



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
ZARAGOZA.**

**CARACTERIZACIÓN DE LA COMPOSICIÓN  
DE LAS DIATOMEAS Y DE LA MATRIZ  
EXTRACELULAR EN LOS  
MICROBIALITOS DE TRES LAGOS MAAR  
DE LA CUENCA ORIENTAL.**

**TESIS**

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**BIÓLOGO**

PRESENTAN:

**CEJA GONZÁLEZ JAIR CARLOS**

**LIRA TRETO IVÁN**



DIRECTOR DE TESIS:

**DR. JUSTO SALVADOR HERNÁNDEZ AVILÉS**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **Agradecimientos institucionales**

Queremos agradecer a la Universidad Nacional Autónoma de México por proporcionarnos calidad de estudios superiores y dejarnos formar parte de tan maravillosa comunidad estudiantil.

A la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, especialmente a la carrera de Biología, por habernos formado académicamente dentro de sus aulas y también a los profesores que sin duda marcaron nuestra formación profesional.

Al Dr. Justo Salvador Hernández Avilés, director de esta tesis y titular del Laboratorio de Limnoecología de la FES Zaragoza, por ser una excelente persona y un distinguido investigador, ya que sin sus enseñanzas y colaboración este trabajo no se hubiese llevado a cabo.

A nuestros compañeros del Laboratorio de Limnoecología, por su valiosa contribución en el trabajo de campo y laboratorio.

Al Dr. José Luis Godínez Ortega, curador de la colección de algas del herbario y titular del Laboratorio de Ficología del IBUNAM, por su apoyo en la limpieza, montaje e identificación de diatomeas; por permitirnos hacer uso de las instalaciones y material del Laboratorio de Ficología y por la ayuda que, a lo largo de nuestra estancia en el mismo, nos brindó.

A la M. en C. María Berenit Mendoza Garfias, responsable del Laboratorio de Microscopía Electrónica del IBUNAM, por el procesamiento y captura de imágenes en el MEB.

Al Dr. Pedro Mercado Ruaro, encargado del Laboratorio de Botánica Estructural del IBUNAM, por permitirnos trabajar en su laboratorio y hacer uso de su equipo, incluyendo la centrifugadora y el microscopio óptico con luz Normaski.

A la Dra. Alberta Lourdes Castillo Granada, responsable del Laboratorio de Espectroscopia de la FES Zaragoza y del proyecto PAPIME PE206115, por su apoyo en la obtención e interpretación de los espectros de FTIR de la matriz extracelular.

Agradecemos a nuestros sinodales: Biól. Angélica Elaine González Schaff, M. en C. Juan Manuel Valderrábano Gómez, Dra. Alejandrina Graciela Ávila Ortiz, Dra. Alberta Lourdes Castillo Granada y Dr. Justo Salvador Hernández Avilés por la revisión de esta tesis, por sus valiosas observaciones y comentarios que contribuyeron a mejorar de manera considerable la calidad de este trabajo.

Por los recursos económicos otorgados a través del Programa de Apoyo a Proyectos para la Innovación y Mejoramiento de la Enseñanza (PE216016) para la realización del trabajo de campo y material de laboratorio.

A la UNAM y la beca de Titulación – Egresados Alto Rendimiento por el apoyo económico recibido para el desarrollo de esta investigación.

**Dedicado** a mis padres y mentores, Ade y Susi, porque sin ellos no sería quien soy, ustedes hicieron esto posible, por su paciencia en mi desarrollo personal y mi procurar bienestar. Los amo.

**Agradezco** a mi familia por el apoyo. A mis hermanos, Daniel y Jessica, por compartir de lo suyo conmigo y resguardarme ante los problemas. A Leonardo, mi sobrino, por enseñarme un sinnúmero de cosas y traer un toque de alegría a nuestro hogar. A Spyro, quien me mostró valores como la amistad.

A mis amigos que me han acompañado a lo largo de mi vida y mi formación escolar. A Nelly por seguir aquí tantos años y a Erick, LuisDaniel y Valeria por compartir buenos ratos.

A mis compas de la preparatoria, José, Aranza, Humberto, Milpas, Karen, Anibal, Pandu, PepeCastor, Fani, Mariana y Mandi, que, aunque nos miremos en escasas ocasiones, siempre que nos juntamos (en navidades), platicamos y nos divertimos de la misma manera.

A mis amigos que padecieron cursar la carrera de Biología, a Iván, porque tolerar mi genio, compartir grupo conmigo en casi todos los semestres y ser un excelente simbiote, a Sandra y Dulcinea, con quienes viví experiencias enriquecedoras. Al Arturo, Sofia, Cran y Fer por ser fieles compitas, también agradezco coincidir con personas como Tete, Federico, Carolina, Viri, sé que no lo emito, pero les tengo mucho aprecio y valoro todos los recuerdos que compartimos.

A mis compañeros del laboratorio de limnoecología: Iván, Vicky, Fer, Jovani, Ulises, dr. Arredondo, Chucho, Omar, compi, Irving, Moy, Itza, Ceci, por hacerme más leve la etapa del laboratorio, porque nadie es tan guerrero como ustedes para sobrevivir a Atexcac con un buen de cosas y regresar a la semana de nutrimentos.

Al "Doc" Salvador, por permitirme formar parte de su equipo y por qué trabajar con usted es hacer verdadera ciencia.

A mis profesores de la carrera, quienes me enseñaron la pasión por la Biología, especialmente a Cristóbal Galindo, a Carlos Castillejos, a Guadalupe Bribiesca y a Juan Manuel Valderrábano.

A todas y cada una de las personas que han creído en mí; y a los que se den tiempo de leer esta investigación.

**Jair C. Ceja**

## Dedicatorias

Iván Lira Treto.

A mi padre José Lira Trejo, por ser mi más grande maestro y ejemplo a seguir, por inculcarme valores muy importantes, a trabajar y esforzarme para conseguir mis metas. Gracias por todos los días vividos, a veces recuerdo todo lo que hemos pasado desde mi primer día en la UNAM y vaya que nos ha cambiado la vida en estos años. Podría hacer una lista enorme de los recuerdos, de cada día de trabajo a tu lado, de todas las marchas y manifestaciones en tu lucha laboral, y por supuesto, los días de música que hemos compartido. Todo esto y muchas memorias más, han definido mi personalidad y me han vuelto el joven que ahora soy. Te agradezco ya que nunca me has fallado y por todo lo bueno que me transmites, para ti es este estudio como resultado de cada esfuerzo que diste, con el fin de brindarme una herramienta más para afrontar la vida.

A mi madre Martha Treto Carrillo, por haberme dado el regalo de la vida, por todo el amor y comprensión que siempre me has brindado. Te agradezco por los consejos cada vez que me encuentro en algún conflicto, y porque siempre me acompañaste en mi camino, desde el primer día que fui a la escuela hasta el día de hoy. Estos últimos años en nuestras vidas han venido grandes cambios, de ti aprendí que la vida no es fácil, que tenemos retos y hay que ser valientes para afrontarlos. En un pasado el cambio me causaba miedo, ahora, por el contrario, entiendo que el cambio significa progreso y por lo tanto felicidad; durante el desarrollo de esta tesis, en una búsqueda introspectiva descubrí el amor que le tengo a la vida y lo feliz que me siento de pertenecer a nuestra familia, te agradezco por eso, y para ti todo mi esfuerzo en este trabajo, por abrirme los ojos de que la vida no es tan fácil y que debo estar preparado para los obstáculos que se presenten en el camino.

A mis hermanas Tania y Karen, porque siempre están ahí para apoyarme y por todo el amor que me han regalado a lo largo de mi vida, por hacerme sentir orgulloso de su valentía y lo buenas que son haciendo las cosas cuando se lo proponen, a ustedes les agradezco por enseñarme a respetar y para ustedes con mucho amor es este trabajo por toda la confianza y las esperanzas que han puesto en mí.

A mis sobrinas Valeria, Ximena y mi ahijado Said, para ustedes que han sido la alegría de nuestra familia, con mucho amor y mis más grandes esfuerzos quiero dedicarles este trabajo. Deseo que en un futuro ustedes me hagan sentir muy orgulloso y superen mis logros.

## **Agradecimientos Personales**

Al Dr. Justo Salvador, a usted quiero agradecerle por haber influido tan positivamente en mi vida estudiantil, porque sembró en mi la pasión por la ciencia y unas ganas infinitas de aprender cada vez más cosas, por demostrarme el valor del trabajo social y a mantener un pensamiento crítico en temas diversos, más allá de la biología. Gracias por hacerme ver la importancia de integrar el conocimiento para formar ideas más concretas, desde el momento que entendí esto pude ver la biología desde una perspectiva muy completa y más interesante.

A Jair mi amigo del alma, a ti quiero agradecerte especialmente por ser la persona fuera de mi familia, que más me ha escuchado y comprendido estos últimos 5 años, por brindarme la confianza de contar contigo en los buenos y en los malos momentos. Gracias por tu amistad, por todos los muestreos, proyectos, y mi parte favorita, por las incontables pláticas científicas que mantuvieron siempre activo mi interés por la biología y mis ganas de aprender. Te agradezco por toda la comprensión este último año que fue de mis etapas más difíciles y porque me ayudaste a mantener mi mente siempre enfocada en el desarrollo de esta tesis.

A mis amiguitas Dulce y Sandra, por haber hecho especial tantas experiencias durante la carrera. Gracias por todos los viajes, las risas y por confiar en mí constantemente, incluso más allá de lo escolar, porque siempre me acompañaron en mi proyecto personal aun cuando otros ni siquiera confiaron. Gracias por su amistad y por todo su apoyo.

A todos mis amigos de la FES Zaragoza, en especial a aquellos con quienes pase más tiempo: Arturo, Cran, Fernanda, Tete, Carolina, Federico, Sofia y Victoria por permitirme compartir tantos momentos a su lado durante estos años y hacer que el tiempo en la facultad pasara tan rápido.

A mis amigos del Laboratorio de Limnoecología, tanto a las antiguas generaciones como las nuevas por apoyar en el trabajo de campo y procesamiento de muestras, pero más importante, por cada esfuerzo que hicimos colaborando juntos como un gran equipo para sacar adelante todos nuestros proyectos. Gracias por las charlas y juegos en Atexcac y por hacer estos últimos dos años de la carrera mucho más felices.

A mi familia, en especial a mis primos: David, Elías, Daniela, Alan y Matu con quienes he pasado un sinfín de momentos alegres y siempre están ahí para escuchar mi punto de vista. Gracias por apoyarme siempre y hacer el tiempo más ameno.

A todos mis profesores de la FES Zaragoza por sus enseñanzas y permitirme ser su aprendiz, en especial a mis mentores de Laboratorio Cristóbal Galindo, Dr. Carlos Castillejos y a la Dra. Bertha Peña, por influir tanto en mi formación académica y contagiarme de su pasión por la biología en cada clase o practica de campo.

# Indice

1.	Resumen.....	1
2.	Introducción .....	2
3.	Antecedentes .....	10
4.	Pregunta Científica de Investigación .....	13
5.	Justificación .....	13
6.	Hipótesis.....	14
7.	Objetivo General .....	15
7.1	Objetivos Particulares .....	15
8.	Método.....	16
8.1	Zona de estudio.....	16
8.2	Trabajo de campo.....	21
8.2.1	Parámetros físico-químicos.....	21
8.3	Trabajo de laboratorio. ....	23
8.3.1	Nutrientes .....	23
8.3.2	Limpieza e identificación de diatomeas .....	23
8.3.3	Observación de diatomeas.....	24
8.3.4	Extracción y caracterización de los grupos funcionales en la matriz extracelular de los microbialitos.....	24
7.4	Trabajo de gabinete .....	27
7.4.1	Determinación taxonómica de diatomeas .....	27
7.4.2	Espectrofotometría de infrarrojo (IR) .....	28
7.4.3	Análisis estadístico .....	28
9.	Resultados .....	29
9.1	Parámetros físico-químicos.....	29
9.2	Nutrientes .....	33
9.3	Especies de diatomeas .....	35
9.4	Descripción fenotípica del biofilm de los microbialitos en los tres lagos .....	40
9.5	Composición de grupos funcionales presentes en la matriz extracelular. ....	42
10.	Discusión .....	45
10.1	Nutrientes y parámetros.....	45
10.2	El papel de las diatomeas en los microbialitos .....	51

10.3 Riqueza específica de diatomeas en los microbialitos .....	54
10.4 Biopolímeros en la matriz celular y sus funciones. ....	59
10.5 Interpretación general de la coloración de los microbialitos y de los espectros de IR de su biofilm .....	62
10.6 Mineralización por la matriz extracelular .....	63
11. Conclusión .....	66
12. Referencias bibliográficas .....	67
Anexo 1. Referencias geográficas del muestreo de microbialitos. ....	81
Anexo II. Colección de Algas del Herbario Nacional MEXU .....	82
Anexo III. Lagos y estromatolitos .....	83
Anexo IV. Diatomeas asociadas a los microbialitos de los lagos La Preciosa, Atexcac y Alchichica .	92

## 1. Resumen

Los microbialitos, estructuras órgano-sedimentarias, constituyen microecosistemas ideales para el estudio de la precipitación de biominerales, donde se desarrollan comunidades microbianas diversas. Los fotoautótrofos, principalmente diatomeas y cianobacterias aportan altas cantidades de material extracelular, que soporta la existencia de organismos heterótrofos y promueven la precipitación mineral. El estudio de los microbialitos es de importancia para la investigación científica en evolución, exobiología, microbiología de ambientes extremos y en la exploración de nuevos sumideros de carbono.

Se colectaron microbialitos y muestras de agua de tres lagos maar: La Preciosa, Atexcac y Alchichica, Puebla. Se realizaron análisis químicos como pH, alcalinidad, conductividad, formas inorgánicas de nitrógeno, fósforo y silicatos. De los microbialitos se aislaron, limpiaron e identificaron diatomeas hasta el taxón posible con microscopio óptico y electrónico de barrido. De la matriz extracelular de estas estructuras, fueron aislados polimeros mayores a 8 KDa, y se caracterizaron los grupos funcionales con espectroscopía de infrarrojo FTIR.

Se encontraron diferencias significativas en el pH, alcalinidad por carbonatos, conductividad y silicatos; mientras no se registraron en el nitrógeno y fósforo entre los lagos. Se determinaron 18 géneros de diatomeas en los microbialitos. La Preciosa presentó la mayor riqueza de morfoespecies 23, 15 fueron determinadas a nivel específico. En Atexcac y Alchichica se identificaron 9 y 10 especies respectivamente. En el infrarrojo se encontraron aminas primarias y secundarias, hidroxilos, carbonilos y compuestos de silicio.

La riqueza de diatomeas dependió de las diferencias en salinidad y alcalinidad por carbonatos entre los lagos, encontrando la mayor riqueza en el lago subsalino y menos alcalino La Preciosa, seguido de Alchichica que es el ambiente más hiposalino y alcalino. En los espectros de infrarrojo se reconocieron grupos funcionales relacionados con la precipitación mineral en la matriz extracelular de los microbialitos en los lagos.

## 2. Introducción

La biomineralización es el proceso por el que algunos organismos vivos forman fases minerales. Tal condición puede ser dividida en dos tipos: la primera es definida como “biomineralización controlada” donde la actividad celular conduce directamente a la nucleación, desarrollo y emplazamiento final de un mineral, que cumple con alguna ventaja biológica, formando un esqueleto externo o interno en el caso de animales como moluscos, equinodermos y mamíferos; y talos en especies vegetales como las algas calcáreas. La segunda forma es denominada “biomineralización inducida” en la que se dan productos minerales incidentalmente a través de las interacciones de los organismos y su ambiente (Konhauser y Riding, 2012; Dupraz *et al.*, 2009). Dentro de esta distinción de tipo de precipitación, se encuentra aquella en la que se da una mineralización por actividades metabólicas microbianas, incluyendo la fotosíntesis, ureolisis, nitrificación, amonificación, sulfato-reducción y la oxidación del metano (Zhu y Dittrich, 2016).

Recientemente, Dupraz *et al.* (2009) introdujeron el término “biomineralización influenciada”, para referirse a la mineralización condicionada por una matriz orgánica, producida por organismos vivos, pero donde no requiere necesariamente la presencia de éstos; la composición y morfología del mineral es afectada por las interacciones ambientales y la estructura de la matriz orgánica.

Los minerales productos de una biomineralización poseen características morfológicas distintivas a las que tienen los minerales precipitados no biológicamente. Suele denominarse biosignaturas a aquellos patrones moleculares o estructurales en un mineral y que fueron fabricados por actividades bióticas y no por dinámicas abióticas (Ohmoto *et al.*, 2008), como restos de compuestos bioquímicos como el ADN o ácidos grasos, isótopos o la morfología de microcristales (Preston *et al.*, 2014).

Las bacterias contribuyen de manera importante en la formación de biominerales. Estas pueden crear sus propios sustratos biológicos y geológicos; tal habilidad apareció desde el principio de la historia en el planeta. Asimismo, participan en la formación de fases minerales de carbonatos, silicatos, fosfatos,

sulfatos, sulfuros e incluso metales; y por ello intervienen en los ciclos biogeoquímicos del Carbono, Calcio, Hierro, Magnesio, Manganeso, Fósforo, Azufre y Silicio. La precipitación microbiana se observa en una gran variedad de macro y micro ambientes, desde el mar profundo hasta ambientes terrestres (Konhauser & Riding, 2012).

Es sin duda la precipitación de carbonatos quien ha llamado la atención en particular; puesto que suelen presentarse micro-partículas precipitadas en la columna de agua, fenómeno conocido como evento de emblanquecimiento (whiting event) asociado a organismos fotoautótrofos, que le da una consistencia lechosa a todo el cuerpo de agua (Zhu y Dittrich, 2016); hasta macro-depósitos bentónicos calcáreos precipitados por la interacción de un consorcio complejo de microorganismos embebidos en una matriz orgánica extracelular (tapete microbiano), partículas de sedimento y su ambiente (Gerdes, 2010).

A los depósitos minerales productos de una biomineralización inducida y/o influenciada por las actividades metabólicas de una comunidad microbiana se le denomina microbialito. Basados en sus características macroscópicas pueden clasificarse en tres categorías: estromatolitos, si muestran una acumulación laminada; trombolitos, si tienen una forma de crecimiento irregular y; leiolitos, si se desarrollan sin una forma diferenciada (Dupraz *et al.*, 2009). Sin embargo, a menudo el término estromatolito suele emplearse en las estructuras fósiles preservadas en los estratos de los eones Archeano y Proterozoico; y habitualmente “estromatolitos modernos” a las estructuras vivientes, sin diferenciar la forma de crecimiento (Bosak *et al.*, 2013). En este trabajo se empleará el término “microbialitos modernos” para referirse al objeto de estudio y estromatolitos a la evidencia fósil.

Los estromatolitos aparecieron en el océano desde el Precámbrico, hace 3400 millones de años aproximadamente. Se asocia a los estromatolitos con la evolución de la atmósfera oxidante que se conoce actualmente, la hidrósfera porque fue en ellos donde aparecieron los primeros organismos fotosintéticos (las cianobacterias), quienes realizaron la captura del bióxido de carbono abundante y la liberación del oxígeno gaseoso que moldearon las características de la biósfera. Fue también

dentro de los estromatolitos donde se dieron las interacciones de endosimbiosis que resultaron en la aparición de los eucariontes (López-García *et al.*, 2017). Así el estudio de los microbialitos modernos es la forma más próxima de comprender a los estromatolitos, y por consiguiente, la historia de la tierra (Chagas *et al.*, 2016).

Los microbialitos modernos son estructuras minerales formadas a partir de condiciones bióticas y abióticas. Suelen conocerse como estructuras organó-sedimentarias; porque sus componentes son la comunidad epilítica y el depósito calcáreo (Zeyen *et al.*, 2017). Los factores que determinan la precipitación mineral en ellos son los metabolismos microbianos presentes, la producción y el consumo de la materia orgánica dentro de la matriz extracelular y la físico-química del ambiente a macro y microescala (temperatura, pH y solubilidad) (Dupraz y Visscher, 2005). El tapete microbiano es un sistema heterogéneo en el que se dan gradientes fisicoquímicos de luz, temperatura, salinidad, oxígeno, nutrientes compuestos de azufre y nitrógeno en escalas micrométricas; una amplia diversidad de microorganismos es producto de tal heterogeneidad (Bolhuis *et al.*, 2014; Gerdes, 2010). A pesar de que solo algunos de los tipos de metabolismos están relacionados con la precipitación mineral, el desarrollo de un microbialito es producto de las interacciones entre una comunidad diversa, raramente podría ser producto de una especie individual (Ohmoto *et al.*, 2008).

Los microbialitos modernos pueden encontrarse en diversos tipos de ambientes, tales como aguas termales (hot springs), lagos hipersalinos, lagos alcalinos, ríos y lagos de agua dulce, lagunas costeras hipersalinas, en mar abierto y cuevas subterráneas inundadas (Chagas *et al.*, 2016; Stinnesbeck *et al.*, 2018). Los microbialitos que se desarrollan en lagos suelen ser utilizados para la interpretación de paleoclimas y paleohidrología de áreas continentales, ya que conservan los registros de cambios en los niveles del lago y la humedad relativa.

Los organismos fotoautótrofos están relacionados con la formación de los microbialitos lacustres, principalmente las cianobacterias por su rol en la producción primaria. Sin embargo, la precipitación de sales carbonatadas para el establecimiento de estas estructuras está determinado por los organismos

heterótrofos y las propiedades de la matriz extracelular o biofilm (Chagas *et al.*, 2016). Un biofilm es un grupo de células microbianas que están incrustadas dentro de una matriz de sustancias poliméricas extracelulares o EPS por sus siglas en inglés (Extracellular polymeric substances) producida por ellas mismas y que se compone principalmente de polisacáridos, proteínas, lípidos y ADN (Flemming y Wingender, 2010). Además de dar protección y estabilidad, el biofilm permite que las células realicen actividades extracelulares, como degradaciones enzimáticas de materia orgánica, comunicación química, coordinación de actividades génicas e intercambio de nutrientes, con mayor eficacia que las células de vida libre (Flemming *et al.*, 2016). Sin duda vivir dentro de un biofilm es una estrategia evolutiva que les ha permitido a las bacterias y otros microorganismos adaptarse a las condiciones ambientales y sobrevivir a diversas presiones de extinción.

Los biofilms epilíticos son comunidades muy complejas basadas en interacciones de todo tipo, entre los productores primarios (algas y cianobacteria), bacteria, hongos, protozoarios, insectos, larvas y crustáceos (Bruckner *et al.*, 2011). Los fotoautótrofos: microalgas y cianobacterias, tienen un rol importante en la producción de materiales extracelulares, los cuales crean un microambiente nutritivo (ficósfera), que es la base de la red trófica de los sistemas acuáticos, y son la fuente de carbono orgánico que fácilmente pueden degradar organismos como bacterias, hongos, meiofauna y macrofauna (Underwood *et al.*, 2004; Decho y Gutiérrez, 2017).

Uno de los principales productores primarios en los ambientes lacustres son las diatomeas, éstas inician y promueven la formación de biofilms fototróficos, son responsables del 40% de la producción primaria en los sistemas acuáticos (Molino y Wetherbee, 2008; Shniukova y Zolotareva, 2015) y de un 20-25% global (Kumar *et al.*, 2015); contribuyen en algunos ciclos biogeoquímicos, especialmente en los del carbono y el silicio (Mann, 1999).

Las diatomeas pertenecientes al phylum Heterokontophyta o Stramenopiles son el grupo cosmopolita más diverso de las algas, que pertenecen al supergrupo Chromalveolata (Hug *et al.*, 2016). Se cree que las diatomeas han resultado de una

endosimbiosis secundaria: los cloroplastos de los Heterokontophyta parecen derivar de los de las algas rojas (Rhodophyta) (Shniukova y Zolotareva, 2015).

Las diatomeas tienen hábitos unicelulares y/o coloniales, son muy particulares debido a que su pared celular, llamada frústula; dispuesta en dos partes (valvas) que embonan en forma de contenedor, está compuesta por cuarcita amorfa (95%) o sílice-amorfo hidratado junto con pequeñas cantidades de aluminio, magnesio, hierro y titanio (Kumar *et al.*, 2015; Mann *et al.*, 2017).

Aunque son usualmente considerados como fotoautótrofos, pueden actuar como heterótrofos facultativos (*Nitzschia*) y es común encontrar algunos géneros (*Epithemia* y *Rhopalodia*) con cianobacterias endosimbiontes (Kumar *et al.*, 2015; Nakayama *et al.*, 2011) que redujeron su material genético y perdieron la capacidad de fotosíntesis, para únicamente metabolizar el nitrógeno (Kneip *et al.*, 2007).

Las diatomeas varían en dimensión, pueden presentar dimensiones menores a 10 µm hasta uno o dos mm, aunque solo unas pocas especies tienen más de 200 µm (Townley, 2011). Por ello forman una parte importante en la dieta directa de protozoarios (como ciliados) e invertebrados (como crustáceos, insectos, etc.) (Lowe, 2011). Las diatomeas tienen un ritmo de reproducción asexual muy rápido, de esta manera es como responden a cambios repentinos en el ambiente, las diferencias espacio-temporales en su población son usadas para monitorear los sistemas acuáticos (Lowe, 2011).

Las diatomeas están muy influenciadas por la salinidad del agua, las formas de diatomeas marinas y de agua dulce son diferentes. Coloquialmente están divididas en dos grupos: centrales y penales. Las diatomeas centrales son simétricamente radiales, generalmente planctónicas; y las diatomeas penales son simétricamente bilaterales, adaptadas a estrategias de vida bentónicas, algunas de ellas tienen un sistema de poros en el eje axial (Kumar *et al.*, 2015).

Para su clasificación específica se usa el diseño de los poros observables en la pared celular. Estas permiten a la célula interactuar con el entorno (Cox, 2011; Townley, 2011). En ambos tipos de diatomeas pueden encontrarse áreas con poros

asociados con la adhesión, movimiento y desarrollo de colonias. Perforaciones como los ocelos y pseudo-ocelos en diatomeas centrales y el rafe y otros poros en diatomeas penadas permiten la secreción de mucílago.

El mucílago de las diatomeas es un material complejo y multicomponente. El desarrollo de mucílago está relacionado con los procesos fisiológicos que las diatomeas realizan, por ejemplo: la producción de la pared celular y la estabilización del hábitat. (Bäuerlein, 2003). La síntesis de este se da en el aparato de Golgi, donde después es exportado al citoplasma de la membrana a través de vesículas, para posteriormente ser secretado por el rafe y/u otros poros en la frústula (Shniukova y Zolotareva, 2015).

El rafe, o sistema de rafe, consiste en una o dos fisuras que corren a través de la cara valvar, en el eje axial; y en diatomeas penadas puede haber rafe en ambas valvas (birafidas), en una sola valva (monorafida) y algunas pueden no tener (arafidas) (Underwood y Patterson, 2003).

En algunas especies motiles, el rafe, y los procesos labiados como las fultopórtulas en diatomeas centrales (Imágenes 1 y 2), están relacionados con la locomoción y la secreción de mucilago que les permiten alcanzar la superficie del biofilm, así como una captura de luz eficiente; en algunas se asocia con el acercamiento de células en reproducción sexual (Shnyukova y Zolotareva, 2015; Mann, 2011; Winsborough, 2000). También se ha reportado la migración de las diatomeas al fondo del biofilm, para combatir las mareas y a los depredadores.

Por lo regular los movimientos son curvos o en zig-zag, y dejan caminos de mucilago a su paso (Kumar *et al.*, 2015). En las especies sésiles, el rafe les permite adherirse al sustrato, y se reconocen algunas formas de película adherida, tubos y almohadillas, entre otras (Imagen 3) (Winsborough, 2000).

Una comunidad de diatomeas y la producción de sus EPS pueden estabilizar beneficiosamente los hábitats acuáticos bentónicos mediante la consolidación de sedimentos blandos (Underwood y Paterson 2003). Los EPS que componen el mucilago de las diatomeas son ricos en carbohidratos. La composición de un

biofilm donde las diatomeas predominan están compuestos aproximadamente de 20-25 % de carbohidratos y glucoproteínas (Underwood *et al.*, 2004; Shnyukova y Zolotareva, 2017).

En las diatomeas, y en otro fotoautótrofos, se relaciona la secreción de EPS ricos en carbohidratos con un desarrollo desbalanceado; esto ocurre cuando un nutrimento limita su crecimiento. Por ejemplo, algunos fotótrofos que tienen suficiente CO<sub>2</sub> y luz para realizar la fotosíntesis y crecen bajo la limitación del nitrógeno, utilizan el carbono fijado para elaborar carbohidratos, ya que no hay nitrógeno suficiente para la síntesis de aminoácidos y proteínas (Stal, 2010).

Los fotoautótrofos nutren a las comunidades microbianas mientras que la regeneración de nutrientes se deriva de quimioheterótrofos. Han sido poco estudiadas las interacciones tan específicas que se dan entre el mucilago y las bacterias heterótrofas. Se han encontrado a bacterias de los filo Proteobacteria y Bacteroidetes creciendo en la matriz extracelular de las diatomeas. Además, los heterótrofos también aprovechan el material orgánico y las macromoléculas de reserva que queda disponible tras la muerte de una diatomea (Kozuma y Watanabe, 2015; Bolhuis *et al.*, 2014; Amin *et al.*, 2012; Congestri y Albertano, 2011).

También las diatomeas obtienen ciertos beneficios al hospedar bacterias en su biofilm, ya que estas ofrecen una fuente de nutrientes reciclados y protección contra bacterias enemigas (Amin *et al.*, 2012),

El mucilago de las diatomeas esta propuesto como un sitio ideal para la biomineralización bacteriana; y se han encontrado restos de la matriz orgánica en algunos microbialitos fósiles (Winsborough, 2000). Las diatomeas afectan la formación de microbialitos modernos, ya que producen abundantes cantidades de material extracelular y saturan el microambiente con sílice (Chagas *et al.*, 2016)

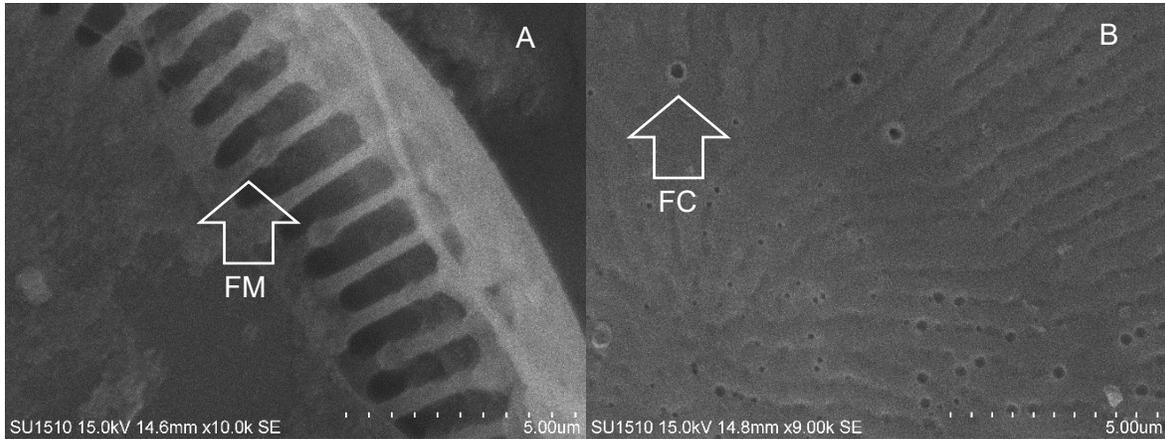


Imagen 1. Fultopórtulas en *Cyclotella*. Poros tubulares en las valvas de algunas diatomeas centrales asociados con la secreción de mucilago; A: Fultopórtula marginal (FM); B: Fultopórtula central (FC). (Fotografías tomadas en el microscopio electrónico de barrido de los organismos de estudio).

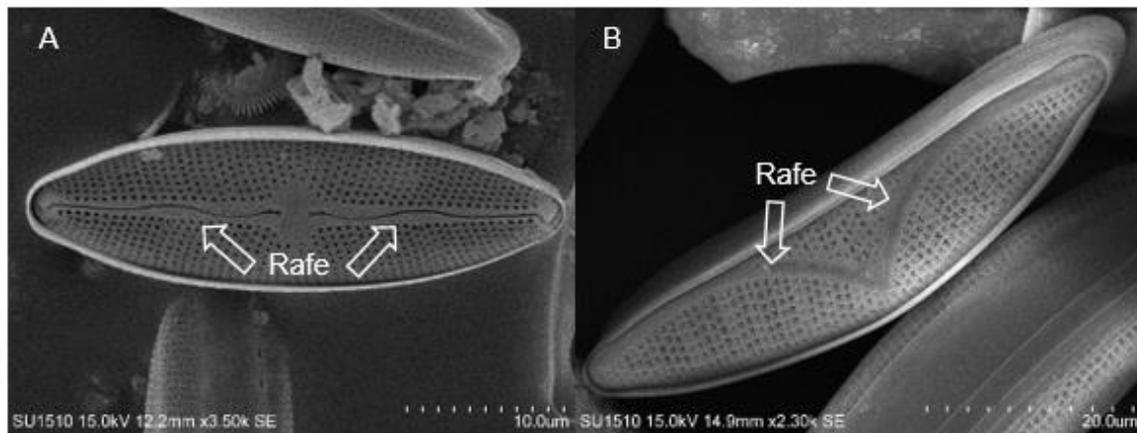


Imagen 2. Rafe. Abertura(s) o fisura(s) colocadas al centro o cerca del margen de la valva; A: Rafe ondulado en *Mastogloia*; B: Rafe excéntrico, colocado a lo largo del margen ventral en *Epithemia* (Fotografías tomadas en el microscopio electrónico de barrido de los organismos de estudio).

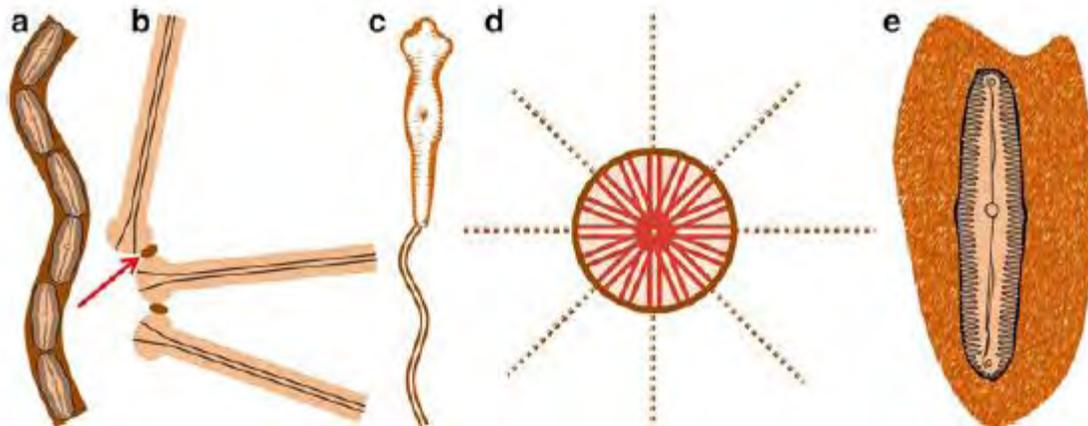


Imagen 3. Mucilago extracelular de diatomeas. a. Tubo en *Navicula*; b. Almohadillas en *Astrionella*; c. Tallos "stalks" en *Gomphonema*; d. Fibrillas en diatomeas centrales; e. Película adherente en diatomeas penadas. Imagen tomada de Kumar *et al.*, 2015.

La composición orgánica de la matriz extracelular de un biofilm con tantas interacciones ecológicas impacta en la precipitación de los carbonatos. Algunos grupos químicos con cargas negativas que componen a los EPS, como los carboxilatos ( $\text{COO}^{1-}$ ), aminos ( $\text{NH}^{1-}$  y  $\text{NH}_2$ ) y fosfatos ( $\text{PO}_4^{3-}$ ), inhiben la precipitación, pues pueden enlazar cationes como el  $\text{Ca}^{2+}$ . La descomposición de los EPS por individuos heterótrofos promueve la precipitación, al liberar los cationes enlazados por los EPS y facilitar la unión de estos a los  $\text{HCO}_3^-$  y  $\text{CO}_3^{2-}$  disueltos en el ambiente (Dittrich y Sibling, 2010; Chagas *et al.*, 2016).

### 3. Antecedentes

Los microbialitos que se desarrollan en los tres lagos ubicados en la cuenca Oriental, Puebla, han sido estudiados de manera irregular, ya que una amplia variedad de estudios se ha enfocado en los microbialitos del lago Alchichica y son escasas las investigaciones que emplean a los microbialitos de los lagos Atexcac y La Preciosa como objeto de estudio. Kaźmierczak *et al.*, (2011); Zeyen *et al.*, (2015) han aportado conocimiento sobre la composición mineral de los microbialitos de Alchichica; Atexcac y La Preciosa respectivamente (Cuadro 1).

La revisión de Chagas *et al* (2016) reúne la información publicada de microbialitos modernos que se desarrollan en 21 lagos en el planeta; este estudio formula ideas sobre los procesos de precipitación que afectan a los microbialitos modernos y enuncia la ausencia de información de los tres lagos.

Chagas *et al.*, (2016) proponen que en los tres lagos, la precipitación es afectada por la alcalinidad (pH: 8.8) que hay en el sistema y la cantidad de EPS secretados por cianobacterias y diatomeas. Especifican que en Atexcac y La Preciosa las diatomeas son responsables de excesivas cantidades de mucilago y de promover la sobresaturación del silicio que conlleva a fases minerales compuestas de éste. Sin embargo, la composición biótica de los microbialitos en estos dos lagos es desconocida.

Cuadro 1. Composición mineral de los microbialitos modernos de los tres lagos de la cuenca Oriental, basados en Chagas *et al.* (2016).

<b>Alchichica</b>	Aragonita ( $\text{CaCO}_3$ )
	Hidromagnesita ( $\text{Mg}_5(\text{CO}_3)_4(\text{OH})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ )
<b>Atexcac</b>	Aragonita ( $\text{CaCO}_3$ )
	Calcita ( $\text{CaCO}_3$ )
	Kerolita ( $(\text{Mg},\text{Ni})_3\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ )
	Hidromagnesita ( $\text{Mg}_5(\text{CO}_3)_4(\text{OH})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ )
<b>La Preciosa</b>	Aragonita ( $\text{CaCO}_3$ )
	Calcita ( $\text{CaCO}_3$ )
	Kerolita ( $(\text{Mg},\text{Ni})_3\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ )

En cuanto a Alchichica, desde la década de los noventa, Tavera y Komarek (1996) realizaron el estudio pionero de la descripción morfológica de los microbialitos modernos, documentando las estructuras esponjosa y columnar; determinando en los microbialitos esponjosos a los géneros de cianobacteria *Calothrix*, *Entophysalis*, *Leptolyngbya*, *Chroococcidium* y *Aphanocapsa* y géneros de diatomeas *Epithemia* y *Mastogloia*, y algunas especies no identificadas.

Kaźmierczak *et al.*, (2011) realizaron el registro petrográfico, hidrogeoquímico y metagenómico de los microbialitos de Alchichica. Al datar las estructuras subfósiles esponjosa y columnar determinaron que estas se desarrollaron en dos generaciones distintas, y que fueron soportadas bajo condiciones ambientales diferentes. Secuenciaron genéticamente los microbialitos modernos y encontraron cianobacterias de los órdenes Chroococcales, Pleurocapsales, Nostocales, Oscillatoriales y Prochlorales; con fotografías de microscopio electrónico retrataron la presencia de diatomeas, sin embargo, no trabajaron en identificarlas.

Couraudeau *et al.* (2011) con estudios de rRNA demostraron que hay un aproximado de hasta 34 filotipos de cianobacterias relacionadas a los microbialitos modernos de Alchichica y reconocen la aparición de secuencias genéticas de

diatomeas sin prestar mucha atención. Saghaï *et al.* (2015) al secuenciar los microbialitos de la zona superficial más salina, reportaron que más del 90% de las secuencias de eucariontes pertenece a diatomeas.

Gérard *et al.*, (2013) reportan que la precipitación de minerales de aragonita e hidromagnesita se da dentro del biofilm y la aparición de la aragonita se ve peculiarmente asociada a las cianobacterias del orden Pleurocapsales. Moreira *et al.* (2017) describieron un género y especie nuevos de cianobacteria (*Gloeomargarita litophora*) asociada con la nucleación intracelular de carbonatos amorfos con calcio, magnesio, boro y estroncio. Además de las cianobacterias, Alcántara-Hernández *et al* (2017) reportaron los filotipos vinculados al ciclo del nitrógeno en Alchichica, donde los más abundantes fueron los relacionados con la desnitrificación.

#### **4. Pregunta Científica de Investigación**

A pesar de que los tres lagos de estudio (La Preciosa, Atexcac y Alchichica) pertenecen a la misma cuenca endorreica y tienen un origen similar (*maar*) difieren en algunas características químicas y biológicas. ¿Serán las divergencias limnológicas en salinidad, alcalinidad y concentración de silicatos; así como las micro-propiedades de los grupos químicos orgánicos constituyentes de la matriz extracelular y composición de especies de diatomeas en el biofilm, las que determinen las características particulares de los microbialitos en los mismos?

#### **5. Justificación**

El estudio de los microbialitos modernos es de importancia para escuelas de investigación científica como la evolución, la exobiología, la biotecnología, la microbiología de ambientes extremos (alta salinidad, pH, temperatura) y en la exploración de nuevos sumideros de carbono. La investigación de estos en conjunto con los estromatolitos fósiles busca la estimación de las composiciones ambientales de la atmosfera primitiva y los metabolismos pretéritos presentes en la vida microbiana.

En los microbialitos modernos lacustres, como los de este estudio, naturalmente se busca aportar información sobre los productores primarios y su papel en la precipitación de carbonatos. Anteriormente, se ha estudiado la diversidad de cianobacterias y su participación en algunas fases minerales en los microbialitos modernos de Alchichica, sin embargo, la composición y el rol ecológico de las diatomeas y su mucílago no ha sido publicada para ninguno de los tres lagos (La Preciosa, Atexcac y Alchichica).

Además, contribuir con el conocimiento de especies de diatomeas en los microbialitos modernos de los tres lagos tiene importancia en la percepción del estado del sistema, ya que suelen ser utilizadas como bioindicadores de estado trófico, concentración y composición salina, entre otras. Este estudio busca resaltar

el papel de las diatomeas en la secreción de mucílago en grandes cantidades y originar un sitio perfecto para la biomineralización influenciada e inducida. Presentar la composición de especies de diatomeas y los grupos químicos funcionales en la matriz extracelular apoyaría a la serie de estudios, anteriormente publicados, sobre las incógnitas de la precipitación dentro de los microbialitos modernos.

Asimismo, el papel de la matriz extracelular en la precipitación de los carbonatos en los microbialitos modernos de los tres lagos no ha sido estudiada; debido, tal vez, a la complejidad en los métodos de extracción y evaluación de la composición química en la matriz extracelular. Sin duda, este trabajo podría orientar a muchos otros trabajos posteriores, y no solo los que tengan un carácter geológico, sino, hasta los que ostenten una visión ecológica.

## **6. Hipótesis**

La estructura y riqueza específica de diatomeas y la composición química de la matriz extracelular de los microbialitos en los tres lagos de estudio variará en función de las diferencias en el total de sólidos disueltos, la alcalinidad y la concentración de nutrimentos esenciales (nitratos, fosfatos y silicatos).

La presencia de grupos funcionales con cargas negativas en la matriz extracelular del biofilm y una elevada alcalinidad lacustre determina la formación diferencial de microbialitos en la línea de costa de los tres lagos.

## **7. Objetivo General**

- Comparar la composición química de la matriz extracelular y las especies de Bacillariophyta presentes de los microbialitos modernos superficiales de los lagos maar alcalinos con diferente grado de salinización (La Preciosa, Atexcac y Alchichica) y sus características limnológicas asociadas.

### **7.1 Objetivos Particulares**

- Extraer y caracterizar los grupos funcionales químicos de los compuestos orgánicos de alto peso molecular (>8 KDa) de la matriz extracelular de los microbialitos modernos superficiales.
- Determinar la composición de especies de diatomeas presentes en los microbialitos modernos superficiales de los sistemas de estudio.
- Evaluar las características físico-químicas del agua superficial en la zona litoral donde se desarrollan los microbialitos modernos .

## 8. Método

### 8.1 Zona de estudio

Los lagos de este estudio (La Preciosa, Atexcac y Alchichica) se encuentran en el llano de San Juan, en la Cuenca Oriental del Eje Neovolcánico Transversal, una franja geográfica, relicto de la alta actividad geológica en el periodo Neógeno producida por la subducción de la placa de Ribera y el norte de la placa de Cocos bajo la placa de Norteamérica (Zeyen *et al.*, 2015).

Estos lagos forman parte de los tradicionalmente conocidos como *axalapascos* (del náhuatl “ollas de arena con agua”) son lagos *maar* que resultaron de explosiones volcánicas con el manto freático, tres en el caso del lago La Preciosa, estos sistemas tuvieron su origen durante el pleistoceno tardío (Armienta, 2008).

Geopolíticamente se encuentran entre los municipios de Guadalupe Victoria y Tepeyehualco en Puebla (INEGI, 2010). Los lagos están localizados a 2330 m s.n.m (La Preciosa), 2340 m s.n.m (Alchichica) y 2360 m s.n.m (Atexcac). El clima de la región es semiseco templado (Cw), con una marcada temporada de lluvias durante los meses de mayo a octubre; con una precipitación anual de 400 a 500 mm año<sup>-1</sup> y donde dominan los procesos de evaporación que ocurren con una tasa aproximada de 1690 mm año<sup>-1</sup> (INEGI, 2010).

De acuerdo con INEGI (2010) la vegetación predominante de la región es principalmente matorral, pastizal natural y bosque (en las cúspides más altas). Sin embargo, la economía de la población depende de la agricultura y la vegetación cercana a los cuerpos de agua ha sido modificada para cultivos de temporal. Suelen usarse fertilizantes ricos en N y los suelos aledaños son fácilmente erosionados hídrica y eólicamente; esto ha promovido cierta eutrofización de los lagos (Ramírez-Olvera *et al.*, 2009). Estos sistemas se encuentran rodeados de suelos tipo *Leptosol* y *Arenosol* en Alchichica, *Arenosol* en La Preciosa y *Phaeozem* en Atexcac (INEGI, 2010). Son lagos endorreicos; el abastecimiento de agua en estos lagos se da

principalmente por la red hidrográfica subterránea de la región, ya que la precipitación anual es muy baja por las condiciones semi-áridas de la zona. La profundidad máxima de cada uno es 39 m para el lago Atexcac (Cárcamo, 2017), 45 m para el lago La Preciosa (Moran, 2016) y 60 m para el lago Alchichica (Filonov *et al.*, 2015).

Los materiales volcánicos que rodean a los lagos caracterizan la dominancia de cationes y aniones. El predominio de iones en Alchichica y Atexcac está dada por  $\text{Na}^+$ - $\text{Mg}^{2+}$  y  $\text{Cl}^-$ - $\text{HCO}_3^-$ , lo contrario para La Preciosa donde la dominancia la dan  $\text{Mg}^{2+}$ - $\text{Na}^+$  y  $\text{HCO}_3^-$ - $\text{Cl}^-$  (Armienta *et al.*, 2008; Mancilla-Villa *et al.*, 2014). Las salinidades de los lagos varían: La Preciosa es considerado subsalino ( $1.1 \text{ g L}^{-1}$ ) (Moran, 2016); en cambio, Atexcac ( $6 \text{ g L}^{-1}$ ) (Rosas, 2018) y Alchichica ( $8.5 \text{ g L}^{-1}$ ) como hiposalinos (Filonov *et al.*, 2015).

Productivamente estos lagos son considerados oligotróficos (Alchichica y Atexcac tienden a la mesotrofia por la concentración de clorofila) (Adame *et al.*, 2008; Cárcamo, 2017), alcalinos, con pH mayores a 8 y con un comportamiento de monomícticos cálidos (Hernández-Avilés *et al.*, 2010; Moran, 2016; Cárcamo, 2017). El periodo de mezcla es entre los meses de diciembre y abril, en donde se dan las máximas concentraciones de nitrógeno disuelto y fósforo soluble en la superficie, ya que en la temporada de estratificación se dan valores muy bajos y limitan y co-limitan el desarrollo de fitoplancton (Hernández-Avilés *et al.*, 2001, Ramírez-Olvera *et al.*, 2009; Macek *et al.*, 2009). En Atexcac y Alchichica, por efecto de una salinidad óptima, se presenta un florecimiento de *Nodularia cf. spumigena* (Fig. 4, 5) durante el periodo de estratificación, en el que se fija la mayor concentración anual de nitrógeno atmosférico por parte de esta especie (Ramírez-Olvera *et al.*, 2009; Cárcamo, 2017) y condiciona la fijación del N en los microbialitos (Falcón, 2002).



Imagen 4. Florecimiento de la cianobacteria *Nodularia* cf. *spumigena* en el lago Atexcac. Fotos tomadas en marzo 2017.



Imagen 5. Florecimiento de la cianobacteria *Nodularia* cf. *spumigena* en el lago Alchichica. Fotos tomadas en abril 2017.

Se reporta el desarrollo de macrofitas acuáticas en los tres lagos: como sumergidas *Ruppia marítima* en Alchichica y *Potamogeton pectinatus* en La Preciosa; como emergentes *Cyperus laeviagatus* en Alchichica; *C. laeviagatus* y *Phragmites australis* en Atexcac; *Juncus andicola* y *Scirpus californicus* en La Preciosa (Alcocer *et al.*, 2002).

En los tres sistemas acuáticos se reporta el desarrollo de microbialitos modernos (Chacón *et al.*, 2015; Zeyen *et al.*, 2015): además, en La Preciosa y Atexcac se registra el evento de emblanquecimiento (whiting) (Moran, 2016; Vizuet, 2015), otro tipo de precipitación de carbonatos que tiñe la superficie del lago de un color blanco lechoso, asociado con las picocianobacterias (Zhu y Dittrich, 2016). En Alchichica el emblanquecimiento no ocurre; a diferencia de los otros dos lagos, en Alchichica toda la línea de costa se encuentra peculiarmente habitada por isletas de depósitos calcáreos su-bfósiles, expuestos debido a la pérdida de profundidad del lago en los últimos años: Las formas vivas de tipo esponjoso son las más abundantes y pueden encontrarse hasta los 15 m de profundidad (Kaźmierczak *et al.*, 2011). En Atexcac donde la pendiente limnética es claramente la más pronunciada, los microbialitos logran desarrollarse en la pared del cráter, y no en la zona litoral. Sin embargo, en la Preciosa, aunque a simple vista tenga un amplio desarrollo de la zona litoral, los microbialitos no crecen uniformemente y se distinguen parches de crecimiento (Imagen 6).



Imagen 6. Los microbialitos modernos de los tres lagos volcánicos. A) y B) microbialitos esponjosos de Alchichica; C) microbialitos creciendo en la pared del cráter en el lago Atexcac, la pérdida de profundidad permite observar las estructuras subfósiles. D) microbialitos creciendo en el litoral de La Preciosa. E) Estructura observada en Atexcac, que aparentan ser raíces o tronco cubierto de carbonatos y un biofilm café.

## 8.2 Trabajo de campo

De acuerdo con los objetivos propuestos, se realizaron seis muestreos sin una periodicidad específica por lago en la zona litoral, que abarcaron meses de mezcla y estratificación térmica entre septiembre-2016 y julio-2017 (Cuadro 2). Para tal fin se seleccionaron tres sitios de muestreo por cada lago con desarrollo evidente de microbialitos los cuales fueron georreferenciados (Anexo 1), colectando segmentos de los mismos que se encontraban sumergidos a más de 30 cm bajo la superficie. En Atexcac donde los microbialitos se desarrollan en las paredes sumergidas del cráter, el muestreo se realizó con ayuda de una lancha; mientras en La Preciosa y en Alchichica, que se establecen en la zona litoral propiamente dicha, las muestras se colectaron caminando o nadando por la línea de costa. Se recolectaron una o un par de muestras simples de los microbialitos dependiendo de su tamaño, que fue aproximadamente de 10 cm x 15 cm, con ayuda de un martillo y un cincel y se guardaron en bolsas herméticas con agua del lago cubriéndolos por completo y depositándolos en una hielera hasta su arribo al laboratorio donde se pusieron en refrigeración.

Con una botella blanca de plástico de 1 L se tomó de forma directa una muestra de agua superficial del entorno más cercano al microbialito muestreado para posteriores análisis químicos. Las muestras de agua fueron almacenadas a bajas temperaturas cercanas a 4°C, algunos parámetros físico-químicos fueron analizados en campo y otros en laboratorio antes de que la colecta cumpliera una semana.

### 8.2.1 Parámetros físico-químicos.

Se estimó *in situ* el pH utilizando un potenciómetro digital. Usando un multiparámetro marca Corning fueron estimados el TSD y la conductividad eléctrica. La alcalinidad fue estimada con métodos de titulación con ácidos (APHA, AWWA y WPCF, 1992).

Cuadro 2. Cronograma de actividades durante el periodo de muestreo y referencias geográficas donde se muestrearon los microbialitos. Las actividades realizadas para cada lago se esquematizan de la siguiente manera: (FQ) Análisis físico-químicos; (MM) muestreo de microbialitos.

LAGO	Fecha	Septiembre-16	Octubre-16	Noviembre-16	Enero-17	Marzo-17	Abril-17	Mayo-17	Junio-17	Julio-17
	Georreferencia									
La Preciosa	19°22'19.4''N 99°2'4.9''O			FQ	FQ	FQ	FQ	FQ	FQ	FQ
				MM	MM	MM		MM	MM	MM
Atexcac	19°20'5.3'' N 97°27'12'' O	FQ	FQ	FQ	FQ	FQ	FQ		FQ	FQ
			MM	MM	MM	MM			MM	MM
Alchichica	19°24'42.4''N 97°23'41.3''O	FQ	FQ	FQ	FQ	FQ	FQ	FQ	FQ	FQ
				MM	MM	MM		MM	MM	MM



Imagen 7. Microbialitos colectados de la zona superficial de los lagos volcánicos.

### 8.3 Trabajo de laboratorio.

#### 8.3.1 Nutrientes

Los nutrientes como nitritos, nitratos, amonio, fósforo reactivo soluble, fósforo total, sulfatos y silicatos fueron evaluados con los métodos espectrofotométricos normalizados (APHA, AWWA y WPCF, 1992) (Cuadro 3).

Cuadro 3. Técnicas utilizadas para la estimación de la concentración de nutrientes en la zona litoral de los tres lagos.

<i>Nutriente</i>	<i>Técnica</i>	<i>Absorbancia</i>
<i>Nitratos (NO<sub>3</sub>)</i>	Método del Ácido fenoldisulfónico	410 nm
<i>Nitritos (NO<sub>2</sub>)</i>	Método de ácido sulfanílico.	543 nm
<i>Amonio (NH<sub>4</sub>)</i>	Método de azul de indofenol.	630 nm
<i>Ortofosfatos (fósforo soluble reactivo) (PO<sub>4</sub>)</i>	Método del cloruro estano.	690 nm
<i>Fósforo total</i>	Método de digestión fosfomolibdato.	690 nm
<i>Silicatos</i>	Método de molibdosilicatos	410 nm

#### 8.3.2 Limpieza e identificación de diatomeas

De los microbialitos recolectados en cada lago, se procesaron tres muestras con repetición de cada una de ellas, de las cuales se cepillaron fragmentos de estos, el producto obtenido fue fijado en una solución al 4% de formol. La muestra diluida se dejó sedimentar durante 24 h, para concentrarla, el sobrenadante fue retirado para que el procedimiento de limpieza fuese más eficiente.

Para eliminar la materia orgánica se le agregó a la muestra agua oxigenada (1:10), La reacción se dejó actuar durante 24 horas, y fueron lavados con agua destilada y 6 centrifugaciones, después de cada centrifugación se descartó el sobrenadante y se enjuagó el residuo del fondo con agua destilada.

Después de su limpieza se pasaron a tubos de reacción y se les añadió  $\text{H}_2\text{SO}_4$  hasta tres veces su volumen, con la finalidad de eliminar carbonatos. Se elevó su temperatura hasta  $80^\circ\text{C}$  por 4 horas y nuevamente fueron lavados con agua destilada y 6 centrifugaciones. Las muestras fueron revisadas al microscopio, las que continuaban sucias se trataron con  $\text{HNO}_3$ , de la misma manera que el  $\text{H}_2\text{SO}_4$  de acuerdo con el método de Müller-Melchers y Ferrando (1956).

Cuando se alcanzó su grado óptimo de limpieza, se les añadió tetraóxido de osmio, os veces el volumen de las diatomeas. Durante 30 minutos se les dejó hacer interacción y fueron lavadas de la misma manera.

### **8.3.3 Observación de diatomeas.**

Para la observación de las diatomeas en el microscopio óptico, se goteo 40  $\mu\text{L}$  de muestra de diatomeas sobre portaobjetos y se les añadió una gota de alcohol al 70% con el fin de esparcir de manera adecuada las células. Se montaron permanente con la resina *Entellan* con índice de refracción 68%. Los montajes fueron observados y fotografiados en un microscopio *Leica* con luz Normaski, con el objetivo 100x en el Laboratorio de Botánica Estructural del Instituto de Biología de la UNAM (IBUNAM)

Y para su observación en el microscopio electrónico, se colocaron muestras de diatomeas sobre pedestales de aluminio y para montarlos se utilizaron stickers circulares de fibra de carbono, cinta doble cara de cobre y barniz de uñas transparente. Los pedestales con el montaje fueron cubiertos con oro y se observaron en un microscopio electrónico marca *SUI510*; en el Laboratorio de Fotografía de la Biodiversidad del IBUNAM.

### **8.3.4 Extracción y caracterización de los grupos funcionales en la matriz extracelular de los microbialitos**

Para el análisis de la matriz extracelular fue utilizada una muestra de microbialito de cada lago colectadas durante el mes de julio, correspondiente al periodo de estratificación bien establecida.

La matriz extracelular fue extraída mediante el método de centrifugación (Felz *et al.*, 2016). El biofilm de los microbialitos, fue raspado y colectado cuidadosamente con ayuda de pequeñas espátulas, se utilizaron 9 g de biofilm y se transfirieron a un vaso de precipitados de 100 mL al que se le añadió 50 mL de agua miliQ. Para homogenizar la disolución, el vaso fue agitado suavemente con la mano, y se conservaron durante 1 hora bajo 4°C. Se transfirieron las muestras a tubos de centrifugación con capacidad de 50 mL y se centrifugaron a 4000 rpm durante 20 minutos.

El sobrenadante fue colectado y transferido a una membrana de diálisis de 6-8 KDa marca *SpectrumLabs*, modelo *Dry Spectra/Por* durante 24 horas, dentro de un vaso de precipitados de 1L con agua miliQ con cambios de agua limpia cada 12 horas. El producto de la diálisis se dejó secar en una caja Petri dentro de una incubadora a temperatura ambiente durante 48 horas.

Para su lectura, a la muestra se le añadió cloroformo y antes de que este se evaporase por completo se aplicó en forma de película sobre una ventana de bromuro de potasio (Imagen 8), este fue analizado mediante un espectrofotómetro de FTIR en el laboratorio de espectroscopía de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM. El espectro fue analizado entre las regiones 4000 a 450  $\text{cm}^{-1}$ .

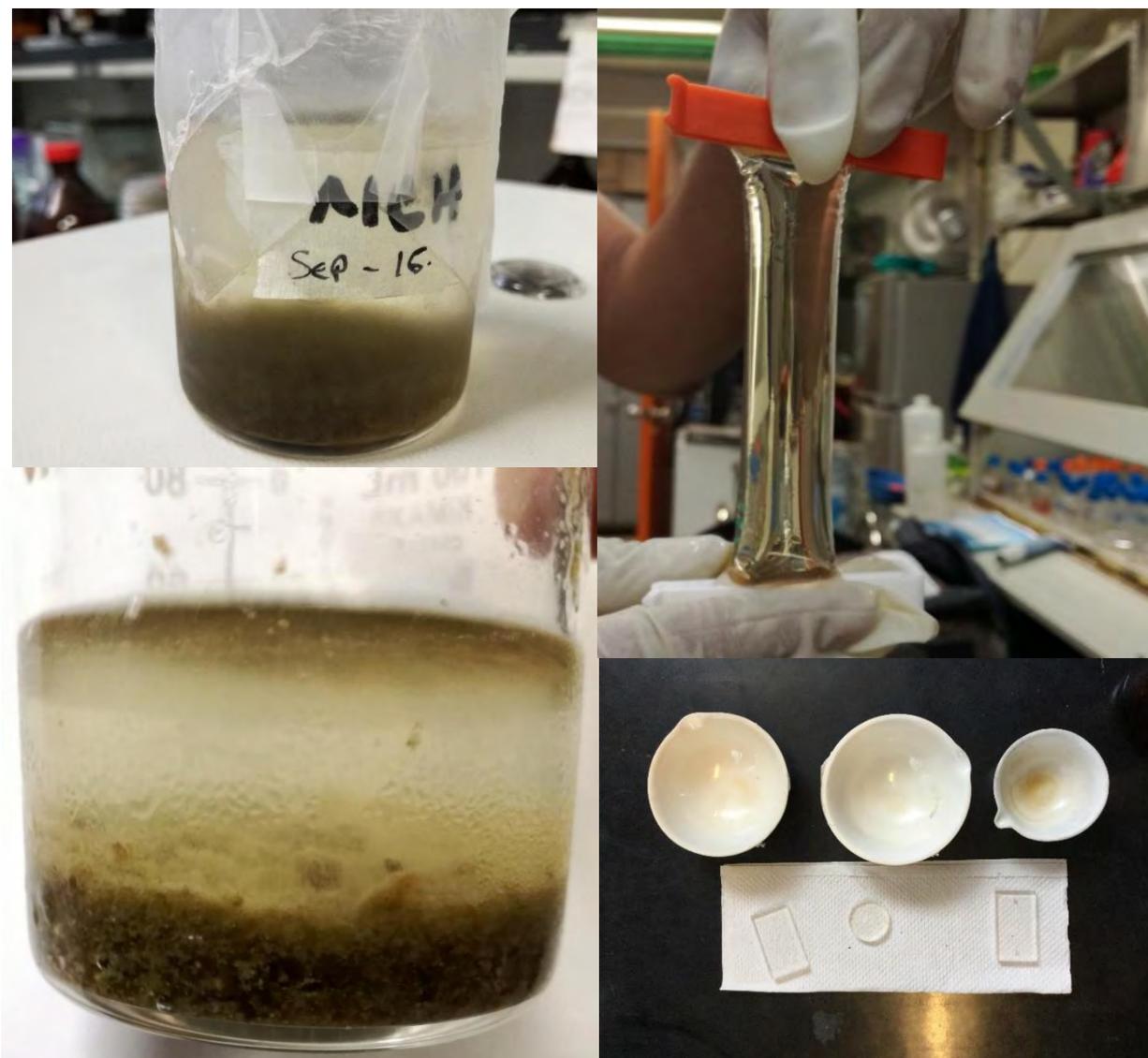


Imagen 8. Extracción de la matriz extracelular de los microbialitos. A y B. Imágenes del biofilm antes de ser centrifugado. C. Membrana de diálisis utilizada para concentrar los compuestos mayores a 8 KDa. D. Ventanas de bromuro de potasio empleadas para leer el resultado de la extracción en el espectrofotometro FTIR.

## 8.4 Trabajo de gabinete

### 8.4.1 Determinación taxonómica de diatomeas

Las fotografías tomadas con ambos microscopios fueron medidas para su identificación taxonómica con el software AxionVision de Zeiss. Para identificar el género de diatomeas se utilizaron claves generales de Wehr *et al.* (2015) y para su determinación específica se usaron publicaciones y monografías de género (Cuadro 4). Las fotografías, con los datos de coleta, medidas e información fueron depositadas en la Colección de Algas del Herbario Nacional MEXU (Anexo 2).

**Cuadro 4. Bibliografía de géneros de diatomeas empleada en la determinación taxonómica a nivel específico.**

Género	Literatura utilizada	Género	Literatura utilizada
<i>Cyclotella</i>	Oliva <i>et al.</i> , 2006 Prasad y Nienow, 2006 Oliva <i>et al.</i> , 2008 Novelo, 2012 Lowe y Kheiri, 2015	<i>Pseudostaurosira</i>	Morales, 2010
<i>Denticula</i>	Hamser <i>et al.</i> , 2014	<i>Mastogloia</i>	Pavlov <i>et al.</i> , 2016 Lee <i>et al.</i> , 2014
<i>Diploneis</i>	Slate y Stevenson, 2007	<i>Navicula</i>	Bahls, 2011
<i>Cocconeis</i>	Romero y Jahn, 2013	<i>Navicymbula</i>	Spaulding y Edlund, 2008. Krammer, 2002
<i>Cymbella</i>	Jüttner <i>et al.</i> , 2010 Krammer, 2002	<i>Rhopalodia</i>	Kocielek, 2011 You <i>et al.</i> , 2009
<i>Epithemia</i>	Vishnyakov, 2014 You <i>et al.</i> , 2009		

#### **8.4.2 Espectrofotometría de infrarrojo (IR)**

Se determinaron los enlaces característicos de los grupos funcionales con las señales más características producidas a lo largo del espectro, en los tres casos; para ello se usaron las tablas de correlación para la interpretación de espectros IR y publicaciones especializadas (Mlewski *et al.*, 2018; Preston *et al.*, 2014; Dittrich y Sibler, 2010; y Braissant *et al.*, 2007).

#### **8.4.3 Análisis estadístico**

Para el análisis estadístico de los parámetros físico-químicos, los datos fueron comparados mediante un análisis de varianza simple no paramétrico de Kruskal-Wallis; ya que los datos obtenidos no se distribuyeron normalmente, a través del software “*Statgraphics Centurion XVI.I*” para cada uno de los parámetros analizados con el fin de determinar las diferencias significativas entre los valores de parámetros químicos en la zona circundante a los microbialitos.

## 9. Resultados

### 9.1 Parámetros físico-químicos.

De acuerdo con los valores de pH obtenidos de la zona litoral de los tres lagos, se clasifican como básicos alcalinos. En el lago La Preciosa, se obtuvo un pH promedio de  $8.9 \pm 0.2$ ; en Atexcac se encontró un pH de  $8.8 \pm 0.1$  y Alchichica presentó valores más altos,  $9.2 \pm 0.2$  (Cuadro 5). Con la prueba de Kruskal-Wallis se comprobó que existían diferencias significativas con  $K= 11.91$  ( $p<0.05$ ) entre los pH de Atexcac y Alchichica; La Preciosa no presentó diferencias significativas con los otros dos lagos ( $p>0.05$ ) (Figura 1).

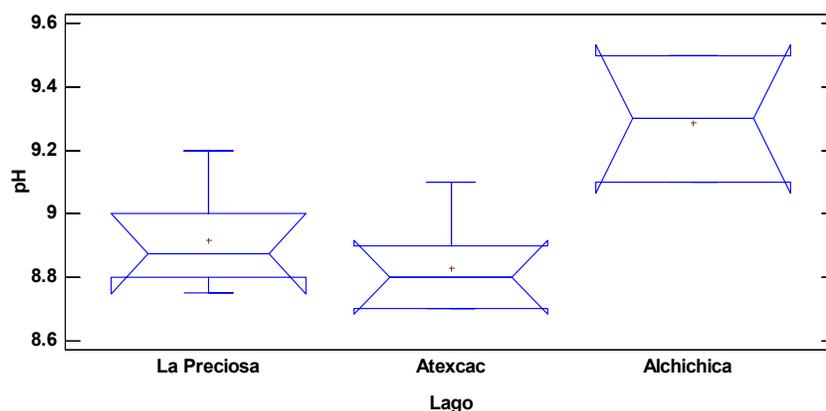


Figura 1. Análisis de cajas múltiples con muesca para los valores de **pH** obtenidos de la zona litoral de los tres lagos.

La alcalinidad total expresada en  $\text{mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$  se manifiesta con concentraciones promedio más elevadas en Alchichica de  $1805 \pm 694 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ ; en Atexcac y La Preciosa se presentaron de  $1349 \pm 540$  y  $1011 \pm 859 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$  respectivamente. Con el gráfico de caja y bigote (Figura 2) las concentraciones más altas de Atexcac y Alchichica se presentan como casos extremos, y con una  $K= 4.37$  se probó que no existieron diferencias significativas ( $p>0.05$ ) entre la alcalinidad total de los tres lagos.

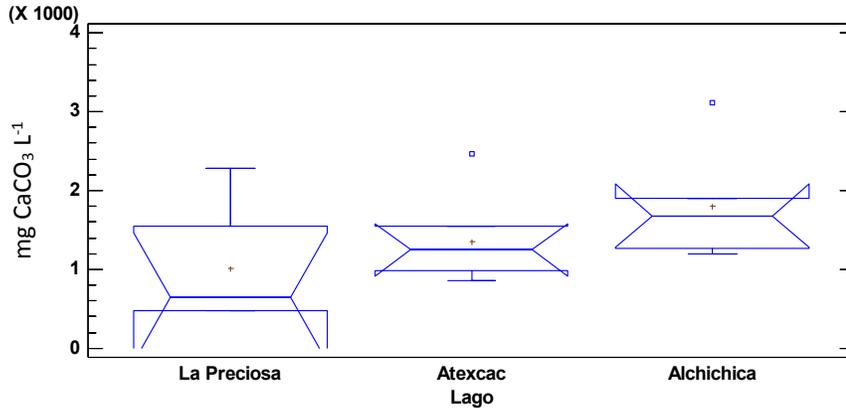


Figura 2. Análisis de cajas múltiples con muesca para la **alcalinidad total** obtenida de la zona litoral de los tres lagos.

La alcalinidad, en los tres lagos, estuvo dada principalmente por  $\text{HCO}_3^-$ . Aunque en La Preciosa la concentración de alcalinidad por bicarbonatos fue la más variable  $968 \pm 670 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ ; la concentración de carbonatos ( $289 \pm 220 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ ) no fue tan alta respecto a los bicarbonatos. En Atexcac se determinaron concentraciones de  $915 \pm 391 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$  de bicarbonatos y de  $513 \pm 149 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$  de carbonatos. En Alchichica se presentaron concentraciones más altas de bicarbonatos y carbonatos, éstos fueron  $1045 \pm 611$  y  $671 \pm 219 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$  respectivamente. La concentración de bicarbonatos en los tres lagos no presentó diferencias significativas  $K=0.013$  comportamiento mostrado con el análisis de cajas múltiples con muesca ( $p>0.05$ ) (Figura 3). La concentración de carbonatos en los tres lagos presento diferencias significativas entre sí con  $K= 6.39$  y ( $p<0.05$ ) (Figura 4)

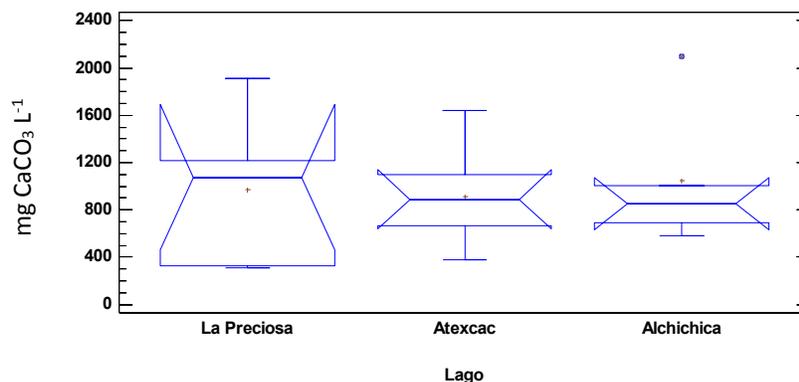


Figura 3. Análisis de cajas múltiples con muesca para las concentraciones de **alcalinidad por bicarbonatos** obtenidos de la zona litoral de los tres lagos.

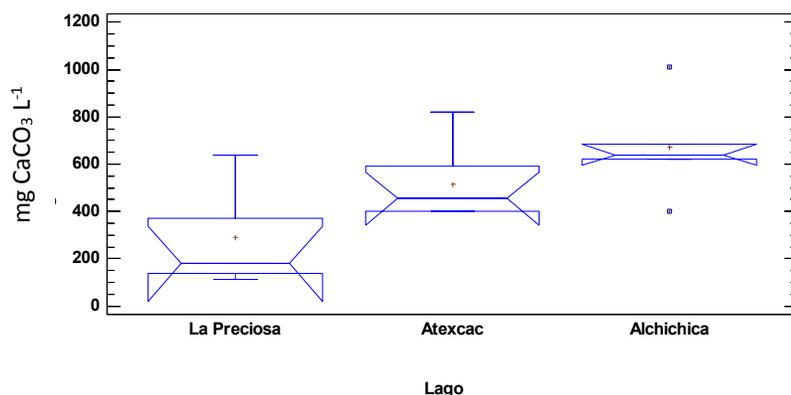


Figura 4. Análisis de cajas múltiples con muesca para las concentraciones de **alcalinidad por carbonatos** obtenidos de la zona litoral de los tres lagos.

Cuadro 5. Valores promedio de pH y concentraciones promedio de alcalinidad total, alcalinidad por carbonatos y por bicarbonatos, entre paréntesis se muestran los valores mínimos y máximos registrados)

	pH	Alcalinidad Total mgCaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup>	mgCaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup>	
			CO <sub>3</sub> <sup>=</sup>	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
La Preciosa	8.9(8.7-9.2)	1011(470-2280)	289(115-640)	968(310-1910)
Atexcac	8.8(8.7-9.1)	1349(540-2460)	513(350-820)	915(380-1640)
Alchichica	9.2(9.1-9.5)	1805(1200-3110)	671(400-1010)	1045(580-2100)

La conductividad eléctrica y el total de sólidos disueltos (TSD) presentaron los valores mas bajos en La Preciosa, donde la conductividad se registró de  $2.29 \pm 0.13$  mS cm<sup>-1</sup>, y el TSD  $1.13 \pm 0.05$  g L<sup>-1</sup>. En Atexcac y Alchichica se determinaron los valores más altos, particulares de sistemas salinos; en Atexcac se encontró  $11.76 \pm 0.81$  mS cm<sup>-1</sup> de conductividad y  $6.08 \pm 0.34$  g L<sup>-1</sup> TSD; por su parte. Alchichica tuvo las concentraciones más altas en estos parámetros;  $12.93 \pm 0.19$  mSL<sup>-1</sup> de conductividad y  $7.04 \pm 0.96$  g L<sup>-1</sup> TSD (Cuadro 6).

Cuadro 6. Concentración promedio de TSD y valores promedio de conductividad de los lagos, entre paréntesis se muestran los valores mínimos y máximos registrados.

	TSD (g L <sup>-1</sup> )	Conductividad (mS cm <sup>-1</sup> )
La Preciosa	1.13 (1.1-1.24)	2.29 (2.16-2.45)
Atexcac	6.08 (5.33-6.34)	11.76 (10.62-12.59)
Alchichica	7.04 (6.43-8.5)	12.93 (12.59-13.1)

Con la prueba de K= 16.37 y K=16.77 y la muesca de medianas en la gráfica de caja y bigote se determinó que existen diferencias estadísticamente significativas entre la conductividad y el TSD de La Preciosa y de los otros dos lagos ( $p < 0.05$ ); y que no hay diferencias estadísticamente significativas entre la conductividad y el TSD de Atexcac y los de Alchichica ( $p < 0.05$ ) (Figuras 5 y 6).

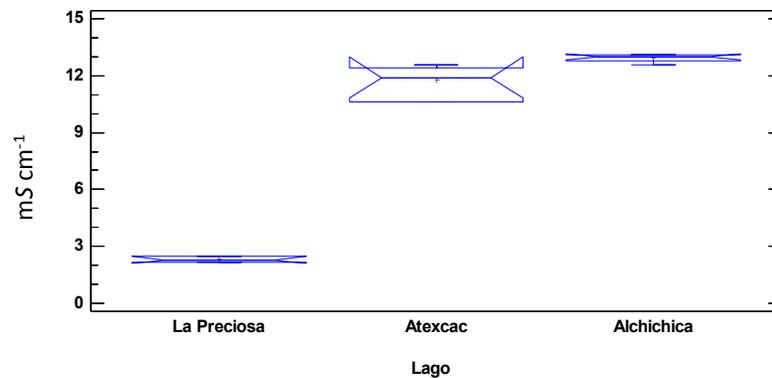


Figura 5. Análisis de cajas múltiples con muesca para los valores de **conductividad** obtenidos de la zona litoral de los tres lagos.

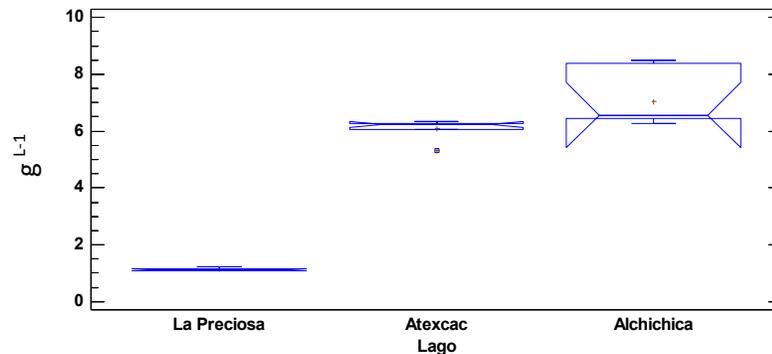


Figura 6. Análisis de cajas múltiples con muesca para las concentraciones de **total de sólidos disueltos (TSD)** de la zona litoral de los tres lagos.

## 9.2 Nutrientes

La media de la concentración de fósforo total estimada fue menor a  $0.5 \text{ mg L}^{-1}$ . El fósforo total, que es la suma total de los compuestos de fósforo, en forma orgánica e inorgánica, con  $K = 0.49$  se determinó que no existen diferencias estadísticamente significativas en los tres lagos ( $p > 0.05$ ). En La Preciosa se determinó una concentración de  $0.07 \pm 0.06 \text{ mg L}^{-1}$ , en Atexcac se encontró de  $0.11 \pm 0.10 \text{ mg L}^{-1}$  y en Alchichica de  $0.25 \pm 0.54 \text{ mg L}^{-1}$ .

La media de las concentraciones de fósforo reactivo soluble (ortofosfatos) no fueron mayores a  $0.05 \text{ mg L}^{-1}$ , en La Preciosa fue de  $0.025 \pm 0.022 \text{ mg L}^{-1}$ , en Atexcac de  $0.021 \pm 0.014 \text{ mg L}^{-1}$  y  $0.021 \pm 0.027 \text{ mg L}^{-1}$  en Alchichica; este, al igual que el fósforo total, con  $K = 0.32$  no se presentaron diferencias significativas.

Las concentraciones de nitrógeno inorgánico fueron estimadas como nitratos ( $\text{NO}_3$ ), nitritos ( $\text{NO}_2$ ) y amonio ( $\text{NH}_4$ ). Los nitritos en particular tuvieron la concentración más baja registrada en Atexcac con  $0.01 \pm 0.011 \text{ mg L}^{-1}$ , seguido por La Preciosa con  $0.0130 \pm 0.011 \text{ mg L}^{-1}$ , y Alchichica con  $0.014 \pm 0.02 \text{ mg L}^{-1}$  y con  $K = 0.24$  se determinó que no existen diferencias significativas ( $p > 0.05$ ). En cuanto a los nitratos, Atexcac presentó nuevamente la concentración más baja de  $0.042 \pm 0.401 \text{ mg L}^{-1}$  seguido por Alchichica de  $0.054 \pm 0.076 \text{ mg L}^{-1}$  y La Preciosa de  $0.056 \pm 0.076 \text{ mg L}^{-1}$ ; con  $K = 0.11$  no presentaron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ).

Por último, al evaluar el amonio se obtuvo la concentración más baja en La Preciosa con  $0.169 \pm 0.159 \text{ mg L}^{-1}$ , seguido por Atexcac con  $0.184 \pm 0.325 \text{ mg L}^{-1}$  y Alchichica  $0.20 \pm 0.325 \text{ mg L}^{-1}$  con un valor de  $K = 1.79$  se encontró que no hay diferencias significativas entre los tres lagos ( $p < 0.05$ ). El amonio obtuvo niveles más altos de concentración en los tres lagos, con respecto a los de nitratos y nitritos.

Los silicatos en La Preciosa y Atexcac presentaron concentraciones altas  $22.5 \pm 7.7 \text{ mg L}^{-1}$  y  $39.8 \pm 37.6 \text{ mg L}^{-1}$  respectivamente en contraste con Alchichica en donde se determinó una concentración baja de  $12.0 \pm 6.8 \text{ mg L}^{-1}$  comparada con la de los otros dos sistemas acuáticos. De acuerdo con la prueba de Kruskal-Wallis

K= 9.44 se determinó que existían diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) entre la concentración de silicatos en Alchichica y la concentración de silicatos de los otros dos lagos; La Preciosa y Atexcac no presentaron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) (Figura 7).

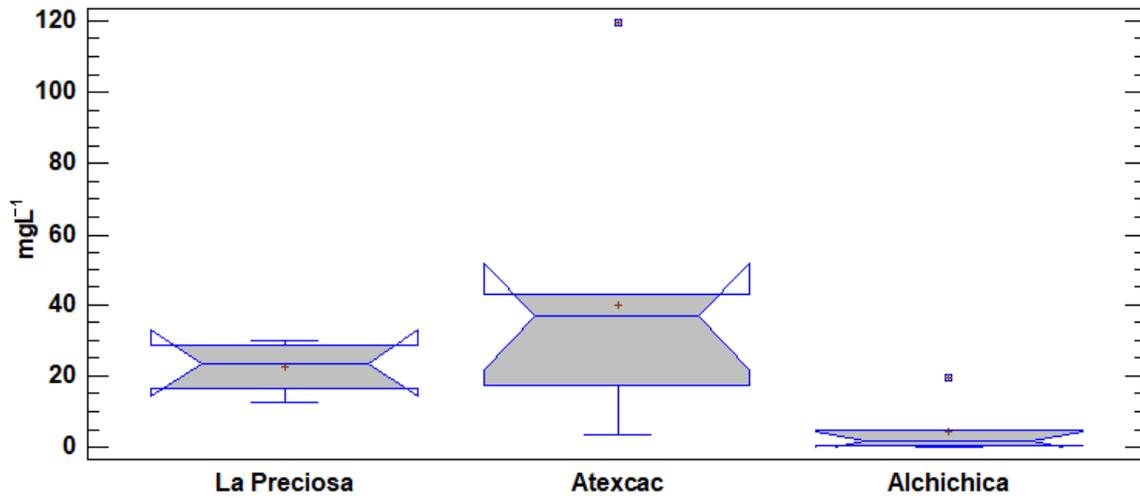


Figura 7. Análisis de cajas múltiples con muesca para las concentraciones de **silicatos** obtenidos de la zona litoral de los tres lagos.

### 9.3 Especies de diatomeas

Se identificaron un total de 18 géneros de diatomeas; 15 en La Preciosa, 12 en Atexcac y 12 en Alchichica (Cuadro 7). La Preciosa presentó a *Surirella* y *Nitzschia* como géneros exclusivos y Alchichica a *Campylodiscus* y *Amphora*. *Cocconeis*, *Cyclotella*, *Diploneis*, *Epithemia* y *Mastogloia* de cada uno de estos géneros se registró al menos una especie en cada lago.

En microbialitos se fotografiaron de todos los géneros un total de 23 especies en La Preciosa, 13 en Atexcac y 18 en Alchichica. De las especies fotografiadas en cada lago, para La Preciosa se identificaron 15, en Atexcac 9 y en Alchichica 10.

Las diatomeas centrales de los microbialitos se encuentran representadas únicamente por especies del género *Cyclotella*; *C. meneghiniana* en La Preciosa, *C. choctawhatcheeana* en Atexcac y *C. alchichicana* y *C. choctawhatcheeana* en Alchichica. Mientras que el resto de las especies determinadas pertenecen a las diatomeas penadas. La mayoría de las diatomeas identificadas poseen rafe en ambas valvas. Como especie monoráfida se identificó a *Cocconeis placentula* var. *ilineata* en La Preciosa y *Cocconeis* sp. observado una vez en Atexcac y Alchichica. Como géneros aráfidos se identificaron a *Fragilaria* en Atexcac y *Pseudostaurosira* en los tres lagos, aunque este último fue muy abundante en La Preciosa.

**Cuadro 7. Lista sistemática de las especies de diatomeas registradas en los microbialitos de los lagos La Preciosa, Atexcac y Alchichica. LAPR: La Preciosa; ATX: Atexcac; ALCH: Alchichica. Taxonomía basada en el trabajo de Ruggiero *et al.*, 2015 y Guiry y Guiry, 2018**

Dominio: Eukarya

Reino: Chromista

Superfilo: Heterokonta o Stramenopiles

Filo: Ochrophyta o Stramenochromes

Subfilo: Diatomista

Superclase: Khakista

Clase: Bacillariophyceae o Diatomae

Subclase: Bacillariophycidae

Orden: Achnantales

Familia: Cocconeidaceae

Género: *Cocconeis*

*Cocconeis* cf. *placentula* var. *lilineata* (Ehrenberg) Van Heurck 1885 (LAPR)

*Cocconeis* sp1; (ATX, ALCH)

Orden: Bacillariales

Familia: Bacillariaceae

Género: *Denticula*

*Denticula valida* (Pedicino) Grunow 1885; (LAPR, ATX)

*Denticula* sp1; (ALCH)

Género: *Nitzschia*

*Nitzschia* sp1 (LAPR)

*Nitzschia* sp2 (LAPR)

Orden: Cymbellales

Familia: Cymbellaceae

Género: *Cymbella*

*Cymbella* cf. *hantzschiana* Krammer 2002; (LAPR)

*Cymbella* sp1; (LAPR)

*Cymbella* sp2; (LAPR)

*Cymbella* sp3; (ATX)

Género: *Navicymbulla*

*Navicymbulla pusilla* (Grunow) Krammer 2002; (LAPR, ATX, ALCH)

Familia: Gomphonemataceae

Género: *Gomphonema*

*Gomphonema* sp1; (LAPR, ALCH)

Orden: Mastogloiales

Familia: Mastogloiaceae

Género: *Mastogloia*

*Mastogloia calcarea* S.S.Lee, E.E.Gaiser, B.Van de Vijver, M.B.Edlund & Spaulding 2014; (LAPR, ATX)

*Mastogloia elliptica* (C. Agardh) Cleve 1893; (ATX, ALCH)

*Mastogloia pseudosmithii* S.S.Lee, E.E.Gaiser, B.Van de Vijver, M.B.Edlund & Spaulding 2014; (LAPR)

*Mastogloia smithii* var. *lacustris* Grunow 1878; (ALCH)

Orden; Naviculales

Familia: Diploneidaceae

Género: *Diploneis*

*Diploneis oblongella* (Naegeli) Cleve-Euler (LAPR)

*Diploneis* sp1; (ATX, ALCH)

Familia: Naviculaceae

Género: *Navicula*

*Navicula* cf. *oblonga* (Kützinger) Kützinger 1844; **(LAPR)**

*Navicula* sp.; **(ATX)**

Familia: Pinnulariaceae

Género: *Pinnularia*

*Pinnularia brebissonii* (Kützinger) Rabenhorst 1864; **(LAPR, ALCH)**

*Pinnularia* sp. 1; **(LAPR)**

Orden: Rhopalodiales

Familia: Epithemiaceae

Género: *Epithemia*

*Epithemia adnata* (Kützinger) Brébisson 1838; **(LAPR)**

*Epithemia turgida* (Ehrenberg) Kützinger 1844; **(LAPR, ATX, ALCH)**

*Epithemia sorex* Kützinger 1844; **(LAPR, ATX, ALCH)**

Familia: Rhopalodiaceae

Género: *Rhopalodia*

*Rhopalodia gibba* (Ehrenberg) O. Müller 1895; **(LAPR)**

*Rhopalodia gibberula* (Ehrenb) O.Müller. 1895; **(LAPR)**

*Rhopalodia musculus* (Kützinger) Otto Müller 1900; **(ATX, ALCH)**

*Rhopalodia* sp1; **(ALCH)**

Orden: Surirellales

Familia: Surirellaceae

Género: *Campylodiscus*

*Campylodiscus* **(ALCH)**

Género: *Surirella*

*Surirella* sp1 **(LAPR, ALCH)**

Orden: Thalassiophysales

Familia: Catenulaceae

Género: *Amphora*

*Amphora* sp1; **(ALCH)**

Subclase: Coscinodiscophycidae

Orden: Thalassiosirales

Familia: Stephanodiscaceae

Género: *Cyclotella*

*Cyclotella alchichicana* Oliva, Lugo, Alcocer & Cantoral 2006; **(ALCH)**

*Cyclotella choctawhatcheeana* Prasad 1990. **(ATX, ALCH)**

*Cyclotella* cf. *meneghiniana* Kützinger 1844: **(LAPR)**

Subclase: Fragilariophycidae

Orden: Fragilariales

Familia: Fragilariaceae

Género: *Fragilaria*

*Fragilaria* sp1 **(ATX)**

Familia: Staurosiraceae

Género: *Pseudostaurosira*

*Pseudostaurosira brevistriata* (Grunow) D.M.Williams & Round 1988; **(LAPR,**

**ATX, ALCH)**

En los microbialitos de los tres lagos se registraron especies en común, de lo que deriva que algunas de las mismas pueden existir en un gradiente de variación de salinidad amplio, como por ejemplo *Epithemia turgida* registrada en los tres sistemas lacustres; otras se encuentran en un gradiente de variación de salinidad: subsalino-hiposalino como el caso de *Denticula valida*; mientras otras se comparten solamente en los lagos hiposalinos como *Cyclotella choctawhatcheeana*. Finalmente, en una condición más contrastante se encontró únicamente a *Pinnularia brebissonii* en el lago de menor y el de mayor salinidad (Cuadro 8).

Cuadro 8. Especies en común de diatomeas en los lagos de estudio. Los colores diferencian en que lagos se encuentra cada especie.

Lago Especie	La Preciosa	Atexcac	Alchichica
<i>Epithemia turgida</i>			
<i>Navicymbula pusilla</i>			
<i>Pseudostaurosira brevistriata</i>			
<i>Denticula valida</i>			
<i>Epithemia sorex</i>			
<i>Mastogloia calcarea</i>			
<i>Cyclotella choctawhatcheeana</i>			
<i>Mastogloia elliptica</i>			
<i>Rhopalodia musculus</i>			
<i>Pinnularia brebissonii</i>			

A pesar de que este trabajo no se enfocó en calcular la biomasa de diatomeas o abundancia por especies, además de que el método utilizado de limpieza no garantiza conservar a todos los especímenes, de acuerdo con las observaciones al microscopio se pudo atestiguar que en Alchichica la cantidad de diatomeas

presentes fue considerablemente baja en comparación con las que se presentaron en Atexcac, y aún más, en La Preciosa. Aunque esto no parece afectar a la riqueza de especies, ya que el número de tipos específicos en Alchichica fue mayor que en Atexcac. En los microbialitos de La Preciosa se reconoció la riqueza de especies más alta, y sin haber calculado la biomasa; se considera que las diatomeas se encontraban en cantidades excesivas en la muestra concentrada (Anexo III, Imagen 6), siendo necesario desde el punto de vista metodológico esparcir en el portaobjetos 40 µL de la muestra con unas pequeñas gotas de alcohol para lograr su dispersión y facilitar su observación en los diferentes microscopios.

De acuerdo con las abundancias definidas como el número de individuos observados aleatoriamente en las muestras tanto en el microscopio óptico de contraste de fases con luz Normaski como el microscopio electrónico de barrido se determinaron las especies de diatomeas dominantes (Cuadro 9).

Cuadro 9. Especies dominantes de diatomeas en los microbialitos de los lagos La Preciosa, Atexcac y Alchichica

Lagos	Especies dominantes
La Preciosa	<i>Cymbella hantzschiana</i> , <i>Epithemia turgida</i> , <i>Mastogloia calcarea</i> , <i>Navicymbula pusilla</i> , <i>Pseudostaurosira brevistriata</i> y <i>Rhopalodia gibberula</i>
Atexcac	<i>Epithemia turgida</i> , <i>Mastogloia calcarea</i> , <i>M. elliptica</i> , <i>Navicymbula pusilla</i>
Alchichica	<i>Cyclotella alchichicana</i> , <i>Epithemia sorex</i> , <i>Mastogloia elliptica</i> , <i>M. smithii</i> var. <i>lacustris</i> y <i>Navicymbula pusilla</i>

#### **9.4 Descripción fenotípica del biofilm de los microbialitos en los tres lagos**

En el microbialito de La Preciosa puede apreciarse un biofilm de color café pardo claro cubierto de muchas partículas de sedimento y carbonatos. El biofilm de Atexcac muestra una combinación de colores oscuros de café y verde, en el que se encuentran embebidos pequeños gránulos blancos de carbonato y que en otras partes estas pequeñas estructuras esféricas se muestran cementadas juntas. Alchichica muestra un biofilm verde, y al igual que La Preciosa, se encuentra cubierto con abundantes partículas de sedimento y granos de carbonato (Imagen 9).

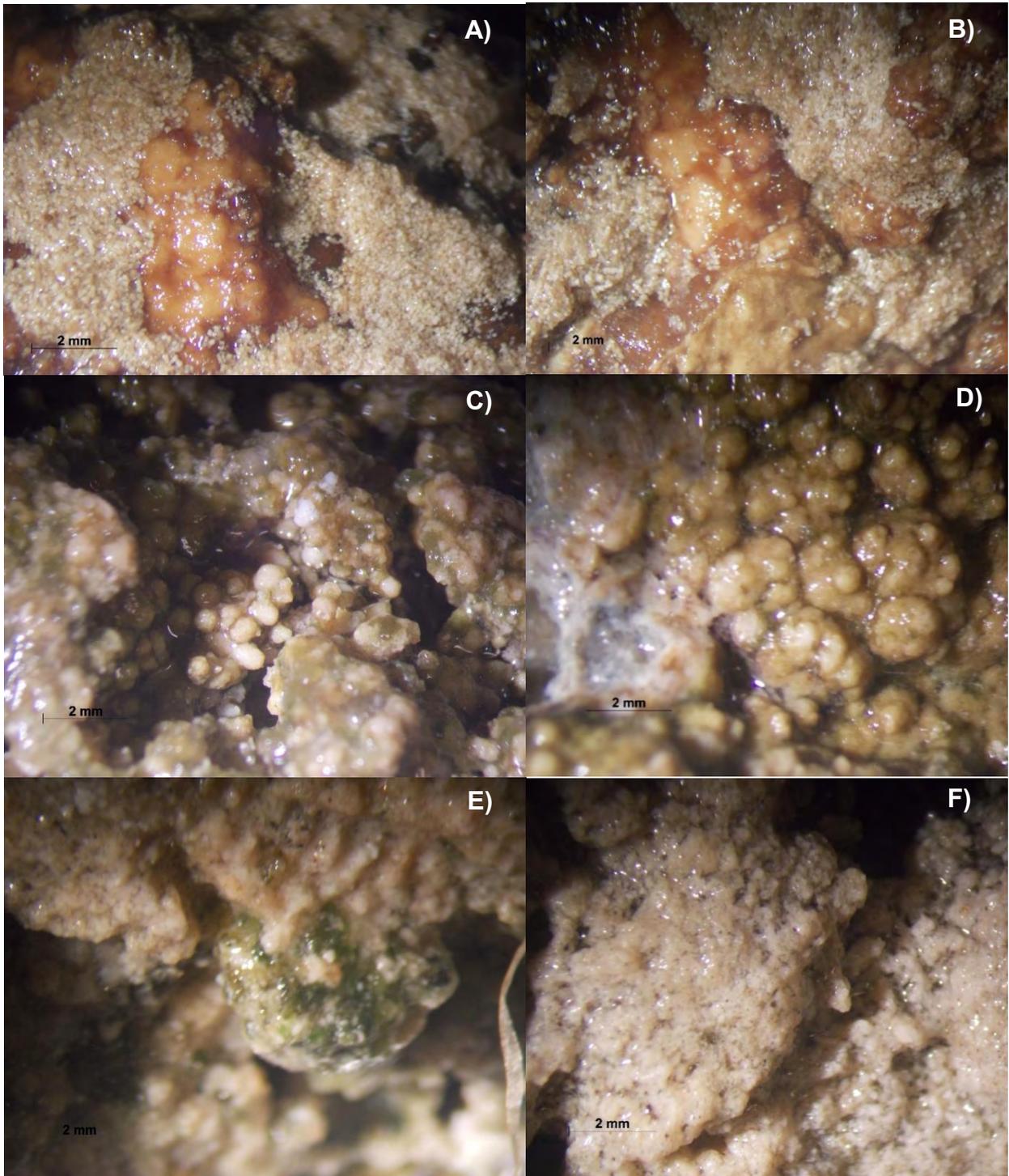


Imagen 9. Fotografías tomadas en un estereoscopio 10x. A y B. Corresponden con el biofilm del microbialito de La Preciosa; C y D. Al biofilm del microbialito de Atexcac; E y F. Al microbialito de Alchichica.

## 9.5 Composición de grupos funcionales presentes en la matriz extracelular.

En el lago La Preciosa, en la región fundamental del espectro obtenido (Figura 8): en 3466 y 3445  $\text{cm}^{-1}$  se identificaron señales características de aminas primarias (N-H<sub>2</sub>); a lo largo de los 3300  $\text{cm}^{-1}$  un grupo de señales que corresponden al grupo hidroxilo (O-H); en 2923 y 2854  $\text{cm}^{-1}$  se registraron alcanos CH<sub>2</sub> y CH<sub>3</sub> y aldehídos, adelante de 2923  $\text{cm}^{-1}$  se ubica una pequeña señal que manifiestan los metilos CH<sub>3</sub>; en 1742  $\text{cm}^{-1}$  se encontró un enlace carbonilo (C=O); y en 1620  $\text{cm}^{-1}$  se presentó una señal relacionada al enlace amina (N-H). En la región de las huellas digitales que comprende de 1500 a 450  $\text{cm}^{-1}$ , se detectaron señales relacionadas con enlaces del silicio, en 1250  $\text{cm}^{-1}$  ( $\pm 10$ ) que es característica de los enlaces grupo metil-silíceo Si-CH<sub>3</sub> y la señal de 1100  $\text{cm}^{-1}$  parece determinar el enlace Si-O de los silicatos.

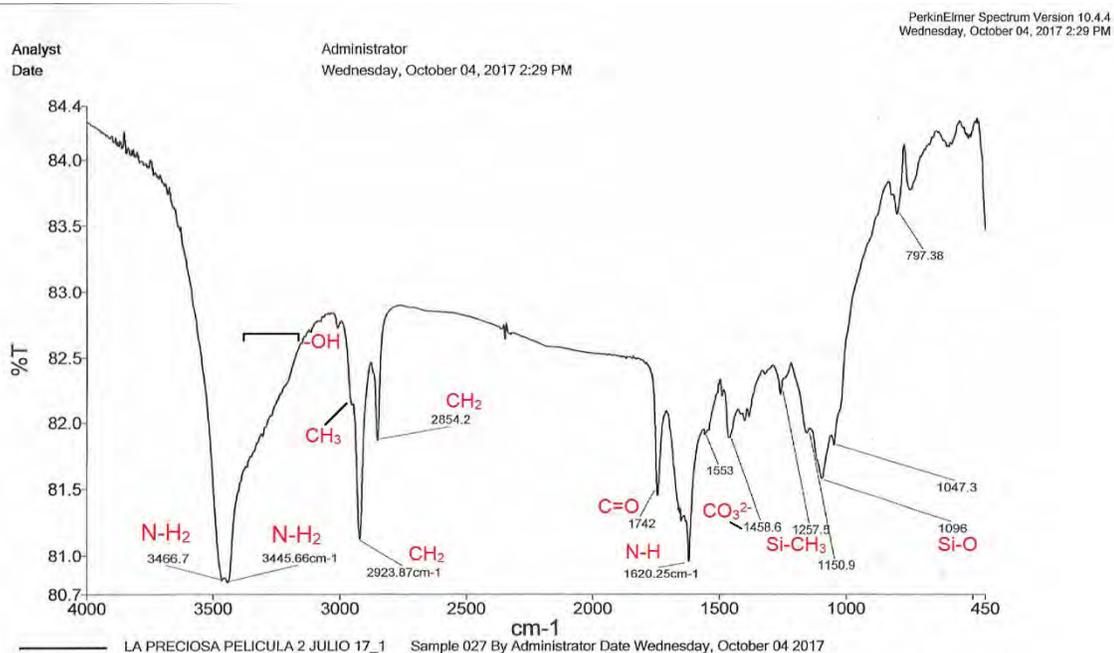


Figura 8. Espectro de infrarrojo que muestra los **grupos químicos** que conforman a los **compuestos orgánicos (>8 KDa)** del **biofilm** de un **microbialito** superficial de **La Preciosa**. Se muestran las señales más importantes en la región de 4000 a 450  $\text{cm}^{-1}$  y el grupo orgánico correspondiente.

En el espectro de Atexcac se identificaron las siguientes señales: en 3441  $\text{cm}^{-1}$  se detectó aminas secundarias (N-H); en 2921  $\text{cm}^{-1}$  y 2853  $\text{cm}^{-1}$  se registraron alcanos  $\text{CH}_2$  y  $\text{CH}_3$ ; en 1737  $\text{cm}^{-1}$  se encontró la señal relacionada con los enlaces carbonilo (C=O). En la región de las huellas digitales: La señal de 1430  $\text{cm}^{-1}$  determinó por los alcanos presentes en la composición orgánica. Los picos en 1054 y 1303  $\text{cm}^{-1}$  afirmaron la presencia de enlaces C-O correspondientes a alcoholes primarios. En 1205 y 1100  $\text{cm}^{-1}$  se determinaron señales similares a las registradas en el espectro de La Preciosa (Figura 9) relacionadas con enlaces del sílice.

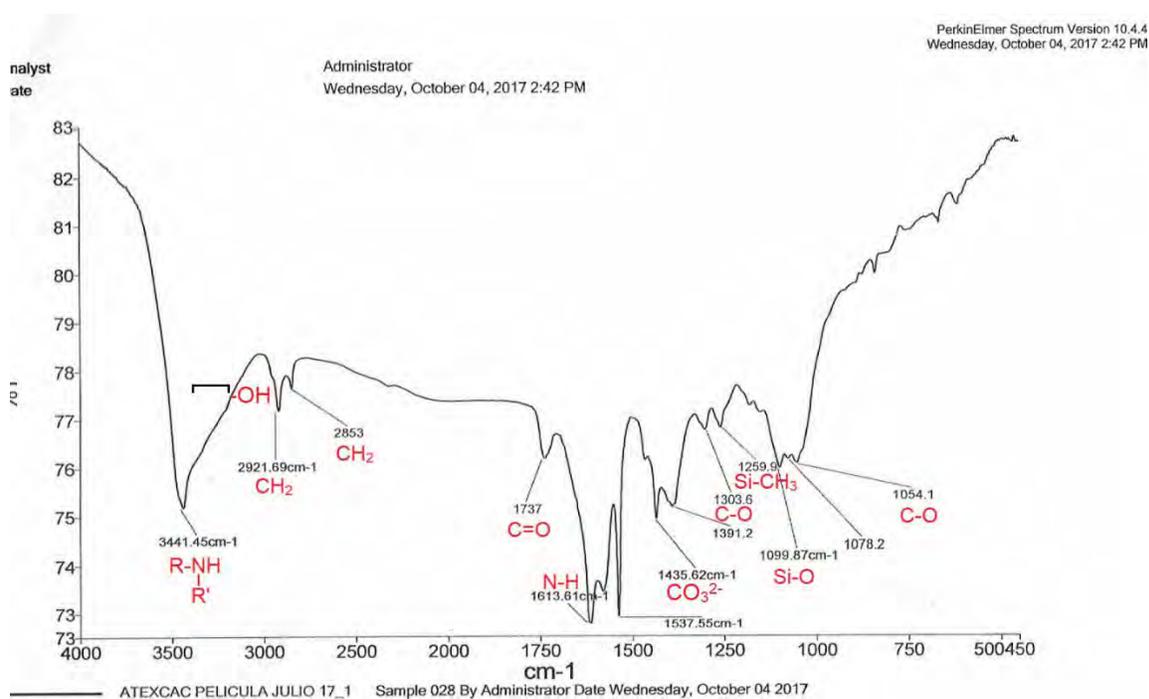


Figura 9. Espectro de infrarrojo que muestra los **grupos químicos** que conforman a los **compuestos orgánicos (>8 KDa)** del **biofilm** de un **microbialito** superficial de **Atexcac**. Se muestran las señales más importantes en la región de 4000 a 450  $\text{cm}^{-1}$  y su grupo orgánico correspondiente.

El espectro del lago Alchichica presentó las siguientes señales en la región fundamental: En  $3444\text{ cm}^{-1}$  y  $3466\text{ cm}^{-1}$  se encontraron picos asociados con las aminas secundarias ( $\text{N-H}_2$ ); en  $1734\text{ cm}^{-1}$  se determinó el carbonilo ( $\text{C=O}$ ). En este sistema se detectó una señal muy particular en  $1618\text{ cm}^{-1}$  correspondiente con los enlaces  $\text{NH}_2$ ; por otra parte, en la región de las huellas digitales se determinaron picos en  $1384$  y  $1049\text{ cm}^{-1}$  que denotaron la presencia de alcoholes primarios y secundarios (Figura 10).

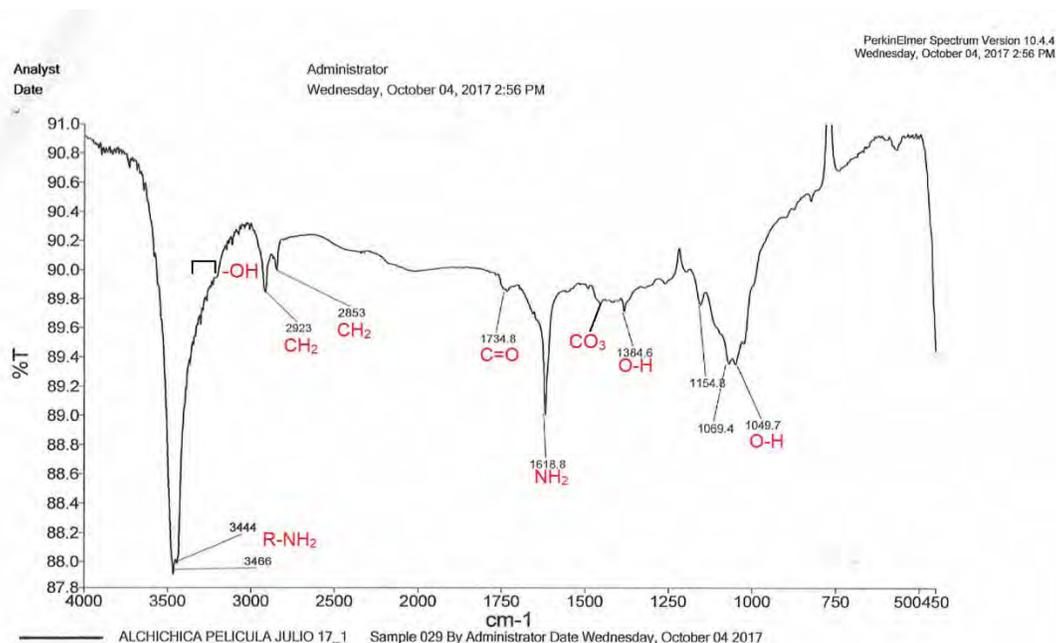


Figura 10. Espectro de infrarrojo que muestra los **grupos químicos** que conforman a los **compuestos orgánicos (>8 KDa)** del **biofilm** de un **microbialito** superficial de **Alchichica**. Se muestran las señales más importantes en la región de 4000 a 450  $\text{cm}^{-1}$  y el grupo orgánico correspondiente.

## 10. Discusión

### 10.1 Nutrientes y parámetros.

La composición química de estos lagos endorreicos depende del origen sedimentario e ígneo de su cuenca (Carrasco-Núñez *et al.*, 2007), de la dominancia de los procesos evaporación-cristalización (Hernández-Isunza, 2018), del suministro de agua principalmente subterránea (Ramírez-Olvera *et al.*, 2009) y de los arrastres alóctonos por precipitación pluvial. Además de estas variables, también se encuentra sujeta a la dinámica limnológica, particularmente a su comportamiento de monomixis cálida, asociado con un proceso de mezcla invernal seguida de una estratificación prolongada de 8 meses (Rosas, 2018).

Los valores de pH obtenidos mayores a 8.6 en este estudio son característicos de lagos alcalinos, a causa de la alta concentración de bicarbonatos y carbonatos, siendo estos pHs similares a los reportados en trabajos anteriores (Sigala *et al.*, 2017; Cárcamo, 2017; Moran, 2016; Zeyen *et al.*, 2015; Kaźmierczak *et al.*, 2011).

Alchichica tuvo valores de pH mayores a 9; presentando diferencias estadísticamente significativas con respecto al pH de Atexcac (Figura 1). Kaźmierczak *et al.* (2011) reporta valores de 8.87 de pH en la columna de agua para este lago, a diferencia de lo registrado en el presente estudio donde los valores siempre fueron mayores a 9.1, lo que puede atribuirse a que las muestras fueron de la zona litoral y no limnética.

La alcalinidad total en los tres lagos fue alta, mayor a 1.0 g L<sup>-1</sup>. Alchichica presentó los valores más altos, ligeramente por arriba de Atexcac y La Preciosa. Según las pruebas estadísticas de este estudio no hubo diferencias significativas en la concentración de alcalinidad total entre los tres lagos (Figura 2). Por su elevada alcalinidad Alchichica y Atexcac podrían ser denominados lagos sódicos “soda lakes” (Arp *et al.*, 1999). Sin embargo, en La Preciosa la dominancia de cationes está dada por Mg<sup>2+</sup>, a diferencia de Atexcac y Alchichica donde el Na<sup>+</sup> es el catión más abundante (Armienta *et al.* 2008)

Además de éstos, se han reportado otros lagos sódicos en los que se desarrollan microbialitos modernos, como el Lago Van en Turquía, donde las condiciones son más extremas con pH's de 9.7-9.8 y concentraciones de alcalinidad total aproximadas a  $15 \text{ g L}^{-1} \text{ CaCO}_3$  (Chagas *et al.*, 2016) y se pueden encontrar microbialitos gigantes de hasta 40 metros de alto (López-García *et al.*, 2005). Según Sigala *et al.* (2017) Alchichica puede llegar a valores de pH más altos 9.5 y las concentraciones de alcalinidad total mayores a  $2 \text{ g L}^{-1} \text{ CaCO}_3$ . La comparación entre estos lagos permite pensar que la alcalinidad es un parámetro químico clave en la formación y el tamaño de los microbialitos modernos, particularmente se observa una mayor formación de estas estructuras calcáreas en el lago Alchichica en comparación decreciente con Atexcac y La Preciosa.

La alcalinidad total estuvo dada principalmente por los bicarbonatos, lo que coincide con lo reportado para La Preciosa y Atexcac (Zeyen *et al.* 2015). La concentración de alcalinidad por bicarbonatos fue muy alta en los tres lagos y no presentó diferencias significativas entre ellos (Figura 3). Sin embargo, la concentración de alcalinidad por carbonatos tuvo diferencias significativas entre los tres lagos (Figura 4), pues las concentraciones más altas las posee Alchichica por encima de Atexcac, el que a su vez tiene concentraciones mayores que La Preciosa; lo que permite pensar que la alcalinidad de carbonatos en el litoral superficial de Alchichica es la que favorece que haya una mayor densidad de microbialitos con respecto a Atexcac y La Preciosa.

Los resultados del TSD son similares a los reportados anteriormente (Cárcamo, 2017; Moran, 2016). Kázmierczak *et al.* (2011) señalan que la concentración de TSD del agua subterránea que contribuye a llenar a los lagos de Atexcac y Alchichica es de  $0.6 \text{ g L}^{-1}$  aproximadamente, y la de estos lagos es alrededor de 6 y  $8 \text{ g L}^{-1}$ , por ello sugieren que la evaporación es la que propicia la salinización de estos lagos. Sin embargo, La Preciosa posee valores de TSD levemente por encima de  $1 \text{ g L}^{-1}$ , lo que permite categorizarlo como subsalino, por lo que este proceso de evaporación-cristalización no lo ha afectado de la misma manera.

La dinámica térmica de los lagos puede promover cambios en la limitación de los nutrientes (Hernández-Avilés *et al.*, 2001), en los lagos monomícticos cálidos del presente estudio se manifiestan los periodos de mezcla y estratificación anteriormente referidos. La estratificación se ha dividido para estos ambientes de la zona tropical en tres fases: temprana, bien establecida y tardía (Alcocer *et al.*, 2008), estas condiciones prevalecen desde la primavera hasta el otoño y condicionan la sucesión del fitoplancton (López-Vázquez, 2018). La mezcla, que se da durante el invierno, permite que los nutrientes precipitados al fondo alcancen la superficie y se den florecimientos de diatomeas (Ardiles *et al.*, 2012; Rosas, 2018), mientras que en la estratificación existen particularidades para cada lago, ya que en los dos hiposalinos se presenta un florecimiento de *Nodularia cf. spumigena* como resultado de la limitación de nitrógeno en los lagos.

Y aunque se reporta la colimitación del fósforo y nitrógeno en la zona pelágica de los tres lagos (Hernández-Avilés *et al.*, 2001), poco se conoce sobre los nutrientes inorgánicos compuestos de N y P en la zona litoral y cómo interactúan con los microorganismos que ahí habitan.

Los organismos bentónicos y del litoral probablemente no sufren la limitación de nutrientes de manera similar a los planctónicos. La zona litoral y el bentos asociado de los tres lagos ha sido poco estudiado, en este se desarrollan macrófitas acuáticas, algas bentónicas y microbialitos, que alojan a muchos invertebrados, peces aterínidos y anfibios ajolotes, en el caso de los lagos La Preciosa y Alchichica (Valdespino, 2015; Alcocer *et al.*, 1998), y anfibios ajolotes en el lago Atexcac que generan una complejidad estructural y funcional a los sistemas.

En este estudio se encontraron para los tres lagos concentraciones altas de fósforo reactivo soluble y amonio y bajas de nitratos y nitritos en la zona litoral. Lo que haría suponer una posible limitación del nitrógeno hacia esta zona, que favorecería que algunas cianobacterias asociadas con los microbialitos pudieran fijar nitrógeno, como ha sido reportado en Alchichica para géneros como *Calothrix* y *Rivularia* (Kázmierczak *et al.*, 2011).

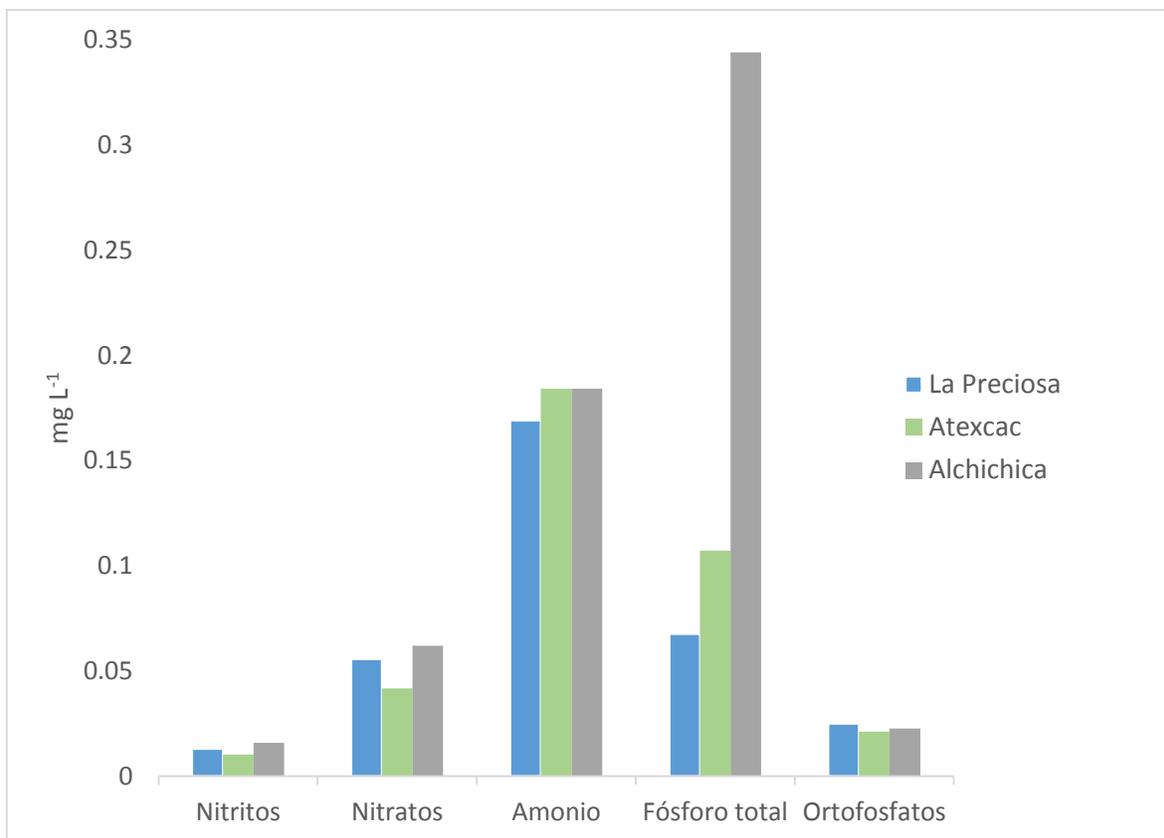


Figura 11. Comparaciones de la concentración de nutrimentos en la zona litoral asociada a los microbialitos.

El fósforo es un elemento importante para todos los organismos, ya que se encuentra involucrado en la mayoría de las actividades metabólicas; los ortofosfatos son la forma de fósforo disuelto más común que utilizan los productores primarios (Stal, 2012). Sin embargo, el estudio de la limitación de los nutrimentos para los productores primarios se ha enfocado principalmente en las cianobacterias y poco en los tapetes microbianos “mats” donde además existen diatomeas, que particularmente son muy abundantes en los microbialitos de la presente investigación; se ha reconocido que algunas diatomeas bentónicas pueden sufrir la escasez de algún nutriente y migrar direccionalmente a condiciones favorables dentro del mismo biofilm (Mann *et al.*, 2017).

El fósforo resulta abundante debido que en lagos volcánicos éste tiene presencia en el desgaste de materiales piroclásticos, vidrio volcánico y feldespatos, y podría desencadenar la limitación de otros nutrimentos (Ramírez-Olvera *et al.*,

2009). Además, se cree que, a diferencia de los sistemas acuáticos templados, en los sistemas tropicales el fósforo no es un nutriente limitante por sí solo (Hernández-Avilés *et al.*, 2001).

El nitrógeno se presenta en diferentes formas dependiendo de su estado oxidativo, el amonio es la forma más reducida ( $\text{NH}_4^+$ ), mientras que los nitritos ( $\text{NO}_2^-$ ) y nitratos ( $\text{NO}_3^-$ ) son las formas más oxidadas. Todas estas formas de nutrientes son importantes en el metabolismo de los microorganismos, sus reacciones metabólicas transforman las formas de nitrógeno una a otra (Stal, 2012).

Cuando el nitrógeno es limitante, las formas de amonio suelen ser las dominantes, (Macek *et al.*, 2009) lo que se puede identificar en estos lagos. En presencia de oxígeno, las bacterias nitrificantes pueden oxidar el amonio a nitritos y nitratos, las condiciones de estos sistemas apoyarían en el desarrollo de estos metabolismos. El amonio es utilizado por los organismos, tanto heterótrofos como autótrofos para formar aminoácidos, que son usados en la síntesis de proteínas (Stal, 2012). Las proteínas son las principales sustancias de reserva de nitrógeno. La mayoría de los microorganismos tienen la capacidad de asimilar el amonio, posiblemente esto es preferencial ya que el amonio se encuentra en un estado reductor similar al de los aminoácidos y por ello ocupan menor energía en esta actividad.

En tapetes microbianos donde se desarrollan cianobacterias y diatomeas, hay una alta demanda de los nutrientes de nitrógeno, debido al estrés por la limitación de éste mismo, los productores primarios secretan grandes cantidades de mucílago (Stal, 2010). Por otro lado, algunos autores han categorizado a los microbialitos como excelentes diazotróficos, esto es que son capaces de fijar el  $\text{N}_2$  atmosférico, ya que algunos se encuentran compuestos por cianobacterias filamentosas y bacterias anaerobias como sulfato reductoras, metanogénicas y fermentadoras (Stal, 2012; Ward, 2013).

El desarrollo de la ventaja evolutiva de fijar el nitrógeno atmosférico en su forma molecular les permite crecer bajo condiciones complejas que no soportarían

los organismos no fijadores (Stal, 2012). Algunas asociaciones de simbiosis en los microbialitos seguramente tienen relación con el nitrógeno.

La limitación del nitrógeno en Atexcac y Alchichica permite el florecimiento de la cianobacteria *Nodularia spumigena*; este florecimiento propicia la mayor concentración de nitratos en la superficie de agua de Atexcac (Arellano y González, 2011) una vez que el amonio liberado por ella es transformado por bacterias nitrificantes en el epilimnion óxico. Falcón *et al.* (2002) al medir la fijación del nitrógeno en los microbialitos de Alchichica, describen que la menor tasa de fijación del nitrógeno por los microbialitos se da durante el florecimiento de *N. spumigena*, es probable pensar que durante este evento los microbialitos no tienen necesidad de fijar el nitrógeno, ya que pueden utilizar el fijado y liberado por esta alga filamentosa.

En las cuencas de los lagos La Preciosa y Alchichica se realizan cultivos temporales donde se aplican fertilizantes ricos en nitrógeno, los cuales pueden influir en la concentración de este elemento por lavado y su dinámica en los sistemas. Mientras en la cuenca del lago Atexcac la buena preservación de la flora circundante permite el suministro de materia orgánica y terrígenos ricos en nitrógeno fijado por las fabáceas presentes (como árboles del género *Mimosa* y *Prosopis*), que puede ser aportado de manera alóctona al sistema durante los procesos de precipitación pluvial, al tener pendientes pronunciadas.

El sílice, es el compuesto más abundante en la tierra después del oxígeno, pero la mayor parte no se encuentra en forma disuelta, ya que forma parte de formas minerales insolubles como feldespatos, cuarzo y silicatos (Canfield *et al.*, 2005).

En los sistemas acuáticos es común encontrar el sílice de forma disuelta, coloidal y articulada. La entrada principal de este a los sistemas acuáticos es a través del desgaste de rocas y minerales silicatados producido por las corrientes de agua superficiales (Raven y Waite, 2004). La concentración de sílice disuelto es dependiente del pH y pueden limitar el desarrollo del fitoplancton, especialmente las diatomeas: existen reportes de que el sílice es un nutrimento importante a magnitud

del fósforo y nitrógeno (Ardiles *et al.*, 2012), ya que estas utilizan este elemento de manera esencial en la composición de su pared celular (frústula).

En los lagos de estudio, excepto Alchichica, hay contenidos altos de silicatos, coincidiendo con trabajos realizados anteriormente (Mancilla-Villa *et al.*, 2014; Kaźmierczak *et al.*, 2011; Zeyen *et al.*, 2015). Las concentraciones en Atexcac y la Preciosa son altas, esto hizo que los silicatos fueran el único nutrimento que presentara diferencias estadísticamente significativas con respecto a Alchichica (figura 7).

En trabajos anteriores, Alchichica también había presentado concentraciones bajas de este nutrimento a pesar de su naturaleza volcánica (Kaźmierczak *et al.*, 2011) y otros autores lo han reportado como un nutrimento limitante (Sigala *et al.*, 2017; Ardiles *et al.*, 2012). Aunque los valores de precipitación fluvial en la zona de estudio son bajos, en Atexcac y la Preciosa es posible encontrar valores altos de concentración de silicatos, permitiendo pensar que las lluvias no son la principal fuente de este nutrimento. Esta concentración de sílice disuelto, sumado al pH y la concentración de magnesio, permite a los microbialitos de Atexcac y La Preciosa precipitar fases minerales Mg-silicatadas, como la kerolita (Zeyen *et al.*, 2015; Chagas *et al.*, 2016).

## **10.2 El papel de las diatomeas en los microbialitos**

Las diatomeas son el grupo fitoplanctónico que aporta la mayor biomasa en la columna de agua, y su florecimiento se da en la época de circulación, durante la temporada invernal (Alcocer *et al.*, 2008). En los microbialitos no hay tal temporalidad, ya que las diatomeas de tipo bentónicas se encuentran presentes todo el tiempo en estas estructuras órgano-sedimentarias, con excepción de Alchichica, donde no siempre fueron abundantes en comparación con La Preciosa y Atexcac, aunque para este lago, también se reporta la importancia de este grupo en microbialitos esponjosos (Valdespino *et al.*, 2018). La heterogeneidad microambiental en la zona litoral puede condicionar la dominancia de algunas

especies durante ciertas estaciones, lo que tendría que ser validado con un estudio más específico.

Sin duda, según las observaciones de este estudio, en Alchichica se presentaron concentraciones bajas de diatomeas en los microbialitos superficiales, posiblemente por la limitación del sílice en el lago (Ardiles *et al.*, 2012), las concentraciones bajas de silicatos que se encontraron en este estudio (Figura 7), justifica lo anteriormente reportado. Sin embargo, no se encontró una relación de este parámetro químico con la riqueza de especies, debido a que a pesar de que en Atexcac se registraron altas concentraciones de silicatos la riqueza de diatomeas fue más baja en comparación con Alchichica.

En la columna de los tres lagos se han reportado florecimientos mono-específicos de diatomeas del género *Cyclotella* durante la temporada de mezcla y estratificación temprana, y tienden a sedimentarse durante la estratificación bien establecida y tardía (Rosas, 2018; Moran, 2016; Ardiles *et al.*, 2012). En esta investigación, que aborda a los microbialitos, también se registraron especies de este género. De esta manera, puede decirse que los miembros *Cyclotella* son organismos ticoplanctónicos, ya que puede vivir de manera pelágica y bentónica (Stal, 2010; Oliva *et al.*, 2006).

Las diatomeas, durante estos florecimientos, son una parte importante de carbono orgánico particulado que exceden la capacidad de depredación por los herbívoros y que por mortandad natural y procesos de sedimentación son exportadas al fondo del sistema durante la estratificación. Al acumularse la materia orgánica en el hipolimnion, se promueven condiciones anóxicas debido a la limitación de oxígeno disuelto no lográndose del todo la descomposición de diatomeas sedimentadas (Alcocer *et al.*, 2008). En los microbialitos, a nivel de microescala se dan diversos gradientes ambientales. Las diatomeas y otros fotoautótrofos, como cianobacterias, dominan la capa superior del biofilm, por las condiciones adecuadas de luz, nutrientes, pH, entre otras. Estas células, y su material extracelular, al perecer son exportadas a los estratos tróficos inferiores; en la transición de éstos se dan diversos gradientes químicos: el nivel intermedio;

donde predominan condiciones anaerobias y habitan bacterias fotótrofas anoxigénicas, ej. bacterias púrpuras del azufre, y el nivel inferior donde prevalecen las condiciones anóxicas y se encuentran bacterias con metabolismos quimiótrofos, ej metanobacterias (Kumbrein *et al.*, 2003; Roeselers *et al.*, 2008).

Las diatomeas en ambientes pelágicos conforman la base de la red trófica, son consumidos básicamente por individuos eucariotes de mayor tamaño, pero también forman parte de la dieta de muchas bacterias heterotróficas (Amin *et al.*, 2012). En los tapetes microbianos donde se desarrollan estas algas sucede una relación de depredación semejante (Tall *et al.*, 2006), sumado a la estrecha asociación que hay de algunos heterótrofos a la degradación del material extracelular secretado por las diatomeas. La descomposición del mucilago de diatomeas es importante en los procesos de precipitación (Winsborough, 2000).

Además del importante aporte de materia orgánica celular y extracelular, las diatomeas pueden participar con varias acciones en la formación de microbialitos. Para producir su pared celular, frústula, utilizan una enzima conocida como anhidrasa carboxilasa, que se encarga de transformar el CO<sub>2</sub> del ambiente en carbonato, para la formación de los polímeros de sílice (Milligan y Morel, 2002). Esto sin duda debe afectar en el desarrollo de microbialitos por parte de las diatomeas.

Esta pared celular peculiar de las diatomeas ha permitido su exitosa fosilización y formación de minerales, como la diatomita, importante en las ciencias de la tierra y la industria. El pH del sistema donde habitan las diatomeas, al igual que en su formación, afecta la fosilización de las frústulas (Raven y Waite, 2004); se ha descrito que, en sistemas básicos o alcalinos, con valores mayores a 8.7 de pH, como en el caso de los lagos de estudio, el sílice amorfo hidratado (Si(OH<sub>4</sub>)) de la pared celular de las diatomeas es disuelta en su totalidad después de morir y de ser consumido el último resto de materia orgánica (Toullec y Moriceau, 2018). En ambientes ácidos, las frústulas de las diatomeas son fácilmente preservadas. Estas condiciones, se encuentran en el fondo del biofilm, como se vio anteriormente.

La composición de minerales silicatados en los microbialitos modernos está esencialmente implicado con las diatomeas. En dos lagos de este estudio, La

Preciosa y Atexcac, se han registrado minerales silicatados, como la kerolita ( $\text{Mg}_3\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ) (Zeyen *et al.*, 2015), su precipitación está asociada con la disolución de una gran cantidad de frústulas de diatomeas. La alta alcalinidad permite la transformación del sílice amorfo hidratado al ion silicato ( $\text{SiO}(\text{OH})_3^-$ ), que se asocia a los cationes disponibles, anteriormente unidos por la matriz extracelular, principalmente el  $\text{Mg}^{2+}$  (Chagas *et al.*, 2016).

Se han reportado diversos ambientes donde se desarrollan microbialitos con diatomeas, y además de los sistemas lóticos, es común que se presenten en los litorales, marinos y lacustres (Valdespino-Castillo, *et al.*, 2018; Stal, 2010, Siqueiros-Beltrones *et al.*, 2013). También se han podido identificar a diatomeas que habitaron estromatolitos fósiles (Raven y Waite, 2004) algunos datados del Cretácico Superior (Chacón-Baca, 2002), justo cuando se cree que las diatomeas comenzaron a colonizar los sistemas epicontinentales (Ruck *et al.*, 2016; Sims *et al.*, 2006). Sin embargo, el florecimiento de estromatolitos se dio en el Precámbrico, hace 3400 millones de años, aun sin la aparición de las diatomeas (Reid *et al.*, 2000). Se ha descrito que la alcalinidad de algunos lagos, donde se desarrollan microbialitos modernos, son similares a las del antiguo océano precámbrico donde se desarrollaron los antiguos estromatolitos (Stal, 2010), tal aseveración permite pensar que el desarrollo de las diatomeas es una característica distintiva entre los microbialitos modernos con sus ancestros del Precámbrico.

### **10.3 Riqueza específica de diatomeas en los microbialitos**

De manera taxonómica suele dividirse a las diatomeas en centrales y penadas. Las diatomeas centrales en los microbialitos de los tres lagos estuvieron representadas por al menos una especie por lago del género *Cyclotella*. Las diatomeas penadas se dividen en dos subclases; Fragilariophycidae, compuesto por las diatomeas aráfidas y Bacillariophycidae, formado por diatomeas monoráfidas y biráfidas; las del primer tipo se encuentran representadas únicamente por *Pseudostaurosira brevistriata* en los tres microbialitos y *Fragilaria sp.* en Atexcac.

La mayor parte de las diatomeas registradas presentaron un sistema de rafe en una o ambas valvas, las diatomeas monoráfidas en este estudio estuvieron representadas en cada lago por una especie de *Cocconeis*; por otra parte, las diatomeas biráfidas, que se manifestaron como mayoría en los tres lagos, se determinaron especies de los órdenes: Cymbellales, Naviculales, Mastogloiales y Rhopalodiales. En La Preciosa y Alchichica se presentó además el orden Surirelalles.

El rafe, consiste en un par de complejas aberturas cerca del centro de la valva. A través de este las diatomeas bentónicas obtienen la cualidad de deslizamiento secretar mucilago por estas perforaciones. Al desplazarse la célula sobre los sedimentos deja un rastro importante de polisacáridos (Mann *et al.*, 2017), que, si se desarrolla dentro de un tapete microbiano, forma una parte considerable de la matriz orgánica. En las diatomeas monoráfidas, como *Cocconeis*, la motilidad es lenta y limitada, y la mayor parte del tiempo las células permanecen adheridas al sustrato. En el caso de las biráfidas, la velocidad del movimiento de las células puede ser de hasta de  $20 \mu\text{m s}^{-1}$  (Mann *et al.*, 2017).

Organismos de *Mastogloia*, otro género de diatomeas biráfidas, que en este estudio presentó dos especies por lago, contienen en su interior organelos, conocidos como partectas, asociados a la producción de mucilago, el que es secretado por unos poros especializados colocados a través del cíngulo (Kocielek y Spaulding, 2003).

En las diatomeas centrales, como *Cyclotella*, la locomoción está asociada con los poros colocados en el margen de la valva, conocidos como rimopórtulas. Sin embargo, el proceso de locomoción en estas diatomeas en hábitos bentónicos es un tanto confusa, al igual que en diatomeas aráfidas, como *Pseudostaurosira*. Los dos tipos de diatomeas están asociadas a un estilo de vida planctónico, y pueden presentarse formando colonias de células (Oliva *et al.*, 2008). Por estos hábitos, este tipo de diatomeas dependen de los movimientos del agua y carecen de estructuras que les permitan un movimiento activo, con excepción de las células gaméticas masculinas de las diatomeas centrales, que poseen un flagelo. En efecto,

las diatomeas se hunden al poseer una pared de sílice, que tiene una densidad mayor a la del agua. Para contrarrestar este proceso, algunas especies contienen una vacuola muy grande que les permite intercambiar iones con el medio y mantenerse a flote (Mann *et al.*, 2017) además de depender de las mezclas invernales o la turbulencia del agua.

En los microbialitos de los tres lagos, además de *Cyclotella*, se registró un patrón similar de aparición y abundancia relativa de los géneros: *Epithemia*, *Navicymbula*, *Mastogloia* y *Rhopalodia*. El género *Diploneis* también se encontró en los tres microbialitos, aunque no fue abundante, y la especie *Pseudostaurosira brevisiriata* se registró en los tres, sin embargo, solo fue abundante en los microbialitos de La Preciosa. De las especies determinadas, de estos y los otros géneros, no se presentó una referencia bibliográfica de que habiten en otros microbialitos. Con excepción de *Mastogloia smithii* var. *lacustris*, que se ha reportado como una especie importante para algunos microbialitos asociados a humedales cársticos subtropicales (Gaiser *et al.*, 2010), en esta investigación *Mastogloia smithii* var. *lacustris* fue dominante en los microbialitos de Alchichica.

En esta investigación se encontraron especies compartidas entre los lagos, lo que sugiere que estas pueden presentar hábitos eurialinos, como el caso de *Navicymbulla pusila*, que se presentó en los tres ambientes, uno subsalino y dos hiposalinos. Muchos investigadores se han preocupado por conocer el paso de las diatomeas, desde su origen en las aguas marinas, a las aguas continentales y los diferentes gradientes de salinidad que permitieron su evolución (Ruck *et al.*, 2016; Sims *et al.*, 2006).

De acuerdo con los valores de conductividad y TSD, dos de los lagos de este estudio Atexcac y Alchichica se categorizan como salobres en general e hiposalinos por su concentración menor a 10 g L<sup>-1</sup>; el lago La Preciosa con la clasificación de subsalino, puede encontrarse en situación de transición de aguas dulces a salobres. El lago La Preciosa, con 1.13 g L<sup>-1</sup> de salinidad promedio en la zona litoral, presentó la mayor riqueza de diatomeas, con 23 especies, seguido de Alchichica, el lago más salino de este estudio, 7.04 g L<sup>-1</sup> en promedio, con 18 especies; y Atexcac, que

cuenta con condiciones salinas aproximadas a las de Alchichica,  $6.08 \text{ g L}^{-1}$  en promedio, presentó 13 especies. La comparación de la riqueza específica entre Atexcac y Alchichica, permite pensar que bajo condiciones de hiposalinidad ésta puede ser más o menos equivalente a diferencia de lo que ocurrió en el ambiente subsalino, donde la riqueza fue mayor.

Hasta ahora, no se había realizado un estudio que abordase diatomeas de los microbialitos de estos lagos. En los microbialitos de la laguna de Bacalar, otro sistema acuático mexicano, se determinaron hasta 68 especies de diatomeas, se destacó la dominancia de especies de *Denticula*, y se registraron especies en común con los lagos maar de este estudio: como *Cyclotella meneghiniana* y *Mastogloia elliptica*; y la ausencia de especies como *Rhopalodia*, *Epithemia* y *Surirella* que de acuerdo con Siqueiros-Beltrones *et al.*, (2013) debieran encontrarse en Bacalar, sin embargo estuvieron ausentes probablemente por ser géneros alcalófilos. Bacalar es un lago subsalino cárstico, que presenta valores de pH de 7.8 (Valdespino-Castillo *et al.*, 2018); menores a los determinados para los lagos de este estudio. *Denticula*, en los lagos maar, estuvo representada por *Denticula valida* en La Preciosa y Atexcac y una especie no identificada en Alchichica, con estas comparaciones, este género parece presentar especies que se distribuyen en microbialitos de ambientes cársticos, oligosalinos y subsalinos, ya sea con dominancia de calcio o de magnesio.

En el lago Clifton en Australia, una laguna costera, donde se desarrollan microbialitos modernos, con condiciones cársticas parecidas a Bacalar, salinidades muy variables desde  $15\text{-}26 \text{ g L}^{-1}$ , un pH de 8.2 y valores muy bajos de alcalinidad, se han registrado diatomeas de los géneros *Amphora*, *Cymbella*, *Mastogloia*, *Navicula*, *Nitzschia* y *Synedra* (Chagas *et al.*, 2016). Los lagos oligosalinos Alchichica y Atexcac tienen una similitud en la presencia de tres y cuatro géneros de diatomeas respectivamente mientras en el lago subsalino La Preciosa, concuerdan con cinco de los géneros en los que se incluyen a *Cymbella* y *Nitzschia*

El lago Pavilion, en Canadá, se presentan salinidades de  $0.3 \text{ g L}^{-1}$ , lo que lo caracteriza como un sistema dulce, alcalinidades bajas y pH de 8.2. En los

microbialitos de este lago se presentan diatomeas de los géneros *Gomphonema*, *Cyclotella* y *Achnanthes* (Chagas *et al.*, 2016). *Cyclotella* registrada en los microbialitos de los tres lagos maar que presentan salinidad variable indica que es un género probablemente eurihalino. Algo equivalente sucedería con *Gomphonema*, aunque solamente se registró en el lago más hiposalino, pudiéndose hipotetizar una posible adaptación más de tipo específica.

En los microbialitos del lago Van en Turquía, se reportaron los géneros *Rhopalodia*, *Surirella* y *Nitzschia*. Este lago sódico, presenta alcalinidades muy altas, con pH's mayores a 9.9, y condiciones de mesosalinidad (Chagas *et al.*, 2016). Estos géneros se presentaron en los lagos del presente estudio, donde *Rhopalodia* se registró como dominante con diferentes especies. Estos géneros, al aparecer son alcalófilos. Sin embargo, la ausencia de determinación específica en los trabajos anteriormente citados no permite realizar comparaciones adecuadas, debido a la alta diversidad específica e infraespecífica que tienen muchos de estos géneros de diatomeas (Mann, 2017; Ruck *et al.*, 2016; Gaiser *et al.*, 2010).

En microbialitos fósiles, como los travertinos de Hierve el agua, Oaxaca, se han identificado géneros similares (Wingsborough, 2000) a los lagos maar de estudio. Estas estructuras se desarrollaron en un sistema lóxico con altos contenidos de calcio y se han identificado especies de los géneros *Achnanthes*, *Amphora*, *Cocconeis*, *Denticula*, *Gomphonema*, *Navicula* y *Nitzschia* (Wingsborough, 2000), coincidiendo con algunas especies encontradas en este estudio; como es *Cocconeis placentula*.

La adaptación de los eucariontes, como las diatomeas, a ambientes hiposalinos, alcalinos o con limitación de nutrimentos, ha sido sumamente controversial su paso de sistemas salinos a salobres, y muchos estudios afirman que estos pueden adaptarse a estas y otras condiciones particulares por medio de la transferencia de genes de parte de bacterias a eucariontes (Schönknecht *et al.*, 2013). Además, en muchas diatomeas se han encontrado relaciones de endosimbiosis con diversos microorganismos; se han encontrado a bacterias heterotróficas dentro de diatomeas del género *Pinnularia*; y cianobacterias en el

citoplasma de *Epithemia* y *Rhopalodia*. Este organelo, coloquialmente proveniente de una cianobacteria, que perdió su capacidad fotosintética, es conocido como cuerpo esferoide y suministra de nitrógeno a la célula (Prechtel *et al.*, 2004). Hasta ahora es confuso el inicio de estas endosimbiosis, ya que la pared celular de las diatomeas no les permite engullir a otras células (Mann. 2017), la separación del endosimbionte provoca la muerte de este (Nakayama *et al.*, 2011).

Especies registradas en este estudio como, *Epithemia turgida* en los tres lagos, *Rhopalodia gibba*, en La Preciosa, y *Epithemia sorex* en Alchichica, cuentan con la característica anterior (Nakayama *et al.*, 2011). Por otro lado, en esta investigación se registraron especímenes de *Nitzschia*, en los microbialitos de La Preciosa, género del que se han descrito hábitos heterótrofos (Kamikawa *et al.*, 2018). Sus cloroplastos perdieron el pigmento, pero continúan presentándose, su función aún no está del todo clara (Mann *et al.*, 2017).

#### **10.4 Biopolímeros en la matriz celular y sus funciones.**

Los microorganismos que componen la comunidad de los microbialitos son capaces de producir material extracelular, o coloquialmente conocido como mucilago o EPS. Las sustancias producidas en forma de polímeros tienen un peso molecular amplio (desde 8 hasta más de 1000 KDa) (Dupraz *et al.*, 2009); y conforman una porción muy grande del total de biomasa en el tapete microbiano (Tourney y Ngwenya, 2014). Este mucilago, además de otras funciones, es producido como el resultado de un crecimiento desbalanceado causado por la limitación de nutrientes. Por ejemplo, en algunos fotoautótrofos, una escasez o deficiencia de nitrógeno (Pajares *et al.*, 2017), como las condiciones de estos lagos de estudio con características oligotróficas o mesotróficas, resulta en el estancamiento de la síntesis de proteínas mientras permanece la capacidad fotosintética completa, el carbono fijado por este proceso no puede ser utilizado en la síntesis de proteínas, por lo que obligatoriamente es transformado en carbohidratos, y solo una pequeña cantidad de estos es almacenada en la célula, como sustancia de reserva, en forma polisacáridos, como el glucógeno en

cianobacterias y crisolaminarina en diatomeas. El exceso de polisacáridos es secretado en forma de mucilago (Stal, 2010; Shnyukova y Zolotareva, 2017).

Además de esto, la secreción de mucilago por los microorganismos influye en un sinnúmero de procesos, y ha sido etiquetado como un éxito evolutivo que permitió que los microorganismos se adaptaran a muchas condiciones ambientales (Flemming *et al.*, 2016). En los tapetes microbianos de los microbialitos, pueden encontrarse distintos niveles de EPS, estos capturan o retienen nutrientes orgánicos e inorgánicos; y en los niveles eufóticos, acondicionan la intensidad y onda de luz adecuada para organismos fotosintéticos (Tourney y Ngewenya, 2014).

Los polisacáridos que forman parte de la matriz han sido clasificados en tres tipos según su función: adhesión, protección y estructura (Limoli, 2015). Los polisacáridos de adhesión, como los que secretan muchas diatomeas bentónicas (Mann, 2017), funcionan como un pegamento molecular que permite a los microorganismos adherirse a superficies cubriendo la célula por completo en forma de biofilm. También existen polisacáridos que dan protección a los microorganismos de posibles desecaciones y ataques por parte de depredadores. Los polisacáridos que tienen la función de estructura son aquellos que ordenan a la comunidad dentro de un biofilm y son responsables de los micro-gradientes químicos (Limoli, 2015; Flemming 2016).

Además de polisacáridos, la matriz extracelular o EPS está compuesta principalmente de proteínas, lípidos, lipopolisacáridos y material genético (Dittrich y Sibling, 2010). Hay una amplia variedad de proteínas que pertenecen a la matriz extracelular. Estas, de igual manera, se diferencian de acuerdo con las funciones que desarrollan. Existen proteínas estructurales que proporcionan estabilidad a la célula y permiten el reconocimiento célula-célula. Otro tipo de proteínas, son las enzimas que se involucran en la degradación de otros biopolímeros exógenos solubles en agua, como polisacáridos, proteínas y ácidos nucleicos, y algunos insolubles en agua, como celulosa, quitina y lípidos. Estas enzimas permiten un ambiente de sistema de digestión externo. Los productos de las moléculas

degradadas están entonces muy cerca de las células, lo que facilita la absorción (Flemming, 2011).

Otro de los biopolímeros presentes son los lípidos, sus funciones son poco claras, sin embargo, se asocian con la protección térmica y prevención contra la desecación. Los ácidos nucleicos, por otro lado, permiten la transferencia de genes entre microorganismos, especialmente las bacterias; esto ocurre cuando microorganismos secretan vacuolas con información genética, que es incorporada por otro organismo a su ADN intracelular, estas interacciones pueden ser llevadas a cabo por individuos de diferentes especies (Flemming *et al.*, 2016). En adición, el ADN extracelular (ADNe), permite al consorcio de microorganismos realizar diversos procesos, como la organización laminada y la percepción de cuórum (quorum sensing), una adaptación que faculta la regulación de genes y el control de la densidad de población (Decho, 2015).

Como anteriormente se señalaba, la composición de la matriz extracelular estará dada por la suma de secreciones de todos los pobladores del consorcio, además la muerte celular también contribuye en parte a los EPS que se encuentren en el biofilm (Jakubovics *et al.*, 2013). Se ha reconocido a los fotótrofos como importantes productores de EPS, pero sin duda alguna, los procariontes heterótrofos, que son los más diversos dentro de un tapete microbiano, (Bolhuis *et al.*, 2014; Gerbersdorf *et al.*, 2009), tienen una aportación importante en la composición de los EPS. Las bacterias heterotróficas, y diatomeas como *Nitzschia*, secretan enzimas en forma de material extracelular, que les permite degradar materia orgánica (Stal, 2012; Mann., 2017). Algunas enzimas son calcitrantes, y pueden encontrarse peculiarmente en los biofilms dentales como ejemplo (Astasov-Frauenhoffer *et al.*, 2017). La degradación de EPS por organismos heterótrofos promueve la precipitación de carbonatos en los microbialitos.

## 10.5 Interpretación general de la coloración de los microbialitos y de los espectros de IR de su biofilm

La dominancia de diatomeas fue visible en el biofilm de La Preciosa, de tal forma que los pigmentos particulares de estas algas como el  $\beta$ -caroteno y la fucoxantina (Mann *et al.*, 2017) permiten una coloración naranja-dorada, que se puede observar en las estructuras de los microbialitos de este lago (Figura 9a-b). En Atexcac donde también se reconocieron cantidades grandes de diatomeas, se pudo apreciar un color café-verdoso (Figura 9c-d). En Alchichica se reconocieron coloraciones aún más verdosas (Figura 9e-f), lo que apoya el registro escaso de individuos de diatomeas, en comparación con los otros microbialitos. De estos matices en las coloraciones de pardo-dorado a verdes se puede inferir la presencia de otros grupos de fitoplancton, como las cianobacterias que han sido descritas en otros trabajos (Ragón *et al.*, 2014; Kaźmierczak *et al.*, 2011; Couradeau *et al.*, 2011).

Las lecturas del espectro de IR, correspondientes al biofilm de los microbialitos, arrojaron diferentes características entre los lagos. En la región fundamental se determinaron señales características de aminas primarias en La Preciosa y Alchichica, y aminas secundarias en Atexcac. Además, que los tres presentaron señales de hidroxilos y carbonilos. Los aminoácidos se componen de los tres grupos funcionales mencionados anteriormente (Lehninger, 2000). En la unión de aminoácidos para formar péptidos y proteínas se realiza un enlace peptídico (Lehninger, 2000). El enlace peptídico es un enlace entre el grupo amino ( $-\text{NH}_2$ ) de un aminoácido y el grupo carboxilo ( $-\text{COOH}$ ) de otro aminoácido. Este enlace implica la pérdida de una molécula de agua y la formación de un enlace covalente CO-NH (Lehninger, 2000). Por lo que las aminas primarias se desprotonan en la unión de los aminoácidos, y forman aminas secundarias, lo que podría ocurrir en Atexcac, donde las cadenas de aminoácidos forman proteínas, a diferencia de los que se observó en La Preciosa y Alchichica.

En los tres microbialitos se reconocieron señales relacionadas al amonio, sin embargo, solo en La Preciosa y Atexcac se encontraron señales correspondientes

a otras formas inorgánicas de nitrógeno; como los nitritos y nitratos, esto sugiere la presencia de metabolismos del nitrógeno en los microbialitos de estos lagos, como lo han descrito otros autores (Alcántara *et al.*, 2017, Pajares *et al.*, 2017).

La intensidad de señales de los alcanos (CH<sub>2</sub> y CH<sub>3</sub>) en La Preciosa fue mayor en comparación a los otros dos lagos; esto permite pensar en la presencia de cadenas de polímeros muy largas formadas principalmente de alcanos (CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>). Biopolímeros como los lípidos tienen esta característica, por lo que en La Preciosa podría haber una cantidad grande de estos. Señales particulares de carbohidratos también fueron determinadas en los tres lagos, basados en referencias bibliográficas (ej. Valdespino-Castillo *et al.*, 2018).

En los espectros de La Preciosa y Atexcac fue posible detectar señales relacionadas con el monóxido de silicio, una molécula importante en la formación de la pared celular de las diatomeas, (Asada *et al.*, 2002; Jézéquel *et al.*, 2000). En Alchichica estas señales no se presentaron, lo que se puede asociar con una menor densidad de diatomeas, la presencia de otro tipo de algas de acuerdo con la coloración registrada (Imagen 9 e-f), así como una posible limitación del sílice (Sigala *et al.*, 2017; Ardiles *et al.*, 2012).

Los procesos y funciones de cada biopolímero, que fueron mencionadas anteriormente, pueden encontrarse en el biofilm de los tres tipos de microbialitos. Sin embargo, no es posible afirmar la relación exacta de estos, además de que diferentes, factores como el tipo de organismos presentes, la luz, la salinidad, entre otros, pueden afectar la composición de los EPS.

## **10.6 Mineralización por la matriz extracelular**

En muchos microbialitos modernos, como los de las Bahamas, se ha sugerido que los biopolímeros secretados por los microorganismos en forma de EPS son los responsables de la precipitación de carbonatos (Dupraz *et al.*, 2004). Sin embargo, en otros sistemas acuáticos, se ha documentado que los EPS inhiben la precipitación de estos al ligar los cationes y disminuir la saturación (Tourney y Ngwenya, 2014).

Después de muchos estudios enfocados en la matriz extracelular de microbialitos, tapetes mono-específicos y cultivos de biofilm, se reconoció que los EPS pueden realizar ambas cosas, la inhibición y/o la promoción de la precipitación de carbonatos (Dittrich y Sibling, 2010; Dupraz *et al.*, 2009); y que además son capaces de atrapar y agregar partículas, como sedimentos y minerales formados abióticamente (Tourney y Ngwenya, 2014).

Para conocer los procesos que se llevan a cabo en el biofilm, se han diseñado diversos métodos de extracción, cuantificación y cualificación (Felz *et al.*, 2016; Tourney y Ngwenya, 2014). La espectroscopia de IR ha sido uno de los instrumentos cualitativos más utilizados en investigaciones que abordan los EPS (Valdespino *et al.*, 2018; Dittrich y Sibling, 2010; Braissant *et al.*, 2007), ya que se presentan señales de intensidad de energía en el espectro de IR, características de los enlaces componen los grupos químicos funcionales.

Debido a la alta sensibilidad que tiene el espectroscopio de IR, por experiencia de método se decidió utilizar la técnica de centrifugación (Felz *et al.*, 2016), ya que extracciones químicas podrían contaminar la muestra y distorsionar las señales. Además, se realizó una diálisis con una membrana de 8 KDa, esto para mantener los compuestos mayores a este tamaño. Sin embargo, en otros trabajos, se ha determinado que no es necesario un método de extracción, y que las células intactas arrojan las mismas señales en el espectro de IR, que los EPS extraídos, pero con una mayor intensidad (Tourney y Ngwenya, 2014)

En trabajos anteriores se ha determinado que los grupos funcionales presentes en los EPS, como ácidos carboxílicos (R-COOH), hidroxilos (R-OH) y amina (R-NH<sub>x</sub>) están relacionados con la inhibición de precipitación de carbonatos al atraer y atrapar cationes metálicos como el Ca<sup>2+</sup> y el Mg<sup>2+</sup>, entre otros (Zhu y Dittrich, 2016).

En condiciones alcalinas, estos grupos funcionales se desprotonan, pierden un H<sup>+</sup> y quedan con cargas aniónicas. Los lagos de este estudio presentan concentraciones altas de CO<sub>3</sub> y HCO<sub>3</sub>, que probablemente afecten en las formas de EPS. En los espectros de infrarrojo de La Preciosa (Figura 8), Atexcac (Figura 9) y

Alchichica (Figura 10) se encuentran señales de grupos funcionales correspondientes a aminas primarias, aminas secundarias e hidroxilos; que se podrían ver relacionados con la precipitación de carbonatos. Según Armienta *et al.*, (2008): la dominancia de cationes en la superficie de los lagos son las siguientes: en La Preciosa  $Mg^{2+}>Na^{+}>K^{+}>Ca^{2+}$ , mientras en Atexcac y Alchichica, al ser lagos oligosalinos con tendencia a ser sódicos, se da una dominancia catiónica similar entre ellos  $Na^{+}>Mg^{2+}>K^{+}>Ca^{2+}$ . Así la concentración del sodio en Atexcac es 67 veces mayor que de la de calcio y en Alchichica es 213 veces más alta esta proporción.

El por que se precipitan en su mayoría minerales de carbonato de calcio en los microbialitos, como la aragonita y la calcita, aunque esta sal sea limitante es aún desconocido. En trabajos anteriores se ha relacionado la precipitación de microcristales de aragonita con la matriz extracelular (Jones y Peng, 2014).

La degradación de la matriz extracelular a través de enzimas por organismos heterótrofos, como bacterias, fungi, diatomeas del género *Nitzschia*, entre otros, promueve la precipitación de carbonatos, al liberar los cationes anteriormente ligados. El buffer de alcalinidad del sistema que transforma el  $CO_2$  en  $CO_3^-$  y  $HCO_3^-$  y la alcalinidad que establecen algunos metabolismos microbianos, como la fotosíntesis, permite la unión de estos cationes con las formas dominantes de carbonatos o bicarbonatos (Zhu y Dittrich, 2016).

## 11. Conclusión

En la estructura y formación de los microbialitos de los tres lagos maar de estudio son determinantes las diatomeas, las cuales presentaron riquezas y abundancias diferenciadas en cada uno de ellos. Este grupo de algas además juegan un papel determinante a través de la producción de polímeros extracelulares (EPS), como aglutinantes de los biofilms.

La riqueza de diatomeas dependió de manera general de las diferencias en salinidad y alcalinidad por carbonatos, encontrando la mayor riqueza en el lago la Preciosa que es subsalino y el menos alcalino, seguido de Alchichica que es el ambiente más alcalino, además de presentar la mayor salinidad de los tres lagos.

La abundancia de diatomeas en los microbialitos disminuyó de acuerdo con el patrón de salinización de los lagos, aunque también se asoció para el caso de Alchichica con una baja concentración de silicatos.

Al presentar los lagos estados tróficos similares los macronutrientes no tuvieron aparentemente un papel determinante en la estructura y riqueza de diatomeas, sin embargo, el nitrógeno elemento limitante en estos cuerpos de agua, mostró diferencias en las formas oxidadas las cuales no fueron registradas únicamente en Alchichica a través de los espectros de grupos funcionales con espectrofotómetro FTIR.

## 12. Referencias bibliográficas

- Adame, F. M., Alcocer, J., y Escobar-Briones, E. (2007). Size-fractionated phytoplankton biomass and its implications for the dynamics of an oligotrophic tropical lake. *Freshwater Biology*, 53(1), 22–31. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2007.01864.x>
- Alcántara-Hernández, R., Valdespino, P., Centeno, C. M., Alcocer, J., Merino-Ibarra, M., & Falcón, L. (2017). Genetic diversity associated to N cycle pathways in microbialites from Lake Alchichica, Mexico. *Aquatic Microbial Ecology*, 78, 121–133. <https://doi.org/10.3354/ame01806>
- Alcocer, J., Escobar, E., y Oseguera, L. A. (2008). Acoplamiento pelágico-bentónico: respuesta de la zona bentónica profunda a la sedimentación del florecimiento invernal de diatomeas en el lago oligotrófico Alchichica, Puebla, Méxic. *Hidrobiológica*.
- Alcocer, J., Escobar, E., Lugo, A., y Peralta, L. (1998). Littoral benthos of the saline crater lakes of the basin of Oriental, Mexico. *International Journal of Salt Lake Research*, 7(2), 87–108. <https://doi.org/10.1007/BF02441880>
- Alcocer, J., Escobar-Briones, E., Peralta, L., y Álvarez, F. (2002). Population Structure of the Macrobenthic Amphipod *Hyaella azteca* Saussure (Crustacea: Peracarida) on the Littoral Zone of Six Crater Lakes. En E. Escobar-Briones & F. Álvarez (Eds.), *Modern Approaches to the Study of Crustacea* (pp. 111–115). Boston, MA: Springer US. [https://doi.org/10.1007/978-1-4615-0761-1\\_18](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-0761-1_18)
- Amin, S., Parker, M., y Virginia Armbrust, E. (2012). Interactions between Diatoms and Bacteria. *Microbiology and molecular biology reviews*. 76(3): 667-680. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00007-12>
- APHA, AWWA. WPCF (1992) Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 18th. USA.
- Ardiles, V., Alcocer, J., Vilaclara, G., Oseguera, L. A., y Velasco, L. (2012). Diatom fluxes in a tropical, oligotrophic lake dominated by large-sized phytoplankton. *Hydrobiologia*, 679(1), 77–90. <https://doi.org/10.1007/s10750-011-0853-7>
- Arellano Posadas, J. A., y González Flores, E. (2011). *Dinámica espacio-temporal del picoplanctón procarionte y su relación con la variabilidad limnológica del lago volcánico Atexcac, Puebla*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Armienta, M. A., Vilaclara, G., De la Cruz-Reyna, S., Ramos, S., Cenicerros, N., Cruz, O., Arcega-Cabrera, F. (2008). Water chemistry of lakes related to

- active and inactive Mexican volcanoes. *Journal of Volcanology and Geothermal Research*, 178(2): 249–258.  
<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.jvolgeores.2008.06.019>
- Arp, G., Reimer, A., y Reitner, J. (1999). Calcification in cyanobacterial biofilms of alkaline salt lakes. *European Journal of Phycology*, 34(4), 393–403.  
<https://doi.org/10.1080/09670269910001736452>
- Asada, R., Okuno, M., & Tazaki, K. (2002). Structural anisotropy of biogenic silica in pennate diatoms under Fourier transform polarized infrared microspectroscopy. *Journal of Mineralogical and Petrological Sciences*, 97(5), 219–226.  
<https://doi.org/10.2465/jmps.97.219>
- Astasov-Frauenhoffer, M., Varenayanayil, M. M., Decho, A. W., Waltimo, T., y Braissant, O. (2017). Exopolysaccharides regulate calcium flow in cariogenic biofilms. *PLOS ONE*, 12(10), e0186256. Retrieved from  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0186256>
- Bahls, L. (2011). *Navicula oblonga*. In *Diatoms of the United States*. Visitado 24 de mayo, 2018  
[http://westerndiatoms.colorado.edu/taxa/species/navicula\\_oblonga](http://westerndiatoms.colorado.edu/taxa/species/navicula_oblonga)
- Bäuerlein, E. (2003). Biomineralization of Unicellular Organisms: An Unusual Membrane Biochemistry for the Production of Inorganic Nano- and Microstructures. *Angewandte Chemie International Edition*, 42(6), 614–641.  
<https://doi.org/10.1002/anie.200390176>
- Bhaskar, P. V, Grossart, H.-P., Bhosle, N. B., y Simon, M. (2005). Production of macroaggregates from dissolved exopolymeric substances (EPS) of bacterial and diatom origin. *FEMS Microbiology Ecology*, 53(2), 255–264.  
<https://dx.doi.org/10.1016/j.femsec.2004.12.013>
- Bolhuis, H., Cretoiu, M. S., y Stal, L. J. (2014). Molecular ecology of microbial mats. *FEMS Microbiology Ecology*, 90(2), 335–350.  
<https://doi.org/10.1111/1574-6941.12408>
- Bosak, T., Knoll, A. H., y Petroff, A. P. (2013). The Meaning of Stromatolites. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences*, 41(1), 21–44.  
<https://doi.org/10.1146/annurev-earth-042711-105327>
- Braissant, O., Decho, A. W., Dupraz, C., Glunk, C., Przekop, K. M., y Visscher, P. T. (2007). Exopolymeric substances of sulfate-reducing bacteria: Interactions with calcium at alkaline pH and implication for formation of carbonate minerals. *Geobiology*, 5(4), 401–411. <https://doi.org/10.1111/j.1472-4669.2007.00117.x>

- Bruckner, C. G., Bahulikar, R., Rahalkar, M., Schink, B., y Kroth, P. G. (2008). Bacteria associated with benthic diatoms from Lake Constance: phylogeny and influences on diatom growth and secretion of extracellular polymeric substances. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(24), 7740–7749. <https://doi.org/10.1128/AEM.01399-08>
- Bruckner, C. G., Rehm, C., Grossart, H.-P., y Kroth, P. G. (2011). Growth and release of extracellular organic compounds by benthic diatoms depend on interactions with bacteria. *Environmental Microbiology*, 13(4), 1052–1063. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2010.02411.x>
- Canfield, D. E. (2004). The early history of atmospheric oxygen: Homage to Robert M. Garrels. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences*, 33(1), 1–36. <https://doi.org/10.1146/annurev.earth.33.092203.122711>
- Cárcamo Cabrera, J. R. (2017). *Evaluación de la productividad primaria y la concentración de clorofila a en los lagos cráter La Preciosa y Atexcac, en la cuenca oriental, Puebla*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Carrasco-Núñez, G., Ort, M. H., y Romero, C. (2007). Evolution and hydrological conditions of a maar volcano (Atexcac crater, Eastern Mexico). *Journal of Volcanology and Geothermal Research*, 159(1), 179–197. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jvolgeores.2006.07.001>
- Chacón, E., Aranda-Gómez, J. J., Torres, F., y Masuch Oesterreich, D. (2015). Las Microbialitas subfósiles del Lago Cráter de Alchichica. En: Castañeda Posadas, L. *El Registro Paleobiológico del Estado de Puebla*, 231-271 pp.
- Chacon-Baca, E. (2002). *Estudio biogeoquímico de los estromatolitos tarahumaras*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Chagas, A. A. P., Webb, G. E., Burne, R. V., y Southam, G. (2016). Modern lacustrine microbialites: Towards a synthesis of aqueous and carbonate geochemistry and mineralogy. *Earth-Science Reviews*, 162, 338–363. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2016.09.012>
- Congestri, R., y Albertano, P. (2011). Benthic Diatoms in Biofilm Culture. En J. Seckbach & P. Kociolek (Eds.), *The diatom world* (pp. 227–243). Dordrecht: Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-1327-7\\_10](https://doi.org/10.1007/978-94-007-1327-7_10)
- Couradeau, E., Benzerara, K., Moreira, D., Gérard, E., Kaźmierczak, J., Tavera, R., y López-García, P. (2011). Prokaryotic and Eukaryotic Community Structure in Field and Cultured Microbialites from the Alkaline Lake Alchichica (Mexico). *PLOS ONE*, 6(12), e28767. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0028767>

- Cox, E. J. (2011). Morphology, Cell Wall, Cytology, Ultrastructure and Morphogenetic Studies. En J. Seckbach & P. Kociolek (Eds.), *The Diatom World*. (pp. 21–45). Dordrecht: Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-1327-7\\_2](https://doi.org/10.1007/978-94-007-1327-7_2)
- Decho, A. W. (2015). Localization of Quorum Sensing by Extracellular Polymeric Substances (EPS): Considerations of In Situ Signaling. En S. J. Hagen (Ed.) *The Physical Basis of Bacterial Quorum Communication* (pp. 105–121). New York, NY: Springer New York. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1402-9\\_6](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1402-9_6)
- Decho, A. W., y Gutierrez, T. (2017). Microbial Extracellular Polymeric Substances (EPSs) in Ocean Systems. *Frontiers in Microbiology* 922(8) <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2017.00922>
- Dittrich, M., y Sibling, S. (2010). Calcium carbonate precipitation by cyanobacterial polysaccharides. *Geological Society, London, Special Publications*, 336(1), 51 LP-63. <http://sp.lyellcollection.org/content/336/1/51.abstract>
- Dupraz, C., Reid, R. P., Braissant, O., Decho, A. W., Norman, R. S., y Visscher, P. T. (2009). Processes of carbonate precipitation in modern microbial mats. *Earth-Science Reviews*, 96(3), 141–162. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.earscirev.2008.10.005>
- Dupraz, C., & Visscher, P. T. (2005). Microbial lithification in marine stromatolites and hypersaline mats. *Trends in Microbiology*, 13(9), 429–438. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2005.07.008>
- Falcón, L. I., Escobar-Briones, E., y Romero, D. (2002). Nitrogen fixation patterns displayed by cyanobacterial consortia in Alchichica crater-lake, Mexico. *Hydrobiologia*, 467(1), 71–78. <https://doi.org/10.1023/A:1014984629985>
- Falkowski, P. (2012). *The Global Carbon Cycle: Biological Processes. Fundamentals of Geobiology*. <https://doi.org/10.1002/9781118280874.ch2>
- Felz, S., Al-Zuhairy, S., Aarstad, O. A., van Loosdrecht, M. C. M., y Lin, Y. M. (2016). Extraction of Structural Extracellular Polymeric Substances from Aerobic Granular Sludge. *Journal of Visualized Experiments: JoVE*, (115), 54534. <https://doi.org/10.3791/5453>
- Filonov, A., Tereshchenko, I., Alcocer, J., y Monzón, C. (2015). Dynamics of internal waves generated by mountain breeze in Alchichica Crater Lake, Mexico. *Geofísica Internacional*, 54(1), 21–30. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.gi.2015.04.001>
- Flemming, H.-C., y Wingender, J. (2010). The biofilm matrix. *Nature Reviews. Microbiology*, 8(9), 623–633. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2415>

- Flemming, H.-C., Wingender, J., Szewzyk, U., Steinberg, P., Rice, S. A., y Kjelleberg, S. (2016). Biofilms: an emergent form of bacterial life. *Nature Reviews. Microbiology*, 14(9), 563–575. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.9>
- Gaiser, E., Hée, J. M. La, Tobias, F. A. C., y Wachnicka, A. H. (2010). *Mastogloia smithii* var *lacustris* Grun.: A Structural Engineer of Calcareous Mats in Karstic Subtropical Wetlands. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*, 160(1), 99–112. <https://doi.org/10.1635/053.160.0111>
- Gérard, E., Menez, B., Couradeau, E., Moreira, D., Benzerara, K., Tavera, R., y Lopez-Garcia, P. (2013). Specific carbonate-microbe interactions in the modern microbialites of Lake Alchichica (México). *The ISME Journal*, 7(10), 1997–2009. <https://doi.org/10.1038/ismej.2013.81>
- Gerbersdorf, S. U., Westrich, B., y Paterson, D. M. (2009). Microbial Extracellular Polymeric Substances (EPS) in Fresh Water Sediments. *Microbial Ecology*, 58(2), 334–349. <https://doi.org/10.1007/s00248-009-9498-8>
- Gerdes, G. (2010). What are Microbial Mats?. En J. Seckbach y A. Oren (Eds.) *Microbial Mats: Modern and Ancient Microorganisms in Stratified Systems* (pp. 3–25). Dordrecht: Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-90-481-3799-2\\_1](https://doi.org/10.1007/978-90-481-3799-2_1)
- Guiry, M.D. & Guiry, G.M. 2018. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>
- Hamsher, S., L Graeff, C., Stepanek, J., & Kociolek, P. (2014). Frustular morphology and polyphyly in freshwater Denticula (Bacillariophyceae) species, and the description of Tetralunata gen. nov. (Epithemiaceae, Rhopalodiales). *Plant Ecology and Evolution* 147(3): 346–365. <https://doi.org/10.5091/plecevo.2014.990>
- Hernández-Avilés, J. S., Bernal-Brooks, F., Velarde, G., Ortíz, D., Lind, O., y Dávalos-Lind, L. (2001). The algal growth potential and algae growth-limiting nutrients for 30 of Mexico's lakes and reservoirs. *The Internationale Vereinigung Für Limnologie*, 27, 3583–3588.
- Hernández-Avilés, J. S., Macek, M., Alcocer, J., López-Trejo, B., y Merino-Ibarra, M. (2010). Prokaryotic picoplankton dynamics in a warm-monomictic saline lake: temporal and spatial variation in structure and composition. *Journal of Plankton Research*, 32(9), 1301–1314. <http://dx.doi.org/10.1093/plankt/fbq047>
- Hernández-Isunza, U. S. L. (2018). *Estudio ecofisiológico del copépodo Leptodiaptomus cf. sicilis a cambios de composición iónica y salinidad*. Universidad Nacional Autónoma de México.

- Hug, L. A., Baker, B. J., Anantharaman, K., Brown, C. T., Probst, A. J., Castelle, C. J., Banfield, J. F. (2016). A new view of the tree of life. *Nature Microbiology*, 1, 16048. <http://dx.doi.org/10.1038/nmicrobiol.2016.48>
- INEGI. (2010). Guadalupe Victoria, Puebla. *Compendio de información geográfica municipal 2010*. México
- INEGI. (2010). Tepeyehualco, Puebla. *Compendio de información geográfica municipal 2010*. México
- Jakubovics, N., Shields, R., Rajarajan, N. y Burgess, J. (2013), Life after death: the critical role of extracellular DNA in microbial biofilms. *Lett Appl Microbiol*, 57: 467-475. <http://doi:10.1111/lam.12134>
- Jones, B., y Peng, X. (2014). Hot spring deposits on a cliff face: A case study from Jifei, Yunnan Province, China. *Sedimentary Geology*, 302, 1–28. [doi.org/10.1016/j.sedgeo.2013.12.009](http://doi.org/10.1016/j.sedgeo.2013.12.009)
- Jüttner, I., Gurung, S., Sharma, C., Sharma, S., de Haan, M., y Van de Vijver, B. (2010). Morphology of new taxa in the *Cymbella aspera* and *Cymbella neocistula* groups, *Cymbella yakii* sp. nov., and *Cymbella* cf. *hantzschiana* from Everest National Park, Nepal. *Polish Botanical Journal* 55(1): 73–92.
- Kamikawa, R., Azuma, T., Ishii, K., Matsuno, Y., & Miyashita, H. (2018). Diversity of Organellar Genomes in Non-photosynthetic Diatoms. *Protist*, 169(3), 351–361. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.protis.2018.04.009>
- Kaźmierczak, J., Kempe, S., Kremer, B., López-García, P., Moreira, D., y Tavera, R. (2011). Hydrochemistry and microbialites of the alkaline crater lake Alchichica, Mexico. *Facies*, 57, 543–570. <https://doi.org/10.1007/s10347-010-0255-8>
- Kneip, C., Lockhart, P., Voss, C., y Maier, U. G. (2007). Nitrogen fixation in eukaryotes--new models for symbiosis. *BMC Evol Biol*, 55(7): 1-12. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-7-55>
- Kociolek, P. (2011). *Rhopalodia gibba*. In *Diatoms of the United States*. Obtenido Mayo 24, 2018, [http://westerndiatoms.colorado.edu/taxa/species/rhopalodia\\_gibba](http://westerndiatoms.colorado.edu/taxa/species/rhopalodia_gibba)
- Konhauser, K., & Riding, R. (2012). Bacterial Biomineralization. En A. H. Knoll, D. Canfield, y K. Konhauser (Eds.), *Fundamentals of Geobiology* (pp. 105–130). <https://doi.org/doi:10.1002/9781118280874.ch8>

- Kouzuma, A., & Watanabe, K. (2015). *Exploring the potential of algae/bacteria interactions*. *Current opinion in biotechnology* 33: 125-129.  
<https://doi.org/10.1016/j.copbio.2015.02.007>
- Krammer, K. (2002). *Diatoms of Europe. Diatoms of the European Inland Waters and Comparable Habitats. Volume 3: Cymbella*. (H. Lange-Bertalot, Ed.). Gantner Verlag.
- Krumbein, W. E., Brehm, U., Gerdes, G., Gorbushina, A. A., Levit, G., y Palinska, K. A. (2003). Biofilm, Biodictyon, Biomat Microbialites, Oolites, Stromatolites Geophysiology, Global Mechanism, Parahistology. In W. E. Krumbein, D. M. Paterson, & G. A. Zavarzin (Eds.), *Fossil and Recent Biofilms: A Natural History of Life on Earth* (pp. 1–27). Dordrecht: Springer Netherlands.  
[https://doi.org/10.1007/978-94-017-0193-8\\_1](https://doi.org/10.1007/978-94-017-0193-8_1)
- Kumar, S., Baweja, P., & Sahoo, D. (2015). Diatoms: Yellow or Golden Brown Algae. En D. Sahoo & J. Seckbach (Eds.), *The algae world* (pp. 235–258). Dordrecht: Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-94-017-7321-8\\_8](https://doi.org/10.1007/978-94-017-7321-8_8)
- Lee, S. S., Gaiser, E. E., Van De Vijver, B., Edlund, M. B., y Spaulding, S. A. (2014). Morphology and typification of *Mastogloia smithii* and *M. lacustris*, with descriptions of two new species from the Florida Everglades and the Caribbean region. *Diatom Research*, 29(4), 325–350.  
<https://doi.org/10.1080/0269249X.2014.889038>
- Lehninger, A. (2000). *Principios de Bioquímica*. Barcelona: Omega.
- Limoli, D. H., Jones, C. J., & Wozniak, D. J. (2015). Bacterial Extracellular Polysaccharides in Biofilm Formation and Function. *Microbiology Spectrum*, 3(3). <http://doi.org/10.1128/microbiolspec.MB-0011-2014>
- López-García, P., Eme, L., y Moreira, D. (2017). Symbiosis in eukaryotic evolution. *Journal of Theoretical Biology*, 434, 20–33.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2017.02.031>
- López-García, P., Kaźmierczak, J., Benzerara, K., Kempe, S., Guyot, F., y Moreira, D. (2005). Bacterial diversity and carbonate precipitation in the giant microbialites from the highly alkaline Lake Van, Turkey. *Extremophiles*, 9(4), 263–274. <https://doi.org/10.1007/s00792-005-0457-0>
- López Vázquez, C. (2018). Composición y abundancia del fitoplancton antes, durante y después del evento de emblanquecimiento “whiting event” en el lago Atexcac, Puebla. UNAM.

- Lowe, R, y Kheiri, S. (2015). *Cyclotella meneghiniana*. In *Diatoms of North America*. Obtenido: Mayo 24, 2018, [https://diatoms.org/species/cyclotella\\_meneghiniana](https://diatoms.org/species/cyclotella_meneghiniana)
- Lowe, R. L. (2011). The Importance of Scale in Understanding the Natural History of Diatom Communities. En J. Seckbach & P. Kociolek (Eds.), *The diatom world* (pp. 293–311). Dordrecht: Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-1327-7\\_13](https://doi.org/10.1007/978-94-007-1327-7_13)
- Macek, M., Alcocer, J., Lugo, A., Martínez-Pérez, & Peralta, L. (2009). Long term picoplankton dynamics in a warm-monomictic, tropical high altitude lake. *Journal of Limnology*, 68(2), 183–192. <https://doi.org/10.3274/JL09-68-2-03>
- Mancilla-Villa, O., Laura Bautista Olivas, A., Manuel Ortega Escobar, H., Sánchez Bernal, E., Can Chulim, Á., Guevara, R., y Ortega, M. (2014). Hidrogeoquímica de salinas Zapotitlán y los lagos-cráter Alchichica y Atexcac, Puebla. *Idesia (Arica)*, 32, 55–69. <https://doi.org/10.4067/S0718-34292014000100007>
- Mann, D. G. (1999). The species concept in diatoms. *Phycologia*, 38(6), 437–495. <https://doi.org/10.2216/i0031-8884-38-6-437.1>
- Mann, D. G., Crawford, R. M., & Round, F. E. (2017). Bacillariophyta. In J. M. Archibald, A. G. B. Simpson, & C. H. Slamovits (Eds.), *Handbook of the Protists* (pp. 205–266). Cham: Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-28149-0\\_29](https://doi.org/10.1007/978-3-319-28149-0_29)
- Melchers F. C. y Ferrando H. J. (1956) técnica para el estudio de las diatomeas 7 (1,2) 151–160.
- Milligan, A. J., & Morel, F. M. M. (2002). A Proton Buffering Role for Silica in Diatoms. *Science*, 297(5588), 1848 LP-1850. <http://science.sciencemag.org/content/297/5588/1848.abstract>
- Mlewski, E. C., Pisapia, C., Gomez, F., Lecourt, L., Soto Rueda, E., Benzerara, K., Gérard, E. (2018). Characterization of Pustular Mats and Related Rivularia-Rich Laminations in Oncoids From the Laguna Negra Lake (Argentina). *Frontiers in Microbiology*, 9, 996. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00996>
- Molino, P. J., y Wetherbee, R. (2008). The biology of biofouling diatoms and their role in the development of microbial slimes. *Biofouling*, 24(5), 365–379. <https://doi.org/10.1080/08927010802254583>
- Morales, E. (2010). *Pseudostaurosira brevistriata*. En *Diatoms of the United States*. Obtenido Mayo 24, 2018, [http://westerndiatoms.colorado.edu/taxa/species/pseudostaurosira\\_brevistriata](http://westerndiatoms.colorado.edu/taxa/species/pseudostaurosira_brevistriata)

- Moran Ventura, M. (2016). *Estructura de la comunidad fitoplanctónica durante las etapas hidrodinámicas del lago La Preciosa, Puebla*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Moreira, D., Tavera, R., Benzerara, K., Skouri-Panet, F., Couradeau, E., Gérard, E., y López-García, P. (2017). Description of *Gloeomargarita lithophora* gen. nov., sp. nov., a thylakoid-bearing, basal-branching cyanobacterium with intracellular carbonates, and proposal for Gloeomargaritales ord. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 67(3), 653–658.  
<http://ijs.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/ijsem.0.001679>
- Moreira, D., Tavera, R., Benzerara, K., Skouri-Panet, F., y Couradeau, E. Description of *Gloeomargarita lithophora* gen. nov., sp. nov., a thylakoid-bearing, basal-branching cyanobacterium with intracellular carbonates, and proposal for Gloeomargaritales ord. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*.
- Müller-Melchers, F. C. y Ferrando, H. J. (1956) Técnica para el estudio de las diatomeas. *Boletín del Instituto Oceanográfico*, 7 (12) 151-160.  
<http://dx.doi.org/10.1590/S0373-55241956000100009>.
- Nakayama, T., Ikegami, Y., Nakayama, T., Ishida, K., Inagaki, Y., y Inouye, I. (2011). Spheroid bodies in rhopalodiacean diatoms were derived from a single endosymbiotic cyanobacterium. *Journal of Plant Research*, 124(1), 93–97.  
<https://doi.org/10.1007/s10265-010-0355-0>
- Novelo, E. (2012). *Bacillariophyta. flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán*. Ciudad de México: Instituto de Biología. UNAM.
- Ohmoto, S., Runnegar, B., Lee, R., Marilyn, L., Balz, K., Ariel, D., Watanabe, Y. (2008). Biosignatures in Ancient Rocks: A Summary of Discussions at a Field Workshop on Biosignatures in Ancient Rocks. *Astrobiology*, 8(5), 883–907.
- Oliva, M. G., Lugo, A., Alcocer, J., y Cantoral-Uriza, E. A. (2006). *Cyclotella alchichicana* sp. nov. from a saline mexican lake. *Diatom Research*, 21(1), 81–89. <https://doi.org/10.1080/0269249X.2006.9705653>
- Oliva, M. G., Lugo, A., Alcocer, J., y Cantoral-Uriza, E. A. (2008). Morphological study of *Cyclotella choctawhatcheeana* Prasad (Stephanodiscaceae) from a saline Mexican lake. *Saline Systems*, 4, 17. <https://doi.org/10.1186/1746-1448-4-17>
- Pajares, S., Merino-Ibarra, M., Macek, M., y Alcocer, J. (2017). Vertical and seasonal distribution of picoplankton and functional nitrogen genes in a high-

- altitude warm-monomictic tropical lake. *Freshwater Biology*, 62(7), 1180–1193. <https://doi.org/10.1111/fwb.12935>
- Pavlov, A., Jovanovska, E., Wetzel, C. E., Ector, L., y Levkov, Z. (2016). Freshwater *Mastogloia* (Bacillariophyceae) taxa from Macedonia, with a description of the epizoic *M. sterijovskii* sp. nov. *Diatom Research*, 31(2), 85–112. <https://doi.org/10.1080/0269249X.2016.1157376>
- Prasad, A., y Nienow, J. (2006). The centric diatom genus *Cyclotella*, (Stephanodiscaceae: Bacillariophyta) from Florida Bay, USA, with special reference to *Cyclotella choctawhatcheeana* and *Cyclotella desikacharyi*, a new marine species related to the *Cyclotella striata* complex. *Phycologia*, 45(2), 127–140. <https://doi.org/10.2216/05-13.1>
- Prechtel, J., Kneip, C., Lockhart, P., Wenderoth, K., y Maier, U. G. (2004). Intracellular Spheroid Bodies of *Rhopalodia gibba* Have Nitrogen-Fixing Apparatus of Cyanobacterial Origin. *Mol Biol Evol*, 21. <https://doi.org/10.1093/molbev/msh086>
- Preston, L. J., Melim, L. A., Polyak, V. J., Asmerom, Y., y Southam, G. (2014). Infrared Spectroscopic Biosignatures from Hidden Cave, New Mexico: Possible Applications for Remote Life Detection. *Geomicrobiology Journal*, 31(10), 929–941. <https://doi.org/10.1080/01490451.2014.913096>
- Ragon, M., Benzerara, K., Moreira, D., Tavera, R., y López-García, P. (2014). 16S rDNA-based analysis reveals cosmopolitan occurrence but limited diversity of two cyanobacterial lineages with contrasted patterns of intracellular carbonate mineralization. *Frontiers in Microbiology*. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2014.00331>
- Ramírez-Olvera, M. A., Alcocer, J., Merino-Ibarra, M., y Lugo, A. (2009). Nutrient limitation in a tropical saline lake: a microcosm experiment. *Hydrobiologia*, 626(1), 5–13. <https://doi.org/10.1007/s10750-009-9733-9>
- Raven, A. J., y Waite, A. (2004). The evolution of silicification in diatoms: inescapable sinking and sinking as escape? *New Phytologist*, 162(1), 45–61. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01022.x4>
- Reid, R. P., Visscher, P. T., Decho, A. W., Stolz, J. F., Bebout, B. M., Dupraz, C., DesMarais, D. J. (2000). The role of microbes in accretion, lamination and early lithification of modern marine stromatolites. *Nature*, 406, 989. <https://dx.doi.org/10.1038/35023158>
- Roeselers, G., Loosdrecht, M. C. M. van, y Muyzer, G. (2008). Phototrophic biofilms and their potential applications. *Journal of Applied Phycology*, 20(3), 227–235. <http://doi.org/10.1007/s10811-007-9223-2>

- Romero, O. E., y Jahn, R. (2013). Typification of *Cocconeis lineata* and *Cocconeis euglypta* (Bacillariophyta). *Diatom Research*, 28(2), 175–184.  
<https://doi.org/10.1080/0269249X.2013.770801>
- Rosas, J. (2018). *Evaluación del potencial productivo de los máximos profundos de clorofila a través de la productividad primaria en el lago volcánico tropical Atexcac, Puebla*. UNAM.
- Ruck, E. C., Nakov, T., Alverson, A. J., y Theriot, E. C. (2016). Phylogeny, ecology, morphological evolution, and reclassification of the diatom orders Surirellales and Rhopalodiales. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 103(Supplement C), 155–171. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ympev.2016.07.023>
- Ruggiero, M. A., Gordon, D. P., Orrell, T. M., Bailly, N., Bourgoin, T., Brusca, R. C., Kirk, P. M. (2015). A Higher level classification of all Living Organisms. *PLOS ONE*, 10(4), e0119248. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119248>
- Saghaï, A., Zivanovic, Y., Zeyen, N., Moreira, D., Benzerara, K., Deschamps, P., y López-García, P. (2015). Metagenome-based diversity analyses suggest a significant contribution of non-cyanobacterial lineages to carbonate precipitation in modern microbialites 797(6). *Frontiers in Microbiology*.  
<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2015.00797>
- Schönknecht, G., Chen, W.-H., Ternes, C. M., Barbier, G. G., Shrestha, R. P., Stanke, M., Weber, A. P. M. (2013). Gene Transfer from Bacteria and Archaea Facilitated Evolution of an Extremophilic Eukaryote. *Science*, 339(6124),  
<http://science.sciencemag.org/content/339/6124/1207>
- Shniukova, E., y Zolotareva, E. (2015). *Diatom Exopolysaccharides: a Review*. *International Journal on Algae* 17(1): 50–67  
<https://doi.org/10.1615/InterJAlgae.v17.i1.50>
- Shniukova, E. I., y Zolotareva, E. K. (2017). *Ecological Role of Exopolysaccharides of Bacillariophyta: A Review*. *International Journal on Algae* 19(1): 5–24  
<https://doi.org/10.1615/InterJAlgae.v19.i1.10>
- Sigala, I., Caballero, M., Correa-Metrio, A., Lozano-García, S., Vázquez, G., Perez, L., y Zawiza, E. (2017). Basic limnology of 30 continental waterbodies of the Transmexican Volcanic Belt across climatic and environmental gradients. *Boletín de La Sociedad Geológica Mexicana*, 69(2), 313–370.
- Sims, P., Mann, D., y Medlin, L. (2006). *Evolution of the diatoms: Insights from fossil, biological and molecular data*. *Phycologia* (Vol. 45).  
<https://doi.org/10.2216/05-22.1>

- Siqueiros-Beltrones, D., Argumedo-Hernández, U., & Hernández-Almeida, O. (2013). Diagnósis prospectiva sobre la diversidad de diatomeas epilíticas en la laguna Bacalar, Quintana Roo, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 84, 865–875.
- Slate, J. E., y Stevenson, R. J. (2007). The diatom flora of phosphorus-enriched and unenriched sites in an everglades marsh. *Diatom Research*, 22(2), 355–386. <https://doi.org/10.1080/0269249X.2007.9705721>
- Spaulding, S, and Edlund, M . (2008). Navicymbula. In *Diatoms of North America*. Revisado 01 Agosto, 2018. <https://diatoms.org/genera/navicymbula>
- Stal, L. J. (2010). Microphytobenthos as a biogeomorphological force in intertidal sediment stabilization. *Ecological Engineering*, 36(2), 236–245. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2008.12.032>
- Stal, L. J. (2012). Cyanobacterial Mats and Stromatolites. In B. A. Whitton (Ed.), *Ecology of Cyanobacteria II: Their Diversity in Space and Time* (pp. 65–125). Dordrecht: Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-3855-3\\_4](https://doi.org/10.1007/978-94-007-3855-3_4)
- Stinnesbeck, W., Frey, E., Zell, P., Avilés, J., Hering, F., Frank, N., y Deininger, M. (2018). Hells Bells – unique speleothems from the Yucatán Peninsula, Mexico, generated under highly specific subaquatic conditions. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 489, 209–229. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.palaeo.2017.10.012>
- Tall, L., Cattaneo, A., Cloutier, L., Dray, S., & Legendre, P. (2006). Resource partitioning in a grazer guild feeding on a multilayer diatom mat. *Journal of the North American Benthological Society*, 25(4), 800–810. [https://doi.org/10.1899/0887-3593\(2006\)025\[0800:RPIAGG\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1899/0887-3593(2006)025[0800:RPIAGG]2.0.CO;2)
- Tavera, R., y Komárek, J. (1996). Cyanoprokaryotes in the volcanic lake of Alchichica, Puebla State, México. *Algological Studies*, 83, 511–538.
- Toullec, J., & Moriceau, B. (2018). Transparent Exopolymeric Particles (TEP) Selectively Increase Biogenic Silica Dissolution From Fossil Diatoms as Compared to Fresh Diatoms *Frontiers in Marine Science*. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmars.2018.00102>
- Tourney, J., y Ngwenya, B. T. (2014). The role of bacterial extracellular polymeric substances in geomicrobiology. *Chemical Geology*, 386, 115–132. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.chemgeo.2014.08.011>

- Townley, H. (2011). *Diatom Frustules: Physical, Optical, and Biotechnological Applications*. En J. Seckbach & P. Kociolek (Eds.), *The diatom world* (273-289). [https://doi.org/10.1007/978-94-007-1327-7\\_12](https://doi.org/10.1007/978-94-007-1327-7_12)
- Underwood, G. J. C., y Paterson. (2003). The importance of extracellular carbohydrate production by marine epipellic diatoms 40. 183–240 pp. Academic Press. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0065-2296\(05\)40005-1](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0065-2296(05)40005-1)
- Valdespino-Castillo, P. M. (2015). *Identificación del papel diferencial de componentes de la comunidad bacteriana en el ciclo del P: microbialitos y bacterioplancton del lago cráter Alchichica como modelo de estudio*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Valdespino-Castillo, P. M., Hu, P., Merino-Ibarra, M., López-Gómez, L. M., Cerqueda-García, D., González-De Zayas, R., y Falcón, L. I. (2018). Exploring Biogeochemistry and Microbial Diversity of Extant Microbialites in Mexico and Cuba. *Frontiers in Microbiology*. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2018.00510>
- Vishnyakov, V. S., Kulikovskiy, M. S., Genkal, S. I., Dorofeyuk, N. I., Lange-Bertalot, H., y Kuznetsova, I. V. (2014). Taxonomy and geographical distribution of the diatom genus *Epithemia* Kützing in water bodies of Central Asia. *Inland Water Biology*, 7(4), 318–330. <https://doi.org/10.1134/S199508291404018X>
- Vizuet, A. (2015). *Evaluación de la composición del procarioplancton durante el fenómeno de emblanquecimiento “whiting event” en el Lago Volcánico Atexcac, Estado de Puebla*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Ward, B. (2012). The Global Nitrogen Cycle. In A. H. Knoll, D. E. Canfield, & K. Konhauser (Eds.), *Fundamentals of Geobiology* (pp. 36–48).
- Wehr, J. D., y Sheath, R. G. (2015). *Freshwater algae of North America: ecology and classification*. Amsterdam: Elsevier Science & Technology.
- Winsborough, B. M. (2000). Diatoms and Benthic Microbial Carbonates. En R. E. Riding y S. M. Awramik (Eds.), *Microbial Sediments* (pp. 76–83). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/978-3-662-04036-2\\_10](https://doi.org/10.1007/978-3-662-04036-2_10)
- You, Q., Liu, Y., Youfang, W., y Quanxi, W. (2009). Taxonomy and distribution of diatoms in the genera *Epithemia* and *Rhopalodia* from the Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. *Nova Hedwigia*, 89, 397–430. <https://doi.org/10.1127/0029-5035/2009/0089-0397>

Zeyen, N., Benzerara, K., Li, J., Groleau, A., Balan, E., Robert, J.-L., y López-García, P. (2015). Formation of low-T hydrated silicates in modern microbialites from Mexico and implications for microbial fossilization. *Frontiers in Earth Science*, 3, 1-23

<http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/feart.2015.00064>

Zeyen, N., Daval, D., Lopez-Garcia, P., Moreira, D., Gaillardet, J., y Benzerara, K. (2017). Geochemical Conditions Allowing the Formation of Modern Lacustrine Microbialites. *Procedia Earth and Planetary Science*, 17, 380–383.

<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.proeps.2016.12.096>

Zhu, T., y Dittrich, M. (2016). Carbonate Precipitation through Microbial Activities in Natural Environment, and Their Potential in Biotechnology: A Review.

*Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 4, 4.

<https://doi.org/10.3389/fbioe.2016.00004>

## Anexo I. Referencias geográficas del muestreo de microbialitos.

Lago	Coordenadas (UTM)	Altitud
La Preciosa	19° 22' 19.4" N 97° 23' 4.9" O	2178 m s.n.m.
	19° 22' 27.8" N 97° 22' 57.3" O	2180 m s.n.m.
	19° 22' 20.2" N 97° 22' 57.4" O	2175 m s.n.m.
Atexcac	19° 20' 7.1" N 97° 27' 12" O	2345 m s.n.m.
	19° 20' 5.3" N 97° 27' 19.2" O	2340 m s.n.m.
	19° 20' 20.7" N 97° 27' 3.1" O	2332 m s.n.m.
Alchichica	19° 24' 25.4" N 97° 23' 58.9" O	2309 m s.n.m.
	19° 24' 42.4" N 97° 23' 41.3" O	2323 m s.n.m.
	19° 24' 48.7" N 97° 23' 43" O	2315 m s.n.m.

## Anexo II. Colección de Algas del Herbario Nacional MEXU

### *Epithemia turgida*. (Ehrenb.) Kütz. 1844

4a

Localidad: Atexcac

Especie: *Epithemia turgida*

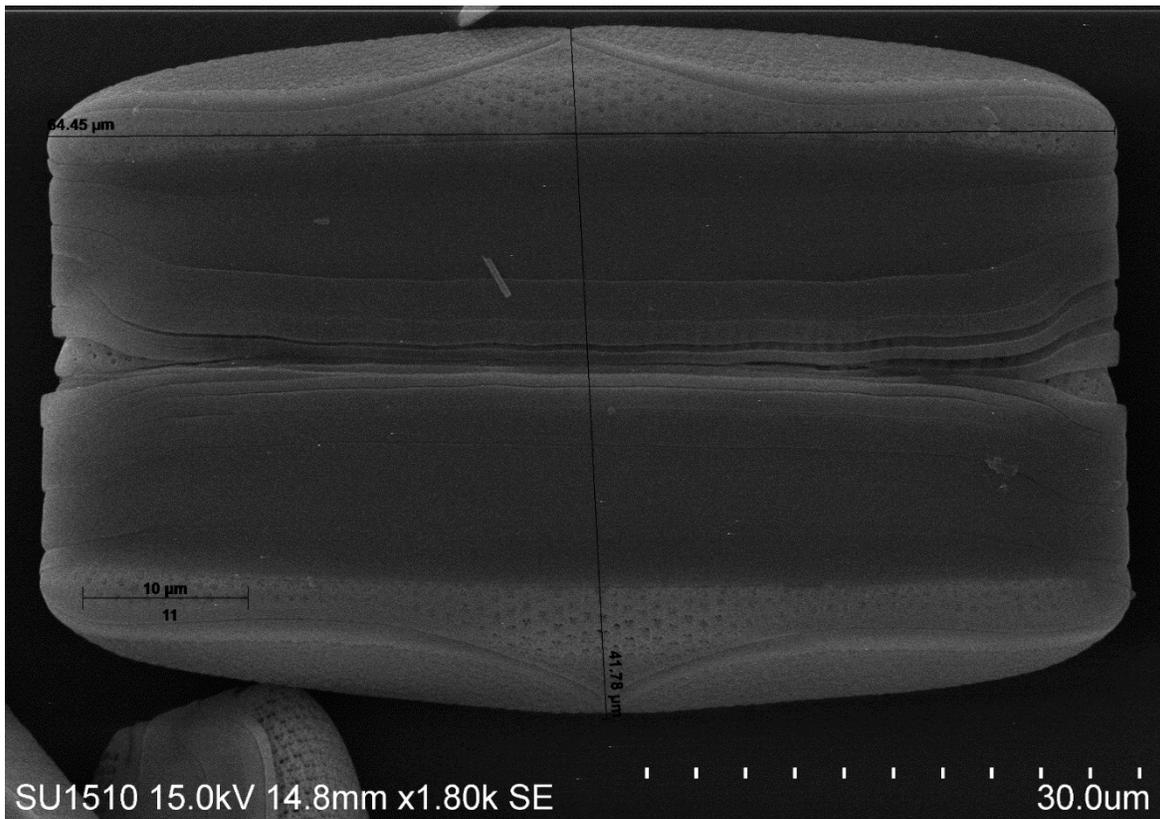
Largo: 38-113 $\mu$ m

Ancho: 7-13  $\mu$ m

Estrias x 10 $\mu$ m: 11

Costa x 10 $\mu$ m: 5

Estrias entre costa: 2



### Anexo III. Lagos y estromatolitos



Imagen 1. Vista 180° de lago La Preciosa



Imagen 2. Vista exterior del lago La Preciosa



Imagen 3. Microbialitos sumergidos del lago La Preciosa.



Imagen 4. Estructuras subfósiles encontradas en el lago La Preciosa



Imagen 5. Vista inmersa de los microbialitos vivos del lago La Preciosa



Imagen 6. Cantidad de diatomeas en los microbialitos del lago La Preciosa.



Imagen 7. Lago Atexcac, durante el florecimiento de *Nodularia spumigena* visto desde la parte superior del cráter, se puede apreciar “Las Derrumbadas” al fondo.



Imagen 8. Lago Atexcac visto desde la parte superior del cráter, muestra la pronunciada pendiente.



Imagen 9. Lago Atexcac visto desde la orilla durante el florecimiento de *N. spumigena*; grandes cantidades de esta alga son arrastradas a la zona litoral.



Imagen 10. Muestreo en el lago Atexcac.



Imagen 11. Microbialitos subfósiles en la pared expuesta del lago Atexcac.



Imagen 12. Colecta de microbialitos en el lago Atexcac.



Imagen 13. Vista exterior del lago Alchichica.



Imagen 14. Microbialitos subfósiles en el lago Alchichica.



Imagen 15. Microbialitos subfósiles en el lago Alchichica.



Imagen 16. Microbialitos vivos del lago Alchichica.



Imagen 17. Microbialitos vivientes en el lago Alchichica.



Imagen 18. Microbialitos vivientes en el lago Alchichica.

## Anexo IV. Diatomeas asociadas a los microbialitos de los lagos

### La Preciosa, Atexcac y Alchichica

***Cocconeis cf. placentula var. lineata*** (Ehrenberg) Van Heurck 1885, La Preciosa

Individuos monoráfidos, valvas elípticas o casi circulares, 16-34  $\mu\text{m}$  de largo y 9-23 de ancho. Valva sin rafe con estrías más gruesas, Valva con rafe se dibuja una zona hialina entre el margen y el rafe. Rafe lineal, interrumpido al centro. Estrías 25-30 en 10  $\mu\text{m}$ . Areolas con forma de punto o pequeños guiones, 8-10 en 10  $\mu\text{m}$ .

Imagen 1.

A: Fotografía de microscopio de barrido. Vista interna de la valva arafída.

B: Fotografía con microscopio óptico. Vista de la valva que contiene al rafe

***Denticula valida*** (Pedicino) Grunow 1885, La Preciosa y Atexcac

Diatomeas solitarias. Frústulas simétricas. Valvas lineales a lanceoladas, 13-34  $\mu\text{m}$  de largo (11-19  $\mu\text{m}$  en la bibliografía) y 3-6  $\mu\text{m}$  de ancho. Cíngulo con extensiones en forma de onda adheridas a las fíbulas. Fíbulas dibujadas en microscopia de luz, en microscopio electrónico solo se observan en vista interna, 4-6 en 10  $\mu\text{m}$ . Estrías paralelas en el centro ligeramente radiadas en los ápices; 22 en 10  $\mu\text{m}$ . Areolas circulares, 6 en 3  $\mu\text{m}$  de estría.

Imagen 2.

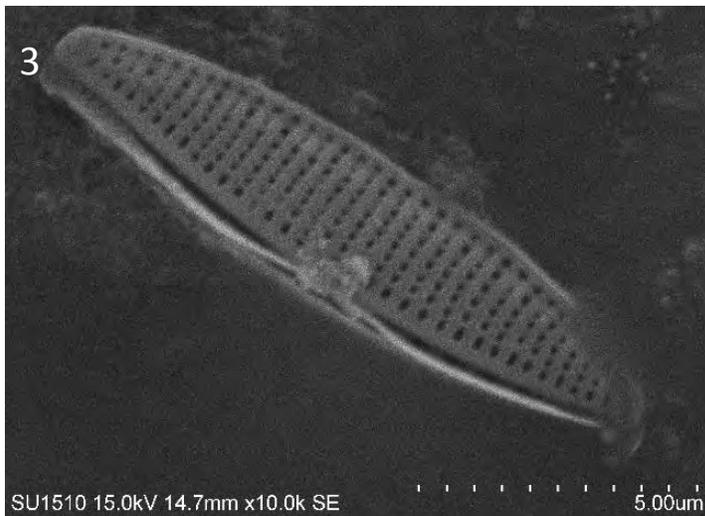
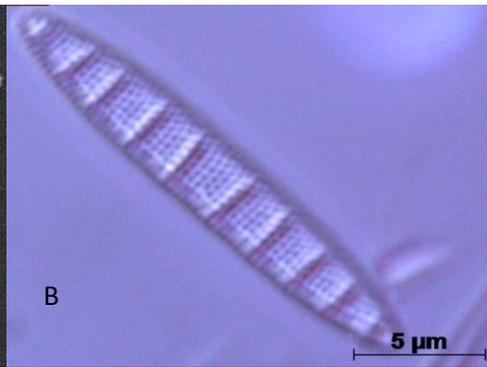
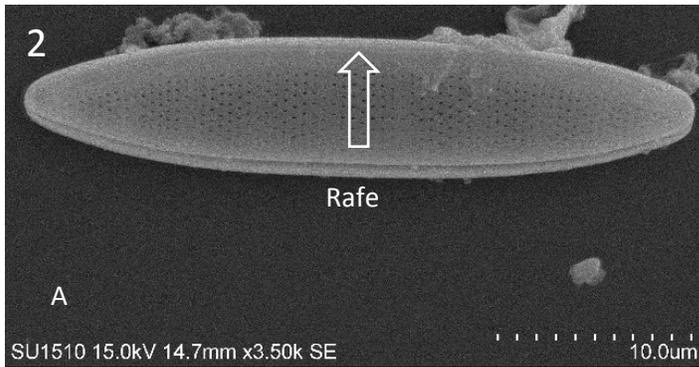
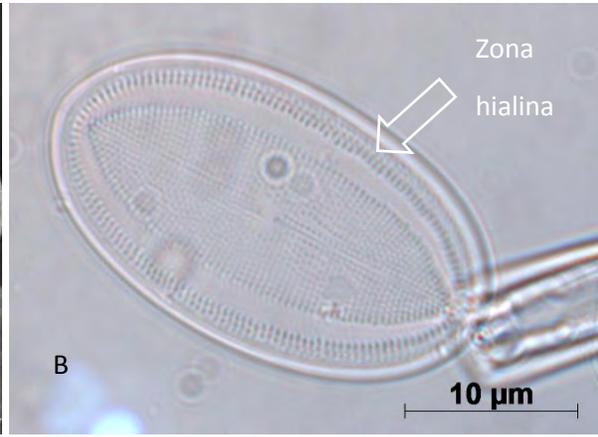
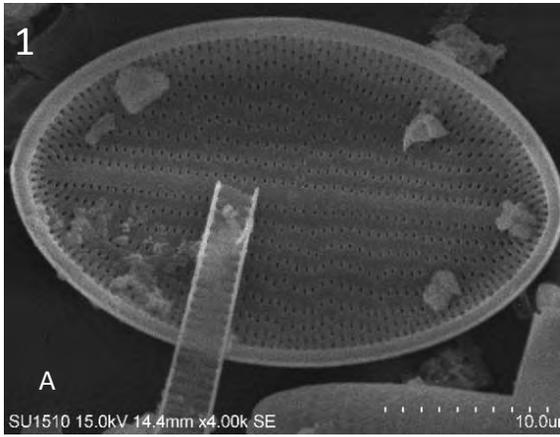
A. Fotografía de microscopio de barrido. Vista externa de la valva, que muestra el rafe cercano al margen derecho.

B. Fotografía de microscopio óptico. Vista valvar.

***Denticula sp. 1***, Alchichica

Imagen 3.

Fotografía de microscopio de barrido. Vista externa de la valva.



***Nitzschia* sp. 1, La Preciosa**

Imagen 4.

A. Fotografía de microscopio de barrido. Vista interna de la valva.

B. Fotografía de microscopio de barrido. Muestra las fíbulas cercanas al margen ventral que externamente soporta al rafe.

***Nitzschia* sp. 2, La Preciosa**

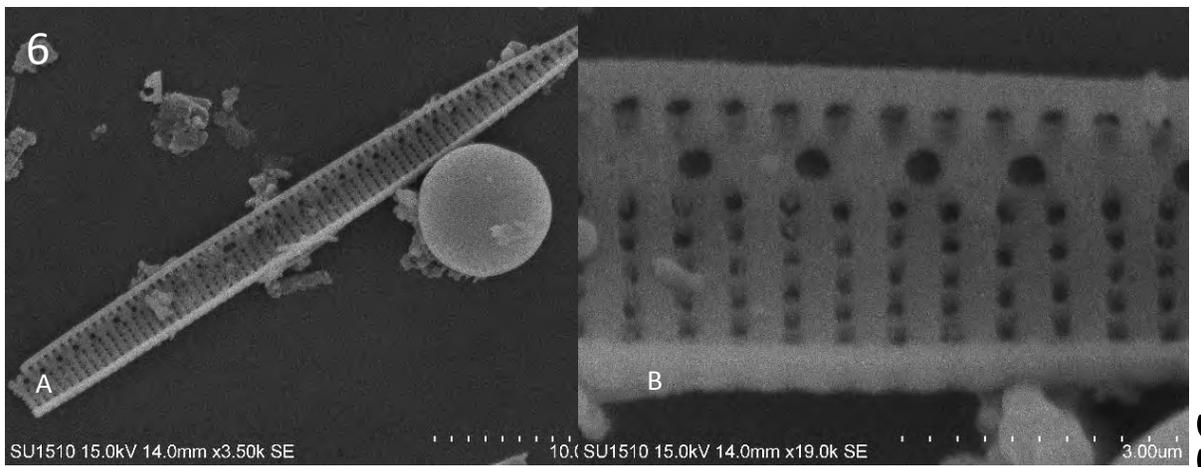
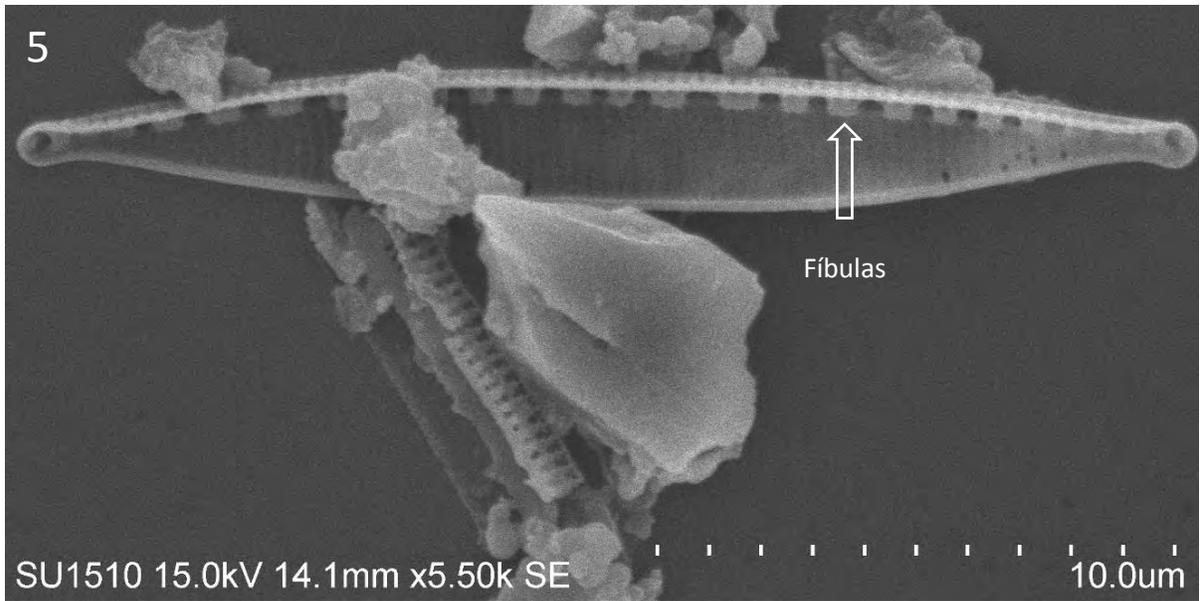
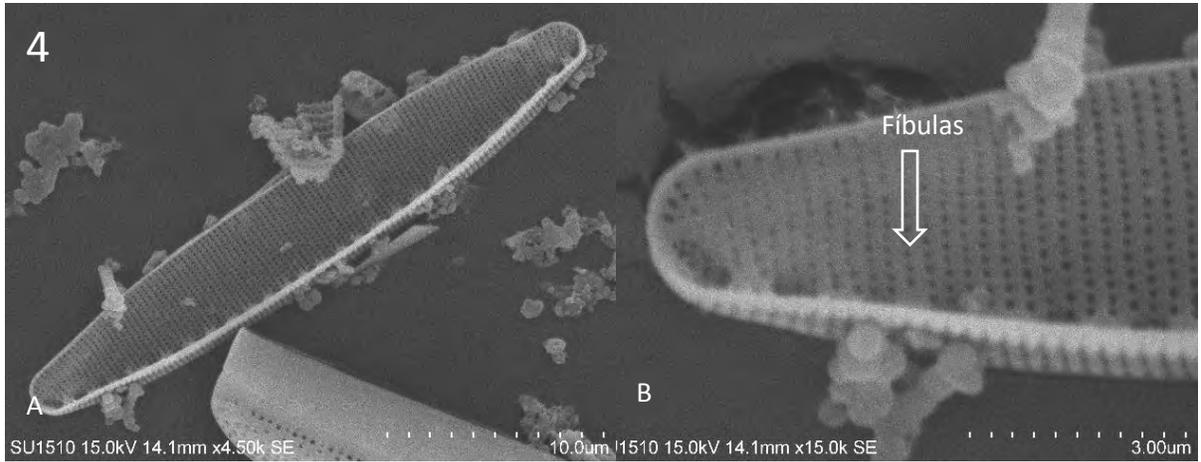
Imagen 5.

Fotografía de microscopio de barrido. Muestra las fíbulas cercanas al margen ventral que externamente soporta al rafe.

***Nitzschia* sp. 3, La Preciosa**

Imagen 7

A. Fotografía de microscopio de barrido. Vista interna de la valva.



***Cymbella hantzschiana*** Krammer 2002, La Preciosa

Diatomeas solitarias. Valvas dorsiventrales con extremos redondeados. Margen dorsal está fuertemente arqueado; el margen ventral es débilmente cóncavo, llegando a ser casi plano en muestras más pequeñas. Rafe lateral, extremos del rafe proximal se desvían ventralmente y terminan en poros débilmente inflados. Los extremos del rafe distal se desvían dorsalmente en un ángulo de 45 grados. Estrías se irradian con mayor intensidad cerca de los ápices, 9-11 en 10  $\mu\text{m}$ . Areolas punteadas, 20-30 en 10  $\mu\text{m}$ . Estigmas ausentes.

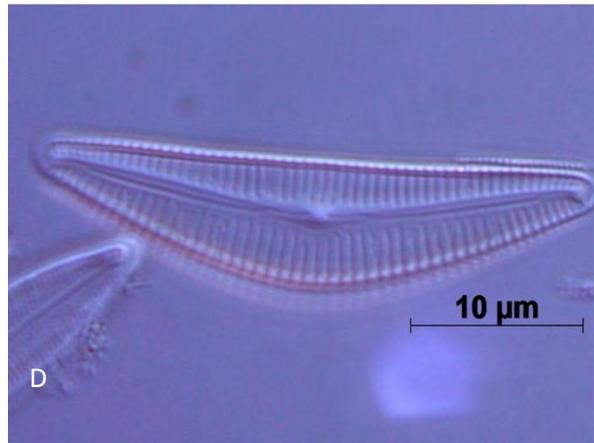
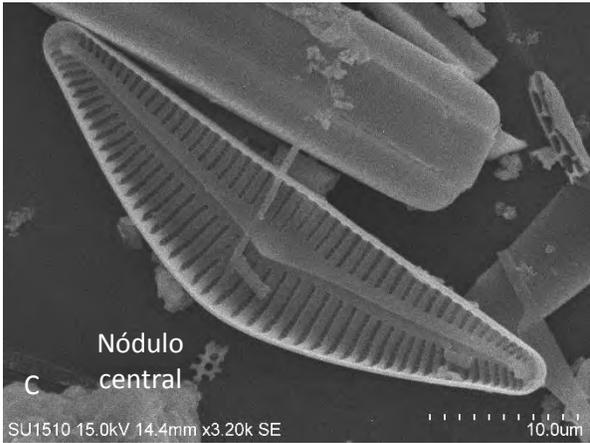
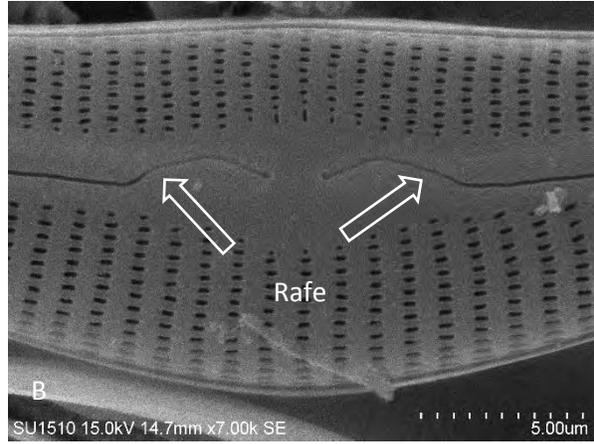
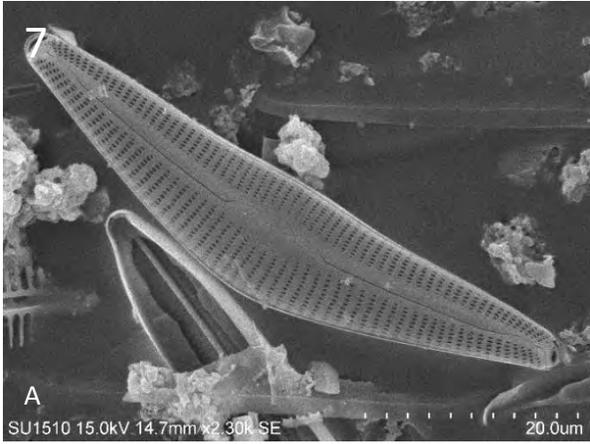
Imagen 7.

- A. Fotografía de microscopio de barrido. Vista externa de la valva
- B. Fotografía de microscopio de barrido. Curvas del rafe en el centro de la valva.
- C. Fotografía de microscopio de barrido. Vista valvar interna. La parte central muestra un nódulo.
- D. Fotografía de microscopio óptico. Vistas valvar.

***Cymbella sp. 1***, La Preciosa

Imagen 8.

Fotografía de microscopio óptico. Vista valvar. Se muestran 6 estigmas en el centro.



***Cymbella* sp 2**, La Preciosa

Imagen 9

A. Fotografía de microscopio de barrido. Vista valvar.

B. Fotografía de microscopio de barrido. Muestra el nódulo central desde la vista interna.

***Cymbella* sp 3**, Atexcac

Imagen 10.

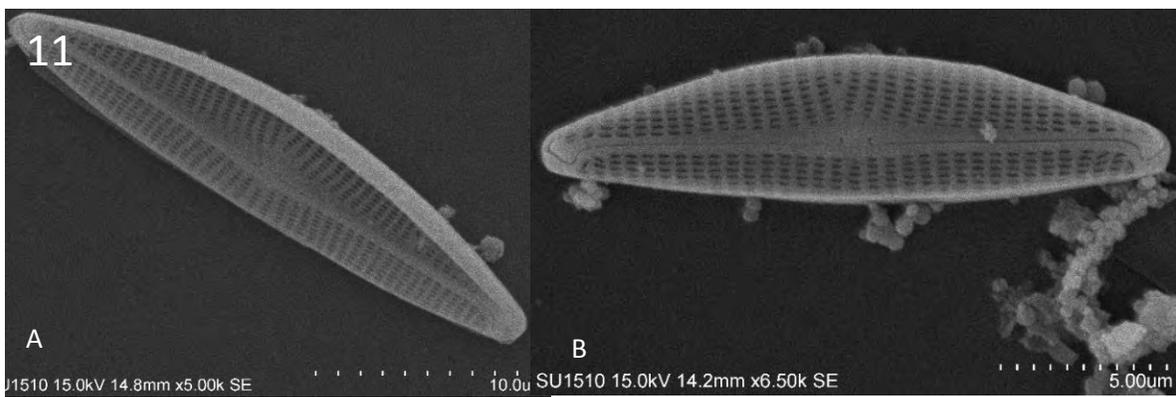
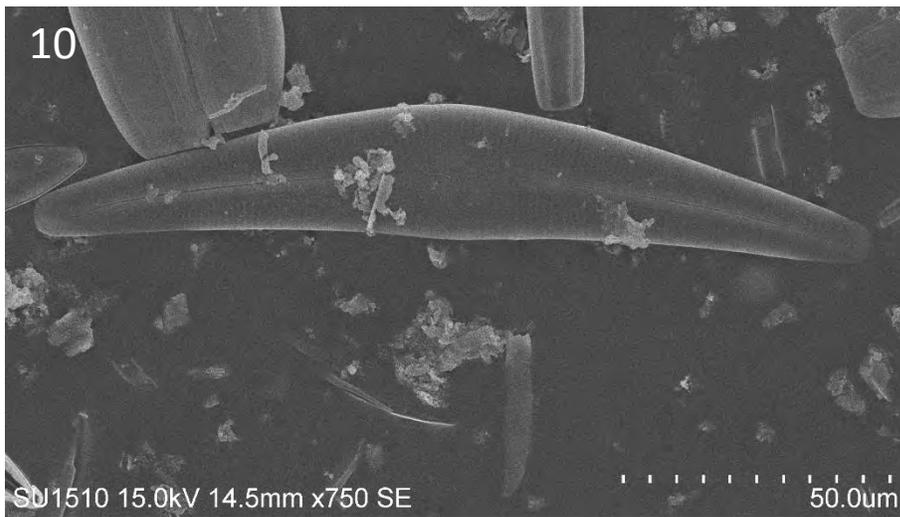
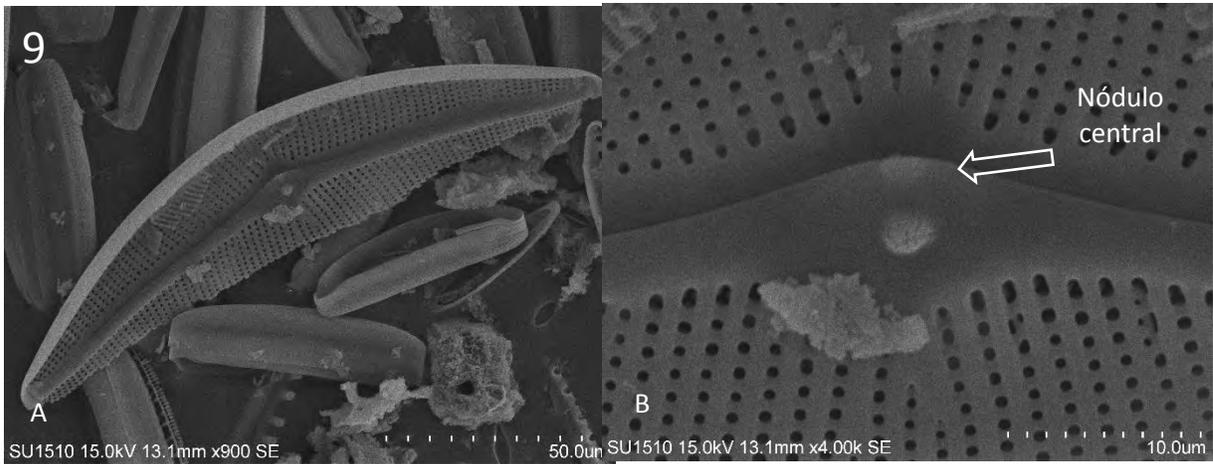
Fotografía de microscopio de barrido. Vista valvar.

***Navicymbulla pusila*** (Grunow) Krammer 2003; La Preciosa, Atexcac y Alchichica

Diatomeas solitarias. Valvas moderadamente dorsiventrales con un margen dorsal arqueado y un margen ventral plano o ligeramente convexo. Rafe recto y débilmente lateral, con extremos proximales externos y fisuras terminales enganchadas al lado dorsal. Estrías se irradian en el centro de la valva, convergiendo en los extremos, 18-22 en 10  $\mu\text{m}$ . Areolas transapicalmente alargadas y 45-55 en 10  $\mu\text{m}$ .

Imagen 11.

A y B. Fotografías de microscopio de barrido. Muestra la vista valvar exterior.



***Gomphonema* sp 1**, Alchichica y La Preciosa

Imagen 12.

- A. Fotografía de microscopio de barrido. Vista externa valvar.
- B. Fotografía de microscopio óptico.

***Mastogloia calcarea*** S. S. Lee, E. E. Gaiser, B. Van de Vijver, M. B. Edlund & Spaulding 2014; La Preciosa

Diatomeas solitarias. Valvas linear lanceoladas, 36-48  $\mu\text{m}$  largo y 8-10  $\mu\text{m}$  ancho. Rafe recto a ondular en la parte central, terminación del rafe curvo hacia el mismo lado en ambos ápices. Estrías radiadas, 19-20 en 10  $\mu\text{m}$ .

Imagen 13.

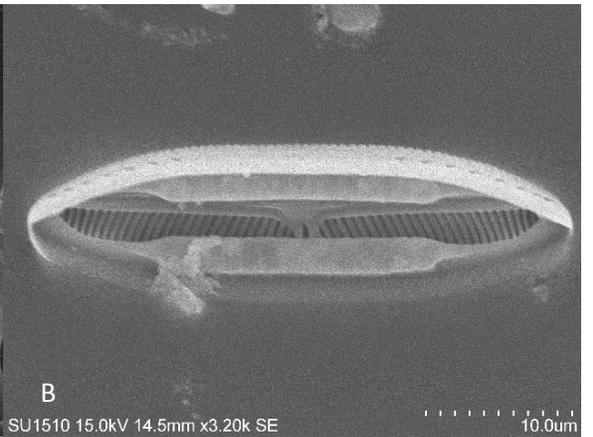
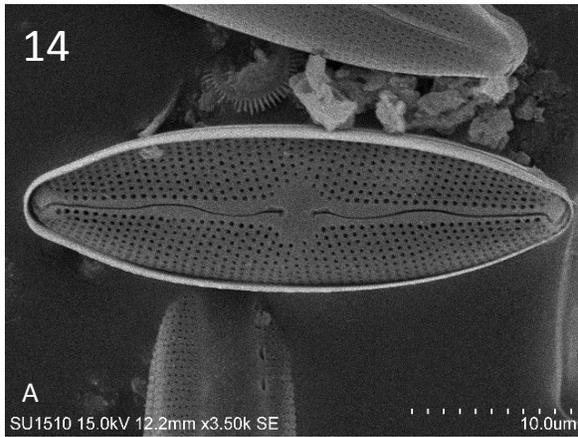
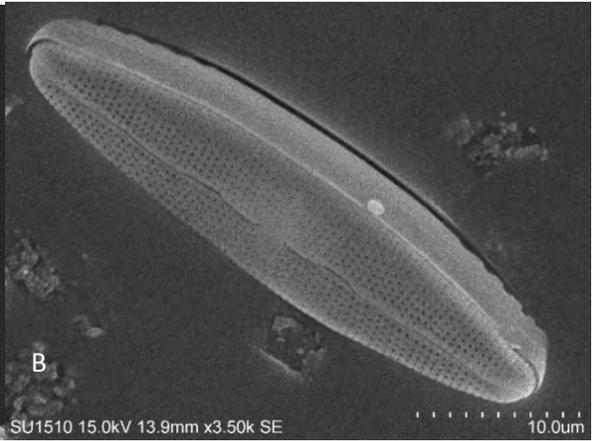
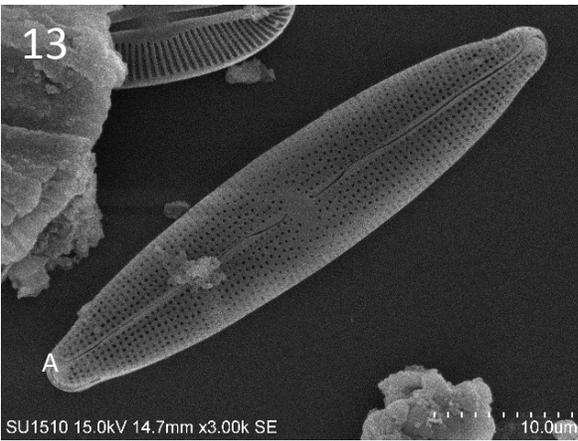
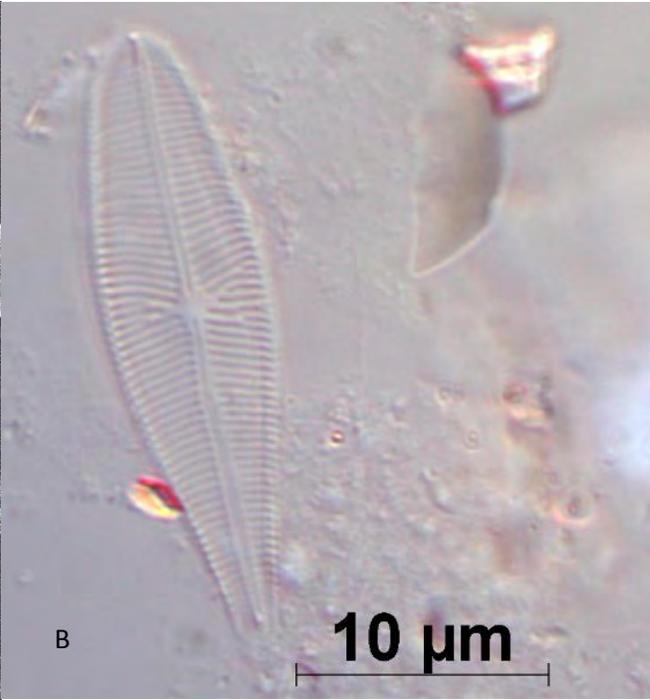
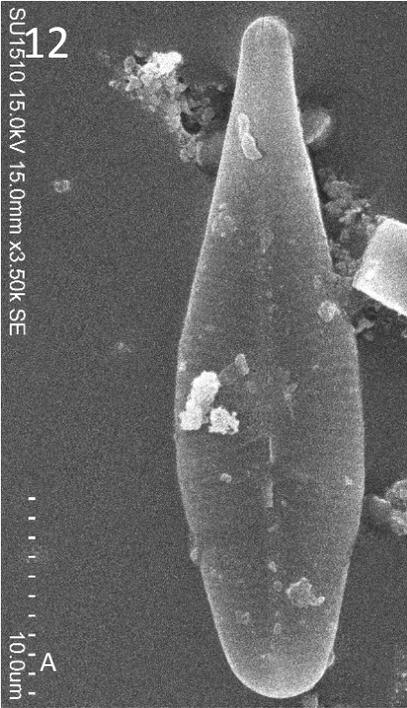
- A. Fotografía de microscopio de barrido. Vista externa de la valva
- B. Fotografía de microscopio de barrido Vista de la valva externa, y del cíngulo

***Mastogloia elliptica*** (C. Agardh) Cleve 1893; Atexcac y Alchichica

Diatomeas solitarias. Valvas lanceoladas o linear lanceoladas 19-45  $\mu\text{m}$  largo y 8-15  $\mu\text{m}$  ancho, ápices redondeados. Estrías radiadas, 14-17 en 10  $\mu\text{m}$  conformadas, rafe curveado a lo largo de la valva con terminación hacia el mismo lado en los ápices. Partectas numerosas y del mismo tamaño.

Imagen 14.

- A. Fotografía de microscopio de barrido. Vista externa de la valva
- B. Fotografía de microscopio de barrido. Vista interna de la valva y partectas



***Mastogloia pseudosmithii*** S. S. Lee, E. E. Gaiser, B. Van de Vijver, M. B. Edlund & Spaulding 2014; La Preciosa

Diatomeas solitarias. Valvas elípticas lanceoladas 35-37  $\mu\text{m}$  largo y 11  $\mu\text{m}$  ancho, ápices rostrados. Rafe recto con una curvatura mediana. Estrías ligeramente radiadas y paralelas en los ápices 16 -17 en 10  $\mu\text{m}$ . Areolas redondas

Imagen 15

A. Fotografía de microscopio de barrido. Vista externa de la valva, estrías casi paralelas

B. Fotografía de microscopio de barrido. Nódulo central

***Mastogloia smithii* var. *lacustris*** Grun Thwaites ex W.Smith 1856; Alchichica

Diatomeas solitarias. Valvas lanceoladas a ligeramente elípticas, 32-39  $\mu\text{m}$  largo y 12  $\mu\text{m}$  ancho. Ápices alargados no capitados, curvados. Rafe parcialmente recto con terminaciones distales curvas que se desvían hacia el mismo lado. Estrías casi paralelas, poco radiadas hacia los ápices, 24 en 10  $\mu\text{m}$ . Áreolas redondas. Partectas todas del mismo tamaño 6 en 10  $\mu\text{m}$ .

Imagen 16A. Fotografía de microscopio de barrido. Vista externa de la valva

B. Fotografía de microscopio de barrido. Vista interna de la valva, partectas y costa axial.

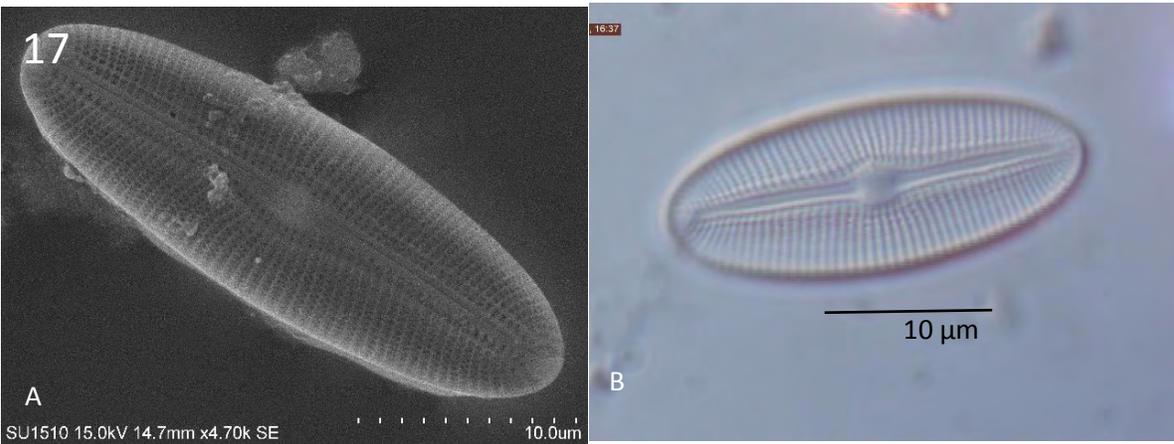
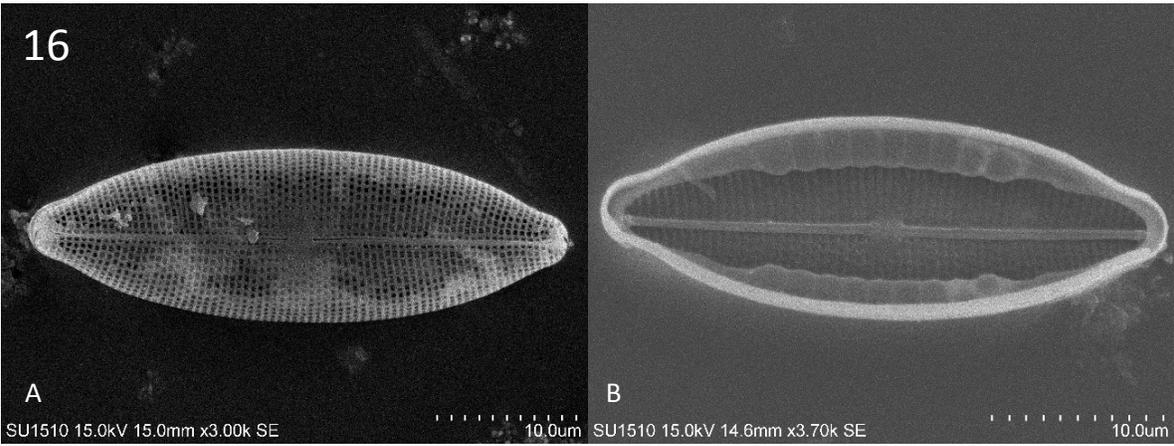
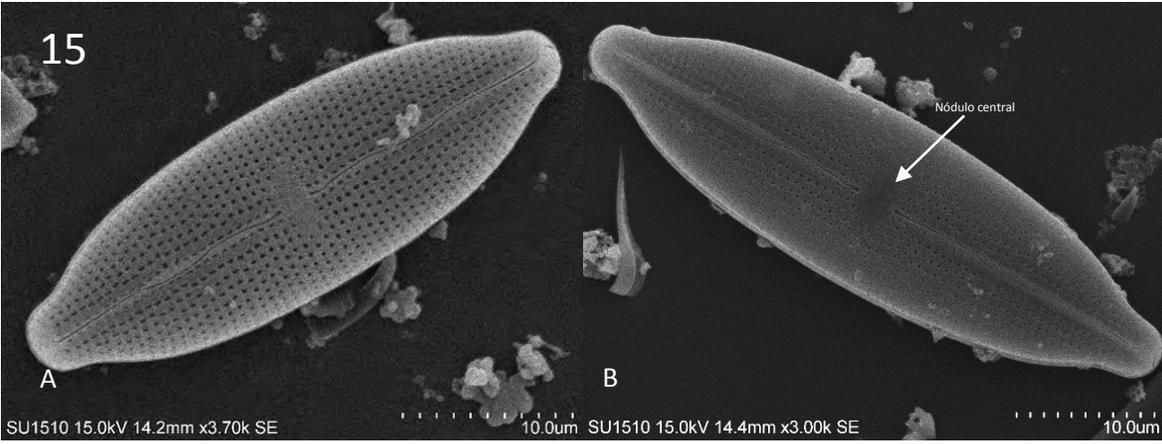
***Diploneis* sp. 1**; La Preciosa, Atexcac y Alchichica

Largo 17 - 28  $\mu\text{m}$ ; Ancho 6 - 10  $\mu\text{m}$ ; Estrías 18 - 24 en 10  $\mu\text{m}$

Imagen 17

A. Fotografía de microscopio de barrido. Vista externa de la valva

b. Fotografía de microscopio óptico. Vista valvar



***Navicula cf. oblonga*** (Kützing) Kützing 1844; La Preciosa

Diatomeas solitarias. Valvas lineares a lineares-lanceoladas, 46-114  $\mu\text{m}$  largo y 11-13  $\mu\text{m}$  ancho. Ápices redondeados, 7-9  $\mu\text{m}$  ancho. Rafe recto que se extiende a lo largo del eje axial en la superficie valvar. Estrías radiadas ligeramente sigmoideas, 7-12 en 10  $\mu\text{m}$ .

Imagen 18

A. Fotografía de microscopio de barrido. Vista externa de la valva.

B. Fotografía de microscopio óptico. Vista valvar.

***Navicula sp.1***; Atexcac

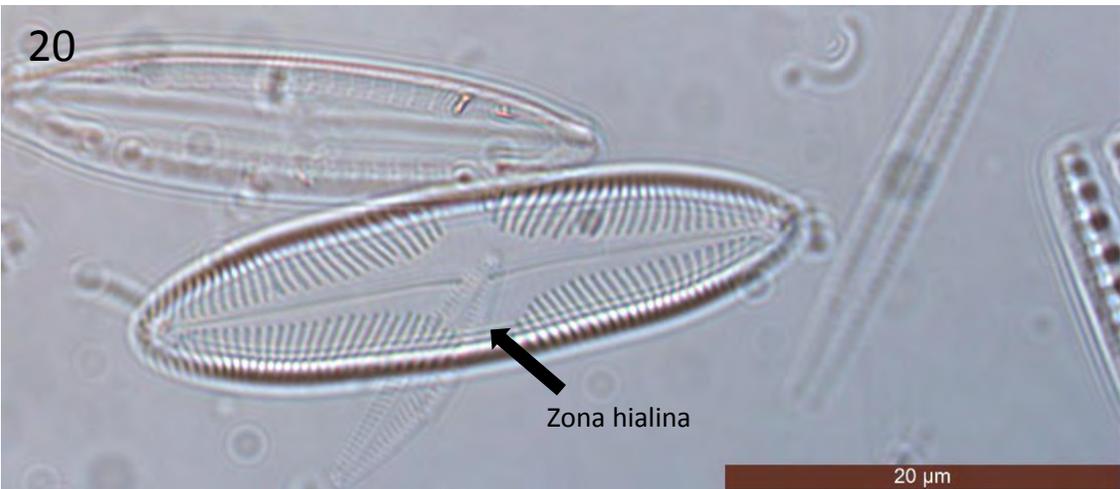
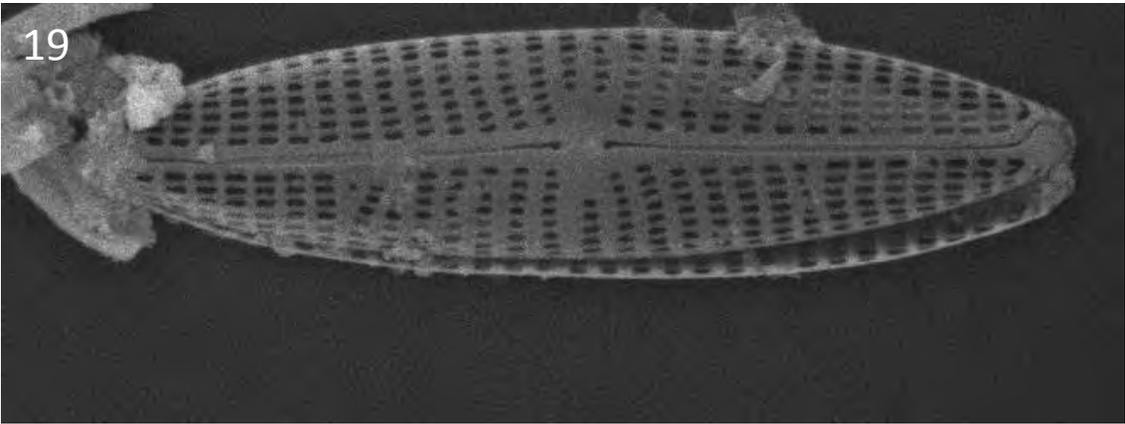
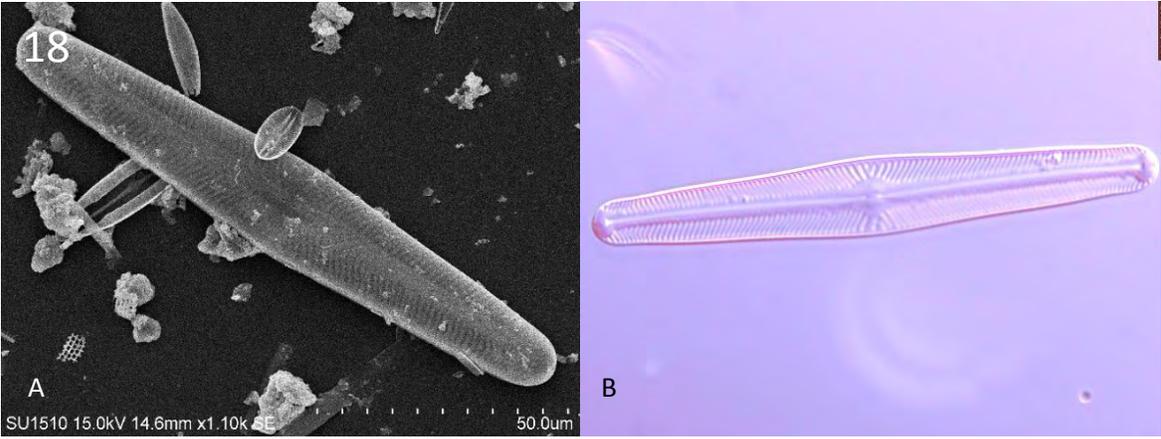
Largo: 20  $\mu\text{m}$ ; Ancho: 5  $\mu\text{m}$ ; Estrías x 10 $\mu\text{m}$ : 16-17; Puncta x 10  $\mu\text{m}$ : 40

Imagen 19. Fotografía de microscopio de barrido Vista externa de la valva

***Pinnularia brebissonii*** (Kützing) Rabenhorst 1864; La Preciosa y Alchichica

Diatomeas solitarias. Valvas fusiformes ligeramente elípticas, 33 – 41  $\mu\text{m}$  largo y 8  $\mu\text{m}$  ancho, Zona hialina en la parte central, se extiende a lo ancho de la valva. Rafe recto. Estrías radiales, 16 – 19 en 10  $\mu\text{m}$ .

Imagen 20. Fotografía de microscopio óptico. Vista valvar y muestra la zona hialina



***Pinnularia* sp. 1; La Preciosa**

Largo: 140  $\mu\text{m}$ ; Ancho: 25  $\mu\text{m}$ ; Estrías x 10  $\mu\text{m}$ : 1

Imagen 21. Fotografía de microscopio de barrido Vista interna de la valva muestra al rafe la helictoglosa y una zona hialina.

***Epithemia adnata* (Kützing) Brébisson 1838; Atexcac**

Diatomeas solitarias. Valvas ligeramente dorsiventrales con el margen ventral casi recto y el dorsal claramente convexo, 33 – 65  $\mu\text{m}$  largo y 7 – 9  $\mu\text{m}$  ancho. Rafe arqueado, corre a través del margen ventral y se extiende hasta la parte media de la frústula. Costas 2-3 en 10  $\mu\text{m}$ . Estrías 14 en 10  $\mu\text{m}$

Imagen 22.

A y B. Fotografías de microscopio óptico. Vista externa de la valva muestra al rafe arqueado en el centro de la valva

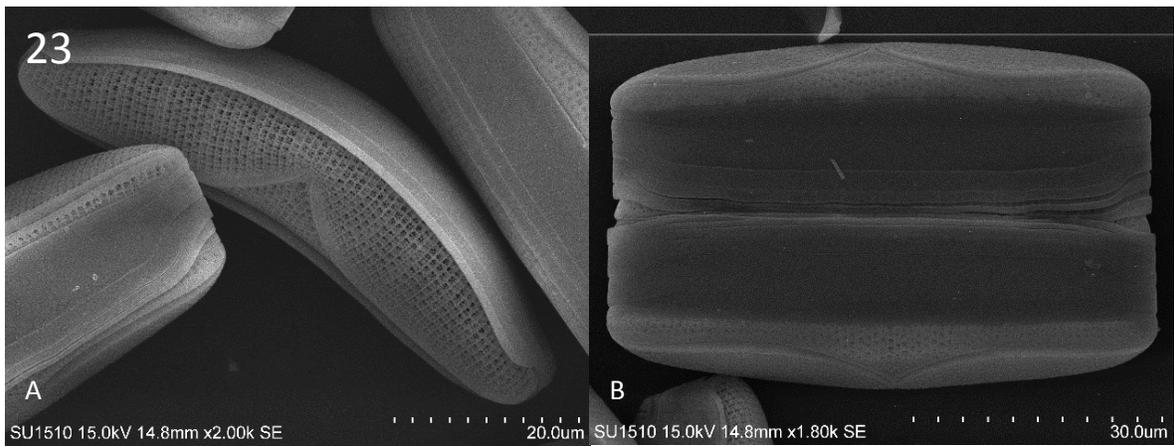
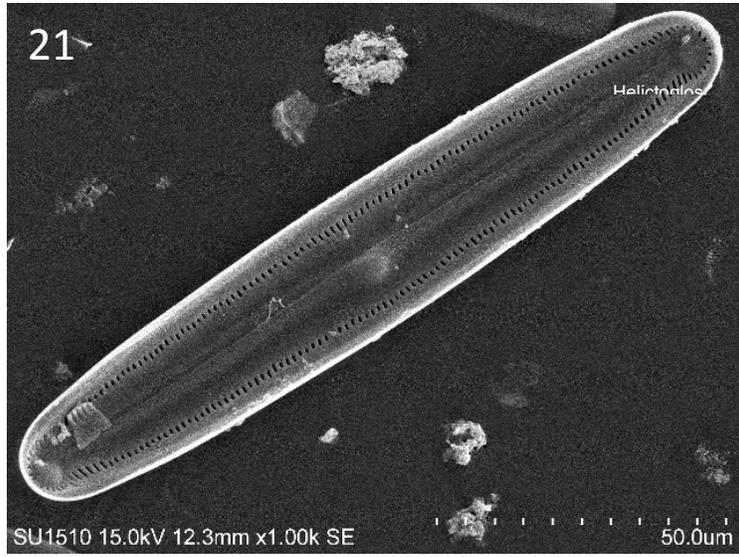
***Epithemia turgida* (Ehrenberg) Kützing 1844; La Preciosa, Atexcac y Alchichica**

Diatomeas solitarias. Valvas dorsiventrales, 57 – 95  $\mu\text{m}$  largo y 10 – 12  $\mu\text{m}$  ancho margen ventral recto o ligeramente cóncavos. Ápices levemente capitados. Rafe arqueado y se encuentra a lo largo del margen ventral. Costas 3-4 en 10  $\mu\text{m}$ . Estrías 11 en 10  $\mu\text{m}$

Imagen 23 La Preciosa

A. Fotografía de microscopio de barrido Vista valvar

B. Fotografía de microscopio de barrido Vista del cíngulo muestra dos diatomeas unidas por la valva.



***Epithemia sorex*** Kützing 1844; La Preciosa y Alchichica

Diatomeas solitarias. Valvas dorsiventrales, margen ventral ligeramente cóncavo y el dorsal convexo, 24  $\mu\text{m}$  largo y 13  $\mu\text{m}$  ancho. Ápices capitados y curvados hacia el dorso. Rafe arqueado, cercano al margen dorsal. Costas dos en 10  $\mu\text{m}$ . Estrías 12-16 en 10  $\mu\text{m}$ , y 2-3 en una costa.

Imagen 24.

A. Fotografía de microscopio de barrido. Vista externa de la valva muestra al rafe arqueado.

B. Fotografía de microscopio óptico. Vista valvar y costas.

***Rhopalodia gibba*** (Ehrenberg) O. Müller 1895; La Preciosa

Diatomeas solitarias. Valvas con forma de corchete, en vista cingular rectas, ligeramente más anchas en el centro, 74 – 168  $\mu\text{m}$  largo y 13  $\mu\text{m}$  ancho. Ápices anchos redondeados. Rafe se extiende a lo largo del margen dorsal. Estrías ligeramente radiadas, paralelas entre sí, 16 – 18 en 10  $\mu\text{m}$ .

Imagen 25. La Preciosa

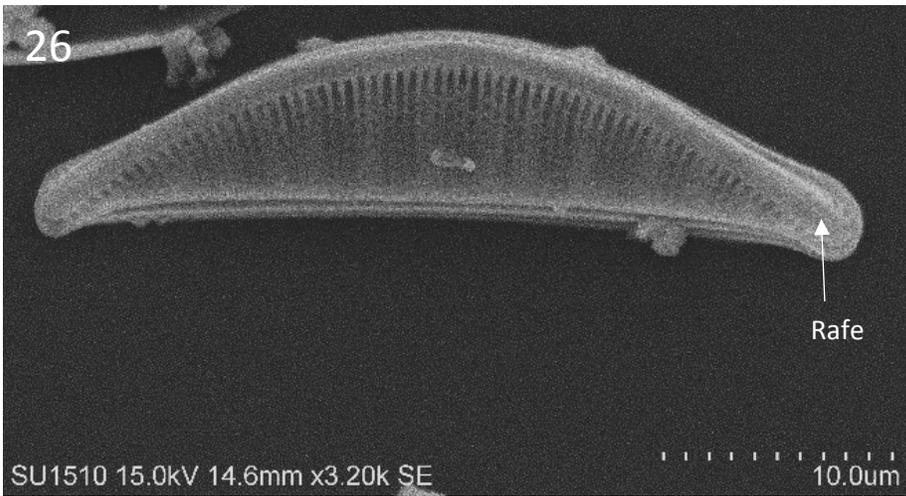
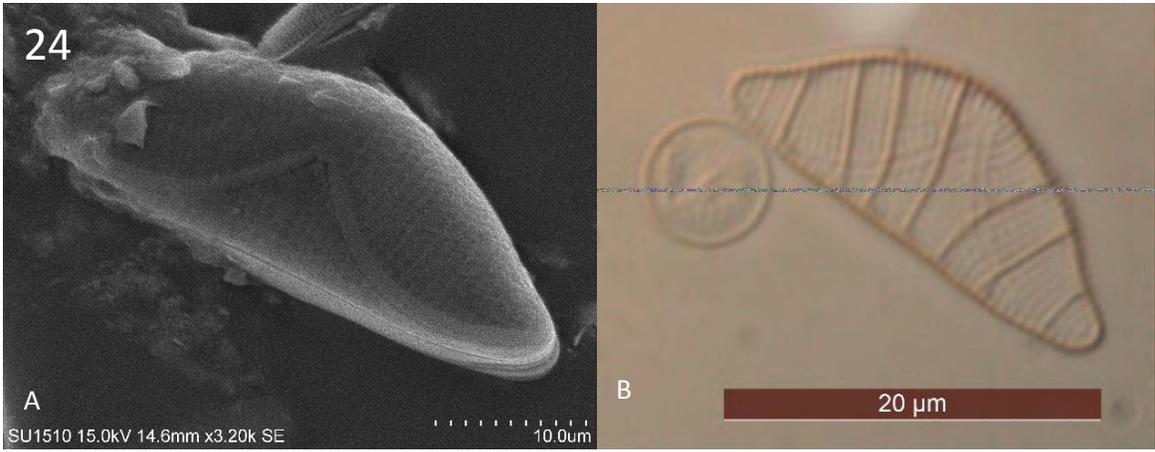
A. Fotografía de microscopio de barrido.

B. Fotografía de microscopio óptico.

***Rhopalodia gibberula*** (Ehrenb.) O. Müll. 1895; La Preciosa

Diatomeas solitarias. Valvas curvas, que presentan muescas en el medio del margen dorsal, 12 – 40  $\mu\text{m}$  largo y 3 – 11  $\mu\text{m}$  ancho. Ápices redondeados o agudos y ligeramente alargados. Rafe poco visible, curvado y se extiende a lo largo del margen dorsal. Estrías radiales, 17 en 10  $\mu\text{m}$ .

Imagen 26. Fotografía de microscopio de barrido. Vista valvar, muestra el canal del rafe en el dorso de la valva.



***Rhopalodia musculus*** (Kützing) Otto Müller 1900; Atexcac y Alchichica

Diatomeas solitarias. Frústula elíptica en vista cingular con una pequeña muesca en el dorso. Valvas redondas en el borde dorsal fuertemente convexas, 36  $\mu\text{m}$  largo y 10  $\mu\text{m}$  ancho. Rafe curvado que se extiende a lo largo del borde dorsal de la valva. Estrías radiadas, 19 en 10  $\mu\text{m}$ .

Imagen 27. Atexcac

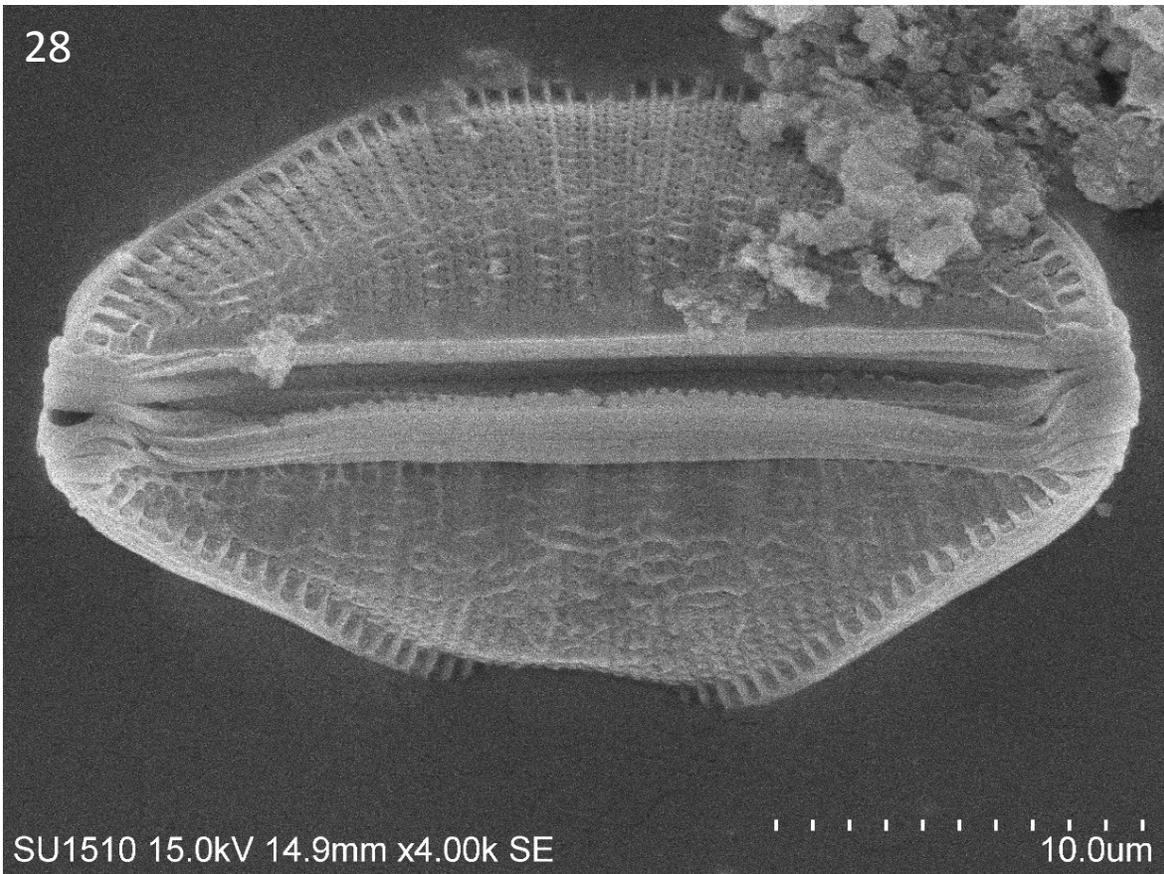
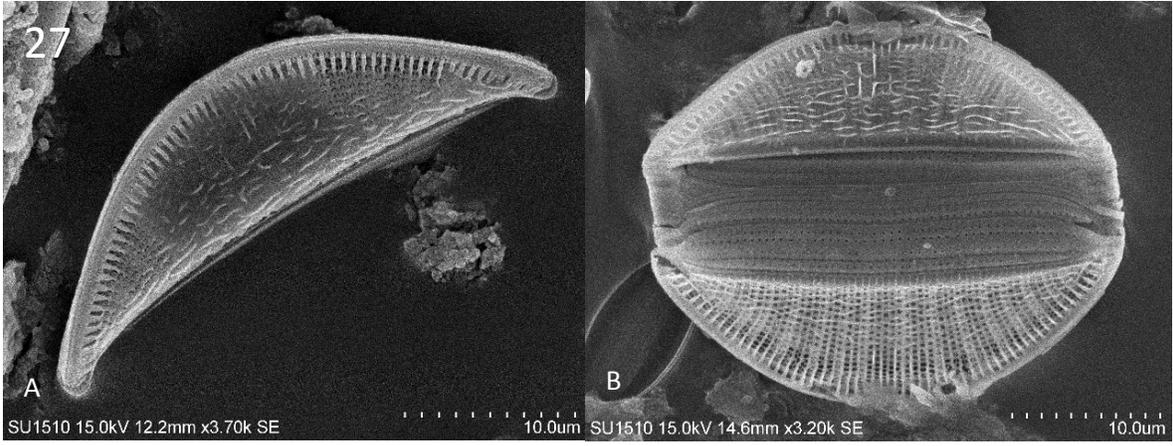
A. Fotografía de microscopio de barrido Vista externa de la valva.

B. Fotografía de microscopio de barrido Vista del cingulo, muestra la forma elíptica del dorso de ambas valvas.

***Rhopalodia sp1***; Alchichica

Largo 17- 28  $\mu\text{m}$ ; Ancho 7  $\mu\text{m}$ ; 19 Estrías en 10  $\mu\text{m}$

Imagen 43. A. Fotografía de microscopio de barrido Vista del cingulo.



***Campylodiscus sp 1***; Alchichica

Largo 104  $\mu\text{m}$ ; Ancho 96  $\mu\text{m}$ ; Estrías 2 en 10  $\mu\text{m}$

Imagen 29. Fotografía de microscopio de barrido

***Surirella sp 1*** La Preciosa, Alchichica

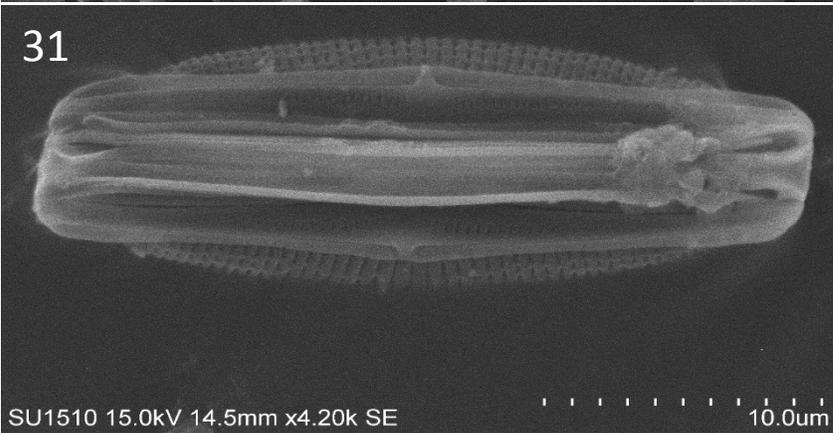
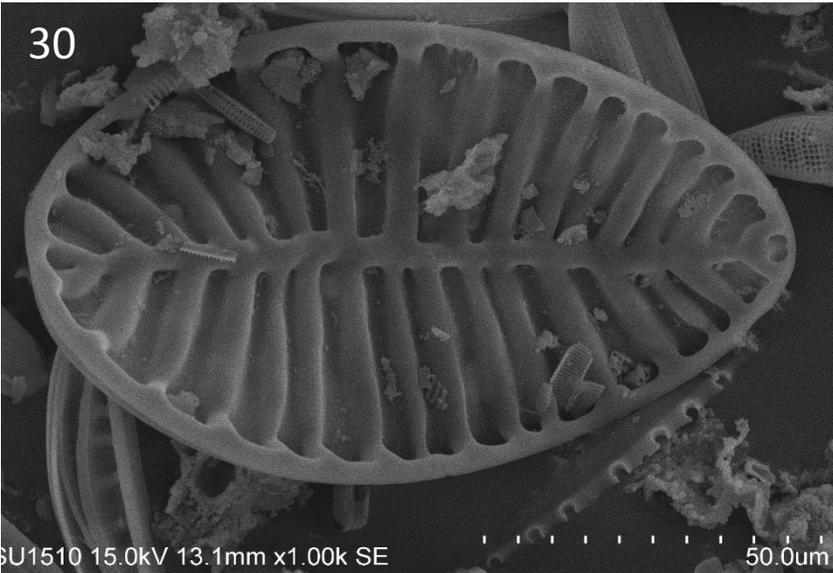
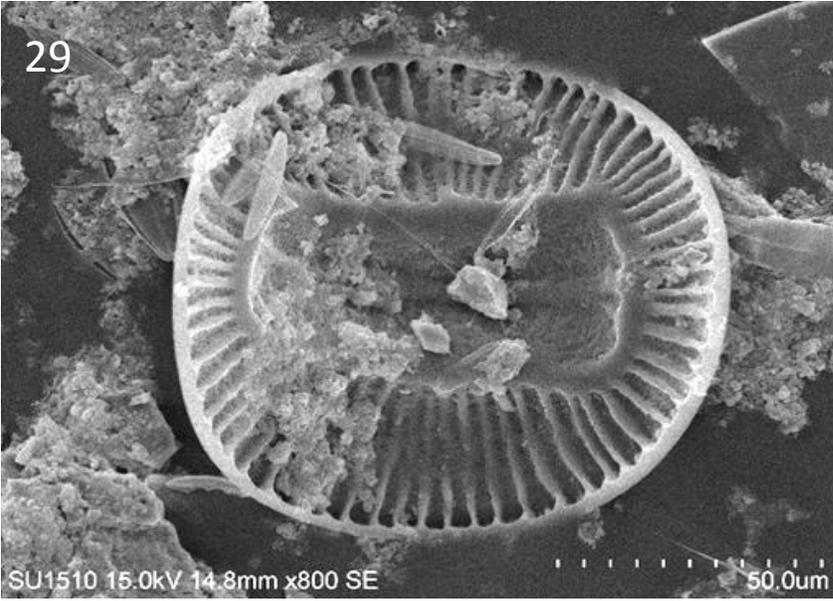
Largo: 113  $\mu\text{m}$

Imagen 30. Fotografía de microscopio de barrido

***Amphora sp1***; ALC

Largo 28  $\mu\text{m}$ ; Estrías 21 en 10  $\mu\text{m}$

Imagen 31. Fotografía de microscopio de barrido. Vista del cingulo



***Fragilaria sp 1***, Atexcac

Imagen 32.

A y B. Fotografía de microscopio de barrido. Vista interna valvar

***Pseudostaurosira brevistriata*** (Grunow) D. M. Williams. La Preciosa, Atexcac y Alchichica

Diatomeas solitarias o coloniales. Valvas sin rafe, lanceoladas, en los especímenes grandes, a linear, en los especímenes pequeños; con terminaciones rostradas; 7-22  $\mu\text{m}$  de largo y 2-5  $\mu\text{m}$  de ancho. Vista valvar aplanada. Vista cingular rectangular, en ella se aprecian las espinas que permiten la formación colonias. Estrías cortas, todas distintas, compuestas de areolas anchas, 15-24 en 10  $\mu\text{m}$ .

Imagen 33.

A. Fotografía de microscopio de barrido. Vista externa valvar, se muestran las espinas.

B. Fotografías de microscopio óptico.

***Cyclotella alchichicana*** Oliva, Lugo, Alcocer & Cantoral, 2006, Alchichica

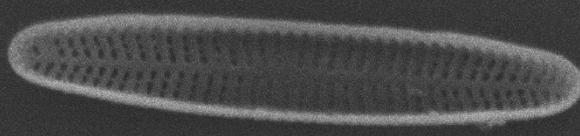
Diatomeas solitarias. Frústulas con forma de tambor en vista cingular. Valvas circulares, 25-60  $\mu\text{m}$ , en vista externa se muestra una división en dos zonas; la zona marginal que ocupa un tercio del radio de la valva y la zona central. Zona marginal con estrías radiadas. Estrías compuestas de 2-6 filas de areolas alargadas, 8-10 estrías en 10  $\mu\text{m}$ , entre estrías se aprecia una zona elevada conocida como interestría. Interestría. Espinas o rimoportulas dispersas en el margen, usualmente coinciden con las interestrías, raramente con las estrías. Zona central con líneas radiales, onduladas en dirección de las estrías marginales, y con aberturas externas correspondientes a las furtoportulas. Fultoportulas varias, en vista externa se notan como hendiduras que carecen de proyección externa; en vista interna se dibujan como dos labios oblicuos.

Imagen 34.

A. Fotografía de microscopio de barrido. Vista externa de la valva, se muestra la zona marginal y la zona central

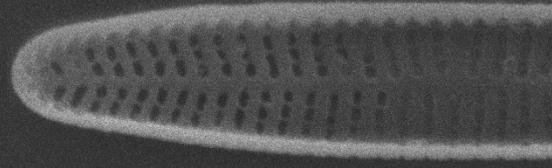
B. Fotografía de microscopio de barrido. Zona marginal de la valva, se muestran las estrías e interestrías; además de las rimoportulas, o vulgarmente conocidas como espinas, por donde son capaces de secretar mucilago o unirse colonialmente.

32



A

SU1510 15.0kV 18.0mm x9.50k SE



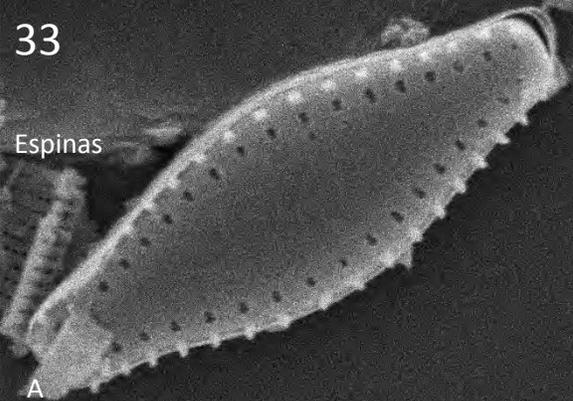
B

5.00um 15.0kV 14.8mm x15.0k SE

3.00um

33

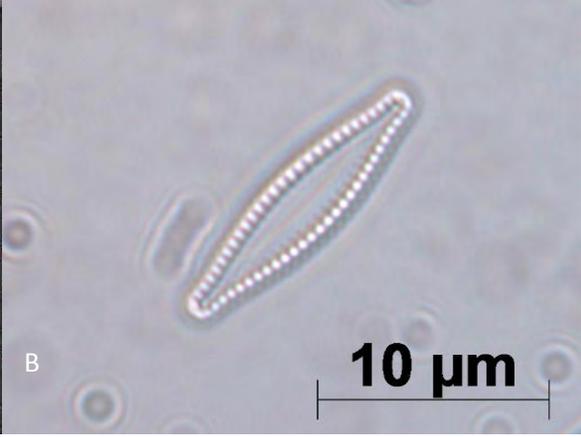
Espinas



A

SU1510 15.0kV 14.6mm x10.0k SE

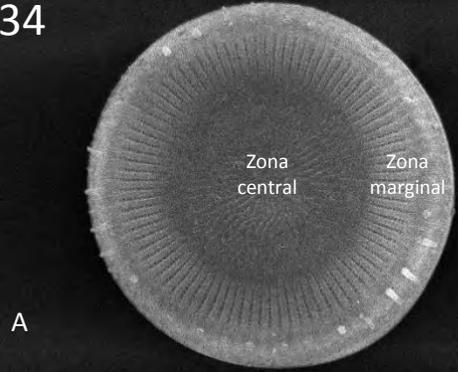
5.00um



B

10 µm

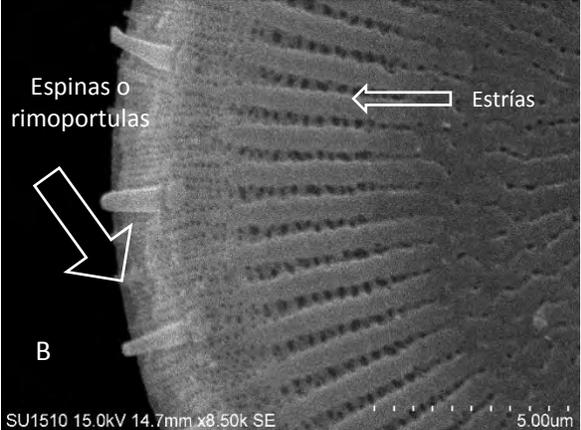
34



A

SU1510 15.0kV 14.7mm x2.10k SE

20.0um



B

Espinas o rimoportulas

Estrías

SU1510 15.0kV 14.7mm x8.50k SE

5.00um

***Cyclotella choctawhatcheeana*** Prasad 1990; Atexcac y Alchichica

Diatomeas solitarias o coloniales; coloniales dos a tres individuos. Frústulas con forma de tambor en vista cingular. Valvas circulares, 6-8  $\mu\text{m}$ , diferenciada en dos zonas, central y marginal. Zona central coliculada, con elevaciones y hendiduras que corresponden con las fultoportulas. Zona marginal compuesta por estrías iguales en largo. Estrías compuestas por dos, en el margen, a tres filas, hasta el centro de la valva, 17 estrías en 10  $\mu\text{m}$ . Fultoportulas presentes, 2-4 en el área central; 7-14 en el área marginal que se presentan cada dos a cuatro costas en vista interna. Espinas ausentes

Imagen 35

A. Fotografía de microscopio de barrido. Vista valvar externa

B. Fotografías de microscopio de barrido. Vista valvar interna, se muestran las costas y fultoportulas marginales

***Cyclotella cf. meneghiniana*** Kützing 1844; La Preciosa

Valvas circulares, 8-15  $\mu\text{m}$  de diámetro. El margen de la valva tiene estrías conspicuas cada una formada por ocho filas de areolas poroides- Estrías marginales, 5 por 10  $\mu\text{m}$ , se irradian, se elevan y se alternan con interestrias hundidas. Espinas marginales, colocadas en las interestrias.

Imagen 36

A. Fotografía de microscopio de barrido. Vista valvar externa

B. Fotografía de microscopio de barrido. Se muestran las espinas en las interestrias marginales.

