

DISOLUCIÓN DE SÍLICE BIOGÉNICA EN SEDIMENTOS DE LAGOS UTILIZADOS COMO BIOINDICADORES DE CALIDAD DEL AGUA

SILICA BIOGENIC DISSOLUTION IN SEDIMENT OF LAKES, LIKE OF WATER QUALITY BIOINDICATORS.

Hermes U. Ramírez S.¹, Pedro F. Zárate del V.², Mario E. García G.¹, Odila de la Torre V.¹, Isabel Israde A.³, Ángel R. Meulenert Peña.¹

ramirez@astro.iam.udg.mx / pzarate@ccip.udg.mx / megarcia@astro.iam.udg.mx / dafne@cencar.udg.mx / aisrade@zeus.ccu.umich.mx

¹Instituto de Astronomía y Meteorología, Universidad de Guadalajara, <http://astro.iam.udg.mx/>

²Departamento de Ingeniería Química, Universidad de Guadalajara, <http://www.cucei.udg.mx/~licquim/>

³Universidad Michoacana de San Nicolás Hidalgo. Ciudad Universitaria, Edificio "R". Morelia Michoacán

Recibido: octubre 21, 2005 / Aceptado: enero 24, 2007 / Publicado: junio 27, de 2007

RESUMEN. El objetivo de este trabajo es mostrar que la disolución de sílice amorfa de origen biogénico (diatomeas y fitolitos) es un bioindicador de calidad del agua de lagos, validándose con la determinación de parámetros físico-químicos.

La determinación de diatomeas y fitolitos se realizó sobre núcleos de sedimentos del Lago Chapala, México. Las diatomeas y fitolitos fueron separados, depositados en laminillas y observados con microscopía de luz polarizada y electrónica de barrido. En forma paralela se analizó la calidad del agua del lago durante la década de 1990-2000 monitoreando 38 parámetros físico-químicos en 25 estaciones.

El estudio de diatomeas evidenció que la mayoría de ellos presentan frústulas no preservadas, alto grado de disolución, fitolitos fragmentados y/o disueltos y una importante cantidad de debris de sílice. La determinación de fitolitos fue deficiente, con más diatomeas en estado de disolución y debris de sílice opalino que fitolitos.

Los resultados del análisis físico-químico del agua muestran valores de pH de 7,20-9,45, altas concentraciones de: nitrógeno orgánico (1,57 mg/l), nitrógeno amoniacal (0,48 mg/l), nitratos (0,18 mg/l), fósforo orgánico (0,16 mg/l), ortofosfatos (0,40 mg/l), fósforo total (0,57 mg/l) y conductividad (867,53 μ S/cm) lo que refleja altas concentraciones de sales, sobresaturación de CaCO₃ con dureza total y cálcica de 221,35 y 142,67 mg/l respectivamente; alcalinidad total y cálcica de 307,29 y 29,90 mg/l respectivamente; todos factores que influyen en la disolución de diatomeas y fitolitos en los lechos del lago.

Los resultados del estudio micropaleontológico del Lago de Chapala han evidenciado disolución de diatomeas, fitolitos y la presencia de gran cantidad de debris de sílice amorfo y baja calidad de sus aguas, lo cual ha sido verificado con los parámetros físicoquímicos de la última década. Los fenómenos de disolución de diatomeas y fitolitos por el momento son asociados a valores de pH > 9, a condiciones eutróficas provocadas por altas concentraciones de N y P, presencia importante de sales, sobresaturación de CaCO₃ y alta alcalinidad.

Palabras clave. Calidad de agua, disolución, diatomeas, fitolitos, Lago de Chapala.

ABSTRACT. The objective of this work is to show that the amorphous silica dissolution of biogenic origin (diatoms and phytoliths) is a bioindicator of quality of the water of lakes, validating itself with the determination of parameters physical-chemical. The determination of diatoms and phytoliths was made on sediment cores of the Chapala Lake, Mexico. The diatoms and phytoliths separated were deposited in lames and observed with polarized light microscopy and scanning electron microscopy. In parallel form the quality of the water of the lake was analyzed during the decade of 1990-2000 monitoring 38 parameters physical-chemical in 25 stations. The study of diatoms demonstrated that most of them they present frustules not preserved, high degree of dissolution, phytoliths fragmented and/or dissolved and an important amount of debris of silica. The determination of phytoliths was deficient, with more diatoms in state of dissolution and debris of opal silica that phytoliths. The results of the analysis physical-chemical of the water present pH values of 7,20-9,45, discharges concentrations of: organic nitrogen (1.57 mg/l), ammoniacal nitrogen (0.48 mg/l), nitrates (0.18 mg/l), organic phosphorus (0.16 mg/l), orthophosphates (0.40 mg/l), total phosphorus (0.57 mg/l) and conductivity (867.53 μ S/cm) what reflects discharges concentrations of salts, supersaturation of CaCO₃ with 142.67 and 221.35 mg/l of total and calcic hardness respectively; 29.90 and 307.29 mg/l total and calcic alkalinity respectively; all factors that influence in the dissolution of diatoms and phytoliths in the beds of the lake. The results of the micropaleontological study of the Lake of Chapala have demonstrated dissolution of diatoms, phytoliths and the

presence of great amount of debris of amorphous silica and low quality of waters, which has been verified with the physical-chemical parameters of completes decade. The phenomena of dissolution of diatoms and phytolithes at the moment are associated to values of $\text{pH} > 9$, to eutrophics conditions caused by high concentrations of N and P, is present at important of salts, supersaturation of CaCO_3 and discharge alkalinity.

Key words. Quality of water, dissolution, diatoms, phytolithes, Lake of Chapala.

Introducción

El silicio (Si) es el segundo componente más importante de la corteza terrestre después del oxígeno. Si la evolución de los minerales silicatados en el curso de la alteración ha sido largamente estudiada por los geoquímicos, la intervención de la vegetación en los procesos de alteración ha sido pobremente tomada en cuenta. De la misma manera, la producción de diatomeas en los sistemas acuáticos y los fitolitos por las formaciones vegetales por largo tiempo han sido excluidos de los balances de masa por considerarse insignificantes.

El silicio disuelto en el agua $\text{Si}(\text{OH})_4$ tiene una concentración variable (mayor en aguas continentales) y por lo general se halla en exceso con respecto al nitrógeno (N) y al fósforo (P) excepto en zonas de vertidos domésticos y en grandes floraciones de diatomeas. Se localiza tanto en forma soluble como en particulado como ácido ortosilícico, mientras que en suspensión se encuentra en un amplio espectro de formas silíceas, muchas de las cuales pueden haber sido producidas por la erosión de las rocas en tierra y luego transportadas al mar y a los lagos por los ríos o por el viento, incluso cuarzo, feldespatos y minerales arcillosos. Al sedimentarse en los fondos oceánicos y lacustres algunos de estos minerales forman minerales secundarios. En ciertas partes, las aguas superficiales son ricas en organismos como las diatomeas y radiolarios que tienen esqueletos compuestos de una forma no cristalina de silicatos. Cuando estos organismos mueren, sus esqueletos se van disolviendo mientras se hunden y sólo los restos de los organismos más grandes y resistentes alcanzan la profundidad de los océanos y los lagos.

Existen diferencias entre la absorción de la sílice con respecto a la del P o N. Las tasas de absorción de silicio varían según el estado del ciclo celular, además, las células pueden absorber mayor cantidad de sílice del que necesitan acumulándolo en su interior.

En la actualidad se considera importante la regeneración del silicio en los sistemas oceánicos y lacustres. La salinidad del agua de mar y de varios lagos es de gran importancia en la disolución del silicio y según Hurd [6] la disolución del silicio tiene lugar antes que la aparición de P y N minerales. La disolución también aumenta con el incremento de temperatura y se ha demostrado que la disolución de sílice biogénica es mucho más rápida que la de formas minerales cristalinas.

Las ventajas de emplear diatomeas y fitolitos como bioindicadores de la calidad de las aguas pueden resumirse de la siguiente manera: a) cosmopolitas, b) algunas especies muy sensibles a los cambios ambientales, mientras otros muy tolerantes, c) sensibles a cambios ambientales en cortos o largos períodos, d) el material montado en las preparaciones puede ser preservado, verificado y distribuido a otros laboratorios, e) las preparaciones hechas para la identificación son permanentes, pudiéndose hacer comparaciones por otros investigadores, f) las diatomeas y fitolitos son manejables debido a que sus paredes de sílice rara vez se dañan al removerse de los sustratos naturales o artificiales, g) cultivables y por lo tanto muy adecuados para trabajos experimentales bajo condiciones controladas para determinar respuestas a cambios y h) existe información referida a sus rangos de tolerancia ambiental.

Los parámetros físico-químicos para evaluar la calidad del agua se basan sólo en análisis de las condiciones químicas, que si bien en principio son de gran precisión, son testigos de las condiciones instantáneas de las aguas y los efectos de los contaminantes se detectan si son dispuestos en el momento. Es decir, los resultados son puntuales en la dimensión cronológica y no revelan mucho de la evolución de una carga contaminante y la capacidad resiliente y amortiguadora de los ecosistemas acuáticos, mientras que los bioindicadores informan de la situación pasada. Los bioindicadores utilizados para mostrar la calidad de las aguas son microalgas, macroinvertebrados y minerales de origen biogénico.

El objetivo de este trabajo es mostrar la utilidad de la disolución de sílice amorfa de origen biogénico (diatomeas y fitolitos) como bioindicadores de la calidad del agua del Lago de Chapala, validando su uso con la determinación de parámetros físico-químicos.

Antecedentes

Las diatomeas son algas microscópicas unicelulares identificables por la forma de su esqueleto; sus dimensiones oscilan entre 2 μm y 0.4 mm. Están presentes en ríos y lagos, como indicadores de la calidad de las aguas: acidez, salinidad, nivel y naturaleza de contaminantes orgánicos, entre otros. Existen más de 20 000 especies de diatomeas en las aguas dulces y saladas; sus asociaciones y su diversidad reflejan las condiciones ambientales. Ellas aportan información complementaria algunas veces más fiables (instantánea) que los análisis químicos, pero es importante manejar su clasificación en evolución permanente (más de 400 nuevas especies taxonómicas son descritas cada año). Las diatomeas representan el 98% del fitoplancton [22].

Su membrana celular está constituida fundamentalmente por pectina impregnada de sílice de modo que resiste la acción de los ácidos y bases fuertes. A este caparazón silíceo en forma de estuche con dos valvas se le da el nombre de frústulo. Son muy resistentes a la acción de los elementos ambientales incluso a altas temperaturas. Su reproducción, por lo general, es por división celular; las cubiertas se separan y cada mitad segrega otra un poco más pequeña que encaja con la anterior. Las divisiones celulares sucesivas siempre producen células hijas de menor tamaño hasta que se alcanza una talla mínima [22].

En función del sistema de clasificación que se use, las diatomeas pertenecen a la clase *Bacillariophyceae* (*Bacillariophyta*) en el filo *Crisofitos* (*Chrysophyta*) o constituyen el filo independiente *Bacillariophyta*.

Por otra parte, los fitolitos, del griego *phyton* (planta) y *litos* (piedra), son partículas minerales que precipitan en y entre las células de los tejidos vegetales vivos. Ellas están constituidas de cristales de oxalato de calcio o de sílice amorfa. Se restringe el uso del término fitolito sólo a la denominación de partículas de sílice amorfo (ópalo, $\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$) con un diámetro entre 2 y 200 μm , que permanecen en los suelos después de la muerte y descomposición de la plantas conservándose en los sedimentos [32].

Los fitolitos de sílice son concreciones siliciosas microscópicas clasificadas como ópalo-AG [11]. Tienen microporos con una superficie BET de 30 a 60 m^2/g y contiene desde 0 a más de 10% de agua [3], de 1 a 5% de carbón orgánico [8, 33, 9] y en la mayor parte de los casos, de aluminio (Al) con relación Si/Al de 8 a 90 [3]. El Al puede ser remplazado por un átomo de Si en el seno de la red por substitución isomórfica donde se adsorbe por medio de la química en la superficie de las partículas [3]. Algunas trazas de magnesio, calcio, sodio, potasio, manganeso y hierro también han sido encontradas [3, 18].

Su formación constituye una etapa substancial del ciclo geodinámico del silicio [2, 31]. Las raíces absorben el agua del suelo que contiene sílice en su forma disuelta $\text{Si}(\text{OH})_4$, que es producto de la alteración de

silicatos primarios o de la disolución de cuarzo de las rocas madres. La solución es conducida a través de la savia bruta (el xilema) justo a las hojas en donde ella es en su mayoría transpirada [25].

El silicio circula en la savia bajo la forma de quelatos a proteínas [7, 23] y precipita bajo la forma de sílice amorfa en las células contra las paredes secundarias [24, 28, 29, 15] o entre las células a nivel de la lámina media. Los fitolitos pueden formarse por precipitación, por formación de nucleidos y por transpiración.

La transpiración muchas veces es responsable de la precipitación de la sílice amorfa por sobresaturación en los sitios donde ocurre la fase acuosa sometida a una pérdida de agua [23]. Así, las paredes externas de las células epidérmicas son las más favorables para la precipitación del ópalo [24]; sin embargo, la silicificación puede afectar todos los tipos de tejidos: parénquima, esclerénquima, vasos, y comprende los tejidos de órganos subterráneos pero en pocas proporciones [26].

Al final es necesaria la presencia de centros orgánicos (celulosa, fenoles, superina, lignina de la pared y debris de membranas, ribosomas, glóbulos lipídicos y debris fibrilares en los espacios intercelulares) que favorecen la precipitación de sílice amorfa contra las paredes secundarias y en los espacios intercelulares de las células en senescencia [27].

La producción de fitolitos no es ni ubiquista, ni uniforme en el mundo vegetal. Todas las plantas contienen sílice, en algunas no se encuentra más que en pequeñas trazas y constituye lo que se conoce como "sílice de constitución" interviniendo en el metabolismo general. En otras está presente en cantidades significativas y consiste en "sílice de interposición". Esta forma se manifiesta por las acumulaciones minerales responsables tanto de la formación de un esqueleto superficial como de los depósitos intracelulares: los fitolitos.

Los fitolitos en las gramíneas son de 10 a 20 veces más que los encontrados en las leguminosas. Sin embargo, los fitolitos son producidos en cantidades lo suficiente grandes para reflejar los conjuntos de plantas de donde ellos derivan, pero son solo testimonio de la presencia de taxones acumuladores de sílice.

Entre las principales clasificaciones existentes concernientes a los fitolitos de gramíneas, [20] ha definido 4 grandes grupos: las festucoides (con formas circulares, rectangulares y elípticas); las panicoides (con formas en cruz o en mancuernas); las chloridoïdes (con formas de sillas de montar) y orizoïdes (que no son características de ninguna subfamilia). Para ello, se han utilizado criterios morfológicos de la epidermis y en particular de las células siliciosas. La forma ha sido por mucho, el primer criterio de clasificación de los fitolitos y no existe todavía clasificación concerniente a los fitolitos granulares característicos de los árboles.

Área de estudio

El Lago de Chapala pertenece al sistema hidrológico Lerma-Chapala-Santiago, uno de los más importantes de México. En particular, la cuenca Lerma-Chapala representa 2.7% de la superficie total del país y en ella habitan 10% de la población de México. Contribuye al 33 % de la producción industrial, 20% del comercio total y 12.5 % de la superficie de agricultura de irrigación de México.

Su localización geológica está en la porción occidental de la provincia denominada Cinturón Volcánico Transmexicano la cual se caracteriza tanto por su actividad tectónica como volcánica [22].

Su situación geográfica se localiza en la región occidental de México, sus 1080 km² se caracterizan en la actualidad por una profundidad promedio de 4 m (lago somero), lo cual es inusual para un lago que se localiza dentro una zona tectónica y volcánica activa. El lago se sitúa en los estados de Jalisco (hacia el Oriente con 90% de su superficie) y Michoacán (hacia el Noroeste con el 10%), aunque esta proporción varía por la pérdida de superficie del vaso lacustre. Se encuentra dentro de los paralelos 20° 07' y 20° 21' de latitud Norte y los meridianos 102° 40' 45" y 103° 25' 30" de longitud Oeste a una altitud de 1524 msnm (Figura 1). Es considerado como el embalse natural de mayor extensión en nuestro país y ocupa el número 68 a escala mundial, el número 48 en América del Norte y el tercero en tamaño en Latinoamérica [22].

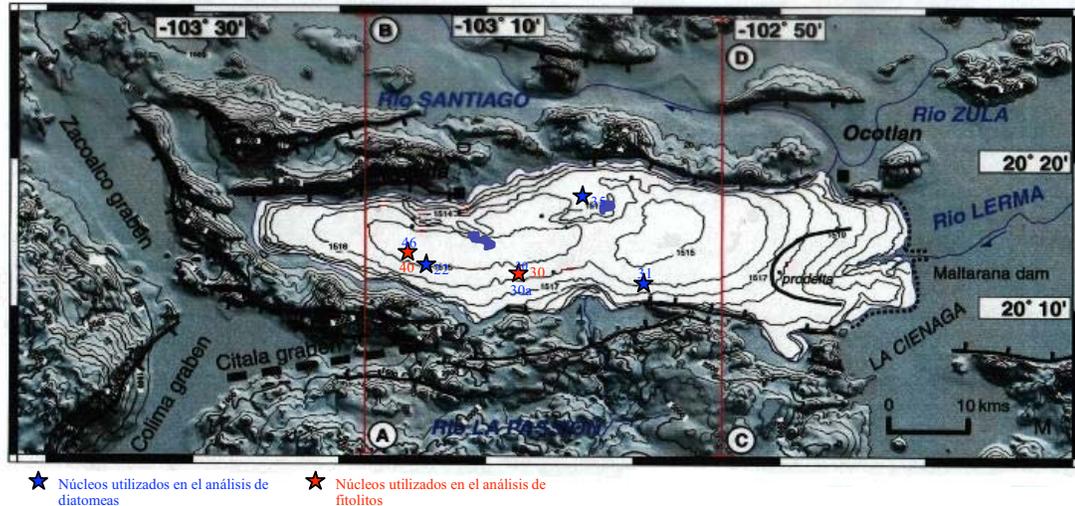


Figura 1. Mapa de localización de núcleos del Lago de Chapala.

El lago se alimenta por los ríos Lerma, Duero y en temporal por los ríos Zula, La Pasión y las escorrentías de la cuenca propia del lago. Además, se ha evidenciado la presencia de manantiales sub lacustres lo cual pone de manifiesto la alimentación del lago por fuentes subterráneas. El río Lerma como principal afluente del lago nace a más de 400 km al Este, atraviesa el centro del país donde sus aguas se aprovechan para la actividad agrícola e industrial y más tarde las vierten sobre el curso del río con fuertes cargas de contaminantes [22].

Del recurso hídrico del río Lerma, aguas arriba del Lago de Chapala, se benefician los habitantes de la cuenca hidrográfica para riego agrícola (85%), usos industriales (10%) y para consumo urbano (5%), existe una competencia entre los usuarios del agua tanto del río Lerma como del lago.

En los últimos años el nivel del lago ha atravesado por una profunda crisis de escasez de agua debido a la sobreexplotación del recurso sobre el curso del Lerma y de los ríos secundarios que lo alimentan. La construcción de numerosas presas sobre su principal afluente ha contribuido a disminuir los caudales que llegan al lago. Asimismo, la calidad de sus aguas se ha deteriorado de manera considerable presentando pH>9, altos índices de salinidad, alcalinidad total, alcalinidad cálcica y carbonatos [22].

Los aportes excesivos de materia orgánica y de fertilizantes transportados por el río Lerma, la escorrentía de la cuenca propia del lago, así como por las aguas residuales urbanas ribereñas, han generado un cambio en el equilibrio ecológico natural. Lo cual es resultado del crecimiento excesivo de maleza acuática, como ejemplos palpables la proliferación de lirio (*Eichhornia crassipes*), de tule (*Typha latifolia*), de microalgas (*Anabaena flos-aquae*), pérdida de especies nativas, desarrollo de especies introducidas de manera artificial y diferentes grados de contaminación por aniones y metales.

La contaminación del lago se puede clasificar en dos tipos: a) La bacteriológica, con alto contenido de microorganismos en el detritus de origen animal y humano cuya procedencia son las descargas de aguas residuales que recibe el río Lerma y, b) La química, caracterizada por grasas, aceites, metales pesados, detergentes, fertilizantes y plaguicidas, cuyo origen se ubica en las zonas urbanas y rurales pero en especial en las áreas industriales que descargan a este sistema hidrológico.

Materiales y Métodos

El levantamiento de núcleos se hizo en una pequeña lancha con la ayuda de un nucleador tipo “Bentos” construido en el laboratorio de Geodinámica Submarina de Villefranche Sur Mer, Francia; el cual consiste en un tubo de PVC de 2 pulgadas de diámetro fijado a un porta tubos. La parte superior del tubo de PVC se introduce y se sujeta a la orilla del porta tubo a través de un sistema de cerradura tipo válvula para hacer vacío, mientras que la parte inferior es biselada para facilitar su penetración en el sedimento. La válvula está en posición abierta durante el descenso del nucleador y es cerrada herméticamente durante el ascenso. Un mapa de la localización de los núcleos se presenta en la [Figura 1](#).

Los núcleos se transportaron y conservaron en cámara fría hasta su utilización. Después se cortaron en rebanadas de 2 cm de espesor. Las muestras obtenidas se pesaron húmedas, secadas a temperatura controlada (60 °C) y pesados en seco a temperatura ambiente antes de ser enviados a analizarse al Centro Europeo de Investigación y Enseñanza de Geociencias del Medio Ambiente (CEREGE por sus siglas en francés) y a la Universidad de Aix Marsella III.

Análisis de diatomeas en los sedimentos del Lago de Chapala

Se realizó un estudio micropaleontológico sobre los sedimentos 22 (1,50 m de largo), 30 (1,67 m), 30a (1,20 m), 31 (1,48 m), 35 (2,30 m) y 46 (1,90 m) del Lago de Chapala. De los núcleos muestreados cada 2 cm sobre el conjunto de la columna sedimentaria, se tomaron 1.5 g de sedimento seco para cada nivel. Todas las muestras se trataron con peróxido de hidrógeno y ácido clorhídrico para eliminar la materia orgánica y los carbonatos respectivamente. Durante los 2 tratamientos, se calentaron las muestras a una temperatura inferior a 150 °C con enjuagues a pH neutro.

De estas muestras dos microlitros se colocaron sobre un portaobjetos y en un desecador se secaron a temperatura ambiente durante 24 horas. Luego, se montaron las muestras en Nafrax, se observaron y se microfotografiaron a 1000x en un microscopio Zeiss en el laboratorio de micropaleontología de CEREGE y en un microscopio electrónico de barrido JSM-5400LV en el Centro de Microscopia Electrónica de la Universidad de Guadalajara. Las microfotografías se analizaron de manera minuciosa para clasificar las diferentes especies presentes en cada nivel.

Análisis de los fitolitos en los sedimentos del Lago de Chapala

Los fitolitos se analizaron en 15 niveles de 10 cm de los núcleos 30 (1,67 m de largo) y 40 (1,56 m). La extracción de fitolitos se elaboró con la técnica modificada de [10]. Después, con una espátula, se tomó una traza de particulado del fondo del frasco conteniendo los fitolitos, se colocó sobre una gota de alcohol que se extiende sobre un portaobjetos colocada en una placa caliente; el alcohol se evapora dejando depositados los fitolitos. Enseguida se colocó una gota de Bálsamo de Canadá antes de recubrirlo con un cubreobjetos. Las laminillas preparadas fueron secadas durante 2 semanas a temperatura controlada en una estufa para evitar contaminación.

Las laminillas se observaron al microscopio óptico a 3 ampliificaciones diferentes (250, 312.5 y 625 X) a fin de discernir entre los fitolitos (sílice amorfa) del cuarzo (sílice cristalizada), debris de sílice o de otros elementos tales como la materia orgánica fibrosa y de cenizas volcánicas que tienen una refringencia comparable a la de los fitolitos, utilizando eventualmente un microscopio de luz polarizada. Las microfotografías electrónicas se realizaron en el microscopio electrónico de barrido JSM-5400LV del Centro de Microscopia Electrónica de la Universidad de Guadalajara. La preparación de las muestras para MEB consistió en fijar los microgramos conteniendo los fitolitos sobre un soporte metálico con un adhesivo de doble cara. Enseguida se efectuó un depósito en oro (de algunos μm) sobre las superficies de los granos y finalmente se observaron a un voltaje de aceleración de 20KeV y una distancia de trabajo de 20 mm y a diferentes ampliificaciones. La determinación cualitativa y clasificación de los fitolitos en categorías se realizaron siguiendo sus características morfológicas observadas en las microfotografías.

Análisis de la calidad del agua del Lago de Chapala

La calidad del agua es un factor de importancia capital para establecer el comportamiento físico-químico del lago a través del último siglo. Se realizó un análisis de la calidad del agua del lago durante la década de 1990-2000 sobre 38 parámetros físico-químicos: color, temperatura, pH, conductividad, turbidez, transparencia Secchi, alcalinidad total y cálcica (CaCO_3), dureza total y cálcica (CaCO_3), nitrógeno total inorgánico (NTI), amoniacal y orgánico, nitratos, fósforo total, orgánico y ortofosfatos (OP), sulfatos, cloruros, oxígeno disuelto, demanda bioquímica de oxígeno (DBO), demanda química de oxígeno (DCO), grasas y aceites, sustancias activas al azul de metileno (SAAM), sólidos totales (STT), fijos (STF) y volátiles (STV), sólidos en suspensión totales (SST), fijos (SSF) y volátiles (SSV), sólidos disueltos totales (SDT), fijos (SDF) y volátiles (SDV), sólidos sedimentables, coliformes totales y fecales, clorofilas, relación (NTI/OP) y DBO/DCO.

Los análisis se realizaron en el Laboratorio de Limnología de la Comisión Nacional del Agua (CNA) bajo métodos estándares dados por Standard Methods [1] y remitidos por la Gerencia regional Lerma-Chapala-Pacífico de la CNA.

Se creó una base de datos con los 38 parámetros analizados en las 25 estaciones de monitoreo para obtener las tendencias de la última década. Posteriormente fueron construidos los mapas de distribución espacial para cada parámetro mes a mes. Los mapas se elaboraron con la ayuda del programa SURFER[®] que realiza una interpolación gráfica de los datos proporcionados. Se obtuvieron 650 mapas de distribución espacial, comparados y analizados para obtener las tendencias de la calidad del agua de la última década.

Resultados y Discusión

Diatomeas

El estudio micropaleontológico de diatomeas realizado sobre los núcleos de sedimento del Lago de Chapala ha evidenciado que la mayoría de los núcleos presentan frústulas de diatomeas que no están bien preservadas con un alto grado de disolución. El núcleo 46 fue la excepción ya que presenta una rica flora en diatomeas.

Con base en su abundancia las especies taxonómicas más representativas del núcleo 46 son las siguientes: *Stephanodiscus* aff. *nemanensis* y/o *Stephanodiscus minutus* es la especie más comúnmente en el núcleo, seguida por otras formas como *Synedra ulna*, *Cyclotella meneghiniana*, *Surirella turgida*, *Surirella robusta*, *Surirella ovalis* así como *Amphore ovalis*, *Amphore Lybica*, *Navicula gastrum* y *Navicula cryptocephala* (Figura 2). La presencia de especies como *Surirella* spp. y *Campylodiscus clypeous* permiten concluir que el Lago de Chapala ha experimentado niveles bajos.

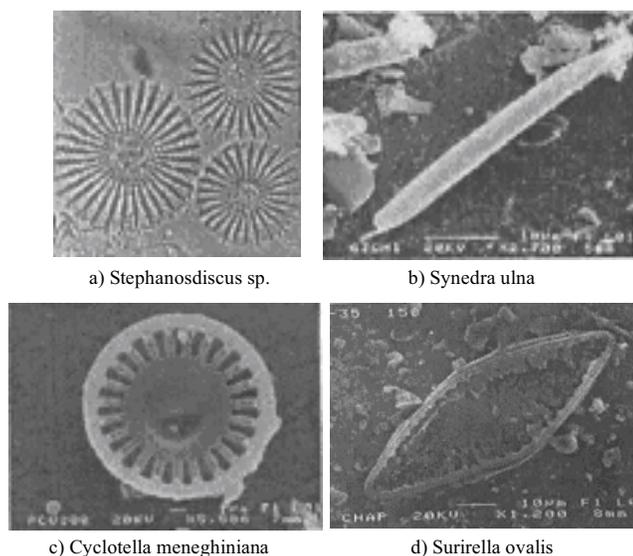


Figura 2. Taxones de diatomeas encontradas en los sedimentos del núcleo 46.

Sin embargo, en los 5 núcleos restantes solo se observó diatomeas y fitolitos disueltos, fragmentados así como una importante cantidad de debris de sílice.

Fitolitos

La determinación de fitolitos fue decepcionante, se observaron para todas las muestras más diatomeas en estado de disolución y debris de sílice opalino que fitolitos. Solo algunas formas permitieron reconocer el tipo de vegetación que puede ser observada, pero ha sido imposible efectuar cualquier análisis estadístico del conjunto de formas.

Las observaciones con la ayuda del microscopio polarizante han permitido deducir el carácter amorfo del debris de sílice. La presencia de fitolitos y diatomeas disueltas pone en evidencia que el debris es resultado del proceso de disolución y fragmentación de los mismos, así como de restos de cenizas volcánicas.

Los sedimentos del lago son aparentemente estériles en formas de fitolitos diferenciados. Los resultados obtenidos no son del todo carentes de información cuando el interés es describir la disolución de sílice biogénica.

Fueron distinguidos seis morfotipos con significación taxonómica: 1) circular rugoso (morfotipo dicotiledóneo), 2) circular Crenele (subfamilia Palmae), 3) alargados punta de flecha (familia de Poaceae), 4) cruces y mancuernas (subfamilia de Panicoideae), 5) en forma de silla de montar (subfamilia Chloridoideae) y 6) formas triangulares que no están indexadas en la clasificación de Twiss [32] (Figuras 3 y 4).

Si bien el análisis fitolítico en este caso no pudo ser utilizado para la reconstrucción paleoclimática, proporcionó un resultado importante: la pobre presencia de fitolitos y la mala conservación de las diatomeas, lo que evidencia su disolución.

Las concentraciones de fitolitos fueron calculadas para las 17 muestras de los núcleos 30 y 40 (en gramos de fitolitos por gramos de sedimento inicial). Los resultados son de 0.42 a 1.80 % para el núcleo 30 y de 1.88 a 4.16% para el núcleo 40.

Las secuencias sedimentarias de los núcleos analizados son, en apariencia, ricas en fitolitos; sin embargo, los resultados muestran que la mayor parte es sílice amorfa que proviene de la disolución de fitolitos y diatomeas, de debris de sílice, lo que evidencia la escasa presencia de fitolitos. Con base en lo anterior, opinamos que los porcentajes representan más la sílice opalina (fitolitos, diatomeas y debris de sílice) que los fitolitos.

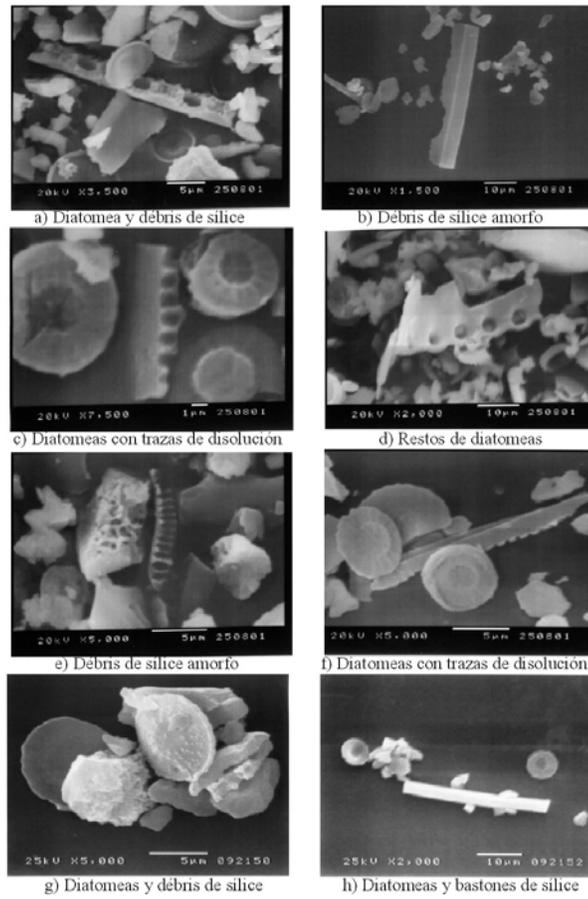


Figura 3. Microfotografías de diferentes tipos de diatomeas y fitolitos con trazas de disolución y fragmentadas de los núcleos 30 y 40.

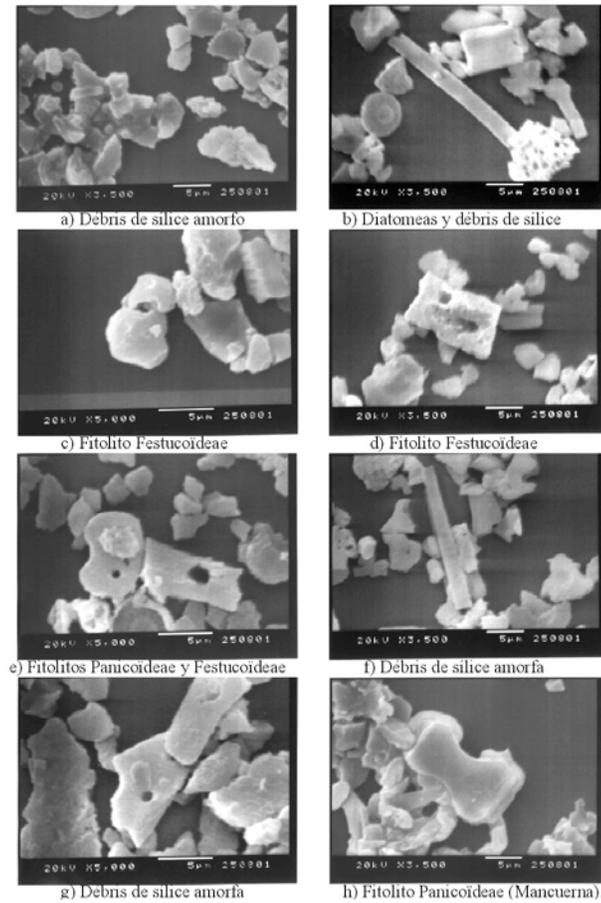


Figura 4. Microfotografías de fitolitos, diatomeas y debris de sílice amorfa encontrado en el núcleo 30.

Parámetros fisicoquímicos de la calidad del agua

Los resultados de los parámetros físico-químicos de la calidad del agua del Lago de Chapala son reportados como las medias de todo el periodo 1994-1998:

- 1) temperatura 20,85 °C,
- 2) color 77,89 U Pt-Co,
- 3) turbidez 38,48 UTN,
- 4) transparencia Secchi 31,85 cm,
- 5) STT 675,29 mg/l,
- 6) STF 514,38 mg/l,
- 7) STV 161,10 mg/l,
- 8) SST 51,43 mg/l,
- 9) SSF 35,85 mg/l,
- 10) SSV 15,53 mg/l,
- 11) SDT 19 mg/l,
- 12) SDF 477,96 mg/l,
- 13) SDV 145,50 mg/l,
- 14) sólidos sedimentables < 0,1 mg/l,
- 15) pH 8,77 independiente de la profundidad,
- 16) nitrógeno orgánico 1,57 mg/l,
- 17) nitrógeno amoniacal 0,48 mg/l,
- 18) nitratos 0,18 mg/l,
- 19) fósforo orgánico 0,16 mg/l,
- 20) ortofosfatos 0,40 mg/l,
- 21) fósforo total 0,57 mg/l,
- 22) cloruros 45,85 mg/l,
- 23) sulfatos 97,55 mg/l,
- 24) conductividad 867,53 μ S/cm,
- 25) dureza total 221,35 mg/l,
- 26) dureza cálcica 142,67 mg/l como CaCO₃,
- 27) alcalinidad total 307,29 mg/l como CaCO₃,
- 28) alcalinidad cálcica 29,90 mg/l como CaCO₃,
- 29) oxígeno disuelto 7,13 mg/l,
- 30) DBO 2,32 mg/l,
- 31) DQO 35,79 mg/l,
- 32) grasas y aceites 12,01 mg/l,
- 33) SAAM 0,15 mg/l,
- 34) coliformes totales 464,97 UFC/100 ml,
- 35) coliformes fecales 76,13 UFC/100 ml,
- 36) Clorofilas 9,57 mg/m³.
- 37) relación NTI/OP 1,93 mg/l,
- 38) relación DBO/DCO 25.34.

Asimismo se registraron los valores máximos y mínimos durante el periodo ([Tabla 1](#)).

Tabla 1. Resultados del análisis de los parámetros físico-químicos del Lago de Chapala durante la década de 1990-2000. (* unidades mg/l, s.d.=sin dimensión)

PARAMETRO	MAX.	MIN.	Media Anual
Temperatura (°C)	28,60	14,80	20,85
Turbidez (UTN)	440,00	4,10	38,43
pH	9,45	7,20	8,77
Alcalinidad total*	400,00	110,00	307,29
Alcalinidad cálcica*	73,00	0,00	29,90
Dureza total*	308,00	101,00	221,35
Dureza cálcica*	223,00	61,00	142,67
Conductividad (µS)	1285,00	300,00	867,53
Color (U Pt-Co)	400,00	7,00	77,89
Transparencia Secchi (cm)	60,00	5,00	31,85
Oxígeno disuelto*	10,60	2,60	7,13
DBO*	8,10	0,20	2,32
DQO*	104,00	4,00	35,79
Nitrógeno orgánico*	6,72	0,20	1,57
Nitrogeno NH ₃ *	5,51	0,01	0,48
Nitrogeno NO ₃ ⁻ *	1,13	0,01	0,18
Fósforo orgánico*	1,84	0,00	0,16
Ortofosfatos*	1,56	0,12	0,40
Fósforo total*	2,69	0,22	0,57
Cloruros*	67,00	20,00	45,85
Sulfatos*	331,00	22,00	97,55
Grasas y aceites*	114,00	0,10	12,01
SAAM*	0,72	0,01	0,15
Fenoles*	0,01	0,00	0,00
STT*	1068,00	156,00	675,29
STF*	826,00	32,00	514,38
STV*	448,00	32,00	161,10
SST*	252,00	6,00	51,43
SSF*	208,00	2,00	35,83
SSV*	112,00	0,00	15,53
SDT*	990,00	132,00	624,19
SDF*	746,00	15,00	477,96
SDV*	418,00	20,00	145,50
SSD*	2,00	0,01	0,19
Coliformes totales (UFC/100 ml)	8040,00	0,00	464,97
Coliformes fecales (UFC/100 ml)	7500,00	0,00	76,13
Clorofila (mg/m ³)	58,30	1,21	9,57
NTI/OP (s.d.)	15,89	0,00	1,93
DBO/DQO (s.d.)	0,50	0,01	25,34

Discusión

Diatomeas

El análisis reveló la presencia de diatomeas identificables en un solo núcleo, mientras que los otros 5 mostraron diatomeas rotas y disueltas. Autores como Gasse [5] han reportado que *Stephanodiscus* aff. *nemanensis* está presente en los afloramientos pleistocenos de la cuenca Chapala pero en cantidades pobres. Sin embargo, señala que es difícil diferenciar entre *Stephanodiscus* aff. *nemanensis* y *Stephanodiscus minutus* porque las pequeñas formas de las dos especies son muy parecidas. *Stephanodiscus minutus* es una especie planctónica que puede vivir a pH neutro, pero también puede ser encontrada en aguas saladas. La presencia de estas dos especies en los sedimentos recientes sugiere condiciones de alta salinidad en el lago. Los valores de conductividad de 867,53 $\mu\text{S}/\text{cm}$ reflejan altas concentraciones de sales lo que permite la presencia de estas especies.

Stephanodiscus minutus y *Nitzschia subacicularis* constituyen una población común en condiciones alcalinas, esto es confirmado por el pH evidenciado en los análisis de calidad de agua que muestran valores entre 7,20 y 9,45 con una media durante el periodo de estudio de 8,77.

Synedra ulna es una especie muy presente en los lagos actuales y se puede considerar como un indicador de eutrofización (altos contenidos de N y P). Ésta se desarrolla con la presencia de N (nitritos y nitratos) y de P, demandando altas cantidades de estas sustancias nutritivas de 0.5 mg NH_3 , 0.5 mg NO_3^- y 0.03 mg PO_4^- [30]. La presencia de estas especies en los sedimentos analizados sugiere altas concentraciones de N y P. El análisis de calidad del agua mostró concentraciones de 1,57 mg/l de nitrógeno orgánico, 0,48 mg/l de nitrógeno amoniacal, 0,18 mg/l de nitratos, 0,16 mg/l de fósforo orgánico, 0,40 mg/l de ortofosfatos y 0,57 mg/l de fósforo total; las cuales pueden considerarse altas y suficientes para el desarrollo de estas especies.

La presencia de formas como *Surirella* spp. y *Campylodiscus clypeous* son de extrema importancia porque generalmente se encuentran en los lagos ó cuerpos de agua que presentan concentraciones elevadas en sales ó de poca profundidad, lo que es el caso del Lago de Chapala. El análisis de conductividad muestra valores medios altos de 867,53 $\mu\text{S}/\text{cm}$ lo que refleja altas concentraciones de sales sobre todo en el periodo seco y poca profundidad.

En lo que concierne a la salinidad de las especies observadas (*Campylodiscus clypeous*, *Surirella ovalis*) en el núcleo 46, son los taxones meso-halobes que viven en las zonas litorales pero que también se encuentran como parte del fitoplancton, lo que es confirmado por los altos valores de conductividad.

Las muestras del borde Norte del Lago de Chapala (Ajijic) presentaron como especies principales *Nitzschia subacicularis* que es considerada como la especie dominante, seguida por *Achnantes minutissima*, *Cyclotella meneghiniana* y *Nitzschia* aff. *frustulum*. Las formas que las acompañan son *Synedra ulna*, *Aulacoseira granulata* var. *angustissima* con la presencia de pequeñas formas bien preservadas de *Stephanodiscus* aff. *nemanensis* y/o *S. minutus*, permiten deducir que son parte de comunidades que se desarrollan actualmente en el lago. Es frecuente encontrar *Achnantes minutissima* en las zonas litorales de los lagos y en las riberas bien oxigenadas [5].

El núcleo 46 es el único que presenta una flora bien preservada y no revela efectos significativos de disolución como ha sido observada en los otros cinco núcleos (22, 30, 30a, 31 y 35).

La única especie identificable sobre los otros cinco núcleos es la *Surirella ovalis* y en numerosos casos, no ha sido posible observar más que su cinturón exterior. Otros organismos como los fitolitos y espículas de esponja se han encontrado en muchos niveles de los núcleos pero están en cantidades importantes en la superficie del núcleo 40. Las Figuras 3 y 4 muestran diferentes tipos de diatomeas con trazas de disolución y algunas fragmentadas.

Por el momento podemos evidenciar que las variaciones de salinidad y los valores de pH superiores a 9 provocan un incremento exponencial de la disolución de las diatomeas. La solubilidad de la sílice amorfa es casi 20 veces más grande que la solubilidad del cuarzo a 25°C. Esta disolución está asociada a la disociación del ácido silícico que se disuelve y produce una gran cantidad de poros. En aguas muy concentradas en sales, la disolución y la transformación sucesiva de frústulas en esmectitas son muy comunes [6]. Este proceso está presente en el Lago de Chapala tal como lo demuestran las altas conductividades y la gran presencia de arcillas esmectita.

La naturaleza de carbonatos afecta la preservación de diatomeas. Se han realizado estudios de disolución de frústulas de diatomeas en diferentes soluciones carbonatadas: Na₂CO₃ (con pH elevado, permite la disociación iónica y la desaparición de 90% de las frústulas en tres días), MgCO₃ (90% desaparecen en 7 días) y CaCO₃ (90% desaparecen en 13 días). El agua del lago es aparentemente sobresaturada en CaCO₃. Los análisis de dureza y alcalinidad reportan altas concentraciones como carbonatos: dureza total 221,35 mg/l, dureza cálcica 142,67 mg/l como CaCO₃, alcalinidad total 307,29 mg/l como CaCO₃, alcalinidad cálcica 29,90 mg/l como CaCO₃, lo que influiría de manera considerable en la disolución de frústulas de diatomeas en los lechos del lago.

Los datos obtenidos durante la realización de este estudio indican que el pH de las aguas del Lago de Chapala en lo general es superior a 8,5 y algunas veces sobrepasa el valor de 9 observándose valores relevantes de salinidad y carbonatos [22]. Al parecer, en el Lago de Chapala, los fenómenos de disolución de las diatomeas pueden ser asociados al incremento del pH que no permite la conservación de las diatomeas; las frústulas que han sido preservadas en los sedimentos corresponden a taxones con un esqueleto más espeso como *Surirella robusta*, *Surirella ovalis* y *Surirella turgida*. También, la presencia de carbonatos, salinidad y alcalinidad pueden contribuir de manera importante en la disolución de la sílice biogénica en el Lago de Chapala. Por otra parte, las diatomeas más antiguas son más resistentes a la disolución que las más recientes debido a un grado más elevado de cristalización de la sílice.

Otros procesos pueden ser considerados en la disolución de fitolitos y frústulas de diatomeas por lo que deben ser evaluados, entre ellos: 1) La acción de bacterias que solubilizan la sílice de las frústulas de las diatomeas [14, 4]; 2) La acción de masticación continua de los invertebrados bentónicos que provocan la destrucción de las diatomeas [21]; 3) Los procesos físicos de alta energía en la columna de agua y en los sedimentos, que provocan la mezcla y rompimiento de las frústulas de diatomeas. Estos factores deben analizarse en investigaciones futuras para complementar los resultados aquí evidenciados.

Fitolitos

En teoría, los regímenes climáticos cálidos y húmedos son el origen de la producción de una gran cantidad de fitolitos en relación a los fríos y secos [32]. Los fitolitos en los sedimentos de un lago tienen un valor de diagnóstico regional dado que ellos resultan en gran parte del aporte de ríos que lo alimentan.

Sin embargo, los fitolitos observados en los sedimentos lacustres de Chapala no han permitido establecer una clasificación adecuada por su escasez. Para comprender mejor la presencia pobre de fitolitos, a pesar de

la tendencia en un hábitat húmedo, a producir gran cantidad de ellos, como lo es el caso de la zona intertropical, dos podrían ser las razones por las cuales se produce poca cantidad de fitolitos en los alrededores del Lago:

- 1) Pobres niveles de la absorción del ácido monosilícico por las raíces. Miller [13] muestra que para una agricultura seca solo una pequeña cantidad de sílice está disponible para la planta y la absorción es irrelevante.
- 2) Altos niveles de transpiración (a más agua, la planta transpira más). La evapotranspiración es máxima en los sitios cálidos y húmedos como es la cuenca propia del Lago de Chapala. Por tanto, la transpiración permite la precipitación de ácido monosilícico en gel como sílice amorfa a nivel de la epidermis foliar en lugar de fitolitos.

Es lógico pensar que los sedimentos más ricos en fitolitos son los depositados bajo climas calientes y húmedos; sin embargo, la humedad favorece la disolución de la sílice opalina; es por esto que nuestros "fitolitos" se presentan mayoritariamente bajo formas de debris de sílice que no son interpretables. Otro factor es la presencia de humus que favorece la disolución rápida de la sílice, según Bartoli [2] "la débil actividad biológica de tierras denominadas podzols explica que los fitolitos se acumulan mientras que la actividad biológica intensa de suelos cafés induce una muy fuerte solubilización de la sílice de origen vegetal". En los sedimentos del lago se encontraron grandes cantidades de debris de sílice, resultado probablemente de la disolución de fitolitos por la actividad de la biomasa vegetal. La producción de fitolitos en los ecosistemas de hojas y resinas es muy importante. Según Bartoli [2] la caída anual de sílice vegetal es generalmente dos veces más grande en los ecosistemas de hojas que en los ecosistemas resinosos y su destino depende "fundamentalmente de sus características físico-químicas que varían según cada tipo de vegetal. Así, los fitolitos resinosos explican su acumulación relativa en los suelos (el tiempo medio de residencia es de 60 años en la *hetraie-sapiniere*) sometidos a fuerte actividad biológica. En oposición, la fragilidad de las hojas favorece su biodegradación en el mismo tipo de suelos; los fitolitos de *hetraie* desaparecen más rápido (tiempo medio de residencia en el suelo de 27 años) que los de los *sapins* (80 años) o los pinos (300 años)".

En un medio confinado la sílice soluble se absorbe por el aluminio insoluble (o poco soluble a $\text{pH} > 5$) y forma un gel mixto aluminosilícico más rico en sílice a medida que el pH es más elevado. Este gel evoluciona sobre los allófonos cuando una gran cantidad de materia orgánica frena la cristalización o sobre arcillas de neoformación en el caso contrario [2], las cuales se encuentran presentes en los sedimentos del lago.

Las pérdidas de silicio por drenaje son mucho más significativas en los suelos de clima cálido y húmedo (suelos ferrilíticos) que en clima templado (suelos cafés), en razón del reciclaje por la vegetación que intervienen en estos últimos.

Los resultados de la calidad del agua del lago muestran pH alcalinos (≈ 9) lo que facilita la disolución de la sílice, por lo que una parte de la disolución de los fitolitos es influenciada por los valores de pH elevados.

En adición, la zona intertropical que recicla las mayores cantidades de Si permanece poco estudiada; solo Piperno [17, 16] y Piperno y Becker [19] han aplicado el análisis fitolítico a la zona ecuatorial latino-americana y sobre todo a las grandes planicies americanas (zona templada).

Sobre los argumentos expuestos se puede decir que la pobre presencia de fitolitos se deberían a múltiples factores que es necesario analizarlos tales como:

- 1) La zona intertropical que recicla las mayores cantidades de Si;
- 2) Por una agricultura seca donde solo una pequeña cantidad de Si está disponible para la planta;
- 3) La transpiración que permite la precipitación del ácido monosilícico en gel a partir de sílice amorfa a nivel de la epidermis foliar;
- 4) Una fuerte erosión y
- 5) La presencia de humus con una importante biomasa vegetal.

Sin embargo, por el momento los resultados proporcionados por el presente estudio se limitan a dos factores:

- 1) A la pobre producción de ellos en la cuenca del lago y alta producción de gel como sílice amorfa,
- 2) A la disolución de fitolitos debido a $\text{pH} > 9$ y concentraciones elevadas de sales al interior del lago y,
- 3) A la humedad que favorece la disolución de sílice opalina y la utilización de la sílice soluble en la neoformación de arcillas.

Conclusiones

Con base en el análisis de diatomeas, fitolitos y parámetros físico-químicos del agua se concluyó lo siguiente:

1. La presencia de *Stephanodiscus* aff. *nemanensis* y *Stephanodiscus minutus* en los sedimentos recientes sugiere condiciones de alta salinidad, lo cual es corroborado con los valores de alta conductividad de 867,53 $\mu\text{S}/\text{cm}$ encontrados en el agua del lago. La presencia de *Surirella* sp. y *Campylodiscus clypeous* permiten evidenciar que el Lago de Chapala ha conocido bajas de nivel muy graves y altas concentraciones de sales. *Stephanodiscus minutus* y *Nitzschia subacicularis* constituyen una población común en condiciones alcalinas, lo que fue confirmado por pH entre 7,20 y 9,45. *Synedra ulna* es una especie muy presente en los lagos actuales y considerada como un indicador de eutrofización (altos contenidos de N y P). El análisis de calidad de agua mostró concentraciones de 1,57 mg/l de nitrógeno orgánico, 0,48 mg/l de nitrógeno amoniacal, 0,18 mg/l de nitratos, 0,16 mg/l de fósforo orgánico, 0,40 mg/l de ortofosfatos y 0,57 mg/l de fósforo total; concentraciones suficientes para el desarrollo de estas especies. Por su parte, la naturaleza de los carbonatos afecta la preservación de diatomeas. El agua del lago es aparentemente sobresaturada en CaCO_3 . Los análisis de dureza y alcalinidad reportan altas concentraciones: dureza total 221,35 mg/l, dureza cálcica 142,67 mg/l, alcalinidad total 307,29 mg/l, alcalinidad cálcica 29,90 mg/l, lo que influye de manera substancial en la disolución de diatomeas en los lechos del lago.
2. Los fitolitos observados en los sedimentos lacustres de Chapala han sido muy escasos. La humedad del lago favorece la disolución de la sílice opalina; es por esto que nuestros fitolitos se presentan mayoritariamente bajo formas de debris de sílice que no son interpretables. Asimismo, la actividad biológica intensa de suelos de esta región induce a una muy fuerte solubilización de la sílice de origen vegetal. En los sedimentos del lago se encontraron grandes cantidades de debris de sílice, resultado probable de la disolución de fitolitos por la actividad de la biomasa vegetal. Además, en un medio confinado la sílice soluble es absorbida por el aluminio insoluble (o poco soluble a $\text{pH} > 5$) y forma un gel mixto aluminosilicífico más rico en sílice a medida que el pH es más elevado. Los resultados de la calidad del agua del lago muestran pH alcalinos (≈ 9) lo que facilita la disolución de la sílice, por lo que una parte de la disolución de los fitolitos es influenciada por los valores de pH elevados.

3. Finalmente, en el Lago de Chapala los fenómenos de disolución sílice de diatomeas son asociados al incremento del pH, a la presencia de carbonatos, salinidad, alcalinidad y conductividad, mientras que la de fitolitos a la poca producción de ellos, pH elevados, salinidad excesiva, alta humedad y actividad de biomasa en los suelos.

Referencias

1. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA), AMERICAN WATERWORKS ASSOCIATION (AWWA) & WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION (WPCF) (1998). *Standard methods for examination of water and sewage and wastewater*. Nueva York.
2. Bartoli F (1979) Comment la forêt recycle le silicium. *La Recherche* 97: 181-189.
3. Bartoli F (1981) Le cycle biogéochimique du silicium sur roche acide. Application a deux écosystèmes forestiers tempérés (Vosges). *Thèse de Doctorat Université de Nancy*.
4. Bidle KD, Azam F (1999) Accelerated dissolution of diatom silica by marine bacterial assemblages. *Nature* 397: 508-512.
5. Gasse F (1980) Les diatomées lacustres Plio-pléistocènes du Gabed (Ethiopie). *Systématique, Paléoécologie, Biostratigraphie. Rev. Algologie, Mémoire h.s. 3*: 249.
6. Hurd DC (1983) Physical and chemical properties of siliceous skeletons. In *Silicon geochemistry and Biogeochemistry*, S.R. Aston (Ed.) Academic Press: 187-244.
7. Iler RK (1979) The surface chemistry of silica, in the chemistry of silica. *John Willey and Sons, New York*: 623-729.
8. Jones RL, Beavers AH (1963) Some mineralogical and chemical properties of plant opal. *Soil Science*, 96: 375-379.
9. Kelly EF, Amundson RG, Marino BD, Deniro MJ (1991) Stable Isotope Ratios of Carbon in Phytoliths as a Quantitative Method of Monitoring Vegetation and Climate Change. *Quaternary Research* 35: 22-233.
10. Kelly EF (1990) Methods for extracting Opal Phytoliths from soil and plant material. *Workshop on Biotic Indicators Of Global Change. University of Washington. June 1-3, 1990 Seattle, Washington*.
11. Langer K, Flörke OW (1974) Near infrared absorption spectra (4000-9000 cm⁻¹) of opals and the role of "water" in these SiO₂.nH₂O minerals. *Fortschr. Miner* 52(1): 17-51.
12. Laroche J (1976) La silice et les plantes supérieures. *Revue de Cytologie et de Biologie Végétale*, 40: 15-45.
13. Miller RA (1991) Phytoliths as indicators of ancient irrigation farming - in Préhistoire de l'agriculture: nouvelles approches expérimentales et ethnographiques -. *Monographie du CRA n°6, ed. CNRS*.
14. Patrick S, Holding AJ (1985) The effect of bacteria on the solubilization of silica in diatom frustules. *J. Appl. Bact.* 59: 7-16.
15. Perry CC, Williams RJ, Fry SC (1987) Cell wall biosynthesis during silicification of grass hairs. *Journal of Plant Physiology*, 126: 437-448.
16. Piperno DR (1984) A Comparison and differentiation of Phytoliths from maize and wild grasses/Use of morphological criteria. *American Antiquity* 49: 631-383.
17. Piperno DR (1988a) The interpretation of phytolith assemblages: method and theory in Phytolith Analysis. an Archeological and Geological Perspective. *Academic Press, Inc., Chap. 6*: 131-167.
18. Piperno DR (1988b) Laboratory Techniques in Phytolith Analysis, an Archeological and Geological Perspective. *Academic Press, Inc., Chap. 5*: 119-130.
19. Piperno DR, Becker P (1996) Vegetational history of a site in the central Amazon basin derived from phytolith and charcoal records from natural Soils. *Quaternary Research*, 45: pp 202-209.
20. Prat (1936) La systématique des graminées. *Annales de Sciences naturelles, Botanique, Paris, Masson et Cie Ed., 10e série XVIII*: 165-258.
21. Quigley MA, Vanderploeg HA (1991) Ingestion of live filamentous diatoms by the Great Lakes amphipod, *Diporeia* sp.: a case study of the limited value of gut contents analysis. *Hydrobiology* 223: 141-148.
22. Ramírez SH (2001) Caracterisation hydrologique et sédimentologique d'un lac tropical: Le Lac Chapala (Mexique). *Thèse de Doctorat Université de Nice Sophia-Antipolis*.
23. Raven AG (1982) The transport and function of silicon in plants, *Biology Revue*, 58: 179-207.
24. Robert D, Laroche J, Guervin C, Le Coq C, Sauvanet A (1973) Mise en place de la silice dans les cellules épidermiques de la feuille d'un ptéridophyte: Sélaginelle kraussiana. II. *Etude ultrastructurale*: 185-207, 200-201 y 209-233.

25. Sangster AG, Johnson MJ (1992) Silica Deposition in Subterranean Organs EM Phytolith Systematics Emerging Issues. Ed. Rapp G., Mulholland JR. et S. C., Plenum Press, New York: 239-251.
26. Sangster AG, Johnson MJ (1999) Silica deposition in subterranean organs. in: Phytolith systematics. Rapp G.J. y Mulholland S.C. Plenum Press. New York: 39.
27. Sangster AG, Parry DW (1981). Ultrastructure of silica deposits in higher plants in Silicon an siliceous structures in biological systems. *Simpson T.L., and Volcani B.E., Springer-Verlag, New York: 383-407.*
28. Sangster AG (1978) Silica in the roots of higher plants, *American Journal of Botany*, 65, (9): 910-935.
29. Sowers AE, Thurson EL (1979) Ultrastructural evidence for uptake of silicon-containing silicic acid analogs by *Urtica pilulifera* and incorporation into cell wall silica. *Protoplasma* 101: 11-99.
30. Stevenson J, Jandong P (1994) *13th International Diatom Symposium, 1994: 61-81.*
31. Tardy C (1991) Les phytolithes forme et rôle dans les plantes, indices paléoclimatiques, révélatrices des structures et artefacts archeologiques. DEA "Environnement et Archeologie soutenu a la Universite Montpellier II.
32. Twiss PC (1987) Grass-opal phytoliths as climatic indicators of the Great Plains Pleistocene. *W. C. Johnson, ed., Quaternary environments of Kansas. Kansas Geological Survey Guidebook, serie 5.*
33. Wilding LP (1967) Radiocarbon dating of biogenetic opal. *Science* 156: 66-67.