

IDENTIFICACIÓN DE LA BIODIVERSIDAD DE MICROALGAL PROVENIENTE DEL EMBALSE DEL MUÑA PARA EVALUAR SU POTENCIAL EN BIORREMEDIACIÓN

IDENTIFICATION OF MICROALGAL BIODIVERSITY FROM THE MUÑA RESERVOIR TO EVALUATE ITS POTENTIAL IN BIOREMEDIATION

Paola Gissel Duarte Briceño¹

Julio Cesar Franco Correa²

Semillero BIBA, Grupo de Investigación CIDEINNOVA³

Recibido: 30-08-2016 Aceptado: 07-12-2016

Resumen

El embalse del Muña está ubicado en 4°32'27"N, 74°14'59"W aledaño al municipio de Sibaté, Cundinamarca, sus aguas provienen del río Bogotá que contienen materia orgánica en descomposición, desechos agrícolas y plaguicidas los cuales han generado una elevada contaminación que ha favorecido procesos de eutrofización, proliferación de insectos y microalgas. Es así, como la fitorremediación como parte de la biorremediación surge como una solución para limpiar aguas mezcladas, reduciendo el riesgo de contaminación de los ríos y quebradas. Por ende, se realizó una identificación de la biodiversidad microalgal del embalse con el propósito de estimar microalgas potenciales para procesos de biorremediación. Esto, se llevó a cabo por medio de microscopía óptica, y empleando claves taxonómicas donde los medios de cultivo, Zarrouk, Basal Bold y f/2 de Guillard permitieron la reproducción de la biodiversidad microalgal contenidas en las muestras. Igualmente, se midieron parámetros fisicoquímicos in-situ como pH, oxígeno disuelto, turbidez y conductividad. Se identificaron cianobacterias como *Oscillatoria* y *Nostoc*, algas verdes como *Scenedesmus*, *Eudorina*, *Closterium* y diatomeas del género, *Tabellaria*, géneros que presentan cualidades fitorremediadoras; por otro lado, se concluyó que a temperaturas mayores de 20°C, se fomenta el crecimiento de cianobacterias y la presencia de oxígeno y carbono limitan en el desarrollo de estas microalgas en el embalse.

Palabras clave: Microalgas, Fitorremediación, Medios de cultivo, Diatomeas, Algas Verdes.

1. Colombiana, Ingeniera Biológica, Magíster en Biotecnología, Facilitadora del Servicio Nacional de Aprendizaje (SENA) área de Biotecnología, TecnoAcademia Nodo Cazucá, Soacha, Cundinamarca. pgduarte0@misena.edu.co, Cel: 3106188216

2. Colombiano, Físico, Magíster en Ciencias e Ingeniería de Materiales, Facilitador del Servicio Nacional de Aprendizaje (SENA) en Investigación Científica, TecnoParque Nodo Cazucá, Soacha, Cundinamarca. jczfrancoc@gmail.com, Cel: 3187882838

3. Centro Industrial y de Desarrollo Empresarial CIDE, Sena, Soacha - Cundinamarca.

Abstract

Muña reservoir is located in 4° 32'27"N, 74° 14'59"W adjacent to the municipality of Sibaté, Cundinamarca, its waters come from Bogotá river containing decaying organic matter, agricultural wastes and pesticides which have high pollution generated favored eutrophication processes, proliferation of insects and microalgae. Thus, as phytoremediation as part of bioremediation emerges as a solution to clean mixed water, reducing the risk of contamination of rivers and streams. Therefore, identification of microalgal biodiversity reservoir in order to estimate potential microalgae for bioremediation processes was performed. This was carried out by optical microscopy, using taxonomic keys and where the culture media, Zarrouk, Basal Bold and f / 2 Guillard allowed reproduction microalgal biodiversity contained in the samples. Similarly, physicochemical parameters such as pH, dissolved oxygen, turbidity and conductivity were in-situ measured. Oscillatoria and Nostoc cyanobacteria, green algae as Scenedesmus, Eudorina, Closterium and Tabellaria diatoms, genres that have qualities phytoremediation were identified; otherwise, it was found that at temperatures above 20 °C, the growth of cyanobacteria and the presence of oxygen and carbon limit in the development of these micro-algae in the reservoir is encouraged.

Keywords: Microalgae, Phytoremediation, Culture Media, Diatoms, Green Algae

Introducción

Actualmente el embalse del muña ubicado a 4°32'27"N, 74°14'59"W aledaño al municipio de Sibaté, departamento de Cundinamarca (área de 9.33 km², altura y profundidad de 2600 msnm y 10.6 m, respectivamente) ocasiona problemas de salud al tener proliferación masiva de insectos, plantas y microalgas debido a que sus aguas, provenientes del río Bogotá, contienen materia orgánica, desechos agrícolas y plaguicidas afectando el medio biótico, abiótico y estructural del entorno.

Entre los aspectos que ha ocasionado la alteración del medio natural del embalse ha sido la continua acumulación de sedimentos orgánicos, lo cual incide directamente al deterioro, generando crecimiento

excesivo de algas, malezas, además de una continua presencia de olores que se relacionan directamente con condiciones anaeróbicas, causando una disminución en la concentración de oxígeno disuelto (OD) además del incremento de materia orgánica en descomposición, sedimentación y turbidez del agua (Mejoramiento de la calidad ambiental del Embalse del Muña, 2003). Sin embargo, durante los últimos años se han desarrollado tecnologías que permiten una disminución en la contaminación del ambiente a través del uso de plantas (fitoremedación) y microorganismos que juntos proporcionan un uso sostenible para el medio ambiente.

La fitorremediación es una herramienta ampliamente utilizada, ya que se basa en el uso de plantas para reducir in situ la concentración de contaminantes orgánicos e inorgánicos a través de la interacción microorganismo- planta, donde su sistema de raíz conduce a un conjunto de métodos para transformar, absorber, metabolizar, volatilizar o estabilizar contaminantes presentes en el suelo, aire o agua ofreciendo ventajas en relación con métodos fisicoquímicos que se usan actualmente (Susarla et al., 2002). Por ende, el objetivo del estudio es identificar la biodiversidad microalgal presente en el embalse del Muña a través de microscopía óptica y claves taxonómicas, para posteriormente, poderlas emplear en procesos de biorremediación de aguas residuales.

Materiales y métodos

Para llevar a cabo el desarrollo del proyecto de investigación y dar cumplimiento al objetivo general propuesto, la metodología se planteó de la siguiente manera:

- **Descripción del proyecto**

Los análisis de laboratorio fueron realizados en las instalaciones del Tecno-Academia Nodo Cazuca del SENA, Soacha, donde se adecuaron 3 medios de cultivos diferentes (Zarrouk (ZM), BBM y F/2 Guillard) para tratar agua contaminada proveniente del embalse del muña a fin de identificar taxonómicamente la presencia de microalgas y determinar su aplicabilidad en bioremedación.

- **Área de estudio**

El embalse del Muña está ubicado en 4°32'27"N, 74°14'59"W aledaño al municipio de Sibaté,

Cundinamarca, allí se recolectaron dos muestras de agua para el presente estudio (Figura 1) durante la obtención se tomaron in-situ parámetros físico-químicos con el propósito de recrear las condiciones del entorno en el laboratorio, como humedad relativa y temperatura ambiente. Las muestras fueron recolectadas a una profundidad de 30 cm en frascos BOECO de 250 ml. Allí, fueron tomados valores de pH, conductividad, temperatura y oxígeno disuelto (Tabla 4). Luego se adiciono formol al 5% a cada muestra para su conservación, posteriormente fueron etiquetadas y conservadas a 4°C.



Figura 1. Mapa del embalse del muña, escala 1:50.000, tomado del Instituto Geografico Agustin Codazzi, http://geoportal.igac.gov.co:8888/siga_sig/Agrologia.seam

• Medios de cultivos y parámetros físico-químicos

Para la identificación taxonómica de las microalgas se emplearon 3 medios de cultivo modificados de Zarrouk (Tabla 1) (Pandey et al., 2010), BBM (Tabla 2) (Fraunhofer et al., 2016) y F/2 de Guillard (Tabla 3) (Fernandez et al., 2014), para un óptimo crecimiento y propagación (Pohndorf et al., 2016; Tahe et al., 2015 y Taleb et al., 2016). En las Tablas se encuentran las modificaciones respectivas a los medios de cultivo.

Tabla 1. Medio de cultivo Zarrouk, empleado para identificación microalgal.

SOLUCIONES	COMPONENTES	ZARROUK (g/L)
SL1	NaHCO ₃	16,8
SL2	KH ₂ PO ₄	0,5
SL3	NaNO ₃	2,5
SL4	K ₂ SO ₄	1
SL5	NaCl	1
SL6	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,2
SL7	CaCl ₂ ·2H ₂ O	0,04
SL8	FeSO ₄	0,01
SL9	Na ₂ EDTA·2H ₂ O	0,08
SL10	Solución Micronutrientes	1mL
	Micronutrientes	g/L
	H ₃ BO ₃	2,86
	MnSO ₄	1,81
	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,222
	Na ₂ MoO ₄	0,0177
	CuSO ₄	0,079

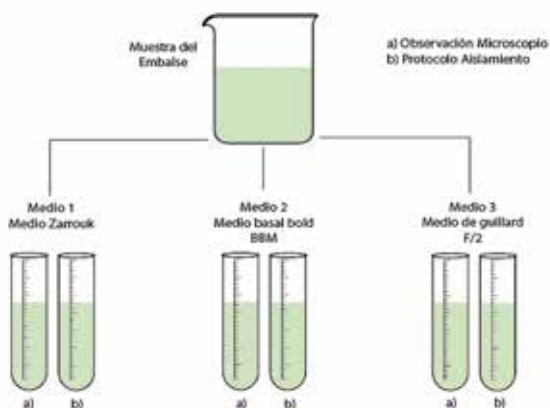
Tabla 2. Medio de cultivo BBM, empleado para identificación microalgal.

SOLUCIONES	COMPONENTES	BBM(G/L)
SL1	NaNO ₃	25
SL2	MgSO ₄ ·7H ₂ O	7,5
SL3	NaCl	2,5
SL4	KH ₂ PO ₄	17,5
SL5	CaCl ₂ ·2H ₂ O	2,5
SL7 Micronutrientes	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8,82
	MnSO ₄ ·4H ₂ O	1,44
	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0,71
	CuSO ₄ ·5H ₂ O	1,57
	Co(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O	0,49
SL8	H ₃ BO ₃	11,4
SL9	Na ₂ EDTA·2H ₂ O	50
	KOH	31
SL10	Fe ₂ SO ₄	4,98
	H ₂ SO ₄	1mL

Tabla 3. Medio de cultivo f/2 de Guillard, para identificación microalgal.

SOLUCIONES	COMPONENTES	F2(G/L)
SL1	NaNO ₃	75
SL2	Na ₃ PO ₄	5
SL3	NaSiO ₃ ·9H ₂ O	30
SL4 Micronutrientes	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	23mg/L
	MnSO ₄ ·H ₂ O	152mg/L
	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	7.3mg/L
	CoCl ₂	14mg/L
	CuCl ₂ ·2H ₂ O	6.8mg/L
	Fe(NH ₄) ₂ (SO ₄) ₂ ·6H ₂ O	4,6
	Na ₂ EDTA·2H ₂ O	4,4

La propagación de cada una de las muestras provenientes del embalse se realizó por duplicado. Se emplearon en total 12 tubos de ensayo de 14 cm de longitud (6 para la muestra 1 y 6 para la muestra 2), los cuales contenían 20 ml de cada medio de cultivo y 2.4 ml de muestra. Los cultivos fueron almacenados a una temperatura controlada de 25 °C durante 10 días (Figura 2).

**Figura 2.** Aislamiento de medios de cultivo Zarrouk, Basal Bold y f/2 de Guillard, en 6 tubos de ensayo (2 por medio).

• Clasificación Taxonómica

La clasificación taxonómica se realizó con una muestra de 10ul de cada uno de los cultivos, la cual fue visualizada a través de un microscopio Zeiss Scope A1, objetivo 100X; y empleando las siguientes claves taxonómicas (Algae Resource Database <https://shigen.nig.ac.jp/algae/>

strainClassListAction.do, World Register of Marine Species <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=search> , y Algae base <http://www.algaebase.org/search/species/> para una adecuada clasificación.

Resultados y discusión

• Parámetros fisicoquímicos

Según los análisis fisicoquímicos la contaminación originada por diferentes vertientes en el afluente muestran un pH de 5 indicando una ligera acidez en el cuerpo de agua; lo cual es un parámetro a considerar ya que variaciones en el pH puede tener efectos sobre cada uno de los niveles de organización de la materia viva, desde el nivel celular hasta el nivel ecosistémico (Moreta J. C., 2008). Así mismo, se evidencia una turbidez de 3.0 NTU en el afluente debido a la presencia de partículas en suspensión (arcilla, limos, coloides orgánicos, plancton y otros organismos microscópicos) afectando la fotosíntesis lo que limita el paso de luz solar, respiración y reproducción de vida acuática.

Por otra parte, el oxígeno disuelto (OD) entre 5 y 8 mg/l indican una disminución del oxígeno, dado que las partículas suspendidas absorben calor de la luz del sol, haciendo que las aguas turbias se tornen calientes, reduciendo la concentración de oxígeno y generando disminución en la actividad fotosintética (Moreta J. C., 2008). Por lo cual el proceso provocado por la cantidad de nutrientes (nitratos y fosfatos) estimula el crecimiento de fitoplancton, que provoca la pérdida en la transparencia del agua pero un aumento en la descomposición de la materia orgánica que genera disminución en la concentración de oxígeno (O₂). Esta disminución de O₂ provoca la muerte de organismos aerobios e incrementando las fermentaciones y liberando gases tóxicos como metano (CH₄), amoníaco (NH₃) y SH₂, entre otros, lo que conduce a una degradación del medio acuático y a la disminución significativa de la calidad de vida de los seres que lo habitan.

En cuanto a la temperatura, parámetro que aumenta la velocidad de reacciones metabólicas de las plantas (Giordanino, M., 2014), se obtuvieron

valores entre 20 y 23°C, este rango ocasiona retardos en la acción desnitrificante de bacterias; donde los nitratos que provienen de fuentes naturales por migración desde el suelo o la atmosfera, y de origen humano como vertimientos de detergentes, desechos orgánicos y otros elementos ricos en nitratos, no son asimilados rápidamente y al

permanecer en el agua, estimulan el crecimiento de algas y fitoplancton obteniendo un ambiente eutrófico (Pérez-Castillo A., 2008) (Figura 3). Es importante considerar que la disminución de OD originado por descomponedores de detritos y la consecuente limitación de la vida acuática es la etapa final y más destructiva de la eutrofización.



Figura 3. Imágenes del área del Embalse (Norte y Centro) con presencia de materiales industriales, mineros, agropecuarios, artesanales y domésticas.

La conductividad en cuerpos de agua dulce varía entre 50 y 1500 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (APHA et al., 1998); en el cual fuera de este rango la calidad del agua no es adecuada para la vida de especies menores como peces e invertebrados, el embalse del muña presenta valores entre 562 y 475 $\mu\text{S}/\text{cm}$ reflejando aumentos en las concentraciones de Cl, NO₃ y SO₄ y otros

iones debido a continuas descargas de material contaminante por parte del municipio y zonas industriales aledañas, este valor aunque se encuentra en el rango de cuerpos de agua dulce no aplica para consumo humano que presenta un valor entre 5 a 50 mS/cm (Lenntech, 2016) (Tabla 4).

Tabla 4. Parámetros físico-químicos tomados para cada área de estudio.

Lugar	Geo ubicación	Temperatura °C	pH	Conductividad $\mu\text{S}/\text{cm}$	Oxígeno disuelto mg/L	Turbidez NTU
1	4°31'31.5"N 74°14'30.8"W	20.95	5.53	562	8.7	3.0
2	4°31'29.4"N 74°14'35.3"W	23.62	5.86	475	5.5	3.4

• Clasificación Taxonómica

Se identificaron diferentes tipos de cianobacterias y algas verdes que son frecuentes formadoras de floraciones en aguas eutrofizadas (Tabla 5, Figura 4). Este tipo de crecimiento no solo se debe a la presencia de residuos

domesticos o industriales, que son vertidas directa o indirectamente al embalse, sino tambien a los aportes difusos provenientes de aguas de esorrentía debido al lavado de suelos de áreas cultivadas y fertilizadas, de suelos deforestados o de campo con ganadería (Parra, A. L. R., y Villanueva, R. O. C., 2013)

Tabla 5. Géneros de microalgas identificadas en el Embalse del Muña, identificados por microscopía óptica y claves taxonómicas.

Grupo	Géneros
Diatomea	<i>Tabellaria</i>
Algas verdes	<i>Scenedesmus</i> , <i>Eudorina</i> , <i>Haematococcus</i> , <i>Closterium</i> , <i>Coelastrum</i> , <i>Cosmarium</i>
Algas verdes-azules	<i>Oscillatoria</i> , <i>Chroococcus</i> , <i>Nostoc</i>

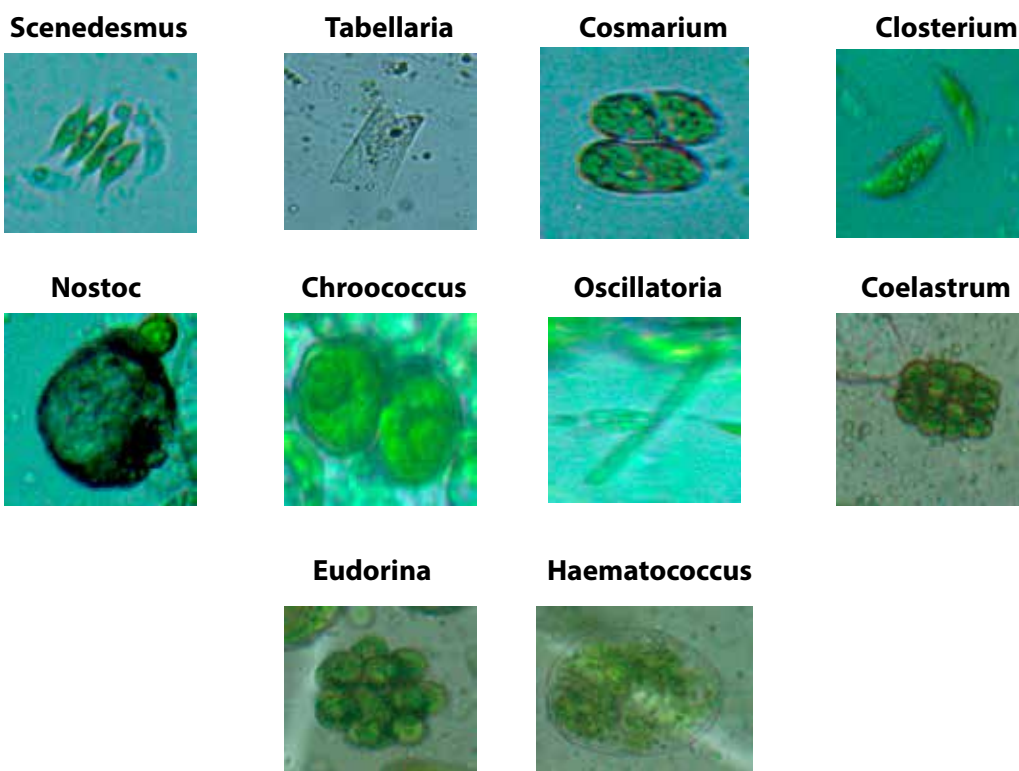


Figura. 4. Identificación taxonómica de microalgas mediante microscopía óptica.

Conclusiones

- La floración de cianobacterias evidencia una alta productividad de la comunidad planctónica, determinando un incremento del consumo de oxígeno por respiración de algas y microorganismos degradadores de biomasa. Así mismo, se produce alteraciones de las propiedades químicas del agua como el pH, donde el consumo de carbono puede volverse limitante para el desarrollo de microalgas.
- La identificación de microorganismos demostró potencial para la implementación de técnicas de biorremediación (aislamiento y monocultivos).
- El aumento de la temperatura del agua por sobre los 20° C favorece el desarrollo de cianobacterias, ya que incrementa las tasas de crecimiento y de reproducción celular.
- Este tipo de estudios fomentan la investigación aplicada en centros de formación como el SENA y en especial al programa del Tecno Academia Nodo-Cazuca donde los estudiantes incursionan en problemáticas locales de alto impacto social, ambiental y económico con el fin de dar soluciones a la población.

Agradecimientos

Al Centro Industrial y Desarrollo Empresarial de Soacha y a la TecnoAcademia Nodo Cazucá del SENA por el apoyo financiero e infraestructura utilizada para la realización de este proyecto. Agradecimientos a la Maestra en Ciencias M.Sc. Diana Carolina Franco por su valioso apoyo en la revisión y asesoría técnica durante el desarrollo de este proyecto.

Referencias

1. APHA., Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association, 1998, Washington. 1265 pp.
2. Parra, A. L. R., & Villanueva, R. O. C. (2013). Bioremediación de aguas con fosfatos y nitratos utilizando *Scenedesmus incrassatulus* inmovilizado. BISTUA REVISTA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BASICAS, 10(1)
3. Susarla, S., Medina, V. F., & McCutcheon, S. C. (2002). Phytoremediation: an ecological solution to organic chemical contamination. Ecological Engineering, 18(5), 647-658
4. Pandey, J. P., Tiwari, A., & Mishra, R. M. (2010). Evaluation of biomass production of *Spirulina maxima* on different reported media. J. Algal Biomass Utiln, 1(3), 70-81.
5. Fraunhofer, Culture Collection CCCryo of Cryophilic Algae. 2016. Recuperado de <http://cccryo.fraunhofer.de/sources/files/medien/BBM.pdf>
6. Fernandez J.M., Ingeniería de Procesos aplicada a la Biotecnología de Microalgas, Universidad de Almería, 2014. Recuperado de <http://www.ual.es/~jfernand/ProcMicro70801207/tema-1---generalidades/1-3-nutrientes.html>
7. Pohndorf, R. S., Camara, Á. S., Larrosa, A. P., Pinheiro, C. P., Strieder, M. M., & Pinto, L. A. (2016). Production of lipids from microalgae *Spirulina* sp.: Influence of drying, cell disruption and extraction methods. Biomass and Bioenergy, 93, 25-32.
8. Taher, H., Al-Zuhair, S., Al-Marzouqi, A., Haik, Y., & Farid, M. (2015). Growth of microalgae using CO₂ enriched air for biodiesel production in supercritical CO₂. Renewable Energy, 82, 61-70.
9. Taleb, A., Kandilian, R., Touchard, R., Montalescot, V., Rinaldi, T., Taha, S., ... & Pruvost, J. (2016). Screening of freshwater and seawater microalgae strains in fully controlled photobioreactors for biodiesel production. Bioresource Technology, 218, 480-490.
10. Mejoramiento de la calidad ambiental del

Embalse del Muña, Informe Final, Centro de investigaciones en acueductos y alcantarillados CIACUA, Universidad de los Andes, Departamento de Ingeniería Civil y Ambiental, Bogota, Julio 2003

11. Moreta Juan Carlos, La eutrofización de los lagos y sus consecuencias, Universidad Técnica del Norte, Facultad Ciencias de la Salud, Escuela de Nutricion y Salud Comunitaria, Tecnologia en Saneamiento Ambiental, Trabajo de grado previa la obtención del título de tecnólogo en saneamiento ambiental, Universidad Técnica del Norte, Ibarra, Ecuador, 2008.
12. Pérez-Castillo, A. G., & Rodríguez, A. (2008). Índice fisicoquímico de la calidad de agua para el manejo de lagunas tropicales de inundación. Revista de Biología Tropical, 56(4), 1905-1918.
13. Giordanino, M. V. F. Trabajo de tesis: Efectos combinados de la radiación ultravioleta y la temperatura en cianobacterias, Universidad Nacional del Comahue, Centro Regional Universitario Bariloche, 2014
14. Lenntech, Water conductivity, wáter treatment, 2016, tomado de: <http://www.lenntech.com/applications/ultrapure/conductivity/water-conductivity.htm>