



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

“Evaluación de la diversidad de microorganismos (microalgas y bacterias) y su relación con la presencia de nitratos y fosfatos en un ecosistema lótico (agua y sedimento).”

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA AMBIENTAL

PRESENTA

Q.F.B. Hugo Diosefat Puga Barajas

DIRIGIDA POR

Dr. ANDRÉS CRUZ HERNÁNDEZ.

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2018



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Química
Maestría en Ciencia y Tecnología Ambiental

Evaluación de la diversidad de microorganismos (microalgas y bacterias) y su relación con la presencia de nitratos y fosfatos en un ecosistema lótico (agua y sedimento).

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de
Maestría en Ciencia y Tecnología Ambiental

Presenta:

Q.F.B. Hugo Diosefat Puga Barajas

Dirigido por:
Dr. Andrés Cruz Hernández

Dr. Andrés Cruz Hernández
Presidente


Firma

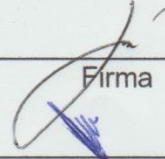
Dr. Miguel Ángel Rico Rodríguez
Secretario

rubrica
Firma

Dr. Juan Campos Guillén
Vocal

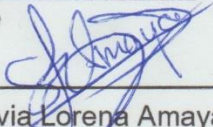
rubrica
Firma

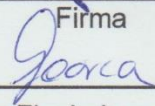
Dr. José Alberto Rodríguez Morales
Suplente


Firma

Dr. Víctor Pérez Moreno
Suplente


Firma


Dra. Silvia Lorena Amaya Llano
Director de la Facultad


Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña
Director de Investigación y Posgrado

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
Diciembre 2018.

RESUMEN

Los cuerpos de agua lóaticos, son aquellos que cuentan con aguas en movimiento, se ven deteriorados debido a la contaminación producida por actividades antropogénicas como las descargas industriales y domesticas no controladas, el uso excesivo de fertilizantes, y el lavado de nutrientes del suelo ocasionados por un mal manejo agrícola. Es importante mencionar que estos ecosistemas son de gran importancia en la biosfera ya que son proveedores de servicios ambientales tales como irrigación, fuente de agua potable, cuentan con alto valor recreativo y albergan aproximadamente el 10% de organismos conocidos, algunos de ellos pueden ser utilizados como bioindicadores ya que proveen información de la calidad de los cuerpos de agua. El río Celio, ubicado en el municipio de Jacona en el estado de Michoacán, es un ecosistema lóatico del cual se desconoce su estado trófico. La medición de parámetros fisicoquímicos como temperatura, pH, concentraciones de nitratos y fosfatos y la identificación de los microorganismos presentes. Mediante el uso de técnicas microbiológicas es posible conocer las condiciones en las cuales se encuentra el río Celio. Se identificaron géneros de algunas bacterias, que pueden ser indicadoras de contaminación, tal es el caso de *Salmonella* spp., *Escherichia* spp., *Pseudomonas* spp. y algunos otros géneros de la familia Enterobacteriaceae tales como *Citrobacter* spp., *Shigella* spp., *Enterobacter* spp. y *Klebsiella* spp. Éstos pueden representar un riesgo para la salud ya que una de las características de estos microorganismos es la patogenicidad en humanos. Otros microorganismos que nos facilitan conocer el estado trófico del río Celio son las microalgas, las cuales tienen un papel ecológico muy importante debido a que son capaces de disminuir las concentraciones de nitratos y fosfatos, causantes del fenómeno de contaminación por nutrientes. La correlación entre los microorganismos y los parámetros fisicoquímicos, así como sus valores individuales, indican que las aguas del río Celio son aptas para su uso en la agricultura. La cual es uno de los principales sustentos del municipio de Jacona.

(**Palabras clave:** contaminación por nutrientes, estado trófico, identificación microbiológica, microalgas, río Celio)

SUMMARY

Lotic water bodies are those who has streams in their water. They had been deteriorated due to anthropogenic activities like uncontrolled domestic and industrial waste discharges, excessive use of fertilizers and nutrient lixiviation due to a bad agricultural manage. These ecosystems shows high impact in the biosphere, because they provide environmental services like irrigation, potable water source, they has a high recreational value, and they keep around 10% of the known organisms, they can be used as bioindicators due to they provide information about water bodies quality. Celio river, located in Jacona municipality in Michoacan state, Mexico, it is a lotic ecosystem which has an unknown trophic state. It was measure physicochemical analyses like temperature, pH, nitrates and phosphates, and the use of the microbiological techniques, it was possible to know how the Celio river's trophic state, was during sample period. It was possible to characterize some bacteria genus like *Salmonella* spp., *Escherichia* spp., *Pseudomonas* spp. and other genus from Enterobacteriaceae family like *Citrobacter* spp., *Shigella* spp., *Enterobacter* spp. and *Klebsiella* spp., which are used as contamination indicators. They are considered as a risk for health, due to they are opportunistic pathogens. Microalgae genus were found in Celio river, these microorganisms can reduce nitrates and phosphates concentrations and reduce the phenomena of nutrient contamination. Correlation between microorganisms and physicochemical parameters demonstrates that Celio river waters can be used as , which is one of the supports to the community.

(Keywords: Celio river, microalgae, microbiological identification, nutrient contamination, trophic status)

A mi familia, gracias por ser ese pilar tan importante en mi vida, que siempre han estado ahí, para lo que se necesita. Gracias por siempre estar.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al CONACyT por otorgarme la beca 780552 que me permitió realizar esta investigación.

A la UAQ por permitirme formar parte de su alumnado, así como por hacerme sentir en casa.

Al CEACA por permitirme formarme.

Al Doctor Andrés por dirigir este proyecto, gracias por sus conocimientos y por permitirme aprender de usted.

A mi grupo de sinodales quienes siempre me dieron su certera opinión.

A mis amigos que siempre estuvieron presentes, echándome la mano.

A mi familia con la que siempre puedo contar, y por apoyarme en este paso tan grande.

A Dios por permitirme concluir esta nueva etapa, llena de grandes oportunidades y aprendizajes.

TABLA DE CONTENIDOS

1. INTRODUCCIÓN.....	12
1.1 Cuerpos de agua superficiales.....	13
1.2 Ecosistemas lóticos.....	14
1.3 Eutrofización.....	15
1.4 Bioindicadores.....	18
1.4.1 Microalgas.....	20
1.4.2 Bacterias.....	22
1.4.3 Interacción entre microalgas y bacterias.....	26
2. OBJETIVOS	30
2.1 General.....	30
2.2 Específicos.....	30
3. METODOLOGIA.....	31
3.1 Identificación del área de estudio.....	31
3.2 Caracterización fisicoquímica del río Celio.....	31
3.2.1 Análisis fisicoquímicos <i>In situ</i>	33
3.2.2 Análisis fisicoquímicos <i>Ex situ</i>	33
3.3 Identificación de los principales grupos de microalgas.....	34
3.3.1 Identificación mediante claves taxonómicas.....	34
3.4 Identificación de grupos bacterianos.....	35
3.4.1 Análisis microbiológico de identificación de grupos bacterianos.....	36
3.4.2 Identificación de grupos bacterianos mediante extracción de DNA.....	38
3.5 Correlación entre grupos bacterianos y parámetros fisicoquímicos.....	39
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	41
4.1 Caracterización fisicoquímica del río Celio.....	41
4.1.1 Análisis fisicoquímicos <i>In situ</i>	41
4.1.2 Análisis fisicoquímicos <i>Ex situ</i>	45

4.2 Identificación de los principales grupos de microorganismos (microalgas y bacterias) así como su distribución temporal a lo largo del río Celio.....	49
4.2.1 Análisis e identificación de los principales grupos de bacterias.....	49
4.2.2 Análisis e identificación de los principales grupos de microalgas.....	54
4.3 Correlaciones entre parámetros fisicoquímicos evaluados y la presencia de microorganismos en el río Celio.....	66
5. CONCLUSIONES	82
6. PERSPECTIVAS.....	83
7. REFERENCIAS.....	84

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1: Coordenadas geográficas de los puntos de muestreo.....	32
Cuadro 2: Variables fisicoquímicas medidas <i>In situ</i>	33
Cuadro 3: Variables fisicoquímicas medidas <i>Ex situ</i>	34
Cuadro 4: Claves taxonómicas de identificación de microalgas.....	35
Cuadro 5: Medios de cultivo utilizados para identificar géneros bacterianos.....	37
Cuadro 6: Géneros bacterianos encontrados en cada uno de los puntos de muestreo del río Celio.....	51
Cuadro 7: Clasificación taxonómica de los géneros de microalgas encontrados durante la estación de primavera.....	55
Cuadro 8: Clasificación taxonómica de los géneros de microalgas encontrados durante la estación de verano.....	58
Cuadro 9: Clasificación taxonómica de los géneros de microalgas encontrados durante la estación de otoño.....	60
Cuadro 10: Clasificación taxonómica de los géneros de microalgas encontrados durante la estación de invierno.....	62

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Ubicación geográfica del río Celio, y los puntos de muestreo.....	32
Figura 2 Valores obtenidos de pH por estacionalidad.....	41
Figura 3 Valores obtenidos para el parámetro de temperatura, medidos por estacionalidad.....	43
Figura 4 Temperatura máxima registrada por la Estación Orandino del SMN para los años 2015-2016	44
Figura 5 Concentración de nitratos en agua obtenida por estacionalidad.....	46
Figura 6 Variación de las concentraciones de fosfato en agua durante el periodo de evaluación del Río Celio.....	48
Figura 7 Variación de las Unidades Formadoras de Colonias durante el periodo de tiempo de febrero de 2017 a enero de 2018.....	50
Figura 8 Análisis de componentes principales para la estación de invierno, mostrando las variables evaluadas de parámetros fisicoquímicos y microbiológicos, y su correlación entre ellas.....	66
Figura 9 Correlación lineal entre los parámetros de temperatura y concentración de fosfatos durante la estación de invierno.....	68
Figura 10 Correlación lineal entre las variables de pH y concentración de nitratos en agua durante la estación de invierno.....	69

Figura 11 Correlación individual entre los parámetros de temperatura y concentración de nitratos en agua durante la estación de invierno.....	70
Figura 12 Correlación individual entre los parámetros de pH y temperatura durante la estación de invierno.....	72
Figura 13 Correlación individual de las variables de concentraciones de nitratos y fosfatos para la estación de invierno.....	73
Figura 14 Correlación individual entre los parámetros de pH y concentración de fosfatos de la estación de invierno.....	74
Figura 15 Correlación individual entre los parámetros de concentración de fosfatos y las unidades formadoras de colonias en invierno.....	75
Figura 16 Correlación entre los parámetros de temperatura y el crecimiento de unidades formadoras de colonias, para la estación de invierno.....	77
Figura 17 Correlación individual entre los parámetros de concentración de nitratos y las unidades formadoras de colonias durante la estación e invierno.....	78
Figura 18 Correlación individual entre los parámetros de pH y unidades formadoras de colonias durante la estación de invierno.....	80

1. INTRODUCCIÓN

El agua es un elemento y un medio clave para el desarrollo de la vida, el cual en la biosfera se encuentra como agua de mar, en los polos congelada y en los continentes delimitada sobre las depresiones geográficas, generando 2 tipos de cuerpos de agua, de acuerdo a su movimiento, y son cuerpos de agua lénticos con aguas en reposo y cuerpos de agua lóticos con aguas en movimiento.

Los cuerpos de agua lóticos son aquellos que tienen movimiento constante, ejemplos de esto con cascadas, ríos, y arroyos; y son importantes proveedores de servicios ambientales, tales como agua potable, irrigación, producción de energía y navegación. Son también sitios con alto valor recreativo y de gran aporte a la biodiversidad ya que en ellos se encuentra 10% de los organismos conocidos. Estos, han sido también los más impactados por actividades antropogénicas tales como las descargas de agua tanto industriales como domésticas, el uso excesivo de fertilizantes y erosión del suelo producida por un mal manejo agrícola, generando una aceleración del proceso de envejecimiento de los cuerpos de agua o eutrofización, ocasionando una disminución de la biodiversidad.

Los elementos que tienen un mayor impacto sobre el proceso de eutrofización son el nitrógeno (N) y el fósforo (P) en sus diferentes formas, que cuando sus concentraciones se ven modificadas en los cuerpos de agua, afectan de manera directa a los microorganismos presentes, los que son más a estas modificaciones pueden ser utilizados como bioindicadores.

Los bioindicadores, proveen información sobre la calidad de los cuerpos de agua, tienen la ventaja de ser de bajo costo, y pueden ser tratados y controlados fácilmente. Algunos de estos bioindicadores son las microalgas y las bacterias, ya que son herramientas emergentes para medir perturbaciones y modificaciones en cuerpos de agua, así también se utilizan para evaluar bienes y servicios ambientales, entender las dinámicas de respuesta ambiental y medir la variabilidad espacial y temporal en cuerpos de aguas y pueden ser utilizados debido a que resisten modificaciones en el medio como la alta concentración de nutrientes y pueden adaptar sus procesos bioquímicos para poder sobrevivir en estas nuevas condiciones.

En ecosistemas lóticos, las microalgas más utilizadas como bioindicadores son las pertenecientes a los género de *Navicula*, *Nitzschia*, *Gonphonema* y *Pinnularia* ya que estos son resistentes a los cambios en el ambiente y los filos de bacterias tales como Proteobacteria, especialmente Epsilonproteobacteria ya que estos se ven desfavorecidos ante estos cambios.

El objetivo de este estudio fue conocer los microorganismos presentes en el ecosistema lótico, río Celio. Se encontró evidencia de que las concentraciones de nitratos y fosfatos, así como el pH y la temperatura del agua se encuentran dentro del rango de uso para tierras agrícolas, basándose en el acuerdo por el que se establecen los criterios ecológicos de calidad de aguas, publicado por la SEDUE, 1989.

1.1. Cuerpos de agua superficiales.

Las aguas continentales se encuentran en 2 formas generales considerando sus desplazamientos. Los biomas de agua dulce que por lo general se encuentran dentro de los continentes y son de menor tamaño que los biomas de agua salada, pueden clasificarse en los que tienen aguas en reposo, como lagunas, estanques, charcos, pantanos, humedales y embalses, se les nombra ecosistemas lenticos, mientras que aquellos que tienen aguas caudalosas como ríos, cataratas, arroyos, cascadas y manantiales son considerados como ecosistemas loticos (Cárdenas, 2013).

Debido a que el agua se extiende en las depresiones geográficas, las fronteras de estos sistemas son delimitados de mejor manera que los terrestres, pero su propio volumen y su movimiento obliga a que el cuerpo acuático se vea limitado en factores críticos para el desarrollo constante de la vida (Sánchez y col., 2007).

1.2. Ecosistemas lóticos.

Ecosistemas lóticos son aquellos en los cuales se observa un caudal en sus aguas, como ríos, cascadas, arroyos, etcétera (Cárdenas, 2013).

Entre los ecosistemas lóticos; ríos y corrientes son proveedores de importantes servicios ambientales, tales como agua potable, irrigación, producción de energía, navegación, y también son sitios con alto valor recreativo y también aportan de manera cuantiosa a la biodiversidad, ya que en ellos se encuentra cerca

del 10% de las especies conocidas (Friberg, 2014). En México los ríos y arroyos forman una red hidrográfica de 633 mil km de longitud. Por los cauces de sus 50 principales ríos fluye el 87% de las aguas que escurren en el país (CONAGUA, 2014).

Los ecosistemas lóticos son los más impactados debido a las actividades antropogénicas, principalmente agricultura, urbanización y producción industrial, lo que genera una degradación de las corrientes y los ríos, son altamente propensos a captar aguas contaminadas tratadas o sin tratar, esto afecta su funcionamiento generando un desequilibrio en el ecosistema, afectando de manera directa a la distribución y composición de las comunidades presentes en el ecosistema. La perturbación en el medio será dependiente del origen, la intensidad y el tiempo que persista esta contaminación, las principales afectaciones que se encuentran son: la contaminación del agua, la degradación del hábitat y la modificación del cauce del río (Friberg, 2014 y Luna-Pabello 2014).

Para poder proteger y mejorar las condiciones de los sistemas lóticos es necesario conocer su reacción ante estresores tanto naturales como antropogénicos, nos podemos ayudar de los indicadores, ya que estos nos permiten rastrear y cuantificar impactos (Friberg, 2014).

1.3. Eutrofización.

El estado trófico de un cuerpo de agua superficial está dado por la relación entre la cantidad de nutrientes y el crecimiento de materia orgánica presentes en el ecosistema acuático, al verse alterado por una carga de nutrientes que puede ser

de manera natural o causada por el ser humano, como en el caso de uso de fertilizantes agrícolas, descargas domésticas y problemas de un mal drenaje, generan un aumento de nutrientes en el cuerpo de agua receptor, provocando una alteración en el medio, lo que ocasiona un aumento de nutrientes y así una modificación del estado trófico del cuerpo de agua (Amin y col., 2017).

El proceso de eutrofización es el paso de un cambio de un estado trófico a otro, se ha dado de manera natural como resultado de la descarga normal de nutrientes, sedimentos y otros materiales sobre el cuerpo de agua, este proceso de manera natural se ha dado a lo largo mucho tiempo, pero con ayuda de las actividades antropogénicas como la agricultura, este proceso se ha potenciado y se ha acelerado de manera exponencial, llamando a esto eutrofización cultural, la que ha generado una sedimentación acelerada de la materia orgánica. Los sedimentos al tener un escaso o nulo movimiento generan la pérdida de la biodiversidad en estos ecosistemas (Graf y col., 2016). Las principales causas de la eutrofización son las descargas domésticas e industriales a los cuerpos de agua sin previo tratamiento, el uso en exceso de los fertilizantes, la deforestación y la erosión en suelos agrícolas lo que provoca que, al existir un escurrimiento, la tierra se lave, llevándose los nutrientes y depositándoles en cuerpos de agua (RAP-AL, 2010). Las variables que más influyen sobre el estado trófico de los cuerpos de agua son las concentraciones de fósforo y nitrógeno, las cuales indican alteraciones en el cuerpo de agua (Stoica y col., 2016).

Existen diferentes posturas con respecto cual es el factor limitante del fenómeno de eutrofización, sin embargo, un estudio realizado por Elser y col., (2007) observaron que tanto el nitrógeno como el fósforo, en ecosistemas de

cuerpos de agua superficiales y en ecosistemas terrestres tienen la misma influencia y actúan de manera sinérgica.

El fósforo se encuentra en los sedimentos de los cuerpos de agua en combinación con otros óxidos metálicos como los de aluminio, calcio y hierro, algunos de estos pueden ser fácilmente biodisponibles para los organismos que se encuentran presentes (Hajibabaei y col., 2011), disuelto en el agua, puede presentarse como orto fosfatos (PO_4^{-3}) y fosforo orgánico. Los fosfatos son utilizados por plantas acuáticas, principalmente el fitoplancton que lo obtiene cuando los sistemas celulares de incorporación del nutriente se activan y el PO_4^{-3} es rápidamente utilizado por los organismos, resultando esto un decrecimiento de las concentraciones de PO_4^{-3} hasta un valor conocido como valor umbral. El crecimiento posterior es posible solo si se rebasan estas concentraciones ambientales de PO_4^{-3} (UNESCO, 2009). Al realizar modificaciones al cauce del río, como la construcción de presas o canales de riego, el fósforo en sus diferentes formas se ve modificado, generando un desequilibrio en las cantidades de fósforo total, lo que produce que se desequilibren las especies de este nutriente (Liu y col., 2015).

De manera general, en la eutrofización aumenta la materia orgánica y existe una disminución de la variedad de organismos vivos del ecosistema. En estos medios eutróficos se altera la diversidad generando así un aumento en organismos unicelulares como las microalgas, este aumento genera que la luz no pueda atravesar hasta lo más profundo del ecosistema, debido al enturbiamiento del agua por el aumento de los organismos autótrofos (RAP-AL, 2010).

El proceso de fotosíntesis es imposible llevarlo a cabo en las profundidades del cuerpo eutrófico, por lo que el oxígeno disponible no podrá generarse y el poco que exista será consumido por los organismos descomponedores. Ellos tendrán un

aumento en su actividad metabólica debido a la gran cantidad de materia orgánica presente en el fondo del cuerpo de agua. El cual se convertirá en un sistema anaerobio que perderá la propiedad de generar vida gracias a la generación y acumulación de gases como ácido sulfhídrico (H₂S), dióxido de carbono (CO₂) y metano (CH₄), trayendo consigo consecuencias para el cuerpo de agua como su recorte de vida útil, muerte de biodiversidad, concentración de sustancias tóxicas, y aparición de vectores de enfermedades y organismos patógenos (RAP-AL, 2010).

1.4. Bioindicadores

La mayoría de las técnicas que se utilizan para remediar contaminación en aguas son muy poco prácticos ya que requieren de infraestructura adecuada así como de un lugar aislado. Debido a estas limitantes se ha optado por utilizar técnicas que sean *in situ* y amigables con el ambiente, abriendo el campo a organismos nativos de los ecosistemas (Aracic y col., 2015).

De acuerdo a lo que menciona Haznet y col., (2013) el comprender funciones y estructuras de las comunidades bacterianas, al igual que las interacciones de los microorganismos y sus hábitats es el principal objetivo de la ecología microbiana y también su principal reto, ya que no existe una capacidad de cultivar una comunidad de microbios completa por lo que se ha limitado la comprensión exacta de los conjuntos poblacionales de estos organismos.

Los bioindicadores proveen información sobre la calidad del agua y se utilizan organismos que tienen cierto grado tolerancia a la contaminación, y se puede observar mediante la presencia, ausencia o modificación de las familias,

presentes en ese sitio de estudio (Madera y col., 2016). También pueden ser utilizados para observar cambios cronológicos en un ecosistema, donde se observa un cambio en las especies presentes, antes y después de la perturbación, tal es el caso de Priputina y col., (2014) donde se observó una modificación del ecosistema estudiado debido a una carga mayor de nutrientes, lo que alteró las condiciones del medio provocando así una invasión de especies más adaptadas al estado modificado del ecosistema.

Los conocimientos sobre las estructuras y funciones de las comunidades microbianas, en ambientes acuáticos contaminados, está permitiendo manipular las habilidades innatas como biosensores de estos organismos, por lo que su uso será óptimo utilizando las estrategias y herramientas adecuadas (Aracic y col., 2015, y Rios-Tobon y col., 2017).

Las especies indicadoras han sido utilizadas por mucho tiempo, se han utilizado en 54 países de los 6 continentes principalmente en ecosistemas acuáticos (aguas continentales y océanos). La mayoría de los estudios que utilizan bioindicadores, se prueban diferentes especies del mismo taxón, ya que esto vuelve más sencilla la toma de decisiones en situaciones complejas tales como la contaminación de cuerpos de agua (Duarte y col., 2017 y Siddig y col., 2016).

El amplio uso de los bioindicadores se debe a que tienden a disminuir costos y facilitan la implementación de medidas eficientes de tratamiento y control. Son herramientas efectivas con facilidad de medición y proveen resultados que pueden ser claramente compartidos y entendidos para aquellos encargados de

tomar decisiones y para las personas que conviven con el medio (Barba-Álvarez y col., 2012, Rios-Tobón y col., 2017, Siddig y col., 2016).

1.4.1. Microalgas.

Debido a que no se tiene un concepto filogenéticamente bien definido de las microalgas, conocer cuántas especies existen, es complicado, sin embargo, se ha realizado una estimación en donde el número de especies descubiertas son aproximadamente 72,500. Las microalgas son las principales encargadas de desarrollar síntesis de materia orgánica en cuerpos de agua por medio de la fotosíntesis, donde absorben nutrientes disueltos y producen metabolitos para autoconsumo. Además, contribuyen a la generación de biomasa en su ecosistema y son promotoras de la cadena trófica (Guiry, 2012 y Bellinger y col. 2010).

Las microalgas se clasifican debido a la composición de pigmentos, ciclo de vida y componentes bioquímicos y son: Phaeophyta (algas café-doradas), Rhodophyta (algas rojas), Chlorophyta (algas verdes), Bacillariophyta (diatomeas) y Cyanobacteria (algas verdeazules), (Moreno, 2012).

Las microalgas para crecer y desarrollarse, toman nutrientes tales como los nitratos, los cuales en aguas superficiales se encuentran en concentraciones menores a 1 micromolar, pero puede incrementarse dependiendo de las descargas que puedan llegar de fertilizantes de plantas o de granjas de animales (Sanz-Luque y col., 2015).

El proceso de asimilación de los nitratos hasta aminoácidos es relativamente sencillo, cuenta con dos pasos de transporte y dos pasos de reducción. En el primero los nitratos son transportados dentro de la célula, una enzima citosólica Nitrato Reductasa transforma los nitratos en nitritos. Los nitritos son transportados a los cloroplastos donde la enzima Nitrito Reductasa cataliza la reducción a amoníaco (NH_3). El amoníaco es incorporado a los esqueletos de carbono, representado el glutamato, a través de la glutamina sintetasa/glutamina oxoglutarato amino transferasa, o el ciclo de glutamato sintasa . Primero el amoníaco es incorporado como el grupo amida de la glutamina, en una reacción que incluye glutamato y ATP, después el grupo el grupo amida es reducido y se transfiere a una molécula de α -oxoglutarato para formar dos moléculas de glutamato (Sanz-Luque y col., 2015).

Gracias a la importancia como productoras primarias en las cadenas tróficas, las microalgas especialmente las diatomeas son utilizadas como bioindicadores en corrientes y ríos, ya que estas pueden tolerar acciones antropogénicas que afectan las condiciones basales del río, tales como enriquecimiento por nutrientes (Wang y col., 2014).

De acuerdo con los estudios de Segura-García y col. (2012); Mora y col., (2015); y Segura-García y col., (2016), encontraron que los géneros *Navicula*, *Nitzschia*, *Gonphonema* y *Pinnularia* son de los más tolerantes a cambios en las condiciones de su entorno, entre ellas a la concentración alta de electrolitos en ríos altamente contaminados, obteniendo como resultado que este género de diatomeas puede ser utilizado como bioindicador de un sistema lótico. Se reportó también que las actividades humanas han estado modificando las características fisicoquímicas

de los sitios de estudio evaluados, así como las condiciones en las que se encuentran los organismos.

Los estudios de perturbación ambiental, El uso de microalgas como bioindicadores es una herramienta emergente, para estudios en perturbaciones de aguas superficiales, así también como su tratamiento, ya que estas son capaces de reducir las concentraciones de los nitratos presentes en agua, puesto que son necesarios dentro de su metabolismo (Beuckels y col., 2015; Snow, 2016 y Lemley y col., 2016).

1.4.2. Bacterias.

Las bacterias realizan una función de reciclaje y reutilización de la materia orgánica. Son capaces de sintetizar enzimas que pueden degradar compuestos orgánicos a moléculas simples que funcionan como fuente de nutrientes para su organismo, y los elementos necesarios para su crecimiento son el carbono, oxígeno, fósforo, potasio, nitrógeno, sodio, calcio y hierro (Elosegui, 2009).

Un ejemplo de reciclado de nutrientes lo podemos observar en el ciclo microbiano-marino del fósforo o de Redfield, el cual es el más activo ya que tiene duraciones cortas que van desde horas hasta aproximadamente un mes, este ciclo se considera que se encuentra estable, ya que las fuentes de fósforo contribuyen la misma cantidad del fósforo que se hunde (Karl, 2014).

En este ciclo los procesos básicos que se realizan son la toma del fósforo, su asimilación en varias moléculas orgánicas, remineralización orgánica y liberación del fósforo inorgánico para la continuidad del ciclo (Karl, 2014).

Los estados asimilables del fósforo para los microorganismos son al menos 4: oxianiones inorgánicos entre los que se incluyen los fosfatos (PO_4^{3-}), fosfitos (PO_3^{3-}), pirofosfatos y polifosfatos; monoesteres y diesteres unidos a organofostatos; organofosfonatos y fosfoanhídridos orgánicos.

Para aprovechar la asimilación máxima del el fósforo inorgánico (Pi) presente en el ambiente, las bacterias han desarrollado mecanismos que permiten administrar el fósforo, este mecanismo es conocido como el regulón *Pho* que fue caracterizado primero en *E. coli* por Warner y Chang, (1987), forman parte de este regulón enzimas extracelulares que permiten obtener Pi de fosfatos orgánicos, transportadores específicos de Pi y enzimas que están involucradas en almacén y ahorro de nutrientes (Santos-Beneit y col., 2008).

Existe un regulador de respuesta citoplásmica transcripcional y una proteína de membrana interna con sensor de histidina cinasa, los cuales conforman el sistema regulador de dos componentes que controlan al regulón *Pho*, que cuando comienza el déficit del fósforo, el regulador de respuesta es fosforilado en un residuo aspártico por el sensor de cinasa, la cual puede unir a una secuencia específica de DNA para activar o reprimir la transcripción de los genes (Makino y col., 1988).

Todo este sistema es conocido como la caja *Pho*, la cual fue caracterizada en *E. coli* y definida como una secuencia de 18 nucleótidos divididos en dos unidades de siete nucleótidos directamente repetidos, unidos por cuatro nucleótidos no conservados (Makino y col., 1988).

Sin embargo, el estudio de cristalografía de Blanco y col., (2002) encontró que la caja *Pho* se define como la suma de dos unidades de 11 nucleótidos directamente repetidos, compuesto por siete nucleótidos bien preservado y cuatro nucleótidos menos preservados.

Las bacterias como bioindicadores son utilizadas para la valoración de bienes y servicios ambientales, también para entender dinámicas de respuesta ambiental y medir la variabilidad espacio-temporal de los cuerpos de agua. Son también indicadores de respuesta rápida (Larrea y col., 2010 y Elosegui, 2009).

A pesar de su relevancia en múltiples estratos ecológicos, las bacterias han sido utilizadas ampliamente como indicadores de contaminación fecal, sin embargo, es posible utilizarlas para monitorear otros parámetros de la calidad del agua (Guglielmo y col., 2014).

La diversidad de las poblaciones bacterianas presentes en los sedimentos de los sistemas lóticos, están definidas por la interacción de microbios y el ambiente, y nos indican los procesos bioquímicos y bacterianos que se realizan en el sitio. Las poblaciones bacterianas modifican el medio en el que se encuentran y lo hacen mediante el reciclado de los nutrientes, cabe mencionar que los hábitats en los que

tienen presencia las poblaciones bacterianas pueden verse modificados debido a las actividades antropogénicas y los microorganismos presentes tienen la habilidad de adaptar y/o modificar sus procesos, teniendo así la función de bioindicadores (Chen y col., 2015 y Thoetkiattikul y col., 2016).

En el estudio realizado por Chen y col., (2015) en el cual se evaluó la variación temporal de los organismos procariontes presentes en el sedimento y su relación con el rápido incremento de las poblaciones algales, señala que esta correlación es positiva y que el fósforo es el factor limitante para el crecimiento algal y el sedimento es una fuente importante de nutrientes para el cuerpo de agua, el análisis molecular realizado en este estudio reveló también que al existir este crecimiento exponencial de las algas, la diversidad de organismos procariontes presentes en el sedimento se ve disminuida, indicando que estas bacterias son sensibles al cambio temporal de las concentraciones de nutrientes.

Las poblaciones bacterianas de los sedimentos de un río también fueron sensibles al vertido de desechos de la industria papelera, que las poblaciones bacterianas presentes antes y después del punto de descarga se vieron modificadas por estos residuos (Guo y col., 2016)

Cabe mencionar que el phylum Proteobacteria, especialmente las Epsilonproteobacterias son vulnerables a la modificación de los nutrientes y disminuyeron sus poblaciones, estas pueden ser utilizadas como buenos bioindicadores del estado trófico de los cuerpos de agua (Guo y col., 2016 y Chen y col., 2015).

Chen y col., (2015), Guo y col., (2016) y Hladilek y col., (2016) han utilizado nuevas técnicas moleculares de identificación, las cuales pueden ser utilizadas de manera rutinaria para realizar análisis de los diferentes cuerpos de agua, los cuales pueden estar siendo modificados por las actividades antropogénicas o naturales que se realizan a sus alrededores.

1.4.3 Interacción entre microalgas y bacterias.

Las microalgas como productores primarios, son base de la red trófica, ya que ellas pueden sintetizar compuestos orgánicos desde el dióxido de carbono, los cuales son consumidos por organismos heterótrofos, y tienen una importancia biogeoquímica y ecológica determinante, que se han llegado a considerar como factores fundamentales en la forma de las comunidades acuáticas (Kouzuma y Watanabe, 2015).

Cooper y Smith (2015) demostraron que los análisis de la relación entre las bacterias y algunas microalgas han generado alguna evidencia de una co-evolución, y también de cierta ventaja sobre otras especies que no tienen una asociación, ya que las microalgas producen cantidades significativas de materia orgánica disuelta y esta es aprovechada por las bacterias para la fijación de nitrógeno, así como la obtención de micronutrientes y hierro.

Los estudios realizados por Goecke y col. (2013) han revelado por metanálisis de 40 especies de microalgas y algas, se ha revelado que existen principalmente 6 filos diferentes de bacterias, los cuales son Bacteroidetes con 42

géneros, Proteobacteria con 32 géneros, Firmicutes con 7 géneros, Verrucomicrobia con 3 géneros y Planctomycetes con 1 género, otro de los estudios realizado por Amin y col. (2012) revelaron que la interacción entre bacterias y diatomeas, se muestra que la mayor parte de las bacterias presentes pertenecen al filo de Proteobacterias, específicamente Alfaproteobacterias y también del filo Bacteroidetes.

Las interacciones microalga-bacteria cubren todo tipo de interacciones simbióticas; las algas son los principales organismos productores y las bacterias son los principales organismos descomponedores, y son los principales pilares de los ecosistemas y las unidades funcionales más importantes de los mismos (Ramanan y col., 2016), hay interacciones mutualistas tales como las explicadas por Cho y col. (2012) que nos dice que las algas suplen de carbono orgánico fijado y a cambio las bacterias otorgan carbono inorgánico disuelto para el consumo algal. En interacciones comensalistas Cho y col. (2015) trajo a la luz que, en la ficosfera, que es el espacio donde los exudados de las microalga tienen una repercusión sobre los organismos que cohabitan en ese lugar, las bacterias buscan alimento y refugio, sin otorgarle nada al alga que las alberga.

El parasitismo a diferencia del mutualismo y el comensalismo en la interacción microalgas bacterias, está relativamente bien estudiado, muchas bacterias han sido conocidas por afectar de manera negativa a las microalgas, las cuales se encuentran cercanas a la pared celular de su huésped, y se alimentan de la degradación de la misma (Wang y col., 2010).

Se han podido determinar 3 tipos de interacciones, y han sido nombradas como intercambio de nutrientes, señalización de transducción y transferencia de genes, la más común de estas interacciones es el intercambio de nutrientes (Kouzuma y Watanabe, 2015).

En el intercambio de nutrientes, el alga libera compuestos químicos generados de la fotosíntesis como el carbono orgánico disuelto y las bacterias heterótrofas lo asimilan y lo descomponen, también los cuerpos muertos de las microalgas pueden servir de alimentos a las bacterias (Kouzuma y Watanabe, 2015). También en el estudio realizado por Van Oostende y col. (2013) reveló que las microalgas pueden generar ciertas partículas de polímeros, las cuales pueden seleccionar que géneros de bacterias y las actividades que pueden realizar, al cohabitar en los mismos espacios.

La señalización de transducción, en este caso los compuestos químicos que se generan no son utilizados como nutrientes si no que se utilizan para la activación o represión de genes y/o actividades fisiológicas, ejemplos de esto son la formación de biofilms o metabolitos generados por las bacterias *Shewanella*, *Streptomyces* y *Bacillus*, los cuales pueden funcionar como alguicidas, lo cual genera gran cantidad de interacciones de señalización.

En el intercambio de genes es un proceso de evolución reciente, el cual permite la adaptación de los microorganismos mediante funciones claves, que les permitan sobrevivir a un medio que está cambiando. Allen y col. (2011), nos indica que se encontraron diatomeas que codifican enzimas en el ciclo de la ornitina-urea,

los cuales provienen de una bacteria y le permite tener una facilidad de respuesta metabólica al nitrógeno disponible de manera episódica.

2. OBJETIVOS

2.1 General.

Evaluar la diversidad de microalgas y grupos bacterianos y relacionarlos con las concentraciones fosfatos (PO_4^{-3}) y nitratos (NO_3^{-1}), presentes en un cuerpo de agua lótico.

2.2 Específicos.

- a) Caracterizar las condiciones tróficas del río Celio mediante parámetros fisicoquímicos.

- b) Identificar los principales grupos de microorganismos (microalgas y bacterias) así como su distribución temporal en el río Celio.

- c) Correlacionar las concentraciones de iones fosfato (PO_4^{-3}) y iones nitrato (NO_3^{-1}) con la abundancia y distribución de microorganismos en el río Celio.

3. METODOLOGÍA

3.1 Identificación del área de estudio.

El río Celio con una longitud aproximada de 10 km, se encuentra a través de la mancha urbana que conforma al municipio de Jacona, el cual se ubica al noreste del estado de Michoacán, con coordenadas de 19°56'59.73" N y 102°18'53.62" W, con una altitud entre los 1560 y 1580 msnm (PMDUJ, 2016 y Sánchez-Rodríguez, 2007).

3.2 Caracterización fisicoquímica del río Celio.

Para la descripción fisicoquímica del río se tomaron 4 puntos de muestreo de acuerdo a las características morfológicas y tamaño del cuerpo de agua o lugares que presenten problemáticas conocidas como descargas (CONAGUA, 2004).

Los puntos de muestreo seleccionados de acuerdo a sus características, se encuentran distribuidos longitudinalmente abarcando las partes del río, desde su nacimiento hasta donde confluye con el río Duero. Las características de estos puntos de muestreo son: el punto #1 se localiza en el inicio del río Celio, el punto #2 coincide con tierras de cultivo y los puntos #3 y #4 se encuentran dentro de la mancha urbana del municipio de Jacona. Estos puntos de muestreo se muestran en la Figura 1, las coordenadas geográficas, son mencionadas en el Cuadro 1



Figura 1 Ubicación geográfica del río Celio y de los puntos de muestreo.

Los cuales podemos ubicar mediante coordenadas geográficas en el Cuadro 1:

Cuadro 1 Coordenadas geográficas de los puntos de muestreo, tomadas de Google Earth.

Puntos de muestreo	Coordenadas geográficas	Altitud	Característica
Punto de muestreo #1	19° 56' 21.97" N 102° 17' 57.55" W	1621 msnm	Inicio del Río Celio
Punto de muestreo #2	19° 56' 42.69" N 102° 18' 15.56" W	1602 msnm	Tierras Agrícolas

Punto de muestreo #3	19° 57' 08.50" N 102° 18' 20.15" W	1592 msnm	Mancha Urbana
Punto de muestreo #4	19° 57' 46.53" N 102° 18' 06.54" W	1578 msnm	Mancha Urbana

3.2.1 Análisis fisicoquímicos *in situ*.

Los parámetros fisicoquímicos se midieron en los puntos de muestreo previamente seleccionados y se realizaron las mediciones de acuerdo a las normativa mexicana vigente. Las cuales se presentan en el cuadro 2:

Cuadro 2 Variables fisicoquímicas medidas *In situ*.

Parámetro	Equipo de medición	Fuente
pH	Potenciómetro de campo con electrodo de vidrio.	NMX-AA-008-SFCI-2011
Temperatura	Termómetro	NMX-AA-007-SCFI-2013

3.2.2 Análisis fisicoquímicos *ex situ*.

Los nutrientes fueron trasladados del sitio de muestreo al laboratorio en una hielera de unicel con un refrigerante que mantuvo una temperatura de aproximadamente 4°C, donde fueron cuantificados mediante espectrofotometría de UV-VIS, Utilizando los métodos que se muestran en el cuadro 3.

Cuadro 3 Variables fisicoquímicas medidas *Ex situ*.

Nutriente	Metodología	Bibliografía
Nitratos	Método de sulfato de brucina.	NMX-AA-079-SCFI-2001
Fosfatos	Método ácido vanadiomolibdofosfórico	NMX-AA-029-SCFI-2001

3.3 Identificación de los principales grupos de microalgas.

Para la identificación de microalgas, se realizó un cultivo en matraces Erlenmeyer de 250 ml tomando una alícuota del agua que se tomó en el periodo de análisis, en el que se colocaron 150 ml de muestra y se añadió la relación correspondiente de medio basal BOLD la cual es 20 ml de medio por cada litro de muestra. Una vez preparado el cultivo se colocaron en el invernadero y con bombas de aireación se dejaron crecer durante 2 semanas, en presencia de luz blanca artificial, a una temperatura constante de 22°C.

3.3.1 Identificación de microalgas mediante claves taxonómicas

Se tomó una alícuota de cada punto de muestreo y se colocó en un portaobjetos, se le agregó una gota de lugol para fijar y se observó en el microscopio, mientras se comparó con las claves taxonómicas presentes en el cuadro 4:

Cuadro 4 Claves taxonómicas de identificación de microalgas.

Nombre	Autor	Editorial	Año
Atlas de los microorganismos de agua dulce: La Vida en una gota de agua	Streble Heinz Krauter Dieter	Ediciones Omega S.A.	1987
Guía para el estudio de los seres vivos de las aguas dulces	Needham J.G. Needham P.R.	Editorial Reverte S.A.	1982
A manual of the fresh-water algae in North Carolina	Whitford L.A. Schumacher G.J.	The North Carolina Agricultural Experiment Station	1969

3.4 Descripción de especies bacterianas.

En cada punto de muestreo fue obtenido un poco de sedimento mediante el uso de una draga. Este método de recolección de alícuotas, es un método que permite homogeneidad y tiene como ventaja la seguridad de la persona que toma la muestra, ya que no es necesario que descienda al sitio. (CONAGUA, 2004).

3.4.1 Análisis microbiológico de identificación de grupos bacterianos

Mediante la metodología empleada por Moreno y Albarracín, (2012) el uso de diluciones en serie, se pesaron 0.5 g de muestra, los cuales se colocaron en un tubo Falcon estéril, después de esto, fueron añadidos 9 ml de solución fisiológica de sembrado (agua destilada 0.9% NaCl), después con una pipeta estéril se tomaron 1000 μ l, los cuales se colocaron en otro tubo cónico Falcon y se agregaron 9 ml, este procedimiento se realizó hasta hacer diluciones 1:10⁶.

Se prepararon 320 ml de agar Soya Trypticaseína de la marca BD Bioxon Cuautitlán Izcalli, Estado de México, México siguiendo la relación de 40 g del preparado deshidratado en 1000 ml de agua, calentando hasta generar una mezcla homogénea sin grumos, color ámbar, después en autoclave se esterilizó por 15 minutos a 121 libras de presión, se dejó enfriar hasta tenerlo a una temperatura aproximada de 50°C (BD, 2014).

Las diluciones 1:10⁵ y 1:10⁶ se sembraron, en una campana de flujo laminar, mediante la metodología de vaciado en placa, colocándolo en una placa de

Petri estéril 1000 µl de cada una por duplicado, y se colocaron 20 ml de agar soya tripticaseína, la mezcla de la muestra y el agar, se mezcló y se dejó solidificar y fueron incubadas durante 24 horas a 37°C. Las placas fueron retiradas de la incubadora y se seleccionaron las colonias bacterianas que se aislaron por el método de estriado en placa, mediante el uso de agar soya tripticaseína. Se incubaron a 37°C por 24 horas (Ben-David y Davidson, 2014).

Los géneros bacterianos se identificaron utilizando baterías de pruebas bioquímicas. Estas baterías fueron conformadas por los medios de cultivo que se presentan en el Cuadro 5:

Cuadro 5 Medios de cultivo utilizados para identificar géneros bacterianos.

Medio de Cultivo	Preparación	Marca y lugar de fabricación.	Referencia
Agar Citrato de Simmons	Suspender de 24.2 g en 1000 ml de agua destilada, calentar y hervir por 1 min. Distribuir en tubos de tapón de rosca, esterilizar a 121°C por 15 min, y dejar enfriar en posición inclinada.	BD Bioxon, Cuautitlán Izcalli, Estado de México, México.	Bento-Rodríguez y col. (2017)

Agar Hierro y Triple Azúcar (TSI)	Suspender de 65 g en 1000 ml de agua destilada, calentar y hervir por 1 min. Distribuir en tubos de tapón de rosca, esterilizar a 121°C por 15 min, y dejar enfriar en posición inclinada	BD Bioxon, Cuautitlán Izcalli, Estado de México, México.	Bento-Rodríguez y col. (2017)
Agar Hierro y Lisina (LIA)	Suspender 33 g en 1000 ml de agua destilada, calentar y hervir por 1 min., distribuir en tubos de tapón de rosca, esterilizar a 121°C por 12 min.	BD Bioxon. Cuautitlán Izcalli, Estado de México, México.	Bento-Rodríguez y col. (2017)
Medio de Movilidad Indol y Ornitina (MIO)	Disolver 31 g en 1000 ml de agua destilada, distribuir en tubos de tapon de rosca, esterilizar a 121°C durante 15 min. Y dejar enfriar en posición inclinada.	BD Bioxon, Cuautitlán Izcalli, Estado de México, México.	Bento-Rodríguez y col. (2017)

3.4.2 Identificación de especies bacterianas mediante pruebas moleculares.

La metodología empleada para la extracción de DNA fue la metodología CTAB, propuesta por Doyle y col., (1990), donde se pesaron 200 mg de sedimento en tubos Eppendorf de dos ml, se agregó un ml de solución CTAB y se colocó en un Vortex Genie 2 por un minuto, pasado este tiempo se agregaron 200 µl .de fenol-cloroformo-alcohol isoamílico (25:24:1 v/v/v) se dio un giro en el vortex y se esperaron tres minutos, se centrifugó por 10 minutos a 13000 rpm en la

microcentrífuga Mikro 20, marca Hettich, quedaron dos fases separadas, la fase acuosa se recuperó en un tubo Eppendorf de dos ml y se agregaron 200 µl de cloroformo-álcohol isoamílico (24:1 v/v), se centrifugó nuevamente a 13000 rpm por 10 minutos y se recuperó un volumen de fase acuosa en un tubo Eppendorf cónico de 1.5 ml, se agregaron dos volúmenes etanol absoluto y una décima parte del volumen de acetato de sodio 3 M con pH de 5.2, se precipitó durante 24 hora en refrigeración a -20 °C. Se centrifugó nuevamente a 13000 rpm durante 10 minutos, se retiró el sobrenadante y se agregó 1 ml de etanol al 70% con DEPC, se agitó suavemente y se centrifugó a 13,000 rpm por 10 minutos, una vez centrifugado se realizó un segundo lavado, se centrifugó a 13000 rpm por 10 minutos. Se agitó en un solo giro y luego se retiró el líquido sobrenadante dejando secar la pastilla, la cual se resuspendió con 50 µl de TE (Tris EDTA), se preparó un gel de agarosa ultrapura marca Invitrogen, Carlsbad California, E.U.A. al 1% con TAE 1x compuesto por 40 mM Tris, 20 mM ácido acético y 1mM EDTA (Sura y Ziblkowski, 2018), el cual se corrió en una cámara de electroforesis BioRad, modelo PowerPac Basic, Carlsbad California, E.U.A., durante 45 minutos con un potencial eléctrico de 70 V, con un compuesto fluorescente GelRed (Crisfuli y col., 2015). Una vez terminada la corrida el gel de electroforesis fue revelado en un fotodocumentador marca BioRad modelo GelDoc XR + system, Carlsbad California, E.U.A. y se observó la presencia de la banda de DNA de alto peso molecular extraído.

Una vez obtenido el DNA, se preparó y se dispuso para secuenciación del mismo por la empresa Macrogen (Seúl, Corea del Sur)

3.5 Correlación entre microalgas, grupos bacterianos y parámetros fisicoquímicos.

La relación existente entre las especies de microalgas en el ecosistema lotico, y la concentración de PO_4^{-3} y NO_3^{-1} en el medio se realizó mediante los análisis estadísticos que se obtuvieron mediante el paquete estadístico Minitab 17, el modelo estadístico utilizado es un diseño longitudinal:

- Análisis de Componentes Principales
- Modelo de Correlación Lineal de Pearson

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Caracterización fisicoquímica del río Celio

4.1.1 Análisis fisicoquímicos *In situ*

En la Figura 2 se pueden observar los valores obtenidos de pH entre las diferentes estacionalidades del periodo de tiempo en el que se realizó la toma de muestra. Se destaca el valor más bajo en la estación de invierno con 6.08 unidades de pH y el más alto se encuentra en la estación de otoño con un valor de 7.71 unidades de pH.

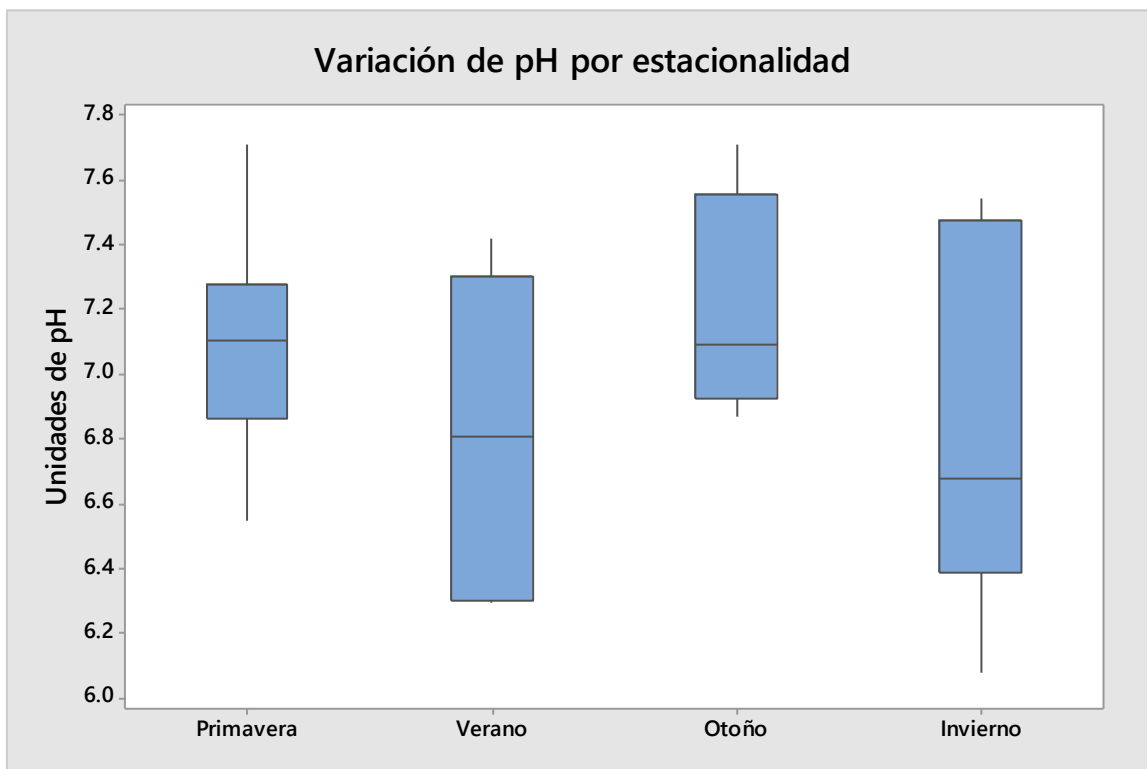


Figura 2 Valores obtenidos de pH por estacionalidad

La NOM-127-SSA1-1994 menciona que el rango de pH para aguas potables oscila entre las 6.50 y 8.50 unidades de pH. Y de acuerdo a los datos obtenidos en este estudio, el cuerpo de agua en el periodo de tiempo muestreado, la mayoría de los resultados obtenidos se encuentran dentro de la norma.

La estación de invierno cuenta con los valores que salen de la normativa de aguas potables, esto puede deberse a la disminución del caudal y al aumento en la concentración de algunos electrolitos que disminuyen los valores del pH.

Webb y col., 2008 plantean que uno de los parámetros más importantes para la calidad de agua es la temperatura, la cual es afectada de manera directa por muchas de las actividades antropogénicas.

La temperatura obtenida en el periodo de tiempo muestreado fue variando de acuerdo a la estación en la cual se realizó el análisis. Es importante mencionar que las mediciones se realizaron dentro del intervalo comprendido entre las 12:00 y las 14:00 horas. Los resultados se muestran en la: Figura 3.

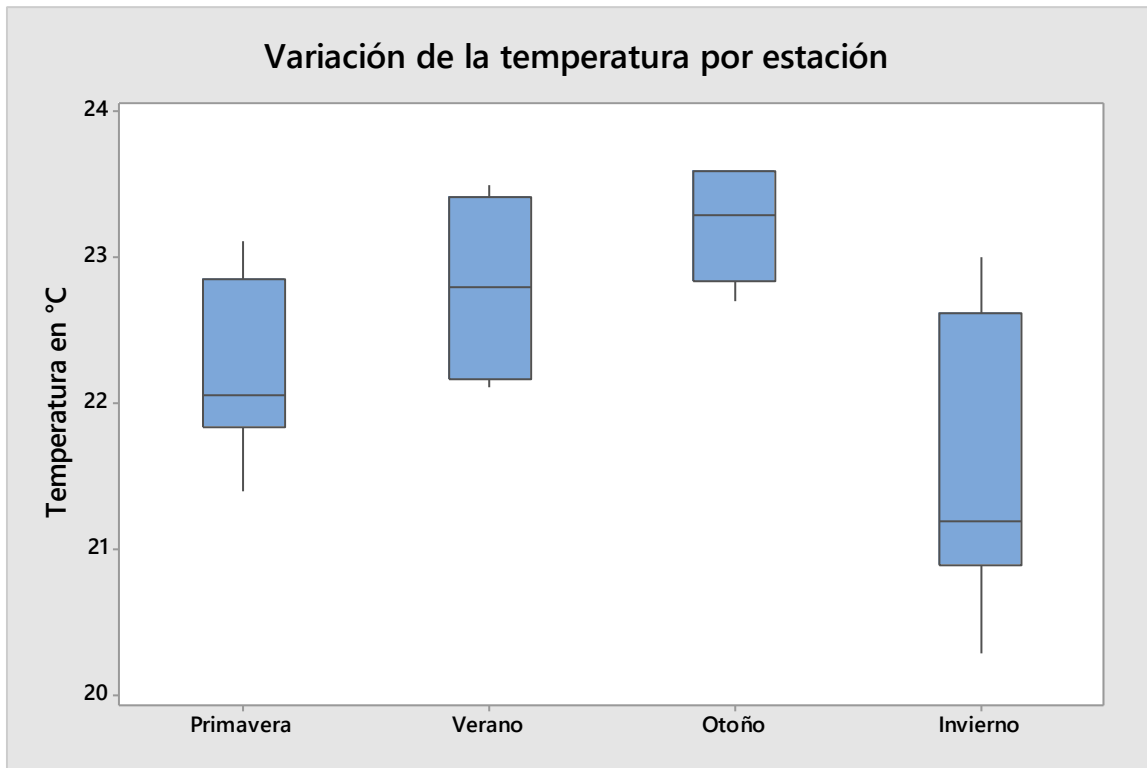


Figura 3 Valores obtenidos para el parámetro de temperatura, medidos por estacionalidad.

La temperatura más alta que se registró fue de 23.60°C en la estación de otoño, mientras que la temperatura más baja fue durante la estación de invierno con un valor de 20.29°C.

La temperatura aumentó con respecto a los valores de Silva y col., 2013 el cual es de 20.26°C, Como lo mencionó Webb y col., 2008 estos estudios que relacionan el aumento de la temperatura con ciertas actividades antropogénicas se están abriendo camino, sin embargo, no podemos decir que es lo que está afectando de manera directa a este aumento de temperatura.

Los valores del periodo de muestreo fueron comparados contra valores ambientales tomados de la estación climatológica Orandino del Servicio Meteorológico Nacional con clave 00016162 con coordenadas geográficas 19° 57' 28.5" N y 102° 19' 35.3" W del intervalo comprendido entre la estación de verano de 2015 y la estación de primavera del 2016. Dichos valores son presentados en la Figura 4:

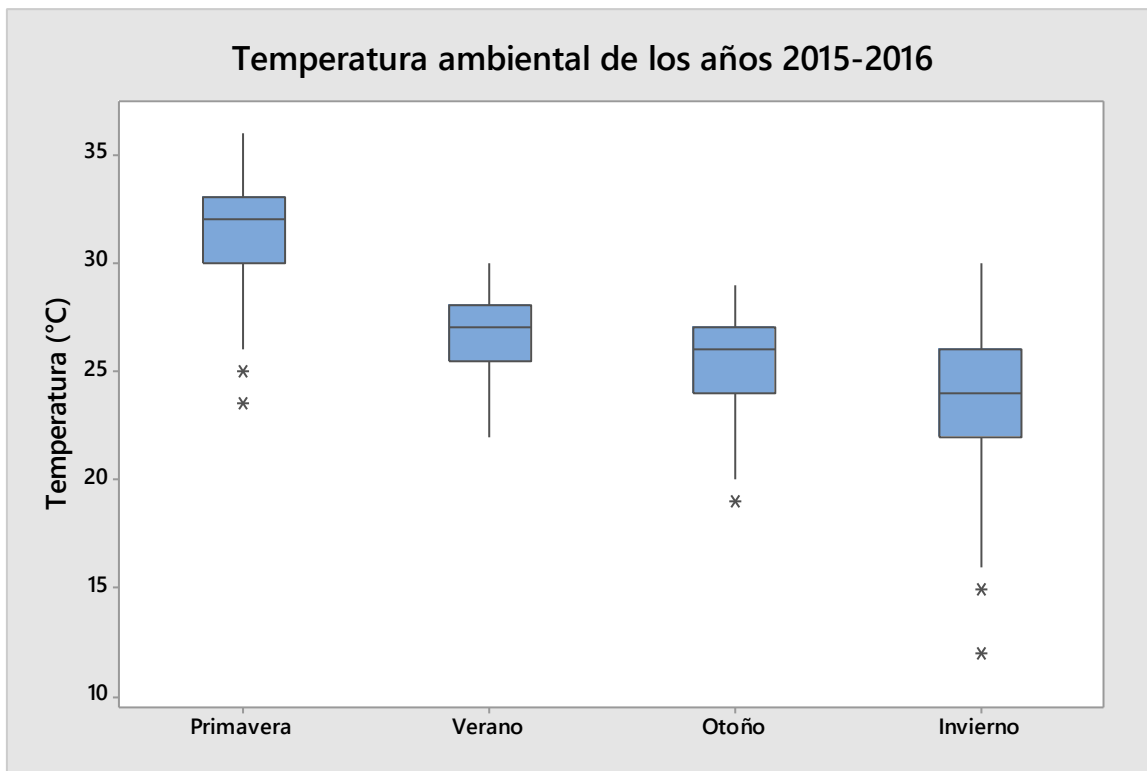


Figura 4 Temperatura máxima registrada por la Estación Orandino del SMN para los años 2015-2016

Los valores mostrados por la estación Orandino, son mayores y menores que los que se tomaron en los sitios de muestreo, la temperatura mayor se obtuvo

durante la estación de primavera con 36.0°C y el más bajo en invierno con 12°C. Los valores de la temperatura en el río Celio durante el periodo de muestreo no rebasan , los valores arrojados por la estación climática.

4.1.2 Análisis fisicoquímicos *ex situ*

Dentro de los análisis fisicoquímicos *Ex situ* se muestran los resultados de los realizados para la concentración de nitratos y fosfatos en agua.

La Figura 5 nos muestra la concentración de nitratos en agua a lo largo del periodo de tiempo muestreado. Los valores se encuentran dentro del rango de los 2.147 mgL⁻¹ y los 6.116 mgL⁻¹, los cuales se obtuvieron en la estación de invierno y la estación de verano respectivamente.

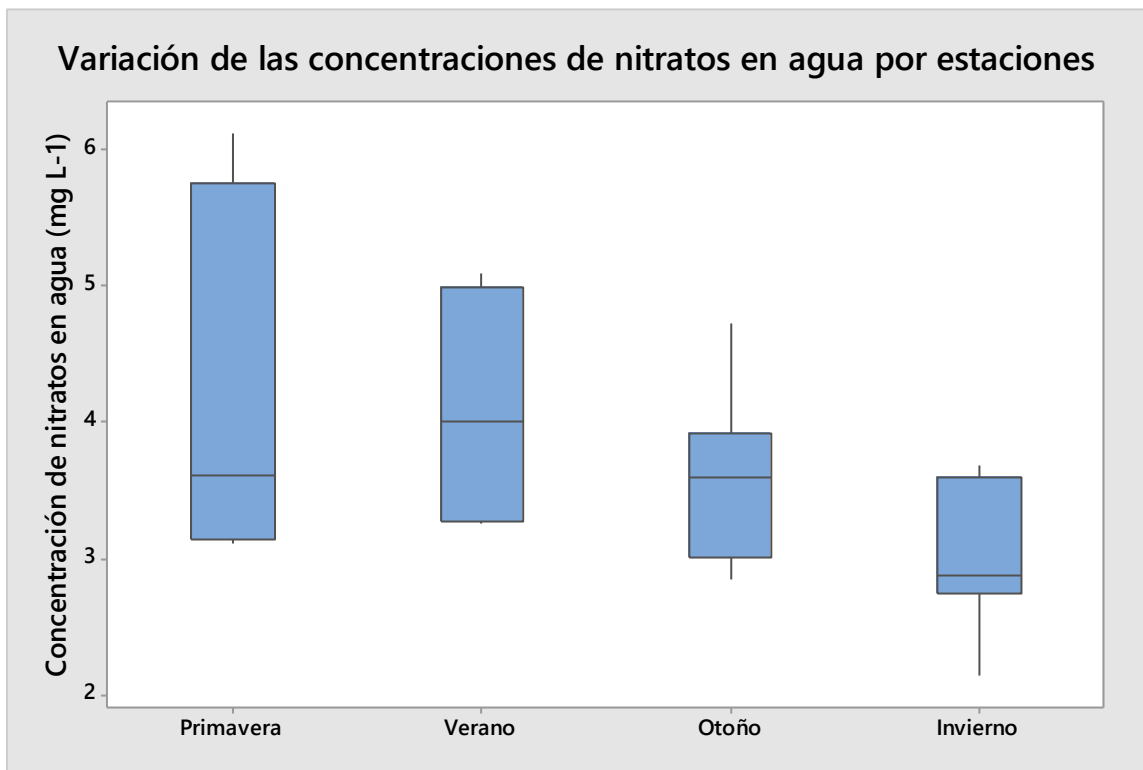


Figura 5 Concentración de nitratos en agua obtenida por estacionalidad

El río Celio es utilizado para riego de cosechas y el valor límite para el agua que es utilizada para riego agrícola y pecuario del Acuerdo por el que se establecen los criterios ecológicos de calidad de aguas, publicado por la SEDUE, 1989, es de 90 mg L⁻¹, los valores están por debajo del límite máximo permisible y tienen un uso apropiado, basándose en el documento señalado con anterioridad.

Moncayo-Estrada y col., 2017 realizaron un estudio donde demuestran la variación de nitrógeno como nutriente en los diferentes cuerpos de agua que

corresponden a la cuenca del río Duero. Estos análisis se realizaron en el periodo comprendido entre los meses de mayo y diciembre de 2013. Los cuales también muestran un valor único para el río Celio, el cual fue de $2.5 \pm 1.39 \text{ mg L}^{-1}$.

El aumento en la concentración de nitratos en agua, Moncayo-Estrada y col., 2017 lo asocia a la modificación del paisaje a lo largo del río Duero, es decir el cambio de uso de suelo a tierras de cultivo.

Al existir un cambio de uso de suelo, los costados del río se ven modificados y los organismos como árboles y arbustos ya no cumplen con su función de ser refugio para insectos y otros organismos, generan la presencia de plagas. Y para su exterminio se utilizan productos agroquímicos los cuales alteran las concentraciones de nitratos y fosfatos en el agua (Moncayo-Estrada y col., 2017).

Las concentraciones de fosfatos en agua en las diferentes estaciones del periodo muestreado se presentan en la Figura 6:

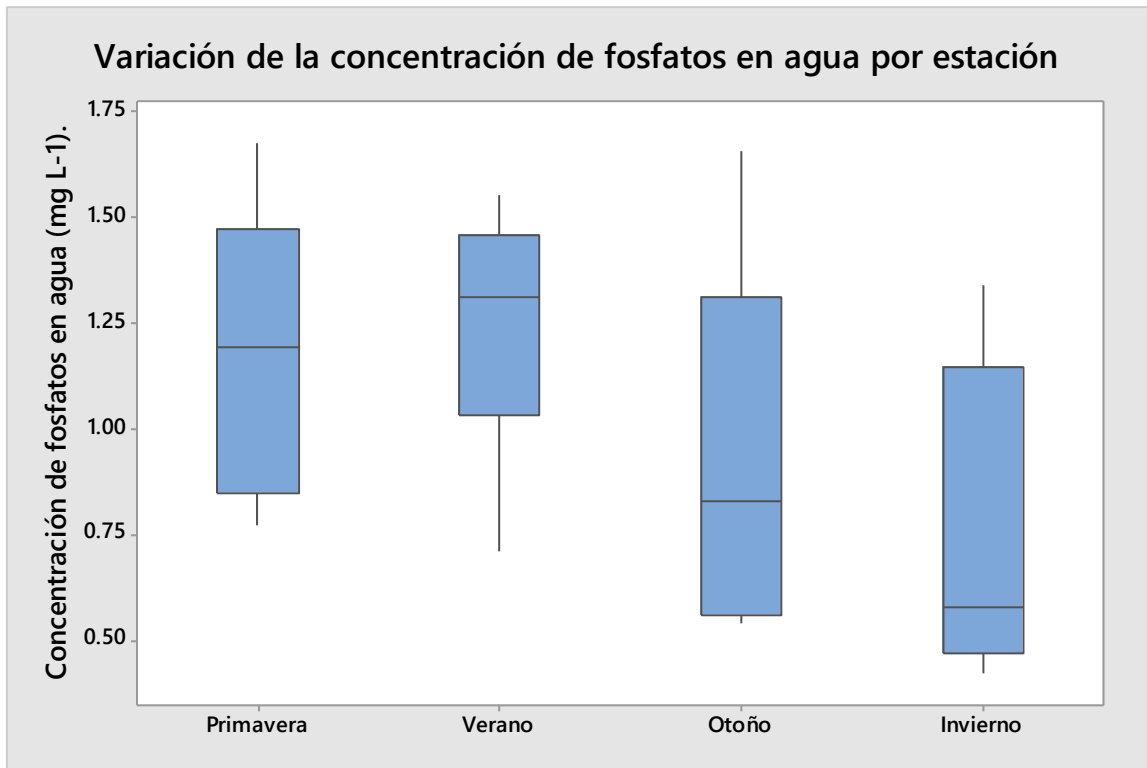


Figura 6 Variación de las concentraciones de fosfato en agua durante el periodo de evaluación del Río Celio.

La concentración de fosfatos en agua, más alta se encuentra en la estación de primavera, con un valor de 1.674 mg L^{-1} , mientras que, el más bajo se presentó en la estación de invierno siendo este de 0.472 mg L^{-1} .

El valor máximo permisible, de acuerdo a SEDUE, (1989) es de 0.1 mg L^{-1} que a su vez es valor el indicado para evitar la aceleración del proceso de eutrofización.

Como se mencionó con anterioridad, los valores han aumentado de manera significativa con respecto al último estudio realizado. De acuerdo con Silva y col., 2013 y Moncayo-Estrada y col., 2017 esto puede deberse a la descarga de aguas domésticas y el cambio de uso de suelo, el cual lixivia productos agroquímicos al río.

Los parámetros fisicoquímicos evaluados para el periodo de tiempo comprendido entre febrero de 2017 a enero de 2018, se encuentran dentro de los rangos permitidos para uso agrícola por la SEDUE, 1989. El valor crítico de fosfatos para evitar una aceleración en el proceso de eutrofización, es rebasado por los valores obtenidos, por lo que es necesario valorar la formación de algún sistema de tratamiento de agua residual que sea específico para limitar la concentración de fosfatos en agua, o generar un sistema de monitoreo que permita evaluar sitios donde existan descargas domésticas para poder tener un control de que se deshecha al río Celio.

4.2 Identificación de los principales grupos de microorganismos (microalgas y bacterias) así como su distribución temporal a lo largo del río Celio.

4.2.1 Análisis e identificación de los principales grupos de bacterias

La concentración de microorganismos, en UFC ml⁻¹, es presentada en la Figura 7. La estación de primavera obtuvo el valor más bajo del periodo muestreado,

con una concentración de 1.05×10^6 UFC ml^{-1} , mientras que el resultado de 4.10×10^6 UFC ml^{-1} fue el más alto reportado, y se presentó en la estación de invierno.

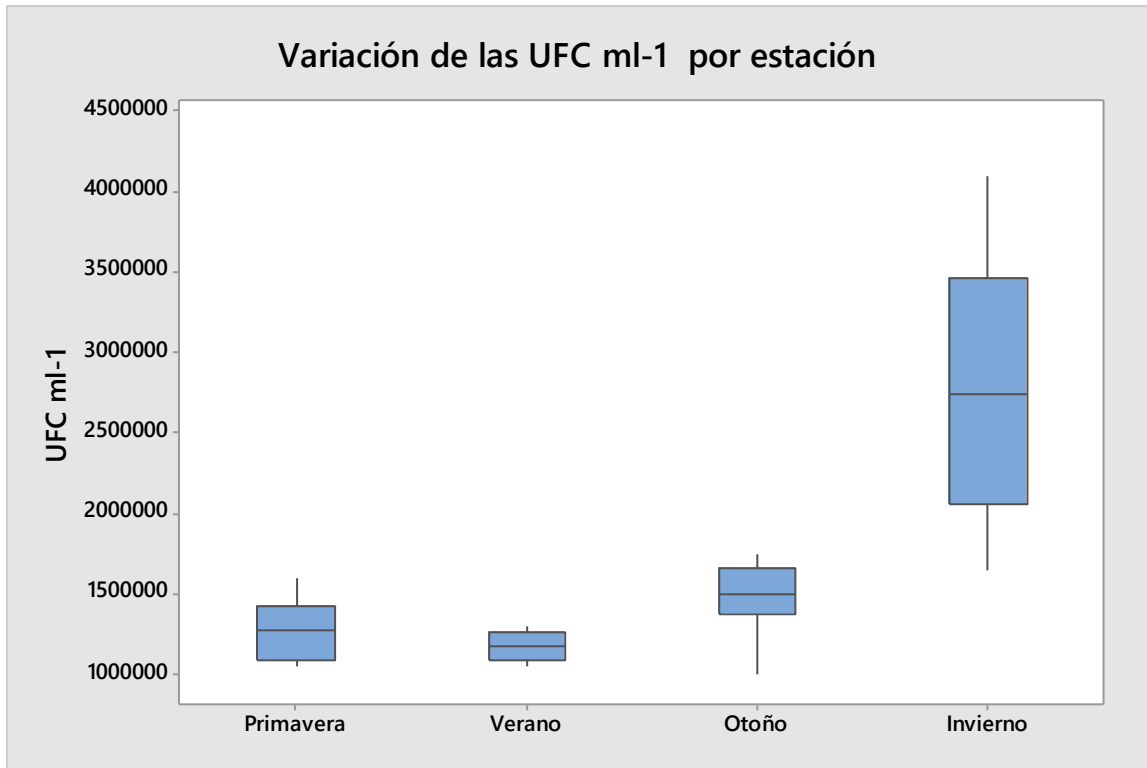


Figura 7 Variación de las Unidades Formadoras de Colonias durante el periodo de tiempo de febrero de 2017 a enero de 2018

Las pruebas de conteo bacteriano únicamente estimaron la cantidad de microorganismos presentes en el río. Los estudios realizados por Silva-García y col., (2015) demostraron que las aguas pertenecientes a la cuenca del río Duero se encontraban contaminadas por mesófilos aerobios y *E. coli* por lo que es necesario el uso de un tratamiento potabilizador para su uso doméstico.

Los grupos que se identificaron mediante pruebas bioquímicas se encuentran dentro del grupo de bacterias mesófilas aerobias, y algunas de ellas pueden ser patógenas para el ser humano, plantas y animales. Los microorganismos encontrados fueron reportados por punto de muestreo en el Cuadro 6:

Cuadro 6 Géneros bacterianos encontrados en cada uno de los puntos de muestreo del río Celio.

	Punto de muestreo 1	Punto de muestreo 2	Punto de muestreo 3	Punto de muestreo 4
<i>Pseudomonas</i> spp.				
<i>Salmonella</i> spp.				
<i>Citrobacter</i> spp.				
<i>Escherichia</i> spp.				
<i>Shigella</i> spp.				
<i>Klebsiella</i> spp.				
<i>Enterobacter</i> spp.				

En azul presencia de géneros en ese punto de muestreo y en rojo ausencia del género identificado.

Dentro de los microorganismos encontrados, se destacan algunos de ellos por su patogenicidad a humanos y animales. La presencia de *Salmonella* spp., la cual, de acuerdo con la OMS (2018), es un género de bacilo gramnegativo de la familia de las Enterobacteriaceae, se encuentra en todos los ecosistemas y puede sobrevivir durante muchos meses en ambientes húmedos. Han sido encontrados aproximadamente 2500 serotipos de dos especies diferentes *Salmonella enterica* y *Salmonella bongori*, y todos, son patógenos para el ser humano.

Salmonella spp. Se encuentra presente en ecosistemas que han sido modificados por el ser humano, Ekwanza y col., (2017) identificaron mediante el uso de técnicas moleculares, la presencia de *Salmonella* spp. a lo largo del río Apies, siendo esto un problema para el uso de estas aguas como riego agrícola, uso recreacional, y otros propósitos.

Estudios como el de Bhasin y col., (2015) demuestran también que descargas domesticas masivas así como residuos dejados por un festival religioso en el río Kshirpra en India, aumentaron la concentración del género *Salmonella* y otros géneros de microorganismos presentes en este cuerpo de agua. Siendo esto un problema ecológico como de salud para las poblaciones cercanas. Uno de las soluciones a la cual se llevo es, a la construcción de un canal de descarga de aguas residuales, la cual pueda ser tratada, para así poder conservar el río que se considera sagrado.

Escherichia spp., es otro género bacteriano de importancia ya que se encuentra habitualmente en el intestino de los humanos y mamíferos. La mayoría de las cepas son inofensivas, sin embargo, existen ciertos serotipos que pueden

causar enfermedades de transmisión alimentaria, siendo esta transmitida por comida o agua con presencia de *Escherichia* (OMS, 2018).

Este microorganismo es también un organismo que se encuentra en el intestino de los mamíferos, sin embargo ha demostrado supervivencia en cuerpos de agua superficiales a diferentes temperaturas y junto con *Salmonella* spp., ha sido capaz de sobrevivir en sedimentos a temperaturas de 4°C (Abia y col., 2016).

E. coli es un microorganismo que puede colonizar vegetales de una manera similar a como lo hace con células animales, por lo que es común poder identificarla donde existe la presencia de células vegetales, lo cual le permite la supervivencia en ecosistemas acuáticos (Jang y col., 2017).

En el estudio realizado por Ahlstorm y col., (2017), donde se tomó muestra durante 2 años por estacionalidad de ecosistemas prístinos del norte de Colorado, en este estudio se encontró una presencia baja de microorganismos patógenos cuya transferencia es por medio de alimentos, tales como *Salmonella* spp., *Listeria* spp., *Escherichia coli* O157 y *Escherichia coli* no O157, por lo que estos microorganismos se encuentran en muy bajas cantidades de manera natural en los ecosistemas que no han sido modificados por el hombre.

Pseudomonas spp., es un género bacteriano que también fue identificado en el río Celio. De acuerdo con lo que se menciona por Kuczynsky y col., (2016), este género se encuentra comúnmente en aguas superficiales, sin embargo es un género que puede traer enfermedades a mamíferos y es considerado oportunista.

Los demás géneros encontrados forman parte de la familia Enterobacteriaceae, las cuales se utilizan como indicadores de contaminación fecal. El estudio realizado por Ohwofasa y Bosede, (2017), demostró la presencia de estos microorganismos en lugares donde existían descargas domésticas al río Brass en Sudáfrica.

Castresana y col. (2017), en un estudio en el río Atoyac en México, demostró que la gran presencia de microorganismos en el agua es debida a la falta de infraestructura para poder tratar el agua proveniente de descargas domésticas. La poca práctica del tratamiento de aguas residuales es un problema a nivel nacional y un factor crítico el cual explica la alta carga de microorganismos que puedan afectar a la salud humana.

4.2.2 Análisis e identificación de los principales grupos de microalgas

Los géneros de microalgas que se identificaron durante los meses conformados por la estación de primavera, se encuentran en el Cuadro 7:

Cuadro 7 Clasificación taxonómica de los géneros de microalgas encontrados durante la estación de primavera.

Reino: Plantae

Subreino: Viridiplantae

Phylum: Chlorophyta

Subphylum: Chlorophytina

Clase: Trebouxiophyceae

Orden: Chlorellales

Familia: Chlorellaceae

Género: ***Chlorella***



Reino: Plantae

Subreino: Viridiplantae

Phylum: Chlorophyta

Subphylum: Chlorophytina

Clase: Chlorophyceae

Orden: Chlamydomonadales

Familia: Chlorococcaceae

Género: ***Chlorococcum***



Reino: Plantae

Subreino: Viridiplantae

Phylum: Chlorophyta

Subphylum: Chlorophytina

Clase: Chlorophyceae

Orden: Chlamydomonadales

Familia: Chlorococcaceae

Género: ***Nautococcus***



Reino: Eubacteria

Subreino: Negibacteria

Phylum: Cyanobacteria

Clase: Cyanophyceae

Subclase: Nostocophycidae

Orden: Nostocales

Familia: Nostocaceae

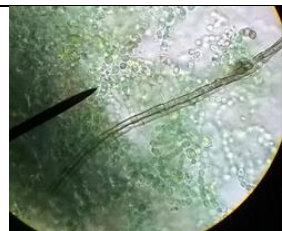
Género: ***Anabaena***



Reino: Chromista

Phylum: Bacilliarophyta

Subphylum: Bacilliarophytina



Clase: Bacillaroiphyceae

Subclase: Bacillaroiphycidae

Orden: Bacillariales

Familia: Bacillariaceae

Género: ***Nitzschia***

Reino: Chromista

Phylum: Bacillaroiphyta

Subphylum: Bacillaroiphytina

Clase: Bacillaroiphyceae

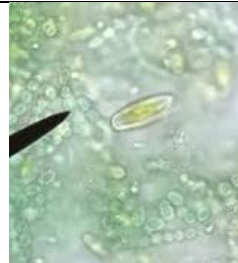
Subclase: Bacillaroiphycidae

Orden: Naviculales

Suborden: Naviculineae

Familia: Naviculaceae

Género: ***Navicula***



Para la estación de verano se encontraron los siguientes géneros de microalgas los cuales se muestran en el Cuadro 8:

Cuadro 8 Clasificación taxonómica de los géneros de microalgas encontrados durante la estación de verano

Reino: Chromista

Phylum: Bacillariophyta

Subphylum: Bacillariophytina

Clase: Bacillariophyceae

Subclase: Bacillariophycidae

Orden: Cocconeidales

Familia: Cocconeidaceae

Género: ***Cocconeis***



Reino: Chromista

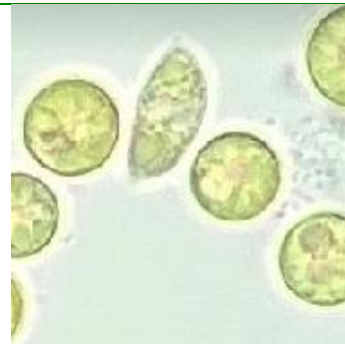
Phylum: Cryptophyta

Clase: Cryptophyceae

Orden: Cryptomonadales

Familia: Cryptomonadaceae

Género: ***Cryptomonas***



Reino: Eubacteria

Subreino: Negibacteria

Phylum: Cyanobacteria

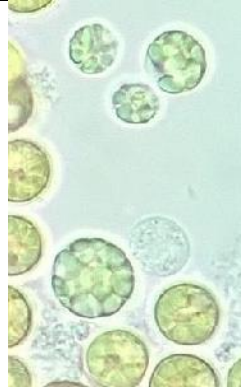
Clase: Cyanophyceae

Subclase: Synechococcophycidae

Orden: Synechococcales

Familia: Merismopediaceae

Género: ***Synechocystis***



Reino: Chromista

Phylum: Miozoa

Subphylum: Myxozoa

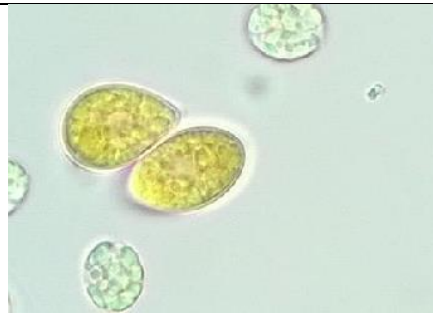
Superclase: Dinoflagellata

Clase: Dinophyceae

Orden: Gonyaulacales

Familia: Ostreopsidaceae

Género: ***Ostreopsis***



Dentro de los géneros encontrados durante la estacionalidad de otoño, se observan en el Cuadro 9:

Cuadro 9 Clasificación taxonómica de los géneros identificados durante la estación de otoño.

Reino: Plantae

Subreino: Viridiplantae

Phylum: Chlorophyta

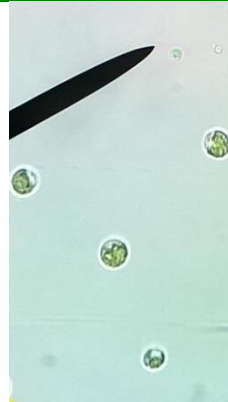
Subphylum: Chlorophytina

Clase: Trebouxiophyceae

Orden: Chlorellales

Familia: Chlorellaceae

Género: ***Chlorella***



Reino: Plantae

Subreino: Viridiplantae

Phylum: Chlorophyta

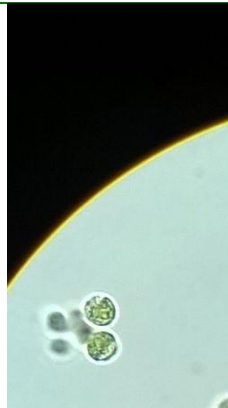
Subphylum: Chlorophytina

Clase: Chlorophyceae

Orden: Chlamydomonadales

Familia: Chlorococcaceae

Género: ***Chlorococcum***



Reino: Chromista

Phylum: Bacillariophyta

Subphylum: Bacillariophytina

Clase: Bacillariophyceae

Subclase: Bacillariophycidae

Orden: Cocconeidales

Familia: Cocconeidaceae

Género: **Cocconeis**



Reino: Plantae

Subreino: Viridiplantae

Phylum: Chlorophyta

Subphylum: Chlorophytina

Clase: Chlorophyceae

Orden: Sphaeropleales

Familia: Scenedesmaceae

Género: **Scenedesmus**



Los géneros de microalgas encontrados en la estación de invierno se encuentran en el Cuadro 10 fueron:

Cuadro 10 Clasificación taxonómica de los géneros de microalgas identificados durante la estación de invierno

Reino: Plantae

Subreino: Viridiplantae

Phylum: Chlorophyta

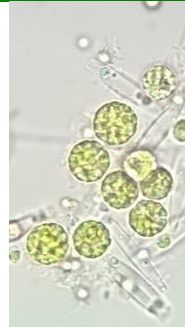
Subphylum: Chlorophytina

Clase: Trebouxiophyceae

Orden: Chlorellales

Familia: Chlorellaceae

Género: ***Chlorella***



Reino: Plantae

Subreino: Viridiplantae

Phylum: Chlorophyta

Subphylum: Chlorophytina

Clase: Chlorophyceae

Orden: Sphaeropleales

Familia: Scenedesmaceae

Género: ***Scenedesmus***



Reino: Chromista

Phylum: Bacillariophyta

Subphylum: Bacillariophytina

Clase: Bacillariophyceae

Subclase: Bacillariophycidae

Orden: Cocconeidales

Familia: Cocconeidaceae

Género: **Cocconeis**



Reino: Chromista

Phylum: Bacillariophyta

Subphylum: Bacillariophytina

Clase: Bacillariophyceae

Subclase: Bacillariophycidae

Orden: Naviculales

Familia: Naviculineae

Género: **Navicula**



Reino: Plantae

Subreino: Viridiplantae

Phylum: Charophyta

Clase: Conjugatophyceae

Orden: Desmidiiales

Familia: Closteriaceae

Género: ***Closterium***



El rol ecológico del phylum Chlorophyta sigue siendo investigado, y se ha ayudado de la taxonomía para conocerlo. También se ha descubierto que esta phylum tiene un grado amplio de adaptabilidad ante diferentes tipos de ecosistemas. Y algunos de sus géneros tienen usos potenciales en la alimentación animal y humana, en la cosmética y en la farmacéutica, su uso en energía renovables y como géneros biorremediadores (Krienitz y col., 2017).

Es importante destacar la presencia de ciertas especies de microalgas tales como *Scenedesmus obliquus* y *Chlorella vulgaris*. Lande y col., (2017) han demostrado que estas especies, mencionadas anteriormente, y otras especies de *Scenedesmus* pueden disminuir la concentración de nutrientes tales como iones fosfato y iones nitrato en agua. El decremento de la concentración de iones es demostrado por Shen y col., (2015) quienes utilizaron *S. obliquus* en una planta de tratamiento de agua residual, y observaron que, los valores de fósforo total y nitrógeno total se ven reducidos en un 95.6% y un 97.8% respectivamente.

El phylum Bacillariophyta es otro género que se encontró en el río Celio, ha sido utilizado para conocer cambios inmediatos e históricos de un ecosistema, ya que estas especies reaccionan de una manera sensible y rápida ante cambios en el ecosistema, mientras que gracias a su pared formada principalmente por silice, pueden encontrarse en los sedimentos preservadas durante mucho tiempo (Benito y col., 2015).

Estas microalgas pueden ser utilizadas para crear un sistema de monitoreo de calidad de agua, y así tener un buen manejo de los cuerpos de agua, previniendo su afectación por el aumento en los nutrientes dentro del mismo, y también evitando riesgos a la salud para quienes conviven directamente con estos cuerpos de agua (Segura-Garcia y col., 2012).

Los microorganismos identificados por las pruebas bioquímicas fueron bacterias patógenas para el ser humano, todas enterobacterias las cuales son patógenas o patógenas oportunistas, lo que conlleva un riesgo para la salud de las personas que conviven con el río Celio. Por lo que es necesario disminuir la carga de microorganismos patógenos para que su uso sea seguro, así también implementar un plan de monitoreo para evitar descargas que permitan la proliferación de estos organismos. Las microalgas encontradas a lo largo del periodo de estudio fueron identificadas por los phylum Chlorophyta y Bacillariophyta, ambos phylums funcionan como monitores biológicos para evaluar la contaminación por nutrientes. Estos microorganismos cuentan con un rol ecológico importante sin embargo un desequilibrio de los mismos puede ocasionar daños a la salud.

Es por ello que se sugiere un plan de saneamiento del río Celio, así como un monitoreo de las descargas que pueden favorecer la proliferación de estos microorganismos, los cuales presentan riesgos para la salud.

4.3 Correlaciones entre los parámetros fisicoquímicos evaluados y la presencia de microorganismos en el río Celio.

El programa estadístico Minitab 17 nos ayudó a realizar un análisis de componentes principales, el cual se muestra en la figura 8:

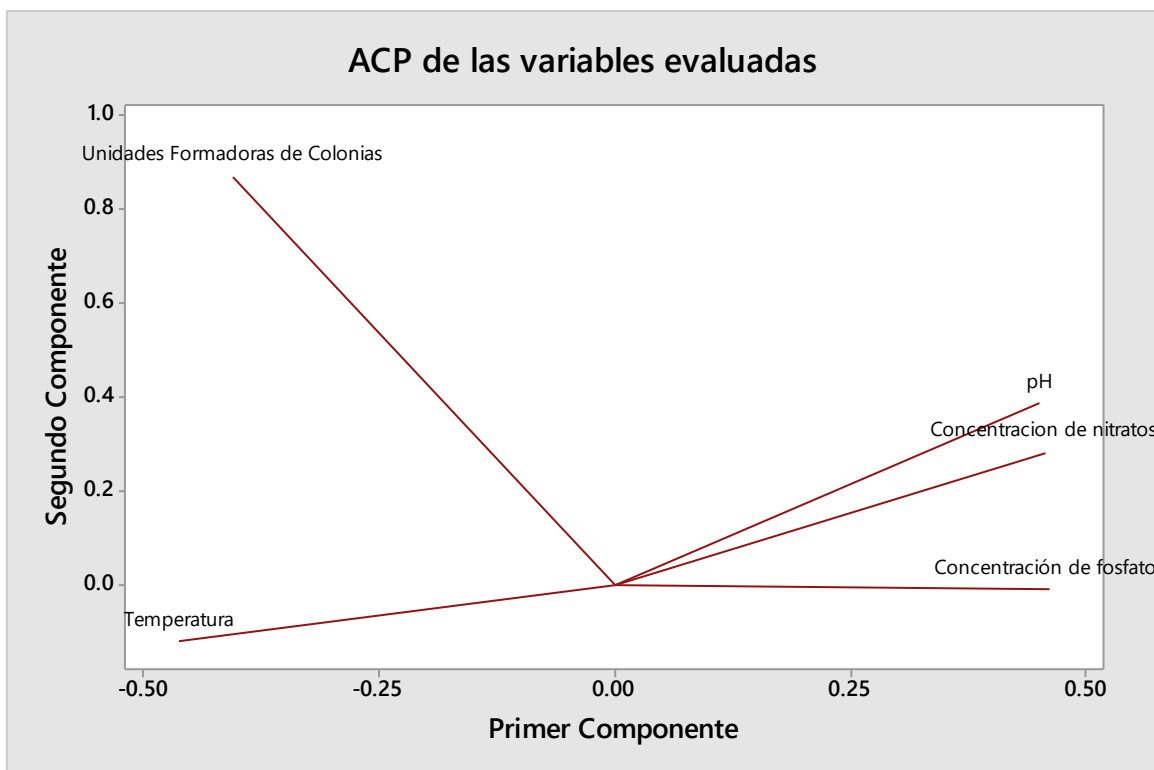


Figura 8 Análisis de componentes principales para la estación de invierno, mostrando las variables evaluadas de parámetros fisicoquímicos y microbiológicos, y su correlación entre ellas.

Donde se observa que tienen una correlación positiva los componentes de pH, concentración de fosfatos y concentración de nitratos, es decir que estos parámetros aumentan, conforme los demás van aumentando. Las Unidades Formadoras de Colonias, van en aumento cuando los parámetros de pH, concentración de nitratos y de fosfatos disminuyen y el valor de la temperatura, a medida de que esta aumenta las Unidades Formadoras de Colonias aumentan y los parámetros de pH y las concentraciones de nitratos y fosfatos, disminuyen. En las siguientes figuras se analizarán sus correlaciones individuales de cada uno de estos parámetros.

La correlación cuya linealidad es mayor es la que se tiene entre los parámetros de concentración de fosfatos contra la temperatura la cual podemos observar en la Figura 9:

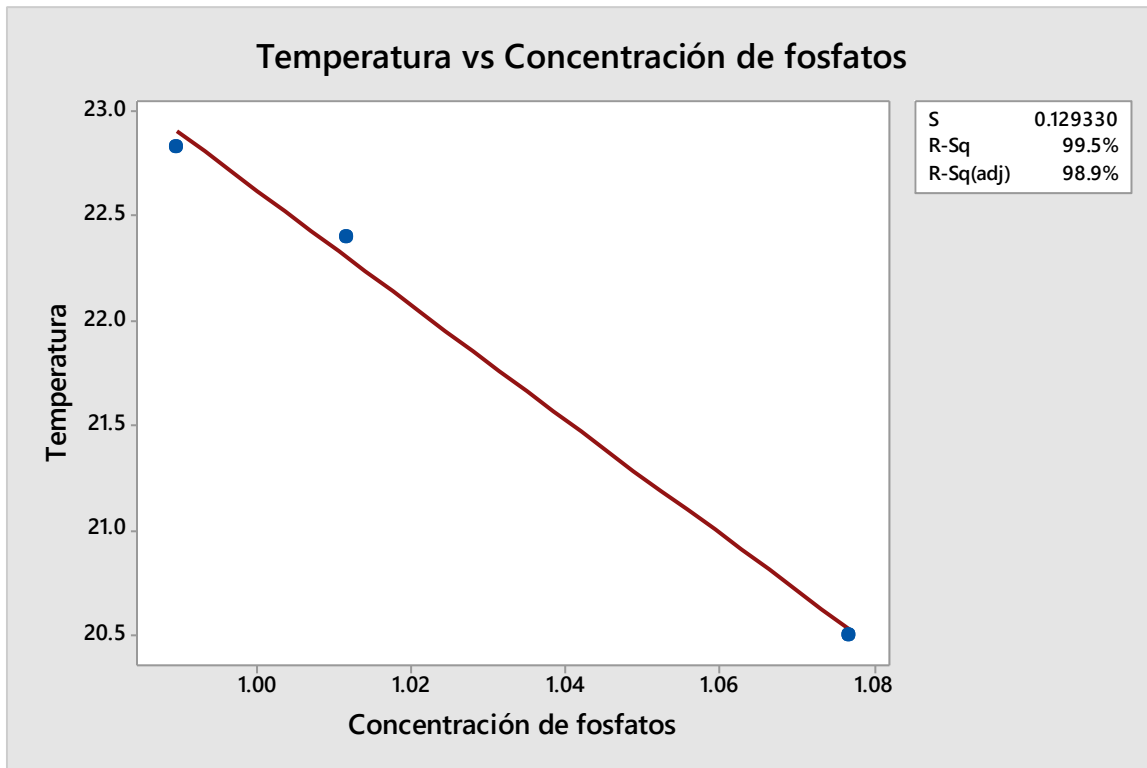


Figura 9 Correlación lineal entre los parámetros de temperatura y concentración de fosfatos durante la estación de invierno.

La correlación presente es una correlación negativa entre estos parámetros y es debida posiblemente a una disminución en el caudal del río, ya que como lo explican Carrera-Villacres y col., (2018) en sus estudio sobre la cuenca del río Grande, obtienen una correlación lineal en la época más fría del año, donde a medida que la temperatura disminuye, la concentración de fosfatos va en aumento.

Jung y col., (2015) han encontrado que para tener una disminución de fosfatos en aguas residuales, es necesario tener un aumento de la temperatura, para que formen complejos con el hierro. Una temperatura mayor indica un mejor acomplejamiento del fosfato con el hierro.

La correlación entre el pH y la concentración de nitratos se presenta en la Figura 10:

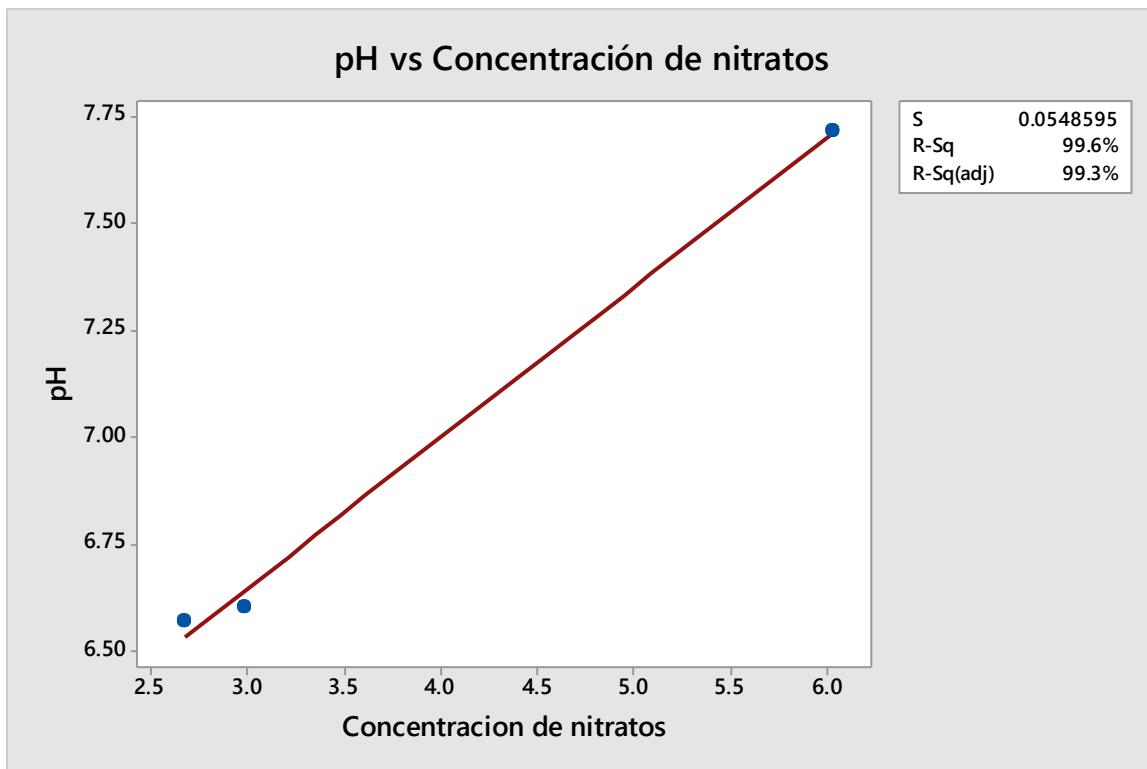


Figura 10 Correlación lineal entre las variables de pH y concentración de nitratos en agua durante la estación de invierno.

La correlación entre el pH y la concentración de nitratos en agua es positiva, y está dada de acuerdo con los que dice Hafshejani y col., (2016), a la existencia de una mayor cantidad de iones positivos, los cuales permitirán la unión a los iones nitrato con una carga negativa. Lo que los fijará en solución. El incremento en el pH,

logrará que exista una competencia entre los iones nitrato y los iones hidroxilo, presentes en el agua, así como otros iones que cuenten con cargas negativas.

Nixon y col., (2015) demuestran que cuando existe una gran presencia de nutrientes y un aumento excesivo de pH, los organismos presentes comienzan a sufrir un descenso debido a estas condiciones extremas a las que se les expone.

En la Figura 11 se presenta la correlación entre la temperatura y la concentración de nitratos en agua

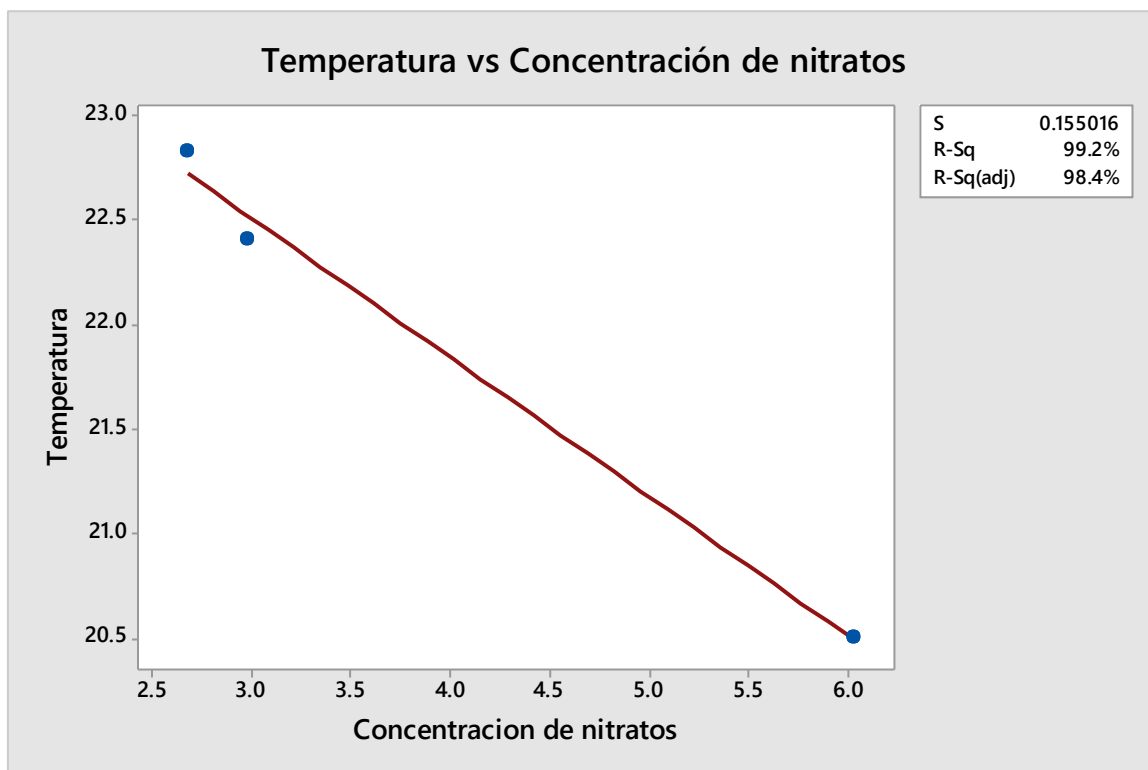


Figura 11 Correlación individual entre los parámetros de temperatura y concentración de nitratos en agua durante la estación de invierno.

La correlación mostrada es negativa. La temperatura tiene una influencia sobre el proceso de desnitrificación. Este proceso consta de varios pasos los cuales permiten el paso de nitratos a nitrógeno diatómico, mediante el uso de microorganismos. Este proceso se ve favorecido por la temperatura, la cual es óptima a los 30°C, mientras menos temperatura se tenga, mayor será la concentración de nitratos en el agua (Yin y col., 2015; Ashok y Hait, 2015).

En épocas más frías del año tal como la estación de invierno, se tendrán mayores concentraciones de iones nitrato en agua, por lo que la temperatura del agua es menor y los microorganismos no podrán realizar este proceso en condiciones óptimas.

La correlación que se muestra entre los parámetros de temperatura y el pH, es mostrada en la Figura 12:

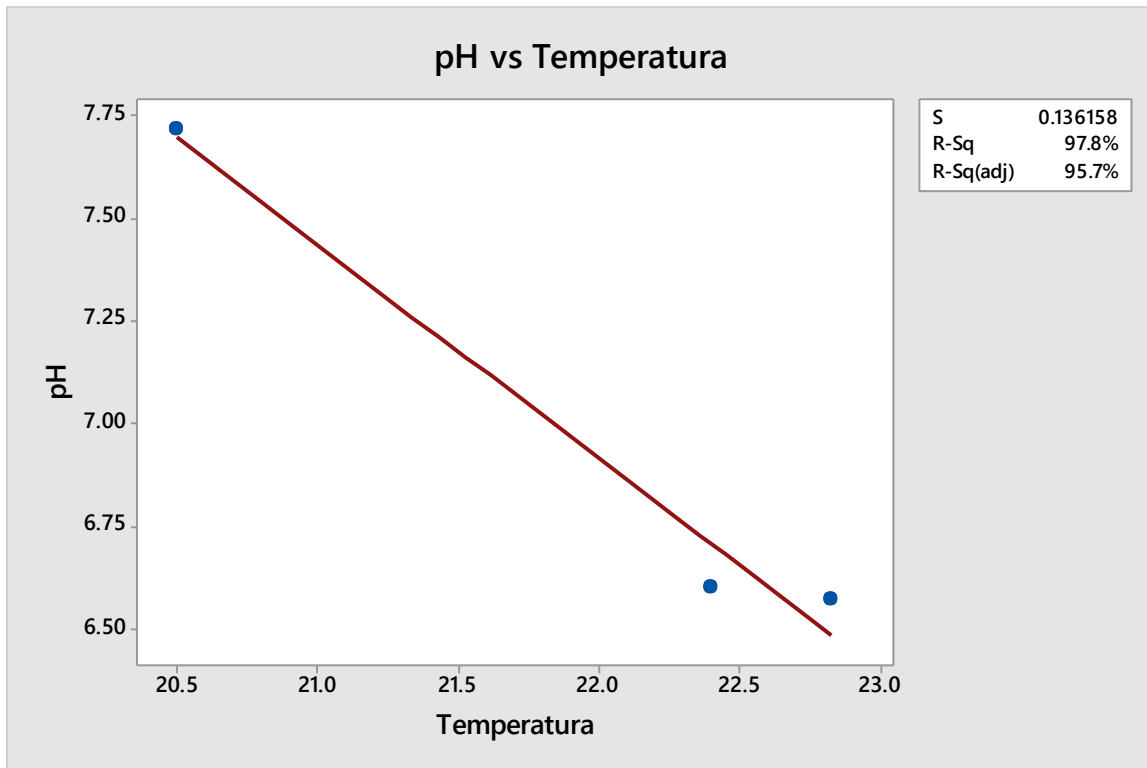


Figura 12 Correlación individual entre los parámetros de pH y temperatura durante la estación de invierno.

Una correlación negativa se observa entre estos parámetros, sin embargo esta interacción está dada a la tendencia en la separación de los iones en el agua por lo que una temperatura mayor tendrá como resultado una ligera disminución en el pH, esto se observa en aguas superficiales tropicales, sin embargo esta disminución es menos marcada en zonas con menor temperatura (Hernández-Ayón, 2003).

La concentración de nitratos y fosfatos se observa en la Figura 13:

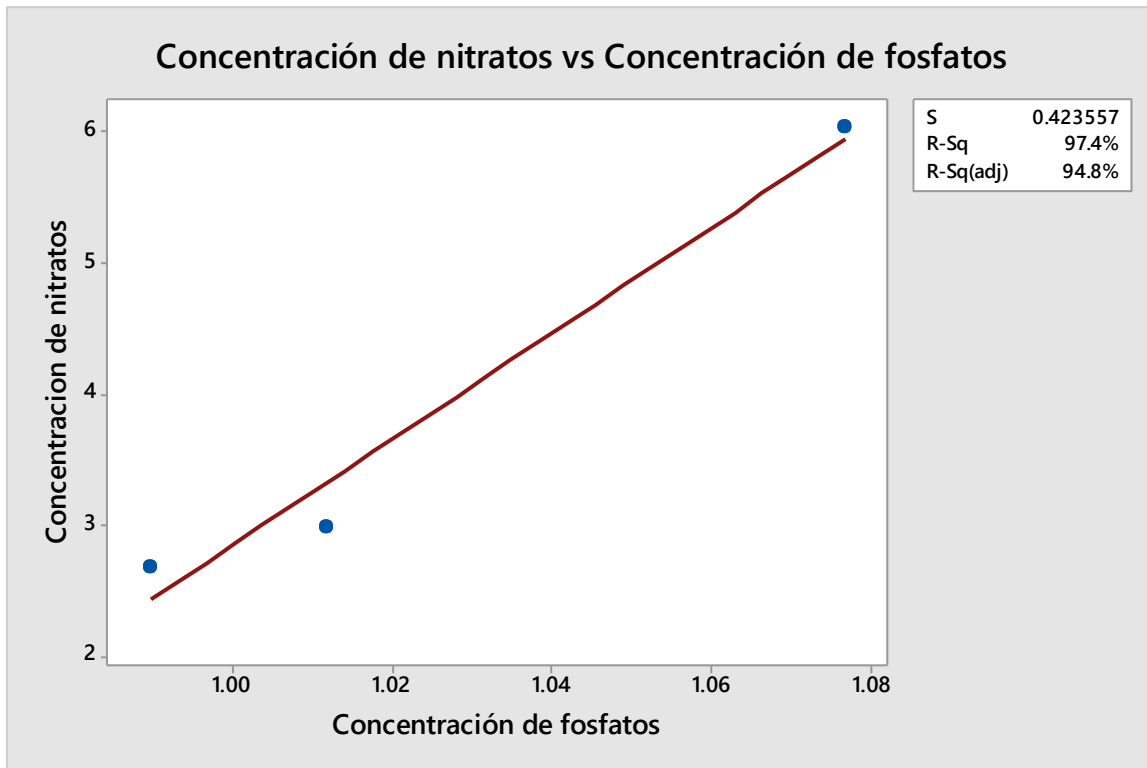


Figura 13 Correlación individual de las variables de concentraciones de nitratos y fosfatos para la estación de invierno.

Lazzari y col., (2016), demuestran que existe una relación directa entre las concentraciones de nitratos y las de fosfatos, comentando que bajos radios N:P el nutriente limitante es el nitrógeno, mientras que a altos radios de N:P quien limita es el fósforo.

Estos nutrientes se encuentran en mayor concentración en la temporalidad más fría del año, por lo que se encuentran en mayor concentración como nitratos debido a que el proceso de desnitrificación y la complejación del fosfato son menores, también a que el caudal disminuye y estos nutrientes se encuentran en

mayor concentración (Yin y col., 2015, Ashok y Hait, 2015; Jung y col., 2016; Carrera-Villacres y col., 2018).

La Figura 14 representa la correlación individual entre los parámetros de temperatura y la concentración de fosfatos en agua.

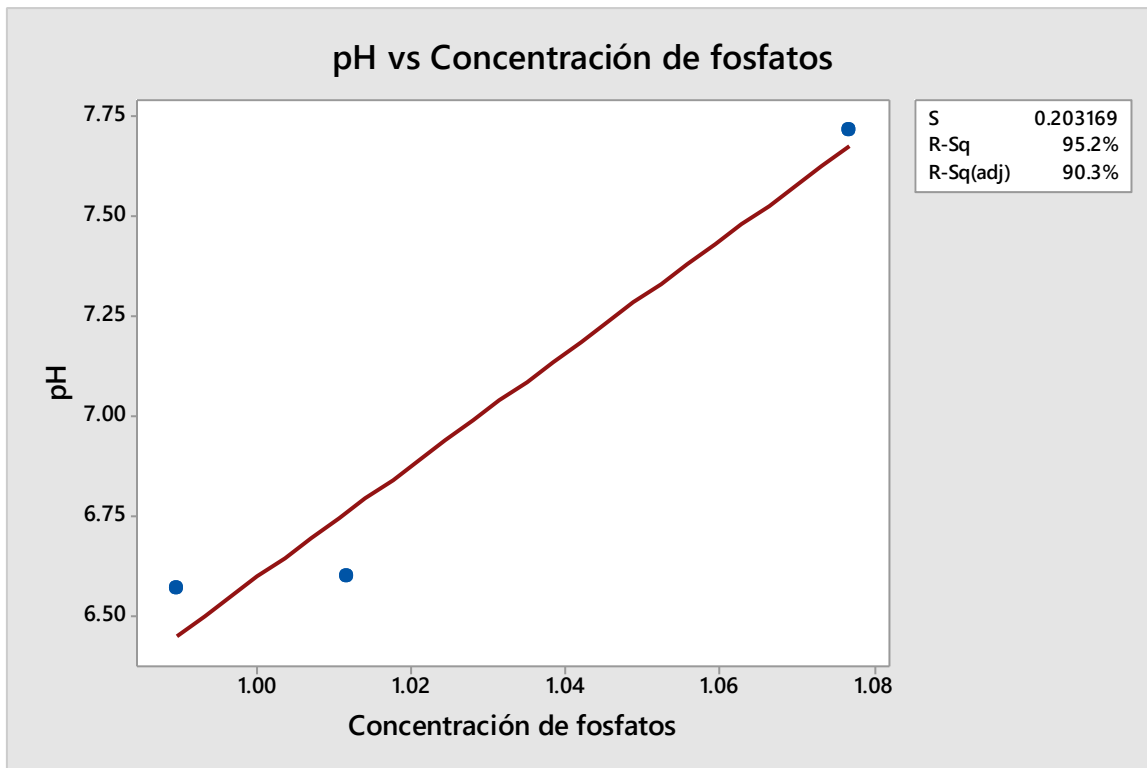


Figura 14 Correlación individual entre los parámetros de pH y concentración de fosfatos de la estación de invierno.

La correlación mostrada es positiva y es debida a que el ion fosfato se libera y compite con los iones hidroxilos presentes para formar compuestos estables con los iones positivos presentes en la matriz (Su y col., 2014).

Han y col., (2016) demostraron que existe una mayor presencia de iones fosfato en agua residual con un pH alcalino. El pH ácido permite que los iones fosfato formen óxidos con calcio y hierro, disminuyendo así su solubilidad en agua.

La correlación entre la concentración de fosfatos y las unidades formadoras de colonias se observa en la Figura 15

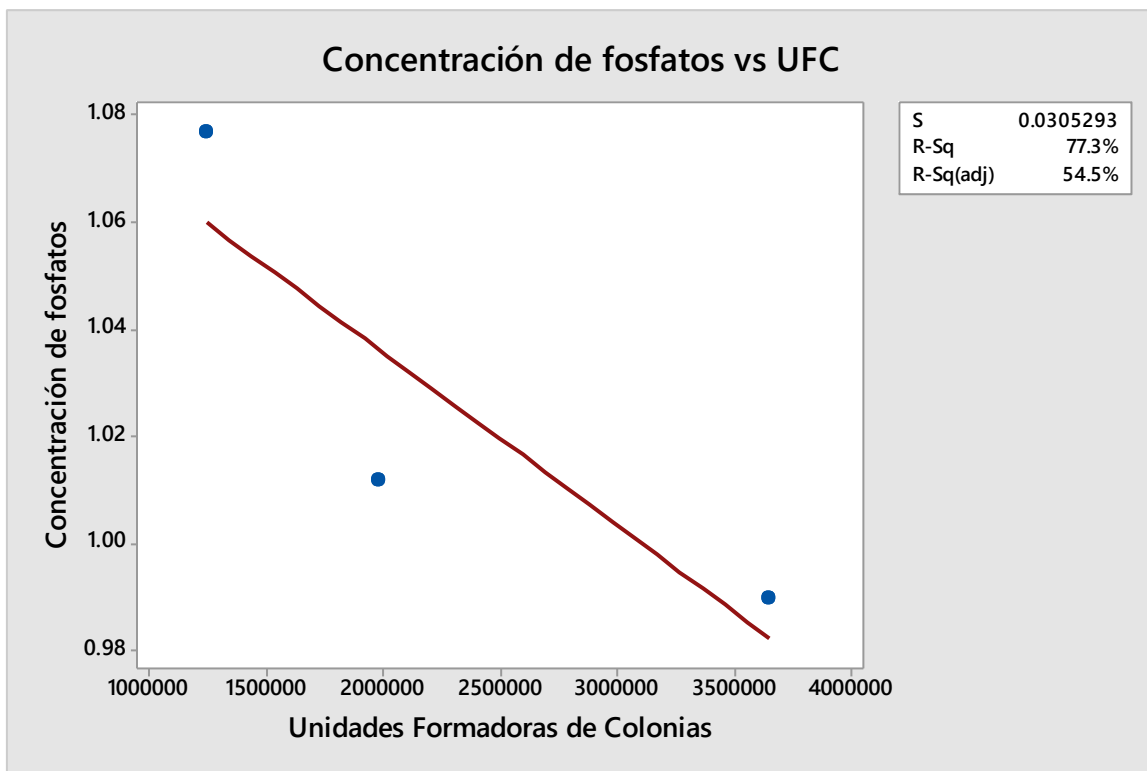


Figura 15 Correlación individual entre los parametros de concentración de fosfatos y las unidades formadoras de colonias para la estación de invierno.

La concentración de fosfatos en agua disminuye con respecto al aumento en los microorganismos. El ion fosfato es un factor límite para el desarrollo y crecimiento de microorganismos. Heuck y col., (2015) en un experimento que realizaron, demostraron que los microorganismos pueden tomar glucosa-6-fosfato, de manera directa de la matriz, también pueden solubilizar el fosforo, para tomarlo como fosfato y poder realizar sus rutas metabólicas para su supervivencia. Prest y col., (2016), confirman que los microorganismos no cuentan con un radio específico del fosfato para su desarrollo y supervivencia.

Los parámetros de temperatura contra las Unidades Formadoras de Colonias se muestra en la Figura 16:

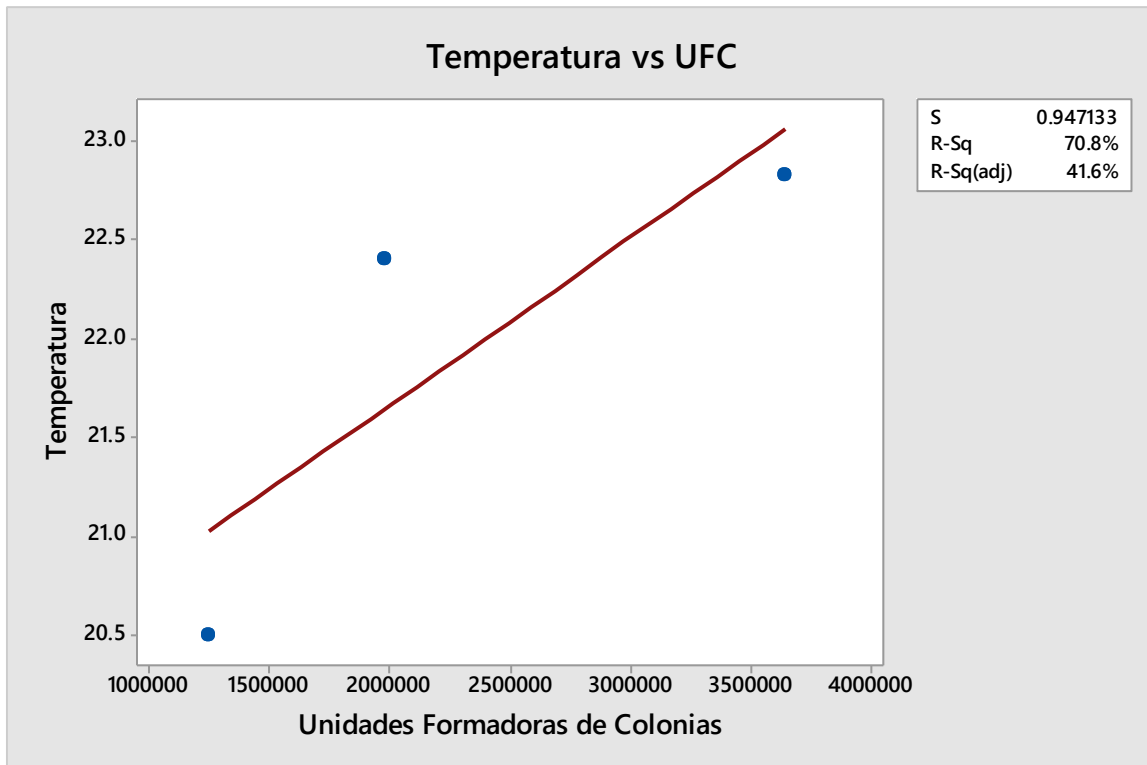


Figura 16 Correlación entre los parámetros de temperatura y el crecimiento de unidades formadoras de colonias, para la estación de invierno.

Los microorganismos que se encontraron en el río Celio se encuentran dentro de la familia Enterobacteriaceae, con respecto a la temperatura, la correlación es positiva. El estudio de García-Caicedo y col., (2017), demuestra que los organismos como los encontrados en el sitio de estudio tienen un crecimiento óptimo en temperaturas medias, entre 20-25 °C.

Algunos microorganismos que pertenecen a esta familia han sido utilizados como degradadores de surfactantes anionicos, tal es el caso de *Serratia marcesens* y *Enterobacter cloacae*, los cuales tienen un crecimiento óptimo a 30°C, disminuyendo con mayor eficiencia estos detergentes. La temperatura para el

crecimiento de los microorganismos es un factor clave y afecta la distribución de los mismos, ya que no solo tiene influencia sobre estos. También presenta correlaciones con otros factores fisicoquímicos, los cuales, permiten el crecimiento o inhibición de las bacterias (Bulbul y Caul-Elipek, 2017; Fedeila y col., 2018).

La correlación entre las unidades formadoras de colonias contra la concentración de fosfatos se muestra en la Figura 17:

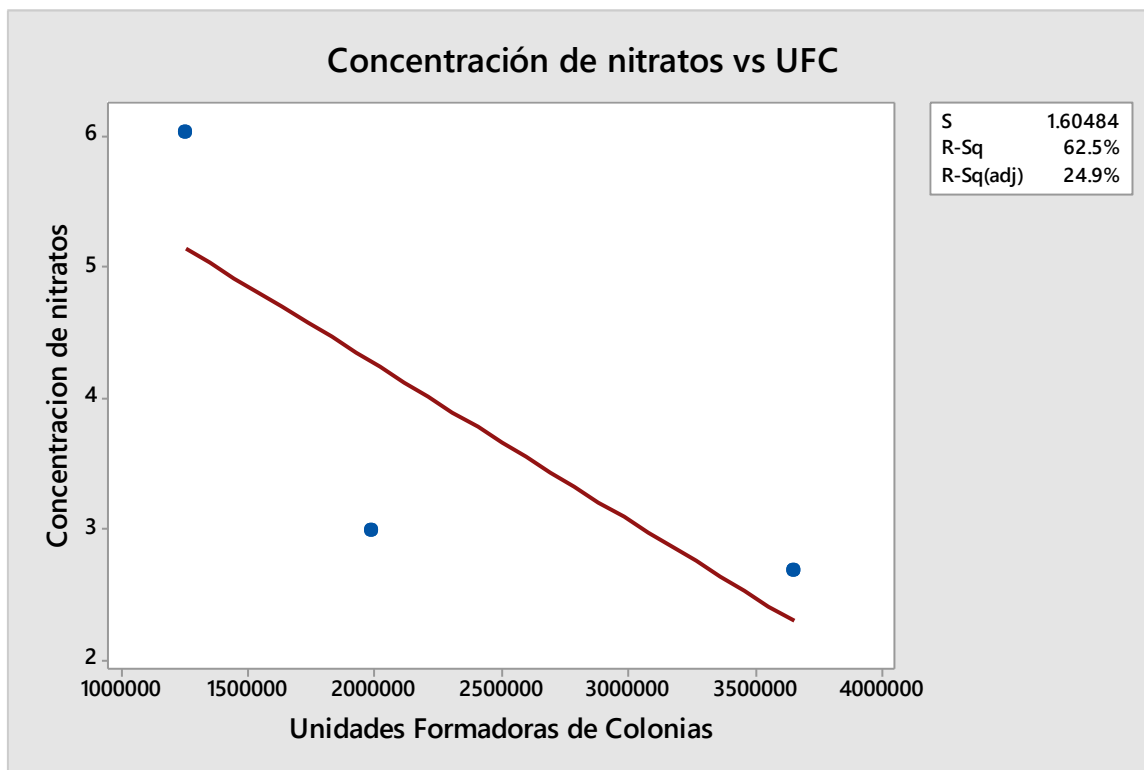


Figura 17 Correlación individual entre los parámetros de concentración de nitratos y las unidades formadoras de colonias durante la estación e invierno

Los parámetros evaluados presentan una relación negativa. La concentración inicial de nitratos juega un papel importante, ya que de esta dependerá el porcentaje de desnitrificación. A mayor cantidad de nitratos en agua mayor deberá ser el tiempo de retención para su eliminación total. Esta concentración también puede afectar el producto final, ya que puede inhibir la producción de nitrógeno diatómico proveniente de la reducción del óxido nítrico (Ashok y Hait, 2015). Un ejemplo de esta capacidad reductora de los microorganismos es dada por Zhou y col., (2016), la cual obtuvieron una remoción del nitrato en aproximadamente 55.8%.

La correlación más pequeña está en función de los parámetros de pH contra las Unidades Formadoras de Colonias y se presenta en la Figura 18:

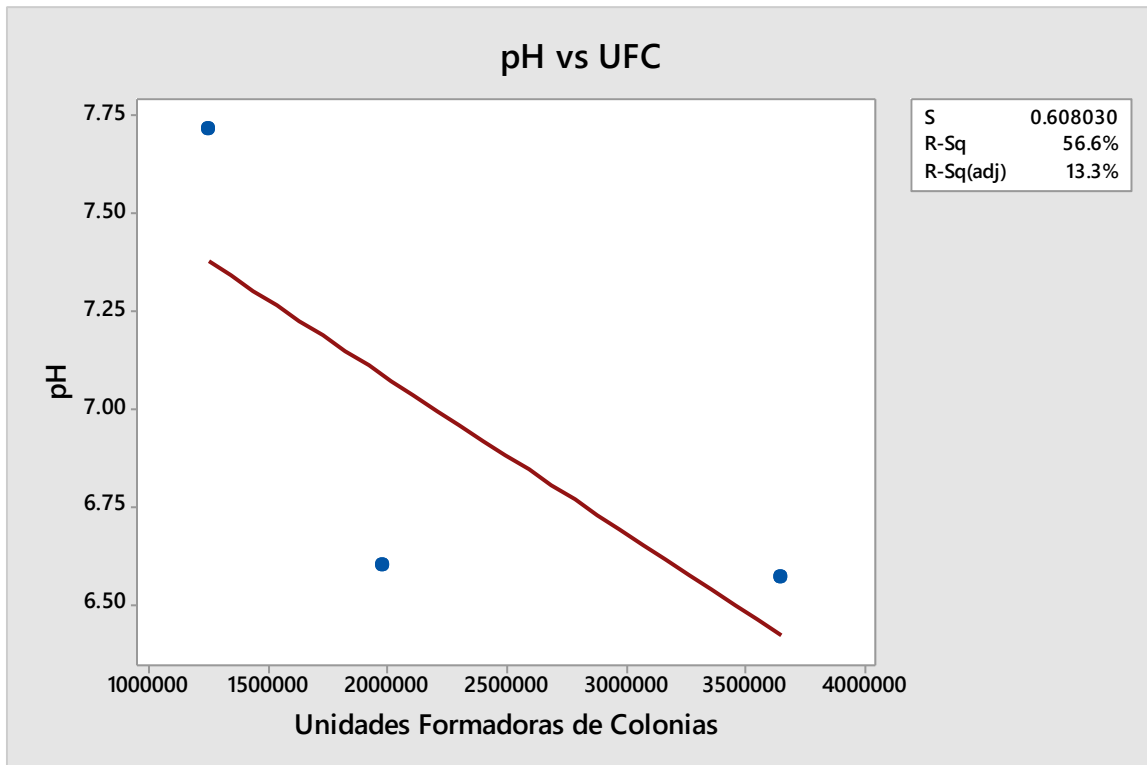


Figura 18 Correlación individual entre los parámetros de pH y unidades formadoras de colonias durante la estación de invierno

Ashok y Hait, (2015) dicen que el pH para el crecimiento de microorganismos desnitrificantes es en un rango de entre 6 y 8.5, valores mayores o menores modifican este proceso, por lo que al mantenerse dentro de los rangos es posible observar un poco de la disminución de estas especies.

La correlación entre los parámetros fisicoquímicos y biológicos tienen una correlación muy marcada y es necesario el estudio en conjunto de los mismos, para así tener un panorama real de lo que sucede en el cuerpo de agua lótico. Los parámetros de temperatura, pH y las concentraciones de iones nitrato y fosfato dentro del río Celio tienen una correlación muy marcada. Con respecto a los

microorganismos dicha correlación no es tan fuerte, sin embargo es aún notoria. El estudio de los ecosistemas se debe de tratar en conjunto para obtener el mejor panorama y así poder tener un resultado que nos indique cual es el estado real de este ecosistema.

El río Celio ubicado en el municipio de Jacona, Michoacán, es un río que de acuerdo a los resultados obtenidos tiene un uso óptimo como riego de tierras agrícolas, se encuentra con una cantidad alta en fosfatos por lo que existe un potencial proceso de eutrofización, se tiene que cuidar el vertido de domicilios particulares al río, ya que se presentan microorganismos patógenos, que pueden traer riesgos a la salud.

5. CONCLUSIONES

1. El río Celio se caracterizó mediante los parámetros de pH, temperatura, concentraciones de nitratos y fosfatos, teniendo una tendencia durante la estación de invierno, a ser menores que en las demás estaciones. Los valores promedio para cada uno de estos parámetros en la estación de invierno fueron para temperatura 21.6 ± 0.9 °C; pH de 6.85 ± 0.5 ; concentración de nitratos 3.06 ± 0.5 mg L⁻¹ y concentración de fosfatos 0.72 ± 0.3 mg L⁻¹.
2. Las bacterias caracterizadas en el río Celio fueron principalmente de la familia Enterobacteriaceae, se identificaron géneros tales como *Pseudomonas* spp., *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Escherichia* spp., *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp., y *Klebsiella* spp. Estos microorganismos tuvieron un aumento durante la estación de invierno con respecto a las otras temporadas. Las microalgas con mayor presencia para cada época del año fueron, en primavera y verano el phylum Chlorophyta, en invierno el phylum Bacillariophyta y en verano los phylum Bacillariophyta, Cryptophyta, Cyanobacteria y Myozoa.
3. Se correlacionaron los parámetros fisicoquímicos con la distribución de los microorganismos en el río Celio. La relación con una mayor linealidad fue entre la temperatura y la concentración de fosfatos en agua.
4. Se completaron todos los objetivos de este trabajo.

6. PERSPECTIVAS

1. Realizar un plan de protección para el río Celio, en el cual se puedan cesar las descargas domésticas que se vierten dentro de él.
2. Acercamiento a la cultura y educación del agua a los habitantes de Jacona, mediante el aprovechamiento de los espacios públicos disponibles en el municipio.
3. Estrechar la relación entre los habitantes y el río Celio, creando conciencia de la importancia del ecosistema en el municipio.

7. REFERENCIAS

- Aguirre-Ramírez** N.J., Palacio-Baena J.N., Correa Ochoa I.C., Hernandez-Atilano E., Ensayo de bioestimulación algal, con diferentes relaciones nitrógeno fosforo bajo condiciones de laboratorio, Revista Ingenierías Universidad de Medellín, **2007**, 6(11)- 11-21.
- Abia** A. L. K., Ubomba-Jaswa E., Momba M. N. B., Competitive survival of *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella typhimurium* and *Shigella dysenteriae* in riverbed sediments. Microbial Ecology, **2016**, 72(4), 881-889.
- Ahlstrom** C. A., Manuel C. S., Den Bakker H. C., Wiedmann M., Nightingale K. K., Molecular ecology of *Listeria* spp., *Salmonella*, *Escherichia coli* O157: H7 and non-O157 Shiga toxin-producing *E. coli* in pristine natural environments in Northern Colorado. Journal of Applied Microbiology, **2017**, 124(2), 511-521.
- Alejos-Velázquez** L.P., Aragón-Martínez M.C., Cornejo-Romero A., Extracción y purificación de ADN, Herramientas moleculares aplicadas en ecología: aspectos teóricos y prácticos, **2014**, SEMARNAT, INECC, UAM-I, México, DF.
- Allen** A. E., Dupont C. L., Oborník M., Horák A., Nunes-Nesi A., McCrow J. P., Bowler C., Evolution and metabolic significance of the urea cycle in photosynthetic diatoms. Nature, **2011**, 473(7346), 203.

Amin N.M., Kroeze C., Strokal M., Human Waste: An underestimate source of nutrient pollution in coastal seas of Bangladesh, India and Pakistan, *Marine Pollution Bulletin*. **2017**

Aracic, S., Manna, S., Petrovski, S., Wiltshire, J. L., Mann, G., Franks, A. E., Innovative biological approaches for monitoring and improving water quality. *Frontiers in Microbiology*, **2015**, 6, 826.

Ashok V., Hait S., Remediation of nitrate-contaminated water by solid-phase denitrification process—a review. *Environmental Science and Pollution Research*, **2015**, 22(11), 8075-8093.

Barba-Álvarez R., de la Lanza-Espino G., Contreras-Ramos A. & González-Mora I., Insectos acuáticos indicadores de la calidad de agua en México: casos de estudio, ríos Copalita, Zimatan y Coyula, Oaxaca, *Revista Mexicana de Biodiversidad*, **2012**, 84(1), 381-383.

Becton, Dixon and Company, BBL Tripticase Soy Agar Procedimientos de Control de Calidad, **2014**, L007516, Revisión 11.

Bellinger E., Sigeo D., *Freshwater Algae: Identification and Use as Bioindicators*. 1st ed. Editorial John Wiley & Sons., **2010**, 1-40.

Ben-David A., Davidson C. E., Estimation method for serial dilution experiments. *Journal of Microbiological Methods*, **2014**, 107, 214-221.

- Benito X.**, Trobajo R., Ibáñez C., Benthic diatoms in a Mediterranean delta: ecological indicators and a conductivity transfer function for paleoenvironmental studies. *Journal of Paleolimnology*, **2015**, 54(2-3), 171-188.
- Bento-Rodrigues N. M.**, Bronzato G. F., Santiago G. S., Botelho L. A. B., Moreira B. M., Coelho I. D. S., Coelho, S. D. M. D. O., The Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) identification versus biochemical tests: a study with enterobacteria from a dairy cattle environment. *Brazilian Journal of Microbiology*, **2017**, 48(1), 132-138.
- Beuckels, A.**, Smolders, E., & Muylaert, K., Nitrogen availability influences phosphorus removal in microalgae-based wastewater treatment. *Water Research*, 2015, **77**, 98-106.
- Bhasin S.**, Shukla A. N., Shrivastava S., Observation on *Pseudomonas aeruginosa* in Kshipra River with Relation to Anthropogenic Activities. *International Journal of Current Microbiology and Applied. Science*, **2015**, 4(4), 672-684.
- Blanco A.G.**, Solà M., Gomis-Rüth F.X., Coll M., Tandem DNA recognition by PhoB, a two-componet signal transduction transcriptional activador., *Structure* **2002**, 10:701-713.
- Bulbul G.**, Camur-Elipek B., Investigation of the effects of domestic waste on aquatic bacterial distribution in the Meric River (Edirne, Turkey). *Biologija*, **2017**, 63(3).

Cárdenas E., Ecología Impacto de la problemática actual sobre la salud y el ambiente ,
Ecoe Ediciones. **2013**

Carrera-Villacrés D., Varela E. G., Morales L. C., Farinango T. G., Pineda É. G., Salazar,
P. A. V., Relación de temperatura, pH y CE en la variación de concentración de
fosfatos en el Río Grande, Cantón Chone. In Congreso de Ciencia y Tecnología
ESPE, **2018**, (Vol. 13, No. 1).

Castresana G. P., Flores V. T., Reyes L. L., Hernández F., Atoyac River pollution
Dynamics. Case Study: Emilio 2 Portes Gil, Puebla, México 3. Water **2017**, 10(3),
267

Chen N., Yang J.S., Qu J.S., Li H.F., Liu W.J., Li B.Z., Wang E.T., Yuan H.L., Sediment
prokaryote communities in different sites of eutrophic Lake Taihu and their
interaction with environmental factors, World Journal of Microbiology and
Biotechnology, **2015**, 31(6), 883-896.

Cho D. H., Ramanan R., Heo J., Kang Z., Kim B. H., Ahn C. Y., Kim H. S., Organic carbon,
influent microbial diversity and temperature strongly influence algal diversity and
biomass in raceway ponds treating raw municipal wastewater. Bioresource
Technology, **2015**, 191, 481-487.

Cho D.H., Ramanan R., Kim B.H., Lee J., Kim S., Yoo C., Kim H.S., Novel approach for development of axenic microalgal cultures for environmental samples., *Journal of Phycology* , **2013**, 49(4), 802-810.

CONAGUA ,Guía para la colecta, manejo y las observaciones de campo para bioindicadores de calidad del agua, **2004** ,México DF.

CONAGUA, Estadísticas del agua en México edición **2014**, México, DF, CONAGUA, 2014

Cooper M. B., Smith A. G., Exploring mutualistic interactions between microalgae and bacteria in the omics age. *Current Opinion in Plant Biology*, **2015**, 26, 147-153.

Crisafuli, F. A. P., Ramos, E. B., Rocha, M. S., Characterizing the interaction between DNA and GelRed fluorescent stain. *European Biophysics Journal*, **2015**, 44(1-2), 1-7.

Duarte, I. A., Reis-Santos, P., França, S., Cabral, H., Fonseca, V. F., Biomarker responses to environmental contamination in estuaries: A comparative multi-taxa approach. *Aquatic Toxicology*, **2017** 189, 31-41.

Ekwanzala M. D., Abia A. L. K., Keshri J., Momba M. N. B., Genetic characterization of *Salmonella* and *Shigella* spp. isolates recovered from water and riverbed sediment of the Apies River, South Africa. *Water SA*, **2017**, 43(3), 387-397.

Elosegui A. , Sabater S., Conceptos y técnicas en ecología fluvial, Rubes Editorial. España, Fundación BBVA. **2012**

Elser J. J., Bracken M. E., Cleland E. E., Gruner D. S., Harpole W. S., Hillebrand H., Smith, J. E., Global analysis of nitrogen and phosphorus limitation of primary producers in freshwater, marine and terrestrial ecosystems. *Ecology Letters*, **2007** 10(12), 1135-1142.

Fedeila M., Hachaïchi-Sadouk Z., Bautista L. F., Simarro R., Nateche F., Biodegradation of anionic surfactants by *Alcaligenes faecalis*, *Enterobacter cloacae* and *Serratia marcescens* strains isolated from industrial wastewater. *Ecotoxicology And Environmental Safety*, **2018**,163, 629-635.

Friberg N., Impacts and indicators of change in lotic ecosystems, *Wiley Interdisciplinary Research: Water*,**2014** 1(6), 513-531.

Garcia-Caicedo J., Paz, J. V., Navarro, J. F. R., Evaluación del efecto de temperatura, tiempo, pH y UFC, sobre la vida útil de leche pasteurizada en marcas comercializadoras en Pasto (Nariño). *Revista Biumar*, **2017**, 1(1).

Goecke F., Thiel V., Wiese J., Labes A., Imhoff, J. F., Algae as an important environment for bacteria–phylogenetic relationships among new bacterial species isolated from algae., *Phycologia*, **2013**, 52(1), 14-24.

Graf W., Leitner P., Hanetseder I., Ittner L.D., Dossi F., Hauer C., Ecological degradation of meandering river by local channelization effects: a case study in an Austrian lowland river. *Hydrobiologia*, **2016**, 772 (1), 145-160.

Guglielmo L., Azzaro F., Baviera C., Bergamasco A., Bissett N., Brugnano C., Caruso G., Decembrini F., Garey A.L., Granata A., Gugliandolo C., Lentini V., Lo Gullo M.A., Maugueri M.T., Pansera M., Raimondo F., Rodríguez-Valdez L.P., Smock L.A., Spanò A., Trifilò P., Vick J.K., Young D.R., Zagami G., Zinnert J.C., Minutoli R., Multidisciplinary ecological assessment of the Alcantara River (Sicily, Italy) using bioindicators, *Marine and Freshwater Research*, **2014**, 65(4), 283-305.

Guiry M.D., How many species of algae are there?, *Journal of Phycology*, **2012**, 48(5), 1057-1063.

Guo J., Zhao L., Lu W., Jia H., Sun Y., Bacterial communities in water and sediment shaped by paper mill pollution and indicated bacteria taxa in sediment in Daling River, *Ecological Indicators*, **2016**, 60, 766-773.

H. Ayuntamiento de Jacona, Programa Parcial de Desarrollo Urbano de Jacona 2009-2030, **2016**, Jacona Michoacán.

Hafshejani L. D., Hooshmand A., Naseri A. A., Mohammadi A. S., Abbasi F., Bhatnagar, A., Removal of nitrate from aqueous solution by modified sugarcane bagasse biochar. *Ecological Engineering*, **2016**, 95, 101-111.

- Hajibabaei M.**, Shokralla S., Zhou X., Singer G.A.C., Baird D.J., Environmental barcoding: a next generation sequencing approach of biomonitoring application using river benthos, Plos One, **2011**, 6(4) e17497.
- Han C.**, Wang Z., Yang W., Wu Q., Yang H., Xue X., Effects of pH on phosphorus removal capacities of basic oxygen furnace slag. Ecological Engineering, **2016**, 89, 1-6.
- Hernández-Ayón J. M.**, Zirino A., Marinone S. G., Canino-Herrera R., Galindo-Bect M. S., Relación pH-densidad en el agua de mar. Ciencias Marinas, **2003** 29(4), 497-508.
- Heuck C.**, Weig A., Spohn M., Soil microbial biomass C: N: P stoichiometry and microbial use of organic phosphorus. Soil Biology and Biochemistry, **2015**, 85, 119-129.
- Hladilek M.D.**, Gaines K.F., Novak J.M., Collard D.A., Jonhson B.D., Canam T., Microbial community structure of a freshwater system receiving wastewater effluent, Environmental Monitoring Assessment **2016**, 188(11) 626.
- Jang J.**, Hur, H. G., Sadowsky M. J., Byappanahalli M. N., Yan T., Ishii S., Environmental *Escherichia coli*: Ecology and Public Health Implications—a review. Journal of Applied Microbiology, **2017**, 123(3), 570-581.

Jung K. W., Hwang M. J., Ahn K. H., Ok, Y. S., Kinetic study on phosphate removal from aqueous solution by biochar derived from peanut shell as renewable adsorptive media. *International Journal of Environmental Science and Technology*, **2015**, 12(10), 3363-3372.

Karl D.M., Microbially mediated transformations of phosphorus in the sea: new views of an old cycle, *Annual Review of Marine Science*, **2014**, 6, 279-337.

Kouzuma A., Watanabe K., Exploring the potential of algae/bacteria interactions. *Current Opinion in Biotechnology*, **2015**, 33, 125-129.

Krienitz L., Huss V. A., Bock, C., *Chlorella*: 125 years of the green survivalist. *Trends in Plant Science*, **2015**, 20(2), 67-69.

Kuczynski D., Occurrence of pathogenic bacteria in surface water of an urban river in Argentina (Reconquista River, Buenos Aires). *International Journal of Aquatic Science*, **2016**, 7(1), 30-38.

Lande V. W., Sangolkar L. N., Kankal N. C., Effect of trace metals and nutrients on growth characteristics of three green algae *Scenedesmus obliquus*, *Chlorella vulgaris* and *Sphaecocystis Schroeteri* *Journal of Global Biosciences*, **2017**, 6(5), 4978-4998.

Larrea J., Rojas M., Heydrich M., Lugo D., Aislamiento y caracterización de la comunidad bacteriana cultivable en el río Almeyda, *Ciencias Biológicas*, **2010**,41(especial).

Lazzari P., Solidoro C., Salon S., Bolzon G., Spatial variability of phosphate and nitrate in the Mediterranean Sea: A modeling approach. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, **2016**, 108, 39-52.

Lemley D.A., Adams J.B., Bate G.C., A review of microalgae indicators in South Africa estuaries, *South African Journal of Botany*, **2016**,107, 12-20.

Liu Q., Liu S., Zhao H., Deng L., Wang C., Zhao Q., Dong S., The phosphorous speciation in the sediments up and down stream of cascade dams along the middle Lancang River, *Chemosphere*, **2015**, 120, 653-659.

Lozupone C. A., Knight R., Species divergence and the measurement of microbial diversity. *FEMS Microbiology Reviews*, **2008**, 32(4), 557-578.

Luna-Pabello V.M., Aburto-Castañeda S., Sistema de humedales artificiales para el control de la eutrofización del lago del bosque de San Juan de Aragón, *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, **2014**, 17(1), 32-55.

Makino K., Shinagawa H., Amemura H., Kawamoto T., Yamada M., Nakata M., Signal transduction in the phosphate regulon of *Escherichia coli* involves phosphotransfer

between PhoR and PhoB proteins., *Journal of Molecular Biology*, **1988**,210(3), 551-559.

Moncayo-Estrada R., Escalera-Gallardo C., Arroyo-Damián M., Campos-Campos O., Silva-García, J. T., Nitrogen nutrients in a subtropical river: temporal variation and analysis at different spatial scales. *Marine and Freshwater Research*, **2017**, 68(10), 1935-1949.

Mora D., Carmona J. , Cantoral-Uriza E.A., Diatomeas elípticas de la cuenca alta del río La Laja, Guanajuato, México *Revista Mexicana de Biodiversidad*, **2015**, 86(4), 1024-1040.

Moreno J.R., Albarracín V.H.,Aislamiento, cultivo e identificación de microorganismos ambientales a partir de muestras naturales, *Reduca*, **2012**, (Biología), 5(5).

Moreno R., Identification of algal strains by PCR amplification and evaluation of their fatty acid profiles for biodiesel production, Tesis de disertación, Universidad del Estado de Louisiana . Estados Unidos. **2012**

Nixon S. W., Oczkowski A. J., Pilson M. E., Fields L., Oviatt C. A., Hunt, C. W.,On the response of pH to inorganic nutrient enrichment in well-mixed coastal marine waters. *Estuaries and Coasts*, **2015**, 38(1), 232-241.

NMX-AA-007-SCFI-2013 Análisis de agua-Medición de la temperatura en aguas naturales, residuales y residuales tratadas-Método de prueba [Consultado el: 22 de octubre de 2016].

NMX-AA-008-SCFI-2011 Análisis de agua-Determinación del pH-Método de prueba[Consultado el 22 de octubre de 2016].

NMX-AA-012-SCFI-2001 Análisis de agua-Determinación de oxígeno disuelto en aguas naturales, residuales y residuales tratadas-Método de prueba [Consultado el 22 de octubre de 2016].

NMX-AA-029-SCFI-2001 Análisis de agua-Determinación de fosforo total en aguas naturales, residuales y residuales tratadas- Método de prueba [Consultado el 22 de octubre de 2016].

NMX-AA-038-SCFI-2001 Análisis de agua-Determinación de turbiedad en aguas naturales, residuales y residuales tratadas-Método de prueba [Consultado el 22 de octubre de 2016].

NMX-AA-079-SCFI-2001 Análisis de aguas-Determinación de nitratos en aguas naturales, potables, residuales, residuales tratadas-Método de prueba [Consultado el 22 de octubre de 2016].

NMX-AA-093-SCFI-2000 Análisis de aguas-Determinación de la conductividad electrolítica-Método de prueba [Consultado el 22 de octubre de 2016].

NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-127-SSA1-1994, "Salud Ambiental, Agua para uso y consumo humano- Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización.

Ohwofasa I. T., Bosedede A. A., Evaluation of Hydrochemical and Microbiological Contaminants isolated from Brass River in Niger-Delta Ecological Zone. *Journal of Science and Technology*, **2017**, 9(1).

Poikane S., Kelly M., Cantonati M., Benthic algal assessment of ecological status in European lakes and rivers: Challenges and opportunities. *Science of the Total Environment*, **2016**, 568, 603-613.

Prest E. I., Hammes F., Kötzsch S., Van Loosdrecht M. C. M., Vrouwenvelder J. S., A systematic approach for the assessment of bacterial growth-controlling factors linked to biological stability of drinking water in distribution systems. *Water Science and Technology: Water Supply*, **2016**, 16(4), 865-880.

Priputina I., Zubkova E., Shanin V., Smirnov V., Komarov A., Evidence of plant biodiversity changes as result of nitrogen deposition in permanent pine forest plots in central Russia, *Ecoscience*, **2014**, 21(3-4), 286-300.

Puga-Barajas H.D., Evaluación de la vulnerabilidad ambiental del municipio de Jacona Michoacán mediante el índice WRASTIC Tesis de disertación, **2015**, Universidad de Guadalajara, Jalisco, México.

Ramanan R., Kim B.H., Cho D.H., Oh H.M. and Kim H.M., Algae-bacteria interactions: evolution, ecology and emerging applications, *Biotechnology Advances*, **2016**, 34(1), 14-29.

RAP-AL Uruguay, Contaminación y eutrofización del agua. Impactos del modelo de agricultura industrial ,**2010**.

Ríos-Tobón S., Agudelo-Cadavid R.M. ,Guitierrez-Builes L.A., Patógenos e indicadores de calidad de agua para beber, *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*, **2017**, 35(2).

Sánchez O., Herzig M. , Peters H. , Márquez R., Zambrano L.,, Perspectivas sobre conservación de ecosistemas acuáticos en México, **2007**,SEMARNAT.

Sánchez-Rodríguez M., Jacona. Historia de un pueblo y su desencuentro con el agua. Informe final de la primera etapa del proyecto Reserva Patrimonial del Curutarán, **2007**,1-82.

Santos-Beneit F., Rodríguez-García A., Franco-Domínguez E., Martín J.F., Phosphate dependent regulation of the low and high affinity transportation system in the model actinomycetes *Streptomyces coelicolor*, *Microbiology*, **2008**, 154(8), 2356-2370.

Sanz-Luque, E., Chamizo-Ampudia, A., Llamas, A., Galvan, A., & Fernandez, E. Understanding nitrate assimilation and its regulation in microalgae. *Frontiers in Plant Science*, **2015**, 6, 899.

Segura-García V., Almanza-Álvarez J.S., Ponce-Saavedra J., Diversidad en comunidades de diatomeas epilíticas con relación a los parámetros físicoquímicos de la cabecera del río Zinapécuaro, México, *Hidrobiológica*, **2016**, 26(2).

Segura-García V., Cantoral-Uriza E.A., Israde I., Maidana N., Epilithic diatoms (Bacillariophyceae) as indicators of water quality in the upper Lerma river, Mexico, *Hidrobiológica*, **2012**, 22(1) 16-27.

Siddig, A. A., Ellison, A. M., Ochs, A., Villar-Leeman, C., Lau, M. K., How do ecologists select and use indicator species to monitor ecological change? Insights from 14 years of publication in *Ecological Indicators*. *Ecological Indicators*, **2016**, 60, 223-230.

Silva García J. T., Ochoa Estrada S., Cruz Cárdenas G., Nava Velázquez J., Villalpando Barragán F., Manantiales de la cuenca del río Duero Michoacán: operación, calidad y cantidad. *Revista internacional de Contaminación Ambiental*, **2015**, 32(1), 55-68.

- Silva** J. T., Moncayo R., Ochoa S., Estrada F., Cruz-Cárdenas G., Escalera C., López M., Calidad química del agua subterránea y superficial en la cuenca del río Duero, Michoacán. *Tecnología y Ciencias del Agua*, **2013**, 4(5), 127-141.
- Snow** G.C., Determining the health of river-dominated estuaries using microalgal biomass and community composition, *South Africa Journal of Botany*, **2016**, 107, 21-30.
- Stoica** C., Stanescu E., Paun I., Nita-Lazar M., Gheorghe S., Banciu A., Lucaciu I., Trophic status of Danube river and its tributaries using chlorophyl A as an indicator *Romaqua*, **2016**, 113(7), 35-41.
- Su** X., Zhu J., Fu Q., Zuo J., Liu Y., Hu H., Immobilization of lead in anthropogenic contaminated soils using phosphates with/without oxalic acid. *Journal of Environmental Sciences*, **2014**, 28, 64-73.
- Sura**, W., Ziolkowski, P. A., Chromatin Affinity Purification (ChAP) from *Arabidopsis thaliana* Rosette Leaves Using in vivo Biotinylation System. *The Plant Cell*. **2018**
- Thoetkiattikul** H., Mhuantong W., Pinyakong O., Wisawapipat W., Yamazoe A., Fujita N., Eurwilaichitr L., Champreda V., Culture-independent study of bacterial communities in tropical river sediment, *Bioscience. Biotechnology and Biochemistry*, **2016**, 81(1), 200-209.

UNESCO, Cianobacterias Planctónicas del Uruguay. Manual para la identificación y medidas de gestión., **2009**, No. 16. Documento Técnico PHI-LAC.

Van Oostende N., Moerdijk-Poortvliet T. C., Boschker H. T., Vyverman W., Sabbe K., Release of dissolved carbohydrates by *E. miliana huxleyi* and formation of transparent exopolymer particles depend on algal life cycle and bacterial activity. *Environmental Microbiology*, **2013**, 15(5), 1514-1531.

Wang X., Zheng B. , Liu L., Li L., Use of diatoms in river health assessment, *Annual Research and Review in Biology*, **2014**, 4(24), 4054.

Yin G., Hou L., Zong H., Ding P., Liu M., Zhang S., Zhou J., Denitrification and anaerobic ammonium oxidization across the sediment–water interface in the hypereutrophic ecosystem, Jinpu Bay, in the Northeastern Coast of China. *Estuaries and Coasts*, **2015**, 38(1), 211-219.

Zhou J., Lyu Y., Richlen M. L., Anderson D. M., Cai Z., Quorum sensing is a language of chemical signals and plays an ecological role in algal-bacterial interactions. *Critical Reviews in Plant Sciences*, **2016**, 35(2), 81-105.

