



**UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO**

**DIVISIÓN DE INGENIERÍAS**

**CAMPUS GUANAJUATO**



**DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA EN MINAS, METALURGIA  
Y GEOLOGÍA**

**Diatomeas de la clase Bacillariophyceae en carpetas microbianas termofílicas presentes en  
aguas termales sulfurosas y su posible aplicación biotecnológica: una descripción general.**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**LICENCIATURA EN INGENIERO GEÓLOGO**

**PRESENTA:**

**ELIÁN GAEL NEGRETE ROJAS**

**DIRECTOR:**

**DRA. MARÍA JESÚS PUY Y ALQUIZA**

**CODIRECTOR:**

**DR. RAÚL MIRANDA AVILÉS**

**GUANAJUATO, GTO, 2021**

## ÍNDICE DE CONTENIDO

DEDICATORIA.....	4
AGRADECIMIENTOS.....	5
RESUMEN.....	6
INTRODUCCIÓN.....	8
CAPÍTULO I. GENERALIDADES.....	16
I.1.- Antecedentes .....	16
I.2.- Justificación.....	19
I.3.- Objetivo General .....	20
I.4.- Objetivos Específicos.....	20
CAPÍTULO II. DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO .....	21
II.1.- Localización del área de estudio.....	21
II.2.- Marco Geológico Regional .....	22
II.3.- Marco Geológico Local .....	23
CAPÍTULO III. METODOLOGÍA.....	26
III.1.-Etapa de Recopilación Bibliográfica.....	26
III.2.- Etapa de Campo.....	26
III.3.- Etapa de Laboratorio .....	28
III. 4. Etapa de Gabinete .....	30
CAPÍTULO IV. RESULTADOS .....	31
IV.1.- Caracterización fisicoquímica del agua de los manantiales termales.....	31
IV.2.- Aislamiento e identificación de microorganismos.....	34
IV.4.- Descripción de las diatomeas observadas en microscopio electrónico de barrido (MEB).....	44
DISCUSIÓN.....	46
CONCLUSIONES.....	48
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	50

## ÍNDICE DE IMÁGENES

<b>Imagen 1.</b> Morfología de algunas diatomeas.	8
<b>Imagen 2.</b> Composición de la frústula	9
<b>Imagen 3.</b> Estructura básica de la arquea.	10
<b>Imagen 4.</b> Manifestaciones termales en el estado de Guanajuato y los corredores de Comanjilla, la Gruta, la Caldera y San Bartolomé-Agua Caliente.	17
<b>Imagen 5.</b> Localización del área de estudio..	21
<b>Imagen 6.</b> Geología regional	22
<b>Imagen 7.</b> Fallas y unidades que afloran en el área de estudio	24
<b>Imagen 8.</b> Manantiales termales y esteras microbianas presentes en zona geotérmica de Comanjilla	26
<b>Imagen 9.</b> Diatomeas del área de estudio	44
<b>Imagen 10.</b> Diatomeas del área de estudio (MEB).	45

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Caracterización Física de las aguas M1 y M2 .....	32
<b>Tabla 2.</b> Análisis FRX de las aguas de los manantiales termales de la zona geotérmica de Comanjilla. ....	33
<b>Tabla 3.</b> Posibles aplicaciones de las diatomeas según la literatura. ....	36

## **DEDICATORIA**

A la memoria de mi padre que me enseñó el valor de la honestidad y responsabilidad, y sobre todo por su deseo de verme terminar esta etapa de mi vida. (†)

A la Dra. Puy por su vital apoyo y consejos en el momento más necesario siendo pieza clave para la culminación de este proyecto.

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradecimiento especial:

De la manera más sincera a la Dra. Puy, mi directora de tesis; por sus palabras, su apoyo, sus conocimientos, su tiempo, su dedicación, su comprensión y paciencia, sobre todo porque va acompañado de un interés genuino de querer ayudar y ser parte del crecimiento de nosotros sus alumnos. Estoy seguro de que sin su intervención no podría haber concluido con este camino que marca el fin de un trayecto y anuncia el inicio de un nuevo y mejor periodo en mi vida, de corazón ¡Gracias! La quiero; es un ejemplo para seguir.

A mis profesores:

A mi tutora, la Dra. Pooja por su acompañamiento y enseñanzas durante nuestra coincidencia en la carrera.

Al Dr. Miranda por ser mi codirector de tesis, por su participación y colaboración en mi formación académica.

Al Ing. Juan José por su apoyo y conocimientos mientras fue mi profesor.

A la Ing. Beatriz por su apoyo cuando necesite prácticas profesionales ya que creyó en mis capacidades y confió en mí, proponiéndome en una empresa para poder desarrollarlas, adquiriendo una experiencia muy agradable y enriquecedora.

A los profesores en general de la carrera por abonarme sus conocimientos y dedicar su tiempo a ello.

A la UG:

A la Universidad de Guanajuato, en especial a Departamento de Ingeniería en Minas, Metalurgia y Geología que es el recinto donde todo esto fue posible, a lo que representa, lo que permitió y facilitó para la interacción, crecimiento y desarrollo profesional de mi persona.

## RESUMEN

En el presente estudio, se caracterizaron fuentes hidrotermales ubicadas en la comunidad de Comanjilla, en el municipio de Guanajuato, México, con la finalidad de conocer la diversidad termófila microbiana existente en muestras de carpeta bacteriana pertenecientes a una fuente termal y su potencial biotecnológico para la formación de diversos productos industriales. Dicha fuente termal corresponde a la zona geotérmica de Comanjilla en donde se localizan 25 manantiales hidrotermales, algunos como hervideros con depositación de azufre y sales con temperaturas superficiales entre 45°C y 92°C, distribuidos en un área de 1.2 km<sup>2</sup>. Se estudió una fuente termal evaluando temperatura de emergencia, aspecto, olor, sabor, mineralización, dureza, turbiedad, sólidos disueltos y las concentraciones de cationes (Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Li, Al<sup>3+</sup>, Fe<sup>3+</sup>), aniones (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, Cl<sup>-</sup>, F<sup>-</sup>, SH<sup>-</sup>) y oligoelementos (Cr, Co, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Se, Si, V, I y Zn), permitiendo clasificarlas, en cuanto a su composición química y termalismo como aguas hipertermales (45°C a 100°C) con una tendencia química global de los iones hacia un comportamiento de tipo H<sub>2</sub>S<sup>-</sup>-Na (sulfuradas sódicas), de origen profundo y de baja mineralización, observando un alto contenido de sílice y bajo en Calcio y Magnesio. Aplicando la técnica de tinción de Gram, se encontró que: 1) Los bacilos presentaban variaciones morfológicas (fusiforme, estreptobacilos, cocobacilos). Los cocos consistían en micrococos, que parecían aislados y dispersos después de la división celular; los diplococos aparecían en parejas; los estreptococos tendían a unirse en cadenas formadoras; los estafilococos aparecieron en grupos irregulares; 2) Bacterias termófilas: dos aislamientos (M1, M2) de alfombra bacteriana se caracterizaron por sus características morfológicas, microscópicas, moleculares y fisiológicas. La secuenciación del ADNr 16S de los aislados seguido de la búsqueda con BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) reveló que tres cepas (M1, M2) se identifican como *Bacillus licheniformis*, que representan dos géneros de bacterias termófilas: *Brevibacillus agri* y *Paenibacillus* sp; 3) Basado en la clasificación de diatomeas de Round et al. (1990) diatomeas termófilas de la clase Bacillariophyceae, representadas por los órdenes: *Navículas*, *Cymbellales*, *Rhopalodiales*, *Achnanthes*, *Cocconeidales* y *Bacillariales*, mostraron valvas rectas o curvas, con una gran variedad de formas, que van desde formas elípticas a formas lineales. Las valvas comenzaron su formación a partir de una costilla axial (esternón) que, a su vez, podría atravesarse o no por un par de fisuras (rafe). Estas estructuras se observaron en el microscopio electrónico de

barrido; 4) Teniendo en cuenta la clasificación de cianobacterias de Bergey Castenholz (2001), se identificaron (en temperaturas de 70 a 92°C), cianobacterias termófilas filamentosas del orden de *Nostocales* en la alfombra bacteriana, donde se observa en el microscopio electrónico de barrido, la presencia de heterocistos y akinete. Esta diversidad de microorganismos termófilos en la zona geotérmica de Comanjilla representa un lugar de gran interés desde el punto de vista biotecnológico e industrial. Al mismo tiempo, el estudio de las carpetas microbianas como una unidad funcional única, ayudará a entender mejor como estas comunidades complejas e integradas se adaptan a la vida entorno de las aguas termales.

## INTRODUCCIÓN

Las diatomeas son organismos unicelulares (microalgas), eucariotas y fotosintéticos. Dada su actividad fotosintética son responsables del 20-35% de la producción primaria terrestre total (Field et al., 1998) y de alrededor del 40% de la producción anual de biomasa marina (Falkowski et al., 1998) lo que los convierte en el taxón más dominante de organismos que capturan el carbono de la atmósfera. Estas microalgas poseen una pared celular (frústula) que tiene como principal función proteger la célula. La frústula contiene sílice (dióxido de silicio hidratado), está presenta diferentes formas geométricas (Imagen 1) que son características de cada tipo de especie y está constituida por valvas que están unidas por bandas (cíngulo); sobre las valvas se presentan poros (areolas) de gran diversidad (Imagen 2), los cuales permiten el intercambio de nutrientes y desechos (Lora-Vilchis et al., 2020).

**Imagen 1.** Morfología de algunas diatomeas.

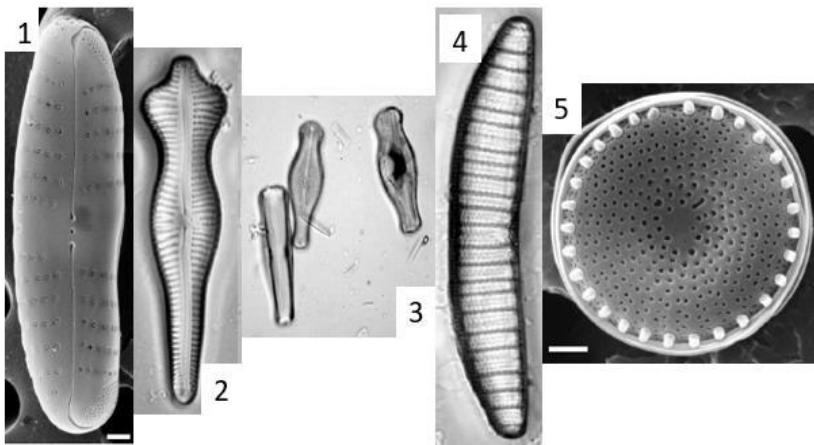


Imagen 1. En la imagen se observan las diferencias geomorfológicas de algunas diatomeas.

NOTA: Fotografías de diatomeas de la Cuenca del Cuero: 1. *Reimeria sinuata* (Gregory) Kociolek & Stoermer; 2. *Gomphonema acuminatum* Ehrenberg; 3. *Didymosphenia geminata* (Lyngbye) M. Schmidt in A. Schmidt et al.; 4. *Epithemia adnata* (Kützing) Brébisson; 5. *Stephanodiscus minutulus* (Kützing) Cleve & J.D. Möller.

Imágenes tomadas de ATLAS DE LAS DIATOMEAS DE LA CUENCA DEL DUERO, 2010 [Fotografía], © Universidad de León. Área de Publicaciones © Los autores.



## Imagen 2. Composición de la frústula

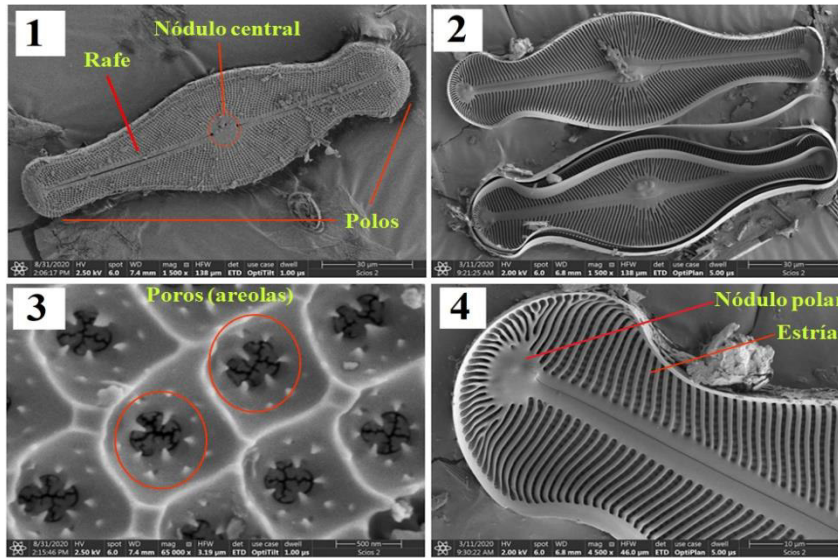


Imagen 2. Vista por SEM de organización celular de *Didymosphenia geminata*. Se observa claramente los componentes de la frústula.

NOTA: 1. Vista valva, 2. Interior valva, 3. Areolas (acercamiento vista interior en valva), 4. Nódulo polar (acercamiento vista interior en polo de valva).

Adaptado y modificado de Zgłobicka et. al 2021 [Fotografía], por Scientific Reports vol. 11, 2021, Nature scientific journal (<https://doi.org/10.1038/s41598-021-94069-9>). CC BY 4.0

Para su crecimiento las diatomeas necesitan un medio de cultivo base agua, macronutrientes (nitrógeno, fósforo, carbono y silicio), micronutrientes tales como metales traza (zinc, cobre, cobalto, molibdeno y manganeso entre otros) y vitaminas (Lora-Vilchis et al., 2020). En consecuencia estos microorganismos viven generalmente en ecosistemas marinos de agua dulce y terrestres (Ghozzi et al., 2013; Ramachandra et al., 2009), sin embargo, cada especie exhibe una tolerancia ambiental específica, es decir que forman conjuntos de especies correspondientes a la condición del hábitat (Kale y Karthick, 2015) y debido a que algunas especies tienen un alto grado de resistencia a condiciones extremas es posible encontrarlas en casi todos los ambientes acuáticos y continentales con contenidos de humedad incluidos los ambientes extremos, como lo son las aguas termales, hielos marinos, ambientes ácidos, ambientes alcalinos, hipersalinos o dulceacuícolas (Seckbach y Kociolek, 2011).

Uno de los factores más importantes que puede afectar a los microorganismos es la temperatura ya que esta puede alterar drásticamente el desarrollo de estos, pues puede acelerar sus reacciones metabólicas, causarles algún tipo de daño o incluso inactivarlos definitivamente (Medigan et al., 2001; Brock, 1978). Debido a los gradientes de temperatura presentes en el canal de flujo de agua termal, se pueden establecer diferentes comunidades microbianas (Singh, 2006; Lengeler et al., 1999; Austain, 1988), genéricamente se clasifican en psicrotróficos (temperaturas <10 °C), ambientales (temperatura entre 10-25°C), mesófilos: temperatura (temperaturas entre 35-37°C), termófilos (temperatura > 45°C). Con referencia a los termófilos, las membranas celulares contienen ácidos grasos saturados que proporcionan un ambiente hidrófobo para la célula y mantienen la rigidez celular a temperaturas elevadas (Herbert y Sharp, 1992). Además, las arqueas hipertermófilas tienen lípidos vinculados al éter en la pared celular (Imagen 3), que es responsable de la resistencia al calor (De-Rosa et al., 1994).

**Imagen 3.** Estructura básica de la arquea.

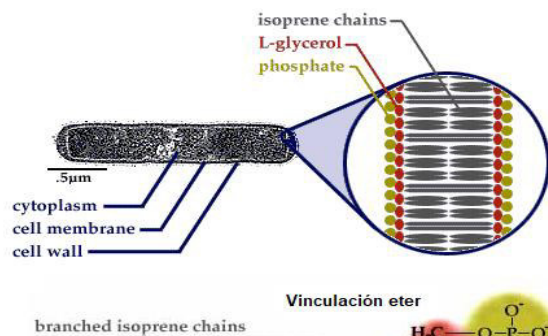


Imagen 3. En la imagen se observa la vinculación del éter a la pared celular.  
 NOTA: Estructura básica de la arquea y su vinculación éter, 2020 [Imagen].  
 Tomada de: <https://ucmp.berkeley.edu/archaea/archaeamm.html>

Las bacterias y arqueas termófilas son microorganismos que pueden soportar altas temperaturas. Ejemplos de estos microorganismos son los géneros *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Enterobacter*, *Acinetobacter* y *Arthrobacter*. El género *Bacillus* representa uno de los géneros más diversos de la clase bacilos, habitando lugares

extremos como las aguas termales. El mayor desafío para los microorganismos termofílicos es su supervivencia y producción de enzimas activas y estables y otras moléculas bioactivas a altas temperaturas. Aún queda en gran parte explorar su diversidad, filogenia molecular, la producción de enzimas biotecnológicamente útiles y otros compuestos.

Los microorganismos termofílicos representan la opción más prometedora como fuente de extremozimas con extrema estabilidad capaz de soportar condiciones drásticas del proceso. Las bacterias son el grupo más dominante de esta diversidad que existe en diversos nichos ecológicos, incluyendo ambientes extremos presentes tanto en la litosfera como en la hidrosfera, donde sus habilidades metabólicas juegan un papel crítico en el ciclo de nutrientes geoquímicos y la producción de una amplia gama de productos de importancia industrial (Rolf, 2005).

En los últimos años, las diatomeas se han estudiado no sólo desde el punto de vista académico, sino también dentro de aplicaciones industriales, biotecnológicas y comerciales. Prueba de ello son las aplicaciones que se les han dado en el sector industrial y comercial, tales como carbono neutral, síntesis de combustibles, productos farmacéuticos, biofertilizantes, alimentos saludables, biomoléculas, materiales relevantes para la nanotecnología y biorremediación de agua contaminada, biofiltración de desechos industriales, biomonitorización, paleoecología y análisis forenses, que pueden combinarse en un futuro próximo para hacer de las diatomeas una fuente lucrativa de sustancias novedosas con gran relevancia (Kale y Karthick, 2015; Bozarth et al., 2009). En las ciencias forenses se pueden usar las diatomeas para la determinación de la causa de muerte por ahogamiento gracias al pequeño tamaño que poseen (Maidana, 2013). En materia de ecología y medio ambiente pueden ser usadas por ser excelentes indicadores en biomonitoreo en sistemas hídricos, así como en valorar la presencia y concentración de metales pesados pues estos pueden generar malformaciones en las diatomeas que sirve como indicativo, así mismo pueden servir como biosensores del estado ambiental y asociarlas con valores cualitativos, como la materia orgánica disuelta en el agua, lo que permitirá saber los grados de sustancias que se incorporan a través de basura y desechos agrícolas y urbanos (CONABIO, 2012).

Además, generalmente las diatomeas son productoras de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA's), ácidos grasos altamente insaturados (HUFA) y especialmente ácido eicosapentaenoico (EPA), lo que ofrece la posibilidad de utilizarlas biotecnológicamente para obtener compuestos útiles para diversas industrias (Lora-Vilchis et al., 2020).

Debido a los gradientes de temperatura presentes en el canal de flujo de agua termal, se pueden establecer diferentes comunidades microbianas presentes (halófilos, termófilos, barófilos, psicrófilos) (Singh, 2006; Lengeler et al., 1999; Austain, 1988). Con referencia a los termófilos, las membranas celulares contienen ácidos grasos saturados que proporcionan un ambiente hidrófobo para la célula y mantienen la rigidez celular a temperaturas elevadas (Herbert y Sharp, 1992). Además, las arqueas hipertermófilas tienen lípidos vinculados al éter en la pared celular (Imagen 3), que es responsable de la resistencia al calor (De-Rosa et al., 1994).

La diversidad microbiana en esteras microbianas de aguas termales sulfurosas es un recurso importante para aplicaciones agrícolas, industriales y medicinales. Su importancia en los productos y procesos biotecnológicos es debido al rol de los microbios en el ciclo de nutrientes, la producción de grandes cantidades de productos químicos de base biológica, sustancias poliméricas, fuentes de energía y biocombustibles, desintoxicación ambiental, capacidades metabólicas en productos acidofílicos farmacéuticos y procesos industriales (Chen y Jiang, 2018; Bhandiwad et al., 2013; Lorenz y Eck, 2005; Ramachandra et al., 2009; Handelsman et al., 1998). En las aguas termales es común encontrar bacterias termofílicas y *actinomyces* (actinobacterias), que han sido menos exploradas debido a las dificultades de aislamiento y mantenimiento en el cultivo puro.

En cuanto a aguas termales refiere, podemos ubicarlas en diferentes países y regiones del mundo por lo que pueden exhibir una gran diversidad de propiedades geofísicas, geoquímicas y biológicas (diversidad microbiana) según la región y el origen de las aguas. De esta manera, la química de rocas y minerales es importante en los estudios de aguas termales dado que se puede obtener información sobre las interacciones agua-roca (Perri, 2014). De igual forma la diversidad microbiana presenta gran utilidad ya que los manantiales termales contienen microorganismos que tienen vías bioquímicas y productos metabólicos inusuales para

aplicaciones biotecnológicas (Lukavsky et al., 2011). Justamente estas diferencias hacen de las aguas termales un área de investigación interesante para aplicaciones biotecnológicas o ecológicas específicas (Prieto, 2017).

De acuerdo con Pinuaga (1992) la surgencia de las aguas termales se determina por dos tipos de condicionantes principales: fracturación intensa con una o varias fases tectónicas, de las que la última, debida a movimientos recientes, está a veces acentuada por algún tipo de actividad volcánica y por la presencia de valles o depresiones. Donde la fisuración activa limita la surgencia a accidentes geológicos particulares que permiten y facilitan el ascenso del agua, como lo son las diaclasas y fisuras finas, fallas y zonas de milonitización, contactos geológicos, diques eruptivos y filones (eruptivos y metalíferos) por mencionar algunos.

Por lo general las manifestaciones termales se encuentran a lo largo de las trazas de falla donde las aguas subterráneas se pueden almacenar y calentar hasta alcanzar una cierta profundidad y luego emerger en forma de agua caliente. El agua caliente contiene una amplia gama de minerales disueltos (Fe, Mn, Mg, Ca, Na) y trazas de gases (CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S, CO) (Reysenbach y Cady, 2001; Lengeler et al., 1999; Cowan, 1992). Los procesos geotérmicos tienen relación directa con la composición de las fuentes termales, de este modo proporcionan información útil sobre los componentes que las afectan lo que permite la evaluación de las aplicaciones de estas fuentes (Guo et al., 2017).

Las aguas termales han sido clasificadas de diferentes maneras por diversos autores, según diferentes criterios como la mineralogía, temperatura, concentración de cationes y aniones, residuo seco (RS), composición química, pH o composición fisicoquímica (Fagundo, s.f.).

En la presente investigación, las diatomeas de las aguas termales de Guanajuato, específicamente las del corredor de balnearios de Comanjilla han sido estudiadas para obtener información sobre la diversidad de géneros y especies que habitan estas aguas y desarrollar una comprensión de la ecología y el ciclo de vida de las diatomeas con el fin de poder utilizarlas para diversos fines comerciales e industriales, ya que no existen publicaciones sobre diatomeas térmicas en Guanajuato. Para ello se realizó la caracterización de parámetros fisicoquímicos, hidrogeoquímicos y microbiológicos de estas aguas mineromedicinales aplicando para ello hidrogeoquímica y microbiología.

Mediante la aplicación de la hidrogeoquímica pudimos conocer la temperatura de emergencia de la fuente, aspecto, olor, sabor, caudal, mineralización, dureza, alcalinidad, turbiedad, sólidos disueltos y suspendidos, las concentraciones de cationes ( $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mn}^{+2}$ ,  $\text{Li}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ) y aniones ( $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{F}^-$ ,  $\text{SH}^-$ ) más importantes en la caracterización de aguas subterráneas lo que nos permitió clasificarlas, en cuanto a su composición química y termalismo. Mientras que los microbiológicos se usaron en función de conocer la diversidad microbológica (hongos y bacterias) presentes en dichas aguas termales siendo de nuestro mayor interés las diatomeas de la clase Bacillariophyceae en carpetas microbianas termofílicas presentes.

La fuente térmica se estudió evaluando la temperatura de emergencia de la fuente, la apariencia, el olor, el sabor, la mineralización, la dureza, la turbidez, los sólidos disueltos y las concentraciones de cationes ( $\text{Na}$ ,  $\text{Mg}$ ,  $\text{Mo}$ ,  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{S}$ ,  $\text{Al}^{+3}$ ), aniones ( $\text{H}_2\text{S}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{Cl}$ ), óxidos ( $\text{SiO}_2$ ,  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{MgO}$ ,  $\text{K}_2\text{O}$ ,  $\text{P}_2\text{O}_5$ ,  $\text{SO}_3$ ,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ) y oligoelementos ( $\text{Cu}$ ,  $\text{Zr}$ ,  $\text{Si}$ ,  $\text{Ar}$  y  $\text{Rh}$ ), lo que les permite clasificarse, en términos de su composición química y termalismo como aguas hipertérmicas ( $45^\circ\text{C}$  a  $100^\circ\text{C}$ ) con una tendencia química global de los iones hacia un comportamiento de tipo  $\text{H}_2\text{S}^-$ - $\text{Na}$  (sulfuros de sodio), de origen profundo y de baja mineralización, observando un alto contenido de sílice y bajo en Calcio y Magnesio.

La hidrogeoquímica trata del origen, los procesos y la evolución de la composición del agua almacenada en las unidades hidrogeológicas (Moreno et al., 2007). Ésta es una herramienta importante que, además de determinar la calidad natural del agua para diferentes usos, mediante análisis fisicoquímicos e isotópicos, aporta información sobre el modelo hidrogeológico conceptual como la identificación de zonas de recarga y descarga, dirección del flujo subterráneo, mezclas e interconexiones de agua de diferentes orígenes (aguas superficiales y subterráneas, entre acuíferos), origen del agua subterránea, tiempo de residencia de las aguas subterráneas, identificación de ocurrencias de aguas termales y minerales. La información hidrogeoquímica puede incluir concentraciones de elementos menores y tierras raras (Horton et al., 2001; Valentino y Stanzione, 2002; Johannesson et al., 2005).

Las diatomeas estudiadas viven en aguas termales con temperaturas superficiales en un intervalo de 45°C a 92°C, junto con bacterias y cianobacterias, tienen la capacidad de soportar temperaturas altas por lo que son microorganismos termofílicos.

Se pretende que los datos que arroje esta investigación se puedan emplear para contribuir a un inventario de las especies de diatomeas presentes en aguas termales y hacer un comparativo con diatomeas reportadas en diferentes ecosistemas, de la misma manera será la base de un recurso de referencia para la detección y aplicación de estas diatomeas de aguas termales en procesos industriales y biotecnológicos.

## **CAPÍTULO I. GENERALIDADES**

### **I.1.- Antecedentes**

Los orígenes del uso de las aguas termales se remontan a la edad de piedra, cuando los primeros habitantes de la tierra conocieron las milagrosas propiedades de estas aguas minerales. Se cree que los primeras instalaciones de balnearios se originaron hace más de 2000 años, existiendo evidencias de estas en el valle Indo en Mohenjo-Daro (actualmente Pakistán) y en la ciudad de Epidaurus, en la Antigua Grecia, además de la Isla de Creta y la ciudad egipcia de Tell el-Amarna edificada en el siglo XIV a. C.. (Pilquimán, 2012).

Para los greco-romanos el baño era un ritual. Para los griegos, el baño tenía un fin medicinal, reparador del cuerpo; de la mente y espíritu. Los romanos llamaban 'Balnea termas' a los edificios que albergaban sus baños públicos. Los primeros registros del uso de agua caliente en las "termas" son de finales del siglo V a.C.. Las termas fueron los primeros intentos de proporcionar baños comunales a gran escala, pero lo cierto es que cuando el emperador Agripa diseñó y creó las primeras grandes termas en el año 25 a.C., los ciudadanos romanos ya llevaban más de 200 años disfrutando de pequeños balnearios. La popularidad que alcanzaron fue lo que impulsó a Agripa a construir una colosal casa de baños en una zona céntrica de Roma (Mobellán-Fernández et al., 2012).

La presencia de manantiales termales en el estado de Guanajuato ha sido reconocida por los habitantes locales desde tiempos prehispánicos; existen evidencias de asentamientos de culturas como la Chupícuaro en zonas de manantiales termales en el actual Valle de Acámbaro quedando vestigios del aprovechamiento de estas (Martínez-Bravo et al., 2019). Las diversas manifestaciones de aguas termales en el estado de Guanajuato (Imagen 2) se encuentran distribuidas en diferentes partes del estado como resultado de la actividad tectónica y los fenómenos posteriores al intenso vulcanismo del que ha sido sometido su territorio, ya que pertenece a las provincias fisiográficas de la Mesa del Centro, Sierra Madre Oriental y Eje Neovolcánico (Puy et al., 2015) por lo que la presencia al exterior de este tipo de aguas está relacionada con la existencia de fallas que conectan el manantial profundo de aguas termales con la superficie, lo que permite el ascenso de las aguas.



Se han reportado varias fuentes térmicas en el estado de Guanajuato (INEGI, 1998) potencialmente explotables desde el punto de vista energético como medicinales y recreativos (Puy et al., 2015). Las manifestaciones de aguas termales en el estado de Guanajuato son numerosas (173), de acuerdo con Torres et al. (1993); 138 corresponden a pozos y 35 a manantiales. Las aguas de estos manantiales alcanzan temperaturas que varían entre 32° y casi 100°C, siendo notables los de Comanjilla (Corredor Silao-León), La Gruta (Corredor Dolores Hidalgo-Atotonilco), La Caldera (Corredor Abasolo-La Piedad), San Bartolomé Agua Caliente (Corredor Apaseo el Alto), situados respectivamente en los municipios de Silao, Dolores Hidalgo, Atotonilco, Abasolo y Apaseo el Alto, cuyas aguas tienen una temperatura de 92° a 93°C (Orozco, 1921), (Imagen 4).

**Imagen 4.** Manifestaciones termales en el estado de Guanajuato y los corredores de Comanjilla, la Gruta, la Caldera y San Bartolomé-Agua Caliente.

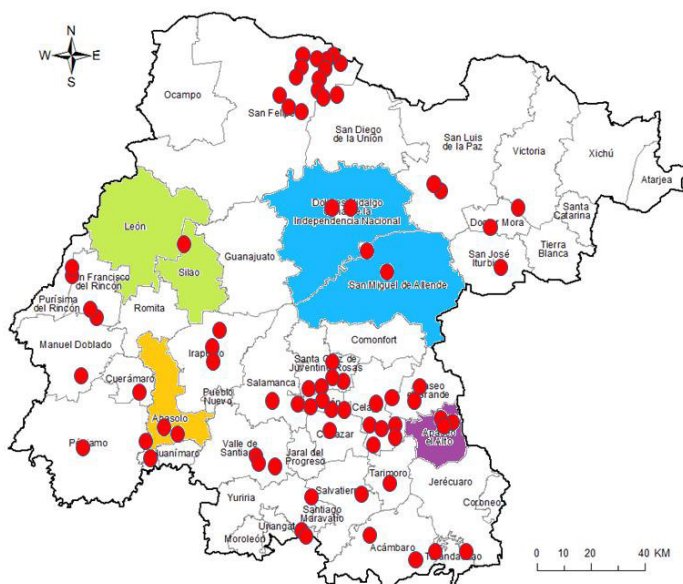


Imagen 4. Manifestaciones termales en el estado de Guanajuato y los corredores de Comanjilla (I.-Silao-León), la Gruta (II.-Dolores Hidalgo-Atotonilco), La Caldera (III.-Abasolo-La Piedad) y San Bartolomé-Agua Caliente (IV.- Apaseo el Alto).

Nota: en la imagen se muestra las manifestaciones termales (puntos rojos) en Guanajuato reportadas por SIEG (2013), con información del Sistema estatal de Información del estado de Guanajuato. La imagen se adaptó tomando en cuenta el mapa de SIEG, 2013 y un mapa del estado de Guanajuato con nombres, de INEGI/CONABIO (2010). I: verde, II: azul, III: amarillo y IV: morado. Editado.

Existe información bibliográfica e imagenológica de diatomeas descritas en distintos ambientes en diferentes regiones del mundo excepto México. Los estudios que se han realizado en México en aguas termales generalmente han sido con el propósito de generación de electricidad, pero el conocimiento de la diversidad de microorganismos que habitan estas aguas y del aprovechamiento de estos es limitado. Realizar este tipo de investigaciones podría ampliar potencialmente el aprovechamiento de este recurso además de la generación de información de diatomeas en ambientes térmicos para registro en nuestro país.

De los estudios que se han realizado en México sobre diatomeas termófilas podemos destacar el de López-Sandoval et al. (2016), donde sus autores describen la diversidad algal del manantial geotermal Los Hervideros, Michoacán, México, así como su distribución en relación con el gradiente de temperatura; en este estudio se identificó la dominancia de los géneros *Arthiropira* sp., *Synechococcus* sp. y *Synechocystis* sp. de la clase Cyanophyceae en temperaturas de 22 a 76 °C y especies Bacillariophyceae: *Achnantheidium exiguum*, *Haamphora veneta*, *Anomoeoneis costata*, *Diploneis elliptica* y *Pinnularia viridis* en temperaturas de 22 a 55 °C así como la especie *Oedogonium* sp. de la clase Chlorophyceae en temperaturas de 30 a 35 °C. También hay un estudio realizado por Covarrubias et., al (2016) donde los autores describen 12 especies de diatomeas que crecen de manera conspicua en la zona superior de la torre de enfriamiento de la central termoeléctrica de Villa de Reyes (centro de México) identificándolas como: *Nitzschia hantzchiana* Rabenhorst, *N. microcephala* Grunow, *N. sp.*, *Pinnularia latarea* var. *thermophile* K. Krammer, *Luticula goeppertiana* (Bleisch) Mann, *Gomphonema parvulum* (Kützing) Kützing, *Achnantheidium exiguum* (Grunow) D.B. Czarnecki, *Amphora ovalis* (Kützing) Kützing, *A. veneta* Kützing, y *A. pediculus* (Kützing) Grunow ex A. Schmidt (Orden Pennales), *Stephanocyclus menenghiniana* (Kützing) Skabitshevsky y *Stephanodiscus* sp. (Orden Centrales). Ambos estudios abren líneas de investigación para potenciales aplicaciones biotecnológicas de algunos tipos de diatomeas.

## I.2.- Justificación

Desde 1989 la Organización Mundial de la Salud (OMS) estableció que el uso de agua termal puede ayudar al tratamiento de diversas afecciones, ayudando a mejorar problemas depresivos, reumáticos, estomacales, renales, entre otros muchos padecimientos, esto se debe básicamente a los componentes minerales que estas aguas contienen (Gupta, 1998). Mundialmente este recurso es utilizado en la rehabilitación de ciertas enfermedades tales como artrosis, psoriasis, enfermedades gastrointestinales etc., ejemplos de ello existe en Francia, Italia, Colombia, Cuba y otros muchos países, donde son practicadas estas diferentes terapias a partir de este recurso (Armijo, 1994).

Considerando la existencia de termalismo en México, así como la falta de registros (atlas) de la diversidad de diatomeas en estos ambientes en el país y el incremento en el interés por las aplicaciones de éstas en diferentes áreas hace necesaria la realización de investigaciones en aguas termales y de los microorganismos termófilos que las habitan. Esto con el propósito de potenciar la utilización de estas aguas con diversos objetivos, como el de lograr una forma más del uso de la medicina alternativa y tradicional de las aguas mineromedicinales para el bienestar de la salud del hombre, así como para el desarrollo de conocimiento y comprensión de la diversidad algal presente en estas aguas que favorezca desarrollar técnicas para su utilización con fines biotecnológicos, ecológicos, comerciales e industriales.

En resumen, ante la importancia que tiene la utilización de las aguas minerales y de las diatomeas termófilas, a partir de la perspectiva de salud pública, así como el potencial económico, social y biotecnológico a nivel regional y nacional se realizó este trabajo de investigación en el área del corredor Silao-León con el fin de reconocer, identificar y caracterizar desde el punto de vista hidrogeoquímico y microbiológico las aguas termales del corredor de balnearios Comanjilla así como evaluar el potencial biotecnológico de las diatomeas presentes en estas aguas.

### I.3.- Objetivo General

Caracterizar las aguas mineromedicinales y evaluar el potencial en aplicaciones biotecnológicas de las diatomeas de la clase Bacillariophyceae en carpetas microbianas termofílicas presentes en el corredor de balnearios Silao-León.

### I.4.- Objetivos Específicos

1. Obtener información relacionada con las características fisicoquímicas de las aguas termales del corredor de balnearios Silao -León.
2. Obtener información relacionada con la diversidad de microorganismos presentes en las aguas termales del corredor Silao-León.

## CAPÍTULO II. DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

### II.1.- Localización del área de estudio

Comanjilla se encuentra a 32 kilómetros de la ciudad de Guanajuato, México (Google, s.f.) y a 25 min aproximadamente de la ciudad de León, Guanajuato. Se accede por la carretera federal número 45 que une las ciudades de Silao y León con una rama de 10 km, a la altura del pueblo de los Sauces que va al Parque Acuático de Comanjilla. Se encuentra dentro de los municipios de Silao, Guanajuato y León.

Debido a las propiedades curativas de sus aguas termales, el Parque Acuático de Comanjilla era bien conocido y apreciado. Esta fuente termal corresponde a la zona geotérmica Comanjilla de donde se encuentran 25 manantiales hidrotérmicos, algunos como semilleros con deposición de azufre y sales con temperaturas superficiales entre 70 °C y 92 °C, distribuidos en una superficie de 1.2 km<sup>2</sup> (Imagen 1).

#### *Imagen 5. Localización del área de estudio..*



Imagen 5. Localización área de estudio Comanjilla, Guanajuato.

Adaptado de [Comanjilla, Guanajuato], de Google, s.f., <https://earth.google.com/web/search/baneario+comanjilla/@21.0679335,-101.471711,1880.55537594a,20616.4887225d,35y,0h,0t,0r/data=CigiJgokCUcxgnU3HjVAEcD9BsSxBDVAGQxfgdTLV1nAIWA2XsaXZFnA>. Todos los derechos reservados 2020 por Google. Modificado.

## II.2.- Marco Geológico Regional

La región estudiada que se ubica casi al centro del estado de Guanajuato se encuentra comprendida principalmente en las provincias fisiográficas de la Mesa del Centro, Eje Neovolcánico y Sierra Madre Oriental. Las dos primeras son separadas por la estructura Falla del Bajío (FB), al sur se encuentra el eje Neovolcánico y al norte la Mesa del Centro (Aranda-Gómez et al., 2003; Alanís-Álvarez y Nieto-Samaniego, 2005). Dicha estructura consta de una serie de fallas normales escalonadas, incluida la falla Duarte, ubicada al norte de dicha localidad.

En la parte central corresponde un ambiente volcano-sedimentario y en la porción sur que está comprendida por el eje Neovolcánico que se caracteriza por grandes derrames de andesita basáltica y basalto andesítico con intercalaciones de toba de la misma composición (Alvarado-Méndez et al., 1999) (Imagen 6).

*Imagen 6. Geología regional*

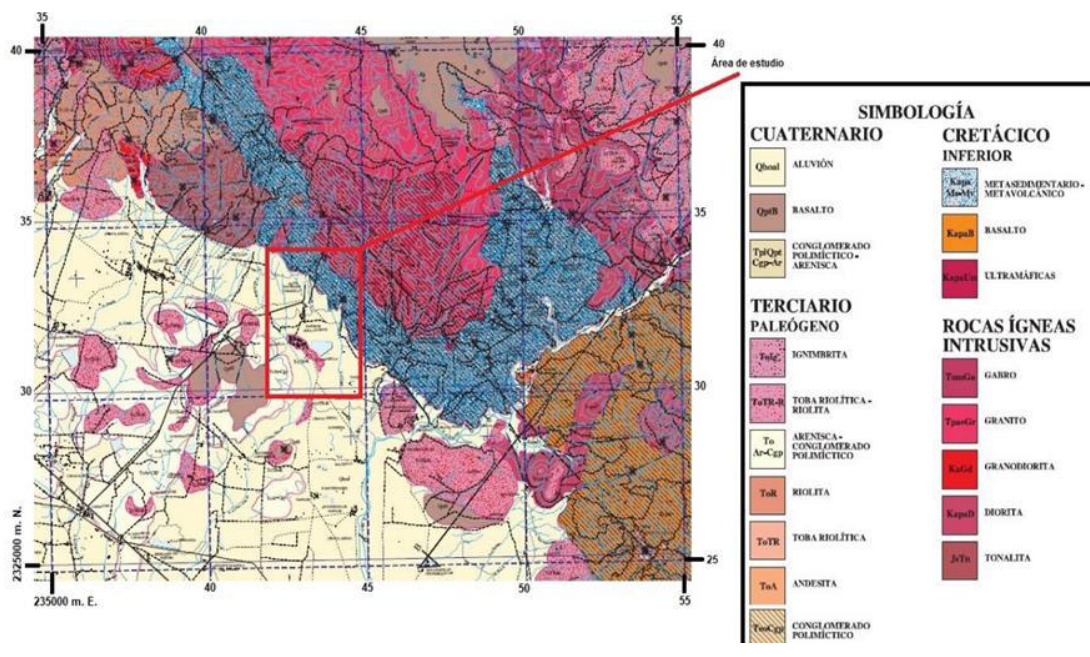


Imagen 6. Mapa geológico regional.

NOTA: Unificación sobre la carta Geológico Minera F-14-C-42 (Servicio Geológico Mexicano).

Superficialmente, se distinguen dos grandes tipos de rocas, el primer grupo corresponde a rocas volcánicas de composición riolítica, sedimentos continentales lacustres, basaltos y

depósitos conglomeráticos y aluviales, correspondientes al periodo Terciario-Reciente y el segundo grupo de rocas perteneciente a la Sierra de Guanajuato, la cual está conformada por un complejo ígneo, metamórfico y sedimentario en la que afloran rocas cretácicas y pre-cretácicas que conforman el basamento hidrogeológico del acuífero. Estas rocas no afloran en el valle Silao (CNA, 2015).

Las rocas expuestas regionalmente son intersectadas por sistemas estructurales con direcciones NW-SE, NE-SW y N-S. El sistema NE-SW es más joven que el sistema de fallas NW-SE. Existen fallas normales que están asociadas con la formación de eje Neovolcánico. Estas estructuras revelan el proceso distensivo de los productos geodinámicos continentales, activos en el Cenozoico durante diferentes épocas, incluido el Cuaternario (Nieto-Samaniego, 1992).

Desde un punto de vista geológico, el área ha experimentado muchos procesos tectónicos y volcánicos, que juegan un papel muy importante en la dinámica de fluidos del acuífero. El proceso tectónico y la formación de fallas geológicas están relacionados con la existencia de manantiales alineados, como el manantial de Comanjilla (Puy et al., 2014). En otras palabras, la combinación de la dinámica de los fluidos y la permeabilidad permitida por los sistemas de fallamiento favorecieron la presencia de manifestaciones termales en el área.

### II.3.- Marco Geológico Local

Las unidades que afectan la zona de balnearios de Comanjilla corresponden a: Terciario Granular indiferenciado (Tci), Terciario Volcánico Riolítico (Tvr), Conglomerado Guanajuato (Tcgu), Complejo Vulcanosedimentario de la Sierra de Guanajuato (Kcvs) así como algunas fallas que afectan la zona (CEASG, 1999).

A continuación, se presenta la imagen 7 donde se muestran las fallas y las unidades que afloran en el área de estudio, seguido de una descripción general de dichas unidades.

**Imagen 7.** Fallas y unidades que afloran en el área de estudio

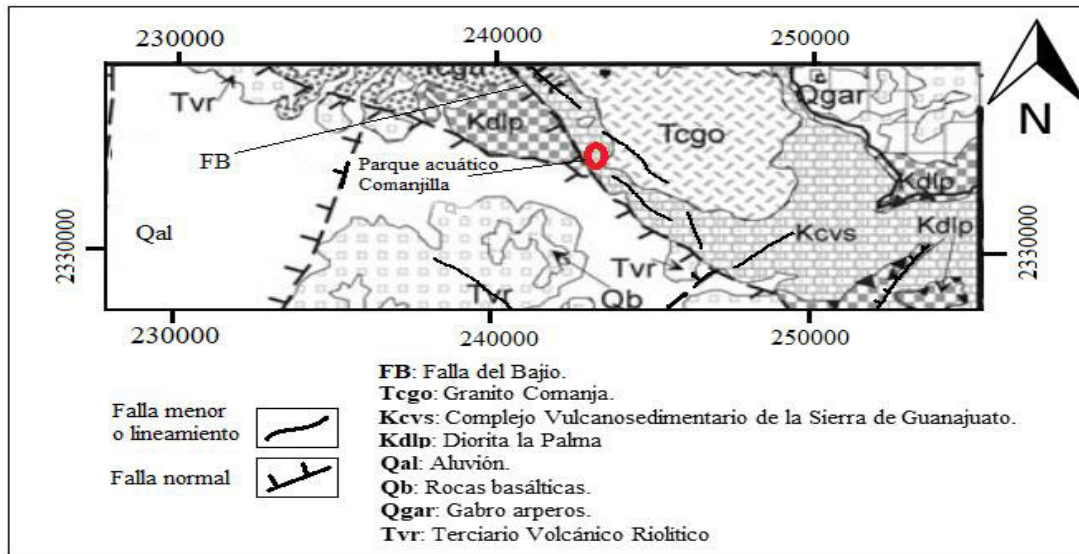


Imagen 7. Representación de algunas fallas y unidades litológicas que afectan al parque acuático de Comanjilla y sus cercanías.

NOTA: Modificado de Ramos et al., 2005 y Del Río et al., 2020.

-Kcvs: corresponde a una secuencia sedimentaria está formada por sedimentos marinos, principalmente calizas arcillosas y lutitas que han tenido metamorfismo regional de bajo grado (Ramos et al., 2007).

-Tci: Terciario Granular Indiferenciado, describe informalmente al paquete sedimentario continental de gran espesor que rellena las fosas tectónicas de León, Río Turbio, Silao–Romita y Pénjamo–Abasolo. Está formado por conglomerados, areniscas, limonitas y lutitas carbonatadas depositadas en ambientes de abanicos aluviales con algunas facies lacustres (SARH, 1991; Hernández-Laloth, 1991).

-Tcgo: corresponde a un intrusivo de composición ácida (Ramos et al., 2007).

-Tvr: Corresponden a un conjunto de rocas volcánicas extrusivas de composición ácida, distribuidas ampliamente en la Sierra de Guanajuato (Ramos et al., 2017). Se caracteriza por una serie de rocas volcánicas extrusivas de composición riolítica que constituyen el núcleo de la Sierra de Guanajuato y en las sierras que interrumpen los valles de León y Silao–Romita. (Nieto-Samaniego et al., 1996; CNA,2015).



-Conglomerado rojo (Conglomerado Guanajuato): es muy compacto. No aflora en la zona de estudio, pero funciona como una unidad de baja permeabilidad que sirve de base para los acuíferos (Ramos et al., 2003).

-Qal: Cuaternario aluvial, corresponde a gravas, arenas y arcillas con bajo grado de compactación y espesores reducidos (Ramos et al., 2017; CNA,2015).

Concretamente, los manantiales del Balneario de Comanjilla se ubican en un sistema de fallas que limitan la Sierra de Guanajuato NW-SE (Representado por la falla del Bajío) que interactúa con fracturas con rumbo NE-SW y N-S. En particular, la zona de manantiales de Comanjilla es un sistema hidrotermal en roca plutónica fracturada, roca metamórfica y roca volcánica (Puy et al., 2014).

## CAPÍTULO III. METODOLOGÍA

### III.1.-Etapa de Recopilación Bibliográfica

Consistió en la búsqueda bibliográfica de los estudios previos del área de estudio y sobre las diatomeas, para ello se consultaron libros, artículos, tesis de la zona de estudio, sitios web relacionados con la zona del caso de estudio, cartas geológicas y topográficas del INEGI Y SGM. Posteriormente se organizó la información por carpeta para cada artículo.

### III.2.- Etapa de Campo

Se realizaron varias salidas de reconocimiento a los balnearios de aguas termales del corredor Silao-León. Se seleccionó el Balneario de aguas termales de Comanjilla. Para este estudio se eligieron cinco manantiales termales de dicho parque acuático, que poseen diferentes características físicas y químicas. Así mismo se realizó un registro fotográfico (Imagen 8).

**Imagen 8.** Manantiales termales y esteras microbianas presentes en zona geotérmica de Comanjilla



**Imagen 8.** Fotografías de los manantiales termales y sus respectivas carpetas microbianas termofílicas en zona geotérmica de Comanjilla: P1, P2, P3 (estera microbiana café), P4 y P5 (estera microbiana verde).

En campo se realizaron las mediciones insitu de temperatura con termómetro de mercurio con precisión de 1°C, el pH se determinó con un potenciómetro Corning modelo 610 A y conductividad eléctrica (CE) de las muestras de agua se midió utilizando un conductímetro e igualmente se procedió a tomar el muestreo de esta para sus posteriores análisis como a continuación se describe:

#### **A) Muestreo del agua de los manantiales.**

Las muestras se recolectaron una vez en dos aguas termales (M1 y M2) desde diciembre de 2017 hasta abril de 2018. Se tomaron tres réplicas de la muestra del mismo punto de la misma localidad.

Para el muestreo, la preservación y manejo de las muestras, se siguió la NORMA Oficial Mexicana NOM-230-SSA1-2002. Se emplearon recipientes en polietileno de 50 ml para los cationes ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{+}$ ,  $\text{K}^{+}$ ,  $\text{Na}^{+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$ ) y de 2000 ml para los demás parámetros (alcalinidad, durezas, aniones, color, turbiedad, sólidos disueltos y suspendidos). El procedimiento para el muestreo se realizó de la siguiente manera:

Cuidadosamente se manipularon los recipientes para evitar así la contaminación del interior, del tapón y de la boca de estos. Se tomó un poco del agua de las zonas de estudio, posteriormente se procedió a cerrar el envase y se agitó vigorosamente para enjuagar y posteriormente desechar esa agua. Dicha operación se efectuó tres veces antes de tomar la muestra.

Las muestras tomadas se colocaron en hieleras con bolsas de refrigeración o bolsas de hielo cerradas para su traslado al laboratorio, a una temperatura entre 4°C y 10°C, cuidando de no congelarlas. Se recogían en horas de la mañana y eran recibidas en el laboratorio en horas de la tarde del mismo día.

#### **B) Análisis microbiológico.**

Para el muestreo y caracterización de tapetes microbianos termófilos las muestras fueron recolectadas asépticamente de uno de los tapetes microbianos termófilos de las aguas

termales de Comanjilla en diferentes termos y procesadas inmediatamente en el laboratorio (NORMA MEXICANA NMX-AA-42-1987).

### **C) Análisis de metales.**

Para el análisis de metales se utilizó envase y tapa de plástico, los cuales se rotularon con cinta de enmascarar indicando el nombre de lugar, código asignado a la captación según el inventario y la fecha con hora de la toma de la muestra. Se adiciono 1 ml de ácido nítrico concentrado por cada 100 ml de muestra. (NORMA Oficial Mexicana NOM-230-SSA1-2002).

## **III.3.- Etapa de Laboratorio**

### **A) Análisis fisicoquímico.**

Para el análisis de metales se utilizó la técnica de espectrometría de Absorción Atómica usando un espectrómetro Rigaku NEX CG. Este análisis se realizó en el laboratorio LICAMM UG del Departamento de Minas, Metalurgia y Geología (Universidad de Guanajuato).

Se determinaron las concentraciones de cloruros, bicarbonatos, sulfatos, nitratos, nitritos, calcio, magnesio, sodio, potasio, magnesio, manganeso, hierro, azufre, arsénico, plomo, dureza total, dureza cálcica, dureza magnésica, alcalinidad y las propiedades físicas como la temperatura (medida in situ), pH (medido in situ), la conductividad eléctrica (medida in situ), el color y la turbidez de las muestras de agua seleccionadas.

### **B) Análisis microbiológico (identificación de microorganismos).**

Para los análisis microbiológicos se tomaron muestras y se realizaron cultivos, se utilizaron las técnicas clásicas de aislamiento y cultivo utilizando agar nutritivo, agar YGC (Extracto de Levadura-Glucosa-Gloranfénicol) y agar SABOURAUD. Así mismo se realizaron coloraciones de Gram para la determinación de bacilos y bacterias. Se efectuaron subcultivos de los bacilos Gramnegativos en agar EMB (Eosina Azul de Metileno). Se combinó la técnica

DGGE (Electroforesis en Gradiente Desnaturalizante) con técnicas de biología molecular y la microscopía electrónica.

Se utilizó la microscopia electrónica de barrido por su potencial pues tiene el poder de resolución y profundidad de campo mucho mayor que la microscopia óptica, lo cual resulta beneficioso tanto en la identificación de los caracteres estructurales, morfológicos y diagnósticos del microorganismo, así como en el seguimiento de las medidas de control.

Cabe mencionar que la técnica DGGE (Electroforesis en Gradiente Desnaturalizante) cuando se combina con PCR (Reacción de la Polimerasa en Cadena) con iniciadores específicos de distintos grupos de organismos, permite una rápida estima de la diversidad existente en una muestra ambiental. Esta técnica se basa en la migración de las moléculas de ADN a través de geles que contienen concentraciones crecientes de agente desnaturalizante. El punto de desnaturalización de los fragmentos de ADN depende del tamaño y la composición de nucleótidos que lo conforman, aumentando la posibilidad de diferenciar productos diferentes.

#### C) Características físicas del agua en las esteras microbianas termofílicas.

Las propiedades físicas tales como: la temperatura, el pH, la conductividad eléctrica (CE), los sólidos disueltos totales (STD) y la dureza del agua de la alfombra bacteriana se midieron in situ. La temperatura se midió utilizando un termómetro de mercurio con precisión de 1°C. El pH se determinó con un potenciómetro Corning modelo 610 A. La conductividad eléctrica (CE) se midió con un medidor de conductividad 850037 SPER SCIENTIFIC. El total de sólidos disueltos (STD) se midió con un TDS PURIKOR PK-TDS3 y la dureza en el agua se calculó en función del contenido de sales de calcio y magnesio.

#### D) Características químicas del agua en las esteras microbianas termofílicas.

Para el análisis de concentraciones de cationes, aniones y metales se utilizó la técnica de fluorescencia de rayos X (FRX). El análisis se realizó en el laboratorio LICAMM UG del Departamento de Minas, Metalurgia y Geología (Universidad de Guanajuato).

### E) Observación de diatomeas en Microscopio electrónico de barrido (MEB), microscopio óptico y clasificación.

Los aspectos morfológicos de las diatomeas fueron investigados mediante la observación (MEB) de las muestras con recubrimiento de oro y microscopio óptico. El instrumento MEB (JEOL, JSM- 6010 PLUS/LA) fue operado a 15 kV en un vacío bajo, mientras que el espectrómetro del escáner de dispersión de energía (EDS), conectado al MEB se utilizó para el análisis químico semicuantitativo. Los análisis MEB-EDS se realizaron en el laboratorio LICAMM de la Universidad de Guanajuato.

Para su observación se utilizó el protocolo de Martin-Jézéquel et al. (2015) describiéndolo a continuación:

1. La muestra fue filtrada con un filtro que no se disuelve con disolvente orgánico.
2. Los filtros se colocaron en recipientes adecuados para secar en puntos críticos.
3. Se fijó con una solución de glutaraldehído del 2.5% en tampón de fosfato de 0.1 M preparado con agua de mar filtrada.
4. Para eliminar las sales, las muestras se transfirieron a concentraciones decrecientes de agua de mar.
5. Después de la fijación fue deshidratado en una serie de etanol en crecimiento.
6. Finalmente, la muestra se secó en el desecador hasta el punto crítico. La guía de Lorenz y Eck (2005) se utilizó para la asignación genérica de diatomeas.

### III. 4. Etapa de Gabinete

Consistió en la recopilación de todos los resultados obtenidos de las etapas anteriores y en la realización del escrito final.

## **CAPÍTULO IV. RESULTADOS**

### **IV.1.- Caracterización fisicoquímica del agua de los manantiales termales.**

Las propiedades físicas como: temperatura, pH, conductividad eléctrica (CE), sólidos disueltos totales (STD) y dureza del agua de la alfombra bacteriana se midieron in situ. Mientras que las muestras de las aguas termales fueron llevadas al laboratorio LICAMM UG del Departamento de Minas, Metalurgia y Geología de la Universidad de Guanajuato para los análisis de concentraciones de cationes, aniones y metales.

En función de lo anterior se analizaron las muestras de aguas termales correspondientes a dos tipos de agua (M1 y M2), las cuales fueron tomadas del Balneario de Comanjilla entre diciembre de 2017 y abril de 2018.

El agua de manantial se analizó tomando en cuenta la temperatura de emergencia de la fuente, apariencia, olor, sabor, mineralización, dureza, turbidez, sólidos disueltos y concentraciones de cationes (Na, Mg, Mo, Ca<sup>+2</sup>, K<sup>+</sup>, S, Al<sup>+3</sup>), aniones (H<sub>2</sub>S<sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, Cl), óxidos (SiO<sub>2</sub>, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, MgO, K<sub>2</sub>O, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, SO<sub>3</sub>, Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) y oligoelementos (Cu, Zr, Si, Ar y Rh), lo que permite clasificarlos en función de su composición química y termalismo como aguas hipertermales (45 ° C a 100 ° C) con una tendencia química global de los iones hacia un comportamiento tipo H<sub>2</sub>S<sup>-</sup>-Na (sulfuro sódico), de origen profundo y de baja mineralización, observándose un alto contenido de sílice y bajo en calcio y magnesio.

Las fuentes termales (M1 y M2) se ubicaron en una localidad y representan un ambiente de termófilo moderado a termófilo alto (45°C-100°C) y de neutrofílico a alcalofílico (pH 7.6-9.1), color transparente, olor fétido a huevo podrido, sabor sulfuroso, turbidez (0.1-015 NTU), ambientes con conductividad eléctrica variable (658- 704 µS/cm), y sólidos totales disueltos (314- 340 ppm), (Tabla 1). Dos tipos de agua (M1 y M2) se obtuvieron de las fuentes termales de la zona geotérmica de Comanjilla.

**Tabla 1.** Caracterización Física de las aguas M1 y M2

Características físicas	M1	M2
Temperatura	78°C a 92°C	45°C a 68°C
Ph	9.1	7.2
Color	Transparente	
Olor	Huevo podrido	
Sabor	Azufre	
Turbidez	0.1 - 015 NTU	
Conductividad eléctrica	250-750 $\mu$ S/cm	
Solidos disueltos totales	324 - 340 ppm	
Dureza	0-10 °F	

Nota: En la tabla se representan los valores encontrados en las muestras correspondientes de las aguas (M1 y M2) prospectadas en Comanjilla en el estado de Guanajuato entre diciembre de 2017 y abril de 2018.

Elaboración propia.

-M1 está asociada con el sistema de fallas SSW-NNE, exhibe un pH 9.1 lo que indica que es un agua ligeramente alcalina y presenta una temperatura que varía de 78°C a 92°C, clasificando estas aguas como hipertérmicas. El rango de dureza en grados franceses de este tipo de agua es de 0-10 ° F, lo que indica un agua muy suave. La conductividad eléctrica es de 250-750  $\mu$ S/cm, lo que indica que es agua salobre deficiente. Según su composición mineralógica, el tipo de agua M1 se clasifica como agua sulfúrica clorada, ya que el contenido de solución de sulfuro de hidrógeno ( $H_2S^-$ ) se encuentra en concentraciones superiores a 1mg /l, y su olor es similar a los huevos podridos (Tabla 1). Del mismo modo, tienen baja mineralización (residuo seco menor a 500 mg/l) y bajo contenido en calcio (Ca) y magnesio (Mg) y alto en sílice (Si), aluminio (Al) y cloro (Cl), lo que indica un origen profundo. (Tabla 2)

-M2 está asociada al sistema de fallas SSE-NNW, exhibe un pH de 7.6 lo que indica que es un agua neutra y presenta una temperatura que varía de 45 °C a 68 °C, clasificando estas aguas como hipertermales. El rango de dureza en grados franceses de este tipo de agua es de



0-10 ° F, lo que indica un agua muy suave. La conductividad eléctrica es de 250-750  $\mu\text{S}/\text{cm}$ , lo que indica agua salobre deficiente (Tabla 1). Según su composición mineralógica, el tipo de agua M2 se clasifica como agua sulfurosa clorada, ya que el contenido disuelto de sulfuro de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{S}^-$ ) se encuentra en concentraciones superiores a 1mg /l, y su olor es fétido, similar al de los huevos podridos. Del mismo modo, tiene baja mineralización (residuo seco menor a 500 mg/l) y bajo contenido de calcio (Ca) y magnesio (Mg) y alto en sílice (Si), aluminio (Al) y cloro (Cl), lo que indica un origen profundo (Tabla 2).

**Tabla 2.** Análisis FRX de las aguas de los manantiales termales de la zona geotérmica de Comanjilla.

<b>Elemento</b>	<b>M1</b>			<b>M2</b>	
<b>(ppm)</b>	P1	P2	P3	P4	P5
<b>CATIONES</b>	Ligeramente alcalino	Ligeramente alcalino	Ligeramente alcalino	Neutral	Neutral
<b>Na</b>	ND	ND	ND	ND	ND
<b>Mg</b>	112	110	111	ND	ND
<b>Mo</b>	9.14	9.1	9.14	5.08	5
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	22.1	21.9	22	26.2	26
<b>K<sup>+</sup></b>	18.1	17.9	18	30.8	30
<b>S</b>	24.2	24.1	24	25.6	25.5
<b>Al<sup>3+</sup></b>	238	235	236	247	246
<b>ANIONES</b>					
<b>H<sub>2</sub>S<sup>-</sup></b>	27	25	26	55	54
<b>SO<sub>4</sub><sup>-</sup></b>	76	74	75	154	153
<b>Cl<sup>-</sup></b>	19.4	19.3	19.2	17.8	17.5
<b>ELEMENTOS TRAZA</b>					
<b>Cu</b>	2.9	2.8	2.7	2.9	2.8
<b>Zr</b>	244	243	245	312	311
<b>Si</b>	307	305	306	261	260

<b>Ar</b>	253	251	252	132	131
<b>Rh</b>	ND	ND	ND	892	891
<b>ÓXIDOS</b>					
<b>(masa %)</b>					
<b>SiO<sub>2</sub></b>	48.6	48.4	48.5	49.4	49.3
<b>TiO<sub>2</sub></b>	ND	ND	ND	ND	ND
<b>Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub></b>	23.2	23.1	23.1	29.4	29.3
<b>MnO</b>	ND	ND	ND	ND	ND
<b>Na<sub>2</sub>O</b>	ND	ND	ND	ND	ND
<b>MgO</b>	8.85	8.84	8.83	1.93	1.92
<b>K<sub>2</sub>O</b>	4.31	4.3	4.3	0.018	0.017
<b>CaO</b>	4.06	4.05	4.04	ND	ND
<b>P<sub>2</sub>O<sub>5</sub></b>	1.12	1.1	1.11	2.56	2.55
<b>SO<sub>3</sub></b>	9.26	9.22	9.25	16.7	16.6
<b>Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub></b>	0.55	0.53	0.54	ND	ND

Nota: en la tabla se presentan las concentraciones de cationes, aniones y metales determinados mediante la técnica FRX, correspondientes a las concentraciones de los 5 puntos de muestreo (P1, P2, P3, P4, P5) pertenecientes a los dos tipos de aguas minerales (M1 y M2). ND= no detectado.

Elaboración propia.

Químicamente ambas muestras (M1 y M2) tienen valores similares en Cu, S, Cl, siendo diferentes en valores de Al, Ca, Mg, Zr, Mo, Si, K, Ar y Rh (Tabla 2). En cuanto a los valores de los óxidos, M1 muestra concentraciones más altas en MgO, K<sub>2</sub>O, CaO y Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> en comparación con el M2 mientras que M2 muestra concentraciones más altas en SiO<sub>2</sub>, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, SO<sub>3</sub> (Tabla 2).

#### IV.2.- Aislamiento e identificación de microorganismos

Un total de seis órdenes y siete especies de diatomeas se determinaron en esteras microbianas termofílicas presentes en aguas termales sulfurosas (Imagen 4) de la zona geotérmica de Comanjilla predominantemente clase Bacillariophyceae: 1. Orden *Navícula* representado por

sus especies *Navicula detenta* y *Sellaphora disjuncta*, 2. Orden *Cymbellales* representado por su especie *Gomphoneis eriense* var. *Stoermer apiculate*, 3. Orden *Rhopalodiales* representado por su especie *Rhopalodia gibberula*, 4. Orden *Achnanthes* representada por su especie *Achnanthes brevipes* var. *intermedia*, 5. Orden *Cocconeidales* representado por su especie *Cocconeis pediculus* y 6. Orden *Denticula* representado por su especie *Denticula tenuis* Kützing. El nombre Bacillariophyceae se ha utilizado de varias maneras: para referirse a todas las diatomeas o para referirse a la diatomea pennada portadora de rafe o para referirse a todas las diatomeas pennada. En nuestro caso, nos referimos a todas las diatomeas pennada. En el microscopio óptico se pudieron observar las características morfológicas de las diatomeas Bacillariophyceae presentes en las aguas termales de Comanjilla, del mismo modo se realizó observación mediante el microscopio electrónico de barrido para una mayor ampliación de las diatomeas de los órdenes *Naviculales* y *Achnanthes*.

*Sellaphora disjuncta*, *Achnanthes brevipes* var. *intermedia* y *Navicula detenta* fueron las especies dominantes en casi todos los sitios de muestreo. Según la abundancia relativa (más del 1%) de los géneros observados en las muestras analizadas se presenta la siguiente distribución: *Sellaphora* (45%) seguido de *Achnanthes* (25%), *Navicula* (15,2%), *Denticula* (10,4%), *Cocconeis* (2%), *Gomphoneis* (1,4%) y *Rhopalodia* (1%).

Las diatomeas estudiadas viven en aguas termales con temperaturas superficiales en un intervalo de 45°C a 92°C, junto con bacterias y cianobacterias. Tienen la capacidad de soportar temperaturas altas por lo que son microorganismos termofílicos.

Según la recopilación bibliográfica, las diatomeas pueden ser usadas en aplicaciones diversas según sus características particulares. A continuación, se muestra la tabla 3 donde se sintetiza de manera general cuáles son las posibles aplicaciones según la especie, resaltando con un asterisco las diatomeas encontradas en el área de estudio y sus respectivas aplicaciones posibles.

**Tabla 3.** Posibles aplicaciones de las diatomeas según la literatura.

Especies	Aplicaciones										Referencia
	Bsint.	Bdeg.	Brem.	Bmin.	Bsen.	Bdis.	Bméd.	Bnutri.	Bmon.	Btec.	
<i>Achnanthes brevipes</i> Agardh										X	Abo-Shady, et al., 2019
* <i>Achnanthes brevipes</i> var. <i>intermedia</i> .					X				X		Atazadeh et al., 2017; Gihan a. E. And Del f. H., 2006
<i>Achnanthes longipes</i>	X						X	X			Wang et al., 2000; Kuppusamy et al., 2017
<i>Achnanthes oblongella</i> Oestrup		X									Maznah and Mansor, 2002
<i>Amphora coffeaeformis</i>		X					X	X			Kuppusamy et al., 2017; Moro et al., 2012
<i>Aulacoseira granulata</i>										X	Abo-Shady, et al., 2019
<i>Chaetoceros calcitran</i>										X	Derrien et al., 1998; Hildebrand et al., 2012
<i>Chaetoceros cryptica</i>	X										Maznah and Mansor, 2002
<i>Chaetoceros gracilis</i>						X		X			Li et al., 2015; Brown, 1991; Brown, et al., 1997 <sup>a</sup>
<i>Chaetoceros muelleri</i>								X			Brown, 1991; Brown, et al., 1997 <sup>a</sup>
<i>Chaetoceros muelleri</i> var. <i>subsalsum</i>						X					Chelf, 1990
<i>Chaetoceros</i> sp.								X			Kuppusamy et al., 2017
* <i>Cocconeis pediculus</i>	X			X	X				X	X	Atazadeh et al., 2017; Mark y Loren, 2005; Ali et al., 2009

<i>Cocconeis placentula</i> Ehr.	X				Maznah and Mansor, 2002	
<i>Coscinodiscus argus</i>			X		Li et al., 2014	
<i>Coscinodiscus concinnus</i>			X		De Stefano et al., 2009	
<i>Coscinodiscus wailesii</i>			X		Lin et al., 2010; De-Stefano et al., 2007	
<i>Cyclotella cryptica</i>			X	X	X	Tiwari and Marella, 2019; Bozarth et al., 2009; Dunahay et al., 1996
<i>Cyclotella meneghiniana</i>	X	X			X	Abo-Shady, et al., 2019; De Jonge et al., 2010
<i>Cyclotella</i> sp.			X			Gale et al., 2009
<i>Cylindrotheca closterium</i>	X					Li et al., 2015
<i>Cylindrotheca fusiformis</i>				X	X	Bozarth et al., 2009; Bozarth et al., 2009; Tiwari and Marella, 2019
<i>Cymbella cistula</i>	X					Wang et al., 2000
* <i>Denticula tenuis</i> Kützing			X		X	Harding y Taylor, 2014; Jakovljevic et al., 2016
<i>Diademis gallica</i>	X					Kuppusamy et al., 2017
<i>Ditylum birghtwellii</i>			X			Rijstenbil et al., 1994
<i>Fragilaria capucina</i> Desm	X					Maznah and Mansor, 2002
* <i>Gomphoneis eriense</i> var. <i>Apiculate</i>			X		X	Basualto et al., 2016;
<i>Halamphora coffeaeformis</i>			X			Martin et al., 2016
<i>Haslea ostrearia</i>	X					Maznah and Mansor, 2002

<i>Isochrysis galbana</i>					<b>X</b>	Hemaiswarya et al.,2011
<i>Melosira nummuloides</i>		<b>X</b>				Yamazaki et al., 2010; Maznah and Mansor, 2002
<i>Navicula atomus</i>	<b>X</b>					Kuppusamy et al., 2017
<i>Navicula cincta</i>			<b>X</b>			Gao et al., 2019; Popovich et al., 2019
* <i>Navicula detenta</i>				<b>X</b>	<b>X</b>	Maciel F. y Fryderyka C., 2017; Atazadeh et al., 2017; Fimbres et al. 2016
<i>Navicula minima</i>	<b>X</b>		<b>X</b>			Chakraborty et al., 2006
<i>Navicula saprophilia</i>				<b>X</b>		Bozarth et al., 2009
<i>Navicula</i> sp.				<b>X</b>	<b>X</b>	<b>X</b> Kuppusamy et al., 2017
<i>Nitzschia amphibia</i>						<b>X</b> Abo-Shady, et al., 2019
<i>Nitzschia closterium</i>			<b>X</b>			Cheng et al., 2015
<i>Nitzschia laevis</i>				<b>X</b>		<b>X</b> Lebeau et al., 2002
<i>Nitzschia navisvaringica</i>						<b>X</b> Kotaki et al., 2000; Martin-Jézéquel et al., 2015
<i>Nitzschia obtusa</i>	<b>X</b>		<b>X</b>			Chakraborty et al., 2006
<i>Nitzschia palea</i>						<b>X</b> Abo-Shady, et al., 2019; Gautam, et al., 2016
<i>Nitzschia soratensis</i>			<b>X</b>			Li et al., 2014
<i>Nitzschia</i> sp.	<b>X</b>	<b>X</b>	<b>X</b>		<b>X</b>	<b>X</b> Kuppusamy et al., 2017; Borase et al., 2017; Hong et al., 2008

<i>Odontella aurita</i>										X	Kuppusamy et al., 2017		
<i>Pavlova lutheri</i>											X	Hemaiswarya et al., 2011	
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	X				X	X	X	X	X	X		Tiwari and Marella, 2019; Kuppusamy et al., 2017; Peng et al., 2011; Bozarth et al., 2009; Lebeau and Robert, 2003; Lebeau et al., 2002; Falciatore et al., 2000; Torres et al., 2000; Alonso et al., 1996.	
<i>Pinnularia</i> sp.											X	Jeffryes et al., 2011; Gutu et al., 2009; Maznah and Mansor, 2002	
<i>Rhizosole</i> sp												X	Kuppusamy et al., 2017
* <i>Rhopalodia gibberula</i>												X	Jamali et al. 2012; Barinova et al. 2019; Zhang et al. 2019; Siqueiros et. Al 1991; Buendía et. Al 2015; Atazadeh et al., 2017
* <i>Sellaphora disjuncta</i> (Hust.)												X	Atazadeh et al., 2017

<i>Skeletonema costratum</i>	<b>X</b>		<b>X</b>	<b>X</b>	<b>X</b>	<b>X</b>	<b>X</b>	<b>X</b>	Gao et al., 2019; Popovich et al., 2019; Tiwari and Marella, 2019; Kuppusamy et al., 2017; Hildebrand et al., 2012; Hemaiswarya et al., 2011; Hong et al., 2008; Derrien et al., 1998
<i>Skeletonema marinoi</i>								<b>X</b>	Kuppusamy et al., 2017
<i>Skeletonema</i> sp.						<b>X</b>			Kuppusamy et al., 2017
<i>Stauroneis</i> sp.	<b>X</b>								Kuppusamy et al., 2017
<i>Stephanodiscus hantzschii</i>	<b>X</b>		<b>X</b>						Jaccard et al., 2009
<i>Stephanopyxis turris</i>	<b>X</b>								Pytlik et al., 2017
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	<b>X</b>		<b>X</b>	<b>X</b>		<b>X</b>	<b>X</b>	<b>X</b>	<b>X</b> Tiwari and Marella, 2019; Hildebrand et al., 2012; Burchardt et al., 2012; Hemaiswarya et al., 2011; Zargiel et al., 2011; Bozarth et al., 2009; Bowler et al., 2008; Kröger, y Poulsen, 2008; Poulsen et al., 2007; Armbrust et al., 2004; Brown, et al., 1997a Brown, 1991; Rijstenbil et al.,1994



<i>Thalassiosira Rotula</i>	X	X	Kuppusamy et al., 2017; Bismuto et al., 2008; Kröger y Poulsen, 2008
<i>Thalassiosira weissflogii</i>	X	X	Bozarth et al., 2009; Kröger y Poulsen, 2008

Nota: Bsínt. = Biosíntesis, Bdeg. = Biodegradación; Brem. = Biorremediación; Bmin. = Biomineralización; Bsen. = Biosensor; Bdis. = Biodisel; Bmed.= Biomédica; Bnut.= Bionutrición; Bmon.= Biomonitoreo; Btec.= Biotecnológico.

Elaboración propia.

De acuerdo con la tabla anterior podemos observar que los usos de las diatomeas que encontramos en el área de estudio corresponden diversas aplicaciones como biomonitoreo, bioindicador, bioacumulación, biomineralización y biomédico; a continuación, se describen individualmente para cada especie de diatomea:

-*Achnanthes brevipes* var. *intermedia*: Ha sido usada en métodos para la evaluación del agua, así como para su respectiva valoración de calidad (Atazadeh et al., 2017). Así mismo, puede ser empleado como bioindicador (salinidad) de agua dulce (Gihan y Adel, 2006).

-*Cocconeis pediculus*: Puede ser usada en métodos para la evaluación del agua, así como para su respectiva valoración de calidad (Atazadeh et al., 2017). También podría funcionar como bioindicador ambiental ya que aumenta en respuesta al deterioro general, así como a la deficiencia de sedimentos, nutrientes y metales (Mark y Loren, 2005).

Se puede obtener sílice de estas diatomeas mediante aislamiento. De igual forma podría ser usada en otros procesos industriales como biomateriales nanoestructurados por su capacidad de bioacumulación y biomineralización (Ali et al., 2009).

-*Denticula tenuis* Kützing: ha sido usada en métodos para la evaluación del agua, así como para su respectiva valoración de calidad (Harding y Taylor, 2014; Jakovljevic et al., 2016).

-*Gomphoneis erienne* var. *apiculate*: Puede ser usado como bioindicador climático ya que según Stoermer (1963), estas diatomeas son muy sensibles a la temperatura. Una especie correspondiente a este género *Gomphoneis* (*G. minuta*) se observó que disminuye en respuesta a la presencia de metales pesados (Cadmio y Zinc) podría servir como bioindicador (Basualto et al., 2016) por lo que sería interesante investigar a fondo las posibles aplicaciones que puede tener este tipo de diatomea para saber si es posible utilizarla también como bioindicador de metales pesados o alguna otra aplicación.

-*Navicula detenta*: Se usa como bioindicador para seguimiento y evaluación de la condición ecológica de aguas superficiales continentales. (Maciej y Fryderyka, 2017; Atazadeh et al., 2017). También podría tener uso biomédico ya que se puede extraer de esta diatomea un polisacárido (FeCl<sub>3</sub> gel) dado que éste es térmicamente estable a la temperatura por lo que podría ser usado en implementación de material orgánico que soporte la temperatura corporal (Fimbres et al., 2016).

-*Rhopalodia gibberula*: Posible aplicación en el tratamiento de aguas residuales como bioindicador (Jamali et al., 2012; Barinova et al., 2019; Zhang et al., 2019), indicador ecológico-ambiental (Siqueiros et al., 1991), aplicación como indicador ecológico (Buendía et al., 2015), para la evaluación del agua, así como para la respectiva valoración de calidad de esta (Atazadeh et al., 2017).

-*Sellaphora disjuncta*: ha sido usada en métodos para la evaluación del agua, así como para su respectiva valoración de calidad (Atazadeh et al., 2017).

#### IV.3.- Descripción de las diatomeas observadas en microscopio óptico:

-*Sellaphora disjuncta*, en el microscopio óptico el área axial es recta; el rafe es filiforme (Imagen 5a).

-*Navicula detenta*, en el microscopio óptico presenta válvulas elípticas, sus apicios son rostratos para subcapitar. La zona central es lineal en el eje apical y las estriaciones suelen estar completas sobre la zona central (Imagen 5b).

-*Cocconeis pediculus*, en el microscopio óptico muestra que las valvas son subcirculares. Los extremos proximales del rafe son rectos, y el rafe se extiende a la zona central, (Imagen 5c).

-*Rhopalodia gibberula*, en el microscopio óptico presentan valvas fuertemente dorsi-ventrales, margen dorsal fuertemente convexo, margen ventral ligeramente cóncavo o apicios rectos agudamente redondeados. En el centro de la parte ventral de la cara de la valva corre una costa apical (Imagen 5d).

-*Gomphoneis eriense* var. *apiculada*, en el microscopio óptico se observa un área axial estrecha expandiéndose en el centro de la valva para formar una zona central redondeada. Las valvas son ampliamente lanceoladas, con una asta apiculada y una asta redondeada. Las esteras se irradian para irradiar fuertemente en la asta del pie. Las líneas longitudinales están presentes a ambos lados del área axial (Imagen 5e).

-*Achnanthes brevipes* var. *intermedia*, en el microscopio óptico se observa como la célula está unida al sustrato: ya sea a través del rafe directamente con la concha cóncava, o mediante un tallo de gelatina. La segunda concha no tiene rafe. Las células tienen uno o dos plástidos en forma de H. Algunas especies de agua salobre tienen muchos plástidos lenticulares (Imagen 5f). -*Denticula tenuis*, en el microscopio óptico se observan con rafe incluido en un canal de rafia. células solitarias, valvas elípticas, elípticas-lanceoladas hasta que son lineales, con los extremos no diferentes del cuerpo. El rafe está incluido en un canal rafia marginal, submarginal o central, con las fíbulas extendidas en costillas que no pueden pasar a través de todo el prospecto (Imagen 5g).

**Imagen 9. Diatomeas del área de estudio**

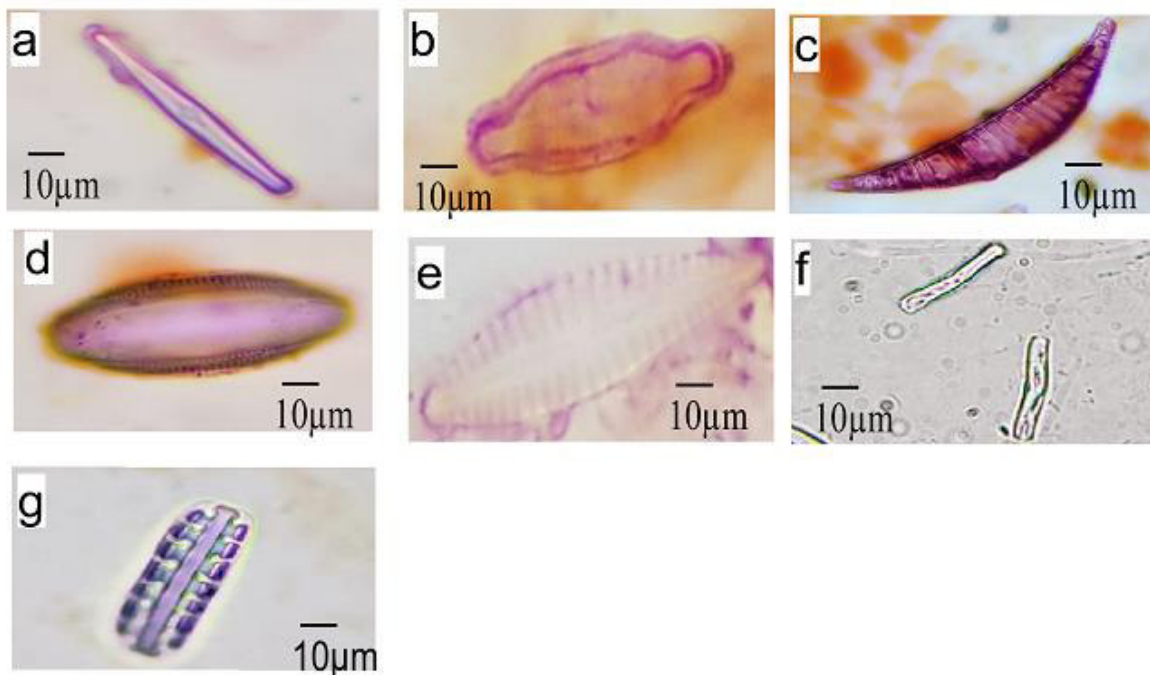


Imagen 9. Diatomeas del área de estudio observadas en microscopio óptico.

NOTA: (a) *Sellaphora disjuncta* (Hust.) Mann, 1989; (b) *Navicula detenta* Hust., 1943; (c) *Cocconeis pediculus* Ehrenb., 1838; (d) *Rhopalodia gibberula* (Ehrenb.) Müller, 1895; (e) *Gomphoneis eriensis* var. *apiculata* Reimer, 1982; (f) *Achnanthes brevipes* var. *intermedia* Krammer y Lange-Bertalot, 1986; (g) *Denticula tenuis* Kützing, 1844.

IV.4.- Descripción de las diatomeas observadas en microscopio electrónico de barrido (MEB)

-*Sellaphora disjuncta*, en el microscopio electrónico de barrido se observa que las valvas son delgadas y lineales-lanceoladas, con extremos subcapitados. El área axial es estrecha y recta, ensanchándose levemente en el área central. El área central se expande en forma de corbata de moño y se puede interrumpir en forma de estriado acortado. Los estriados se irradian en el centro de la valva, volviéndose ligeramente paralelos en los ápices, mientras que en el microscopio óptico el área axial es recta; el rafe es filiforme (Imagen 6 a).

-*Achnanthes brevipes* var. *intermedia*, en el microscopio electrónico de barrido las células individuales tienen la cáscara típica de diatomeas de dos contadores. El vaciado está doblado dentro de la vista, a menudo doblado hacia atrás en los extremos en la dirección opuesta. En la vista de la cáscara, por lo general es elíptica, mientras que en el microscopio óptico la célula está unida al sustrato: ya sea a través del rafe directamente con la cáscara cóncava, o por medio de un tallo de gelatina. El segundo proyectil no tiene rafe. Las células tienen uno o dos plastoides en forma de H. Algunas especies de agua salobres tienen muchos plastoides lenticulares (Imagen 6b).

**Imagen 10.** Diatomeas del área de estudio (SEM).

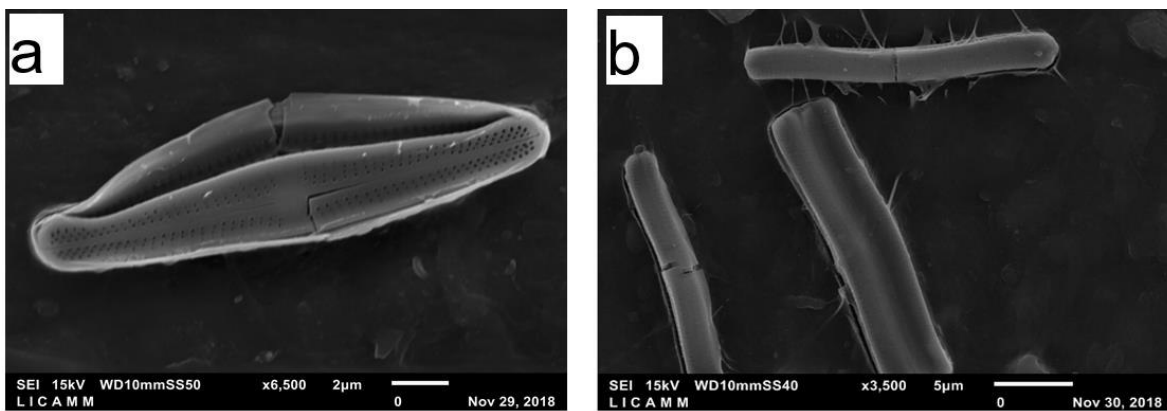


Imagen 10. Fotografías de diatomeas de las fuentes hidrotermales de la zona geotérmica de Comanjilla observadas con microscopio electrónico de barrido (SEM): a) *Sellaphora disjuncta* (Hust.) Mann, 1989; b) *Achnanthes brevipes* var. *intermedia*. Krammer y Lange-Bertalot, 1986.

## DISCUSIÓN

Este es el primer reporte de diatomeas en tapetes microbianos termófilos que tapizan aguas termales en el estado de Guanajuato, México, donde bacterias termófilas como: *Brevibacillus agri* y *Paenibacillus* sp., conviven en asociación con las diatomeas de la clase Bacillariophyceae representadas por el género *Achnanthes*. Los resultados indicaron que, con el aumento de la temperatura del agua en los tanques por encima de los 90 °C, el número de especies de diatomeas se empobrece, como es el caso de las muestras M1 y M2. Las especies de diatomeas registradas en las muestras M1 y M2 tienen poca abundancia de la especie *A. brevipes* var *intermedia*, probablemente debido a las condiciones de pH, agua ligeramente alcalina, temperatura, bajas concentraciones en Ca, K, H<sub>2</sub>S y SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, concentraciones más altas en Mg, Mo, MgO, K<sub>2</sub>O, CaO y Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, y ausencia de NaCl. Asimismo, es importante mencionar que el sistema de falla NE-SW es más joven y es el que controla las fuentes termales de pH 9.1, mientras que el sistema de falla NW-SE que es más antiguo y controla las fuentes termales de pH 7.2. El aumento de sílice junto con el pH, la temperatura y el tipo de agua fueron factores importantes para la distribución y diversidad de las diatomeas, ejemplo de las diatomeas reportadas en Tailandia (Pumas et al., 2018). Las diatomeas absorben el silicio circundante a baja concentración (<1 µM) y son transportadas activamente a través de las membranas, como el ácido silícico, luego el producto de silicio insoluble para su inserción en las paredes móviles, este mecanismo permite que se utilicen sus biocapsulas de sílice (frústulas) como nanomateriales. El contenido de SiO<sub>2</sub> varía con las especies individuales y con las condiciones ambientales. Las variables como pH, conductividad eléctrica, dureza, alcalinidad, temperatura, sólidos disueltos totales y composición química están involucradas en la relación y abundancia de especies, ya que las diatomeas respondieron mejor a cambios en el ambiente fisicoquímico (Leland y Potter, 2000; Lamberti, 1993). Se sabe que la conductividad eléctrica (CE) es un factor importante para determinar la composición de la comunidad de diatomeas epilíticas, algunas especies permanecen a temperaturas elevadas y se desarrollan activamente e incluso forman masas como *Navicula detenta* y *Sellaphora disjuncta*, por lo que la temperatura se convierte en un factor importante. Los taxones tienen un pH de aguas neutrales a algunos alcalinos. Por otro lado, *Achnanthes brevipes* var. *intermedia* tiene una amplia tolerancia a la sal (Siqueiros-

Beltrones, 1988; Jones, 1996), así mismo ha sido descrita por Round (1971) en aguas hipersalinas, donde esta especie presenta doble frústula como ajuste a la hipersalinidad. Los valores medidos de rodio y argón posiblemente estén controlados por la geología estructural, es decir, la presencia de sistemas de fallas permeables y por la litología de las rocas huésped lixiviadas. Las diatomeas (*Bacillariophyceae*) son frecuentemente un grupo ubicuo, altamente exitoso y distintivo de algas unicelulares, con la presencia de paredes celulares silíceas llamadas frústulas. Asimismo, es la más rica en especies de diatomeas, lo que representa una gran importancia ecológica, biotecnológica y de producción primaria (Field et al., 1998; Mann, 1999).

## CONCLUSIONES

Un total de siete especies de diatomeas se determinaron en esteras microbianas termofílicas presentes en aguas termales sulfurosas de la zona geotérmica de Comanjilla, predominantemente clase Bacillariophyceae. Dichas especies de diatomeas descritas en este trabajo viven en ambientes a pH 7.6–9.1 en esteras microbianas termofílicas derivadas de aguas termales sulfurosas de 45°C a 100 °C. El tipo de agua es ligeramente alcalina a neutra. La diversidad comunitaria de diatomeas de aguas termales en dos sitios de muestreo de aguas termales se estableció mediante la clasificación de siete especies. Estos pertenecían a 1 clase, 6 órdenes, 7 familias, 7 géneros y 7 especies.

Las especies que se encuentran en esteras microbianas termofílicas presentes en aguas termales sulfurosas; *Navícula detenta*, *Sellaphora disjuncta*, *Gomphoneis eriense* var. *apiculate*, *Rhopalodia gibberula*, *Cocconeis pediculus*, *Achnanthes brevipes* var. *intermedia* y *Denticula tenuis* Kützing, se determinaron como registros nuevos en México. Los géneros dominantes según la alta abundancia relativa fueron *Sellaphora* (45%) seguido de *Achnanthes* (25%) y *Navicula* (15,2%). Según Kroger y Poulsen (2008), el pH influye en la estructura de las comunidades diatomeas, en la diversidad y en la biomasa total producida. Las características físicas pH, conductividad eléctrica y turbidez fueron factores significativos que afectaron la abundancia relativa de especies de *Achnanthes brevipes* var. *intermedia*.

Las diatomeas descritas en este trabajo: *Navícula detenta*, *Sellaphora disjuncta*; *Gomphoneis eriense* var. *apiculate*; *Rhopalodia gibberula*, *Cocconeis pediculus*, *Achnanthes brevipes* var. *intermedia* y *Denticula tenuis* Kützing según la literatura tienen campo de aplicación en materia biomédica, bionutrición (alimento peces), biorremediación, biosensor y en biomonitoreo. ((Kobayasi et al., 1981; Valdez, 2009; Atici et al., 2008; Bojorge et al., 2014, Congestri et al., 2005; Jamali et al., 2012; Wojtal and Sobczyk, 2012; Datta et al., 2019, Fimbres-Olivarría et al., 2016; Lee et al. 2009; Kuppusamy et al., 2017; Mora et al., 2015).

La diversidad de microorganismos termofílicos que se encuentran en las esteras microbianas de las aguas termales de la zona geotérmica de Comanjilla puede ser explotada aún más para el beneficio de la humanidad. Las diatomeas de la clase Bacillariophyceae, se han reportado



en ecosistemas marinos, de agua dulce y terrestres, pero no hay muchos estudios que las describan en un ecosistema de aguas termales, lo que representa un abanico de oportunidades para aplicaciones biotecnológicas, especialmente en procesos industriales.

El estudio de las diatomeas como unidad funcional ayudará a entender mejor cómo estas comunidades complejas e integradas se adaptan a la vida alrededor de las aguas termales, donde factores como el pH, la conductividad eléctrica, la dureza, la alcalinidad, la temperatura, la composición química influyen en la relación y abundancia de estos organismos. Las diatomeas son taxones importantes no sólo en términos de diversidad y ecología, sino también debido a sus aplicaciones en monitoreo ambiental, nanotecnología, biocombustibles, medicina, agricultura e industria alimentaria. En la literatura reciente, las diatomeas se consideran elementos importantes para la síntesis de biomateriales, para problemas de contaminación, para rehabilitar sitios y para determinar la toxicidad de un lugar por metales pesados. Con base en esto, las fuentes térmicas representan un nuevo escenario para el estudio y uso de diatomeas térmicas como aplicación alternativa en nanotecnología y biotecnología.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 Alvarado-Méndez, H, & Rodríguez-Trejo, S.. 1999. Carta geológico-minera Nuevo Valle de Moreno, F14-C42, Guanajuato, escala 1:50000: Secretaría de Economía, Servicio Geológico Mexicano, 1 mapa con resumen de la geología.
- 2 Abo-Shady, Prof. A., Zalat, A., Alashkar, E. & Ghobara, M.. 2019. Nanoporous silica of Some Egyptian Diatom Frustules as a Promising Natural Material. *Nanoscience and Nanotechnology - Asia*. 8. 1-16. 10.2174/2210681208666180321113834.
- 3 Alaniz-Álvarez, S. A, Nieto-Samaniego, A. F.. 2005. El sistema de fallas Taxco-San Miguel de Allende y la Faja Volcánica Transmexicana, dos fronteras tectónicas del centro de México activas durante el Cenozoico: *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana*, 57(1), 65-82.
- 4 Alonso, M.. 1996. Crustacea, Branchiopoda. *Fauna Iberica*. Vol. 7. Museo Nacional de Ciencias Naturales, CSIC, Madrid, pp. 1-486.
- 5 Aranda-Gómez. J.J, Henry, C.D, Luhr, J, McDowell, F.W, 2003, Cenozoic volcanic-tectonic development of northwestern Mexico – a transect across the Sierra Madre Occidental volcanic field and observations on extension-related magmatism in the southern Basin and Range and Gulf of California tectonic provinces, en *Geologic transects across Cordilleran Mexico*, 99th Annual Meeting of the Cordilleran Section of the Geological Society of America, Guidebook: México, D.F, Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Geología, Centro de Geociencias, Publicación Especial 1, 71-121.
- 6 Armbrust EV, Berges JA, Bowler C, Green BR, Martinez D, Putnam NH, Zhou S, Allen AE, Apt KE, Bechner M, Brzezinski MA, Chaal BK, Chiovitti A, Davis AK, Demarest MS, Detter JC, Glavina T, Goodstein D, Hadi MZ, Hellsten U, Hildebrand M, Jenkins BD, Jurka J, Kapitonov VV, Kröger N, Lau WW, Lane TW, Larimer FW, Lippmeier JC, Lucas S, Medina M, Montsant A, Obornik M, Parker MS, Palenik B, Pazour GJ, Richardson PM, Rynearson TA, Saito MA, Schwartz DC, Thamtrakoln K, Valentin K, Vardi A, Wilkerson FP, Rokhsar DS. [ 2004 Oct]. The genome of the diatom *Thalassiosira pseudonana*: ecology,

evolution, and metabolism. *Science*. 306(5693):79-86. doi: 10.1126/science.1101156. PMID: 15459382.

7 Armijo-Valenzuela M, San Martín Bacaicoa J.. 1994. Curas balnearias y climáticas. *Talasoterapia y Helioterapia*. Madrid. Edit. Complutense.

8 Armijo-Valenzuela, M.. 1994a. Evolución histórica del termalismo. En: *Curas Balnearias y Climáticas*. *Talasoterapia y Helioterapia*, Ed. Complutense, Madrid, 19-25.

9 Atazadeh, E. (2017). Modelos basados en algas para configurar flujos consuntivos para beneficio ecológico en el río MacKenzie altamente regulado, sureste de Australia (tesis doctoral, Federation University Australia).

10 Atazadeh, I, Kelly, M, Sharifi , M. & Beardall, J.. 2009. The effects of copper and zinc on biomass and taxonomic composition of algal periphyton communities from the River Gharasou, Western Iran. *Oceanological and Hydrobiological Studies*,38(3) 3-14. <https://doi.org/10.2478/v10009-009-0027-3>

11 Atazadeh, I, Sharifi, M, Kelly, M.G.. 2007. Evaluation of the Trophic Diatom Index for assessing water quality in River Gharasou, western Iran. *Hydrobiol*, 589: 165-349.

12 Austin, B.. 1988. *Methods in Aquatic Bacteriology*. A Wiley-Interscience Publication, 222-231.

13 Barinova, S.S, Bilous, O.P. & Tsarenko, P.M.. 2019. Algal indication of water bodies in Ukraine: methods and perspectives. University of Haifa Publisher, Haifa, Kyiv, 367 pp.

14 Barinova, S.S., O.P. Bilous & P.M. Tsarenko 2019. Algal indication of water bodies in Ukraine: methods and prospects. Publishing House of Haifa University, Haifa, 367 pp. (in Russian). [Баринава С.С., Белоус Е.П., Царенко П.М. Аль-го индикация водных объектов Украины: методы и перспективы. Хайфа, Киев: Изд-во Университета Хайфы. 367 с.].

- 15 Basualto, S, Rivera, P, Cruces, F, Ector, Luc. & Ascencio, E.. 2016. *Didymosphenia geminata* (Lyngbye) M. Schmidt y *Gomphoneis minuta* (Stone) Kociolek & Stoermer (Bacillariophyta), especies presentes en ríos de la VIII Región, Chile, formadoras de proliferaciones con aspecto muy similar. *Gayana Botánica*. 73. 457-461.
- 16 Bhandiwad, A, Guseva, A, Lynd, L.. 2013. Metabolic engineering of thermoanaerobacterium *thermosaccharolyticum* for increased n-Butanol production. *Adv. Microbiol*, 3: 46-51.
- 17 Blanco, S, Cejudo-Figueiras, C, Álvarez-Blanco, I, Bécares, E, Hoffmann, L. & Ector, L.. 2010. Atlas de las Diatomeas de la cuenca del Duero / Diatom Atlas of the Duero Basin. Área de Publicaciones. Universidad de León. León, 386 pp.
- 18 Borrelli L, Perri F, Critelli S, Gullà G.. 2014. “Características químicas y mineropetrográficas de sedimentos de grano fino plio-pleistocénicos en Calabria, sur de Italia” , *Revista Italiana de Geociencias* , vol. 133, no. 1, 101-115.
- 19 Bowler, C, Allen, A, Badger, J. et al.. [2008]. The *Phaeodactylum* genome reveals the evolutionary history of diatom genomes. *Nature* 456, 239–244. <https://doi.org/10.1038/nature07410>
- 20 Bozarth, A, Maier, U. G, & Zauner, S.. 2009. Diatoms in biotechnology: modern tools and applications. *Applied microbiology and biotechnology*, 82(2), 195–201. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1804-8>
- 21 Bozarth, A, Maier, UG. & Zauner, S.. 2009. Diatoms in biotechnology: modern tools and applications. *Appl Microbiol Biotechnol* 82, 195–201. Recuperado de: <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1804-8>
- 22 Brown, M.R., Jeffrey, S.W., Volkman, J.K. y G.A. Dunstan. 1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture* 151:315-331 p
- 23 Brown, M.R.. 1991. The aminoacid and sugar composition of 16 species of microalgae used in mariculture. *Journal Exp. Mar. Biol. Ecol.* 145:79-99 p

- 24 Buendía-Flores, M, Tavera, R. y Novelo, E.. 2015. Florística y ecología de diatomeas bentónicas de la zona lacustre de Xochimilco-Tláhuac, México. *Botanical Sciences*, 93, 531-558. Recuperado de: <https://doi.org/10.17129/botsci.148>
- 25 Burchardt AD, Carvalho RN, Valente A, Nativo P, Gilliland D, García CP, Passarella R, Pedroni V, Rossi F, Lettieri T.. [2012 Oct 16]. Effects of silver nanoparticles in diatom *Thalassiosira pseudonana* and cyanobacterium *Synechococcus* sp. *Environ Sci Technol*. 46(20):11336-44. doi: 10.1021/es300989e. Epub 2012 Sep 26. PMID: 22958173.
- 26 Chakraborty, N, Pal, R, Ramaswami, A, Nayak, D, Lahiri, S.. 2006. Diatom: A potential bio-accumulator of gold. *J Radioanalyt Nuclear Chem* ,270 (3):645–649.
- 27 Chelf, P.. 1990. Environmental control of lipid and biomass production in two diatom species. *J Appl Phycol*, 2: 121-129.
- 28 Chen, G.Q, Jiang, X.R.. 2018. Next generation industrial biotechnology based on extremophilic bacteria. *Curr. Opin. Biotechnology*, 50: 94-100.
- 29 Cleve, P.T.. 1894. Synopsis of the naviculoid diatoms. Part I. *Kongliga Svenska Vetenskapsakademiens Handlingar*, series 4, 26(2): 1-194, 5 pls.
- 30 CONAGUA (CNA), 2015. Actualización de la disponibilidad media anual de agua en el acuífero Silao-Romita (1110). [https://sigagis.conagua.gob.mx/gas1>DR\\_1110](https://sigagis.conagua.gob.mx/gas1>DR_1110).
- 31 Covarrubias, Y., Cantoral-Uriza, E., Casas-Flores, J., & García-Meza, J.. 2016. Thermophile mats of microalgae growing on the woody structure of a cooling tower of a thermoelectric power plant in Central Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 87 (2)
- 32 Cowan, D.A.. 1992. Enzymes from thennophilic archaeobacteria: Current and futureapplications in biotechnology. *Biochem Soc Symp*, 58: 149-169.
- 33 Cox, E.J.. 1996. Identification of Freshwater Diatoms from Live Material. Chapman and Hall, London, U.K.

- 34 De la Rey, P.A, Taylor, J.C, Las, A, Van Rensburg, L, Vosloo, A.. 2004. Determining the possible application value of diatoms as indicators of general water quality - A comparison with SASS 5. *Water SA*, 30(3) 325-332.
- 35 De La Rosa- Jorge, M. del C. y Mosso-Romeo, M.A.. 2001. Diversidad microbiana de las aguas minerales termales.
- 36 De Rosa, M, Morana, A, Riccio, A, Gambacorta, A, Trincone, A, Incani, O.. 1994. Lipids of the archaea: a new tool for bioelectronics. *Biosensor Bioelectronic*, 9: 669-675.
- 37 De-Jonge, M.D, Holzner, C, Baines, S.B, Twining, B.S, Ignatyev, K, Diaz, J, Howard, D.L, Legnini, D, Miceli, A, McNulty, I, Jacobsen, C.J, Vogt, S.. 2010. Quantitative 3D elemental microtomography of *Cyclotella meneghiniana* at 400-nm resolution. *PNAS*, 107 (36) 15676-15680.
- 38 Del Río V. P, Nieto-Samaniego E, Ángeles M. A, Escalona A. F. de J, Del Pilar M. A.. 2020. Geología y estructura de las sierras de Guanajuato y Codornices, Mesa Central, México. *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana*, 72(1), e071019. Epub 22 de diciembre de 2020. <https://doi.org/10.18268/bsgm2020v72n1a071019>
- 39 Derrien, A., Coiffard, L. J., Coiffard, C., & De Roeck-Holtzhauer, Y. (1998). Free amino acid analysis of five microalgae. *Journal of applied phycology*, 10(2), 131-134.
- 40 De-Stefano, L, Rea, I, Rendina, I, De Stefano, M, Moretti, L.. 2007. Lensless light focusing with the centric marine diatom *Coscinodiscus walesii*, *Opt. Express*, 15:18082–18088.
- 41 Dolatabadi, J.E.N, De la Guardia, M.. 2011. Applications of diatoms and silica nanotechnology in biosensing, drug and gene delivery, and formation of complex metal nanostructures. *Trends Anal Chem*, 30(9): 1538-1548.
- 42 Dunahay, T. G, Jarvis, E. E, Dais, S.S, Roessler, P.G.. 1996. Manipulation of microalgal lipid production using genetic engineering. *Appl Biochem Biotechnol*, 57:223.

- 43 Ehrenberg, C.G.. 1838. Die Infusionsthierchen als vollkommene Organismen. Ein Blick in das tiefere organische Leben de Natur erlag von Leopold Voss, Leipzig. pp. 1-xvii, 1-548, pls. 1-64.
- 44 Ezzati, J, Dolatabadi, N, De la Guardia, M, 2011: Applications of diatoms and silica nanotechnology in biosensing, drug and gene delivery, and formation of complex metal nanostructures. Trends Anal. Chem, 30: 1538-1548.
- 45 Fagundo, A. Cima, P. González (s.f.). REVISION BIBLIOGRAFICA SOBRE CLASIFICACIÓN DE LAS AGUAS MINERALES Y MINEROMEDICINALES J.R. Recuperado el 20 marzo de 2020, de <https://docplayer.es/23895651-Revision-bibliografica-sobre-clasificacion-de-las-aguas-minerales-y-mineromedicinales.html>
- 46 Falciatore, A., Ribera-d'Alcala, M., Croot, P. y Bowler, C.. 2000. Perception of Environmental Signals by a Marine Diatom. Science (New York, N.Y.). 288. 2363-6. 10.1126/science.288.5475.2363.
- 47 Falkowski, P.G, Barber, R.T, Smetacek, V.V.. 1998: Biogeochemical controls and feedbacks on ocean primary production. Science, 281:200-207.
- 48 "Fernández-Núñez, A. I, Fagundo-Castillo, J. R, Villanueva-Fernández, I, Segarte-Nario, R,
- Pesce, A, Vega-Sánchez, N.. 2009. Aguas mineromedicinales de Madrugá. <http://repositorio.geotech.cu/jspui/handle/1234/337>. 9"
- 49 Field, C.B, Behrenfeld, M.J, Randerson, J.T, Falkowski, P.. 1998. Primary production of the biosphere: integrating terrestrial and oceanic components. Science, 281:237-240.
- 50 Gale, D.K, Gutu, T, Jiao, J, Chang, C.H, Rorrer, G.L.. 2009. Photoluminescence Detection of Biomolecules by Antibody-Functionalized Diatom. Biosilica Adv. Funct. Mater,19:926–933.

- 51 Gao, G, Wu, M., Fu, Q., Li, XS y Xu, JT. 2019. A two-stage model with nitrogen and silicon limitation enhances lipid productivity and biodiesel features of the marine bloom-forming diatom *Skeletonema costatum*.
- 52 Gautam, S., Vinayak, V. & Arya, A. 2016. Morphological and physiological alterations in the diatom *Gomphonema pseudoaugur* due to heavy metal stress. *Ecological Indicators*. 72. 67-76. 10.1016/j.ecolind.2016.08.002.
- 53 Ghozzi, K, Zemez, M, Dhiab, R.B, Challouf, R, Yahia, A, Omrane, H, Ouada, H.B.. 2013. Screening of thermophilic microalgae and cyanobacteria from Tunisian geothermal sources. *J Arid Environ*, 97: 14-17.
- 54 Gihan a. E. And Adel F. H, (june 18-19, 2006). The characteristic algal mats and flora of el-timsah lake. *Proceedings of the First International Conference on Conservation and Management of Natural Resources*, Ismailia, Egypt. 1 (2): 75-80. 77
- 55 Google. (s.f.). [Comanjilla, Guanajuato]. Recuperado el 13 de febrero del 2021 de <https://earth.google.com/web/search/baneario+comanjilla/@21.0679335,-101.471711,1880.55537594a,20616.4887225d,35y,0h,0t,0r/data=CigiJgokCUcxgnU3HjVAEcD9BsSxBDVAGQxfgdTLV1nAIWA2XsaXZFnA>
- 56 Gordon, N., Neori, A., Shpigel, M., Lee, J. & Harpaz, S. 2006. Effect of diatom diets on growth and survival of the Abalone *Haliotis discus hannai* postlarvae. *Aquaculture*. 252.
- 57 Guo, Q, Jiao T, Yingchun W, Zhonghe P.. 2017. Fluid geochemistry and geothermometry applications of the Kangding high-temperature geothermal system in eastern Himalayas. *Applied Geochemistry* , vol. 81. 63–75.
- 58 Gupta, S.. 1998. Cyanobacterial toxins: Microcystin-LR. In: *Guidelines drinking water quality*. Geneva, Switzerland: WHO. 2nd ed.
- 59 Handelsman, J, Rondon, M.R, Brady, S. F, Clardy, J, Goodman, R.M.. 1998. Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: a new frontier for natural products. *Chem Biol*, 5: 245-249.



- 60 Harding, W. & Taylor, J.. 2014. Diatoms as indicators of historical water quality: A comparison of samples taken in the Wemmershoek catchment (Western Province, South Africa) in 1960 and 2008.
- 61 Harding, W. R, & Taylor, J. C.. 2014. Diatoms as indicators of historical water quality: a comparison of samples taken in the Wemmershoek catchment (Western Province, South Africa) in 1960 and 2008. *Water SA*, 40(4), 601+. Recuperado de: <https://link.gale.com/apps/doc/A394517636/AONE?u=anon~8bd4d553&sid=googleScholar&xid=1f43bc51>
- 62 Hassan, G.S.. 2010. *Paleoecological Significance of Diatoms in Argentinean Estuaries: what Do They Tell Us About the Environment?*. Nova Science Publishers, 80p.
- 63 Hemaiswarya, S, Raja, R, Kumar, R, Ganesan, V. & Anbazhagan, C.. 2011. Microalgae: A sustainable feed source for aquaculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 27. 1737-1746. 10.1007/s11274-010-0632-z.
- 64 Hemaiswarya, S, Raja, R, Ravi- Kumar, R, Ganesan, V, Anbazhagan, C.. 2011. Microalgae: a sustainable source for feed in aquaculture. *W. J. Microbiol. Biotechnol*, 27(8): 1737-1746.
- 65 Herbert, R, Sharp, R.. 1992. *Molecular Biology and Biotechnology of Extremophiles*. Chapman and Hall.
- 66 Hernández-Laloth, N.. 1991, *Modelo Conceptual del Funcionamiento Hidrodinámico del Sistema Acuífero del Valle de León*, Guanajuato: Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Ingeniería, Tesis de Licenciatura, 75 p.
- 67 Hildebrand M, Davis, A.K, Smith, S.R, Traller, J.C. & Abbriano, R.. 2012. The place of diatoms in the biofuels industry, *Biofuels*, 3:2, 221-240, DOI: 10.4155/bfs.11.157
- 68 Hong Y-W., Yuan D-X., Lin Q-M. y Yang T-L.. 2008. Accumulation and biodegradation of phenanthrene and fluoranthene by the algae enriched from a mangrove aquatic ecosystem. *Mar Pollut Bull* 56(8):1400–1405

- 69 Hustedt, F. (1943). Die Diatomeenflora einiger Hochgebirgsseen der Landschaft Davos in den schweizer Alpen. *Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie und Hydrographie* 43: 124-197, 225-280.
- 70 Hustedt, F.. 1943. Die Diatomeenflora einiger Hochgebirgsseen der Landschaft Davos in den schweizer Alpen. *Internationale Revue der gesamten Hydrobiol Hydrographie*, 43: 124-197, 225-280.
- 71 Imagen de la estructura básica de la arquea y su vinculación eter. (2020). Recuperada de: <https://ucmp.berkeley.edu/archaea/archaeamm.html>
- 72 INEGI, Instituto Nacional de Estadística Geografía e informática. 1981. 2da impresión. Carta geológica, Nuevo Valle de Moreno F14C42 [Mapa], Escala 1:50,000. 1981
- 73 INEGI, Instituto Nacional de Estadística y Geografía. 1980. Síntesis Geográfica de Guanajuato.
- 74 INEGI, Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. 1998. Estudio Hidrológico del Estado de Guanajuato. 1 era. edición. ISBN 970-13-1916-8. 7-47
- 75 INEGI/CONABIO. 2010. Mapas para colorear. Recuperado de: <https://www.mapasparacolorear.com/mexico/mapa-estado-guanajuato.php>
- 76 Jaccard, T, Ariztegui, D. & Wilkinson, K.. 2009. Incorporation of zinc into the frustule of the freshwater diatom *Stephanodiscus hantzschii*. *Chemical Geology*. 265. 381-386.
- 77 Jakovljevic, O, Popović, S, Vidakovic, D, Stojanović, K, Krizmanic, J.. 2016. The Application of Benthic Diatoms in Water Quality Assessment (Mlava River, Serbia). *Acta Botanica Croatica*. 75. 10.1515/botcro-2016-0032.
- 78 Jamali, A. A, Akbari, F, Ghoraklu, M. M, de la Guardia, M, & Yari Khosroushahi, A.. 2012. Applications of diatoms as potential microalgae in nanobiotechnology. *BioImpacts* : BI, 2(2), 83–89. <https://doi.org/10.5681/bi.2012.012>

- 79 Jurado-Falconi De Trujillo, E, Azáldegui-Moscol, A, & Benavides-Cavero, O.. 2014. Turismo, riesgos y oportunidades sobre el uso y consumo de las aguas termales. Caso: Valle de Churín 2013. 61.
- 80 Kale, A, Karthick, B.. 2015. The Diatoms Big Significance of Tiny Glass Houses. *Resonance*, 919-930.
- 81 Kim, H.K, Cho, I.H, Hwang, E.A, Kim, Y.J, Kim, B.H.. 2019. Benthic Diatom Communities in Korean Estuaries: Species Appearances in Relation to Environmental Variables. *Int J Environ Res Public Health*, 16(15): 1-20.
- 82 Knight, M.J, Senior, L, Nancolas, B, Ratcliffe, S, Curnow, P.. 2016. Direct evidence of the molecular basis for biological silicon transport. *Nat. Commun*, 7:1-11
- 83 Kociolek, J.P. Stoermer, E.F.. 1988. Taxonomy, ultrastructure and distribution of *Gomphoneis herculeana*, *G. erienne* and closely related species (Naviculales: Gomphonemataceae). *Proc. Acad. Nat Sci Phil*, 140: 24-97. <http://www.jstor.org/stable/4064935>
- 84 Kotaki Y., Koike K., Yoshida M., Thuoc C.V., Huyen N.T.M., Hoi N.C., Fukuyo Y. y Kodama M.. 2000. Domoic acid production in *Nitzschia* sp. isolated from a shrimp-culture pond in Do Son, Vietnam. *J Phycol* 36:1057–1060
- 85 Krammer, K. and Lange-Bertalot, H.. 1986. Bacillariophyceae. 1. Teil: Naviculaceae In: Ettl, H, J. Gerloff, H. Heynig and D. Mollenhauer (eds.) *Süßwasserflora von Mitteleuropa*, Band 2/1. Gustav Fisher Verlag, Jena. 876 pp
- 86 Kröger N, Poulsen N.. 2008. Diatoms-from cell wall biogenesis to nanotechnology. *Annu Rev Genet*. 42:83-107. doi: 10.1146/annurev.genet.41.110306.130109. PMID: 18983255.
- 87 Kroger, N, Poulsen, N.. 2008. Diatoms-from cell wall biogenesis to nanotechnology. *Annu. Rev. Genet*, 42: 83-107.

- 88 Kuppusamy, P, Soundharrajan, I, Srigopalram, S, Yusoff, M, Maniam, Gaanty P, Govindan, N. & Choi, Ki.. 2017. Potential pharmaceutical and biomedical applications of Diatoms microalgae - An overview. 46. 663-667.
- 89 Kuppusamy, P, Soundharrajan, I, Srigopalra, S, Yusoff, M.M, Maniam, G.P, Govindan, N, Choi, K.C.. 2017. Potential pharmaceutical and biomedical applications of Diatoms microalgae-An overview. Indian J. Geo Marine Sciences, 46(04):663-667.
- 90 Kuppusamy, P, Soundharrajan, I, Srigopalram, S, Yusoff, M, Maniam, G. P, Govindan, N. & Choi, K.. 2017. Potential pharmaceutical and biomedical applications of Diatoms microalgae - An overview. 46. 663-667.
- 91 Kützing, F.T.. 1844. Die Kieselschaligen Bacillarien oder Diatomeen. Nordhausen: zu finden bei W. Kohne. pp. [i-vii], [1]- 152, pls 1-30.
- 92 Lebeau T. y Robert J.M.. 2003. Diatom cultivation and biotechnologically relevant products. Part II: current and putative products. Appl Microbiol Biotechnol. 60(6):624-32. doi: 10.1007/s00253-002-1177-3. Epub 2002 Dec 13. PMID: 12664140.
- 93 Lebeau, T. & Robert, J.M.. 2002. Diatom cultivation and biotechnologically relevant products. Part I: Cultivation at various scales. Applied Microbiology and Biotechnology, 60, 612-623.
- 94 Lebeau, T., Gaudin, P., Moan, R. y Robert, J.M.. 2002. A new photobioreactor for continuous marenin production with a marine diatom: influence of the light intensity and the immobilised-cell matrix (alginate beads or agar layer). Appl Microbiol Biotechnol 59, 153–159
- 95 Lengeler, J.W, Drews, G, Schlegel, H.G.. 1999. The biology off the prokaryotes. Thieme, Stuttgart, Germany, 205-206 p.
- 96 Li, A, Cai, J, Pan, J, Wang, Y, Yue, Y, Zhang, D.. 2014. Multilayer hierarchical array fabricated with diatom frustules for highly sensitive bio-detection applications. J. Micromech. Microeng, 24(2): 1-7.

- 97 Li, J., Liu, Y., Cheng, J. J., Mos, M., & Daroch, M.. 2015. Biological potential of microalgae in China for biorefinery-based production of biofuels and high value compounds. *New biotechnology*, 32(6), 588-596.
- 98 Lin, K.C, Kunduru, V, Bothara, M, Rege, K, Prasad, S, Ramakrishna, B.L.. 2010. Biogenic nanoporous silica-based sensor for enhanced electrochemical detection of cardiovascular biomarkers proteins. *Biosensors and Bioelectronics*, 25 (10): 2336-2342.
- 99 López-Sandoval, Ó, Montejano,G, Carmona,J, Cantoral, E, Becerra-Absalón, I. 2016. Diversidad algal de un ambiente extremo: el manantial geotermal Los Hervideros, México, *Revista Mexicana de Biodiversidad*. Vol. 87, Issue 1. 1-9. ISSN 1870-3453. <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2016.01.004>
- 100 Lora-Vilchis, M. C, López-Fuerte, F. O, Pérez-Rojas, C. A.. 2020. Algas de cristal, diatomeas. *Recursos Naturales y Sociedad*. Vol. 6 (1): 25-42. <https://doi.org/10.18846/renaysoc.2020.06.06.01.0003>
- 101 Lorenz, P, Eck, J.. 2005. Metagenomics and industrial applications. *Nat Rev Microbiol*, 3: 510-516.
- 102 Lukavsky, J, Furnadzhieva, S, Pilarski, P.. 2011. Cyanobacteria of the thermal spring at Pancharevo. *Acta Bot Croat*, 70 (2), 191-208.
- 103 Maciej F. y Fryderyka C.. 2017. Załącznik 3. Aneks do klucza do oznaczania okrzemek w fitobentosie na potrzeby oceny stanu ekologicznego wód powierzchniowych w Polsce: Ocean Sense Maciej Fojcik. Aktualizacja metodyk monitoringu i oceny stanu ekologicznego śródlądowych wód powierzchniowych na podstawie fitobentosu wraz ze szkoleniami. OCEAN SENSE 43/8 80-268 Gdańsk. Recuperado de: [www.oceansense.eu](http://www.oceansense.eu)
- 104 Mann, D.G. 1989 . The Diatom genus *Sellaphora*: Separation from *Navicula*. *British Phycological Journal* 24(1):1-20
- 105 Mann, D.G.. 1989. The diatom genus *Sellaphora*: Separation from *Navicula*. *British Phycological Journal*, 24: 1-20.

- 106 Mark T. and Loren B, (2005). Diatom Biocriteria for Montana Streams. The Montana Department of Environmental Quality. 3
- 107 Martínez-Bravo, F. J, Macías-Cervantes, C. F, Lara-Valdés, J. L.. 2019. En torno al agua. Tres visiones sobre el agua en la historia cotidiana de Guanajuato. (1er edición). Ubicación: ISBN Universidad de Guanajuato: 978-607-441-686-2 16,17,18,19,20,21.
- 108 Martin-Jézéquel, V, Calu, G, Candela, L, Amzil, Z, Jauffrais, T, Séchet, V, Weigel, P.. 2015. Effects of organic and inorganic nitrogen on the growth and production of domoic acid by *Pseudo-nitzschia multiseriata* and *P. australis* (Bacillariophyceae) in Culture. *Mar. Drugs*, 13: 7067–7086.
- 109 Maznah, W.O. y Mansor, M. Aquatic pollution assessment based on attached diatom communities in the Pinang River Basin, Malaysia. *Hydrobiologia* 487, 229–241 (2002)
- 110 Maznah, W.O.W, Mansor, M.. 2002. Aquatic pollution assessment based on attached diatom communities in the Pinang River Basin, Malaysia. *Hydrobiol*, 487(1), 229-241.
- 111 Medarevic, D, Losic, D, Ibric, S.. 2015. Diatoms - Nature materials with great potential for bioapplications. *Hemijska industrija*, 70 (00) :69-69.
- 112 Medlin, L.K, Kaczmarska, I.. 2004. Evolution of the diatoms: V. Morphological and cytological support for the major clades and a taxonomic revision. *Phycologia*, 43: 245–270.
- 113 Mobellán-Fernández, J, Matías-Bóveda, M.. 2012. Patrimonio histórico español del juego y del deporte: termas romanas en la Península Ibérica.
- 114 Mora, D., Carmona, J., & Cantoral-Uriza, E. A.. 2015. Diatomeas epilíticas de la cuenca alta del río Laja, Guanajuato, México. *Revista mexicana de biodiversidad*, 86(4), 1024-1040.
- 115 Morell, I.. 1995. Origen del Termalismo. Geotermómetros. Algunas peculiaridades hidrogeoquímicas de las aguas termales. Trabajo presentado en Tercera Jornada sobre Termalismo. Grupo Nacional de Termalismo. Santa Clara (Cuba).

- 116 Moreno, C, Díaz, J.C, Caraballo, H, Chacón, K, Baptista, J.G.. 2007. Caracterización hidrogeoquímica de las fuentes de aguas termales del estado de Trujillo- Venezuela. *Academia VI*, (12) 92-105.
- 117 Moro, C.V., Bricheux, G., Portelli, C., Bohatier, J.. 2012. Comparative effects of the herbicides chlortoluron and mesotrione on freshwater microalgae. *Environ Toxicol Chem*.
- 118 Müller G.F. O.. 1895. *Rhopalodia* ein neues Genus der Bacillariaceen. *Botanische Jahrbucher fur Systematik. Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie*, 22: 54-71, 2 pl.
- 119 Nieto-Samaniego, Á. F., & Macías-Romo, C.. 1996. LA PARTE MERIDIONAL DE LA MESA CENTRAL, MÉXICO. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas*, 13(1), 117-122.
- 120 Nikulina, T.V, Kociolek, P, 2011: Diatoms from Hot Springs from Kuril and Sakhalin Islands (Far East, Russia). *Cellular Origin, Life in Extreme Habitats and Astrobiology*, 19: 333-363.
- 121 NORMA MEXICANA NMX-AA-42-1987.calidad del agua determinación del número más probable (nmp) de coliformes totales, coliformes fecales (termotolerantes) y *Escherichia coli* presuntiva.
- 122 NORMA Oficial Mexicana NOM-230-SSA1-2002. Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano, requisitos sanitarios que se deben cumplir en los sistemas de abastecimiento públicos y privados durante el manejo del agua. Procedimientos sanitarios para el muestreo.
- 123 Orozco, R.. 1921. La industria minera de México. Distrito de Guanajuato, Secretaría de Educación Pública / Secretaría de Industria, Comercio y Trabajo, México.
- 124 Patrick, R.. 1968. The effect of changes in pH on the structure of diatom communities. *Notulae Naturae*, 426: 1–15.

- 125 Peng, J., Yuan, J.P., Wu, C.F. y Wang, J.H..2011. Fucoxanthin, a marine carotenoid present in brown seaweeds and diatoms: metabolism and bioactivities relevant to human health. *Mar Drugs*. 2011,9(10):1806-28. doi: 10.3390/md9101806.
- 126 Pilquimán Vera, Marisela, 2012. UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID. TURISMO DE SALUD, TERRITORIO Y DESARROLLO LOCAL Tomo I. Texto [TESIS DOCTORAL] p 86.
- 127 Pinuaga-Espejel J. I.. 1992.. Infraestructura hidrotermal. Trabajo presentado en Jornadas de aguas minerales y minero medicinales, España.
- 128 Ponader, K, Charles, D.. 2003. Understanding the relationship between natural conditions and loadings on eutrophication: Algal indicators of eutrophication for New Jersey streams. Final Report Year 2. Report No. 03-04. Philadelphia, Pa.: The Academy of Natural Sciences, Patrick Center for Environmental Research.
- 129 Popovich, C. A., Pistonesi, M. F., Hegel, P. E., Constenla, D. T., Barnech-Bielsa, G., Lucas-Ariel, M., Damiani, M. C. y Leonardi, P. I.. Unconventional alternative biofuels: Quality assessment of biodiesel and its blends from marine diatom *Navicula cincta*, Elsevier, *Algal Research*, 39, 5-2019, 101438
- 130 Potapova, M, Charles, D.F.. 2003. Distribution of benthic diatoms in US rivers in relation to conductivity and ionic composition. *Freshw. Biol*, 48: 1311–1328.
- 131 Potapova, M, Charles, D.F.. 2007. Diatom metrics for monitoring eutrophication in rivers of the United States. *Ecol Indic*, 7: 48-70.
- 132 Poulsen N, Berne C, Spain J, Kröger N.. 2007. Silica immobilization of an enzyme through genetic engineering of the diatom *Thalassiosira pseudonana*. *Angew Chem Int Ed Engl*. 46(11):1843-6. doi: 10.1002/anie.200603928. PMID: 17274079.
- 133 Prieto-Barajas, CM, Alfaro-Cuevas, R, Valencia-Cantero, E. y Santoyo, G.. 2017. Efecto de la estacionalidad y los parámetros fisicoquímicos en las comunidades bacterianas



en dos esteras microbianas de aguas termales de Araró, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, vol. . 88, no. 3. 616–624.

134 Pumas, C, Pruetiworanan, S, Peerapornpisal, Y.. 2018. Diatom diversity in some hot springs of northern Thailand. *Botanica*, 24(1):69-86.

135 Puy-Alquiza, M. J, Miranda-Avilés, R, Ordaz-Zubia, V. Y.. (2015). Puntos de interés geológico del estado de Guanajuato. Ubicación: Publicia.

136 Pytlik, N, Kaden, J, Finger, M, Naumann, J, Wanke, S, Machill, S. y Brunner, E.. 2017. Biological synthesis of gold nanoparticles by the diatom *Stephanopyxis turris* and in vivo SERS analyses. *Algal Research*. 28. 10.1016/j.algal.2017.10.004.

137 Ramachandra, T.V, Madhab- Mahapatra, D, Karthick, B, Gordon, R.. 2009. Milking Diatoms for Sustainable Energy: Biochemical Engineering versus Gasoline-Secreting Diatom Solar Panels. *Ind Eng Chem Res*, 48 (19), 8769-8788.

138 Ramos-Leal, J.A, Durazo, J, González-Morán, T, Ramírez-Guzmán, A, Johannesson, K.H, and Cortés, A.. 2005. Decay in chloride content of ground water due to excessive production of a well field near León, Mexico. *Geofísica Internacional*, Vol. 44, Num. 4, pp. 385-390

139 Ramos-Leal, José Alfredo, Durazo, Jaime, González-Morán, Tomás, Juárez-Sánchez, Faustino, Cortés-Silva, Alejandra, & Johannesson, Karen H.. 2007. Evidencias hidrogeoquímicas de mezcla de flujos regionales en el acuífero de La Muralla, Guanajuato. *Revista mexicana de ciencias geológicas*, 24(3), 293-305.

140 Reimer, C.W.. 1982. Four unreported diatom (Bacillariophyceae) taxa from Northwest Iowa. In: *Diatomaceae III, Festschrift Niels Foged* (H. Håkansson & J. Gerloff, eds.). *Beihefte zur Nova Hedwigia*, 73: 267-273.

141 Reysenbach, A.L. and Cady, S.L.. 2001. Microbiology of ancient and modern hydrothermal systems. *Trends Microbiol*, 9(2): 79-86. doi:10.1016/s0966-842x (00)01921-1.

- 142 Rijstenbil, J.W, Derksen, J.W.M, Gerringa, L.J.A. et al.. 1994. Oxidative stress induced by copper: defense and damage in the marine planktonic diatom *Ditylum brightwellii*, grown in continuous cultures with high and low zinc levels. *Marine Biology* 119, 583–590. Recuperado de: <https://doi.org/10.1007/BF00354321>
- 143 Rolf, D.. 2005. The metagenomics of soil. *Nat Rev Microbiol*, 3: 470-478.
- 144 Rott, E, Pipp, E, Fister, P.. 2003. Diatom methods developed for river quality assessment in Austria and a cross-check against numerical trophic indication methods used in Europe. *Archives of Hydrobiology Supply /Algalogical Studies*, 110: 91-11.
- 145 Round, F.E, Crawford, R.M, Mann, D.G.. 1990. *The Diatoms. Biology and Morphology of the Genera*. Cambridge University Press, Cambridge.
- 146 Scientific Reports vol. 11. 2011. Insight into diatom frustule structures using various imaging techniques, MEB images of *Didymosphenia geminate* [Fotografía]. *Nature scientific journal*. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-94069-9>
- 147 Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos (SARH), 1991, Estudio hidrogeoquímico y modelación matemática del acuífero del Río Turbio para definir las acciones encaminadas a proteger de contaminantes la fuente de abastecimiento de la Ciudad de León Gto.: Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Geofísica, contrato CC-88-306-D, informe técnico, 104 p.
- 148 SGM Servicio Geológico Mexicano, (1999) 1ra edición. Carta geológico-minera Nuevo Valle de Moreno F14C42 [Mapa], Escala 1:50,000. 1999
- 149 Shaawiat, Ali & Hassan, Fikrat. (2019). APPLICATION OF DIATOMIC INDICES (EPIPHYTIC DIATOMS) FOR ASSESSING WATER QUALITY FOR LOTIC ECOSYSTEM. 38. 587-599.
- 150 Singh, S.P.. 2006. Extreme Environments and Extremophiles, in National Science Digital Library (CSIR): E- Book, *Environ Microbiol CSIR India*, 1-35.

- 151 Sistema de Información Energética de Guanajuato (SIEG) con información generada por el Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Guanajuato (CONCYTEG) y apoyo de la Dirección de Información para la Planeación (IPLANEG). 2013. Recuperado de: <https://seieg.iplaneg.net/nada/index.php/catalog/22/study-description>
- 152 Soininen, J, Paavola, R, Muotka, T.. 2004. Benthic diatom communities in boreal streams: Community structure in relation to environmental and spatial gradients. *Ecography*, 27: 330–342.
- 153 Sorhannus, U.. 2007. A nuclear-encoded small-subunit ribosomal RNA timescale for diatom evolution. *Marine Micropaleontology*, 65: 1-12.
- 154 Sorrivias de Lozano, V, Yañez, M.J, Morales, A.. 2014. Principios y Práctica de la Microscopía Electrónica, UAT – CONICET. Bahía Blanca. Argentina.
- 155 Srivastava, P, Verma, J, Grover, S, Sardar, A.. 2016. On the importance of diatoms as ecological indicators in river ecosystems: a review. *Indian J Plant Sciences*, 5 (1): 70-86.
- 156 Stoermer, E.F.. 1963. Post-pleistocene diatoms from Lake West Okoboji, Iowa. Iowa State University. Digital Repository. Recuperado de <https://lib.dr.iastate.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=3499&context=rtd>
- 157 Taku, Y, Hiroshi, S, Shigeki, M, Kazuo, U.. 2010. Cultivation of *Melosira nummuloides* cells in the presence of platinum: Preparation of metal containing frustules. *Phys Status Solidi C*, 7(11 – 12): 2759 – 2762.
- 158 Timothy-Gutu, D. K. Gale, Clayton-Jeffryes, W. W., Chih hung-Chang, G. L., Rorrer, J. J.. 2009. "Electron Microscopy and Optical Characterization of Cadmium Sulphide Nanocrystals Deposited on the Patterned Surface of Diatom Biosilica", *Journal of Nanomaterials*, vol. 2009, Article ID 860536, 7 pages, 2009. <https://doi.org/10.1155/2009/860536>
- 159 Tiwari, A. & Marella, T. K.. 2019. Potential and Application of Diatoms for Industry-Specific Wastewater Treatment. 10.1007/978-3-030-13913-1\_15.

- 160 Torres, E., Cid, A., Herrero, C. & Abalde, J.. 2000. Effect of Cadmium on Growth, ATP Content, Carbon Fixation and Ultrastructure in the Marine Diatom *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin. *Water Air and Soil Pollution*. 117. 1-14. 10.1023/A:1005121012697.
- 161 Torres, V, Gómez, V, Barragán, R, González, E, Franco, J, Santoyo, E. & Venegas, S.. 1993. GEOTERMIA EN MEXICO. Primera Edición. ISBN 968-36-3444-3 7-43
- 162 Wang, Y, Chen, Y, Lavin, C, Gretz, M.R.. 2000. Extracellular matrix assembly in diatoms (Bacillariophyceae). iv. ultrastructure of *Achnanthes longipes* and *Cymbella cistula* as revealed by high-pressure freezing/freeze substitution and cryo-field emission scanning electron microscopy. *J. Phycol*, 36: 367–378.
- 163 Watanabe, T, Asai, K, Houki, A.. 1986. Numerical estimation of organic pollution of flowing waters by using the epilithic diatom assemblage - Diatom Assemblage Index (DIApo). *Sci Total Environ*, 55: 209-218.
- 164 Wittich E.. 1910. Geysers y aguas termales de Comanjilla, Guanajuato. *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana*. Tomo VI. 183
- 165 Zargiel KA, Coogan JS, Swain GW. [ 2011 Oct]. Diatom community structure on commercially available ship hull coatings. *Biofouling*. 27(9):955-65. doi: 10.1080/08927014.2011.618268. PMID: 21932984.
- 166 Zgłobicka, I, Gluch, J, Liao, Z, Werner, S, Guttman, P, Li, Q, Bazarnik, P, Plocinski, T, Witkowski, A. & Kurzydowski, K.J.. 2021. Insight into diatom frustule structures using various imaging techniques. *Sci Rep* 11, 14555. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-94069-9>. This article is licensed under a CC BY 4.0. <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>
- 167 Zhang, W, Wang, T, Levkov, Z, Jüttner, I, Ector, L. & Zhou, Q-C.. 2019. *Halamphora daochengensis* sp. nov, a new freshwater diatom species (Bacillariophyceae) from a small mountain lake, Sichuan Province, China. *Phytotaxa* 404(1). 12–22.