



**Universidad Autónoma de Baja California**

---

---

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**Maestría en Ciencias en Manejo de Ecosistemas de Zonas Áridas**

“Identificación de cianobacterias y diatomeas para su utilización como bioindicadores presentes en el sistema geotérmico de Los Negritos, Michoacán, México”

**TESIS**

Que para obtener el grado de

**MAESTRO EN CIENCIAS**

Presenta

***Estrella Azalia Nuñez Zarco***

Ensenada, B.C. México, noviembre de 2016.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS

MAESTRÍA EN MANEJO DE ECOSISTEMAS DE ZONAS ÁRIDAS

**“Identificación de cianobacterias y diatomeas para su utilización como  
bioindicadores presentes en el sistema geotérmico  
Los Negritos, Michoacán, México”**

TESIS

Que para obtener el grado de

MAESTRA EN CIENCIAS

Presenta

**ESTRELLA AZALIA NUÑEZ ZARCO**

Aprobado por



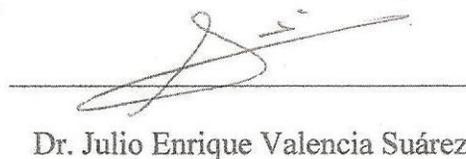
Dr. Guillermo Romero Figueroa

Director



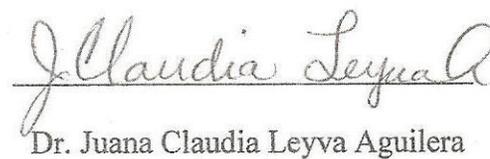
Dra. Zayre Ivonne González Acevedo

Co-Director



Dr. Julio Enrique Valencia Suárez

Sinodal



Dr. Juana Claudia Leyva Aguilera

Sinodal



Dra. María Evarista Arellano García

Sinodal

ENSENADA B.C. 25 de octubre de 2016

## AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Ciencias y al Posgrado de Manejos de Ecosistemas de Zonas Áridas, UABC por darme la oportunidad de continuar con mis estudios profesionales e integrales como ser humano.

Al Centro Mexicano de Innovación en Energía Geotérmica (CEMIE-GEO) particularmente al Proyecto 25, del Fondo de Sustentabilidad Energética SENER-CONACYT (SENER) por la confianza y el apoyo brindado para la realización de la presente investigación.

Al Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE) por abrirme sus puertas como mi segunda casa, gracias por la confianza y amabilidad de TODOS los estudiantes, investigadores y administrativos que me ayudaron para que este proyecto caminara a pasos agigantados.

A los laboratorios de Manejo y Conservación de Vida Silvestre y Genotoxicología, que me dejaron expandirme para poder elaborar esta tesis microbiana.

A los Dr. Guillermo Romero Figueroa y Dra. Zayre González Acevedo, directores de tesis, por su amistad, asesoría, confianza y apoyo en todo momento de esta investigación y hacia mi persona.

Dr. Guillermo, GRACIAS por confiar en mí en todo momento y por los ánimos de todos los días.  
□

Dra. Zayre gracias por confiar en mí y apoyarme estos años dentro de este ámbito y personal.  
¡GRACIAS!

Al Dr. Julio Suárez por su amistad, asesoría, confianza, apoyo y consejos para esta investigación.  
Many Thanks!

A las Dras. Evarista Arellano y Claudia Leyva, sin duda agradezco el apoyo y confianza, apertura, colaboración y conocimiento compartido.

A los Dr. Víctor Ortiz y Dr. Eduardo Estrada por su muy necesaria asesoría y amistad.

A Zhenia ¡¡Gracias por el trabajo INTENSO de meses, esta tesis lleva tu entusiasmo!!

A mis amigos que agradezco sean parte de mi VIDA:

Verenice, Nadir, Paty, Paty (Profe.), Beto, Aldo, Ceres, Soco, Diana, Pilar, Flor, Minerva,  
Adriana Puma, Anita, Eliana, Javier, Jacob.

**A mi familia que se desveló junto conmigo, que cuidó a mis hijos, que cuida  
de mí y que AMO inmensamente.**

¡GRACIAS!

---

---

## RESUMEN

Las principales afectaciones al ambiente dentro del desarrollo de una planta geotérmica son sobre el agua (la calidad del agua circundante, contaminación en mantos freáticos), suelo (contaminación y erosión), aire (la generación de sólidos suspendidos), la biota (alteración del hábitat) y posibles daños a la salud pública. Por esta razón, los parámetros internacionales de monitoreo ambiental están enfocados en la calidad de aire, agua, suelo, abundancia de vegetación y fauna. La acumulación de iones disueltos en el agua y suelo por el desarrollo geotérmico, sumado al ciclo natural de los sistemas hidrotermales y actividades antropogénicas podrían ser posibles factores de cambio en el ecosistema. Los bioindicadores, son utilizados como parámetro de medición de la calidad del agua, ya que registran cambios y alteraciones que han sucedido durante periodos prolongados en el sistema. En el presente trabajo de investigación, se realiza la primera identificación de indicadores ambientales en una zona geotérmica de México, con el objetivo de caracterizar a través del uso de la química y microbiología ambiental un sistema de lodos calientes y el impacto de la actividad antropogénica, así como, relacionar la medición de concentración de iones disueltos en los cuerpos de agua de la zona e identificación de los taxa mayoritarios de diatomeas y cianobacterias residentes como indicadores de cambios ambientales, con un diámetro de influencia de 5 km a partir de la expresión geotérmica.

Se identificaron dos áreas de influencia dentro de la zona geotérmica de Los Negritos: geotérmica y radar. Dentro del área geotérmica se encontró la expresión geotérmica de lodos calientes, con temperaturas de 83 a 87 °C, altos contenidos de Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, se registraron altas concentraciones de As, Mn, Mo, Pb, U y V, dentro de la misma área se caracterizó un sistema lagunar de aguas alcalinas con valores de pH 7.44 a 8.73, altos contenidos de Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, y metales traza As, B, Ba, Cd, Cu, Cr, Fe, Mn, Sb, Sr, Ni, Zn. Las áreas radar y control presentaron parcelas de cultivo agrícola, además de descargas de aguas residuales con alto contenido de fosfatos, nitratos y/o nitritos. Se registraron altos contenido de Ba, Ni, Zn para el área radar, mientras el área control presentó las concentraciones más altas de Ba. A través de técnicas de microscopía y metagenómica, se identificaron un total de siete géneros de diatomeas y 19 especies de cianobacterias residentes en el agua de la zona geotérmica. A partir de un análisis de agrupación por similitud y uso de un Análisis de Correspondencia Canónica (ACC) con una prueba de Montecarlo no restringida ( $p < 0.05$ ), se correlacionaron dentro de la zona geotérmica las especies *Navicula* sp. y *Pinnularia* sp. a la presencia de As, las cianobacterias *Phormidium murrayi* a concentraciones de B, *Pseudo-nitzschia* sp. al contenido de sales de Na, *Nostoc punctiforme* al contenido de sólidos totales disueltos y sales Na, *Crocospaera watsonii* correlacionada a las altas temperaturas, *Planktothrix mougeotii* correlacionada con niveles de óxido-reducción, *Eucapsis alpina*, *Leptolyngbya laminosa* y *Scytonema hofmanni* a la presencia de metales Mn, V y Pb. Como resultado de este trabajo se identificó la presencia y contenidos de metales traza en todos los cuerpos de agua evaluados, se recomienda realizar estudios adicionales del área geoquímicos, biológicos y de salud pública para identificar niveles de riesgo, así como detectar zonas potenciales de impacto ambiental.

**Palabras clave:** *Diatomea, Cianobacteria, Actividad geotérmica, Bioindicador.*

---

---

## ABSTRACT

The main damage to the environment in the development of a geothermal plant are on the water (the quality of surrounding water pollution in groundwater), soil (pollution and erosion), air (the generation of suspended solids), the biota (altered habitat) and possible damage to public health. For this reason, international standards of environmental monitoring are focused on the quality of air, water, soil, vegetation and wildlife. The accumulation of dissolved ions in water and soil by geothermal development, coupled with the natural cycle of hydrothermal systems and anthropogenic activities could be possible factors of change in the ecosystem. Bioindicators are used as a parameter for water quality monitoring, due these recorded changes and alterations that have occurred for long periods in the system. This present research is the first identification of environmental indicators in a geothermal zone of Mexico, with the aim of characterizing through the use of chemical and environmental microbiology a system of hot mud pools and the impact of anthropogenic activity.

Physico-chemical parameters and 20 metal elements were determined of water samples of geothermal zone of Los Negritos, Michoacán, Mexico. Cyanobacteria and diatoms were identified by microscopy and DNA Ribosomal 16S in order to relate environment pressures. Physical, chemical and metal analysis indicated basic waters and alkaline earth for the zone. Two areas of influence were identified within the geothermic zone of Los Negritos: geothermal and radar area. The hot mud pools expressions were found inside geothermal area, temperatures of 83 to 87 °C were register with high Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> dissolve salts. High content of As, Mn, Mo, Pb, U and V, were found inside of same expressions. Geothermal area was represented by alkaline lagoon system were with pH values of 7.44 to 8.73, high contents of Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> and trace metals As, B, Ba, Cd, Cu, Cr, Fe, Mn, Sb, Sr, Ni and Zn. High phosphate, nitrite and nitrate concentrations were found as indicators of agricultural and wastewaters loadings in radar and control areas. Contents of Ba, Ni and Zn were detected for radar area, meanwhile, control area presented the highest Ba concentrations. A total of 19 cyanobacteria species and seven diatom genera were identified in the geothermic zone. Environmental variables and species relationship were found by cluster and CCA analysis with a Montecarlo test ( $p < 0.05$ ). Diatoms *Navicula* sp., and *Pinnularia* sp. were correlated to the presence of As, cyanobacteria *Phormidium murrayi* were correlated to B, *Pseudo-nitzschia* sp. to Na, *Nostoc punctiforme* to TDS and Na, *Crocospaera watsonii* was correlated to high temperatures, *Planktothrix mougeotii* to ORP and *Eucapsis alpina*, *Leptolyngbya laminosa*, *Scytonema hofmanni* to the presence of Mn, V and Pb. Chemical analysis determined presence of Ba, V, Mn, Ni, Cu, Cd, Zn, As, and Pb in all water samples, this could indicate possible metal exposure to human population, soil, and economic activities for the zone, more studies of environmental impact assessment must be done to identify different level of environmental risk.

**Keywords:** *Diatom, Cyanobacteria, Geothermic activity, Bioindicators.*

---

---

## ÍNDICE

RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	2
I Introducción.....	5
II Antecedentes .....	9
2.1 Un sistema hidrotermal.....	9
2.2 Definición de Geotermia.....	9
2.3 La geotermia en México.....	9
2.4 Sistemas geotérmicos.....	13
2.5 Emisiones y consecuencias de la geotermia.....	14
2.6 Estudios biológicos en los sistemas geotérmicos.....	16
2.7 Microorganismos identificados en zonas geotérmicas.....	17
2.8 Microbiología ambiental y su aplicación en el monitoreo acuático.....	19
III Justificación .....	22
IV Objetivos.....	25
4.1 Objetivo general.....	25
4.2 Objetivos específicos .....	25
V Zona de estudio .....	26
5.1 Zona geotérmica Los Negritos, Michoacán, México.....	26
VI Metodología.....	30
6.1 Técnicas de campo.....	30
6.1.1 Colecta de muestras.....	31
6.1.2 Descripción de la flora dentro de la zona de estudio.....	32
6.2 Mediciones de parámetros físicoquímicos in situ en muestras de agua colectadas dentro de las zonas geotérmicas.....	33
6.3 Determinación de la concentración de iones disueltos. Toma de muestras para mediciones ex situ.....	33
6.4 Identificación de diatomeas bentónicas y cianobacterias.....	34
6.4.1 Identificación taxonómica.....	35
6.4.1.2 Identificación genética de cianobacterias.....	39
6.5 Tratamiento estadístico de los resultados.....	40

VII Resultados.....	41
7.1 Organización de la zona de estudio.....	41
7.2 Descripción de la flora dentro de la zona de estudio.....	44
7.3 Caracterización de la zona geotérmica.....	49
7.3.1 Parámetros in situ.....	49
7.3.2 Elementos mayores.....	52
7.3.3 Elementos menores.....	53
7.4 Identificación de diatomeas y cianobacterias.....	57
7.4.1 Uso de microscopía.....	57
7.4.2 Identificación de diatomeas (microscopia).....	60
7.4.3 Identificación de cianobacterias (Ribosomal 16S).....	62
7.5 Estructura y arreglo espacial de diatomeas y cianobacterias.....	65
7.6 Correspondencia de diatomeas y cianobacterias como indicadores de variables ambientales.....	66
VIII Discusión.....	75
IX. Conclusiones.....	86
Recomendaciones.....	88
Literatura citada.....	90

---

## I Introducción

A nivel nacional e internacional se han establecido parámetros para el análisis fisicoquímico de las aguas que establecen la calidad del sitio, en la mayoría de los casos debido al esfuerzo humano y costo económico que representa un seguimiento continuo a través de todo el año, los sitios son monitoreados de manera parcial y puntal. Como una opción de respuesta, los análisis de control biológico han sido estudiados y documentados, ya que representan una opción de evaluación espacial del ambiente con visión integrada y extendida en tiempo sobre la calidad de agua y las condiciones coexistentes del lugar, que representan el análisis ambiental en periodos de días o meses.

Los análisis químicos y físicos periódicos proveen información sobre la presencia, los niveles y la degradación de contaminantes, sin embargo, éstos no proporcionan información sobre el estrés al que los organismos vivos y el ambiente están sujetos y sus posibles efectos (Maznah y Wan, 2010). La incorporación de la evaluación biológica tiene un potencial como indicador del estado y presión en el que se encuentra un ecosistema, debido a que éste es susceptible a los cambios ambientales locales y posee un amplio rango de sensibilidad a la contaminación térmica, orgánica (soluble y particulada), mineralización del agua, eutrofización y acidificación (EUR-Lex, 2000).

Los **bioindicadores** fueron definidos por Kovacs (1992), quien los describe como organismos o poblaciones que reflejan las condiciones ambientales. Estos poseen una respuesta integradora a los análisis químicos realizados periódicamente y en general, tienen ciclos cortos de vida, lo que los hace indicadores esenciales en las evaluaciones a corto plazo (Della Bell *et al.*, 2007).

En este estudio, se tuvo el interés de identificar bioindicadores de sistemas que principalmente se encuentran asociados a altas temperaturas y **actividad geotérmica**. Dentro de estos sitios se desarrollan ecosistemas inhabitables para organismos superiores, sin embargo, se ha observado la formación de tapetes microbianos definidos por comunidades que colonizan la superficie, y presentan adaptaciones únicas al hábitat tan inhóspito. Lo anterior nos da la oportunidad de aprovechar estos organismos con fines biotecnológicos o bien como parte de un monitoreo ambiental (Zakaria y Abdulrahman, 2007). Se ha observado que los grupos de microorganismos mayoritarios en lugares geotermales son las microalgas y cianobacterias (Castenholz, 1976; Ward *et al.* 1998; Sompong *et al.* 2005; Roeselers *et al.* 2007; Ghozzi *et al.* 2013).

El fitoplancton es la comunidad de microorganismos que a través de procesos bioquímicos puede hacer uso de la luz y nutrientes disponibles en el agua y suelo, para llevar a cabo su ciclo de vida. Estos microorganismos pueden vivir suspendidos en la columna de agua (planctónicos) o en el sedimento (bentónicos) (Stein, 1973).

Las algas se encuentran dentro de los primeros eslabones de la cadena alimenticia, ya que representan la alimentación y fuente de energía de invertebrados y vertebrados (Sullivan y Moncreiff, 1990; Murking *et al.* 1992; Campeau *et al.* 1994; U.S. EPA., 2002), por lo que son clave dentro de los ciclos de nutrientes, captura de energía, la estabilización de sustratos y en algunos casos, la formación de tapetes algales sirven como refugio de invertebrados en periodos de sequía (Wetzel, 1996; U.S. EPA, 2002).

Las **diatomeas** (división Bacillariophyta) son el grupo más diverso dentro de las microalgas. Debido a su esqueleto de sílice estas microalgas (en su mayoría) llevan a cabo su ciclo de vida de forma bentónica. Este grupo constituye el 80% de la comunidad microbiana (que incluye microalgas, hongos y protozoos) y se caracterizan por ser cosmopolitas y tener una alta tasa de reproducción (Cox, 1991). Debido a su amplio número de géneros los estudios ecológicos y taxonómicos publicados internacionalmente son extensos, este grupo se distingue por ser sensible a las presiones hidromorfológicas (alteraciones del régimen hidrológico, continuidad del río y condiciones morfológicas del lecho) siendo considerados excelentes indicadores de dichas alteraciones (Cox, 1991; Calizaya-Anco *et al.*, 2013).

Otro grupo de microorganismos indicadores de la calidad de agua y suelo presente en los sistemas geotérmicos son las cianobacterias. Estos son microorganismos fotosintéticos, cosmopolitas (Whitton, 2012) capaces de vivir de manera solitaria en la columna de agua, formar colonias monoespecíficas o filamentosas compuestas de una o más especies. A pesar de su tamaño microscópico, su alta tasa de reproducción y morfología pueden hacer que estas sean visibles al ojo humano en forma de tapetes bentónicos, cortezas, colonias gelatinosas o florecimientos algales de colores vivos (Quiblier *et al.*, 2013).

Las **cianobacterias** (división Cyanophyta) son comunes en los sistemas acuáticos, en su mayoría representadas por concentraciones celulares bajas, sin embargo, cuando las condiciones ambientales son favorables, las células pueden duplicarse rápidamente y formar florecimientos. Así también, cuando los cuerpos de agua se encuentran eutrofizados, las cianobacterias pueden llegar a tener una gran masa celular, ocurre con frecuencia en lugares donde se practica la agricultura, zonas urbanizadas (Paerl y Hall, 2011), zonas con cambios

naturales del ambiente como los cambios del efluente de los ríos (Mitrovic *et al.*, 2011), el calentamiento global (Paerl y Huisman, 2009) y contaminación por fertilizantes (Lürling y Roessink, 2006).

El objetivo de este estudio fue identificar los bioindicadores presentes y relacionarlos con elementos químicos característicos de la zona geotérmica de Los Negritos, Michoacán; para generar antecedentes de los parámetros ambientales *in situ* y *ex situ* que pudieran ayudar en un futuro, a realizar una evaluación ambiental y propuestas de manejo para la zona de estudio, antes y después de la instalación de una planta de generación de energía geotermoeléctrica.

---

## **II Antecedentes**

### **2.1 Un sistema hidrotermal.**

De acuerdo a Pirajino (2010) en su forma más general, un sistema hidrotermal está formado por la circulación de fluidos calientes en forma horizontal y vertical, este puede presentar variación en su temperatura y presión en la corteza de la Tierra, lo que ayuda a su manifestación en la superficie en forma de fuente o chorros.

### **2.2 Definición de Geotermia.**

La geotermia es una fuente de energía renovable disponible todo el año, ésta energía proviene del calor de la Tierra y se encuentra en sistemas hidrotermales (de baja o alta entalpia) asociados con la presencia de fluidos magmáticos y permeabilidad, en algunos casos, estos sistemas pueden ser expuestos debido a sistemas de ingeniería (Thórhallsdóttir, 2007).

### **2.3 La geotermia en México.**

Debido al aumento del valor de los derivados del petróleo y al acuerdo para la disminución de la liberación de gases de carbono al ambiente, se estableció La Estrategia Nacional de Energía en México en mayo del 2011, para "Diversificar las fuentes de energía, para incrementar la participación de energías limpias". El acuerdo establece también el uso de energía proveniente de eólica, hidroeléctrica, nuclear y geotérmica con el fin de aumentar en 9% la capacidad eléctrica instalada en el país para el año 2025 (ENE, 2011).

Uno de los objetivos de este acuerdo fue la generación de energía geotermoeléctrica, dado que para diciembre del 2010 el porcentaje del uso de energía alterna era de solo del 26.4% y la geotermia como una fuente renovable ha sido utilizada en el mundo desde 1911 y en México desde 1973 con la planta de Cerro Prieto. Se nombró a la Comisión Reguladora de Energía (CRE) como encargada de determinar el potencial geotérmico del país y de revisar la situación regulatoria actual para el posible desarrollo de pequeños sistemas de generación geotermoeléctrica.

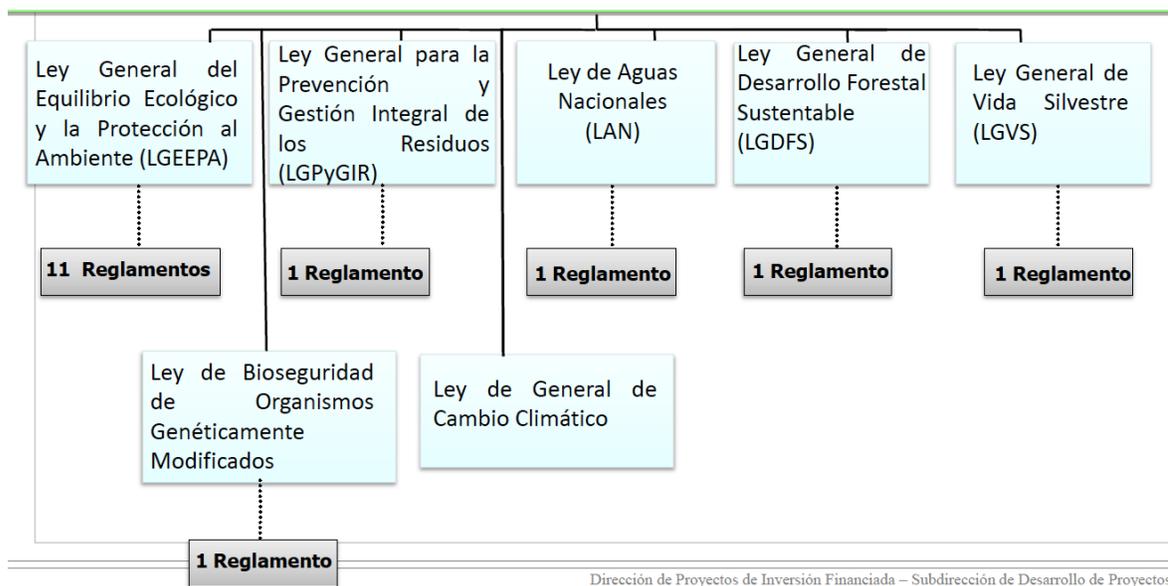
Como paso a seguir, la Gerencia de Proyectos Geotermoeléctricos (GRG) de la Comisión Federal de Electricidad (CFE) publicó en el año 2011, un catálogo de 1,300 manifestaciones termales en el país y las clasificó de acuerdo a su rango de temperatura: baja (90-150 °C), media (150-200 °C) y alta (>2000 °C). A partir del análisis geotérmico, se presentaron 20 zonas clasificadas como promisorias para el país que podrían duplicar la capacidad eléctrica actual (ENE, 2011). Hoy en día, la exploración de sitios geotérmicos para la generación de energía en México es de tipo hidrotermal, éstos tienen localización dentro del continente y presentan altas temperaturas (Gutiérrez-Negrín, 2012).

En México, dentro de su legislación considera la generación y uso de la energía geotérmica como una estrategia alterna para la producción de electricidad en términos limpios y renovables (LIE, 2014).

Entendiendo que una fuente de energía limpia es “Aquella fuente de energía y procesos de generación de electricidad cuyas emisiones o residuos, cuando los haya, no rebasen los umbrales establecidos en las disposiciones reglamentarias que para tal efecto se expidan” (Cámara de Diputados del Honorable Congreso de la Unión, Ley de la Industria Eléctrica,

2014). Mientras, una fuente de energía renovable se entiende como: “Aquellas cuya fuente reside en fenómenos de la naturaleza, procesos o materiales susceptibles de ser transformados en energía aprovechable por el ser humano, que se regeneran naturalmente, por lo que se encuentran disponibles de forma continua o periódica y que al ser generadas no liberan emisiones contaminantes” (Cámara de Diputados del Honorable Congreso de la Unión, Ley de Transición Eléctrica, 2015).

Ambos conceptos de energía geotérmica, resaltan la importancia de minimizar o hacer nula la emisión de gases o residuos de contaminantes al ambiente, esto coincide con Shortall *et al.* (2015) donde definen las características de un proyecto de energía sustentable el cual debe de ser ambientalmente benigno, este debe de evitar, remediar o mitigar la contaminación del aire o el agua, además de ser cuidar la biodiversidad protegida. Esto da importancia al cuidado de la naturaleza del sistema en donde este calor se genera y al ecosistema que se encuentra sujeto a él. Actualmente, la Gerencia de Proyectos Geotermoeléctricos (GPG) en México, ha gestionado con la autoridad ambiental correspondiente, las autorizaciones en materia de impacto ambiental, forestal y de suelos, aguas nacionales y residuos para los proyectos de generación geotermoeléctrica y sus actividades asociadas, rigiéndose dentro del Marco Jurídico Ambiental (Figura 2).



**Figura 2. Organigrama del Marco Jurídico Ambiental, con la que se rige la Comisión Federal de Electricidad (CFE) para el desarrollo de nuevos proyectos geotermoeléctricos.**

Respecto a la materia de Aguas Nacionales, los requisitos se encuentran basados en títulos de concesión para el aprovechamiento de aguas subterráneas, modificaciones técnicas de concesión, avisos de perforación de nuevos pozos y declaraciones trimestrales. Sin embargo, el monitoreo de la calidad de agua se realiza por estándares de la Organización Mundial de la Salud, esto genera un problema cuando la planta se encuentra activa, ya que las concentraciones de elementos y compuestos estipulados por esta organización son menores a las concentraciones naturales de los fluidos geotérmicos, lo que hace una necesidad el generar reglamentos para la conservación de aguas nacionales utilizadas para la generación de energía geotermoeléctrica calibrados en su normatividad a las concentraciones promedio reales de los fluidos geotérmicos y control de la contaminación de estos elementos al exceder su concentración o su exposición agresiva al ecosistema (GPG, 2016).

## 2.4 Sistemas geotérmicos.

Los sistemas geotérmicos están clasificados de acuerdo a Goldstein *et al.* (2011) en 3 tipos: sistemas hidrotermales convectivos, sistemas conductivos y sistemas de acuíferos profundos. Éstos a su vez, están clasificados en siete subtipos: continental, submarino, somero (<400 m), de roca caliente, cuerpos de magma, acuíferos hidrostáticos y geopresurizados (Tabla 1). En estos sistemas, se puede observar que la tecnología sigue en desarrollo al no presentarse utilizations de sistemas conectivos submarinos y los cuerpos de magma, así mismo en el caso de los campos de roca caliente, sólo existen prototipos de aprovechamiento. Así que la geotermia sigue siendo investigada y hay varias oportunidades de innovación.

**Tabla 1. Tipos de fuentes geotérmicas, temperaturas y usos. Tomada de Goldstein *et al.* (2011).**

Tipo	Fluidos In-situ	Subtipo	Rango de temperatura	Utilización	
				Actual	Futura
Sistema Convectivo (hidrotermal)	Si	Continental	A, I, B	Uso directo de la energía	
		Submarino	A	Ninguna	Uso de la energía
Sistemas Conductivos	No	Somero (<400 m)	B	Uso directo (GHP)	
		Roca Caliente (EGS)	A, I, B	Prototipos	Uso directo de la Energía
		Cuerpos de magma	A	Ninguno	Uso directo de la energía
Sistemas de acuíferos profundos	Si	Acuíferos hidrostáticos		Uso directo	Uso directo de la Energía
		Geopresurizados	A, I, B	Uso directo	Uso directo de la Energía

Nota: Rangos de temperatura: A: Alto (>180 °C), I: Intermedio (100-180 °C), B: Bajo (Temperatura ambiente a 100 °C). EGS: Sistema geotérmico mejorado. GHP: Bombas de calor geotérmico.

En este trabajo de tesis, se estudió en el estado de Michoacán, un sistema geotérmico de cadena de lodos calientes, el cual consiste en expresiones geotérmicas deficientes de agua, caracterizadas por conservar temperaturas mayores a 80 °C y se encuentran en suelos

altamente alterados por actividad volcánica. En la parte superficial de estos sistemas se encuentra acumulada agua de lluvia y de acuerdo a la variación estacional comúnmente afecta la manifestación geotermal, que provoca que el suelo sea viscoso lo que origina pozas de lodo que aparecen estacionalmente. El agua contenida en estas pozas de lodo puede ser alta, lográndose extender a los alrededores, sí el área geotérmica está compuesta de fracturas o presenta movimientos tectónicos, un mayor número de pozos se verán formados. Debido a que estos lodos hierven y pueden llegar a formarse pequeños montículos en forma de volcanes que llegan a medir hasta 1 m con color grisáceo, sin embargo, algunos presentan colores rojizos o rosados. En algunas de estas expresiones pueden observarse superficies aceitosas, indicadoras de la presencia de pirita (Gebrehiwot, 2005).

## **2.5 Emisiones y consecuencias de la geotermia.**

En los sistemas de baja o alta entalpia, la geotermia presenta emisiones de vapor de agua en forma de plumas con pocas emisiones de otros gases a la atmósfera en comparación a una planta con quema de combustible fósil, la reducción por cada MWh generado es: 24 veces la emisión de dióxido de carbono, 10,837 veces la emisión de dióxido de sulfuro y 3,865 veces la emisión de óxido nitroso (Thórhallsdóttir, 2007) (Figura 1).



**Figura 1. Emisiones de vapor de agua generados en la planta geotérmica, Los Azufres, México.**

Los problemas físicos reportados debido a la ingeniería de sistemas geotérmicos son: la microsismicidad, que puede llegar a tener una magnitud de dos en la escala de Richter, la presencia de explosiones durante las excavaciones y la liberación de gases con alta temperatura y contenido de CO<sub>2</sub> (rangos de 0.05 a 5%). Sin embargo, los problemas más graves asociados a la geotermia son los ambientales, como es la exposición en la superficie de la química de fluidos geotérmicos con contenidos de: cloruros, boratos, metales traza (arsénico, amoníaco, mercurio) y metales pesados (Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, V, Zn), generación de nubes de humo (*smog*) y deterioro de la calidad del agua. Otro impacto, es la contaminación de acuíferos debido a la posible fuga de agua utilizada en los sistemas de ingeniería geotérmica, así como la reducción del flujo de yacimientos de agua y/o la desecación de aguas someras (Kristmannsdóttir y Armannsson, 2003).

Pese a que las emisiones de gases generadas en la geotermia, son menores a la quema de combustibles fósiles al igual que su impacto en el efecto invernadero es menor, la presencia de la geotermia puede liberar benceno, amoníaco y boro. Las cantidades liberadas de estas moléculas dentro de los sistemas geotérmicos pueden ser fácilmente absorbidas e incorporadas en el ciclo natural de la vegetación y el suelo, ya que muchas de ellas son menores al 1% dentro del gas emitido, sin embargo, la presencia de una fuente externa de mezclas químicas como fertilizantes, heces y quema de biomasa puede generar alteraciones o daños a los ecosistemas acuáticos y terrestres (Rybach, 2003).

## **2.6 Estudios biológicos en los sistemas geotérmicos.**

Con el fin de conocer los ecosistemas y las presiones naturales que se presentan en los sistemas geotérmicos, se han realizado diversos estudios a nivel mundial siendo los trabajos de caracterización de la microhábitat los más empleados (Zhang, 1986).

Los primeros trabajos biológicos en campo y en laboratorio sobre microorganismos termófilos fueron llevados a cabo en el parque de Yellowstone en EE. UU. (Brock, 1967 a, b, 1978; Bott y Brock, 1969; Brock y Brock, 1971; Brock *et al.*, 1971), seguidos por las expresiones geotermiales del sur y norte de América, Nueva Zelanda, Islandia, Italia, Japón (Brock, 1978; Stetter, 1984) y China (Zhang, 1986). Dichos estudios enfatizan el hallazgo de microorganismos extremófilos que se encontraban adaptados a valores anormales de temperatura, pH, hidroquímica, nutrientes, minerales y gases; siendo un tema de gran interés para los paleobiólogos, geólogos y microbiólogos debido a la acción geobiológica que los microorganismos podrían realizar dentro de estos sistemas (Baross *et al.*, 1982).

Los trabajos anteriores definieron por primera vez la asociación entre los parámetros ambientales y los microorganismos que habitan en estos ambientes peculiares. Sin embargo, actualmente, el interés por los microorganismos termófilos se debe al avance de la biotecnología, ahora no solo se identifica la microflora, si no se aísla y se cultiva, ya que puede ser parte del uso de la nanotecnología para la recuperación de metales a través de bioabsorción (Davis *et al.*, 2003), ser una fuente de moléculas bioactivas y de energía (Grether-Beck *et al.*, 2008), además de caracterizarse por ser potenciales indicadores biológicos para el monitoreo de ambientes acuáticos (Maznah y Wan, 2010).

## **2.7 Microorganismos identificados en zonas geotérmicas.**

Los primeros microorganismos identificados en los sistemas geotérmicos fueron las cianobacterias con formas filamentosas y redondas, que colonizaban la superficie de los geiseres en las pozas calientes de Yellowstone. De forma peculiar, estas cianobacterias mostraban microestructuras en la pared celular y se desarrollaban en pozas con temperaturas de 68 °C a 72 °C, los géneros encontrados principalmente dentro de las pozas geotérmicas de Yellowstone fueron *Synechococcus* y *Chloroflexus* (Brock, 1967 a). En la actualidad, se han registrado los géneros de cianobacterias: *Calothrix* (Yee *et al.*, 2003), *Phormidium*, *Spirulina*, *Synechococcus*, *Synechocystis*, *Gleocapsa*, *Cyanothece*, *Phormidium*, *Oscillatoria*, *Lyngbya*, *Chroocidiopsis*, *Pseudoanabaena* (Ghozzi *et al.*, 2013), *Scenedesmus*, *Hindakia tetrachotoma* y *Micractinium* (Onay *et al.*, 2014).

Otro grupo de microorganismos identificado dentro de los sistemas geotérmicos ha sido las diatomeas, donde se incluyen los géneros: *Synedra* (Fernández-Turiel *et al.*, 2005), *Amphora*,

*Cymbella*, *Navicula*, *Melosira*, *Pinnularia*, *Cocconeis* (Ghozzi, 2013), *Cyclotella kutzing*, *Gyrosigma hassall*, *Diadasmus* sp., *Surirella* sp. y *Craticula grunow* (Jonker *et al.*, 2013).

De acuerdo a la literatura, la mayoría de los microorganismos que habitan los sistemas geotermales son las cianobacterias ya que prefieren medios alcalinos con alta tolerancia a grandes cantidades de sólidos disueltos (1000-2000 mg L<sup>-1</sup> SDT), medios salinos (> 35 mg L<sup>-1</sup>) y metales traza (Castenholz, 1969; Sember, 2002; Van Ginkel, 2004), e incluso algunas se desarrollan en medios con altos contenido de cloruros de sodio (15 000 mg L<sup>-1</sup>) (Castenhilz, 1969; Janker *et al.* 2013).

Por otra parte, las diatomeas son un grupo más restringido en su riqueza dentro de los sistemas geotérmicos, por lo general se identifican de dos a ocho géneros dentro de las pozas geotérmicas (Fernández-Turiel *et al.* 2005, Ghozzi 2013 y Jonker *et al.* 2013). Ha sido descubierto que las diatomeas son las responsables de la acumulación de sílice en el fondo de las pozas geotérmicas, ya que pueden formar tapetes unidos a cianobacterias filamentosas, o bien presentan ciclo de reproducción asexual, que resulta en un acumulo de valvas de tamaños cada vez menores en el fondo de las pozas lo que incrementa la población en el fondo después de su muerte (Round, 1991; Szabó *et al.*, 2005; Fernández-Turiel, 2005).

El ciclo de asexual de las diatomeas es llevado a cabo por bipartición en donde a partir de una célula se originan dos más pequeña y así sucesivamente hasta llegar a un tamaño mínimo en donde se estimula la reproducción sexual, que consiste en la unión de dos células para su recombinación genética y aumento de tamaño de la célula, que dan origen a cuatro células en donde inicia su ciclo de vida asexual (Round, 1991).

## **2.8 Microbiología ambiental y su aplicación en el monitoreo acuático.**

Para llevar a cabo el estudio de la microbiota y su relación con las variables ambientales dentro de sitios geotérmicos, es necesario hacer uso de la microbiología ambiental. La cual estudia los microorganismos que habitan en el planeta, el papel que llevan a cabo dentro de los procesos en los sistemas naturales y creados por el hombre, que hace énfasis en las fases intermedias entre las ciencias ambientales y la diversidad microbiana (Maier et al., 2000; Rochelle, 2001; Spencer y Ragout de Spencer, 2004; Madsen, 2008).

En cualquier ecosistema, en especial dentro de uno acuático, las actividades antropogénicas cercanas o directas generan presiones sobre los cuerpos de agua que reciben diversos contaminantes que finalizan en un impacto múltiple negativo sobre dichos hábitats. El conocer el estado de la calidad del agua es esencial para el manejo de este recurso. En los últimos años los problemas de eutrofización de las aguas, han sido remplazados por problemas de contaminación por compuestos orgánicos e inorgánicos, especialmente en los grandes sistemas de ríos donde la presión de los químicos se debe a los desechos de la población humana y la agricultura intensiva (Mischke *et al.*, 2011; Javie *et al.*, 2013; Mateo *et al.*, 2015).

De manera tradicional, la evaluación y seguimiento temporal de la calidad de los cuerpos de agua ha sido evaluado con la medición de las características de sus parámetros físicoquímicos, estas mediciones han tenido éxito en regular las descargas de los efluentes y la protección a los humanos, sin embargo, no son eficientes para el monitoreo a gran escala, esto es, para el monitoreo de los flujos de lagos, ríos y mares, así como la protección de los

ecosistemas que se desarrollan en ellos. Es por esto, que diferentes métodos biológicos se han perfeccionado para conocer la condición de los cuerpos de agua debido a que los efectos en la biota son el punto final de la degradación ambiental y la contaminación de los sistemas (Norris y Thoms, 1999)

Recientemente, dentro del Marco del Agua de la Unión Europea en su apéndice V, estipula el uso de la intercalibración de la calidad de agua, donde se relacionan los valores biológicos observados en un cuerpo de agua y los parámetros físicoquímicos de referencia. Este apéndice establece, el uso de macroinvertebrados bentónicos, macrofitas y diatomeas como parte del monitoreo biológico (Commission Decision 2013/480/EU; Hutorowickz y Napiórkowska-Krzebietke, 2014). El uso de este marco está siendo empleado por otros países para el monitoreo de las aguas nacionales, por lo que los trabajos con diatomeas como indicadores de la calidad de agua son de gran relevancia, sin embargo, las diatomeas han sido poco estudiadas como parte de la microflora indicadora de sistemas geotérmicos.

Algunas especies de diatomeas que han sido utilizadas para la intercalibración del monitoreo de aguas, por ser indicadoras de contaminación dentro de estudios ambientales son: *Diatoma mesodon*, *Achnanthes minutissima*, *Achnanthes subatomoides*, *Fragilaria capucina* var. *vaucheriae*, *Cocconeis placentula*, *Navicula ingapirca*, *Nitzschia pumila*, *Planothidium lanceolatum*, *Navicula lanceolata*, *Navicula saprophila*, *Ulnaria ulna*, *Nitzschia inconspicua*, *Nitzschia palea*, *Nitzschia amphibia*, *Nitzschia frustulum* (Calizaya-Anco et al., 2013).

La ventaja del uso de bioindicadores dentro del monitoreo es el reflejo de la comunidad biológica ante los cambios de la calidad del ambiente, que integran los efectos de las

diferentes fuentes o patrones de estrés, que proveen una mejor visión del impacto y las mediciones ecológicas en las fluctuaciones de las variables ambientales. Además, de que este tipo de monitoreo dentro de las comunidades es fácil de realizar y es menos costoso en comparación con el costo de un seguimiento de contaminantes tóxicos (Iliopoulou-Georgudaki *et al.*, 2003).

Es importante recalcar, que los diferentes hábitats que existen en la Tierra poseen gradientes y condiciones ambientales complejos y su variabilidad se debe a su temperatura, luz, pH, presión, salinidad, compuestos orgánicos e inorgánicos presentes en su medio (Madsen, 2008).

Los procesos que son llevado a cabo por los microorganismos que existen en el suelo, sedimentos, océanos, lagos y aguas subterráneas tienen impacto en la calidad del ambiente, agricultura, y la producción de CO<sub>2</sub>. La complejidad de estos procesos reales sucede a menos de 1 m de profundidad, y son en su mayoría de adquisición, integración, degradación e incorporación de elementos al sistema. Los procesos físicos, químicos y biológicos a esta profundidad son conocidos como procesos biogeoquímicos, los cuales mantienen un balance dentro de los hábitats y los hace funcionales para los organismos superiores (Madsen, 2008).

---

### **III Justificación**

Las aguas hidrotermales en México tienen un valor cultural importante ya que son utilizadas como una alternativa para actividades recreativas, tratamientos de enfermedades, auxiliar en tratamientos para la piel y en algunas regiones estas aguas son utilizadas para el sustento de la economía local a través del cultivo de organismos y cereales. Por lo que, la caracterización físicoquímica de este recurso es importante y su potencial biológico y geológico es esencial para futuros aprovechamientos tecnológicos.

En el año 2011, la Gerencia de Proyectos Geotermoeléctricos en México generó un catálogo de 20 zonas geotérmicas potenciales para el país, en donde se posicionó en el número 7 la zona geotérmica de Los Negritos, en el estado de Michoacán, con capacidad potencial de generación de 24 MW. Dentro de este documento se publicaron estudios de temperatura, porosidad, densidad, permeabilidad, área y grosor de las probables zonas geotérmicas (ENE, 2011).

A partir de los datos recabados en campo y en laboratorio se identificaron bioindicadores que son antecedente de determinación de parámetros ambientales que pudieran generar una propuesta de manejo para la calidad de los cuerpos de agua en la zona de estudio, antes y después de la instalación de una planta geotermoeléctrica.

---

### 3.1 Limitaciones

La investigación acerca de las zonas geotérmicas en México es escasa debido a que estas expresiones geológicas se encuentran dentro de territorios con geografía comprometida en su mayoría con actividades volcánicas o sísmicas, o bien dentro de propiedades privadas, que al tener que ser exploradas son solicitadas como propiedad federal o en su caso asignadas con un permiso de exploración geotérmica, el cual puede presentarse de manera espontánea para los propietarios del predio, lo que puede generar el inicio de un problema social.

De manera general los parámetros más comunes tomados en cuenta dentro de las áreas geotérmicas en el país, son: geológicos, químicos y físicos y dentro de ellos no se consideran los parámetros biológicos y de evaluación ambiental.

Los estudios de la comunidad microbiana en estas zonas son de gran interés ecológico y biotecnológico, sin embargo, la escasez de estudios de microflora en zonas hidrotermales en México limita el potencial real de estas áreas. La toma de muestras para el monitoreo de fitoplancton, presenta dos ventajas: en su manipulación (práctica y rápida) y en la conservación de las muestras, esta técnica de campo es sencilla pues no requiere de equipos especializados. Sin embargo, la desventaja del monitoreo pudiera darse en la identificación de los microorganismos, ya que existen pocas bases de datos de fitoplancton regionales.

Por otra parte, la identificación taxonómica con técnicas de microscopía compuesta y electrónica, tiene la desventaja de necesitar personal con experiencia para su identificación y algunas veces requiere de fijación de muestras en campo, haciéndola poca práctica debido al tiempo programado de muestreo. La técnica de conservación y crecimiento en laboratorio de

las muestras traídas de campo es utilizada en la mayoría de los laboratorios de ficología, sin embargo, tiene la desventaja de ser una técnica prolongada debido a que se necesita determinar el medio adecuado para el crecimiento de la mayoría de las células, que influye en la pérdida de especies por sucesión o bien por una posible relación simbiótica con bacterias, hongos o medios enriquecidos.

Otra técnica que pudiera ser limitante en este tipo de estudios es la utilización de la identificación molecular, esta puede jugar en dos direcciones: 1) la extracción de ADN puede ser rápida, sin embargo, 2) se necesita de una capacitación y laboratorio especializado para llevar a cabo su amplificación junto con una base de datos de secuenciación taxonómica para su identificación.

---

## **IV Objetivos**

### **4.1 Objetivo general**

Determinar bioindicadores a partir de diatomeas y cianobacterias que se encuentran en la zona geotérmica de Los Negritos, Michoacán, para su posterior utilización como parte de un monitoreo ambiental.

### **4.2 Objetivos específicos**

1. Analizar los parámetros físico-químicos *in situ* en la zona geotérmica de Los Negritos, Michoacán, México.
2. Determinar la concentración de iones disueltos *ex situ* en la zona geotérmica de Los Negritos, Michoacán, México.
3. Identificar las especies de diatomeas y cianobacterias presentes en la zona geotérmica de Los Negritos, Michoacán, México.
4. Determinar los microorganismos bioindicadores de elementos químicos en la zona geotérmica de Los Negritos, Michoacán, México.

---

## V Zona de estudio

### 5.1 Zona geotérmica Los Negritos, Michoacán, México.

El estado de Michoacán se encuentra entre las zonas central oeste y del pacífico de México. Éste se encuentra delimitado por los estados de Colima, Jalisco, Querétaro, Estado de México, Guerrero y el océano Pacífico. Michoacán tiene un número de 4,584,471 habitantes, que representa el 3.8 % del total del país, mientras su superficie representa el 2.99 % del país (INEGI, 2016) (Figura 2).



**Figura 2.** Ubicación geográfica del estado de Michoacán, y localización de la zona geotérmica de Los Negritos, Michoacán. Mapa de México tomado de la página oficial de la secretaria de turismo (SECTUR).

La zona geotérmica de Los Negritos, Michoacán, está localizada a 10 Km al Oeste de Sahuayo, Michoacán, México (20° 04' a 20°06' N y 102°'58' a 102°67' O). Esta área tiene una elevación de 1500 a 1600 msnm, por lo presenta un clima C templado lluvioso, de acuerdo a la clasificación de Köppen modificado por Enriqueta García (2004), con cielos claros y sol casi todo el año. La temporada de lluvia es intensa durante el verano, en los meses de junio a septiembre con un promedio anual de 850 mm. La temperatura mínima diaria es de 6.8 °C a 8 °C en la época de invierno (enero a febrero), con registros máximos promedio de 30.1 °C a 31 °C en los meses de abril y mayo (CONAGUA, 2015) (Figura 3). Los Negritos pertenece al municipio de Villamar, dentro de este municipio predomina la tenencia de la tierra de forma ejidal. La principal actividad productiva dentro del municipio y la zona de los Negritos es la agricultura, principalmente de cebolla, maíz, sorgo y tomate rojo. Existe la actividad pesquera de mojarra, criaderos de bagre y charal, siendo éstas las actividades más importantes dentro del área (González-Acevedo y Parés-Olguín, 2016).



**Figura 3. Estado de Michoacán, Ocampo. Carta de climas dentro del estado. Referido al total de la superficie estatal. Elaborado con base en INEGI. Carta de Climas 1: 1 000 000.**

A lo largo de las vías de comunicación, existe una red carretera equipada con señalamientos, y en las periferias la comunicación terrestre se da por medio de terracerías. En cuanto a saneamiento y salud, la zona cuenta con un Hospital Rural de Oportunidades del Instituto Mexicano del Seguro Social. La Secretaria de Turismo de la zona de los Negritos ha contribuido en equipamiento y construcción de parques, sin embargo, debido a accidentes producidos por los géiseres, esto ha limitado la presencia de turistas locales y foráneos (González-Acevedo y Parés-Olguín, 2016).

La zona geotérmica de Los Negritos, es parte de la Ciénega del lago de Chapala, Michoacán, ésta pertenece a la actividad volcánica la Cítala, la cual genera la actividad hidrotermal en toda la región (Martínez-Reyes *et al.*, 2014). El área es un tren estructural de E-O, que consiste en dos fallas que dan lugar a un bloque hundido de 700 a 800 m de ancho, los sedimentos son de tipo lodosos, de grano grande con mayor cantidad de fragmentos de rocas volcánicas (Del Castillo *et al.*, 1970; Salas-Ariza, 2009), en la superficie existen pozas o fosas de lodo negro caliente, con temperaturas de hasta 83 °C (González-Acevedo y Parés-Olguín, 2016) (Figura 4).

Las expresiones de las manifestaciones geotérmicas en la región son a través de hidrotermalismo superficial, y consisten en fuentes y hoyos de agua caliente, con temperaturas entre 48 °C y 94 °C en Ixtlán de los Hervores y en los volcanes de lodo de los Negritos, respectivamente (Martínez-Reyes *et al.*, 2014).



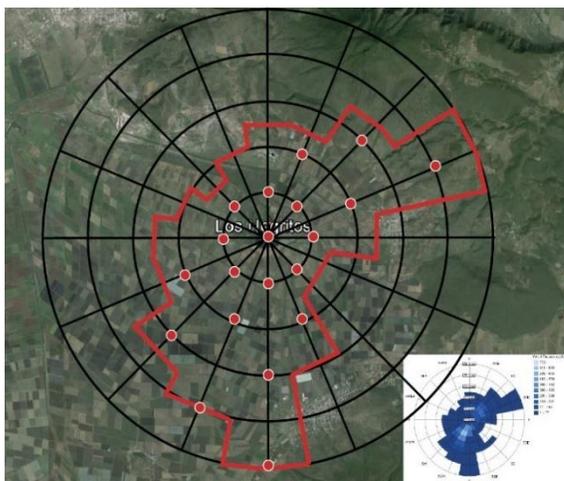
**Figura 4. Zona geotérmica Los Negritos, Michoacán, Municipio de Villamar, zonificación del área debido a la actividad agrícola.**

---

## VI Metodología

### 6.1 Técnicas de campo.

Se realizó la toma de muestra de suelo y agua durante la temporada de sequía y después de lluvia en la zona de estudio en el año 2015. Se evaluaron un total de 11 estaciones en la zona geotérmica de Los Negritos Michoacán, con la aplicación de un sistema de muestreo tipo polar (INE, 2005), con una distancia de 5 km de diámetro a partir de la expresión geotérmica. Las estaciones de muestreo fueron seleccionadas de manera aleatoria a partir de la distribución promedio anual de los vientos registrados en las estadísticas climatológicas del Sistema Meteorológico Nacional para las estaciones de Sahuayo, Michoacán (CONAGUA, 2015). Las estaciones de muestreo fueron realizadas cada 1 km, sin embargo, algunos puntos fueron reubicados de acuerdo a la presencia de cuerpos de agua. En cada estación de muestreo se realizó el registro de ubicación geográfica a través de un sistema de posicionamiento global GPS Garmin modelo Etrex 20 (Figura 5). Para la realizar los mapas de ubicación se utilizó el programa ARcGis10. x.



Los Negritos

**Figura 5. Planificación inicial de la toma de muestras dentro de la zona geotérmica de Los Negritos, Michoacán. Distribución de los puntos aleatorios dentro del sistema de muestreo tipo polar.**

### 6.1.1 Colecta de muestras.

**Agua.** La mayoría de las estaciones de muestreo presentaron cuerpos de agua donde se llevó a cabo la toma de parámetros *in situ*. En estas estaciones se realizó la colecta de microorganismos y la toma de muestra para medición *ex situ* de aniones y cationes disueltos (Ghozzi *et al*, 2013) (Figura 6a).

**Suelo.** En aquellas estaciones que no presentaron agua, se tomaron aproximadamente 50 cm<sup>3</sup> de suelo con una pala de acero inoxidable para la posterior identificación de microorganismos (Ghozzi *et al*, 2013).



Figura 6. a) Toma de muestras dentro de los cuerpos de agua, b) toma de parámetros físico-químicos *in situ*.

### 6.1.2 Descripción de la flora dentro de la zona de estudio.

En cada estación de muestreo se identificó la vegetación presente y se llevó a cabo el registro del uso de suelo, donde se realizaron transectos de 100 m de distancia y se tomó como punto inicial la estación evaluada y en algunos casos se colectaron especímenes para su posterior identificación taxonómica (Figura 7).



**Figura 7. Identificación y prensado en campo de la vegetación colectada en la zona geotérmica de Los Negritos, Michoacán.**

## **6.2 Mediciones de parámetros físicoquímicos *in situ* en muestras de agua colectadas dentro de las zonas geotérmicas.**

Los parámetros *in situ* fueron registrados en las estaciones de muestreo que presentaron al menos un cuerpo de agua. Esto se llevó a cabo con el apoyo de un sistema multiparametrico HACH modelo MP6P, previamente calibrado, donde se obtuvieron los valores de conductividad, pH, salinidad, solidos disueltos totales (SDT), temperatura y potencial de óxido-reducción (ORP) (Figura 6b).

Debido a la demanda biológica y a las rápidas transformaciones químicas de los compuestos nitrogenados y fosforados, se realizaron mediciones *in situ* para conocer los valores totales de: nitratos ( $\text{NO}_3^-$ ), nitritos ( $\text{NO}_2^-$ ) y fosfatos ( $\text{PO}_4^{3-}$ ), esto se llevó a cabo con equipo de medición de oxidación y colorimetría de campo marca HACH modelo DR900 (Figura 6b).

## **6.3 Determinación de la concentración de iones disueltos. Toma de muestras para mediciones *ex situ*.**

Para la determinación de elementos químicos de concentración mayor (*elementos mayores*: Ca, K, Mg, Na) y menor (*elementos traza*: As, B, Ba, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Sr, U, V, Zn) disueltos en el agua de las zonas geotérmicas, se colectaron un total de 100 mL de agua en cada estación de muestreo, posteriormente las muestras fueron filtradas a presión a través de fibra de vidrio con un poro de  $0.04 \mu\text{m}$  y almacenadas a  $4^\circ\text{C}$  hasta su posterior análisis en el laboratorio. Las muestras asignadas para la medición de elementos con carga positiva (cationes) fueron acidificadas con  $50 \mu\text{L}$  de  $\text{H}_2\text{NO}_3$ , al seguir el procedimiento de

preparación de muestras para la medición de cationes, como sugiere el manual de isótopos hidrológicos (IAEA, 2014).

En laboratorio, los elementos mayores fueron analizados con un espectrómetro de emisión atómica acoplado a un plasma por microondas (MP-AES, por sus siglas en inglés) con límite de detección de 0.01 ppm. Mientras los elementos menores fueron analizados con un espectrómetro de masas triple cuádruplo acoplado a un espectro de plasma inducido (ICP-MS triple cuádruplo), ambos equipos de la marca Agilent.

Para realizar la medición de aniones, fueron colectados 100 mL de agua en cada estación de muestreo, la cual fue filtrada a presión a través de fibra de vidrio con un poro de 0.04  $\mu\text{m}$  y posteriormente almacenadas a 4 °C hasta su posterior análisis en el laboratorio. Su análisis se llevó a cabo en un Cromatógrafo Iónico ICS-5000 Dionex/ThermoScientific, con un autosupresor y un detector de conductividad con una Pre-columna IonPac AG19, Columna IonPac AS19 y 20mM de NaOH como eluente, a un flujo de 1mL/min.

Estas mediciones fueron realizadas dentro del sistema especializado de laboratorios del Centro Mexicano de Innovación en Energía Geotérmica (CeMIE-Geo), en las unidades del CICESE en Ensenada BC.

#### **6.4 Identificación de diatomeas bentónicas y cianobacterias.**

En campo se obtuvieron dos tipos de muestra con la finalidad de identificar los microorganismos fotosintéticos presentes en las zonas geotérmicas, las muestras fueron colectadas de la siguiente manera:

**Agua.** Se tomaron muestras de agua en botellas de plástico, que fueron almacenadas en hieleras a temperatura ambiente. Una vez en laboratorio las muestras fueron colocadas en estantes con iluminación constante a  $80 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$  y temperatura de  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  para su posterior aislamiento de acuerdo a Stein (1973) y Uribe (1992).

**Suelo.** Se tomaron muestras de suelo que se colocaron dentro de bolsas de plástico con cierre adherible, siendo almacenadas en hieleras a temperatura ambiente. Una vez en laboratorio las muestras fueron colocadas en estantes con iluminación constante a  $80 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$  y temperatura de  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  para su posterior aislamiento de acuerdo a Stein (1973) y Uribe (1992).

## **6.4.1 Identificación taxonómica.**

### **6.4.1.1 Crecimiento en placas de agar y medio líquido.**

Como una medida de prevención a la muerte celular y comensalismo por especies bacterianas y protozoarios dentro de las muestras, se llevó a cabo el aislamiento e identificación de microorganismos fotosintéticos, esto fue realizado en el laboratorio de Manejo y Conservación de Vida Silvestre en la Facultad de Ciencias de la UABC, donde se colocaron como primera instancia las muestras obtenidas en una cámara de incubación a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  en oscuridad hasta el comienzo de su aislamiento y posteriormente se comenzó su aislamiento de la siguiente manera:

### **Aislamiento en placas y/o diluciones sucesivas.**

El método de aislamiento en placas fue el primero en llevarse a cabo, se realizó bajo condiciones estériles dentro del laboratorio de Genotoxicidad, de la Facultad de Ciencias de la UABC. El aislamiento consistió en un rayado en "T" de la muestra colectada en campo a un medio solidificado con agar marino grado bacteriológico al 1.5% enriquecido con medio "f/2" (Guillard y Ryther, 1962). Una vez inoculadas las placas de agar, fueron colocadas a una irradianza de  $80 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , con iluminación de lámparas fluorescentes de luz blanca y fría, con un ciclo de exposición 14:10 h (luz:oscuridad) de acuerdo a Stein (1973) (Figura 8 y 9).

La técnica de diluciones seriadas fue la segunda en ser aplicada en aquellas muestras que presentaron grandes cantidades de materia orgánica en suspensión y fauna acompañante. Estos cultivos fueron colocados a temperatura controlada de  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  e iluminación de  $80 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$  con ciclos de luz de 14:10 h. Una vez aisladas las cepas obtenidas en laboratorio se procedió a la toma de fotografía con microscopio compuesto a 100x (Figura 10). La identificación de diatomeas y cianobacterias fue con el apoyo de las guías de identificación de Algas de agua dulce en Norte América (Wehr y Sheath, 2003) y la guía de Ecología y Monitoreo de la calidad de agua a través del Plancton (Suthers y Rissik, 2009).

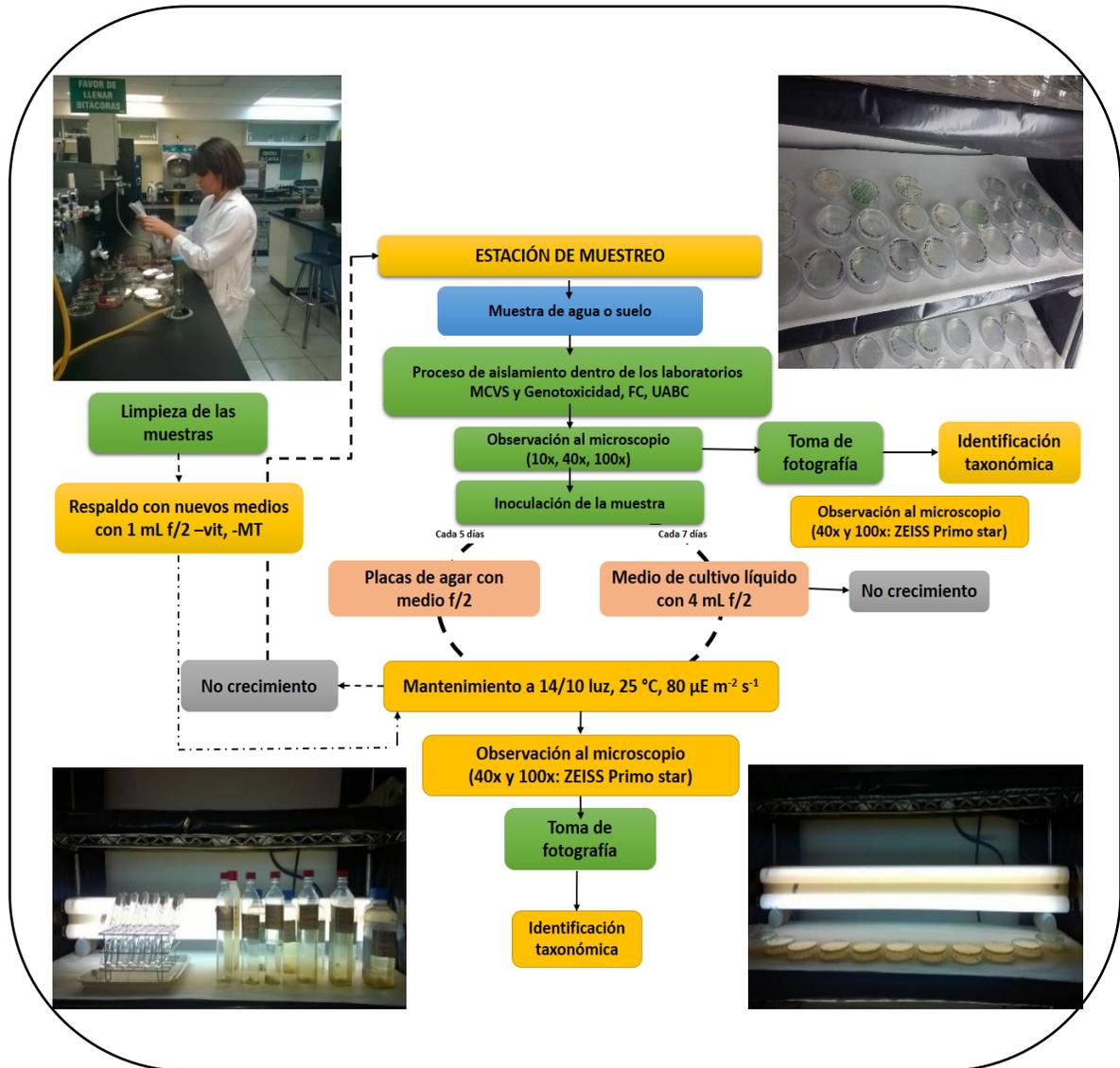


Figura 8. Proceso de limpieza, aislamiento e identificación de microorganismos a partir de muestras colectadas dentro de la zona geotérmica de Los Negritos, Michoacán.

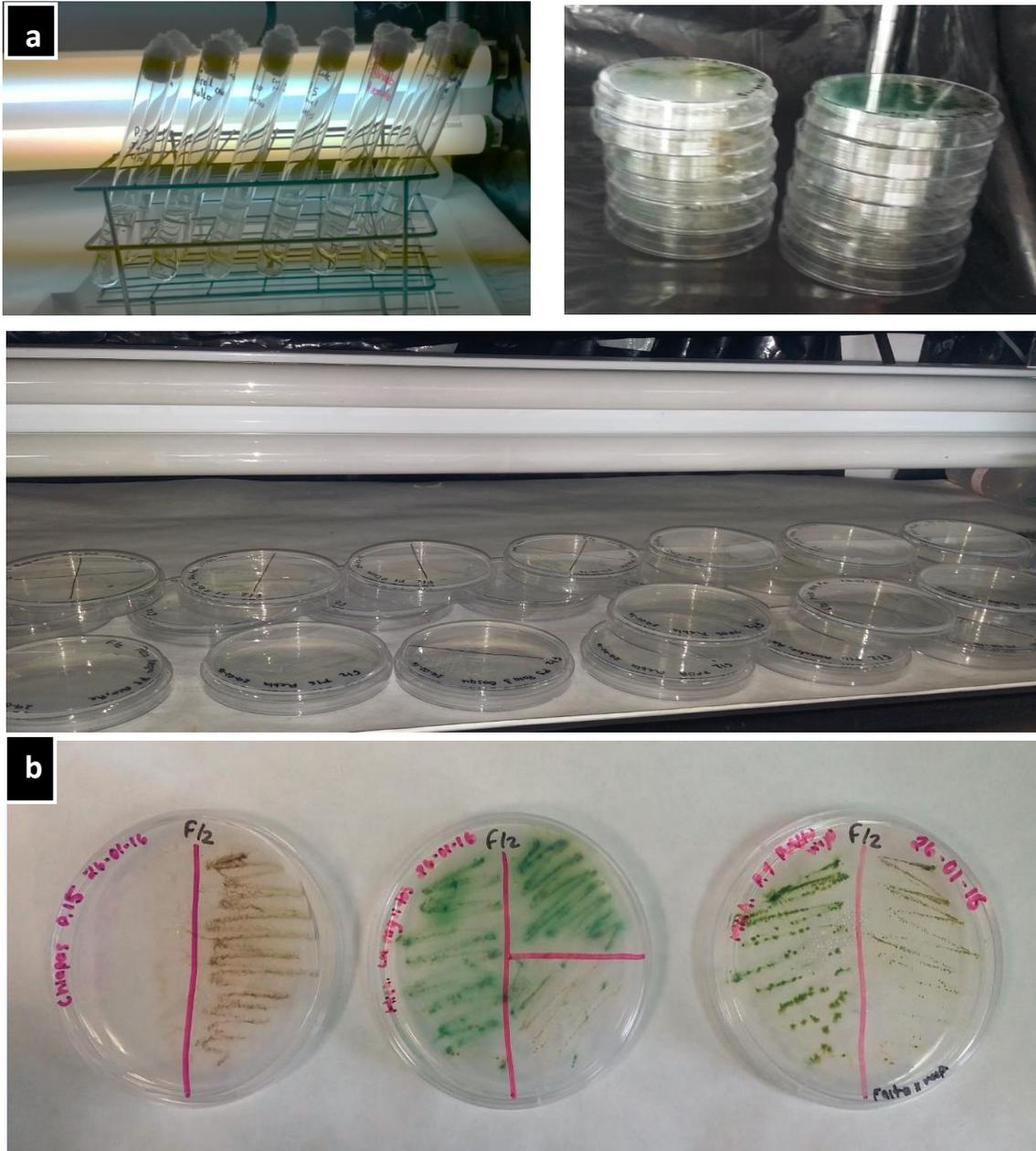
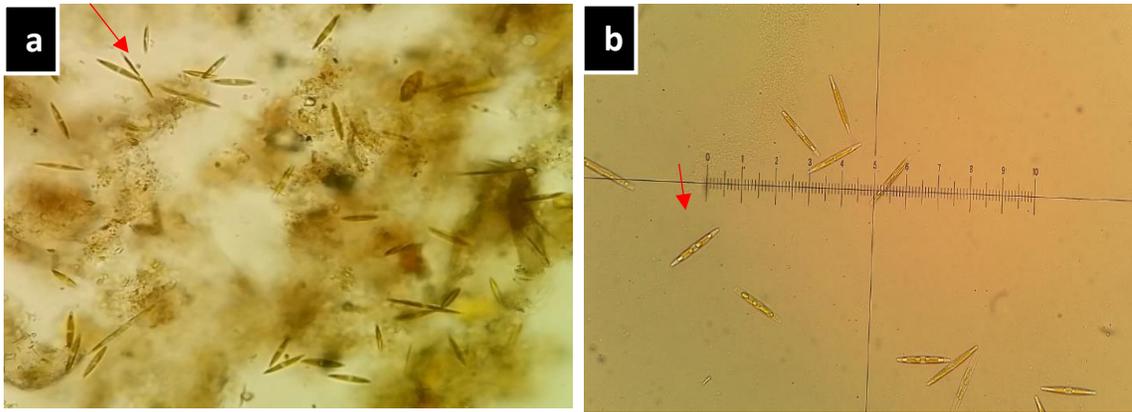


Figura 9. Proceso de aislamiento en líquido y placa de agar al 1.5 % enriquecidas con medio "f/2", a) muestras iniciales en placas de agar (día 1), b) crecimiento de microorganismos fotosintéticos (día 8).



**Figura 10. Aislamiento e identificación de microorganismos, a) observación al microscopio de muestra inicial de la zona geotérmica de Los Negritos, Michoacán (día 1), b) observación al microscopio de la diatomea *Pseudo-nitzschia* sp. crecimiento en placa de agar (día 8).**

#### **6.4.1.2 Identificación genética de cianobacterias.**

Las especies de cianobacterias fueron identificadas al aplicar la técnica molecular de amplificación del 16S ribosomal. Los cultivos de microorganismos fueron centrifugados a 4000 rpm con una temperatura de 4 °C durante 15 min, en tubos de 50 mL (Singh *et al.*, 2011). Los paquetes celulares fueron congelados a temperatura de -80 °C hasta su extracción de ADN en laboratorio).

La extracción de ADN total se llevó a cabo con el equipo E.Z.N.A. *water DNA kit* (Omega Bio-tek, Norcross, GA, EE.UU.). Los amplicones de la región hipervariable V3V6 del gen de la subunidad 16S de ARNr se obtuvieron mediante PCR (cebador F 5'-CCTACGGDGGCWCWCA-3' y cebador R 5'-CTGACGACRRCRTGCA-3'). La secuenciación de terminales apareadas 2X300 se realizó mediante un secuenciador MiSeq con la química MiSeq reagent kit v3 (Illumina, San Diego, CA. EE.UU.). Las secuencias demultiplexadas fueron apareadas y recortadas con la aplicación del programa Trimmomatic

(Bolger *et al.*, 2014) y con uso de una ventana deslizante de 5nt y un valor de calidad PHRED33 de 20. La asignación taxonómica se llevó a cabo a través del programa Ribosomal Database Project Naïve Bayesian Classifier (Wang *et al.*, 2007). Solo las taxa que presentaron más de 100 secuencias fueron utilizadas para el análisis. La abundancia relativa no fue tomada en cuenta debido al manejo que se dio a las muestras después de la colecta y al objetivo de este estudio.

## **6.5 Tratamiento estadístico de los resultados.**

En todos los tratamientos se comprobó que los análisis estadísticos cumplieran con los postulados de normalidad a través de la comprobación de normalidad de Kolmogorov-Smirnof y homocedasticidad de Levene. Se llevó a cabo la aplicación de pruebas estadísticas de ANOVA de una vía para determinar diferencias significativas entre las variables con respecto a las áreas de estudio. Se realizó el análisis de similitud de grupos de acuerdo al promedio recíproco (Hill, 1973; Hill 1979) y análisis de correspondencia canónica para conocer la relación entre las especies y variables ambientales obtenidas en este estudio.

Se llevó a cabo los análisis estadísticos con los programas de cómputo Statistica versión 7.0 de proveedor DELL software, similitudes con TWINSPAN versión 2.3 de proveedor Windows y MVSP 3.22 de proveedor PROVALIS Research, y análisis de correspondencia canónica (ACC) con el programa CANOCO 4.5 de proveedor Microcomputer Power. Los gráficos fueron realizados con el programa Sigma Plot 12.0 de proveedor Systat Software Inc.

---

---

## VII Resultados

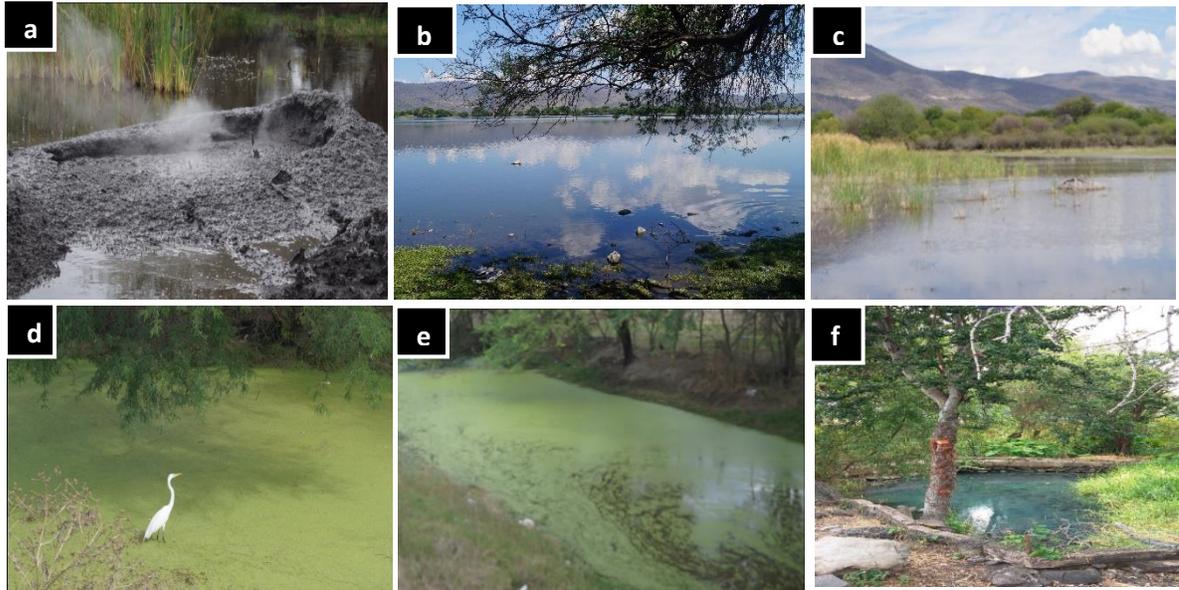
### 7.1 Organización de la zona de estudio.

A partir de la observación en campo, la concentración y rangos obtenidos de los parámetros físicoquímicos y de los iones disueltos en las diferentes estaciones de muestreo, dos áreas fueron detectadas dentro de la zona geotérmica de Los Negritos, una con influencia geotérmica y otra más de impacto agrícola. Por lo anterior, las estaciones de muestreo de este trabajo fueron organizadas como área: geotérmica y radar, mientras las estaciones de muestreo fuera del diámetro de 5 km fueron nombradas como: área control (Tabla 2). La concentración de los cationes y elementos traza en la expresión geotérmica de lodos calientes, fue el parteaguas para encontrar el patrón del área con influencia geotérmica y aquella de transición con influencia de mezclas complejas de contaminantes para el aprovechamiento agrícola.

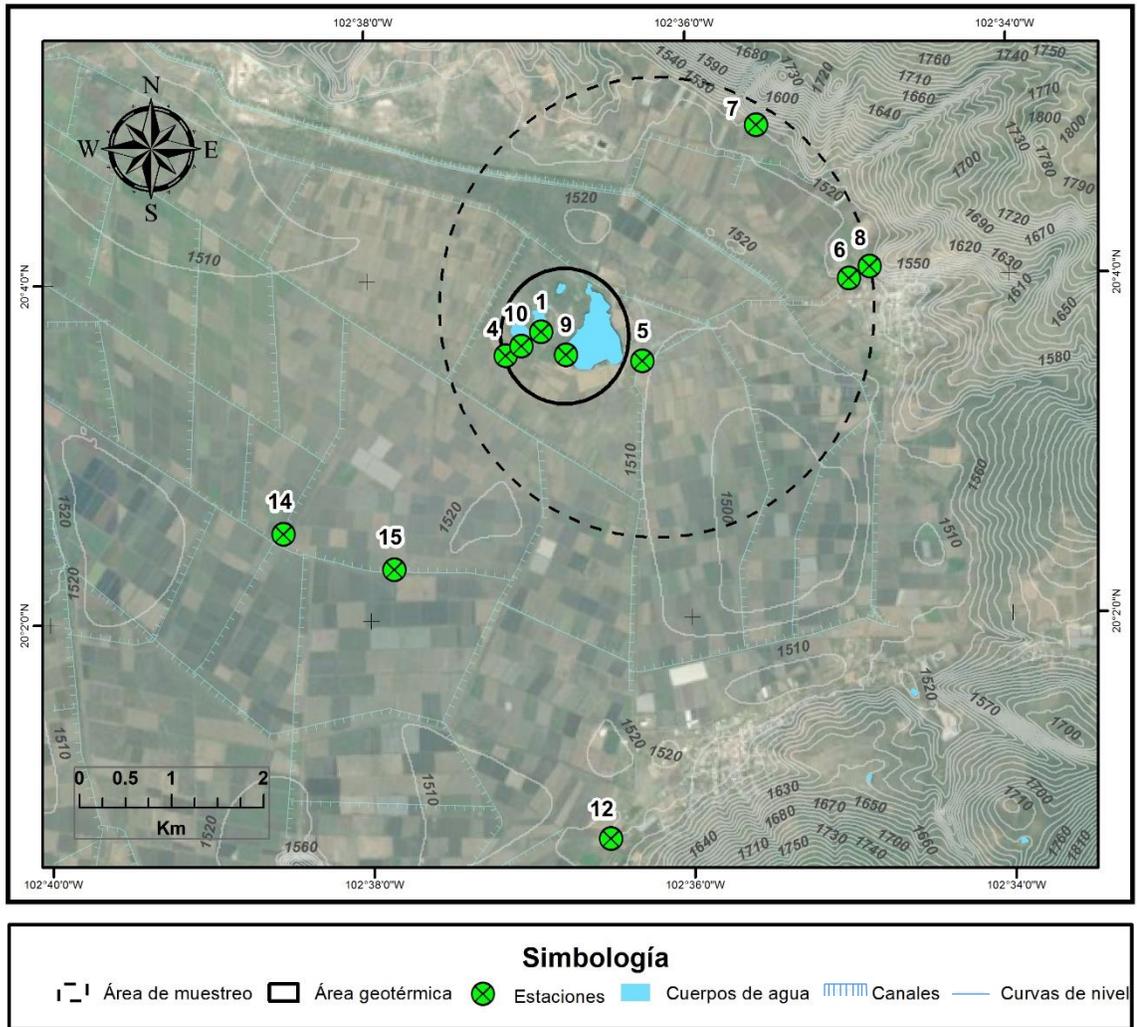
**Tabla 2. Organización de las áreas de estudios dentro la zona geotérmica de Los Negritos, Michoacán.**

Área	Estación de muestreo	Área	Estación de muestreo
Geotérmica	S1	Radar	S7
Geotérmica	S4	Radar	S8
Geotérmica	S9	Control	S12
Geotérmica	S10	Control	S14
Radar	S5	Control	S15
Radar	S6		

El área geotérmica fue representada por estaciones de muestreo con expresiones de lodos calientes y burbujeo dentro de cuerpos lagunares (Figura 11), mientras el área radar fue representada por campos agrícolas y canales de aguas residuales (Figura 12).



**Figura 11. Estaciones de muestreos en la zona geotermal Los Negritos, Michoacán: área geotermal (a S1, b S9, c S10), área radar (d S5, e S6, f S7).**



**Figura 12. Organización de áreas y estaciones de muestreo dentro de la zona geotérmica de Los Negritos, Michoacán.**

## **7.2 Descripción de la flora dentro de la zona de estudio.**

La zona geotérmica de los Negritos presenta flora de selva baja caducifolia en cerros (Figura 13). Cerca del 80% de la flora dentro de la zona se encontró perturbada debido principalmente a la actividad agrícola, caprina y bovina. La zona presentó caminos de terracería y pavimentados, al costado, la flora observada fue: mezquite, pastos y plantas anuales (Figura 14).

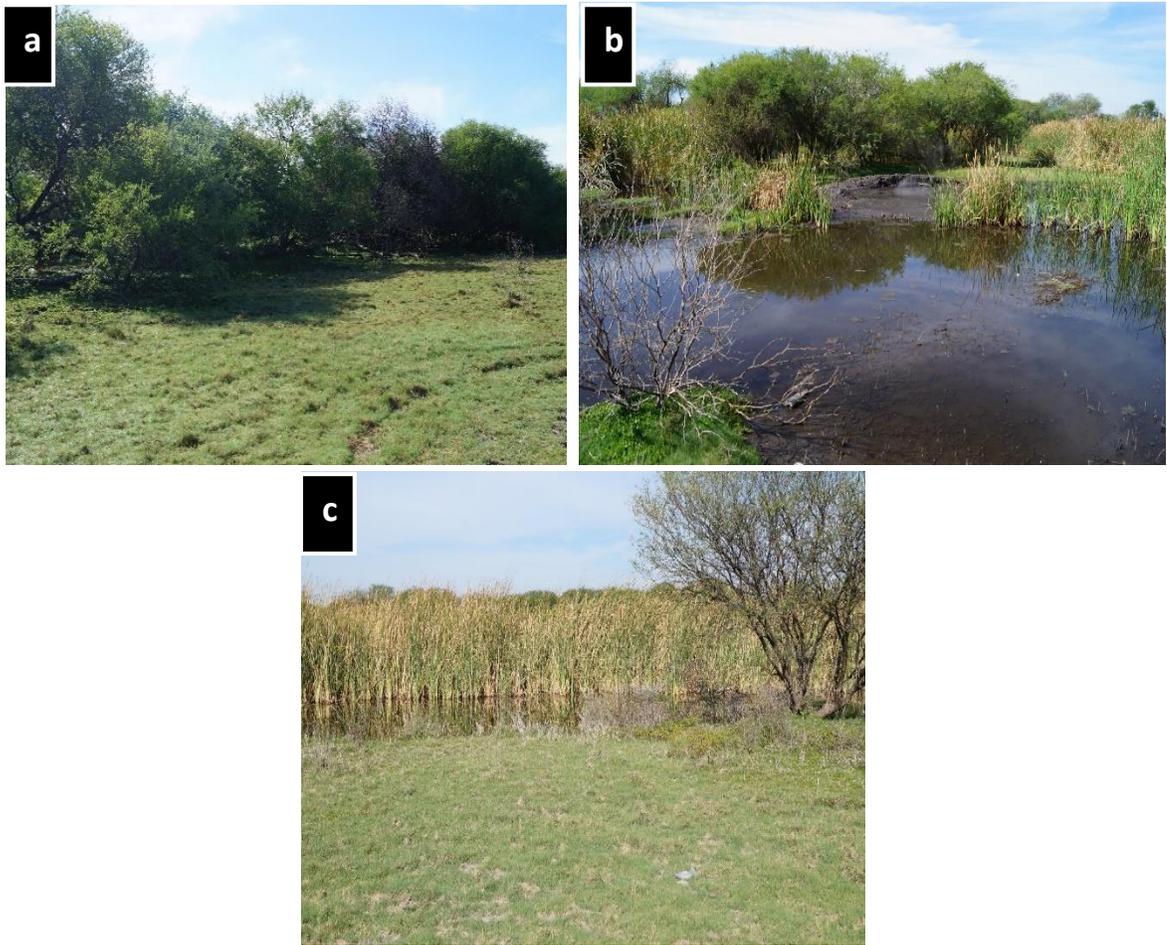


**Figura 13. Caracterización florística de selva baja caducifolia en cerros dentro de la zona geotérmica de Los Negritos, Michoacán (época de lluvia).**



**Figura 14. Zona geotérmica Los Negritos, Michoacán, a) actividad caprina dentro de la zona; b) flora observada al costado de las vías de transporte terrestre.**

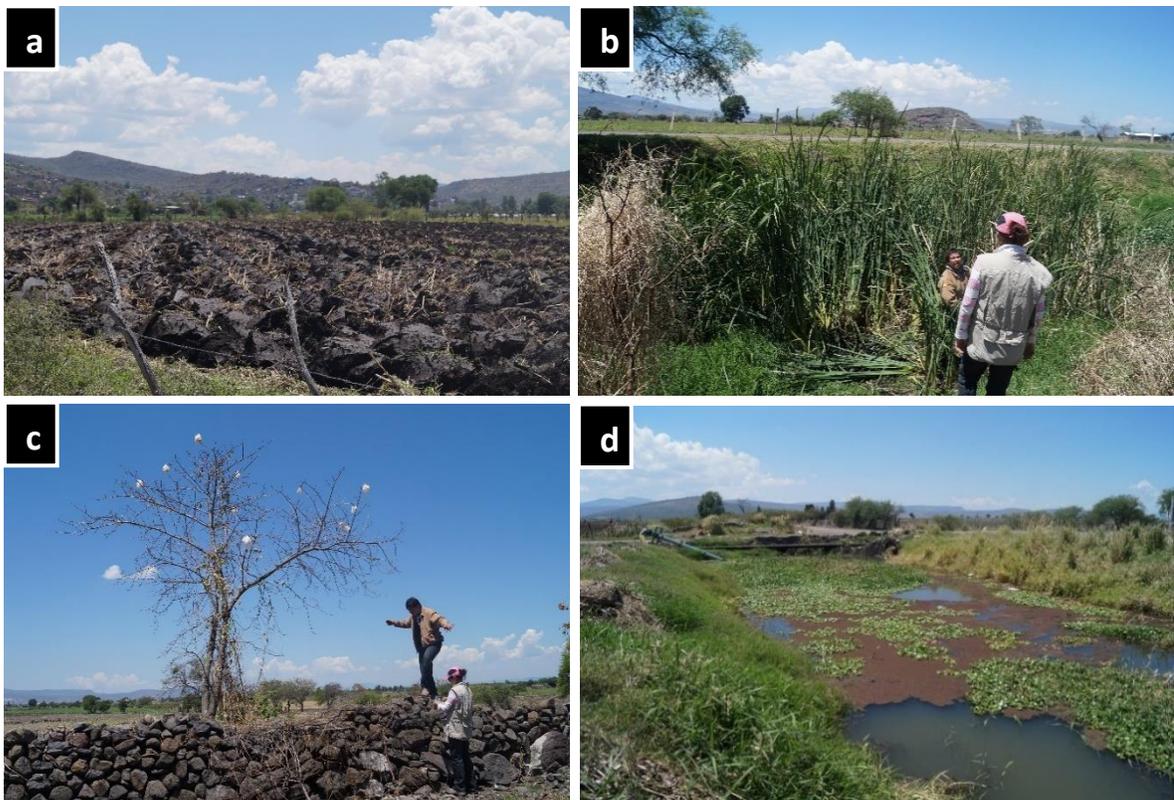
El **área geotérmica** se caracterizó por presentar coberturas de: pasto, verdolaga, mezquite y árboles de acacia; mientras el 75 % de los cuerpos de agua presentaron una cubierta superficial de la planta *Typha* sp. Aledaño al sitio de actividad geotérmica, se encontró un cuerpo lagunar “La Alberca” con actividad acuícola (cultivo de bagre), al margen se identificó la presencia de palma datilera (*Phoenix dactylifera*), chía (*Salvia hispanica* L.), mezquite (*Prosopis* sp.), pino aguja larga (*Pinus patula*) y árboles de jacaranda (*Jacaranda mimosifolia*) (Figura 15). El suelo de esta área se caracterizó por tener una cubierta superficial de color blanco y árboles de mezquite (*Prosopis* sp.) El olor a ácido sulfhídrico fue característico en las áreas cercanas a la expresión geotérmica. La elevación topográfica promedio de esta área fue de 1521 msnm.



**Figura 15. Estaciones de muestreos dentro del área geotérmica en Los Negritos, Michoacán, caracterización florística: a) pasto y mezquite (*Prosopis* sp.) antes de llegar a la expresión de lodos calientes; b) mezquite y *Typha* sp. en la expresión geotérmica de lodos calientes, estación de muestreo S1; c) planta *Typha* sp. dentro de los cuerpos lagunares cercanos a la expresión geotérmica, estación de muestreo S10.**

El **área radar** se caracterizó por tener terrenos con productividad agrícola, dentro la zona se observó la producción de: tomate rojo, cártamo, cebolla, maíz, sorgo y chile (Figura 16). En este estudio, se pudo constatar que la actividad en la zona es a través de cultivos rotativos, donde las parcelas cercanas a la expresión geotérmica tienen una mayor actividad después de la temporada de lluvia. Durante las campañas de muestreo, dentro del área radar se pudo

observar la caza de aves y cánidos, siendo organismos oportunistas y generalistas. Esta área presento canales a lo largo de las vías de transporte terrestre; estos tienen la función de ser receptores de aguas grises y aguas negras dentro del municipio de Villamar, además de ser reutilizada las aguas para el riego de cultivos, los excedentes utilizados en la agricultura también son concentrados en estos canales a través de los escurrimientos naturales de las pendientes topográficas. La elevación topográfica promedio de esta área fue de 1525 msnm.



**Figura 16. Zona geotérmica Los Negritos, Michoacán, a) preparación de la tierra para el cultivo; b) canales receptores de escurrimiento de aguas agrícolas; c) muros de roca para la delimitación de parcelas agrícolas; d) encuentro de tuberías de aguas grises del municipio de Villamar y canales de escurrimiento de aguas agrícolas.**

El **área control**, consistió en cuerpos de agua temporales y canales de escurrimiento agrícolas. Se pudo observar la actividad de fertilización de la tierra para cultivo, así como la fumigación de frutos (Figura 17). Esta área presento una elevación topográfica promedio de 1521 msnm.



**Figura 17. Paisaje del área control en la zona geotérmica Los Negritos, Michoacán; a) estación de muestreo S14, b) estación de muestreo S15.**

## **7.3 Caracterización de la zona geotérmica.**

### **7.3.1 Parámetros *in situ*.**

Los valores promedio de los parámetros *in situ* en la zona de Los Negritos, Michoacán, son presentados en la Tabla 3. La expresión geotérmica de lodos calientes (S1) mostró tener la mayor temperatura dentro de la zona geotérmica con rangos de 83 a 87 °C, este valor disminuyó hasta 50 °C al entrar en contacto el sedimento caliente con el agua circundante, se registraron temperaturas de 30 a 32 °C en el sistema lagunar de esta estación, este parámetro comenzó a disminuir dentro de esta área hasta obtener valores de 19°C (S10). Todas las estaciones de muestreo en la zona presentaron valores básicos de pH de 6.99, hasta pH alcalinos de 8.84. De acuerdo a los datos obtenidos en ambas temporadas, la temperatura de los lodos calientes se mantuvo estable al igual que el pH.

Dentro de los valores de los parámetros *in situ*, se obtuvieron diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.01$ ) en: salinidad, SDT y ORP, dentro de las áreas de estudio. Las concentraciones promedio máximas de salinidad y SDT se detectaron en el área geotérmica  $1582.20 \pm 497.71$  ppm y  $2115.44 \pm 951.0$  ppm respectivamente, mientras los valores promedio mínimos se detectaron en el área control  $354.73 \pm 224.66$  ppm para salinidad y dentro del área radar  $499.69 \pm 361.49$  ppm para SDT. Los valores más altos de salinidad y SDT fueron registrados dentro del área geotérmica (S4) con valores máximos de 2467 ppm y 3612 ppm respectivamente, mientras en el área control se presentaron valores mínimos (S12) de 65 ppm y 87.18 ppm respectivamente.

Los valores de ORP obtenidos indicaron características oxidativas en el área geotérmica y control con valores de 191 a 255 mV respectivamente, en comparación con los valores máximos reductores de -263 mV (S6) en los canales de aguas grises dentro de la zona radar. Los valores promedio máximos oxidativos fueron detectados en el área control ( $140.17 \pm 66.67$  ppm) y mínimos reductores en el área radar ( $-199.00 \pm 72.89$  ppm). Por otra parte, no se encontraron diferencias estadísticas significativas ( $p \leq 0.05$ ) en la concentración promedio de aniones disueltos entre las áreas evaluadas. Sin embargo, dentro del área geotérmica se presentaron las concentraciones máximas de cloruros con rangos de 781.20 ppm (S4) a 689.23 ppm (S1) y sulfatos con rangos de 889.87 ppm (S4) a 561.06 ppm (S1), mientras los valores mínimos para ambos aniones se presentaron en el área radar con concentraciones de 3.12 ppm y 5.64 ppm respectivamente en la estación S7. Las áreas geotérmicas y radar presentaron las concentraciones máximas de fosfatos con valores de 14 (S6) y 9.60 (S10), y mínimos de 0.34 (S4) ppm y 0.3 (S8) ppm respectivamente. La concentración máxima de aniones fluoruros fue en el área control y mínima en el área radar, con valores máximos de 24.26 ppm (S15) y mínimos de 0.05 ppm (S8) respectivamente. Por otra parte, la concentración de nitratos y nitritos tuvo máximos complementarios, mientras el área radar y control presentaron los valores máximos de nitratos 28 ppm y 12 ppm (S7 y S12), el área geotérmica presentó los valores máximos de nitritos 0.02 ppm (S9).

**Tabla 3. Valores promedio de los parámetros físicoquímicos en la zona Los Negritos, Michoacán. Suscritos indican diferencias significativas en la concentración promedio del parámetro entre las tres áreas de estudio (ANOVA una vía y prueba a posteriori Tukey,  $p < 0.05$ ).**

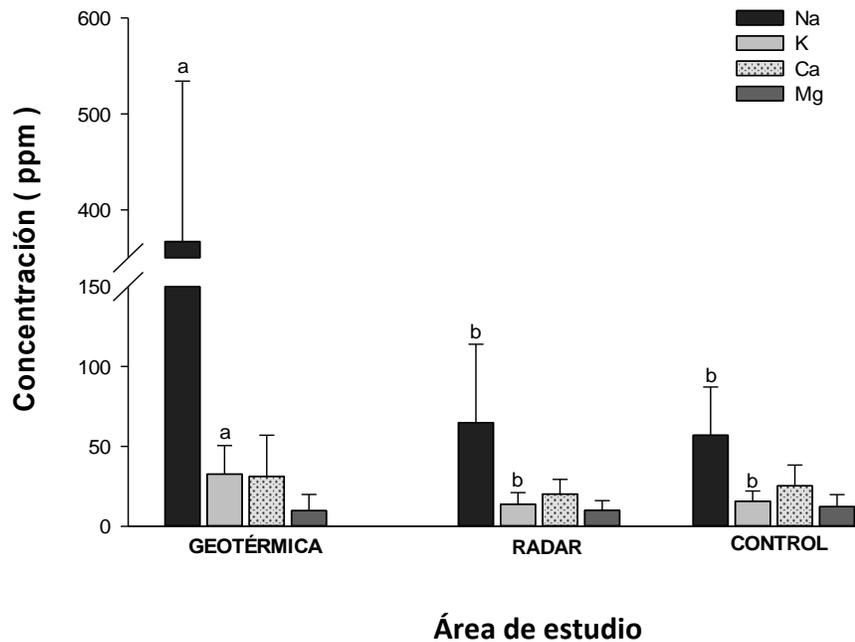
		Geotérmica (n=8)		Radar (n=8)		Control (n=6)		<i>p</i>
<b>Temperatura</b>	(°C)	*85.00	(83.0-87.0)					
		25.00	(19.40-30.6)	25.28	(20.50-29.80)	25.78	(21.60-30.50)	
<b>pH</b>		7.98	(7.44-8.73)	7.67	(7.00-8.84)	7.56	(6.99-7.97)	
<b>Salinidad</b>	ppm	1582.20	(803.60-2467.00) <sup>a</sup>	428.63	(98.23-779.60) <sup>b</sup>	354.73	(65.07-625.20) <sup>b</sup>	=0.0000
<b>Conductividad</b>	μS cm <sup>-1</sup>	3005.34	(852.40-4713.)	2287.36	(373.40-9630.00)	727.62	(138.10-1244.00)	
<b>TDS</b>	ppm	2115.44	(601.50-3612.00) <sup>a</sup>	499.69	(133.80-1080.00) <sup>b</sup>	500.68	(87.18-872.40) <sup>b</sup>	<0.0008
<b>Nitritos</b>	ppm	0.0061	(0.0010-0.0200)	0.0070	(0.0020-0.0100)	0.0023	(0.0030-0.0040)	
<b>Nitratos</b>	ppm	3.61	(1.20-6.00)	8.42	(0.85-28.00)	8.40	(5.59-12.00)	
<b>Fosfatos</b>	ppm	2.46	(0.34-9.60)	3.59	(0.30-14.00)	3.22	(0.98-5.59)	
<b>Fluoruros</b>	ppm	9.30	(4.78-13.94)	3.18	(0.50-5.85)	24.26		
<b>Cloruros</b>	ppm	480.46	(8.07-768.33)	49.73	(3.12-152.03)	36.60	(7.37-85.21)	
<b>Sulfatos</b>	ppm	409.73	(2.26-889.87)	101.16	(5.64-334.85)	155.01	(12.58-719.30)	
<b>ORP</b>	mV	152.71	(112.00-191.00) <sup>a</sup>	-29.00	(-120.00-118.00) <sup>b</sup>	140.17	(49.00-255.00) <sup>a</sup>	<0.0090

Nota: \* Expresión de lodos calientes.

### 7.3.2 Elementos mayores.

En cuanto a la concentración de los cationes mayores, se encontraron diferencias estadísticas significativas en la concentración de  $\text{Na}^+$  ( $p = 0.000$ ) y  $\text{K}^+$  ( $p = 0.0052$ ) entre las áreas estudiadas (Figura 18). El área geotérmica presentó los valores de concentración promedio más altos para los elementos  $\text{Na}^+$  ( $367.07 \pm 167.20$  ppm) y  $\text{K}^+$  ( $32.36 \pm 17.87$  ppm), mientras el área radar presentó las concentraciones promedio mínimas  $56.94 \pm 30.16$  ppm y  $13.75 \pm 7.32$  ppm respectivamente. Las concentraciones de  $\text{Na}^+$  máximas detectadas fueron en la estación S4 con 607.17 ppm y mínimas en la estación S7 con 18.03 ppm, respecto a las concentraciones de  $\text{K}^+$ , la estación S9 presentó los valores máximos de 58.78 ppm y mínimos en la estación S7 con 2.48 ppm.

No se encontraron diferencias estadísticas significativas entre las concentraciones promedio de los cationes de  $\text{Ca}^+$  ( $p=0.419$ ) y  $\text{Mg}^+$  ( $p=0.932$ ) en las áreas estudiadas. Sin embargo, el área geotérmica presentó la máxima concentración promedio de  $\text{Ca}^+$  ( $31.24 \pm 25.65$  ppm) y el área control presentó la máxima concentración promedio de  $\text{Mg}^+$  ( $12.25 \pm 7.57$  ppm). Respecto a las concentraciones promedio mínimas, estas fueron detectadas en el área radar ( $20.15 \pm 9.13$  ppm) y geotérmica ( $9.78 \pm 10.15$  ppm) respectivamente. Las concentraciones máximas y mínimas de aniones de  $\text{Ca}^+$  fueron detectadas en el área geotérmica y en el área radar, en la estación S4 (87.09 ppm) y estación S7 (6.52 ppm) respectivamente; por otra parte, las concentraciones máximas y mínimas de cationes de  $\text{Mg}^+$  se detectaron dentro del área geotérmica en la estación S4 (31.44 ppm) y S9 (1.37 ppm).



**Figura 18.** Concentración promedio de cationes mayores en las áreas de estudio dentro de la zona geotérmica de Los Negritos, Michoacán. Las desviaciones estándar están representadas por barras. Los suscritos indican diferencias significativas en la concentración de aniones en las tres áreas de estudio (ANOVA una vía y prueba a posteriori Tukey,  $p < 0.05$ ).

### 7.3.3 Elementos menores.

Los 16 elementos traza analizados fueron detectados en la mayoría de las muestras dentro de las diferentes estaciones de muestreo. Sin embargo, solo fueron obtenidas diferencias estadísticas significativas ( $p \leq 0.01$ ) en la concentración de los elementos B ( $p < 0.007$ ) y As ( $p < 0.003$ ) (Figura 19), el área geotérmica presentó la mayor concentración de estos elementos. La concentración promedio máxima entre las tres áreas de estudio (promedio calculado entre todas las estaciones de muestreo) para el elemento B fue de  $10.53 \pm 7.31$

ppm, y la concentración promedio mínima detectada de  $0.60 \pm 0.0$  ppm. La estación S4 presentó la mayor concentración (19 ppm) y la concentración mínima la estación S7 (0.25 ppm) para éste elemento; con respecto al elemento As, se determinó una concentración promedio máxima entre las áreas de estudio de  $0.30 \pm 0.016$  ppm y una concentración promedio mínima de  $0.30 \pm 0.16$  ppm, siendo detectada en la estación S1 la mayor concentración de As (0.50 ppm), mientras las estaciones S12 y S14 presentaron las concentraciones mínimas (0.02 ppm).

Los elementos Mo y U, en este estudio, solo fueron detectados en la estación S1 dentro de las expresiones de lodos calientes con concentraciones de 28.28 ppm, y 4.73 ppm, respectivamente.

Es importante mencionar, que dentro de todas las estaciones de la zona geotérmica de Los Negritos se detectaron concentraciones de elementos traza (Tabla 4).

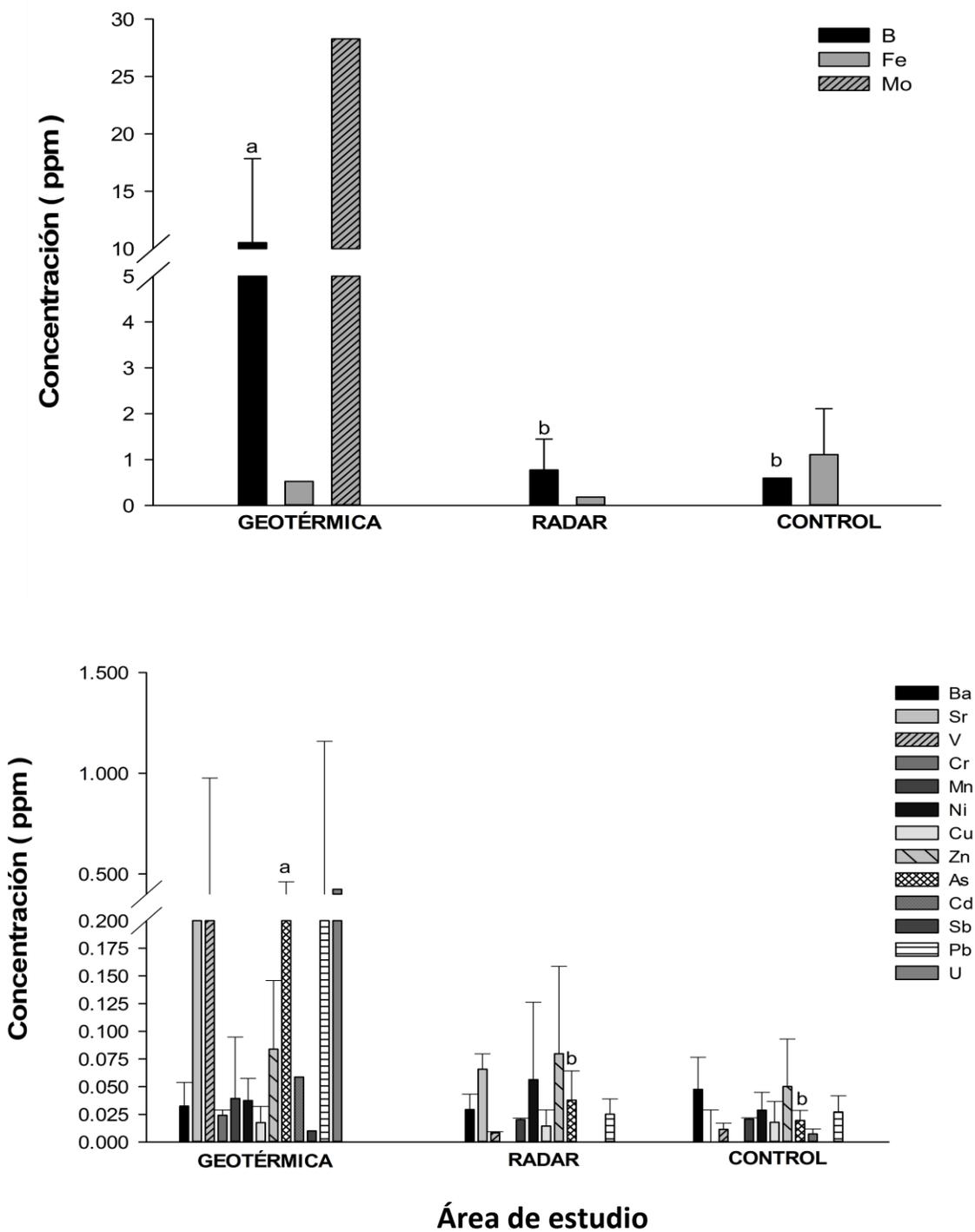


Figura 19. Concentración promedio de metales en las áreas de estudio dentro de la zona geotérmica de Los Negritos, Michoacán. Las desviaciones estándar están representadas por barras. Los suscritos indican diferencias significativas en la concentración de metales en las tres áreas de estudio (ANOVA una vía y prueba a posteriori Tukey,  $p < 0.05$ ).

**Tabla 4. Valores máximos y mínimos de metales traza, detectados dentro de las tres áreas de muestreo de la zona geotermal Los Negritos, Michoacán.**

Área	Elemento	Estación	Máxima (ppm)	Estación	Mínima (ppm)
<b>Geotermica</b>	As	S1	0.50		
	B	S4	19.00		
	Ba	S4	0.06		
	Cd	S1, S10	0.12		
	Cu	S1, S10	0.04	S9	0.01
	Cr	S10	0.03	S10	0.02
	Fe	S10	0.53		
	Mn	S1	0.18	S4, S9, S10	0.02
	Mo	S1	28.28		
	Pb	S1	2.40	S4, S10	0.017
	Sb	S10	0.02	S1, S9	0.01
	Sr	S4	0.67		
	U	S1	4.73		
	V	S1	0.26	S4, S9, S10	0.01
	Zn			S9	0.01
	<b>Radar</b>	B			S7
Ba		S7	0.04	S7	0.01
Ni		S5	0.22		
Zn		S5	0.26		
Cu				S6, S8	0.01
Fe				S7	0.18
Mn				S7, S5, S6, S8	0.02
Pb				S7	0.017
Sr				S5	0.01
V				S5, S6, S8	0.01
<b>Control</b>	As			S12, S14	0.02
	Ba	S15	0.04		
	Cd			S14	0.01
	Cu			S12, S14, S15	0.01
	Mn			S12, S14, S15	0.02
	Pb			S12, S14	0.017
	V			S12, S14, S15	0.01
	Zn			S12	0.01

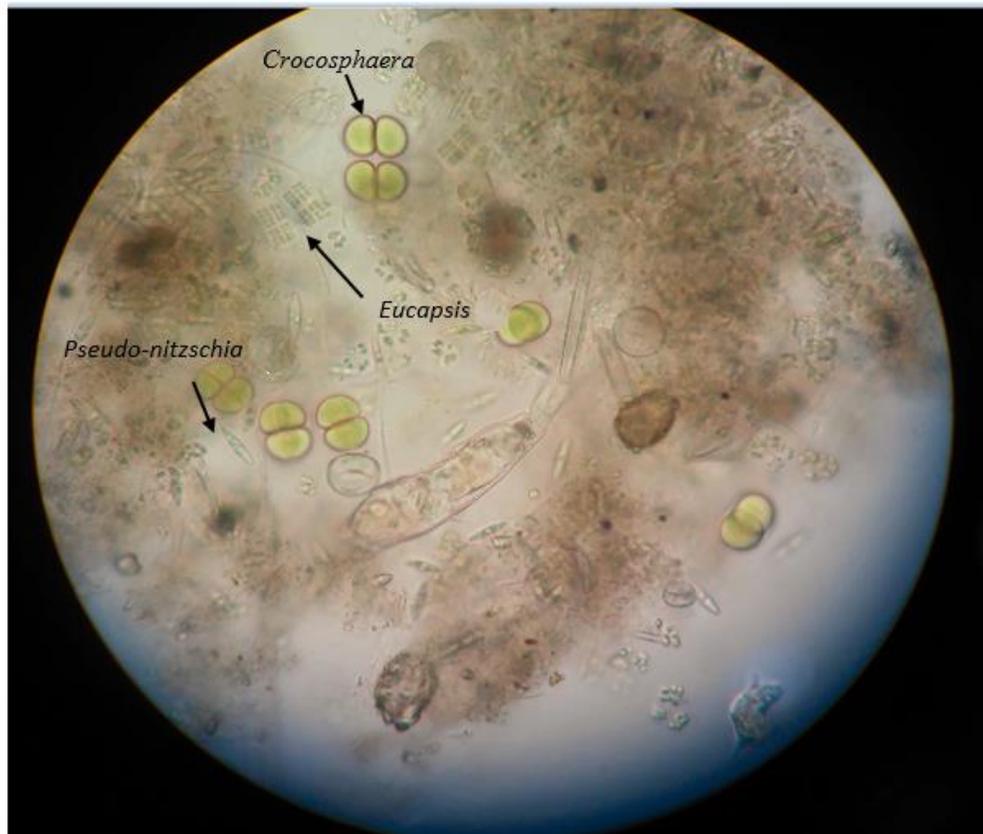
## **7.4 Identificación de diatomeas y cianobacterias.**

La identificación de los microorganismos se realizó al utilizar cebadores de ADN universales para el ribosoma 16S. Estos cebadores son utilizados frecuentemente para la identificación de microorganismos procariontes fotosintéticos, por lo cual la identificación de cianobacterias a nivel especie fue resuelta; sin embargo, para la identificación de organismos eucariotas fotosintéticos como las diatomeas, había la necesidad de crear una base de datos especial para la línea de secuencias de las muestras obtenidas. Por lo que, debido a los tiempos establecidos para este trabajo, se resolvió llevar a cabo la identificación de diatomeas a través de observación al microscopio, al hacer uso de guías taxonómicas de identificación.

### **7.4.1 Uso de microscopía.**

Las muestras colectadas en las estaciones de muestreo dentro del área geotérmica, presentaron grandes cantidades de lodo (a excepción de la estación S9), sin embargo, se lograron identificar los géneros: *Navicula*, *Eucapsis* y *Crocospaera* (Figura 20). Las estaciones de muestreo en el área radar y control presentaron grandes cantidades de materia orgánica y protozoos, lo que dificultó la conservación y cultivo de las especies fotosintéticas, los cultivos de respaldo presentaron frecuentemente el crecimiento de hongos y bacterias, como medida estratégica para la limpieza y conservación de diatomeas y cianobacterias, se realizó la preparación de medios líquidos con adición de medio “f/2” sin vitaminas y metales traza, sin embargo, se pudo observar que el cultivo celular entraba en una fase de adaptación o latencia, lo que representó un crecimiento lento en comparación con aquellos respaldos en medio líquido con “f/2”.

Como resultado de la observación e identificación de microorganismos por microscopía, se identificaron dentro de la zona geotérmica Los Negritos, un total de siete géneros de diatomeas: *Fragillaria*, *Navicula*, *Pinullaria*, *Rhopalodia*, *Pseudo-nitzschia*, *Rhoicosphenia* sp., y *Phaeodactylum*. Al igual que tres géneros de cianobacterias: *Nostoc*, *Lyngbya* y *Synechococcus* (Figura 21).



**Figura 20. Observación e identificación de microorganismos en una muestra fresca colectada en la manifestación hidrotermal lodos calientes (S1), dentro de la zona geotérmica de Los Negritos, Michoacán. Aumento 40x.**

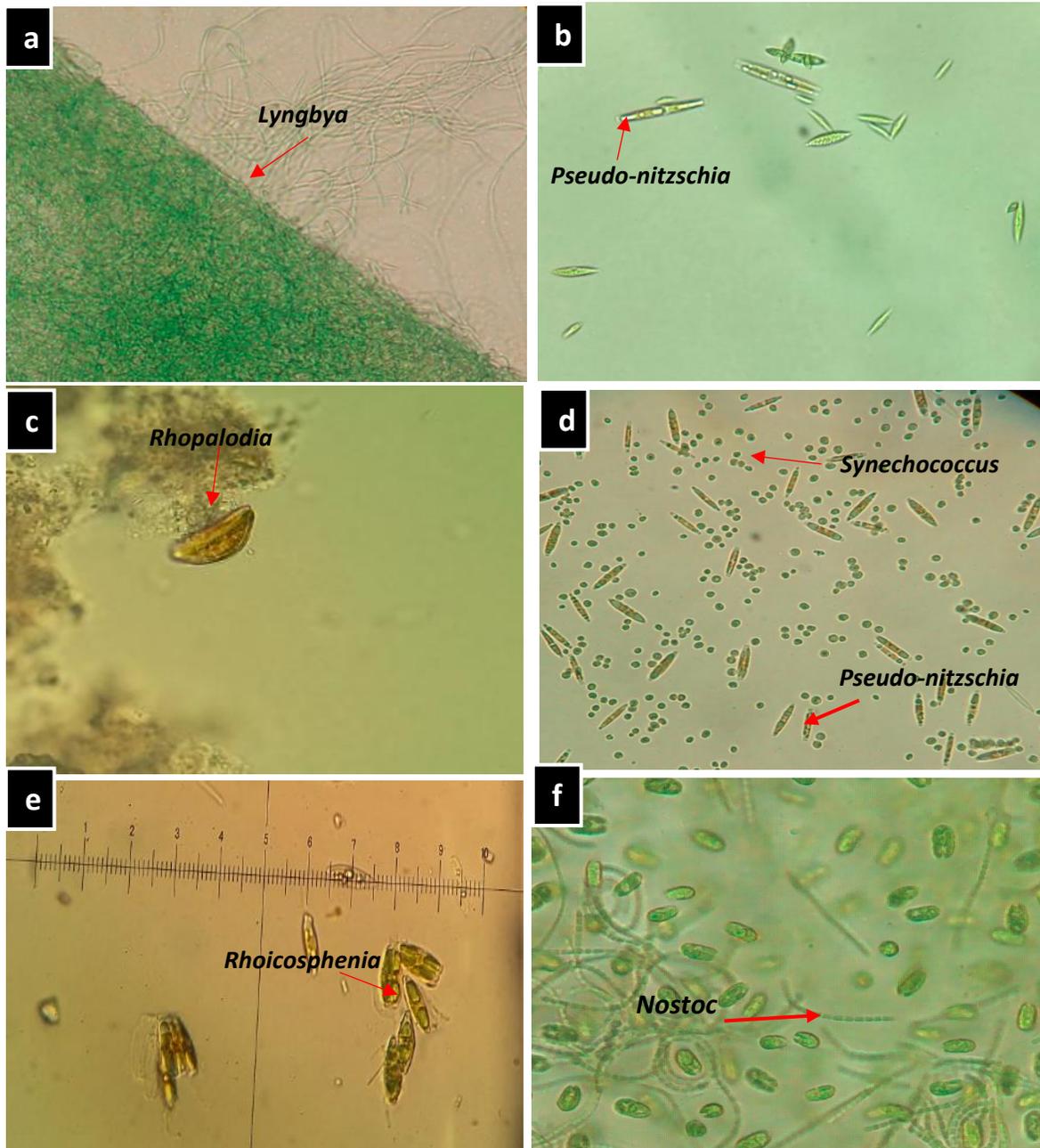


Figura 21. Observación e identificación de microorganismos en proceso de aislamiento, colectados en las estaciones de muestreo: S5(a), S15 (b), S10 (c) S14 (d), y S6 (f), dentro de la zona geotérmica Los Negritos, Michoacán. Aumento 40x.

#### **7.4.2 Identificación de diatomeas (microscopia).**

Dentro de las 11 estaciones de muestreo se identificaron un total de 7 géneros de diatomeas pertenecientes a 5 familias (Tabla 5), el género *Pseudo-nitzschia* fue el único observado dentro de las muestras tomadas en la expresión geotérmica de lodos calientes.

Tres de las cuatro muestras pertenecientes al área radar presentaron solo uno de los géneros *Fragilaria*, *Phaeodactylum* o *Rhopalodia*, lo distingue a estos géneros como específicos de esta área. Mientras tanto, dentro del área control se observaron muestras con más de un género de diatomeas, dentro de estos se identificaron tres géneros frecuentes de diatomeas *Navicula*, *Pinnularia* y *Rhoicosphenia*.

Dentro de este estudio, los géneros *Navicula* y *Rhopalodia* tuvieron arreglo unicelular, mientras los géneros *Pinnularia*, *Fragilaria*, *Pseudo-nitzschia*, *Rhoicosphenia*, y *Phaeodactylum*, se encontraron en agregaciones celulares en forma de colonias.

En cuanto a su morfología, las frústulas de óxido de sílice de los diferentes géneros, presentaron seis formas:

- 1) simétricas con valvas lineales (*Rhopalodia*)
- 2) cóncava con ápices redondos (*Rhoicosphenia*)
- 3) delgadas en forma de aguja (*Pseudo-nitzschia*)
- 4) lanceoladas con extremos redondeados de forma aguda (*Navicula*)
- 5) anchas y lineares (*Fragilaria*)
- 6) lineares con márgenes moderadamente convexos (*Pinnularia*)

La morfología más frecuente entre la población de diatomeas identificadas fue el número seis, esta población estuvo presente en las áreas geotérmica y control. Los tamaños promedio de longitud para todos los géneros fue entre 10  $\mu\text{m}$  y 20  $\mu\text{m}$ .

**Tabla 5. Taxa de diatomeas identificadas a través de microscopia óptica dentro de la zona geotérmica de Los Negritos, Michoacán en el año 2015.**

Familia	Género	Acrónimo	Área de presencia		
			G	R	C
<b>Bacillariaceae</b>					
	<i>Pseudo-nitzschia</i>	Pnit	X	--	--
<b>Fragilariaceae</b>					
	<i>Fragillaria</i>	Frag	--	X	--
<b>Naviculaceae</b>					
	<i>Navicula</i>	Navi	X	--	X
	<i>Pinnularia</i>	Pinu	X	--	X
	<i>Rhoicosphenia</i>	Rhoi	--	X	X
<b>Phaeodactylaceae</b>					
	<i>Phaeodactylum</i>	Phae	--	X	--
<b>Rhopalodiaceae</b>					
	<i>Rhopalodia</i>	Rhop	--	X	--

### 7.4.3 Identificación de cianobacterias (Ribosomal 16S).

En 11 estaciones de muestreo, se identificaron 19 especies de cianobacterias, pertenecientes a 14 géneros y 11 familias (Tabla 6). Dentro de las muestras de expresión geotérmica de lodos calientes, solo fueron observadas las especies *Crocospaera watsonii* y *Eucapsis alpina*. Dentro del área control las muestras fueron diversas en cuanto al número de especies, sin embargo, *Calothrix brevissima* solo se observó en muestras colectadas dentro de esta área.

En su mayoría, las especies identificadas de forma molecular, también pudieron ser observadas al microscopio, ya que, dentro del laboratorio, los cultivos con mayor crecimiento celular fueron las especies de cianobacterias.

Las especies identificadas dentro de la zona geotérmica de Los Negritos, mostraron principalmente cuatro diferentes arreglos celulares, entre ellos:

- 1) coloniales con formación multicelular semiesférica o amorfa con alta densidad celular muchas de ellas envueltas dentro de un mucílago, estos fueron los casos de *Crocospaera watsonii*, *Snowella rosea*, *Microcystis panniformis* y *Eucapsis alpina*.
- 2) forma solitaria o en agregados (colonias), sin presentar envolturas mucilaginosas con forma ovalada a cilíndrica, este fue el caso de *Thermosynechococcus elongatus*, *Prochlorococcus marinus* y *Cyanobacterium aponinum*.

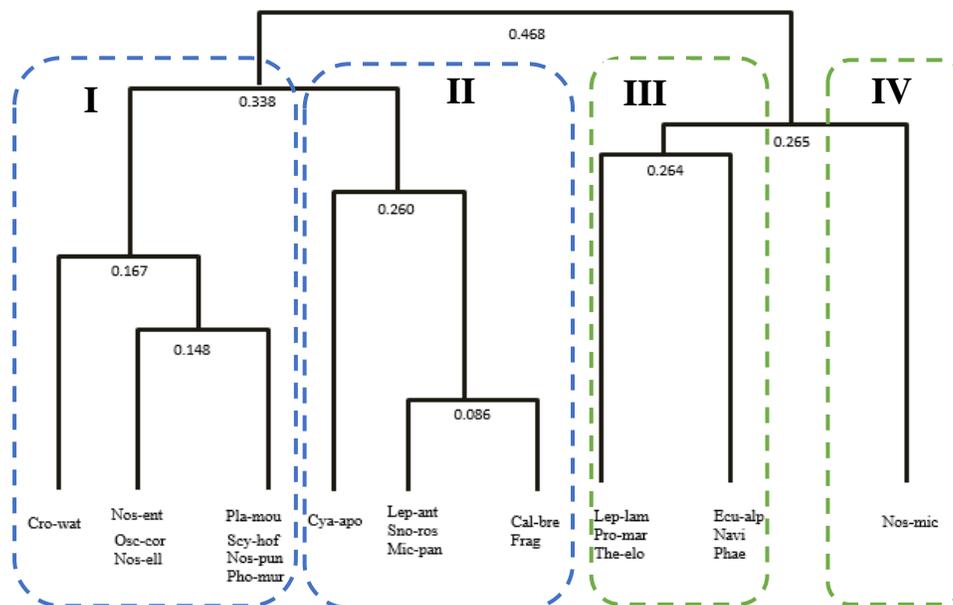
- 3) arreglo celular y abundante entre las muestras fue la forma filamentosa, cilíndrica, con arreglos en paralelo, tubular, alongada y envuelta dentro de un mucílago con puntas convexas, estas fueron las especies *Leptolyngbya laminosa*, *Leptolyngbya antartica*, *Phormidium murrayi* y *Planktothrix mougeotii* y *Oscillatoria corallinae*
- 4) forma filamentosa, esférica, con presencia de heterocistos en pares o solitarios dentro de un solo filamento de forma intercalar, envuelta dentro de un mucilago, con puntas apicales alongadas, las células se presentaron atadas al sustrato con capacidad de formar tapetes, estas especies fueron *Calothrix parientina*, *Calothrix brevissima*, *Nostoc microscopicum*, *Nostoc punctiforme*, *Nostoc ellipsosporum*, *Nostoc entophytum* y *Scytonema hofmanni*.

**Tabla 6. Taxa y área de presencia de cianobacterias identificadas a través del uso ribosomal 16S, a partir de muestras colectadas dentro de la zona geotérmica de Los Negritos, Michoacán.**

Familia	Género	Especie	Acrónimo	Área de presencia		
				G	R	C
<b>Chroococcaceae</b>						
	<i>Crocospaera</i>	<i>watsonii</i>	Cro-wat	X	--	--
<b>Cyanobacteriaceae</b>						
	<i>Cyanobacterium</i>	<i>aponinum</i>	Cya-apo	X	--	X
<b>Gomphosphaerioideae</b>						
	<i>Snowella</i>	<i>rosea</i>	Son-ros	X	X	X
<b>Leptolyngbyaceae</b>						
	<i>Leptolyngbya</i>	<i>laminosa</i>	Lep-lam	X	X	X
		<i>antarctica</i>	Lep-ant	X	--	X
<b>Microcystaceae</b>						
	<i>Microcystis</i>	<i>panniformis</i>	Mic-pan	--	--	X
	<i>Eucapsis</i>	<i>alpina</i>	Euc-alp	X	--	--
<b>Nostocaceae</b>						
	<i>Nostoc</i>	<i>entophytum</i>	Nos-ent	--	X	--
		<i>microscopicum</i>	Nos-mic	X	X	X
		<i>punctiforme</i>	Nos-pun	X	X	--
		<i>ellipsosporum</i>	Nos-ell	X	--	X
<b>Oscillatoriaceae</b>						
	<i>Thermosynechococcus</i>	<i>elongatus</i>	The-elo	--	X	X
	<i>Oscillatoria</i>	<i>corallinae</i>		--	X	--
<b>Phormidiaceae</b>						
	<i>Phormidium</i>	<i>murrayi</i>	Pho-mur	X	X	--
	<i>Planktothrix</i>	<i>mougeotii</i>	Pla-mou	X	--	--
<b>Prochlorococcaceae</b>						
	<i>Prochlorococcus</i>	<i>marinus</i>	Pro-mar	X	X	X
<b>Rivulariaceae</b>						
	<i>Calothrix</i>	<i>parietina</i>	Cal-par	X	X	--
		<i>brevissima</i>	Cal-bre	--	--	X
<b>Scytonemataceae</b>						
	<i>Scytonema</i>	<i>hofmanni</i>	Scy-hof	X	--	X

## 7.5 Estructura y arreglo espacial de diatomeas y cianobacterias.

Con base en la presencia y ausencia de las especies de diatomeas y cianobacterias dentro de las estaciones de muestreo se realizó un arreglo de similitud de grupos de Hill, con el cual se obtuvo un dendograma con una similitud máxima de 0.468 unidades, a partir de ésta se derivaron cuatro grupos principales con similitudes de: 0.167 unidades (grupo de 8 microorganismos), 0.260 (grupo de 6 microorganismos), 0.264 unidades (grupo de 6 microorganismos) y uno monoespecífico de 0.265 unidades (Figura 22).



**Figura 22. Dendrograma de similitud entre las comunidades de diatomeas y cianobacterias, los grupos fueron basados en la presencia y ausencia de microorganismos en 11 estaciones de muestreo dentro de la zona geotérmica de Los Negritos, Michoacán.**

Dentro del análisis jerárquico inicial seis especies no mostraron tener relación ni preferencia grupal, por lo cual, no fueron integradas a la clasificación jerárquica final debido a su interferencia dentro del análisis. Los microorganismos no preferenciales fueron: *Calothrix parietina*, *Pinullaria*, *Rhoicosphenia*, *Rhopalodia* y *Pseudo-nitzschia*.

## **7.6 Correspondencia de diatomeas y cianobacterias como indicadores de variables ambientales.**

Con el fin de comprender la relación entre las especies identificadas y las variables ambientales se llevó a cabo un análisis estadístico exploratorio de correspondencia canónica (ACC) en donde se analizaron un total de 26 organismos (7 géneros de diatomeas y 19 especies de cianobacterias) en 11 estaciones de muestreo y 32 variables ambientales (elementos químicos y parámetros físicoquímicos) (Figura 23). Dentro de este el eje 1 de ordenación presentó la mayor varianza explicada de 36.5% (Tabla 7).

**Tabla 7. Resumen de análisis de correspondencia canónica (ACC) a partir de la composición de especies de diatomeas y cianobacterias en 11 estaciones de muestreo con respecto a 32 variables ambientales de la zona geotérmica Los Negritos, Michoacán.**

<b>Ejes</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
<b>Eigenvalores</b>	0.433	0.288	0.172	0.139
<b>Correlación especies-variables ambientales</b>	0.986	0.992	0.989	0.981
<b>% de varianza acumulada de datos de las especies</b>	36.5	55.7	70.2	81.9
<b>Relación especies-ambientales</b>	38.0	58.1	73.2	85.4

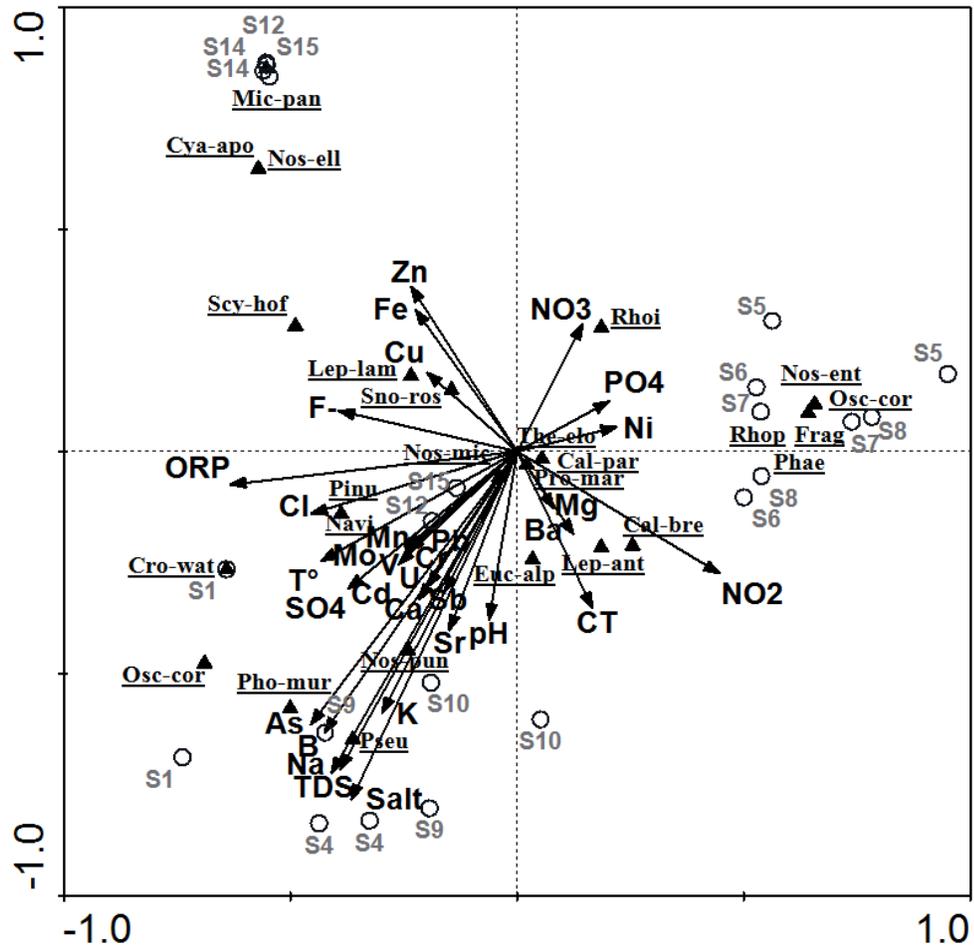


Figura 23. Análisis exploratorio de correspondencia canónica (ACC) de 11 estaciones de muestreo (n=2), 26 organismos y 32 variables ambientales en la zona geotermal Los Negritos, Mich. México. Para señalar el nombre de los géneros de diatomeas se utilizaron las primeras cuatro letras del género; en el caso de cianobacterias, se utilizaron las primeras tres letras del género y las tres primeras letras de la especie (Acrónimos, tabla 2 y 3). Se utilizó la simbología química para el caso de iones y elementos de la tabla periódica. T°= temperatura; CT= conductividad; Salt= salinidad; ORP= Potencial de óxido-reducción; TDS= Sólidos disueltos totales.

A partir del análisis exploratorio se realizó una prueba de permutación no restringida de Monte Carlo, en donde, solo 12 de 32 variables ambientales iniciales tuvieron efectos significativos ( $p < 0.05$ ). Las variables significativas fueron: salinidad ( $p < 0.004$ ), Na ( $p < 0.004$ ), Temperatura ( $p < 0.006$ ), SDT ( $p < 0.008$ ), ORP ( $p < 0.004$ ), Nitrito ( $p < 0.022$ ), As ( $p < 0.002$ ), B ( $p < 0.006$ ), K ( $p < 0.022$ ), Pb ( $p < 0.049$ ), V ( $p < 0.036$ ) y Mn ( $p < 0.030$ ) (Figura 24).

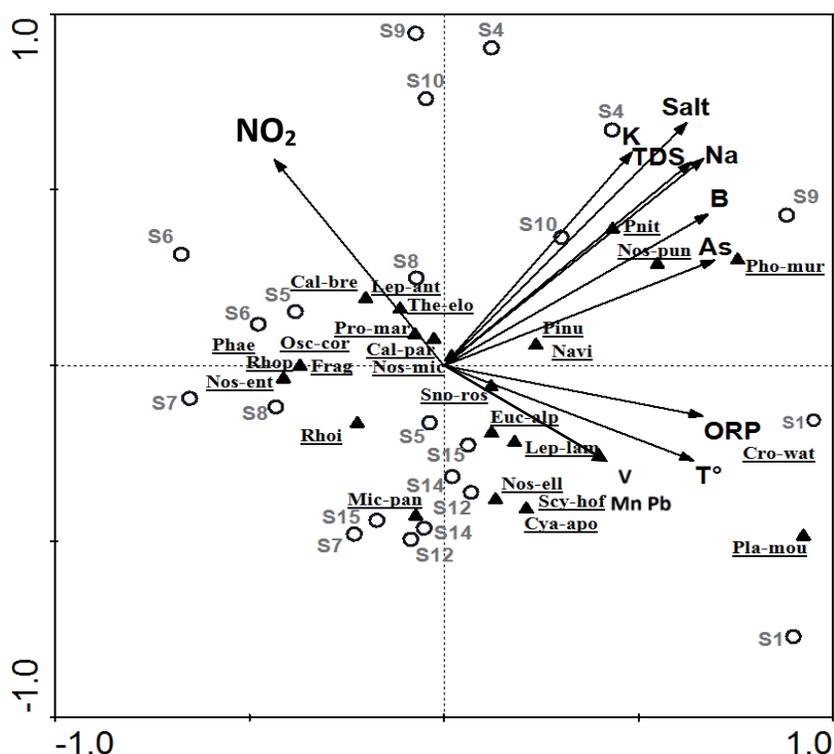


Figura 24. Análisis de correspondencia canónica (ACC) para 11 estaciones de muestreo ( $n=2$ ), 26 organismos y 12 variables ambientales en la zona geotérmica de Los Negritos, Mich. México. Para señalar el nombre de los géneros de diatomeas se utilizaron las primeras cuatro letras del género; en el caso de cianobacterias, se utilizaron las primeras tres letras del género y las tres primeras letras de la especie (Acrónimos, tabla 2 y 3). Se utilizó la simbología química para representar el nombre de iones y elementos de la tabla periódica. T°= temperatura; Salt= salinidad; ORP= Potencial de óxido-reducción; TDS= Sólidos disueltos totales.

Este segundo análisis (confirmatorio) presentó en el eje 1 de ordenación la mayor varianza explicada de 28.4 % (Tabla 8). La correlación de Pearson entre las especies y las variables ambientales fue alta en los cuatro ejes de ordenación ( $r = 0.905$ ,  $r = 0.861$ ,  $r = 0.893$ ;  $r = 0.853$ , respectivamente) con eigenvalores 0.337, 0.169, 0.134 y 0.128, respectivamente; que explica el 64.6% de la varianza total en la distribución de las especies. Mientras los cuatro ejes explicaron el 85.4 % de la varianza acumulativa en la relación de especies-variables ambientales.

El eje 1 fue correlacionado positivamente con las variables ambientales As ( $r = 0.608$ ), B ( $r = 0.590$ ), Na ( $r = 0.582$ ), SDT ( $r = 0.557$ ), salinidad ( $r = 0.546$ ), K ( $r = 0.426$ ), y negativamente con el contenido de nitritos ( $r = -0.393$ ). El eje 2 se encontró correlacionado positivamente con la variable nitritos ( $r = 0.452$ ) y negativamente con las variables de temperatura ( $r = -0.141$ ), ORP ( $r = -0.170$ ), V ( $r = -0.163$ ), Pb ( $r = -0.163$ ) y Mn ( $r = -0.168$ ).

**Tabla 8. Resumen de análisis de correspondencia canónica (CCA) a partir de la composición de especies de diatomeas y cianobacterias más dominantes en 11 estaciones de muestreo con respecto a 12 variables ambientales de la zona geotérmica Los Negritos, Michoacán.**

<b>Ejes</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
<b>Eigenvalores</b>	0.337	0.169	0.134	0.128
<b>Correlación especies-variables ambientales</b>	0.905	0.861	0.893	0.853
<b>% de varianza acumulada de datos de las especies</b>	28.4	42.6	53.9	64.6
<b>Relación especies-ambientales</b>	37.5	56.3	71.2	85.4
<b>Permutación de Monte Carlo</b>				
<b><math>F = 4.075</math>; <math>p = 0.04</math></b>				

Dentro del primer cuadrante de este análisis, se encontraron estaciones del área geotérmica (S4, S9 y S10) que fueron relacionadas con altos contenidos de arsénico y boro en medios salinos, con menores concentraciones de nitritos. Las especies de diatomeas asociadas positivamente a este cuadrante fueron: *Navicula* sp. y *Pinnularia* sp. quienes se correlacionaron con niveles de arsénico (As), *Phormidium murrayi* correlacionada a las concentraciones de boro (B), *Pseudo-nitzschia* y *Nostoc punctiforme* correlacionada a las concentraciones de sólidos disueltos (SDT) y sales de sodio (Na).

Dentro del segundo cuadrante, se encontraron las estaciones del área radar (S5-S8). Estas fueron correlacionadas con altos niveles de nitritos (NO<sub>2</sub>), que caracteriza a por ser áreas de nitrificación. Las especies correlacionadas positivamente a este cuadrante fueron: *Thermosynechococcus elongatus* y *Prochlorococcus marinus*.

La expresión geotérmica de lodos calientes (S1), se caracterizó dentro del cuarto cuadrante del análisis de CCA, al obtener una alta correlación con la temperatura y niveles de óxido-reducción, además de una alta asociación con los elementos manganeso (Mn), vanadio (V) y plomo (Pb). Las especies asociadas positivamente a este cuadrante fueron: *Crocospaera watsonii* correlacionada a las altas temperaturas de la expresión geotérmica, *Planktothrix mougeotii* correlacionada con niveles altos de óxido-reducción (ORP), mientras las cianobacterias *Eucapsis alpina*, *Leptolyngbya laminosa* y *Scytonema hofmanni* se encontraron correlacionadas a los elementos Mn, V y Pb.

Las estaciones dentro del área control no mostraron tener relación con variables significativas dentro del análisis de ACC, sin embargo, dentro del análisis de ACC exploratorio la concentración de metales como Zn, Fe, Cu, iones de fluoruro y cloruro se relacionó dentro del área radar. La cianobacteria *Snowella rosea* presentó correlación positiva a esta área (Figura 23).

Respecto a los cuatro grupos formados dentro del análisis de similitud, dentro del análisis de CCA fue superpuesto el análisis de conglomerados obtenido por TWINSpan donde los grupos de más de una especie fueron representados por polígonos. Se observó que algunas especies de los grupos I-II están correlacionados a variables fisicoquímicas y alta concentración de metales del área geotérmica, mientras el grupo III está correlacionado con el área agrícola y compuestos nitrogenados. El grupo IV no mostró tener preferencia a las variables ambientales medidas (Figura 25).

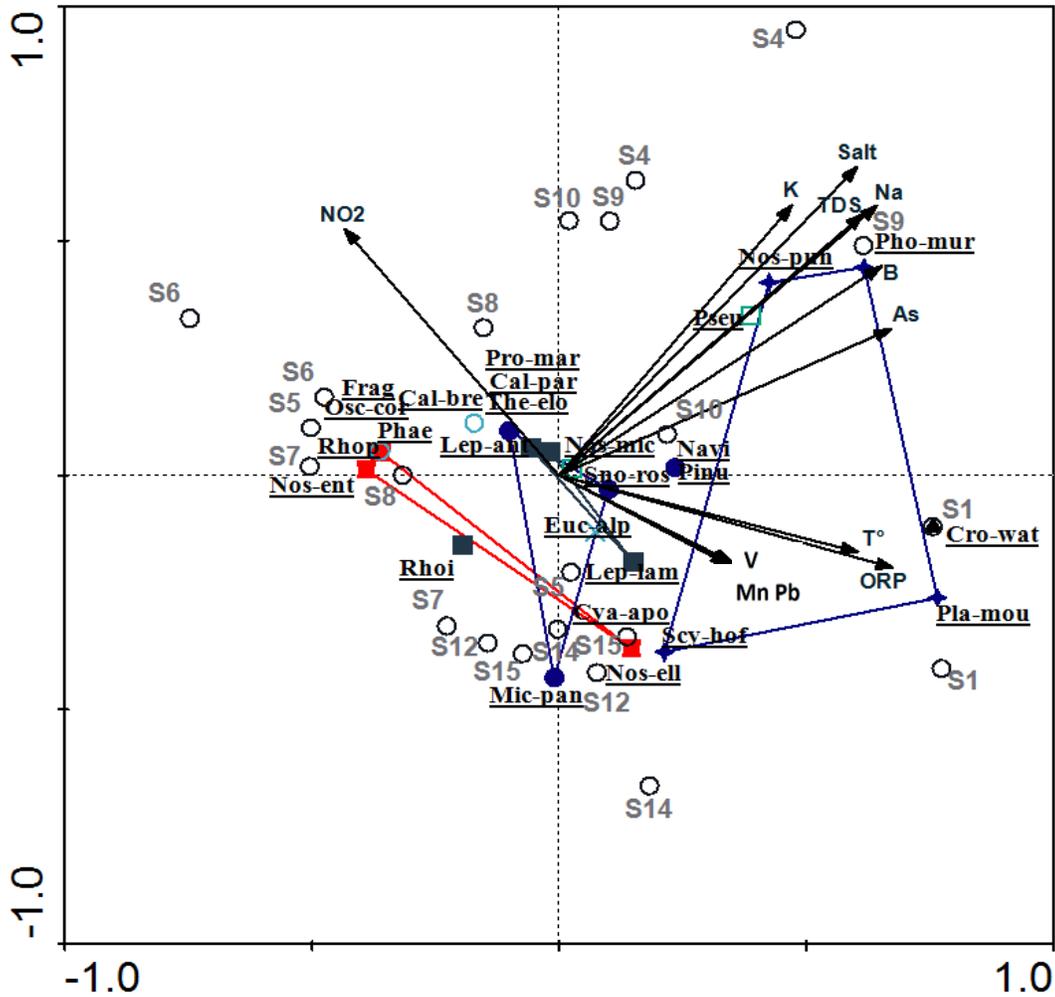


Figura 24. Análisis confirmatorio de correspondencia canónica (ACC) para 11 estaciones de muestreo (n=2), 26 organismos y 12 variables ambientales en la zona geotermal Los Negritos, Mich. México. Los polígonos representan la similitud de especies dentro del sistema de acuerdo al programa TWINSPAN. Para señalar el nombre de los géneros de diatomeas se utilizaron las primeras cuatro letras del género; en el caso de cianobacterias, se utilizaron las primeras tres letras del género y las tres primeras letras de la especie (Acrónimos, tabla 2 y 3). Se utilizó la simbología química para representar el nombre de iones y elementos de la tabla periódica. T°= temperatura; Salt= salinidad; ORP= Potencial de óxido-reducción; TDS= Sólidos disueltos totales.

A través del análisis de los resultados obtenidos en el presente trabajo, se resume en la tabla 9, la similitud de grupos y correlación de las especies de diatomeas y cianobacterias identificadas con las variables ambientales evaluadas.

Dentro de este análisis, se puede relacionar las especies indicadoras de una o más variables ambientales de acuerdo al análisis de ACC, en donde se contrastó esta información con el área de presencia de la especie dentro de este estudio (tablas 5 y 6), con lo que se determinó la posible área de dispersión de los elementos.

Se puede observar que las cianobacterias *Nostoc punctiforme* y *Phormidium murrayi* presentan dispersión en el área radar. Las *Snowella rosea* y *Leptolyngbya laminosa* se encontraron presentes en el área radar y control, *Prochlorococcus marinus* en el área geotérmica y control, *Thermosynechococcus elongatus* en el área control, mientras las diatomeas *Navicula* sp. y *Pinnularia* sp. se identificaron en el área control.

**Tabla 9. Resumen de análisis de similitud y correlación canónica de las especies-variables ambientales dentro de la zona geotérmica Los Negritos, Michoacán.**

Similitud (grupo)	INDICADOR (especie)	Variable ambiental	Área de correspondencia (ACC)	Área presente
I	<i>Crocospaera watsonii</i>	Temperatura	G	G
	<i>Planktothrix mougeotii</i>	ORP	G	G
	<i>Scytonema hofmanni</i>	Mo, Mn, V, Pb	G, C	G, C
	<i>Nostoc punctiforme</i>	SDT, Na	G	G, R
	<i>Phormidium murrayi</i>	B	G	G, R
II	<i>Snowella rosea</i>	Zn, Fe, Cu, F <sup>-</sup> , Cl <sup>-</sup>	G	G, R, C
III	<i>Leptolyngbya laminosa</i>	Mn, V, Pb	G	G, R, C
	<i>Prochlorococcus marinus</i>	NO <sub>2</sub>	R	G, R, C
	<i>Thermosynechococcus elongatus</i>	NO <sub>2</sub>	R	R, C
	<i>Eucapsis alpina</i>	Mo, Mn, V, Pb	G	G
	<i>Navicula</i> sp.	As	G	G, C
	NP	<i>Pinnularia</i> sp.	As	G
NP	<i>Pseudo-nitzschia</i> sp.	SDT, Na	G	G

**Nota: NP = no preferencial, G = geotérmica, R = radar, C = control, ORP=potencial óxido-reducción, SDT = sólidos disueltos totales.**

---

---

## VIII Discusión.

A partir del análisis de la literatura, los parámetros físicoquímicos y concentración de iones de los cuerpos de agua, se logró definir un patrón de descendiente de temperatura, concentración de salinidad, sólidos disueltos totales y metales traza. Como punto inicial se tomó la expresión de lodos calientes debido a las altas concentraciones que se presentaron de estas variables y que disminuyen hacia las estaciones control, por lo que se pueden definir tres áreas dentro de la zona geotérmica de Los Negritos, Michoacán.

Los cuerpos de agua evaluados dentro de la zona geotérmica presentaron pH alcalinos, debido a altas concentraciones de iones de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$  y  $\text{F}^-$ . Mientras que dentro del sistema de lodos calientes se registraron altas concentraciones de metales traza como: B, As, Mo y U, y en menor concentración Ba, Cd, Cu, Cr, Fe, Mn, Pb, Sb, Sr y V.

Existen diferentes trabajos que caracterizan los sistemas de lodos calientes, como son: Allen y Day (1935), White (1957), Giggenbach y Stewart (1982), Arnórsson y Barnes (1983), Arnórsson (1985), Fournier (1989), Hedenquist (1991), Hochstein y Browne (2000), Arnórsson *et al.* (2007), Nordstrom *et al.* (2009), Markússon y Stefánsson (2011), y Kaasalainen y Stefánsson (2012) quienes estudiaron los parques geotérmicos de Hveragerdi, Torfajökull, Krýsuvík, Kverkfjöll, Krafla y Námafjall en Islandia. Giggenbach (1994) caracterizó las expresiones geotérmicas de lodos calientes en Waiotapu, Nueva Zelanda y más recientemente Bessonova *et al.* (2012) describen las pozas de lodos calientes formadas al pie del volcán Mutnovsky, Rusia.

Este último trabajo, caracteriza las pozas de lodos calientes y los cuerpos de agua circundantes como tierras y aguas alcalinas con valores de pH entre 7 y 9, asociadas a la presencia de cationes como:  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$  y elementos traza: As, B, Cd, Co, Cr, Ni, Sb, Ti y V, entre otros.

En el presente trabajo, el registro de la temperatura elevada dentro del sistema de lodos calientes fue constante durante las dos temporadas evaluadas, esto es debido a que la temperatura que presenta un sistema de lodos calientes es estable por largos periodos a causa de una alimentación constante de fluidos geotérmicos hacia la superficie de las pozas de lodos calientes (Bessanova *et al.*, 2012).

Los valores de los parámetros físicoquímicos: pH, conductividad eléctrica,  $\text{Cl}^-$  y  $\text{SO}_4^{-2}$  no presentaron diferencias significativas en sus concentraciones dentro de la zona de muestreo, lo que coincide con los trabajos de Sabater *et al.* (1990) y Soltani *et al.* (2012) quienes describen como parámetros conservativos el pH,  $\text{SO}_4^{-2}$  y  $\text{Cl}^-$ , entre otros, debido a que están asociados a la composición litológica del lugar.

La presencia de metales traza y la composición química de las aguas de los sistemas geotérmicos también es influenciada por la geología que prevalece en el lugar. Algunos elementos químicos característicos que se encuentran en estos sistemas son el arsénico, fluoruro, manganeso, hierro, aluminio, litio, silica y bromuro, esto debido a la circulación del agua caliente dentro de la corteza terrestre, que disuelve los minerales de las rocas por donde estas circulan (Jonker *et al.*, 2013).

En este estudio, la presión ejercida por las condiciones fisicoquímicas del área geotérmica explica la vegetación presente en el sitio, compuesta por las plantas *Typha* sp. y *Prosopis* sp., que son plantas halófilas que se caracterizan por tener una alta adaptación a ambientes extremos (Flowers y Colmer, 2015).

Las estaciones de muestreo en el área radar registraron las máximas concentraciones de metales traza: Ba, Ni, Zn, así como características reductoras, mientras otros cuerpos de agua dentro de esta misma área, presentaron altos contenidos de parámetros no conservativos como son  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{PO}_4^{2-}$  (Sabater *et al.*, 1990; Soltani *et al.*, 2012).

Las zonas reductoras fueron asociadas a los cuerpos de aguas grises y negras que provienen de la zona rural y que abastecen la zona agrícola, las cuales presentan alta actividad microbiana, así como a la descomposición de heces y compuestos nitrogenados derivados de la actividad caprina y bovina, mientras el alto contenido de nutrientes y el patrón descendiente de metales traza estuvo relacionado con el uso de fertilizantes y la lixiviación del agua a través de la tierra en época de lluvias.

Dentro de la misma área radar, se registró la presencia de la planta *Salvia hispanica* L., que de acuerdo a Bresson *et al.* (2009) tiene un mejor crecimiento en suelos ricos en metales traza y presenta en el fruto altos contenidos de Ca, Co, Cr, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, Mo, P, S y Zn. Por lo que se podría inferir, que los elementos medidos en este estudio se están integrando funcionalmente a la vegetación presente en la zona y a los ciclos geoquímicos del lugar por el equilibrio de iones en el suelo como lo sugiere Madsen (2008).

Para la conservación, cuidado y aprovechamiento racional de los cuerpos de agua, que abastecen las ciudades, pozas, arroyos, ríos, lagunas y los mantos freáticos (parte esencial de los sistemas geotérmicos), se han llevado a cabo estudios de calidad de agua a través de monitoreos principalmente centrados en la determinación de parámetros físicoquímicos (Carins, 1995), mismos que han sido complementados, en los últimos 15 años, con estudios de la biología del lugar, lo que ha permitido el desarrollo de índices de calidad de agua constituidos por indicadores sensibles que explican la integridad de los ecosistemas, por lo que ahora hay una mejor comprensión de los sistemas ecológicos (Hering *et al.*, 2006; Astin, 2007; Beyene *et al.*, 2009).

Diferentes índices han sido utilizados para la evaluación de la calidad de agua, estos hacen uso de macroinvertebrados y diatomeas identificados en la literatura como bioindicadores de las condiciones físicoquímicas presentes y pasadas dentro de los cuerpos de agua, para marcar los cambios ambientales en una región (Nidiritu *et al.*, 2003, Potapova y Charles, 2007, Taylor *et al.* 2007, Tison *et al.*, 2007, Beyen *et al.*, 2009 y Desrosiers *et al.*, 2013).

Sin embargo, los primeros índices utilizados para la evaluación de la calidad del agua, fueron: el Índice de Puntuación del Monitoreo Biológico (BMWPC, por sus siglas en inglés) establecido con macroinvertebrados y el Índice Biológico de Diatomeas (IBD), por sus siglas en inglés). Los resultados obtenidos fueron contradictorios a los esperados, esto debido a que ambos índices están basados en la presencia y densidad de ciertas especies (Aboal *et al.*, 2002). Por lo anterior, después de estudiar varios casos, ahora se conoce que las comunidades de cianobacterias tienen un efecto tóxico sobre las comunidades de estos organismos

indicadores, por lo que es necesario considerarlas como complemento a estos índices (Fetscher *et al.*, 2014).

Actualmente, existen índices como el Índice de Estatus Trófico (PIT) basado en la presencia/ausencia de un rango amplio de cianobacterias y diatomeas (Schneider y Lindstrøm, 2011) y el de Índice de Integridad Biótica (IBI) que incluye la presencia/ausencia de macroinvertebrados, plantas, diatomeas y cianobacterias (Fetscher *et al.*, 2014).

Estos nuevos índices consideran a los organismos locales o regionales que son indicadores de diferentes variables ambientales, lo que resalta las dinámicas poblacionales del cuerpo de agua evaluado. Sin embargo, para hacer uso general de estos índices, es necesario contar con estudios que identifiquen los bioindicadores para cada región y ecosistema que se interese caracterizar y evaluar. Debido a lo anterior, en este estudio se identificaron las diatomeas y cianobacterias residentes de la zona, que pudieran ser utilizadas en un futuro monitoreo como parte de los indicadores que estos índices contemplan, con el uso de ellos dentro de un estudio de calidad de agua.

En el presente estudio, se identificaron las especies de cianobacterias y diatomeas dentro de la zona geotérmica de Los Negritos, donde, de acuerdo con los resultados se identificó el doble de géneros de cianobacterias en comparación con el número de géneros de diatomeas.

La mayoría de la población de ambos grupos estuvo presente en los cuerpos de agua del área radar; además de encontrar en esta área, el número mayor de poblaciones monoespecíficas de diatomeas, especies de cianobacterias con morfología filamentosa con/sin desarrollo de

heterocistos, y en algunas estaciones se identificaron especies de cianobacterias unicelulares en simbiosis con poblaciones de cianobacterias formadoras de colonias.

Lo anterior podría confirmar el efecto alelopático y/o competitivo de las especies de cianobacterias con respecto a la población de diatomeas mencionado anteriormente por Fetscher *et al.* (2014); sin embargo, existen otros estudios que confirman, que las comunidades de cianobacterias presentan una respuesta rápida a los cambios en el agua aún mayor a las diatomeas, lo que genera el crecimiento de su población y pueden ser considerados como bioindicadores de una variable ambiental dentro de la evaluación de la calidad de agua (Douterelo *et al.*, 2004).

Es importante resaltar que el área radar presentó impacto agrícola, escurrimiento y canalización de aguas grises y negras, por lo que la respuesta más cercana al número mayor de géneros de cianobacterias de acuerdo a la literatura del monitoreo de aguas eutrofizadas, es que una alta población monoespecífica de diatomeas existe cuando se tiene presente altas concentraciones de nitratos y fosfatos, lo que sugiere que las especies de diatomeas de alta tasa celular pueden provocar el desplazamiento o erradicación de otras especies de diatomeas en el medio en el que se desarrollan (Gudmundsdottir *et al.*, 2013).

Lo anterior también podría explicar la presencia de especies de cianobacterias en el medio como *Leptolyngbya laminosa*, *Phormidium murrayi*, *Planktothrix mougeotii*, *Oscillatoria corallinae*, *Nostoc microscopicum*, *Nostoc punctiforme*, *Nostoc ellipsoforum*, *Nostoc entophytum* que pueden tomar el nitrógeno en forma de nitratos, sin embargo, cuando éstas se vuelven limitantes, estas cianobacterias pueden realizar su metabolismo a través de

la fijación de nitrógeno atmosférico (N<sub>2</sub>), lo que aumenta el número de heterocistos en sus filamentos o su densidad celular (Maeda y Omata, 2009).

Durante el procedimiento de aislamiento e identificación de microorganismos en este trabajo, se observaron casos de simbiosis. Esto debido a la presencia de la especie *Prochlorococcus marinus* en todas las estaciones de muestreo.

Esta cianobacteria no es capaz de fijar nitrógeno a falta de heterocistos, o asimilar iones de nitrato ya que no cuentan con la enzima nitrato-reductasa de acuerdo con el trabajo de García-Fernández *et al.* (2004) y Aichi *et al.* (2006), al igual que algunas especies registradas en sistemas geotérmicos (Miller y Castenholz, 2001) por lo que la presencia de esta especie dentro de todas las áreas estudiadas fue explicada por simbiosis.

La simbiosis de la especie *Prochlorococcus marinus* está registrada en la literatura con especies como *Thermosynechococcus elongatus* y *Nostoc punctiforme* (Maeda y Omata, 2009), en donde realizan la asimilación de iones de nitrato o fijación de nitrógeno, los reducen a iones de nitritos, que finalmente son aprovechados por la especie *Prochlorococcus marinus* permitiéndole realizar sus funciones metabólicas, su crecimiento y aumento de la población (Maeda *et al.*, 1998).

Para la comprensión y determinación de la estructura de un ecosistema, son utilizados frecuentemente los índices de diversidad de especies (riqueza Shannon, equidad Jacquard, diversidad Simpson, riqueza de Shannon-Wiener), en especial en los estudios de línea base para explicar los patrones espaciales, temporales y arreglo de comunidades bióticas (Borics *et al.*, 2012; Stenger-Kovacs *et al.*, 2014).

No obstante, estos índices no reflejan el impacto que sufren las comunidades ante un factor de estrés intermitente, por lo que su utilidad solo se tiene cuando existe un registro de una gran alteración o contaminación en el sitio evaluado (muchas veces no reversible); además estos índices no integran los parámetros físicoquímicos presentes en el sitio (Chen *et al.*, 2016).

Es por esto, que la aplicación de un análisis integral como el ACC, ha sido utilizado para identificar la relación entre la presencia de las variables ambientales que tienen presión sobre los sistemas y la(s) especie(s) que se encuentra sujeta a estas variables haciéndolas bioindicadoras de cambios iniciales y/o drásticos en el medio.

Algunos sitios donde se ha utiliza el análisis ACC para conocer el estado de la calidad de los ecosistemas acuáticos son: Weckström y Juggins (2005) en el estudio del Golfo de Finlandia, del Mar Báltico con una relación de sps- variables ambientales explicada de 33.7%, Lane y Brown (2007) en el estudio de los humedales de Florida, EE. UU con una relación de sps- variables ambientales explicada del 69.5 %; Beyene *et al.* (2009) en el estudio de la contaminación de los ríos Kebena y Akaki en Addis Ababa, Etiopía con una relación de sps- variables ambientales explicada del 61.5%; Kireta *et al.* (2012) en los ríos de Missouri y Mississippi con una relación de sps- variables ambientales explicada del 53%; Stenger-Kovács *et al.* (2013) en los cambios de las aguas superficiales de Torna, Hungría con una relación de sps- variables ambientales explicada del 62.6%; Chen *et al.* (2016) en el estudio de la calidad de agua de la zona urbana y rural de Beijín, China con una relación de sps- variables ambientales explicada del 77.3 %.

En este trabajo, el uso del análisis de correlación ACC con una selección de variables significativas, presento una acumulación de varianza del 64.6% y una relación de sps-variables ambientales explicada del 85.4 % , lo que permitió identificar cuales las variables ambientales que rigen la estructura de la comunidad microbiana evaluada, que de manera anual y en orden de importancia fueron: las concentraciones de Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, As, B, Salinidad, K, SDT, iones de nitritos, parámetros de óxido-reducción, la temperatura y la concentración de metales traza como el V, Mn y Pb.

Dentro del área geotérmica las altas concentraciones de sales de sodio y potasio, en conjunto con la característica de un sitio oligotrófico (Hillebrand y Sommer, 1996; Howard *et al.*, 2007; Loureiro *et al.*, 2009) y con poca luz están ligadas al buen funcionamiento metabólico de las especies como *Nostoc punctiforme* y *Pseudo-nitzschia* sp. (Mengelt y Prézelin, 2002); mientras los metales traza pueden funcionar como cofactores para realizar el metabolismo de la especie *Phormidium murrayi* (Baptista y Vasconcelos, 2006), así también, la importancia de la variable temperatura fue correlacionada en este análisis, que rige las actividades metabólicas de la especies *Crocospaera watsonii* (Webb *et al.*, 2009; Bench *et al.*, 2011) y *Eucapsis alpina* (Melo y Huszar, 2000).

La variable que rigió el área radar fue la concentración de iones de nitritos, esto explica una alta actividad metabólica microbiana en el sitio, que resulta en una alta riqueza de cianobacterias que tienen enzimas reductoras de iones de nitrato a iones de nitrito (Maeda *et al.*, 1998).

Finalmente, es importante señalar que dentro del área control no se presentó una variable significativa que relacione la presencia de la microflora identificada, sin embargo, especies como *Calothrix parientina*, *Calothrix brevissima*, *Nostoc microscopicum* y *Nostoc ellipsosporum*, tienen una gran habilidad para reservar moléculas de fósforo, lo que mantiene en equilibrio la población de especies en aguas eutróficas (Mateo *et al.*, 2006), además de que las especies *Nostoc* sp. son tolerantes a medios salinos (Blumwald y Tel-Or, 1982).

Trabajos como el de Weckström y Juggins (2005), han sido reconocidos como los más completos para conocer la relación de las variables ambientales con la microflora estudiada, estos autores sugieren que la simple presencia, ausencia o cambio en la densidad poblacional de alguna especie identificada como indicador de una variable ambiental, puede indicar el comienzo de un cambio importante en la calidad de medio en donde se encuentra (Weckström y Juggins, 2005).

En el presente trabajo se pudo constatar, de acuerdo a la tabla 9, que existe presencia de los organismos identificados como bioindicadores de diferentes variables ambientales dentro de la zona geotérmica de Los Negritos, Michoacán. Esto podría explicarse de acuerdo a Morley y Karr (2002), por cambios en el flujo de las corrientes y/o por acarreo, simbiosis de microorganismos indicadores con otras especies, y/o cambios en la presencia de variables ambientales (Besse-Lotskaya *et al.*, 2011), así como también, este trabajo puede sugerir la expresión de otras manifestaciones geotérmicas dentro de la zona debido a la permeabilidad del suelo.

Los cambios en las variables ambientales pueden lograr hacer propicia la reproducción de microorganismos que estuvieron en latencia por largos periodos debido a que los cambios ambientales podrían contribuir a tener un enriquecimiento de nutrientes o metales en el medio, ideales para el desarrollo de estos. Por lo que, la presencia de los microorganismos identificados en este trabajo, podrían ser la base para realizar estudios asociados a los pesticidas y fertilizantes utilizados en las prácticas de agricultura en la zona de los Negritos. Estos resultados podrían complementar el estudio de bioindicadores para identificar o descartar rutas de enriquecimiento de elementos químicos expuestos por el sistema geotérmico o bien, por suplemento de elementos debido a las actividades agrícolas.

---

## IX. Conclusiones

1. La identificación y distribución del grupo de diatomeas y cianobacterias en las estaciones de muestreo mostraron tener una correlación de 85.4 % con las variables ambientales evaluadas, lo que se sugiere que la presencia de estos microorganismos puede ser utilizada como bioindicadores de las diferentes variables dentro de la zona geotérmica de Los Negritos, Michoacán.
2. El sistema geotérmico de lodos calientes se caracterizó por tener una alta temperatura y altos contenidos de B, As, Mo y U.
3. La zona geotérmica de Los Negritos, se caracterizó por presentar pH alcalinos, con altas concentraciones de iones disueltos y metales traza, que son característicos de los sistemas geotérmicos de lodos calientes y la litología del lugar.
4. Todas las estaciones de la zona geotérmica de Los Negritos presentaron concentraciones detectables de elementos traza, con una concentración mínima de 0.01 ppm.
5. Se identificaron 19 especies de cianobacterias y siete géneros de diatomeas dentro de la zona geotérmica en estudio.
6. Los taxa *Navicula* sp. y *Pinullaria* sp., se correlacionaron de acuerdo a un análisis de ACC a las concentraciones de As, *Phormidium murrayi* a concentraciones de B, *Pseudonitzschia* sp. al contenido de sales de Na<sup>+</sup>, *Nostoc punctiforme* al contenido de sólidos totales disueltos y sales Na<sup>+</sup>, *Crocospaera watsonii* correlacionada a las altas temperaturas, *Planktothrix mougeotii* correlacionada con niveles de óxido-reducción, *Eucapsis alpina*, *Leptolyngbya laminosa* y *Scytonema hofmanni* a la presencia de metales Mn, V y Pb.

7. Se determinó la dispersión de los taxa *Nostoc punctiforme* y *Phormidium murrayi* al área radar, *Snowella rosea* y *Leptolyngbya laminosa* al área radar y control, *Prochlorococcus marinus* al área geotérmica y control, *Thermosynechococcus elongatus* al área control, mientras las diatomeas *Navicula* sp. y *Pinnularia* sp. al área control.
8. Las altas concentraciones de iones determinados en el área radar, son evidencia de la presión antropogénica ejercida en la zona, reflejándose en altos contenidos de nutrientes, condiciones reductoras en el agua medios reductores en el agua, y una alta riqueza de la microflora identificada.
9. Las implicaciones que se dan a partir de este estudio en la zona geotérmica de Los Negritos, no solo son importantes para la evaluación de los cuerpos de agua y el estatus ecológico del sitio, si no también, para la interpretación de otros estudios (ej. geológicos, geoquímicos, salud pública) que tienen correlación con las variables ambientales y microbianas.

---

---

## **Recomendaciones**

En este estudio se presentan evidencias de concentración de metales traza As, B, Ba, Cd, Cu, Mn, Ni, Pb, V, y Zn, dentro de los cuerpos de agua de la zona geotérmica y control muestreada, los cuales pudieran afectar la calidad del suelo, la salud de la población humana y fauna, así las actividades económicas de la zona. Se recomienda realizar estudios geoquímicos, biológicos, genotóxicos y de riesgo a la salud pública e impacto ambiental dentro de los cuerpos de agua y suelo, así como estudios de calidad del producto agrícola para identificar niveles de riesgo y detección de zonas potenciales de impacto ambiental.

Dentro de este estudio, se identificaron taxa de cianobacterias que han sido catalogadas como toxicas para los humanos y fauna, por lo que se recomienda en una futura etapa de investigación, realizar estudios de densidad celular de las diferentes especies de cianobacterias identificadas en la tabla 10, así como su evaluación del área en el que se encuentran presentes, para evitar posibles riesgos a la salud humana y de fauna. La posible ingesta de estos microorganismos podría provocar desde reacciones en la piel, así como posibles inicios de cáncer respiratorio o de hígado.

**Tabla 10. Taxa de cianobacterias productoras de toxinas dañinas a la salud huma y fauna, identificadas en la zona geotérmica de Los Negritos, Michoacán. Dentro del informe EPA CCL3 (2011).**

Microorganismos metal	Área de presencia en ZGLN	Cianotoxina producida	Efecto a su exposición	Dosis media letal de ingestión DL <sub>50</sub> (µg kg <sup>-1</sup> )	Daño
<i>Microcystis</i> spp.	C	hepatotoxina	potente cancerígeno	25-60	hígado y riñón
<i>Planktothrix mougeotii</i>	R	hepatotoxina	potente cancerígeno	25-60	hígado y riñón
<i>Oscillatoria</i> spp.	R	hepatotoxina	potente cancerígeno	25-60	hígado y riñón
		neurotoxina	rápida parálisis del esqueleto y músculos respiratorios	200-250	
<i>Nostoc</i> spp.	G, R, C	hepatoxina	potente cancerígeno	25-60	hígado y riñón
<i>Lyngbya</i> spp.		dermatoxina	Irritación de la piel provocando cáncer de acuerdo al tiempo de exposición	25-60	piel
<i>Snowella</i> spp.	G, R, C	hepatotoxina	potente cancerígeno		hígado y riñón

---

---

## Literatura citada

Aboal, M., Puig, M.A., Mateo, P., Perona, E. 2002. Implications of cyanophyte toxicity on biological monitoring of calcareous streams in north-east Spain. *Journal Applied Phycology*. 14, 49–56.

Aichi, M., Yoshihara, S., Yamashita, M., Maeda, S., Nagai, K., Omata, T. 2006. Characterization of the nitrate-nitrite transporter of the major facilitator superfamily (the *nrtP* gene product) from the cyanobacterium *Nostoc punctiforme* strain ATCC 29133. *Bioscience Biotechnology Biochemistry*. 70: 2682–2689.

Allen, E.T., Day, A. 1935. *Hot Springs of the Yellowstone National Park*. Carnegie Institute of Washington Publ. 466 pp.

Andersen, R. A. 2005. *Algal Curing Techniques*. Phycological Society. Elsevier Academic Press. Amsterdam. 578 pp.

Astin, L.E. 2007. Developing biological indicators from diverse data: the Potomac Basin-wide Index of Benthic Integrity (B-IBI). *Ecological Indicators*. 7: 895–908.

ATSDR. 2005. *Toxicological Profile for Arsenic*. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Atlanta, Georgia. 454 p.p.

Arnórsson, S. 1985. The use of mixing models and chemical geothermometers for estimating underground temperatures in geothermal systems. *Journal of Volcanology and Geothermal Research*. 23: 299–335.

Arnórsson, S., Barnes, I. 1983. The nature of carbon dioxide waters in Snæfellsnes, western Iceland. *Geothermics*. 12: 171–176.

Arnórsson, S., Stefánsson, A., Bjarnason, J.Ö. 2007. Fluid-fluid interactions in geothermal systems. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*. 65: 259–312.

Baross, J. A., Lilley, M. D., Gordon, L. I. 1982. Is the CH<sub>4</sub>, H<sub>2</sub> and CO venting from submarine hydrothermal systems produced by thermophilic bacteria? *Nature, Lond.* 298: 366-368.

- Baptista, M.S., Vasconcelos, M.T. 2006. Cyanobacteria metal interactions: Requirements, toxicity, and ecological implications. *Crit. Rev. Microbiol.* 32: 127–137.
- Bench, S., Ilikchyan, I., Tripp, J., Zehr, J.P. 2011. Two strains of *Crocospaera watsonii* with highly conserved genomes are distinguished by strain-specific features. *Frontiers in Microbiology.* 2: 1-13
- Besse-Lototskaya, A., Verdonchot, P.F.M., Coste, M., Vijver, B.V. 2011. Evaluation of European diatom trophic indices. *Ecol. Indic.* 11: 456–467.
- Bessonova, E., Bortnikova, S., Gora, M.P., Manstein, Yu.A., Shevko, A.Ya., Panin, G.L., Manstein, A.K. 2012. Geochemical and geo-electrical study of mud pools at the Mutnovsky volcano (South Kamchatka, Russia): Behavior of elements, structures of feeding channels and a model of origin. *Applied Geochemistry.* 27(9):1829-1843.
- Beyene, A., Addis, T., Kifle, D., Legesse, W., Kloos, H., Triest, L. 2009. Comparative study of diatoms and macroinvertebrates as indicators of severe water pollution: Case study of the Kebena and Akaki rivers in Addis Ababa, Ethiopia. *Ecological Indicators.* 9:381-392.
- Blumwald, E., Tel-Or, E. 1982. Osmoregulation and cell composition in salt-adaptation of *Nostoc muscorum*. *Archives Microbiology.* 132(2): 168-172.
- Bolan, N., Kunhikrishnan, A., Thangarajan, R., Kumpiene, J., Park, J. 2014. Remediation of heavy metal (loid)s contaminated soils-To mobilize or to immobilize? *J hazardous materials.* 266:141– 166.
- Bolger, A. M., Lohse, M., Usadel, B. 2014. Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina Sequence Data. *Bioinformatics*, btu.170.
- Borics, G., Tothmeresz, B., Lukacs, B.A., Varbiro, G. 2012. Functional groups of phytoplankton shaping diversity of shallow lake ecosystems. *Hydrobiologia.* 698: 251–262.
- Bott, T. L., Brock, T. D. 1969. Bacterial growth rates above 90°C in Yellowstone hot springs. *Science.* 164: 1411-1412.
- Bresson, J.L., Flynn, A., Heinonen, M., Hulshof, K., Lagiou, P., Løvik, M., Marchelli, R., Martin, A., Moseley B., Przyrembel H., Salminen S., Strain J. S. J., Strobel S., Tetens I., van

- den Berg H., van Loveren H., Verhagen H. 2009. Opinion on the safety of Chia seeds (*Salvia hispanica* L.) and growth whole Chia Seed's as food ingredient. ESFA Journal. 996:1-26.
- Brock, T. D. 1967 a. Life at high temperature. Science. 158: 1012- 1019.
- Brock, T. D. 1967 b. Microorganisms adapted to high temperature. Nature, Lond. 214: 882-885.
- Brock, T. D. 1978. Thermophilic Microorganisms and Life at High Temperatures. Springer, New York. Brock.
- Brock, T. D., Brock, M. L. 1971. Temperature optimum of nonsulfur bacteria from a spring at 90°C. Nature. Lond. 233: 494- 495.
- Brock, T. D., Brock, M. L., Bott, T. L., Edwards, M. R. 1971. Microbial life at 90°C, the sulfur bacteria of Bould Spring. J. Bact. 107: 303-314.
- Calizaya-Anco, J., Avendano-Caceres, M., Delgado-Vargas, I. 2013. Evaluación de la calidad del agua fluvial con diatomeas (Bacillariophyceae), una experiencia en Tacna, Peru. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 30(1): 58-63.
- Cámara de Diputados del Honorable Congreso de la Unión. 2014. Ley de Energía Geotérmica, Diario Oficial de la Federación (DOF), 11 de agosto de 2014, Disponible en: Disponible: [http://www.diputados.gob.mx/LeyesBiblio/pdf/LEG\\_110814.pdf](http://www.diputados.gob.mx/LeyesBiblio/pdf/LEG_110814.pdf).
- Cámara de Diputados del Honorable Congreso de la Unión. 2015. Ley de Transición Energética 2 y 3. Disponible: <http://www.diputados.gob.mx/LeyesBiblio/pdf/LTE.pdf>
- Campeau, S., Murkin, H.R., Titman, R.D. 1994. Relative importance of algae and emergent plant litter to freshwater marsh invertebrates. Can J Fish Aquat Sci. 51: 681-692.
- Castenholz, R.W. 1969. The thermophilic cyanophytes of Iceland and the upper temperature limit. Journal of Phycology. 5(4): 360-368.
- Cairns, J.1995. Chemical versus biological pollution monitoring. In: Rana, B.C. (Ed.), Pollution and Biomonitoring. Tata McGraw Hill, New Delhi, pp. 7-25.
- Castenholz, R.W. 1976. The effect of sulfide on the blue-green algae of hot springs. II. Yellowstone National Park. Microbial Ecology. 3: 79-105.

Chen, X., Zhou, W., Pickett, S.T.A., Li, W., Han, L., Ren, Y. 2016. Diatoms are better indicators of urban stream conditions: A case study in Beijing, China. *Ecological Indicators*. 60: 265-274.

Clark, C., Keipi, K. 2010. Indicators Program for Disaster Risk Management, Technical Cooperation Profile, Inter-American Development Bank, IADB, Washington, USA.

Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). 2015. (Recuperado: [www.conagua.gob](http://www.conagua.gob)).

Coal and natural gas from Platts Researching and Consulting, based on data from the EPA's Continuous Emissions Monitoring Program, 20003. Oil from U.S. EPA (2005). *Clean Energy Impacts*.

Commission Decision of 20 September 2013 establishing, pursuant to Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council, the values of the Member State monitoring system classifications as a result of the intercalibration exercise and repealing Decision 2008/915/EC. *Official Journal of the European Union* 2013/480/EU.

Cox E. 1991. What is the basis for using diatoms as monitors of river quality? In: Whitton BA, Rott E, Friedrich G, editors. *Use of algae for monitoring rivers*. Innsbruck: Institut für Botanik, Universität Innsbruck: 33-40.

Beyene, A., Addis, T., Kife, D., Legesse, W., Kloos, H., Triest, L. 2008. Comparative study of diatoms and macroinvertebrates as indicators of severe water pollution: Case study of Kebena and Akaki rivers in Addis Ababa, Ethiopia. *Ecological Indicators*. 9(2): 381-392.

Davis, T.A., Volesky, B., Mucci, A. 2003. A review of the biochemistry of heavy metal biosorption by brown algae. *Water Res.* 37: 4311–4330.

Della Bell, V. Puccinelli C. Marcheggiani S. Mancini L. 2007. Benthic diatom communities and their relationship to water chemistry in wetlands of central Italy. *Ann Limnol-Int J Lim.* 43(2):89-99.

Del Castillo, G. L., Diez, P.A. 1970. Estudio por sismología de refracción de una zona geotérmica. *Anales Del Instituto de Geofísica, U.N.A.M.* Vol. 15: 107-144.

Desrosiers, C., Leflaive, J., Eullin, A., Ten-Hage, L. 2013. Bioindicators in marine waters: Benthic diatoms as a tool to assess water quality from eutrophic to oligotrophic coastal ecosystems. *Ecological Indicators*. 32: 25-34.

Doutereho, I., Perona, E., Matero, P. 2004. Use of cyanobacteria to assess water quality in running waters. *Environmental Pollution*. 127(3): 377-384.

EUR-Lex. 2000. Directiva 2000/60/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 23 de octubre de 2000, por lo que se establece el marco comunitario de actuación en el ámbito de la política del agua.

Estrategia Nacional de Energía (ENE). 2011. Evaluación de la Energía Geotérmica en México, Informe para el Banco Interamericano de Desarrollo y Comisión Reguladora de Energía. DF. México.

Fernández-Turiel, J.L., García-Valles, M., Gimeno-Torrente, D., Saavedra-Alonso, J., Martínez-Manent S. 2005. The hot spring and geyser sinters of El Tatio, Northern Chile. *Sediment Geology*. 180: 125–147.

Fetscher, A.E. 2014. Development and comparison of stream indices of biotic integrity using diatoms vs. non-diatom algae vs. a combination. *Journal Applied Phycology*. 26: 433–450

Flowers, T., Colmer, T.D. 2015. Plant salt tolerance: adaptations in halophytes. Preface: Part of a special issue on halophytes and saline adaptations. *Annals of Botany*. 115: 327-331.

Fournier, R.O. 1989. Geochemistry and dynamics of the Yellowstone National Park hydrothermal system. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences*. 17: 13–53.

García, E. 2004. Modificaciones al Sistema de clasificación climática de Köppen. Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México. 98 pp.

García-Fernández, J. M., Tandeau de Marsac, N., Diez, J. 2004. Stream lined regulation and gene loss as adaptive mechanisms in *Prochlorococcus* for optimized nitrogen utilization in oligotrophic environments. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 68: 630–638.

Gebrehiwot, K. 2005. Geothermal mapping in western Ölkelduháls field, Hengill Area, SW-Iceland. Geothermal Training Programme. The United Nations, University. Reykjavik, Iceland. Report UNU-GTP-2005-07. 61-82.

- Ghozzi, K., Zemzem, M., Ben Dhiab, R., Challouf, R., Yahia, A., Omrane, H., Ben Ouada, H. 2013. Screening of thermophilic microalgae and cyanobacteria from Tunisian geothermal sources. *Journal of Arid Environments*. 97: 14-17.
- Giggenbach, W.F., Sheppard, D.S., Robinson, B.W., Stewart, M.K., Lyon, G.L. 1994. Geochemical structure and position of the Waiotapu geothermal field, New Zealand. *Geothermics*. 23: 599–644.
- Giggenbach, W.F., Stewart, M.K. 1982. Processes controlling the isotopic composition of steam and water discharges from steam vents and steam-heated pools in geothermal areas. *Geothermics*. 11: 71–80.
- Goldstein, B., Hiriart, G., Bertani, R., Bromley, C., Gutiérrez-Negrín, L., Huenges, E., Muraoka, H., Ragnarsson, A., Tester, J., Zui, V. 2011. Geothermal Energy. In: IPCC Special Report on Renewable Energy Sources and Climate Change Mitigation [O. Edenhofer, R. Pichs-Madruga, Y. Sokona, K.Seyboth, P. Matschoss, S. Kadner, T. Zwickel, P. Eickemeier, G. Hansen, S. Schlömer, C. von Stechow (eds.)], Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.
- González-Acevedo, Z.I., Páres-Olguín, F. 2016. Propuesta metodológica para determinar el desarrollo sustentable de zonas con potencial geotérmico. *Revista Geotermia*. 29(2): 37-48.
- Grether-Beck, S., Mühlberg, K., Brenden, H., Felsner, I., Brynjólfssdóttir, A., Einarsson, S., Krutmann, J. 2008. Bioactive molecules from the Blue Lagoon: *in vitro* and *in vivo* assessment of silica mud and microalgae extracts for their effects on skin barrier function and prevention of skin ageing. *Experimental Dermatology*. 1-8.
- Gudmundsdottir, S., Palsson, S., Hannesdottir, E. R., Olafsson, J.S., Gislason, G.M., Moss, B. 2013. Diatoms as indicators: The influences of experimental nitrogen enrichment on diatom assemblages in sub-Arctic streams. *Ecological Indicators*. 32: 74-81.
- Guillard, R. L. L., Ryther, J.H., 1962. Studies on marine planktonic diatoms I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* (Cleve). *Gran. Can. J. Microbiol.* 8: 229- 239.
- Gutierrez-Negrín, L. 2012. Update of the Geothermal Electric Potential in Mexico. *GRC Transactions*. 36: 671-677.

- Hedenquist, J. W. 1991. Boiling and dilution in the shallow portion of the Waiotapu geothermal system, New-Zealand. *Geochemical in Cosmochemical Acta* 55, 2753–2765.
- Hering, D., Johnson, R.K., Kramm, S., Schmutz, S., Szoszkiewicz, K., Verdonshot, P.F.M., 2006. Assessment of European streams with diatoms, macrophytes, macroinvertebrates and fish: a comparative metric-based analysis of organism response to stress. *Freshwater Biol.* 51, 1757–1785.
- Hill, M. O. 1973. Reciprocal averaging; an eigenvector method of ordination. *Journal of Ecology.* 61: 237-249.
- Hill, M. O. 1979. DECORANA--a FORTRAN program for detrended correspondence analysis and reciprocal averaging. Ithaca, NY. Ecology and Systematics, Cornell University.
- Hillebrand, H. and Sommer, U. 1996. Nitrogenous nutrition of the potentially toxic diatom *Pseudo-nitzschia pungens* f. *multiseries* Hasle. *J. Plankton Res.*, 18, 295–301
- Hochstein, M. P., Browne, P. R. L., 2000. Surface manifestations of geothermal systems with volcanic heat sources. In: Sigurdsson, H. (Ed.), *Encyclopedia of Volcanoes*. Academic Press, San Diego, pp. 835–855.
- Howard, M. D. A., Cochlan, W. P., Ladizinsky, N. 2007. Nitrogenous preference of toxigenic *Pseudo-nitzschia australis* (Bacillariophyceae) from field and laboratory experiments. *Harmful Algae*, pp. 206–217.
- Hutorowicz, A., Napiórkowska-Krzebietke, A. 2014. The European Union Water Framework Directive and the Ecological status assessment of inland waters. *Archives Polish Fishes*.
- Instituto Nacional de Ecología (INE). 2005. Muestreo y caracterización de un sitio. Capítulo 3. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, México 9 p. (Recuperado: [www.ine.gob.mx/ueajei/publicaciones/libros/459/cap3.html](http://www.ine.gob.mx/ueajei/publicaciones/libros/459/cap3.html). Consulta 15/01/2009).
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). 2016. Información por Entidad. (Recuperado: <http://www.cuentame.inegi.org.mx>).
- International Atomic Energy Agency. 2014. Sampling procedures for Isotope Hydrology. (Recuperado: [http://www-naweb.iaea.org/napc/ih/IHS\\_publication.html](http://www-naweb.iaea.org/napc/ih/IHS_publication.html)).

- Jarvie, H. P., Sharpley, A. N., Withers, P. J. A., Scott, J. T., Haggard, B. E., Neal, C. 2013. Phosphorus mitigation to control river eutrophication: murky waters, inconvenient truths, and “postnormal” science. *J Environ Qual* 42:295–304. doi:10.2134/jeq2012.0085
- Jonker, C. Z., Ginkel, C.V., Olivier, J. 2013. Association between physical and geochemical characteristics of thermal springs and algal diversity in Limpopo Province, South Africa. *39(1): 95-103.*
- Kaasalainen, H., Stefánsson, A. 2012. The chemistry of trace elements in surface geothermal waters and steam, Iceland. *Chemical Geology*. 330-331: 60-85.
- Kireta, A. R., Reavie, E. D., Sgro, G. V., Angradi, T. R., Bolgrien, D. W., Hill, B. H., Jicha, T. M. 2012. Planktonic and periphytic diatoms as indicators of stress on great rivers of the United States: Testing water quality and disturbance models. *Ecological Indicators*. 13: 222-231.
- Kovacs, M. 1992. Biological indicators of environmental pollution. In M Kovacs (ed.). *Biological indicators in environmental protection*. New York: Ellis Horwood. Water SA.
- Kristmannsdóttir, H. and Armannsson, H. 2003. Environmental aspects of geothermal energy utilization. *Geothermics*. 32: 451-461.
- Lane, C. R., Brown, M. T. 2007. Diatoms as indicators of isolated herbaceous wetland condition in Florida, USA. *Ecological Indicators*. 7: 521-540.
- Lurling, M., Roessink, I. 2006. On the way to cyanobacterial blooms: impact of the herbicide metribuzin on the competition between a green alga (*Scenedesmus*) and a cyanobacterium (*Microcystis*). *Chemosphere* 65: 618-626.
- Lo, Y. C., Cheng, C. L., Han, Y. L., Chen, B. Y., Chang, J. S. 2014. Recovery of high-value metals from geothermal sites by biosorption and bioaccumulation. *Bioresource Technology*. 160: 182-190.
- López-Hernández, A. 2009. Evolución volcánica del complejo Tulancingo-Acozulco y su Sistema hidrotermal, Estados de Hidalgo y Puebla, México. Tesis de Doctorado, Ciencias de la Tierra, U.N.A.M. 170 pp.

- López-Hernández, A., Castillo-Hernández, D. 1997. Exploratory drilling at Acoculco, Puebla, Mexico: a hydrothermal system with only nonthermal manifestations. *Geotherm. Resour. Counc. Trans.* 21,429–433.
- Loureiro, S., Jauzein, C., Garcés, E., Collos, Y., Camp, J., Vaqué, D. 2009. The significance of organic nutrients in the nutrition of *Pseudo-nitzschia delicatissima* (Bacillariophyceae). *Journal of Plankton Research.* 31(4): 399-410.
- Madsen, E. L. 2008. *Environmental Microbiology: from genomes to biochemistry*. Cornell University, Wiley-Blackwell Ed. 479 pp.
- Maeda, S., Omata, T. 2009. Nitrite transport activity of the ABC-type cyanate transporter of the Cyanobacterium *Synechococcus elongatus*. *Journal of Bacteriology.* 191(10): 3265-3272.
- Maeda, S., Okamura, M., Kobayashi, M., and Omata, T. 1998. Nitrite-specific active transport system of the cyanobacterium *Synechococcus* sp. strain PCC 7942. *J. Bacteriol.* 180: 6761–6763.
- Maier, R. M., Pepper, I. L. and Gerba, C. P. 2000. *Environmental Microbiology*. Academic Press, San Diego, CA
- Martínez-Reyes, J., Vera-Romero, I., Estrada-Jaramillo, M., Ortiz-Soriano, A., Moreno-Nava, I., Montes-Ayala, F. G., García-Ávalos, F., Méndez-Ruiz, E. 2014. Geochemical prospection of the Chapala Ciénega at Michoacán State. *International Journal of Geosciences* 5: 1007-1011.
- Martín, G., Fernández, M. 2012. Diatoms as Indicators of Water Quality and Ecological Status: Sampling, Analysis and Some Ecological Remarks. *Ecological Water Quality Water Treatment and Reuse.* 183-204.
- Mateo, P., Douterelo, I., Berrendero, E., Perona, E. 2006. Physiological differences between two species of cyanobacteria in relation to phosphorus limitation. *J Phycology.* 42: 61–66. doi:10.1111/j.1529-8817.2006.00180.x
- Mateo, P., Leganés, F., Perona, E., Loza, V., Fernández-Piñas, F. 2015. Cyanobacteria as bioindicators and bioreporters of environmental analysis in aquatic ecosystems. *Biodiversity and Conservation.* 24(4): 909-948.

- Markússon, S. H., Stefánsson, A., 2011. Geothermal surface alteration of basalts, Krýsuvík Iceland – alteration mineralogy, water chemistry and the effects of acid supply on the alteration process. *Journal of Volcanology and Geothermal Research* 206, 46–59.
- Maznah, W., Wan, O. 2010. Perspectives on the Use of Algae as Biological Indicators for Monitoring and Protecting Aquatic Environments, with Special Reference to Malaysian Freshwater Ecosystems. *Tropical Life Sciences Research*, 21(2): 51-67.
- Melo S., Huszar, V. 2000. Phytoplankton in an Amazonian flood-plain lake (Lago Batata, Brasil): diel variation and species strategies. *Journal of Plankton Research*. 22(1): 63-76.
- Mengelt, C., Prézelin, B. B. 2002. Dark survival and subsequent light recovery for *Pseudo-nitzschia* multiseriis. In: *Harmful Algae 2002*. K. A. Steidinger, J. H. Landsberg, C. R. Miller, S. R. and Castenholz, R. W. 2001. Ecological physiology of *Synechococcus* sp. strain SH-94-5, a naturally occurring cyanobacterium deficient in nitrate assimilation. *Applied Environment Microbiology* 67: 3002–3009.
- Mischke, U., Venohr, M., Behrendt, H. 2011. Using phytoplankton to assess the trophic status of German Rivers. *Int Rev Hydrobiology* 96: 578–598.
- Mitrovic, S. M., Hardwick, L., Dorani, F., 2011. Use of flow management to mitigate cyanobacterial blooms in the Lower Darling River, Australia. *Journal of Plankton Research*, 33(2): 229-241.
- Morley, S. A., Karr, J. R. 2002. Assessing and restoring the health of urban streams in the Puget Sound Basin. *Conserv. Biol.* 16, 1498–1509.
- Murking, E. J., Murkin, H. R., Titman, R. D. 1992. Nektonic invertebrate abundance and distribution at the emergent vegetation-open water interface in the Delta Marsh, Manitoba, Canada. *Wetlands*, 12: 45-52.
- Ndiritu, G. G., Gichuki, N. N., Kaur, P., Triest, L., 2003. Characterization of environmental gradients using physico-chemical measurements and diatom densities in Nairobi River, Kenya. *Aquatic Ecosystem Health Management*. 6 (3), 343–354.
- Nordstrom, K. D., McCleskey, B. R., Ball, J. W., 2009. Sulfur geochemistry of hydrothermal waters in Yellowstone National Park: IV Acid-sulfate waters. *Applied Geochemistry* 24, 191–207.

- Norris, R. H., Thoms, M. C., 1999. What is river health? *Journal of Freshwater Biology*. 41: 197–209. doi:10.1046/j.1365-2427.1999.00425.
- Onay, M., Sonmez, C., Oktem, H. A., Yucel, A. M. 2014. Thermo-resistant green microalgae for effective biodiesel production: Isolation and characterization of unialgal species from geothermal flora of Central Anatolia. *Bioresource Technology*. 169: 62-71.
- Paerl, H.W., Hall, N. S., Calandrino, E. S. 2011. Controlling harmful cyanobacterial blooms in a world experiencing anthropogenic and climatic-induced change. *Sciences of Total Environment*. 409, 1739-1745.
- Paerl, H. W., Huisman, J. 2009. Climate change: a catalyst for global expansion of harmful cyanobacterial blooms. *Environmental Microbiology Reports*. 1, 27-37.
- Pirajno, F. 2010. *Hydrothermal processes and mineral systems: Australia*, Springer. 1250.
- Potapova, Marina, and Charles, D. F., 2007. Diatom metrics for monitoring eutrophication in rivers of the United States: *Ecological Indicators*. 7: 48–70.
- Quiblier, C., Wood, S., Echenique-Subiabre, I., Heath, M., Villeneuve, A., Humbert, J. F. 2013. A review of current knowledge in toxic benthic freshwater cyanobacteria Ecology, toxin production and risk management. *Water research*. 47: 5464-5479.
- Rippka, R., Deruelles, J., Waterbury, J. B., Herdman, M., and Stanier, R. Y. 1979 "Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria". *J. Gen. Microbiol.* 111:1–61, 1979. [122] A.G. Ostle, A.G., J.G. Holt. "Nile blue as fluorescent strain for Poly- $\beta$ -hydroxybutyrate". *Appl. Environ. Microbiol.* 441(1): 238-241.
- Rochelle, P. A. 2001. *Environmental Molecular Microbiology: Protocols and applications*. Horizon Scientific, Wymondham, UK.
- Roeselers, G., Norris, T. B., Castenholz, R. W., Rysgaard, S., Glud, R. N., Kuhl, M., Muyzer, G. 2007. Diversity of phototrophic bacteria in microbial mats from Arctic hot springs (Greenland). *Environmental Microbiology*. 9, 26-38.
- Round, F. E. 1991. Use of diatoms for monitoring rivers, In: *Use of algae for monitoring rivers*, Rott, B. A. E. & Friedrich, G. Eds. 25-32.

- Rybach, L. 2003. Geothermal energy: sustainability and the environment. *Geothermics*. 32: 463-470.
- Sabater, F., Sabater, S., Armengol, J. 1990. Chemical characteristics of a Mediterranean river as influenced by land uses in the watershed. *Water Res.* 24:143-155.
- Salas-Ariza, J. J. 2009. Estudio Geofísico en el sector Centro-Occidental del Cinturón Volcánico Transmexicano: Graben de Chapala. Tesis de Ingeniería. Escuela Superior de Ingeniería y Arquitectura, Ciencias de la Tierra. I.P.N. 108 pp.
- Schneider, S. C., Lindstrøm, E. A., 2011. The periphyton index of trophic status PIT: a new eutrophication metric based on non-diatomaceous benthic algae in Nordic rivers. *Hydrobiologia*. 66 (1): 143–155.
- Sember, C. 2002. The effect of nutrient levels and ratios on the growth of *Microcystis aeruginosa* and microcystin production. Unpublished Masters dissertation, University of Port Elizabeth.
- Singh, S. P., Rastogi, R.P., Häder, D.P., Sinha, P. 2011. An improved method for genomic DNA extraction from cyanobacteria. 27: 1225-1230.
- Shortall, R., Brynhildur, D., Guoni, A. 2015. Geothermal energy for sustainable development: a review of sustainability impacts and assessment frameworks. 44: 391–406.
- Soltani, N., Khodaei, K., Alnajjar, N., Shahsavari, A., Ashja Ardalan, A. 2012. Cyanobacterial community patterns as water quality Bioindicators. *Iran J Fish Sci*. 11:876–891
- Sompong, U., Hawkins, P. R., Besley, C., Peerapornpisal, Y. 2005. The distribution of cyanobacteria across physical and chemical gradients in hot springs in Northern Thailand. *FEMS Microbiology Ecology*. 52: 365-376.
- Spencer, J. F. T. and Ragout de Spencer, A. L. 2004. *Environmental Microbiology: Methods and protocols*. Humana Press, Totowa, NJ.
- Stein, J. R. 1973. *Handbook of Phycological Methods. Culture Methods and Growth Measurement*. Cambridge University Press, New York. 448 pp.

- Stetter, K. O. 1984. Anaerobic life at extremely high temperature. *Origin of Life*. 14: 809-815.
- Stenger-Kovacs, C., Lengyel, E., Crossetti, L. O., Üveges, V., Padisák, J. 2013. Diatoms ecological guilds as indicators of temporally changing stressors and disturbances in the small Torna-stream, Hungary. *Ecological Indicators*. 24: 138-147.
- Stenger-Kovacs, C., Toth, L., Toth, F., Hajnal, E., Padisak, J., 2014. Stream order- dependent diversity metrics of epilithic diatom assemblages. *Hydrobiologia*. 721, 67–75.
- Sullivan, M. J., Moncreiff, C. A. 1990. Edaphic algae are an important component of salt marsh food-webs: evidence from multiples stable isotope analyses. *Marine Ecol Progr Ser*. 62: 149-159.
- Suthers, I. M., Rissik, D. 2009. *Plankton A guide to their ecology and monitoring for water quality*. CSIRO Publishing, Collingwood, Australia. 273 pp.
- Szabó, K.; Kiss, K. T.; Taba, G. & Ács, E. 2005. Epiphytic diatoms of the Tisza River, Kisköre Reservoir and some oxbows of the Tisza River after the cyanide and heavy metal pollution in 2000. *Acta Botanica Croatica*. 64(1) 1-46.
- Taylor, J. C., Prygiel, J., Vosloo, A., Pieter, A., Rey, D., Ransburg, L.V. 2007. Can diatom-based pollution indices be used for biomonitoring in South Africa? A case study of the Crocodile West and Marico water management area. *Hydrobiology*. 592(1): 455- 464.
- Thórhallsdóttir, T. E. 2007. Strategic planning at the national level: Evaluating and ranking energy projects by environmental impact. *Environmental Impact Assessment Review*. 27(6): 545-568.
- Thórhallsdóttir, Thóra, Ellen. 2016. in press. Environment and energy in Iceland: a comparative analysis of values and impacts. *Environmental Impact Assessment Review-Report of Working group 1*. Govt of Iceland.
- Tison, J., Giraudel, J.-L., Coste, M. 2007. Evaluating the ecological status of rivers using an index of ecological distance: an application to diatom communities. *Ecol. Indicators*. 8 (3) 285–291.

Uribe, E. 1992. Tecnología de Cultivo de Microalgas. Universidad Católica del Norte. Coquimbo, Chile.

U.S. EPA. 2002. Methods for Evaluating Wetland Condition: Using Algae to Assess Environmental Conditions in Wetlands. Office of Water, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC. EPA-822-R-02-021.

Van Ginkel, C. 2004. A National survey of the incidence of cyanobacterial blooms and toxin production in major impounds. Department of Water Affairs and Forestry, Pretoria.

Viggiano-Guerra, J. C., Flores-Armenta, M., Ramírez-Siva, G. 2011. Evolución del sistema geotérmico de Acozulco, Pue., México: un estudio con base en estudios petrográficos del pozo EAC-2 y en otras consideraciones. *Geotermia*. 24(1): 14-37.

Wang, Q., Garrity, G. M., Tiedje, J. M., Cole, J. R. 2007. Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy. *Appl Environ Microbiol*. 73(16): 5261–5267.

Ward, D. M., Ferris, M. J., Nold, S. C., Bateson, M. M. 1998. A natural view of microbial biodiversity hot spring cyanobacterial mat communities. *Microbiology and Molecular Biology* 62: 1353-1370.

Webb, E. A., Ehrenreich, I. M., Brown, S. L., Valois, F. W. and Waterbury, J. B. 2009. Phenotypic and genotypic characterization of multiple strains of the diazotrophic cyanobacterium, *Crocospaera watsonii*, isolated from the open ocean. *Environ. Microbiol*. 11 338–348.

Weckström, K., Juggins, S. 2005. Coastal diatom-environment relationships from the Gulf of Finland, Baltic Sea. *Journal of Phycology*. 42: 21–35.

Wetzel, R. G. 1996. Benthic algae and nutrient cycling in lentic freshwater ecosystems. En: Stevenson, R.J., Bothwell M.L., Lowe, R.L. (eds). *Algal Ecology: Fresh-water Benthic Ecosystems*. San Diego: Academic Press. 641-667.

White, D. E. 1957. Thermal waters of volcanic origin. *Bulletin of the Geological Society of America*. 68: 1637–1658.

Wher, J. D., Sheath, R.G. 2003. *Freshwater algae of North America Ecology and Classification*. Academic Press. California, EE.UU. 935 pp.

Whitton, B. A. 2012. In: Whitton, B.A. (Ed.), *Ecology of Cyanobacteria II: Their Diversity in Space and Time*. Springer. p. 760.

Yee, N., Phoenix, V. R., Konhauser, K. O., Benning, L. G. and Ferris, F. G. 2003. The effect of cyanobacteria on silica precipitation at neutral pH: implications for bacterial silicification in geothermal hot springs. *Chem. Geol.* 199: 83–90.

Zakaria, A. M., Abdulrahman, M. A., 2007. Cyanobacteria and their toxins in treatedwater storage reservoirs in Abha city, Saudi Arabia. *Elsevier. Toxicon.* 50: 75-84.

Zhang, Y. 1986. Thermophilic microorganisms in the hot spring of Tengchong geothermal area, West Yunnan, China. *Geothermics.* 15(3): 347-358.