Potencial ficorremediador de algas altoandinas *Mougeotia* sp. y *Spirogyra* sp. (Charophyta): Evaluación de la capacidad de bioremediación de cobre y plomo

Phytoremediation potential of the high Andean algae *Mougeotia* sp. and *Spirogyra* sp. (Charophyta): Study of the bioremoval performance of copper and lead

Jara-Peña, Enoc^{1,2*} ; Haydeé Montoya Terreros² ; Karen Quispe Oré¹ ; José Gómez Carrión^{1,2} ; Yakov Quinteros-Gómez³ ; Tito Sánchez Rojas⁴ ; Diego Macedo Prada⁴

¹ Laboratorio de Fitología Aplicada, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM). Avenida Venezuela 3400, Lima 15081, Lima, Perú.

² Laboratorio de Simbiosis Vegetal, Museo de Historia Natural, Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM). Avenida Arenales 1256, Jesús María, Lima 15072, Lima, Perú.

³ Laboratorio de Ecología Tropical y Análisis de Datos, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM). Avenida Venezuela 3400, Lima 15081, Lima, Perú.

⁴ Laboratorio de Biotecnología Ambiental, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM). Avenida Venezuela 3400, Lima 15081, Lima, Perú.

* Autor correspondiente: <ejarap@unmsm.edu.pe>

RESUMEN

En el siglo XVIII, durante el virreinato del Perú, la mina Cerro de Pasco inició la explotación de plata y plomo, actividad que persiste hasta la actualidad y que continúa contaminando con metales pesados el suelo y las aguas de la cuenca del río San Juan, en el departamento de Pasco. Con el fin de analizar la eficacia de las algas verdes altoandinas *Mougeotia* sp. y *Spirogyra* sp. en la bioremediación de cobre y plomo, se recolectaron muestras de ambas especies en el río San Juan, y tras cultivarlas en medio de cultivo

► Ref. bibliográfica: Jara-Peña, E.; Montoya Terreros, H.; Quispe Oré, K.; Gómez Carrión, J.; Quinteros-Gómez, Y.; Sánchez Rojas, T.; Macedo Prada, D. 2024. Potencial ficorremediador de algas altoandinas *Mougeotia* sp. y *Spirogyra* sp. (Charophyta): Evaluación de la capacidad de bioremediación de cobre y plomo. *Lilloa* 61 (2): 415-434. doi: <https://doi.org/10.30550/j.li/2015>

► Recibido: 30 de septiembre 2024 – Aceptado: 22 de noviembre 2024 – Publicado: 7 de diciembre 2024.

► URL de la revista: <http://lilloa.lillo.org.ar>

► Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución – No Comercial – Sin Obra Derivada 4.0 Internacional.

Chu 10. El estudio se realizó con un diseño experimental factorial de 3 x 3 x 2 (3 indican los tres tratamientos de cobre y de plomo, y 2 son las dos especies de algas verdes filamentosas), con 5 repeticiones por tratamiento. Los resultados mostraron tanto *Mougeotia* sp. y *Spirogyra* sp. con el tratamiento de 30 mg L⁻¹ de plomo lograron las eficiencias de remoción más elevadas, del 97 % y 87,6 % de bioremoción de plomo, respectivamente. Ambas especies registraron una notable capacidad de bioremoción de plomo y cobre, empero con disminución significativa en su biomasa y en el contenido de clorofila a.

Keywords: Andes centrales; biorremediación; humedal; ficorremediación, ecosistema acuático.

ABSTRACT

In the 18th century, during the Viceroyalty of Peru, the Cerro de Pasco mine began exploiting silver and lead, an activity that continues to this day, polluting the soil and waters of the San Juan River basin in the Pasco region with heavy metals. To analyze the effectiveness of the green algae *Mougeotia* sp. and *Spirogyra* sp. in the bioremediation of copper and lead, samples of both species were collected from the San Juan River and after culturing in Chu 10 culture medium. The study was conducted using a 3 x 3 x 2 factorial experimental design (3 indicates the three treatments of copper and lead, and 2 are the two species of filamentous green algae), with 5 replicates per treatment. The results showed both *Mougeotia* sp. and *Spirogyra* sp. with the 30 mg L⁻¹ lead treatment achieved the highest removal efficiencies of 97 % and 87.6 % lead bioremoval, respectively. Both species showed a remarkable lead and copper bioremoval capacity, but with a significant decrease in biomass and chlorophyll a content.

Palabras clave: Acuatic ecosystem; bioremediation; central andes; phycoremediation; wetland.

INTRODUCCIÓN

En el contexto mundial los ecosistemas son afectados continuamente por actividades antrópicas y factores geogénicos, ocasionando graves problemas ambientales (Anu et al., 2016; Ahmad et al., 2020). Entre los desechos de mayor preocupación tenemos a los relaves mineros con un alto contenido de metales pesados, que son vertidos sin ningún tratamiento a cuerpos de aguas naturales (Volesky y Holan, 1995).

En el contexto nacional, en el departamento de Pasco, existen pasivos ambientales mineros desde la época colonial que son fuente de contaminación del río San Juan. En la actualidad, el agua de este río y de sus afluentes se encuentran en estado crítico por la contaminación con metales pesados

debido a los relaves y aguas residuales ácidas que llegan al río sin ningún tratamiento previo (Bianchini, 2009; MINAM, 2016).

Se denominan metales pesados, a los metales naturales que proceden de diversas fuentes. Por lo general, se originan de los residuos de la agricultura, la industria y el alcantarillado (Hazrat y Ezzat, 2018; Wu *et al.*, 2024). Son considerados elementos nocivos, y los residuos generados persisten en el ambiente y pueden ser bioacumulados por los organismos vivos (Hazrat *et al.*, 2019). Por tanto, la contaminación con metales pesados es un peligro potencial para la salud de los animales y de las personas (Doney, 2010; Zhang *et al.*, 2016). Entre los principales metales pesados tóxicos, a cadmio y plomo-son considerados como los contaminantes inorgánicos más importantes para las plantas, los animales y los seres humanos (Pérez-Vázquez *et al.*, 2014). En el caso de cobre es un micronutriente esencial para las plantas y algas, y desempeña una función importante en muchos procesos metabólicos, como un cofactor de las enzimas (Pal, 2014); el exceso de cobre en las algas inhibe su crecimiento, altera la permeabilidad celular, afecta la fotosíntesis, así como la fijación de nitrógeno (Wu *et al.*, 2017). En el caso del plomo, el cadmio y el mercurio no tienen ninguna función biológica esencial y son considerados como metales tóxicos para el desarrollo de las algas (Jais *et al.*, 2017). Que fue demostrado en el estudio realizado con *Chlorella vulgaris* donde su exposición con $5 \mu \text{ mol L}^{-1}$ de plomo causó una reducción en su crecimiento; además el incremento en las concentraciones de plomo alteró la tasa de fotosíntesis debido a la destrucción de los pigmentos de clorofila que son esenciales en el proceso fotosintético (Hee *et al.*, 2021).

Las algas son organismos principalmente acuáticos y autótrofos y suelen clasificarse como microalgas o macroalgas (Kiran *et al.*, 2017), en los sistemas ecológicos, son productores primarios con una distribución cosmopolita; estrechamente relacionada con la vida humana (Lee y Chang, 2011). El empleo de algas vivas ha demostrado ser eficiente en la remoción de metales pesados de las aguas residuales (Shamshad *et al.*, 2016; Vetrivel *et al.*, 2017), y el uso de macroalgas en el tratamiento de aguas residuales fue introducido por primera vez por Oswald en la década de 1960 (Salama *et al.*, 2019). Entre las Charophyta tenemos al género *Mougeotia* que son algas verdes filamentosas de la familia Zygnemataceae. Éstas se caracterizan por tener filamentos no ramificados, se reproducen sexualmente por conjugación y por producción de zigosporas resistentes y diploides (Graham *et al.*, 1996). Son eficientes para eliminar y tolerar tanto el zinc como el cobre, lo que les confiere la capacidad de ser utilizadas en el tratamiento de las aguas contaminadas (Al-Mayaly *et al.*, 2012).

Spirogyra es otro género del filo Charophyta. Éstas son filamentosas con filamentos uniseriados y sin ramificaciones con células cilíndricas alargadas; con una vacuola central grande y uno a dos cloroplastos espirales y acintados con varios pirenoides. Su pared celular está formada por dos capas de celulosa y una capa externa de pectosa, que forma la lámina media entre

células adyacentes (Cronquist, 1997). Se encuentran tanto en los océanos, zonas costeras y en aguas continentales (Xue *et al.*, 1988).

La ficorremediación refiere al uso de macroalgas o microalgas para la reducción de contaminantes como metales pesados, nutrientes y productos químicos nocivos presentes en las aguas residuales (Kumar *et al.*, 2018). El tratamiento de los contaminantes en el agua se realiza mediante el mecanismo de biosorción, es un proceso de remoción mediante materiales biológicos inactivos o muertos, que absorben componentes orgánicos e inorgánicos (Rizvi *et al.*, 2020). Particularmente, la biomasa algal tiene distintos grados de afinidad por los metales pesados (Ahmad *et al.*, 2020), facilita la eliminación de iones de metales pesados de aguas residuales, siendo un proceso rentable eficiente y seguro para el ambiente (Chen *et al.*, 2014; He y Chen, 2014). Las algas se utilizan por la capacidad de eliminación de nutrientes, adsorción y su naturaleza regenerativa y sostenible de aguas residuales industriales, agrícolas y mineras (Xia *et al.*, 2016). Para la absorción de contaminantes, las algas tienen en su superficie grupos funcionales cargados negativamente y que absorben los iones metálicos cargados positivamente (Razaviarani *et al.*, 2023). De otra parte, la bioacumulación es un proceso metabólico donde los iones de metales pesados atraviesan las membranas celulares de las microalgas vivas y penetran en el citoplasma (Danouche *et al.*, 2021). En este proceso los iones de metales pesados se transportan a través de las membranas celulares y se acumulan dentro de las células, reduciendo el contenido de metales pesados en las aguas residuales (Razaviarani *et al.*, 2023). Se caracteriza por ser un proceso activo, en la remoción de metales pesados en una célula viva, se requiere realizar una alta actividad metabólica (Zainith *et al.*, 2021). Este trabajo tuvo como objetivo evaluar la eficiencia individual de las algas verdes *Mougeotia* sp. y *Spirogyra* sp. de origen altoandino en la ficorremoción de cobre y plomo en condiciones controladas de laboratorio, mediante la determinación de los porcentajes de remoción y las capacidades de absorción.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

Las muestras algales de *Mougeotia* sp. fueron colectadas de colonias adheridas a piedras y a madera en el cauce del río San Juan a la altura del Puente San Juan, departamento de Pasco. Las muestras de *Spirogyra* sp. fueron obtenidas a la altura del Puente San Juan, estación DIGESA, Sector Rancas y en la desembocadura del río San Juan, Departamento de Pasco (Fig. 1). El aislamiento de algas, el cultivo monoalgal y las pruebas de bioeliminación fueron realizadas en el Laboratorio de Fitología Aplicada de la Facultad de Ciencias Biológicas en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos en Lima, Perú.

Fig. 1. Lugares de colecta de *Mougeotia* sp. y *Spirogyra* sp. en la cuenca del río San Juan, departamento de Pasco, Perú.

Fig. 1. Collection sites of *Mougeotia* sp. and *Spirogyra* sp. in the San Juan River basin, Pasco department, Peru.

Diseño experimental

Se utilizó un diseño experimental factorial de $3 \times 3 \times 2$ (3 indica las concentraciones de: 0, 5 y 10 mg L^{-1} de cobre; y 3 son las concentraciones de 0, 15 y 30 mg L^{-1} de plomo, y 2 se refiere a las dos especies de algas verdes filamentosas) con 5 repeticiones por cada tratamiento. Las concentraciones para los tratamientos de cobre se eligieron tomando como referencia el trabajo de Mane y Bhosle (2012) que indicaron que 5 mg L^{-1} de cobre en *Spirogyra* sp. permitió una bioremoción de 89,6%. De otro lado, las concentraciones de tratamientos de plomo se eligieron considerando el trabajo de Dong *et al.* (2022) informaron que 15 mg L^{-1} de plomo redujo el crecimiento de *Scenedesmus acutus*. La unidad experimental fue un matraz de 250 ml, y se adicionó 200 ml de medio de cultivo Chu 10 (Tabla 1) y 0,25 gramos de biomasa húmeda de filamentos unialgales de cada especie aislada.

Procesamiento de las muestras algales.— La biomasa algal fue trasladada al Laboratorio de Fitología Aplicada en frascos de vidrio conectados a un aireador, la biomasa algal se filtró con un tamiz fino N° 5 ASTM E11 y se enjuagó con agua destilada para eliminar partículas extrañas, como arena, sedimentos y residuos orgánicos. El proceso de aclimatación de algas en el laboratorio se realizó cultivando el consorcio de biomasa de algas verdes

Tabla 1. Contenido de macronutrientes y micronutrientes del medio de cultivo Chu 10.**Table 1.** Macronutrient and micronutrient content of Chu 10 culture medium.

Nutrientes		Solución stock (g/L)	Cantidad
Solución de citrato	Ácido Cítrico	3,35	1 mL
	Citrato de hierro amoniacal	3,35	1 mL
Macronutrientes	CaCl ₂ · 2H ₂ O	36,70	
	MgSO ₄ · 7H ₂ O	36,90	
	NaHCO ₃	12,60	
	K ₂ HPO ₄	8,70	
	NaNO ₃	85,00	
	Na ₂ SiO ₃ · 9H ₂ O	28,40	1 mL
	Na ₂ -EDTA	0,50	
Micronutrientes	H ₃ BO ₃	6,18	
	CuSO ₄ · 5H ₂ O	0,20	
	ZnSO ₄ · 7H ₂ O	0,44	
	CoCl ₂ · 6H ₂ O	0,22	
	MnCl ₂ · 4H ₂ O	0,13	
	Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	0,13	1 mL

filamentosas con el agua de río del lugar de colecta, utilizando bateas de plástico de 4 litros. Cuando el volumen de agua fue disminuyendo fue completado con agua destilada, hasta reponer el volumen inicial.

Aislamiento y cultivo de *Mougeotia* sp. y *Spirogyra* sp.— Las muestras fueron separadas mediante filtros de membrana de 0,45 μm de tamaño de poro y 47 mm de diámetro para eliminar los residuos de contaminantes. *Mougeotia* sp. y *Spirogyra* sp. fueron aisladas a partir de un cultivo en placas de Petri con medio sólido, donde se aislaron las células de algas de cada especie, luego los filamentos algales se volvieron a cultivar en un medio líquido con el medio de cultivo Chu 10 (Bold y Wynne, 1978). En este proceso, las muestras algales fueron limpiadas en placas de Petri con agua destilada, y con una pinza se separaron los filamentos algales y se limpiaron los residuos de microalgas y otras partículas adheridas a los filamentos. A continuación las muestras se colocaron en placas de Petri, y con una pipeta Pasteur los filamentos algales se trasvasaron a tubos de ensayo con tapa rosca que contenía un medio de cultivo líquido. Finalmente, las muestras unalgales de cada especie fueron cultivadas con medio de cultivo Chu 10 (Bold y Wynne, 1978) (Tabla 1).

Preparación de tratamientos de cobre y plomo.— Como fuente de cobre se utilizó sulfato de cobre anhidro (CuSO₄ JT Baker), y como fuente de plomo se utilizó acetato de plomo (Pb(C₂H₃O₂)₂ Sharlau®). Cada reactivo fue pesado por separado con una balanza analítica para preparar los tratamientos de cobre de concentración de 0, 5 y 10 mg L⁻¹, respectivamente y tratamientos de plomo de concentración 0, 15 y 30 mg L⁻¹. En seguida cada reactivo fue diluido con agua desionizada de acuerdo con los tratamientos.

Evaluación de la bioremediación de cobre y plomo. — Para determinar el cálculo de eficiencia de bioremediación se utilizó la ecuación propuesta por Ma *et al.* (2021):

$$R(\%) = \frac{(C_i - C_f)}{C_i} \times 100$$

Donde:

R= Eficiencia de bioremediación

C_i= Concentración inicial del metal en la solución (mg)

C_f = Concentración final del metal en la solución (mg)

La evaluación de bioremediación con los tratamientos de cobre y plomo mediante las algas verdes *Mougeotia* sp. y *Spirogyra* sp. altoandinas se realizó en condiciones de laboratorio de forma independiente. En el experimento se utilizó agua desionizada y reactivos químicamente puro como fuente de cobre y plomo, y las pruebas bioremediación con cada especie fue realizado de forma independiente y se llevó a cabo en un periodo de 5 días.

Biomasa de *Mougeotia* sp. y *Spirogyra* sp. evaluadas con tratamientos de cobre y plomo.— Después de 5 días de evaluación, se obtuvo la biomasa de las unidades experimentales sometidas a los tratamientos. La biomasa se obtuvo por filtración con una membrana de 0,45 μm de tamaño de poro, se lavaron las muestras algales con agua destilada para retirar sales y nutrientes adheridos a las células algales. Luego las membranas con las muestras de algas se secaron con papel toalla absorbente, a continuación fueron pesadas en una balanza analítica compacta para determinar el peso fresco. Luego las muestras algales se secaron en una estufa a 60 °C hasta conseguir un peso constante, y por diferencia del peso fresco con peso seco se determinó la biomasa por cada tratamiento.

Extracción y determinación de clorofila.— Se pesaron 1000 mg de biomasa húmeda de las muestras algales, en seguida se trituraron en un mortero para extraer la clorofila con acetona 90%, se trasvasó el extracto de clorofila a una probeta de 10 ml y se enrasó con acetona 90 % un volumen final de 10 ml. El extracto de clorofila de cada muestra algal se pasó a tubos de plástico con rosca de 15 ml y colocadas dentro de la centrífuga, y centrifugadas a 3500 rpm, durante 10 minutos. El sobrenadante de clorofila de cada muestra se llenó a una cubeta de cuarzo del espectrofotómetro de luz visible, y en seguida se procedió a realizar las lecturas de absorbancia en un espectrofotómetro de luz a longitudes de onda de 630, 647 y 664 nm. Finalmente, los cálculos de contenido de clorofila se realizaron mediante la fórmula de Jeffrey y Humphrey (1975).

Clorofila a (mg. L⁻¹) = $Ve \cdot 11,85 \cdot A_{664} - A_{750} - 1,54 \cdot A_{647} - A_{750} - 0,08 \cdot A_{630} - A_{750}$ Vf. L

Clorofila b (mg. L⁻¹) = $Ve \cdot 21,03 \cdot A_{647} - A_{750} - 5,43 \cdot A_{664} - A_{750} - 2,66 \cdot A_{630} - A_{750}$ Vf. L

Clorofila c (mg. L⁻¹) = $Ve \cdot 24,52 \cdot A_{630} - A_{750} - 1,67 \cdot A_{664} - A_{750} - 7,60 \cdot A_{647} - A_{750}$ Vf. L

Donde:

A750= Densidad óptica del extracto a 750 nm; A664= Densidad óptica del extracto a 664 nm.

A647= Densidad óptica del extracto a 647 nm; A630= Densidad óptica del extracto a 630 nm.

Ve= Volumen del extracto de acetona 90 % (ml)

Vf= Volumen de agua filtrada (L)

Condiciones ambientales del laboratorio en la bioeliminación de cobre y plomo.— En la evaluación de bioeliminación de cobre y plomo mediante *Mougeotia* sp. se realizó en condiciones de laboratorio en noviembre del 2020. La temperatura media diaria varió entre 23 y 26,2 °C, la humedad relativa media diaria registró entre 63 y 73 %, y la radiación fotosintéticamente activa (PAR) media diaria varió entre 69 y 72,3 micromoles por segundo (Fig. 2A). En tanto, la bioeliminación de cobre y plomo con *Spirogyra* sp. se realizó en enero de 2021. Registrando temperatura media diaria entre 26 y 27,8 °C, la humedad relativa media diaria varió entre 58 y 72 %, y la PAR media diaria varió entre 91,7 y 96,3 micromoles por segundo (Fig. 2B).

Análisis de datos

El análisis estadístico se realizó de acuerdo con el diseño experimental. Se realizó el análisis de varianza (ANOVA) de una sola vía con un nivel de significancia $p < 0,05$. Cuando las variables obtuvieron diferencias significativas, se realizó la prueba de comparación múltiple de medias de Tukey ($\alpha = 0,05$). La estimación de la correlación entre las variables se realizó mediante correlación de Pearson, con una probabilidad de $p < 0,001$. Los cálculos se realizaron mediante el programa estadístico Infostat (Balzarini et al., 2011; Di Rienzo et al., 2015).

Fig. 2. Registro de condiciones ambientales del laboratorio en la bioremovición de cobre y plomo: A) Bioremovición de *Mougeotia* sp., realizado en noviembre de 2020. B) Bioremovición de *Spirogyra* sp. evaluado en enero de 2021.

Fig. 2. Record laboratory environmental conditions of the copper and lead bioremoval trial: A) Bioremoval of *Mougeotia* sp., conducted in November 2020. B) Bioremoval of *Spirogyra* sp. evaluated in January 2021.

RESULTADOS

Capacidad de bioremovición de cobre y plomo por *Mougeotia* sp. y *Spirogyra* sp.

De las dos especies de algas Charophyta filamentosas evaluadas, la mayor capacidad de bioremovición de plomo fue registrada en *Mougeotia* sp. con el tratamiento de 30 mg L⁻¹ de plomo (Tukey, $p < 0,05$) alcanzando 97,05% de extracción de este metal. De otro lado, también *Mougeotia* sp. con el tratamiento de 10 mg L⁻¹ de cobre obtuvo 76,7% de bioremovición de cobre (Tukey, $p < 0,05$) Fig. 3A).

En el caso de *Spirogyra* sp., la respuesta fue similar a *Mougeotia* sp., con el tratamiento de 30 mg L⁻¹ de plomo, se consiguió un 87,56% de remoción (Tukey, $p < 0,05$) (Fig. 4A). De otra parte, con el tratamiento de 10 mg L⁻¹ de cobre, se obtuvo un 66,36% de bioremovición de este metal (Tukey, $p < 0,05$) (Fig. 4A).

Fig. 3. Evaluación de los tratamientos con cobre y plomo de *Mougeotia* sp.: A) Biorremoción. B) Biomasa. C) Contenido de clorofila a. D) Clorofila total. En los diagramas de barras letras iguales son estadísticamente similares, y letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$), de acuerdo con la prueba de comparación de medias de Tukey ($\alpha = 0,05$).

Fig. 3. Evaluation of copper and lead treatments of *Mougeotia* sp.: A) Bioremoval. B) Biomass. C) Chlorophyll a content. D) Total chlorophyll of *Mougeotia* sp. In the bar diagrams, equal letters are statistically similar, and different letters indicate statistically significant differences ($p < 0.05$), according to Tukey's mean comparison test ($\alpha = 0.05$).

Fig. 4. Evaluación de los tratamientos con cobre y plomo de *Spirogyra* sp.: A) Biorremoción. B) Biomasa. C) Contenido de clorofila a. D) Clorofila total. En los diagramas de barras letras iguales son estadísticamente similares, y letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas ($P < 0,05$), de acuerdo con la prueba de comparación de medias de Tukey ($\alpha = 0,05$).

Fig. 4. Evaluation of copper and lead treatments of *Spirogyra* sp.: A) Bioremediation. B) Biomass. C) Chlorophyll a content. D) Total chlorophyll. In the bar diagrams, equal letters are statistically similar, and different letters indicate statistically significant differences ($p < 0.05$), according to Tukey's mean comparison test ($\alpha = 0.05$).

Biomasa y contenido de Clorofila de *Mougeotia* sp. y *Spirogyra* sp.

En *Mougeotia* sp., el mayor rendimiento de biomasa ($p < 0,05$) fue conseguido con el tratamiento de 0 mg L^{-1} (Fig. 3B). Con los tratamientos de 5 y 10 mg L^{-1} de cobre, y 15 y 30 mg L^{-1} de plomo (Tukey, $p < 0,05$); la presencia de ambos metales redujo drásticamente la biomasa en *Mougeotia* sp. Un resultado similar se obtuvo en *Spirogyra* sp. (Tukey, $p < 0,05$) con el tratamiento de 0 mg L^{-1} se obtuvo la mayor biomasa (Fig. 4B). Los tratamientos de 5 y 10 mg L^{-1} de cobre y 15 y 30 mg L^{-1} de plomo, afectaron significativamente la acumulación de biomasa (Tukey, $p < 0,05$).

De otra parte, en *Mougeotia* sp., el mayor contenido de clorofila a (Tukey, $p < 0,05$) y de clorofila total (Tukey, $p < 0,05$) se obtuvo con el tratamiento de 0 mg L^{-1} (sin cobre ni plomo) registrando $243,76 \text{ mg L}^{-1}$ de clorofila a (Fig. 3C), y $357,47 \text{ mg L}^{-1}$ de clorofila total (Fig. 3D), respectivamente. De otra parte, con tratamientos de 5 y 10 mg L^{-1} de cobre, y 15 y 30 mg L^{-1} de plomo la concentración de clorofila a, y clorofila total

disminuyeron significativamente (Tukey, $P < 0,05$). En ese mismo sentido, en *Spirogyra* sp. se consiguió un resultado similar a *Mougeotia* sp. en donde el mayor contenido de clorofila a (Tukey, $p < 0,05$), y un alto contenido de clorofila total (Tukey, $p < 0,05$) fueron obtenidos con el tratamiento de 0 mg L⁻¹; registrando 248,35 mg L⁻¹ de clorofila a (Fig. 4C) y 394,09 mg L⁻¹ de clorofila total (Fig. 4D), respectivamente. Asimismo, en *Spirogyra* sp. tratamientos de 5 y 10 mg L⁻¹ de cobre y 15 y 30 mg L⁻¹ de plomo produjeron una reducción notable en el contenido de clorofila a y clorofila total.

El análisis de correlación para *Mougeotia* sp. mostró que clorofila a vs. biomasa ($r = 0,83$, Tabla 2), y clorofila total vs. biomasa ($r = 0,73$, Tabla 2) se correlacionaron positivamente (Pearson, $p < 0,01$). Sugiere, que una mayor biomasa induce a conseguir mayor concentración de clorofila a y total en la especie. La clorofila a vs. clorofila total se correlacionaron positivamente (Pearson, $p < 0,01$), es de esperar como la clorofila de las algas verdes contiene un mayor contenido de clorofila a, en consecuencia influye directamente con la mayor acumulación de clorofila total ($r = 0,92$, Tabla 2). Entre tanto, las variables de bioremediación vs. biomasa ($r = -0,85$, tabla 2), bioremediación y clorofila a ($r = -0,89$, Tabla 2), y bioremediación vs. clorofila total ($r = -0,95$, Tabla 2) se correlacionaron de forma negativa (Pearson, $p < 0,01$). Por consiguiente, en *Mougeotia* sp. la biomasa, clorofila a y clorofila total no influyeron en la bioremediación de cobre y plomo.

En *Spirogyra* sp. el análisis de correlación mostró una respuesta similar a *Mougeotia* sp. con una alta correlación positiva (Pearson, $p < 0,01$) de clorofila a vs. biomasa ($r = 0,84$, Tabla 2), y de clorofila total vs. biomasa ($r = 0,79$, Tabla 2). No obstante, se encontró una correlación negativa altamente significativa (Pearson, $p < 0,01$) de bioremediación vs. biomasa ($r = -0,85$, tabla 2), entre bioremediación vs. clorofila a ($r = -0,76$, Tabla 2), y entre bioremediación vs clorofila total ($r = -0,71$, Tabla 2). En tal sentido, la biomasa, clorofila a y clorofila total no influyeron en la bioremediación de cobre y plomo.

Tabla 2. Correlación de Pearson de las variables dependientes analizadas en la biorremoción de cobre y plomo por *Mougeotia* sp. y *Spirogyra* sp.

Table 2. Pearson correlation of the dependent variables analyzed of the bioremoval of copper and lead in *Mougeotia* sp. and *Spirogyra* sp.

Variable	Clorofila a	Clorofila total	Biomasa	Biorremoción	$p < 0,01$
<i>Mougeotia</i> sp.					
Clorofila a	1	0,92	0,83	-0,89	0,000
Clorofila total	0,92	1	0,73	-0,95	0,000
Biomasa	0,83	0,73	1	-0,65	0,000
Biorremoción	-0,89	-0,95	-0,65	1	0,000
<i>Spirogyra</i> sp.					
Clorofila a	1	0,98	0,84	-0,76	0,000
Clorofila total	0,98	1	0,79	-0,71	0,000
Biomasa	0,84	0,79	1	-0,85	0,000
Biorremoción	-0,76	-0,71	-0,85	1	0,000

DISCUSIÓN

Capacidad de bioremovición de cobre y plomo por *Mougeotia* sp. y *Spirogyra* sp.

Las especies de algas de ecosistemas acuáticas altoandinas están adaptadas para tolerar las condiciones extremas ambientales y poder vivir a altas altitudes, pH alcalino, temperaturas bajas y tolerar la radiación ultravioleta. Por ejemplo el lago Titicaca está ubicado a los 3812 metros, su agua superficial tiene un pH que varía de 8,4 a 8,7, con temperatura media entre 11,2 y 14,3 °C (Komárková *et al.*, 2016). De otra parte, en el caso de fenotipos de microalgas con poca tolerancia a la exposición radiaciones ultravioleta B puede sobre estimular la fotosíntesis, induciendo la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS), que a su vez modifican las estructuras de lípidos y ácidos grasos, los componentes del ADN y la funcionalidad de los cloroplastos (Cirulis *et al.* (2013). En general, la creciente exposición de los organismos acuáticos como las algas, a lo largo del tiempo la radiación solar ha obligado a las especies a desarrollar mecanismos graduales de adaptación contra el estrés lumínico (Huaranca *et al.*, 2022). Estos mecanismos incluyen la foto-reparación, la activación del sistema antioxidante y la biosíntesis de compuestos fotoprotectores, como los aminoácidos tipo micosporina (MAAs), la escitonemina (Scy), los carotenoides y las poliaminas (Rastogi *et al.*, 2020). Por consiguiente, las adaptaciones de *Mougeotia* sp. y *Spirogyra* sp. a las condiciones extremas ambientales altoandinas podrían haber influenciado en en la eficiencia de fitorremoción de cobre y plomo.

Los resultados muestran con el tratamiento de 30 mg L⁻¹ de plomo: *Mougeotia* sp. y *Spirogyra* sp. obtuvieron 97,05% y 87,56% de bioremovición de plomo, respectivamente. De las dos especies algas verdes altoandinas estudiadas, se demuestra que *Mougeotia* sp. fue el más eficiente en la bioremovición de plomo del agua, y esta respuesta podría estar relacionado con una mayor tolerancia de *Mougeotia* sp. de estrés al plomo. Por ejemplo, Dong *et al.* (2022) en poblaciones de algas verdes *Scenedesmus acutus* y *Schroederia* sp. demostraron concentraciones de plomo de hasta 15 mg L⁻¹ de Pb²⁺ no afectaron el crecimiento.

Por otra parte, con 10 mg L⁻¹ de cobre *Mougeotia* sp. registró 76,70% de bioremovición, mientras que *Spirogyra* sp. alcanzó 66,36 % de bioremovición de cobre. De las dos especies de charophyta filamentosas evaluadas, *Mougeotia* sp. fue más eficiente en la remoción tanto de plomo y cobre en comparación con *Spirogyra* sp. En el trabajo no se ha evaluado aspectos moleculares de las dos especies de algas altoandinas relacionadas con la remoción de cobre y plomo. Aunque varios estudios realizados han demostrado, que el proceso de remoción de metales pesado por las algas, están relacionadas con la pared y la membrana celular, que contienen varios grupos funcionales que proporcionan una carga negativa neta en soluciones con pH superior a 3, aportando una alta afinidad de unión con los cationes metálicos (He y Chen, 2014; Chandrashekharaiyah *et al.*, 2021). En el caso de las Charophyta,

sus paredes celulares están formadas por celulosa con un alto contenido de proteínas unida a los polisacáridos, que aportan grupos aminos (-NH₂), carboxilo (-COOH), sulfato (SO₄⁺²) e hidroxilo (-OH) (Chandrashekharaiah et al., 2020). También contienen ácidos urónicos, exopolisacáridos y intercambiadores iónicos que establecen una interacción covalente con los contaminantes, interviniendo en la rápida eliminación de los metales pesados (Leong y Chang, 2020).

Mougeotia sp. ha demostrado tener una alta tolerancia al estrés por plomo y cobre. En ese sentido, Al-Mayaly et al. (2012) informaron, cuando *Mougeotia* sp. fue evaluada a distintas concentraciones (0,5, 1, 2, 3 y 4 mg L⁻¹ de zinc y cobre) mostró una alta eficiencia en la remoción de zinc y cobre, y con el tratamiento de 4 mg L⁻¹ de cobre alcanzó 99% de bioremoción. De otra parte, Shah et al. (2022) informaron que distintas especies del género *Spirogyra* sp. tienen la capacidad de bioacumulación de cobre de aguas residuales. Mane y Bhosle (2012) indicaron que la concentración de 5 mg L⁻¹ de cobre en *Spirogyra* sp. permitió una bioremoción de 89,6%, este valor es superior a lo obtenido para *Spirogyra* en la presente investigación, pero en nuestro caso la bioremoción de cobre fue evaluada hasta una concentración de 10 mg L⁻¹.

Biomasa y contenido de Clorofila en *Mougeotia* sp. y *Spirogyra* sp.

Los tratamientos de cobre y plomo afectaron negativamente la acumulación de biomasa, tanto en *Mougeotia* sp. como en *Spirogyra* sp. En estudios realizados en *Chlorella vulgaris* se demostró que 5 μmol L⁻¹ de plomo es una concentración suficiente para disminuir el crecimiento en esta especie (Cheng et al., 2021). En ese sentido, en agua de río contaminado con cobre la presencia de *Spirogyra* sp. es un buen bioindicador de la calidad del agua (Dehbi et al., 2023).

En *Mougeotia* sp. el mayor contenido de clorofila a y total fue registrado con el tratamiento de 0 mg L⁻¹ con 243,76 mg L⁻¹ y 357,47 mg L⁻¹, respectivamente. En *Spirogyra* sp., se consiguió una respuesta similar a *Mougeotia* sp. obteniendo un alto contenido de clorofila a y total en el tratamiento de 0 mg L⁻¹ registrando 248,35 mg L⁻¹ de clorofila a y 394,09 mg L⁻¹ de clorofila total. En ambas especies del filo Charophyta los tratamientos con cobre disminuyeron mucho más el contenido de clorofila a y total, que con los tratamientos con plomo. Al contrastar los resultados conseguidos, una respuesta similar también fue obtenida por Dong et al. (2022), quienes encontraron que los tratamientos de 5,0 a 15 mg L⁻¹ de Pb²⁺ no afectaron el crecimiento de la población ni el contenido de pigmentos fotosintéticos. Por otra parte, Dong et al. (2020) indicaron en *Scenedesmus quadricauda* y *Scenedesmus acutus* la concentración de 0,5 mg L⁻¹ de Cu²⁺ redujo el crecimiento celular, y niveles más altos de Cu²⁺ disminuyeron los contenidos de

clorofila a y b. Además, cuando *Chlorella vulgaris* fue cultivada con 5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de plomo, esta concentración fue suficiente para originar una reducción en el crecimiento; aunque el aumento en la concentración de plomo podría modificar la fotosíntesis debido a la destrucción de los pigmentos de clorofila esenciales para la fotosíntesis (Cheng *et al.*, 2021). En *Spirogyra*, la clorofila total puede ser afectada negativamente por otros metales pesados como el cadmio (Çelekli *et al.*, 2016).

CONCLUSIÓN

Mougeotia sp. con el tratamiento de 30 mg L^{-1} de plomo alcanzó la más alta remoción con 97,05%, y con 10 mg L^{-1} de cobre obtuvo 76,7% de bioremediación. También *Spirogyra* sp., con 30 mg L^{-1} de plomo, obtuvo 87,56% de remoción. Con el tratamiento de 10 mg L^{-1} de cobre, se obtuvo un 66,36% de bioremediación.

AGRADECIMIENTOS

Al Vicerrectorado de Investigación y Posgrado de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos por el financiamiento recibido para la ejecución del proyecto “Evaluación de macroalgas y de macrófitas con capacidad de remediación de metales pesados del agua y suelo del río San Juan-Cerro de Pasco”.

CONFLICTOS DE INTERÉS

Declaramos explícitamente que no existen conflictos de interés entre autores o con terceros.

BIBLIOGRAFÍA

- Ahmad, S., Pandey, A., Pathak, V. V., Tyagi, V. V. y Kothari, R. (2020). Phycoremediation: Algae as eco-friendly tools for the removal of heavy metals from wastewaters. En: R. N. Bharagava y G. Saxena (Eds.), *Bioremediation of industrial waste for environmental safety: Volume II: Biological agents and methods for industrial waste management* (pp. 53-76). Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-13-3426-9_3
- Al-Mayaly, I. K., Ismail, A. M. y Issa, A. A. (2012). Removal of zinc and copper by *Mougeotia* sp. in aqueous solutions. *The Egyptian Journal of Experimental Biology* 8 (1): 83-85.
- Anu, P. R., Bijoy Nandan, S., Jayachandran, P. R. y Don Xavier, N. D. (2016). Toxicity effects of copper on the marine diatom, *Chaetoceros*

- calcitrans*. *Regional Studies in Marine Science* 8: 498-504. <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2016.07.001>
- Balzarini, M., Di Rienzo, J., Tablada, M., Gonzalez, L., Bruno, C., Córdoba, M., Robledo, C., Casanoves, F., Lange, K. y Sorensen, D. (2011). *Introducción a la bioestadística: Aplicaciones con InfoStat en agronomía*. Universidad Nacional de Córdoba.
- Bianchini, F. (2009). *Evaluación de la calidad de los recursos hídricos en la provincia de Pasco y de la Salud en el Centro Poblado de Paragsha*. Asociación Civil de Cultura Popular Labor.
- Bold, H. C. y Wynne M. J. (1978). *Introduction to the algae: structure and reproduction*. Prentice- Hall.
- Çelekli, A., Gültekin, E. y Bozkurt, H. (2016). Morphological and biochemical responses of *Spirogyra setiformis* exposed to cadmium. *Clean – Soil, Air, Water* 44 (3): 256-62. <https://doi.org/10.1002/clen.201400434>
- Cronquist, A. (1997). *Introducción a la Botánica*. Compañía Editorial Continental.
- Cirulis, J. T., Scott, J. A. y Ross, G. M. (2013). Management of oxidative stress by microalgae. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* 91 (1): 15-21. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2012-0249>
- Chandrashekharaiyah, P. S., Sanyal, D., Dasgupta, S., Sapre, A. y Banik, A. (2020). Heavy metal mitigation with special reference to bioremediation by mixotrophic algae-bacterial proto-cooperation. En: M. Faisal, Q. Saquib, A. A. Alatar, y A. A. Al-Khedhairi (Eds.), *Cellular and Molecular Phytotoxicity of Heavy Metals* (pp. 305-334). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-45975-8_15
- Chandrashekharaiyah, P. S., Sanyal, D., Dasgupta, S. y Banik, A. (2021). Cadmium biosorption and biomass production by two freshwater microalgae *Scenedesmus acutus* and *Chlorella pyrenoidosa*: An integrated approach. *Chemosphere* 269: 128755. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128755>
- Chen, B. Y., Chen, C. Y., Guo, W. Q., Chang, H. W., Chen, W. M., Lee, D. J., Huang, C. C., Ren, N. Q. y Chang, J. S. (2014). Fixed-bed biosorption of cadmium using immobilized *Scenedesmus obliquus* CNW-N cells on loofa (*Luffa cylindrica*) sponge. *Bioresource Technology* 160: 175-181. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.02.006>
- Cheng, W. H., Wong, L. S. y Chong, K. C. (2021). Effect of Lead (Pb) exposure towards green microalgae (*Chlorella vulgaris*) on the changes of physicochemical parameters in water. *South African Journal of Chemical Engineering* 37: 252-255. <https://doi.org/10.1016/j.sajce.2021.04.002>
- Danouche, M., El Ghachtouli, N. y El Arroussi, H. (2021). Phycoremediation mechanisms of heavy metals using living green microalgae: Physicochemical and molecular approaches for enhancing selectivity and removal capacity. *Heliyon* 7 (7): e07609. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07609>

- Dehbi, M., Dehbi, F., Kanjal, M. I., Tahraoui, H., Zamouche, M., Amrane, A., Assadi, A. A., Hadadi, A. y Mouni, L. (2023). Analysis of heavy metal contamination in macroalgae from surface waters in Djelfa, Algeria. *Water* 15 (5): 974. <https://doi.org/10.3390/w15050974>
- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Gonzalez, L., Tablada, M. y Robledo, C. W. (2015). *InfoStat Ver. 2015. Grupo InfoStat*. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba.
- Dong, L. L., Zhang, G. Q., Li, W., Ding, T., Wang, H. X. y Zhang, G. (2020). Effects of Cu^{2+} and Hg^{2+} on growth and photosynthesis of two *Scenedesmus* species. *Polish Journal of Environmental Studies* 29 (2): 1129-1135. <https://doi.org/10.15244/pjoes/105977>
- Dong, L. L., Wang, H. X., Wang, Y., Hu, X. Q. y Wen, X. L. (2022). Effects of Cd^{2+} and Pb^{2+} on Growth and Photosynthesis of Two Freshwater Algae Species. *Polish Journal of Environmental Studies* 31 (3): 2059-2068. <https://doi.org/10.15244/pjoes/143256>
- Doney, S. C. (2010). The growing human footprint on coastal and open-ocean biogeochemistry. *Science* 328 (5985): 1512-1516. <https://doi.org/10.1126/science.1185198>
- Graham, J. M., Arancibia-Avila, P. y Graham, L. E. (1996). Physiological ecology of a species of the filamentous green alga *Mougeotia* under acidic conditions: Light and temperature effects on photosynthesis and respiration. *Limnology and Oceanography* 41 (2): 253-262. <https://doi.org/10.4319/lo.1996.41.2.0253>
- Hazrat, A. y Ezzat, K., (2018). What are heavy metals? Long-standing controversy over the scientific use of the term 'heavy metals' – proposal of a comprehensive definition. *Toxicological & Environmental Chemistry* 100 (1): 6-9. <https://doi.org/10.1080/02772248.2017.1413652>
- Hazrat, A., Ezzat, K. y Ikram, I. (2019). Environmental chemistry and ecotoxicology of hazardous heavy metals: environmental persistence, toxicity, and bioaccumulation. *Journal of Chemistry* 2019: 1-14. <https://doi.org/10.1155/2019/6730305>
- He, J. y Chen, J. P. (2014). A comprehensive review on biosorption of heavy metals by algal biomass: Materials, performances, chemistry, and modeling simulation tools. *Bioresource Technology* 160: 67-78. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.01.068>
- Hee, C. W., Shing, W. L. y Chi, C. K. (2021). Effect of lead (Pb) exposure towards green microalgae (*Chlorella vulgaris*) on the changes of physicochemical parameters in water. *South African Journal of Chemical Engineering* 37: 252-255. <https://doi.org/10.1016/j.sajce.2021.04.002>
- Huaranca, T., Mariotti, L., Chiellini, C., Guglielminetti, L. y Fonseca, G. G. (2022). UV-B Irradiation Effect on Microalgae Performance in the Remediation of Effluent Derived from the Cigarette Butt Cleaning Process. *Plants* 11: 2356. <https://doi.org/10.3390/plants11182356>
- Jais, N. M., Mohamed, R. M. S. R., Al-Gheethi, A. A. y Hashim, M. K. A. (2017). The dual roles of phycoremediation of wet market wastewater.

- ter for nutrients and heavy metals removal and microalgae biomass production. *Clean Technologies and Environmental Policy* 19 (1): 37-52. <https://doi.org/10.1007/s10098-016-1235-7>
- Jeffrey, S. W. y Humphrey, G. F. (1975). New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c1 and c2 in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen* 167 (2): 191-194. [https://doi.org/10.1016/S0015-3796\(17\)30778-3](https://doi.org/10.1016/S0015-3796(17)30778-3)
- Kiran, B., Pathak, K., Kumar, R. y Deshmukh, D. (2017). Phycoremediation: An eco-friendly approach to solve water pollution problems. En: V. C. Kalia y P. Kumar (Eds.), *Microbial Applications Vol.1: Bioremediation and Bioenergy* (pp. 3-28). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-52666-9_1
- Komárková, J., Montoya, H. y Komárek, J. (2016). Cyanobacterial water bloom of *Limnoraphis robusta* in the Lago Mayor of Lake Titicaca. Can it develop?. *Hydrobiologia* 764 (1): 249-258. <https://doi.org/10.1007/s10750-015-2298-x>
- Kumar, S., Mal, G. y Sharma, H. (2018). Waste Stabilization Ponds: A technical option for liquid waste management in rural areas in Haryana under Swachh Bharat Mission-Gramin. *Environ. We Int. J. Sci. Tech.* 13: 177-187.
- Lee, Y. C. y Chang, S. P. (2011). The biosorption of heavy metals from aqueous solution by *Spirogyra* and *Cladophora* filamentous macroalgae. *Bioresource Technology* 102 (9): 5297-5304. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.12.103>
- Leong, Y. K. y Chang, J. S. (2020). Bioremediation of heavy metals using microalgae: Recent advances and mechanisms. *Bioresource Technology* 303: 122886. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122886>
- Mane, P. C. y Bhosle, A. B. (2012). Bioremoval of some metals by living algae *Spirogyra sp.* and *Spirullina sp* from aqueous solution. *International Journal of Environmental Research* 6 (2): 571-576. <https://doi.org/10.22059/ijer.2012.527>
- Ministerio del Ambiente (MINAM) (2016). *Historia ambiental del Perú. Siglos XVIII y XIX*. <https://www.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2016/07/Historia-ambiental-del-Per%C3%BA.-Siglos-XVIII-y-XIX.pdf>
- Pal, A., Jayamani, J. y Prasad, R. (2014). An urgent need to reassess the safe levels of copper in the drinking water: Lessons from studies on healthy animals harboring no genetic deficits. *NeuroToxicology* 44: 58-60. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2014.05.005>
- Perez-Vazquez, F. J., Flores-Ramirez, R., Ochoa-Martinez, A. C., Orta-Garcia, S. T., Hernandez-Castro, B., Carrizalez-Yañez, L. y Pérez-Maldonado, I. N. (2014). Concentrations of persistent organic pollutants (POPs) and heavy metals in soil from San Luis Potosí, México. *Environmental Monitoring and Assessment* 187 (1): 4119. <https://doi.org/10.1007/s10661-014-4119-5>

- Rastogi, R.P., Madamwar, D., Nakamoto, H. y Incharoensakdi, A. (2020). Resilience and Self-Regulation Processes of Microalgae under UV Radiation Stress. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews* 43: 100322. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem-rev.2019.100322>
- Razaviarani, V., Arab, G., Lerdwanawattana, N. y Gadia, Y. (2023). Algal biomass dual roles in phycoremediation of wastewater and production of bioenergy and value-added products. *International Journal of Environmental Science and Technology* 20 (7): 8199-8216. <https://doi.org/10.1007/s13762-022-04696-6>
- Rizvi, S., Goswami, L. y Gupta, S. K. (2020). A holistic approach for melanoidin removal via Fe-impregnated activated carbon prepared from *Mangifera indica* leaves biomass. *Bioresource Technology Reports* 12: 100591. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2020.100591>
- Salama, E. S., Roh, H. S., Dev, S., Khan, M. A., Abou-Shanab, R. A. I., Chang, S. W. y Jeon, B. H. (2019). Algae as a green technology for heavy metals removal from various wastewater. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 35 (5): 75. <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2648-3>
- Shah, N., Sohani, S., Thakkar, S., Doshi, H. y Gupta, G. (2022). Potential of live *Spirogyra sp.* in the bioaccumulation of copper and nickel ions: A study on suitability and sustainability. *Journal of Applied Microbiology* 132 (1): 331-339. <https://doi.org/10.1111/jam.15188>
- Shamshad, I., Khan, S., Waqas, M., Asma, M., Nawab, J., Gul, N., Raiz, A. y Li, G. (2016). Heavy metal uptake capacity of fresh water algae (*Oedogonium westii*) from aqueous solution: A mesocosm research. *International Journal of Phytoremediation* 18 (4): 393-398. <https://doi.org/10.1080/15226514.2015.1109594>
- Vetrivel, S. A., Diptanghu, M., Ebhin, M. R., Sydavalli, S., Gaurav, N. y Tiger, K. P. (2017). Green algae of the genus *Spirogyra*: A potential absorbent for heavy metal from coal mine water. *Remediation Journal* 27 (3): 81-90. <https://doi.org/10.1002/rem.21522>
- Volesky, B. y Holan, Z. R. (1995). Biosorption of heavy metals. *Biotechnology Progress* 11 (3): 235-250. <https://doi.org/10.1021/bp00033a001>
- Wu, H., Wei, G., Tan, X., Li, L. y Li, M. (2017). Species-dependent variation in sensitivity of *Microcystis* species to copper sulfate: Implication in algal toxicity of copper and controls of blooms. *Scientific Reports* 7 (1): 40393. <https://doi.org/10.1038/srep40393>
- Wu, B., Ga, L., Wang, Y. y Ai, J. (2024). Recent Advances in the Application of Bionanosensors for the Analysis of Heavy Metals in Aquatic Environments. *Molecules* 29 (1): 34. <https://doi.org/10.3390/molecules29010034>
- Xia, L., Li, H. y Song, S. (2016). Cell surface characterization of some oleaginous green algae. *Journal of Applied Phycology* 28 (4): 2323-2332. <https://doi.org/10.1007/s10811-015-0768-1>

- Xue, H. B., Stumm, W. y Sigg, L. (1988). The binding of heavy metals to algal surfaces. *Water Research* 22 (7): 917-926. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(88\)90029-2](https://doi.org/10.1016/0043-1354(88)90029-2)
- Zainith, S., Saxena, G., Kishor, R. y Bharagava, R. N. (2021). Chapter 20 - Application of microalgae in industrial effluent treatment, contaminants removal, and biodiesel production: Opportunities, challenges, and future prospects. In: G. Saxena, V. Kumar y M. P. Shah (Eds.), *Bioremediation for Environmental Sustainability* (pp. 481-517).
- Zhang, C., Nie, S., Liang, J., Zeng, G., Wu, H., Hua, S., Liu, J., Yuan, Y., Xiao, H., Deng, L. y Xiang, H. (2016). Effects of heavy metals and soil physicochemical properties on wetland soil microbial biomass and bacterial community structure. *Science of The Total Environment* 557-558: 785-790, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.01.170>