

IDENTIFICACIÓN DE ALGAS Y CIANOBACTERIAS

Claudia Erika Ramírez Cárdenas¹ y Alberto Ayala Islas²

RESUMEN

El siguiente estudio se realizó con muestras de la región de “Los Azufres” ubicado en el estado de Michoacán en el cual se hicieron dos muestreos para posteriormente ser analizados y estudiados para observar la presencia de microalgas y cianobacterias. Las muestras obtenidas se sembraron en medio sólido, el medio para algas en los dos muestreos fue en el CHU 10 con diluciones en agua destilada y el medio para cianobacterias fue el BG-11 igualmente con diluciones en agua destilada. Se pudieron aislar 3 tipos de algas y en el caso de cianobacterias no se pudieron aislar pero si se observaron en las muestras.

PALABRAS CLAVE Palabras clave: Los azufres, microalgas, medio BG-11, medio CHU 10

¹ Ingeniería Bioquímica. Instituto Tecnológico Superior de Irapuato. Comunicación Oriente No. 114 Renovación Infonavit 1, C.P. 36790, Guanajuato, Salamanca, Teléfono (464) 647 7166.

² Profesor, Instituto Tecnológico Superior de Irapuato. Carr. Irapuato-Silao km 12.5 C.P. 38821, Guanajuato, Irapuato, Teléfono (462) 6067900. alayala@itesi.edu.mx

INTRODUCCIÓN

Las cianobacterias son microorganismos procariotas con una amplia diversidad morfológica, encontrándose formas unicelulares, coloniales y filamentosas. Se distribuyen en ambientes terrestres, dulceacuícolas, marinos y, algunas especies, tienen la capacidad de crecer en ambientes extremos (alcalinos, ácidos y con altas temperaturas) (Pineda, Martínez, Garduño, & Olvera, 2011). Constituyen aproximadamente 150 géneros que engloban a 2000 especies. La mayoría presenta un metabolismo fotoautotrófico y aeróbico. Su ciclo vital sólo requiere agua, CO₂, sustancias inorgánicas y luz, lo que les permite crecer en medios muy simples (E. Forján Lozano, 2008). Una característica significativa es su capacidad para proliferar de forma masiva bajo determinadas circunstancias ambientales. Estas proliferaciones de cianobacterias provocan alteraciones en las condiciones físico-químicas del agua, modificando el valor del pH, la cantidad de oxígeno disuelto y llegan a producir olor y sabor indeseables. Además, son capaces de producir toxinas que llegan a provocar cuadros de intoxicación agudos o crónicos en animales y plantas (Freudenthal, 2007). Algunas especies son altamente tolerantes a condiciones extremas y pueden encontrarse en aguas termales a más de 60 °C, en lagos hipersalinos o, formando gruesas matas bentónicas, en lagos de regiones polares (Bonilla, 2009). Las microalgas son un grupo polifilético de organismos fotótrofos oxigénicos, auxotróficos o facultativamente heterótrofos, restringidos a ambientes húmedos por la ausencia de mecanismos de protección contra la desecación (Moreno et al., 2012). La importancia de las microalgas radica en su gran capacidad de fijar CO₂ y convertirlo en O₂; debido a esto, son una parte importante de las cadenas alimenticias acuáticas, se estima que el 80% del O₂ en la tierra es producido por microalgas (Tortora J. G., 2007). Se les menciona que puede llegar a ser el alimento del futuro por destacarse en tener un alto poder nutritivo y su variado contenido de grasas y calorías (Valdés & Blanco Soto, 2008). Sin embargo, no es lo único por lo que las microalgas son importantes, en estudios recientes se ha demostrado que las algas pueden producir biocombustibles alternos a los del petróleo. Sin embargo, los suministros de agua y de nutrientes y, también el consumo de energía se han señalado como cuestiones clave en los sistemas de producción de biocombustibles con microalgas (Mottet, Habouzit, & Steyer, 2014). A pesar de que estos microorganismos pueden ser muy útiles, un gran

problema es que no hay estudios de éstos en la zona de “Los Azufres” del estado de Michoacán que está caracterizada por contener altas temperaturas que pueden llegar hasta los 80°C y altas concentraciones de azufre por lo que sería muy importante realizar estudios en esta zona. El estudio consiste en aislar e identificar microalgas y cianobacterias en la zona de “Los Azufres” del estado de Michoacán y poderles dar en un futuro enfoques biológicos o biotecnológicos.

Métodos y materiales

Muestreo

Primer muestreo: se esterilizaron por calor frascos de vidrio con capacidad de 1 litro. Se asignaron ocho zonas en total de las cuales eran de agua. En cada una de ellas se midió la temperatura, pH y se tomaron las coordenadas de cada zona con un GPS. El muestreo de las zonas se tomó superficialmente, se etiquetaron adecuadamente (Número de la zona, temperatura, pH, coordenadas, microorganismo) y se almacenaron a temperatura ambiente hasta su posterior uso.

Segundo muestreo: para las muestras de agua se esterilizaron por calor frascos de vidrio con capacidad de 1 litro y para las muestras de sedimento, tubos Falcon de 50ml. Se asignaron 4 zonas en total de las cuales una era de agua y tres de sedimento. En cada una de ellas se midió la temperatura, pH y se tomaron las coordenadas de cada zona con un GPS. El muestreo para la zona de agua se tomó superficialmente, se etiquetó adecuadamente (Número de la zona, temperatura, pH, coordenadas, microorganismo) y se almacenaron a temperatura ambiente hasta su posterior uso. Las zonas de sedimento que se seleccionaron, fueron donde se observaba una presencia mayor de algas y cianobacterias, se etiquetaron adecuadamente (Número de la zona, temperatura, pH, coordenadas, microorganismo) y se almacenaron a temperatura ambiente.

Tratamiento de la muestra y siembra

Primer muestreo: Para algas se prepararon 450 ml de medio CHU 10 y se esterilizó en una olla de presión a 120°C y 15 lb de presión durante 15 minutos. Posteriormente se vertió el medio en cada caja de Petri y se almacenaron en refrigeración a 4°C. Se esterilizaron tubos Eppendorf con agua destilada durante 15 min a 120°C y 15 lb de presión. Se realizaron diluciones seriadas con cada una de las muestras de agua desde 10^0 hasta 10^{-2} , tomando 100 μ L de cada muestra y vertiéndolos en los tubos Eppendorf, y después se agitaron para que se homogeneizara la dilución (tomándose esta como dilución 10-1). Posteriormente se tomaron 100 μ L de esta dilución y se vertieron en otro tubo Eppendorf con los 900 μ L de agua destilada y se agitó (tomándose esta dilución como 10-2). Se tomaron 100 μ L de cada dilución y se vertieron sobre las cajas Petri con medio CHU 10. La siembra se hizo por estriado masivo con un asa bacteriológica, se sellaron las cajas con cinta egapack y finalmente se dejaron a temperatura ambiente con iluminación las 24 horas durante 7 días. Para las cianobacterias se prepararon 450 ml de medio BG-11 y se esterilizó en una olla de presión a 120°C y 15 lb de presión durante 15 minutos. Se repitió el mismo procedimiento que para las algas.

Segundo muestreo

Para algas se prepararon 150 ml de medio CHU 10 y para las cianobacterias se prepararon 150 ml del medio BG-11 se esterilizaron en una olla de presión a 120°C y 15 lb de presión durante 15 minutos y se repitió el mismo procedimiento que en el primer muestreo.

Almacenamiento de la muestra

Primer muestreo: Se desinfectaron con benzal 8 botes de plástico con tapa (capacidad de 1L), las respectivas mangueras para cada uno de ellos y 8 aireadores para pecera. Se vació cada muestra en su bote y se le puso a cada bote un aireador con su manguera unida a una bomba de aire, filtrándolo con un pequeño algodón a las salidas de la bomba. Se dejaron a temperatura ambiente, con iluminación artificial y aireación las 24 horas.

Segundo muestreo: Se desinfectó con benzal 1 bote de plástico con tapa (capacidad de 1L), 3 refractarios pequeños de 100 ml con tapa, 1 manguera y 1 aireador para pecera. Se vertió la muestra en el bote. Las muestras de sedimento se vertieron en los refractarios de vidrio y se hidrataron con agua destilada y se semi-taparon. Todas las muestras se dejaron a condiciones ambientales y con luz artificial las 24 horas.

Identificación y aislamiento

Para las muestras de agua se tomó una gota y colocó en un porta objetos, enseguida se le puso un cubre objetos y se observó en 10X, 40X y 100X (con aceite de inmersión). Para las muestras de sedimento, se tomó lo menos posible de éste, se puso en un portaobjetos y se le colocó un cubre objetos para finalmente observarlo a 10X, 40X y 100X (con aceite de inmersión). Cuando en una muestra se presencié crecimiento tanto de algas o cianobacterias (pegadas a las paredes del bote), se raspó levemente (con un hisopo) sobre una pared y posteriormente en un porta objetos se frotó el hisopo, se le agregó una gota de agua y se colocó un cubre objetos, finalmente se observó a 10X, 40X y 100X (con aceite de inmersión). Se fotografiaron las diferentes células que se observaron para finalmente comparar por medio de referencias (manuales, artículos o páginas electrónicas) las células observadas. El aislamiento se hizo por la técnica de estriado por agotamiento de las colonias que crecieron en los medios sólidos.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Primer muestreo y segundo muestreo: Se tuvo éxito con las cajas Petri con medio para algas ya que en todas las zonas donde se muestreo hubo crecimiento. Todas las zonas se mantuvieron en las mismas condiciones. Se observó en el microscopio cada una de las cajas Petri con el objetivo de 100X para saber si había una misma célula. Se pudieron observar aislados, de las cuales el inciso b y c podrían tratarse de posibles *Chlorellas* (ver Figura 1)

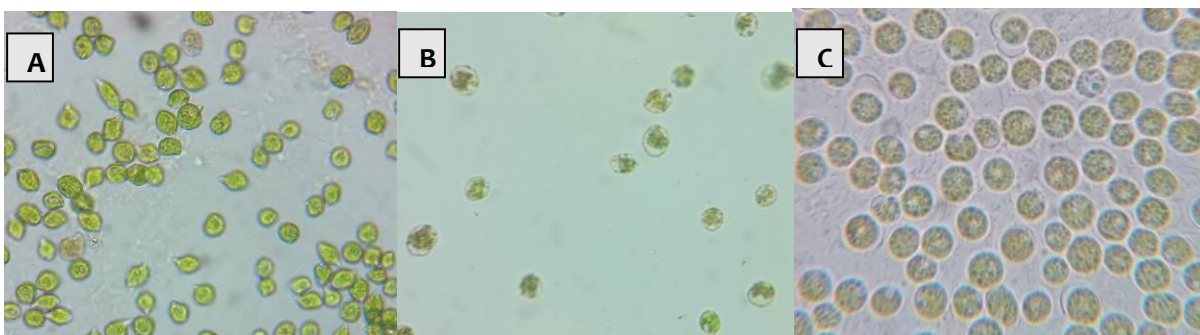


Figura 1. Microalgas aisladas de una sola célula.

Se pudo encontrar una gran diversidad de algas sin embargo unas se pueden identificarse con su posible género de acuerdo a sus formas que presentan esto con ayuda de un microscopio óptico y observando con el objetivo de 100X. En la (Figura 2) se observó una posible *Navícula*, en la (figura 3) una posible *Microspora*, en la (figura 4) se observaron varias células del género *Euglena*, el género *Scenedesmus* son algas verdes que se alinean en filas las cuales se observan en la (figura 5), en la (figura 6) se puede observar una posible alga del género *Diatoma* y en la (figura 7) una posible *Cylindrocystis*.



Figura 2. Posible Navicula



Figura 3. Posible Microspora

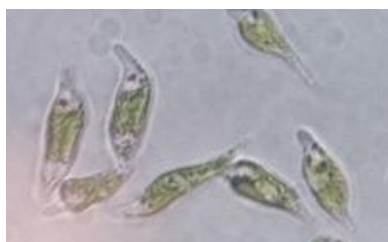


Figura 4. Posible Euglena



Figura 5. Posible Scenedesmus

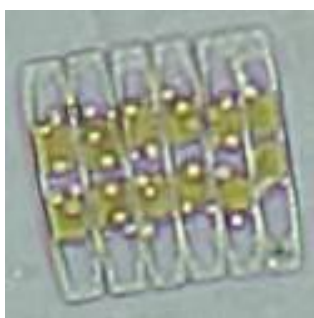


Figura 6. Posible diatoma



Figura 7. Posible Cylindrocystis

En ninguno de los dos muestreos se pudo identificar por nombre cianobacterias, pero sin embargo, en algunas zonas se pudieron observar a los microscopios posibles, las cuales no se pudieron aislar. Esto pudo ser debido al factor de temperatura, ya que cuando se tomó la muestra estaba a una temperatura alta y se conservan a temperatura ambiente.

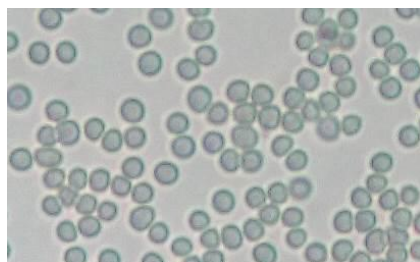


Figura 8. Posibles cianobacterias

CONCLUSIONES

Se obtuvieron tres células de microalgas aisladas de las zonas muestreadas. Sin embargo dos de ellas podrían tratarse del género *Chlorella*. En los cultivos se observaron seis microalgas de las cuales se identificaron con su posible género, pero seguirá la identificación con las demás. No se obtuvo ningún aislado de cianobacterias, pero sí se lograron observar en algunas de las muestras.

REFERENCIAS

- Bonilla, S. (2009). Manual para la identificación y medidas de gestión. Montevideo, Uruguay: UNESCO.
- E. Forján Lozano, M. D. (Enero de 2008). Cianoalerta: estrategia para predecir el desarrollo de cianobacterias tóxicas en embalses. Ecosistemas, 37-45.
- Freudenthal, M. d. (2007). Cianobacterias tóxicas y mortandades en mesa de fauna salvaje en las marismas de doñana. España: Universidad Complutense de Madrid.
- Moreno, I., Pichardo, S., Repetto, G., & Cameán, A. (2012). Toxicología Alimentaria. Madrid: Ediciones Díaz de Santos.
- Mottet, A., Habouzit, F., & Steyer, J. P. (2014). Anaerobic digestion of marine microalgae in different salinity levels. Bioresource Technology, 300-306.
- Pineda, M. R., Martínez, J. F., Garduño, S. G., & Olvera, R. R. (Marzo de 2011). CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE CIANOBACTERIAS FILAMENTOSAS AISLADAS DE FLORECIMIENTOS DE TRES LAGOS URBANOS EUTRÓFICOS DE LA CIUDAD DE MÉXICO. Polibotánica, 31-50.
- Tortora, G. J. (2007). Introducción a la microbiología (9a ed. ed.). Buenos Aires: MÉDICA PANAMERICANA.
- Valdés, Y. A., & Blanco Soto, M. F. (2008). Algas, aliadas en el pasado y sustento para el futuro. Tecnología Química, 46-50.