez, M.G., Rodríguez-Rocha, A., Lugo-Vázquez A., Sánchez-Rodríguez, M.R. 2008. Composición y dinámica del fitoplancton en un lago urbano hipertrófico. *Hidrobiológica* 18(S1):1-13.
- Ördög, V., Stirk, W.A., Lenobel, R., Bancírová, M., Strnad, M., van Staden, J., Sziget, J., Németh, L. 2004. Screening microalgae for some potentially useful agricultural and pharmaceutical secondary metabolites. *J Appl Phycol* 16(4):309-314.
- Ortega, M.M., Godínez, J.L., Garduño, G.S., Oliva, M.M.G. 1995. Ficología de México. Algas continentales. Ed. AGT. México, D.F. 221 pp.
- Osorio-Tafall, B.F. 1941. Materiales para el estudio del microplancton del Lago de Pátzcuaro (México). *An Esc Nac Ci Biol* 2:331-383.
- Pérez-Rojas, A. y Torres-Orozco, R.B. 1992. Geomorfología y batimetría del lago de Catemaco, Veracruz, México. *An Inst Cienc Mar Limnol UNAM*. 19(2):17-22.
- Pérez-García, O., Escalante, F.M.E., de Bashan, L.E., Bashan, Y. 2011. Heterotrophic cultures of microalgae. Metabolism and potential products. *Water Res* 45(1):11-36.
- QIAGEN. 2006. DNeasy Plant Hand Book. 55 pp.
- Quiroz-Castelán, H., Molina-Astudillo, F.I., Ortega-Salas, A.A. 1999. Abundancia y diversidad del fitoplancton en estanques con policultivo de peces, utilizando

fertilizantes orgánicos, inorgánicos y combinados. *Ciencia y Mar* 3(8):3-12.

- Ramírez M., Beltrán, Y., Bojorge, M., Carmona, J., Cantoral, E.A., Valadez, F. 2001. Flora algal del río La Magdalena, Distrito Federal, México. *Bol Soc Bot Mex* 68:45-67.
- Richmond, A. 1986. Microalgae of economic potential. In: Richmond, A. (Ed.). *CRC Handbook of Microalgal Mass Culture*. CRC Press. Boca Raton, FL. USA. p.199.
- Rodríguez-Palacio, M.C. 2006. Establecimiento de Cultivos de Dinoflagelados del Pacífico Mexicano. Tesis de Maestría en Biología, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. 112 pp.
- Rodríguez-Palacio, M.C., Crisóstomo-Vázquez, L., Álvarez-Hernández, S., Lozano-Ramírez, C. 2011. Strains of toxic and harmful microalgae, from wastewater, marine, brackish and freshwater. *Food Addit Contam Part A (In press)* DOI: 10.1080/19440049.2011.596164
- Scheffer D.J. & Krylov, V. 2000. Anti-HIV activity of extracts and compounds from algae and cyanobacteria. *Ecotox Environ Safe* 45(3):208-227.
- Suárez, E., Segura, L., Fernández, M. A. 1985. Diversidad y abundancia del Plankton en la laguna de Catemaco, Veracruz, durante el ciclo anual. *An Inst Cienc Mar Limnol UNAM* 13:313-316.
- Tavera, R.L., 1996. Phytoplankton of the tropical Lake Catemaco. Ph.D. Thesis, University of South Bohemia, Faculty of Biological Sciences, Czech Republic. 62 pp.
- Tavera, R. & Castillo, S. 2000. An eutrophication-induced shift in the composition, frequency and abundance of the phytoplankton in Lake Catemaco, Veracruz, Mexico. In: Munawar, M., S. G. Lawrence, I. F. Munawar & D. F. Malley, (Eds.) *Aquatic Ecosystems in Mexico: Status and Scope*, Ecovision World Monograph.
- Tavera, R., Novelo E., Comas, A. 2000. Chlorococcalean algae (s.l.) from the Ecological Park of Xochimilco Mexico. *Algol Stud* 100:65-94.
- Torres-Orozco, R.E., y Estrada-Hernández, M. 1997. Patrones de migración vertical en el plancton de un lago tropical. *Hidrobiológica* 7:33-40.
- Torres-Orozco, R.E., Jiménez-Sierra, C., Pérez-Rojas, A. 1996. Some limno-logical features of three lakes from Mexican neotropics. *Hydrobiologia* 431 (2):91-99.
- Torres-Orozco, R.E. y Pérez-Rojas, A. 2002. El Lago de Catemaco. En: De la Lanza, G. y García-Calderón J.L. (Eds). *Lagos y Presas de México*. AGT editor, México. Pp.213-252.
- Yongmanitchai, W. & Ward, O.P. 1991. Screening of algae for potential alternative sources of eicosapentaenoic acid. *Phytochemistry* 30(9):2963-2967.
- Wehr, J.D. & Sheath, R.G. 2003. *Freshwater Algae of North America. Ecology and Classification*. Ed. Academic Press. San Diego, CA. USA. 917 pp.