



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

Laboratorio de Genómica y Biotecnología de IGI, UNAM

DISTRIBUCIÓN DE LA COMUNIDAD DE PROCARIOTAS EN  
UNA SECUENCIA SEDIMENTARIA DE UN LAGO KÁRSTICO  
DEL PARQUE NACIONAL LAGUNAS DE MONTEBELLO,  
CHIAPAS

## TESIS

Para obtener el título de

# Biólogo

Presenta:

Carrasco Prieto Victor Eduardo

Directora de tesis

Dra. Alcántara Hernández Rocio Jetzabel\*

\*Departamento de Ciencias Ambientales y del Suelo  
Instituto de Geología, UNAM

Asesores Internos

Dr. Valdivia Anistro Jorge Antonio  
Dr. Hernández Avilés Justo Salvador



Ciudad de México, 2022



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.

# 1. Agradecimientos Institucionales

A la máxima casa de estudios, la Universidad Nacional Autónoma de México; especialmente a la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, por la formación académica y profesional que me brindo.

A la Dra. Rocio Jetzabel Alcántara Hernández por todo su apoyo y enseñanzas que me brindó durante el desarrollo de este proyecto.

A mi jurado de tesis: Dra. Eloisa Adriana Guerra Hernandez, Dr. Justo Salvador Hernández Avilés, Dr. Jorge Antonio Valdivia Anistro y Dr. Gabriel Gutierrez Granados, por compartirme sus conocimientos, así como el apoyo y tiempo dedicado a este trabajo.

A la Dra. Margarita Caballero, a la Dra. Lucy Mora y a la Dra. Blanca Pardo por el apoyo técnico y académico brindando a este trabajo.

A todos los profesores que formaron parte de mi desarrollo académico y que me brindaron sus conocimientos para mi formación como biólogo.

Esta tesis fue realizada con el apoyo de los proyectos UNAM-DGAPA-PAPIIT: IV200319 Área Experimental de Lagos Tropicales, e IV200122 AELT - Efectos del cambio global y climático sobre la limnología y biodiversidad acuática.

## 2. Agradecimientos Personales

A mi familia por todo el cariño y apoyo que me han dado desde que inicie esta etapa académica. Gracias por confiar siempre en mí y hacerme notar que nada es imposible en la vida siempre que nos esforcemos. Agradezco a mis padres, que me han apoyado e impulsado a siempre ser el mejor. A mi hermano, por los momentos divertidos y pláticas de ocio que me hemos tenido. Les agradezco a mis tías Lulú y Genoveva, por siempre estar al pendiente de mis avances. A mis abuelitos, por impulsarme a dar mi mayor esfuerzo desde que comencé esta etapa académica.

A mi mejor amiga durante toda la carrera, quien me dio todo su apoyo en los momentos más difíciles y quien me enseñó a no rendirme a pesar de las complicaciones que se me presentaran. Por todos aquellos momentos que compartimos dentro y fuera de la carrera, que sin duda, seguirán teniendo un valor muy especial para mí. Gracias Bety.

A Isabel y a Oscar, por estar conmigo en los últimos momentos de la carrera, les agradezco sus palabras de motivación y apoyo. Gracias por los momentos de diversión y de risas. Se que vamos a triunfar a donde sea que vayamos.

A Mario, Karlita, Ricardo y a todos mis amigos que me acompañaron durante este periodo, que sin duda, ha sido de los mejores de mi vida. Siempre llevare gravado todos las aventuras y momentos que pasamos juntos.

A mi mejor amiga, que durante por poco más de 9 años me brindado todo su apoyo. Se que seguiremos compartiendo momentos inolvidables y que continuaremos siendo amigos sin importar la distancia o el tiempo. Además, de que estaremos festejando nuestros logros y apoyándonos en nuestros fracasos. Gracias por todo Yan.

A mis amigos y compañeros del Instituto de Geología, Naye, Lalo, Jaz, Jesús, Alba por ayudarme a resolver mis dudas y por ser amena mi estancia en el laboratorio.

A Andy y Orqui, con quienes compartí charlas interminables durante nuestros ratos libres en el laboratorio.

Al Dr. Jorge Antonio Valdivia Anistro por ayudarme a resolver mis dudas y por todos los consejos que me brindo para mi crecimiento como estudiante. Gracias por ser una inspiración para mí como biólogo.

Al Dr. Gabriel Gutierrez Granados por darme la oportunidad de crecer como estudiante y de brindarme su apoyo constantemente en mi última etapa académica.

A la Dra. Rocío, por darme la oportunidad de formar parte de su grupo de investigación y por toda la paciencia que me brindo. Le agradezco enormemente haber formado parte de mi formación académica y profesional, sobre todo de las enseñanzas me dejo y que estoy seguro me harán ser una mejor persona dentro y fuera del ámbito académico.

### 3. Dedicatorias

Esta tesis va dedicada con mucho cariño a todas aquellas personas que han formado parte de mi vida durante esta licenciatura y que me han apoyado de alguna u otra forma en este proceso. Especialmente, va dedicada a:

Mis padres, Yolanda Prieto Nakamura y Salvador Carrasco Neria. Por todo su amor y apoyo a lo largo de mi vida. Gracias por todos los consejos, las llamadas de atención y los valores que me han enseñado para convertirme en la persona que soy ahora. Sin ustedes esta etapa sería imposible de alcanzar. Son el motor y la mayor inspiración de mi vida, ya que siempre busco ser el mejor en lo que hago, porque sé que ustedes son los mejores en lo que hacen. Este trabajo se los dedico con todo el amor que se merecen, por los años de esfuerzo que han invertido en mí y por todas las alegrías que me han dado. Son los mejores padres del mundo. Los amo.

A mi hermano Alan Daniel Carrasco Prieto, con quien siempre he compartido grandes momentos desde que éramos niños, y que estoy seguro, de que seguiremos compartiéndolos toda la vida. Eres mi mejor amigo, y aunque no te lo digo muy seguido, te amo hermano.

A mi abuelita Luisa, por todo el amor, cariño y apoyo que me dio para terminar mi carrera. Se que desde el cielo me estas cuidando y estas vigilando para hacer lo correcto. Gracias por todos los consejos que me diste y las historias que me contabas todos los días. Se que el día de la presentación de este trabajo, tú estarás conmigo dándome todo tu apoyo. Te amo abuelita.

## 4. Índice

1.	Agradecimientos Institucionales .....	i
2.	Agradecimientos Personales .....	ii
3.	Dedicatorias .....	iii
4.	Índice.....	iv
5.	Resumen .....	1
6.	Introducción .....	2
7.	Marco Teórico .....	3
7.1	Los lagos y sus sedimentos.....	3
7.2	Los lagos kársticos: características y origen.....	4
7.2.1	Los lagos kársticos en el mundo y en México .....	4
7.3	Las comunidades microbianas en los sedimentos lacustres .....	5
7.4	La Paleolimnología .....	6
7.4.1	Conceptos generales .....	6
7.4.2	El ADN sedimentario en la paleolimnología.....	6
7.5	Lagos de Montebello y su problemática de contaminación .....	8
7.5.1	El Parque Nacional Lagunas de Montebello .....	8
7.5.2	Problemática de contaminación .....	8
7.5.3	Lago San Lorenzo .....	9
8.	Planteamiento del problema y preguntas de investigación .....	11
9.	Hipótesis.....	12
10.	Objetivos .....	12
9.1	Objetivo General .....	12
9.2	Objetivos Particulares .....	12
11.	Método.....	13
11.1	Diseño de estudio.....	13
11.2	Colecta de Muestras.....	13
10.3	Variables.....	13
11.4	Técnicas.....	14
11.4.1	Extracción de ADN .....	14
11.4.2	Amplificación y secuenciación fragmentos ADNr 16S.....	14
11.5	Análisis bioinformático .....	15

11.6	Análisis Estadístico .....	15
12.	Resultados .....	16
12.1	Análisis de las secuencias ADNr 16S e índices de diversidad .....	16
12.2	Asignación filogenética de las secuencias ADNr 16S .....	18
12.3	Clasificación de las secuencias ADNr 16S a nivel Dominio.....	19
12.3.1.	Dominio Archaea en la secuencia sedimentaria .....	20
12.3.2.	Dominio Bacteria en la secuencia sedimentaria .....	22
12.3.2.1	Proteobacteria.....	23
12.3.2.2	Bacteroidota.....	26
12.3.2.3	Otros (Acidobacteriota, Mixococcota, Desulfobacterota) .....	27
12.4	Patrones de presencia/ausencia y abundancia relativa de taxones indicadores de contaminación en la secuencia sedimentaria del lago San Lorenzo. ....	31
12.5	Relación de eventos ambientales con los taxones encontrado en el núcleo sedimentario del lago San Lorenzo, Chiapas .....	34
12.5.1	Eventos ambientales registrados que impactaron al PNLM (1957-2013).....	34
12.5.2	Indicadores microbianos encontrados en los sedimentos del Lago San Lorenzo .....	36
12.5.2.1	Arcobacter .....	36
12.5.2.2	Bacteroides.....	37
12.5.2.3	Nitrososphaeria .....	37
12.5.2.5	Mycobacterium .....	38
12.5.2.6	Cloroplastos.....	39
13.	Discusión .....	40
13.1	Análisis de las secuencias ADNr 16S e índices de diversidad .....	40
13.1.1	Afiliación taxonómica .....	42
13.2	Patrones de presencia / ausencia y abundancia relativa de la comunidad microbiana .....	47
13.3	Paleoindicadores de contaminación/eutrofización en el lago San Lorenzo.....	48
14.	Conclusión .....	52
15.	Referencias.....	53
16.	Anexos.....	62

## 5. Resumen

Los lagos del Parque Nacional Lagunas de Montebello (PNLM) en el Estado de Chiapas son conocidos como unos de los cuerpos de agua de mayor belleza en la República Mexicana. Sin embargo, el cambio de uso de suelo durante las últimas décadas, las descargas de aguas residuales y el uso excesivo de fertilizantes y compuestos químicos han afectado el estado trófico del sistema lacustre. Consecuentemente, un grupo importante de éstos han mostrado cambio de color del agua, olores fétidos y la muerte de algunos organismos. El lago San Lorenzo, además de ser uno de los lagos más grandes de parque, es también uno de los más perturbados antrópicamente debido a su cercanía con varios ejidos y su conexión con las aguas subterráneas del río Grande de Comitán. La presente tesis se advocó a la detección de procariotas en una secuencia sedimentaria datada desde de la década de los años 1950s, para conocer su diversidad y para ver si existían posibles paleoindicadores microbianos de perturbación antrópica. Para ello, se usaron los fragmentos ADNr 16S obtenidos con tecnologías de secuenciación masiva y, tras un análisis bioinformático se recuperaron en total 1,497,308 secuencias que fueron agrupadas en 16,909 ASVs (*Amplicon Sequence Variants*, o secuencias nucleotídicas con 100% de identidad). Los índices de diversidad señalan que más del 80% de las muestras reflejan una alta diversidad y riqueza de especies. En cuanto a la afiliación taxonómica, se utilizó la base de datos SILVA ver. 138 (2020), y con la cual se encontraron secuencias de los phyla Proteobacteria, Bacteroidota, Verrucomicrobiota, Planctomycetota, Chloroflexi, Actinobacteriota y Acidobacteriota como las bacterias más abundantes del perfil sedimentario. Así mismo se detectaron arqueas metanogénicas (Crenarchaeota, Euryarchaeota y Halobacterota) y algunas oxidantes de amonio. Por otro lado, el análisis de la estructura de comunidad mostró pequeñas diferencias en las comunidades conforme a la profundidad de muestreo; sin embargo, los análisis de PERMANOVA no mostraron diferencias significativas. Finalmente, entre los procariotas paleoindicadores de perturbación antrópica se encontraron secuencias del género *Arcobacter*, *Bacteriodes*, *Mycobacterium* que se han asociado con heces humanas y son encontrados comúnmente en el agua residual. También se detectaron algunos miembros de la clase Nitrososphaeria, y algunas secuencias afiliadas a cloroplastos. Estas huellas moleculares se relacionan con los años de mayor arribo de agua residual al PNLM, según con la base de datos realizada conforme al modelo de datación generado por el Laboratorio de Paleolimnología (IGf, UNAM). Por lo tanto, estas bacterias y arqueas pueden ser indicadores potenciales de los eventos de contaminación y eutrofización del lago San Lorenzo.



## 6. Introducción

Las alteraciones a los ecosistemas acuáticos epicontinentales se han incrementado en las últimas décadas, siendo la actividad humana la principal responsable de su eutrofización (Vinçon-Leite y Casenave, 2019). Las descargas de agua residual no tratadas son las principales proveedoras de estos cambios físicos, químicos y biológicos en los cuerpos de agua (SEMARNAT, 2016), lo cual se ha reflejado en varios sistemas aledaños a ciudades, pueblos y asentamientos. Por ejemplo, los sistemas lacustres del Parque Nacional Lagunas de Montebello (PNLM) en Chiapas, han mostrado cambios en su coloración desde mediados del siglo pasado (Mora *et al.*, 2016) debido a las descargas de agua contaminada del Río Grande de Comitán (Alcocer *et al.*, 2018). Aunque este cambio ha sido claramente atribuido a fuentes antrópicas, poco se sabe de la historia evolutiva de los lagos y sus cambios ambientales en las últimas décadas, y cómo éstos han afectado su microbiota.

Los procariontes juegan un papel importante en los lagos al controlar diversos procesos biogeoquímicos en las columnas sedimentarias (Vuillemin, 2018). Además de que, las bacterias y arqueas son organismos sensibles a los cambios naturales y antrópicos (Kaiser *et al.*, 2016), por lo que pueden ser un buen indicador para detectar algunos antibióticos (Dong *et al.*, 2020), e incluso la presencia de aguas residuales (Korajkic *et al.*, 2015). Por lo que, es posible que las comunidades procariotas y su estructura pueden dar información sobre cambios ambientales y de eutrofización (Capo *et al.*, 2015).

La Paleolimnología es la disciplina que se encarga de describir el pasado de los lagos (Wetzel, 2001), a partir del análisis de secuencias sedimentarias lacustres. Para ello, se emplean los sedimentos como depósitos de información de procesos químicos, físicos y biológicos, que, a lo largo del tiempo, funcionan como paleo-indicadores o *proxies* (Cohen, 2003). Un proxy es un indicador indirecto, extraído de un archivo o registro climático, cuantificable que, por su naturaleza física, química o biológica, está relacionado con diferentes variables paleoclimáticas y sus oscilaciones reflejan los cambios temporales acontecidos en esta variable a través del tiempo (Cronin, 2010). Durante la última década, el ADN sedimentario se ha utilizado como un *proxy*, ya que puede prevalecer por varios años en secuencias sedimentarias (Domaizon *et al.*, 2017). En la actualidad existen muchos trabajos paleolimnológicos que hacen uso del ADN sedimentario (ADNsed) marino o lacustre, pero la mayoría de ellos se enfocan en la dinámica de algas, diatomeas y peces (Boere *et al.*, 2011; Capo *et al.*, 2015, 2016, 2017; Domaizon *et al.*, 2013; Epp *et al.*, 2010). Sin embargo, más recientemente se estudian a los procariontes.

Este trabajo tuvo como finalidad obtener y secuenciar masivamente fragmentos ADNr 16S de una secuencia sedimentaria del Lago San Lorenzo, Chiapas. Este lago es uno de los más afectados por la contaminación del Río Grande, por lo que se desea conocer: i) cuál es su diversidad de procariontes en sus sedimentos en un gradiente de profundidad, y ii) si existen relaciones entre los diferentes taxones encontrados y las variaciones ambientales antrópicas reportadas en el área desde la década de los años cincuenta.

## 7. Marco Teórico

### 7.1 Los lagos y sus sedimentos.

Los lagos son ecosistemas acuáticos epicontinentales que se encuentran rodeados por diferentes coberturas terrestres (Wetzel, 2001). Al ser sistemas abiertos, éstos interaccionan constantemente con su entorno dando paso al intercambio de procesos físicos, químicos y biológicos que mantienen el equilibrio dentro su cuenca de drenaje (Roldán y Ramírez, 2008). Muchas variables naturales como la composición del lecho rocoso de la cuenca, la actividad tectónica y volcánica, la vegetación y la biota acuática, se han encargado de moldear la historia posterior de los lagos. Sin embargo, la actividad antrópica ha jugado un papel clave en estas alteraciones en el último siglo (Cohen, 2003).

Los lagos comúnmente son alimentados por uno o varios ríos que aportan grandes cantidades de agua y de sedimentos provenientes de su propia cuenca de captación (aporte alóctono) (Nichols, 2009). Para los sistemas lacustres, las partículas sedimentarias juegan un papel importante en la distribución y crecimiento de muchos invertebrados, así como también, en el metabolismo de diversas comunidades procariotas que llevan a cabo distintos procesos biogeoquímicos (Wetzel, 2001).

El material sedimentario tiene dos orígenes diferentes: alogénico y autigénico (Caballero, *et al.*, 2013). El primero es aquel que deriva de su propia cuenca de drenaje por fuerzas de gravedad y erosivas, y que puede verse incrementado por las actividades antropogénicas o por eventos ambientales que eleven el flujo del caudal (Bloesch, 2004). Así, la composición de estos sedimentos se centra en arenas, arcillas, y algunos minerales como calizas y evaporitas. Además, contienen materia orgánica en descomposición y algunos nutrientes como carbono (C), nitrógeno (N) y fósforo (P), que pueden provenir naturalmente del sistema, o por actividades humanas (Nichols, 2009).

En cuanto a los sedimentos autigénicos, éstos se originan dentro del mismo lago, y son principalmente influenciados por procesos biológicos, químicos y físicos. Las partículas orgánicas se forman a partir de la producción primaria del fitoplancton, y por consiguiente por el zooplancton y por descomponedores como los procariotas. Estas partículas van consolidándose a lo largo de la columna de agua, y terminan en la fracción sedimentaria de los bentos (Bloesch, 2004).

## 7.2 Los lagos kársticos: características y origen

Los sistemas kársticos son terrenos que se encuentran en sitios peculiares de accidentes geográficos que surgen a partir de la combinación de una alta solubilidad y porosidad de rocas carbonatadas. Esto ha permitido el desarrollo de diferentes estructuras morfológicas como cuevas, depresiones cerradas, afloramientos rocosos, arroyos que se hunden y grandes manantiales. La inusual hidrología subterránea es la impulsora de los procesos kársticos, pues al permitir el paso del agua, provoca la disolución de las rocas formando las complejas estructuras geológicas que los caracteriza (Ford y Williams, 2007).

Generalmente las estructuras kársticas están formadas por caliza, mármol ( $\text{CaCO}_3$ ) y dolomita ( $\text{CaMg} [\text{CO}_3]_2$ ) aunque es posible encontrar otros minerales que los conformen como la halita ( $\text{NaCl}$ ) y el yeso ( $\text{CaSO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ ) (Williams, 2008). El proceso de disolución de las rocas se lleva a cabo gracias al agua meteórica y al  $\text{CO}_2$  que esta puede arrastrar y disolver antes y después de su filtración al suelo. Este proceso permite generar un débil ácido carbónico ( $\text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{CO}_3$ ) que genera gradualmente aberturas o conductos en el lecho rocoso para que el agua fluya a través de estos (Stokes, Griffiths y Ramsey, 2010).

La formación de cuerpos lacustres de origen kársticos sucede por varios procesos de disolución que se combinan con distintas condiciones naturales como el clima, la topografía y la participación biológica de microorganismos (Mora *et al.*, 2016). Los lagos kársticos son sumideros que se forman por la erosión continua del agua subterránea a la roca caliza. Se generan por un debilitamiento de la estructura kárstica, provocando que el techo de las cuevas colapse, originando una dolina cónica irregular, que permita el acumulamiento de agua con diferentes niveles freáticos (Wetzel, 2001).

### 7.2.1 Los lagos kársticos en el mundo y en México

Se estima que entre 7 y 25% de la superficie terrestre es de naturaleza kárstica, donde cerca del 25% de la población humana vive (White, 1988; Fleury, 2009). Los lagos kársticos se reportan en varias regiones alrededor del mundo, como en países asiáticos (China, Vietnam, Camboya), países de la cuenca Mediterránea (Croacia, Chipre, Francia, Grecia, Italia, Eslovenia, España), en naciones de América central y norte (Belice, México, Estados Unidos) y en regiones del caribe como Cuba, Jamaica y Puerto Rico. Por otro lado, es posible encontrarlos en regiones del hemisferio sur como Australia, Madagascar, Sudáfrica y Brasil (Onac y Beynen, 2020).

En la actualidad existen pocos lagos en el territorio mexicano, los cuales se encuentran en un estado crítico debido a la disminución de volumen del agua. Algunas actividades antrópicas como la tala de árboles, la agricultura, la sobreexplotación de aguas subterráneas, la contaminación y la eutrofización, acompañado de distintos eventos geológicos y climático, aceleran la desaparición de los sistemas lacustres de México (Alcocer y Bernal-Brooks, 2010). Entre los distintos tipos de cuerpos de agua en México, se encuentran los de origen kárstico. Este tipo de sistemas, que también es conocido como lagos de disolución, se encuentran en la península de Yucatán, Quintana Roo, Campeche y en el estado Chiapas (Roldán y Ramírez, 2008; Alcocer y Bernal-Brooks, 2010; Mora *et al.*, 2016). En el estado chiapaneco se localiza un sistema lacustre de origen kárstico dentro del Parque Nacional Lagunas de Montebello (PNLM). Este sitio ha adquirido un interés

socioeconómico y científico muy importante en los últimos años debido a su cercanía a zonas pobladas, volviéndose así, vulnerable a los efectos de la actividad antrópica como la contaminación o la agricultura (CONANP, 2007).

### 7.3 Las comunidades microbianas en los sedimentos lacustres

La distribución de los sedimentos en los lagos trae consigo una alta heterogeneidad de características físicas, químicas y biológicas que terminan influyendo en distintos ciclos biogeoquímicos y en las comunidades microbianas, que son sus principales impulsores (Beaulne *et al.*, 2020). Estas condiciones ambientales generan gradientes físicoquímicos y una variada disponibilidad de recursos a lo largo de un perfil sedimentario (Orland *et al.*, 2020). Lo que conlleva a que la masa microbiana se distribuye dentro de los sedimentos lacustres dependiendo de los niveles de oxígeno, nutrientes, materia orgánica y de la profundidad (Wetzel, 2001), donde también hay variaciones en la cantidad de la biomasa acorde a esto. Los niveles de O<sub>2</sub> pueden variar entre sedimentos profundos y superficiales, por lo que es común encontrar grupos procariontes que utilicen otros aceptores de electrones como el N, Mn, Fe, S o CH<sub>4</sub> (Fenchel y Finlay, 2008). Asimismo, las bacterias sedimentarias tienen una mayor densidad poblacional, que llegan a ser de 3 a 5 veces mayor, en comparación con la columna de agua, principalmente por la concentración de nutrientes y área específica de las partículas a colonizar.

Algunos reportes indican que en arreglos verticales de sedimentos marinos y lacustres, se han observado cambios en la comunidad microbiana en relación con sus procesos metabólicos (ciclos biogeoquímicos) (Haglund *et al.*, 2003; Chan *et al.*, 2005; Wurzbacher *et al.*, 2017) Esto ha provocado que los grupos procariontes se adapten a través de la profundidad, formando comunidades estratificadas. Aunque, los niveles de materia orgánica, N, C y O<sub>2</sub> en la columna varían dependiendo de los procesos de sedimentación (Vuillemin y Ariztegui, 2013).

A pesar de la estratificación microbiana que puede formarse en relación con la profundidad sedimentaria, muchos grupos de procariontes se ven afectados también en el número de células viables en estratos profundos, debido a la lenta proliferación de ciertos grupos microbianos (Schippers *et al.*, 2010; Kallmeyer *et al.*, 2012). Por otra parte, es común encontrar que la necromasa microbiana es mayor en sedimentos profundos (Parkes *et al.*, 2014; Tsuboi *et al.*, 2019). Sin embargo, se ha visto que una reducida fracción de grupos microbianos persisten a las limitaciones de energía del subsuelo sedimentario para los procesos metabólicos. Una de las cualidades podría ser las asociaciones con otros grupos de procariontes (Vuillemin *et al.*, 2018). Por ejemplo, algunas bacterias productoras de H<sub>2</sub>, pueden ser encontradas en estratos anaerobio para realizar una simbiosis con comunidades de metanógenos, acetógenos y reductores de azufre (Röske *et al.*, 2012).

## 7.4 La Paleolimnología

Los sedimentos acumulados en los lagos son el producto de diferentes procesos bióticos y abióticos dentro del sistema, por lo que se han convertido en depósitos y fuentes de información a lo largo del tiempo (Cohen, 2003). La paleolimnología se encarga de estudiar y descifrar cualquier tipo de información preservada en estos precipitados lacustres, con el fin de reconstruir el pasado ambiental de cualquier tipo de lago y su entorno (Caballero *et al.*, 2013).

### 7.4.1 Conceptos generales

La dinámica de los sistemas lacustres está influenciada por cuatro componentes diferentes: físicos, geomorfológicos, químicos y biológicos, que a su vez se pueden relacionar con los archivos sedimentarios en los cuerpos de agua epicontinentales. La paleolimnología utiliza como evidencia, o *proxies*, los fenómenos físicos que moldean los sistemas acuáticos lacustres, con la finalidad de conectar los registros geoquímicos y paleobiológicos con fenómenos ambientales externos (Cohen, 2003). Los procesos químicos se pueden entender con indicadores como radioisótopos, que permiten conocer la cronología de una secuencia sedimentaria, utilizando el carbono radiactivo ( $^{14}\text{C}$ ) o del 210-Pb con una vida media de 6000 y 22.26 años, respectivamente (Cortés, 2017).

En cuanto a los registros biológicos, es común que se utilice el polen, las esporas, algunos restos de algas, microfósiles de plantas o de animales e incluso pigmentos (Wetzel, 2001). Sin embargo, el uso de procariontas como indicador biológico resulta muy atractivo por su importancia en los ciclos biogeoquímicos (Vuillemin, 2018). Además de que son sensibles a cambios ambientales (Kaiser *et al.*, 2016).

A diferencia de los indicadores clásicos, las comunidades microbianas no dejan características morfológicas en los sedimentos, pero si su firma de ADN (Domaizon *et al.*, 2017). El uso del ADN sedimentario (ADNsed) genera entonces nuevas ideas sobre la dinámica y la diversidad de las estructuras de bacterias y arqueas. Además, pueden servir para evaluar los efectos del calentamiento global y los fenómenos de eutrofización que modifican a estas comunidades (Capo *et al.*, 2015).

### 7.4.2 El ADN sedimentario en la paleolimnología

El ADNsed se encuentra de dos formas distintas en los depósitos de sedimento. La primera es intracelularmente, es decir, dentro de células vivas o metabólicamente activas. Paralelamente, muchos microorganismos son capaces de formar estructuras que brindan protección ante los cambios ambientales y permanecer en reposo por un largo tiempo dependiendo de las necesidades del organismo (Domainzon *et al.*, 2017). Algunas armaduras biológicas son las esporas o quistes que forman ciertos grupos de procariontas, aunque se ha detectado que algunos protistas, flagelados, ciliados, amebas, microcrustáceos y rotíferos usan este mecanismo para preservarse por miles de años (Ellegaard *et al.*, 2020).

Por otro lado, el ADN extracelular (ADN fuera de las células) puede aportar información distinta al campo de la paleolimnología (Domainzon *et al.*, 2017). Sin embargo, esta molécula debe someterse ante una serie de procesos físicoquímicos y biológicos para que logre preservarse como un archivo sedimentario (Levy-Booth, 2007). En el momento en el que el ADN extracelular llega al sedimento, este puede adherirse a los minerales, como las arcillas, y/o a los ácidos húmicos, donde el grupo fosfato del ADN interactúa con la concentración de cationes y el pH del sitio para poder adherirse y preservarse (Levy-Booth, 2007).

En la actualidad existen muchos trabajos paleolimnológicos que hacen uso del ADNsed en donde la mayoría de ellos sólo se enfocan en la dinámica de organismos eucariotas (Boere *et al.*, 2011; Capo *et al.*, 2015, 2016, 2017; Domaizon *et al.*, 2013; Epp *et al.*, 2010). A pesar de ello, se han encontrado estudios donde las comunidades de bacterias y arqueas son utilizadas como *proxies* en sistemas lacustres, utilizando el fragmento ADNr 16S específicamente (Domaizon *et al.*, 2013; Coolen *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2019; Vuillemin, 2018).

El gen que se transcribe a ARNr 16S (ADNr 16S), es un marcador molecular deseable para estudios filogenéticos en procariontes, ya que se encuentra en todas estas comunidades y cuenta con regiones de secuenciación variable que evoluciona a velocidades diferentes (Srinivasan *et al.*, 2015). El gen ADNr 16S cuenta con una longitud de 1500 pb, mismas que están divididas en nueve regiones variables (Yang *et al.*, 2016), donde distintos estudios se han dedicado a explorar e identificar una región, o combinaciones de regiones, que generó una buena clasificación filogenética (Winand *et al.*, 2020). Se ha reportado que las regiones V4 y V5 son las mejores para la identificación del microbioma (Cao *et al.*, 2017) empleando tecnologías de secuenciación de “nueva generación” o NGS por sus siglas en inglés. Éstas últimas permiten obtener un gran número de secuencias y explorar con mayor profundidad la diversidad de procariontes.

Gracias a las nuevas técnicas moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa o PCR por sus siglas en inglés (*Polymerase Chain Reaction*) se ha podido estudiar la diversidad microbiana ambiental. Específicamente, empleando el fragmento ADNr 16S de aquellos microorganismos que no pueden ser fácilmente cultivables en el laboratorio (Baker *et al.*, 2003). Las técnicas tradicionales de secuenciación del gen ADNr 16S, tienen la fama de ser muy costosas y laboriosas de hacer, en especial para estudios ambientales (Winand *et al.*, 2020). Sin embargo, con las tecnologías de segunda generación se consiguen secuenciar en paralelo millones de fragmentos de ADNr 16S además de la disminución de costos en comparación con la tradicional (Cao *et al.*, 2017).

Actualmente existen muchas plataformas de secuenciación masiva de segunda generación, entre las cuales han destacado Illumina Inc. (San Diego, Ca, USA), SOLiD (Sequencing by Oligo Ligation Detection) y el sistema PGM (Personal Genome Machine) (López de Heredia, 2016). La tecnología de Illumina Inc (HiSeq, MiSeq, NextSeq, entre otros) destaca por su secuenciación de lectura corta empleando una química por síntesis, pues logra cubrir 2 x 300 pb lo que le permite secuenciar una o más regiones variables (Winand *et al.*, 2020). Por lo que es una técnica que muestra muchas ventajas atractivas para el estudio del ADNsed.



## 7.5 Lagos de Montebello y su problemática de contaminación

### 7.5.1 El Parque Nacional Lagunas de Montebello

El Parque Nacional Lagunas de Montebello (PNLM) es un área protegida de un poco más de 6022 ha (Franco-Gaviria *et al.*, 2018), ubicado entre los pueblos la Trinitaria y la Independencia, en Chiapas, México (CONANP, 2007). Se ubica entre las coordenadas geográficas 16° 07' 32.2" y 16° 9' 11.88" Latitud N y 91°45' 11.2" y 91° 46' 50.51" Longitud W. El tipo de clima de la región es templado subhúmedas C(fm) (C, templado; fm, subhúmedo) con lluvias todo el año (García, 2004). La temperatura media anual es de 17.3 °C, con precipitaciones medias anuales de 2279 mm y una evaporación media anual de 948 mm (Alcocer *et al.*, 2018). La vegetación dominante es *Pinus oocarpa*, sin embargo, es posible encontrar bosques de latifoliada, bosques mesófilos de montaña, vegetación rarámichi, vegetación secundaria y flora de interés especial (CONANP, 2007).

El Parque se encuentra sobre piedra caliza del Cretácico Inferior, favoreciendo el desarrollo de una llanura kárstica con un sistema lacustre de 69 cuerpos de agua (Franco-Gaviria *et al.*, 2020), divididos en dos secciones, de planicie y de alta montaña (Alcocer *et al.*, 2018). Hidrológicamente, el sistema de lagos de Montebello es alimentado por las descargas de agua y sedimentos provenientes del río Grande de Comitán, además de aguas subterráneas (Franco-Gaviria *et al.*, 2020) gracias a la permeabilidad del sistema kárstico (Mora *et al.*, 2016).

### 7.5.2 Problemática de contaminación

Los lagos del PNLM han presentado problemas de contaminación en las últimas décadas debido al aumento socioeconómico de la región, lo que ha provocado varios cambios en el uso de suelo y en las actividades antrópicas aledañas. Esto incluye la deforestación para impulsar el desarrollo agrícola que fomenta el uso de agroquímicos. Esto ha impulsado que los cuerpos de agua de la zona se alteren por el incremento de las concentraciones de N y P (Olea-Olea y Escolero, 2018), y consecuentemente, la modificación físicoquímica del agua lacustre (Mora *et al.*, 2016). Así mismo, las constantes descargas de aguas residuales del río Grande de Comitán han impulsado un aumento en las concentraciones de sulfatos y cloruros en los lagos de planicie (Palomino *et al.*, 2017). Esto ha provocado fuertes cambios de olor, coloración verdosa e incluso burbujeo. Además de cambios en el pH, aumentos en la conductividad eléctrica y presencia de carbonatos (Mora *et al.*, 2016).

### 7.5.3 Lago San Lorenzo

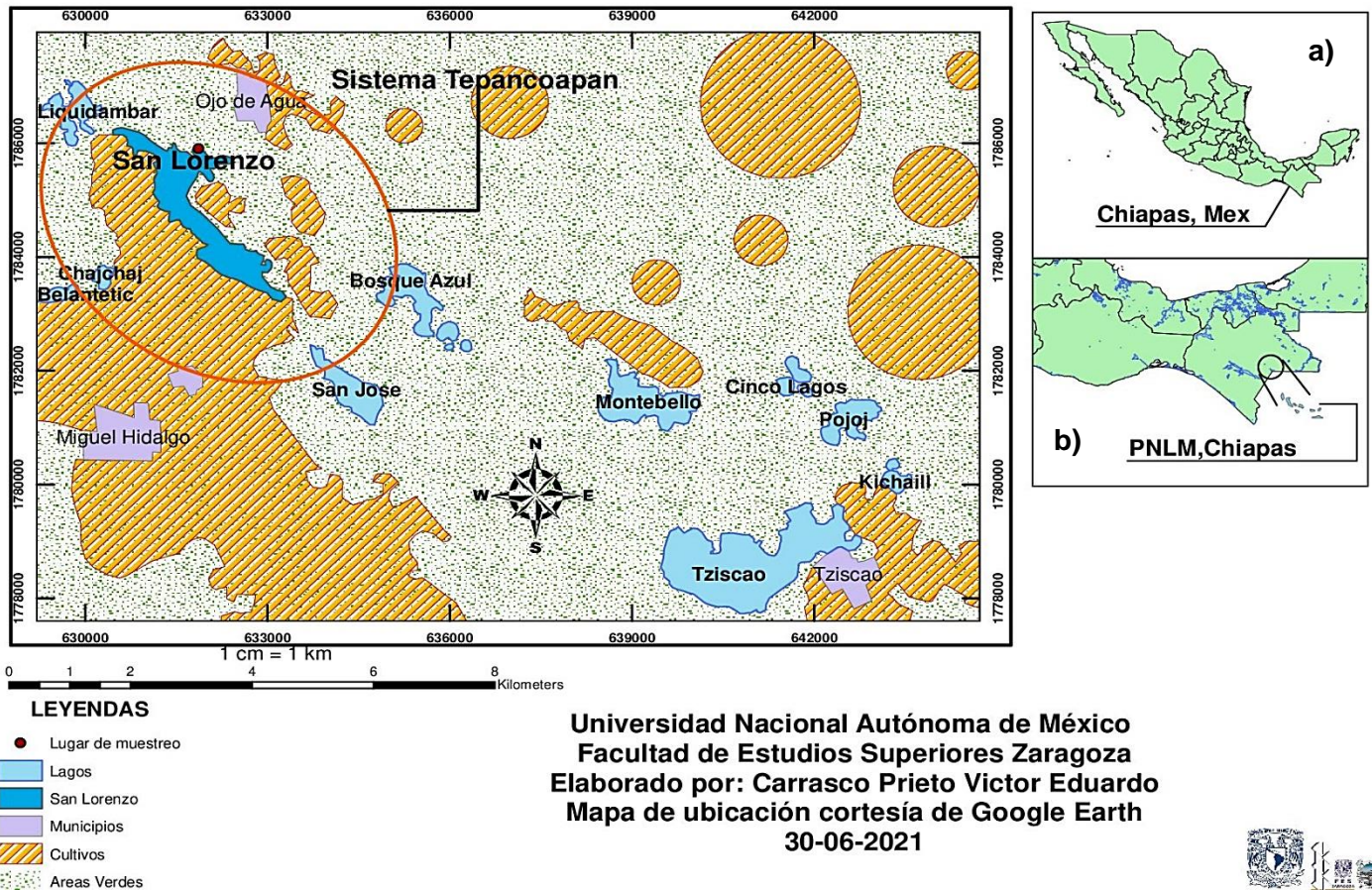
El Lago San Lorenzo es uno de los 69 lagos kársticos del PNLM, que se localiza en la parte sur sureste del estrado de Chiapas; se encuentra entre las coordenadas 16° 04' 40" y 16° 10' 20" latitud N y 91° 37' 40" longitud W. Este lago pertenece al sistema Tepancoapan, sitio donde junto con otros los lagos del Parque se conectan por las fuertes lluvias, por lo que está influenciado por las corrientes subterráneas del Río Grande de Comitán (Villanueva *et al.*, sin fecha; CONANP, 2017). La ubicación geográfica de San Lorenzo lo pone en el grupo de los lagos de planicie (Alcocer *et al.*, 2018) (Fig. 1c): por lo tanto, es uno de los cuerpos lacustres más contaminados del sitio además de su cercanía con los cultivos agrícolas y los municipios de La Independencia y La Trinitaria (Segundo, 2019).

El lago de San Lorenzo se encuentra a unos 1455 msnm. Abarca un área de 181.3 ha, volviéndolo uno de los lagos más grandes del sistema. La longitud de costa es de 15.1 Km. El lago cuenta con una profundidad media de 11 m, por lo que es considerado como poco profundo. La temperatura promedio del lago es de 20.7 °C. El porcentaje de oxígeno disuelto (%OD) es en promedio de 0.55%. Así mismo, el porcentaje de saturación de oxígeno disuelto (%SO) es de 8.3%. El pH del agua es de 7.3. Mientras que la turbidez del lago es en promedio de 12 NTU (Unidades Nefelométricas de Turbidez). Estudios posteriores han reportado que la concentración de clorofila es alta, de 22.75  $\mu\text{g L}^{-1}$  en promedio y de 5.2  $\mu\text{g L}^{-1}$  mínimo y máximo de 43.8  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Por lo que, es considerado como un sistema eutrófico (Segundo, 2019; Franco-Gaviria *et al.*, 2020).

Se ha reportado que la textura de los sedimentos del lago San Lorenzo son limo arcilloso. Por otro lado, el porcentaje de materia orgánica (MO) es de un 19.5%. La concentración de carbonatos es de 75.1% y en cuanto a la presencia de C, N y S son de 6.6, 1.0 y 1.3%, respectivamente (Segundo, 2019).



c) **Mapa de Ubicación y Localización del PNLM**



**Figura 1.** Mapa del Parque Nacional Lagunas de Montebello. a) Ubicación del estado de Chiapas en la República Mexicana. b) Ubicación del PNLM en el estado de Chiapas. c) Localización del lago San Lorenzo dentro del PNLM.

## 8. Planteamiento del problema y preguntas de investigación

El Parque Nacional Lagunas de Montebello (PNLM) cuenta con aproximadamente 69 lagos (Alcocer *et al.*, 2018), siendo los de planicie los más afectados por las descargas de aguas residuales provenientes del Río Grande de Comitán (CONANP, 2007). El lago San Lorenzo, es uno de los sistemas lacustres más afectados por esta situación. En los últimos años, grupos de investigación de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) se han dedicado a estudiar la historia paleolimnológica de estos cuerpos de agua, lo que ha permitido conocer el impacto ambiental que han sufrido a lo largo del tiempo y las variaciones en las comunidades de diatomeas. Sin embargo, a la fecha, no existen trabajos que describan la composición procariota de los lagos, y si ésta se ha asociado con cambios en el tiempo derivados de la contaminación antrópica.

Trabajos recientes en otros lagos del mundo, han mostrado que la diversidad ADNr 16S se puede correlacionar con cambios ambientales en escalas de cientos de años (Vuillemin, 2018; Li *et al.*, 2019). Y que, cambios en la composición de comunidades de diatomeas, también reflejan variaciones ambientales en decenas de años (Caballero *et al.*, 2020; Cortés, 2017) en los lagos kársticos de este Parque. Por ello, en el presente proyecto se propone analizar la comunidad procariota en una secuencia sedimentaria para: i) conocer la distribución de procariontes en un núcleo lacustre estratificado de un sistema kárstico con rasgos de contaminación registrados a partir 1957, y ii) observar si estos cambios en la estructura de la comunidad en la secuencia sedimentaria responden a cambios ambientales reportados en la zona.

Consecuentemente, las preguntas de investigación de la presente propuesta son:

- ¿Cuál es la distribución de las secuencias ADNr 16S y la composición taxonómica procariota en un núcleo lacustre estratificado de un sistema kárstico con rasgos de contaminación registrados a partir de 1957, y a qué grupos taxonómicos corresponden?
- ¿Existirá alguna relación entre las variaciones ambientales antrópicas registradas en el sitio de estudio y los ASVs (*Amplicon Sequence Variants* o secuencias nucleotídicas al 100% identidad) encontrados a lo largo de la secuencia sedimentaria acorde a un modelo de datación de este?
- ¿Será factible encontrar organismos procariotas que indiquen procesos de eutrofización por contaminación antrópica y/o cambios en la abundancia de ciertos taxones?

## 9. Hipótesis

Las secuencias ADNr 16S del núcleo estudiado contendrán huellas de procariontes comúnmente encontrados en este medio, como metanógenos y sulfatos reductores. Asimismo, dado que se trata de un lago con registro de contaminación por descargas de agua residual, se encontrarán señales de taxones asociados a éstas, como de heces y microbiota humana. Estos bioindicadores coincidirán con los años en que se reportaron los cambios de coloración en los lagos.

## 10. Objetivos

### 10.1 Objetivo General

Determinar cómo se distribuye la comunidad de procariontes dentro de una secuencia sedimentario del lago kárstico San Lorenzo que pertenece al Parque Nacional Lagunas de Montebello, Chiapas y si existen bioindicadores de perturbación por descargas con agua residual.

### 10.2 Objetivos Particulares

- Obtener fragmentos ADNr 16S de una secuencia sedimentaria de 40 cm de longitud y caracterizarlos taxonómicamente.
- Establecer los patrones de presencia/ausencia y abundancia relativa de los taxones encontrados a lo largo de la secuencia sedimentaria.
- Realizar una base de datos de los eventos ambientales que han impactado la zona desde la década de los años cincuenta y determinar si hay relaciones de estos eventos con los taxones encontrados.
- Determinar si los taxones encontrados pueden funcionar como bioindicadores al momento de relacionarlos con los eventos ambientales encontrados en la base de datos.

## 11. Método

### 11.1 Diseño de estudio

La presente investigación estudió la comunidad procariota de una secuencia sedimentaria colectada en el Lago San Lorenzo, Montebello, Chiapas. Las secuencias sedimentarias, generalmente se estudian a lo largo de un solo núcleo (sin réplicas), donde de cada segmento se extrae información geoquímica y/o biológica complementaria. Este proyecto se enmarcó en un trabajo colaborativo multidisciplinario con el grupo de Paleolimnología del Instituto de Geofísica (UNAM). Donde cada segmento de estudio del núcleo cortado fue a un centímetro (longitud del núcleo = 40 cm, segmentos  $n=40$ ). Cada segmento fue analizado geoquímicamente por el grupo complementario, y biológicamente (procariontes) por Laboratorio de Genómica y Biotecnología del Instituto de Geología (UNAM), La aproximación para el estudio de la comunidad procariota se realizó vía independiente de cultivo con secuenciación masiva de fragmentos ADNr 16S, y su posterior análisis bioinformático. Se obtuvo la asignación taxonómica y se observaron los patrones de distribución a lo largo de la secuencia, para saber si, con las dataciones realizadas por el grupo de colaboración, existen bacterias o arqueas relacionadas con cambios ambientales documentados.

### 11.2 Colecta de Muestras

Para obtener las muestras del presente estudio, se recuperó una secuencia sedimentaria utilizando un nucleador de gravedad UWITEC a una profundidad de 9m ubicado a 16°09' N, 91°46' W (Fig. 1c). Con ello, se obtuvo un núcleo de aproximadamente 40 cm de longitud, mismo que fue segmentado cada centímetro ( $n=40$ ), almacenado en bolsas de plástico a 4 °C durante su transporte, y luego congelado a -20 °C hasta su análisis. Cada una de las muestras fueron identificadas con las siglas SL y el número correspondiente al centímetro obtenido (v.g., SL.01, SL.02, etc.). La colecta del núcleo sedimentario se realizó por el equipo de trabajo de la Dra. Margarita Caballero, del Laboratorio de Paleolimnología del Instituto de Geofísica de la UNAM.

### 11.3 Variables

Como variables se consideraron el factor biótico que incluye la estructura de la comunidad procariota determinada en patrones de presencia/ausencia de los taxones y su abundancia relativa, así como la distancia filogenética de los mismos. En la parte ambiental, se buscaron registros de cambios ambientales documentados, antrópicos y naturales, y se relacionaron con los segmentos de estudios mediante un modelo de datación realizado por el grupo de Paleolimnología.

## 11.4 Técnicas

### 11.4.1 Extracción de ADN

En el laboratorio de Genómica y Biotecnología del Instituto de Geología de la UNAM, las 40 muestras fueron procesadas usando la técnica de extracción de ADNmg (ADN metagenómico), por lo que se usó el kit de PowerSoil® DNA Isolation Kit (Qiagen). Se usaron 0.25 gramos de sedimento húmedo por muestra, y fueron procesadas siguiendo las instrucciones del fabricante. El ADN obtenido fue cuantificado mediante fluorometría ocupando el equipo de Qubit Fluorometer 3.0 (Invitrogen), utilizando el ensayo de alta sensibilidad Qubit dsDNA HS Assay Kit (Thermo Fisher Scientific). Con el fin de obtener la concentración de nanogramos de ADN que había por muestra para su posterior amplificación por PCR (Anexo Tabla 1).

### 11.4.2 Amplificación y secuenciación fragmentos ADNr 16S

Para estudiar la diversidad y la composición de la comunidad procariota, se empleó una aproximación de estudio de fragmentos ADNr 16S empleando el protocolo *Earth Microbiome Project* (Gilbert *et al.*, 2011). Se usaron los primers 515F (5'- GTG CCA GCM GCC GCG GTAA -3') y 806R (5'- GGA CTA CHV GGG TWT CTA AT -3'). La amplificación se realizó en 25 µL de mezcla de PCR, donde se incluyó ADN metagenómico (dilución con 2 a 20 ng de ADN), 2.5 µL de 10X Takara Ex Taq PCR Buffer, 0.5 µL de Takara dNTPs 200 µM, 0.75 µL MgCl<sub>2</sub> 25 mM, 0.5 µL primer 515F y 1.0 µL primer 806R (10 mM), y 0.125 µL de Takara Ex DNA Taq polimerasa (5 U/µL). El protocolo de amplificación consistió en una desnaturalización inicial a 95 °C por 3 min, seguido de 35 ciclos de: desnaturalización a 95 °C por 30 s, alineamiento a 52 °C por 30 s y una extensión de 72 °C por 30 s, por último, un tiempo final de extensión de 72 °C durante 12 min. Posteriormente, se comprobó la existencia de los amplicones por electroforesis en gel de agarosa (1%) y tinción con SYBR Safe 1X (Invitrogen), sobre un amortiguador TAE 1X (Tris-Acetato 0.04M, EDTA 1mM) [90 V, 25 min]. Los amplicones obtenidos fueron purificados y agrupados en una librería (20 ng cada muestra) para ser secuenciados masivamente y por extremos pareados en la plataforma Illumina MiSeq del *Yale Center for Genome Analysis* de la Universidad de Yale, Estados Unidos.

## 11.5 Análisis bioinformático

Para el análisis bioinformático se empleó la línea de comandos QIIME2 (Bolyen *et al.*, 2018), en donde las secuencias se filtraron y limpiaron con DADA2. Aquellas muestras que lograron pasar el filtro se clasificaron taxonómicamente usando la base de datos Silva (v.138) (<https://www.arb-silva.de/>), generando así tablas de abundancia de los taxones encontrados. También se generó un árbol filogenético (FastTree) con las secuencias obtenidas. Las tablas de abundancia, la asignación taxonómica y el árbol filogenético fueron empleados para hacer Análisis de Coordenadas Principales (PCoA) tipo Unifrac para ver la estructura de la comunidad procarionte. Para esta parte se usó el programa Phyloseq en el ambiente RStudio (McMurdie y Holmes, 2013). También aquí se visualizaron los patrones de distribución de diversos taxones de procariontes.

## 11.6 Análisis Estadístico

A partir de la distribución de las especies, se observaron los patrones de cambio a lo largo de la secuencia sedimentaria. Para observar si estos cambios en la estructura de la comunidad son significativamente diferentes, se realizó un análisis ANOVA permutado (PERMANOVA) (Sirisena *et al.*, 2018).



## 12. Resultados

### 12.1 Análisis de las secuencias ADNr 16S e índices de diversidad

Se obtuvieron un total de 2,759,879 secuencias ADNr 16S crudas, que tras el filtrado con el programa DADA2, resultaron en 1,497,308 de secuencias no quiméricas. Esto representó una eficiencia de recuperación de aproximadamente el 54% (Tabla 1). De las secuencias filtradas, cada submuestra tuvo un promedio de 37,433, donde el máximo se encontró en la muestra SL-38 con 92,869 secuencias y la mínima en la muestra SL-32 con 6,431. Asimismo, tres muestras mostraron bajos o nulos porcentajes de recuperación tras el filtrado (SL-09, SL-11 y SL-18). Sin embargo, para no disrumpir la interpretación de los resultados obtenidos de la secuencia sedimentaria, las muestras fueron colocadas en los gráficos, aunque se intuye las limitantes de su interpretación.

Primeramente, estas secuencias se agruparon en 16,909 variantes de secuencia del amplicón o ASVs por sus siglas en inglés (*Amplicon Sequence Variants*), y como se esperaba algunas de estos ASVs se compartieron entre diferentes secciones de la secuencia sedimentaria. El 60% de las muestras mostraron más de 370 ASVs (Tabla 1). Para la diversidad alfa, se estimaron los índices de diversidad de Shannon ( $H'$ ) y riqueza de Simpson ( $1-D$ ). El índice de Shannon indicó que el 87.5% de las muestras tienen valores que fluctuaron de 3.06 - 5.41, lo que sugiere una alta diversidad procarionte en la mayoría del núcleo sedimentario. Para el índice de Simpson se encontró algo similar, ya que la mayoría de los sedimentos refleja valores cercanos a la unidad, lo que sugiere una gran riqueza de especies, sin dominancia de éstas. Casos extraordinarios se encontraron en las muestras SL.27, SL.28 y SL.29, donde el índice de Shannon fluctuó de 1.26 a 2.93, y el índice de Simpson de 0.30 a 0.68, surgiendo que un número de ASVs procariontes presenten una alta dominancia de algunas especies.

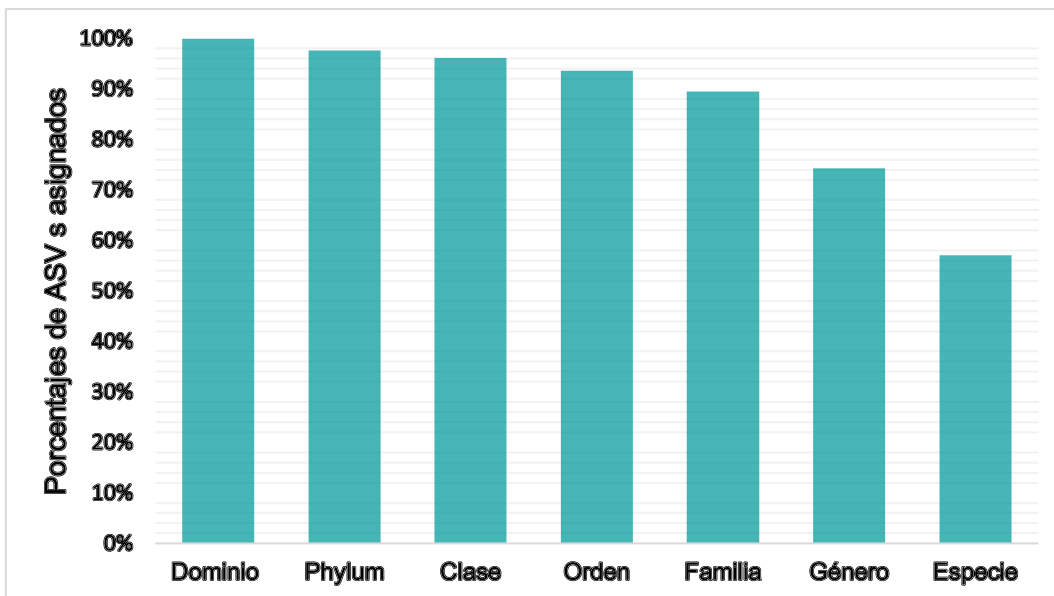
**Tabla 1. Número de secuencias obtenidas de las muestras en estudio**

Muestras	Secuencias Obtenidas	Secuencias filtradas y no quiméricas	Porcentaje de recuperación (%)	ASVs	Shannon	Simpson
SL.01	51,798	36,736	71	594	5.41	0.990
SL.02	54,246	35,312	65	483	4.94	0.979
SL.03	38,449	27,656	72	406	4.66	0.974
SL.04	62,425	47,008	75	407	4.01	0.943
SL.05	48,270	33,138	69	469	4.91	0.982
SL.06	30,795	21,755	71	370	4.43	0.946
SL.07	84,751	56,315	66	703	4.81	0.959
SL.08	49,315	34,216	69	434	4.62	0.965
SL.09	67,920	349	1	41	3.41	0.952
SL.10	54,201	38,153	70	488	4.76	0.962
SL.11	1	nd	nd	nd	nd	1.000
SL.12	92,219	33,169	36	667	4.49	0.900
SL.13	67,104	27,773	41	494	3.23	0.683
SL.14	56,114	31,648	56	509	4.51	0.944
SL.15	111,734	75,215	67	738	4.72	0.966
SL.16	119,815	32,173	27	561	5.02	0.984
SL.17	126,154	84,214	67	747	5.27	0.987
SL.18	30,459	4	0	1	nd	nd
SL.19	101,004	73,529	73	671	4.36	0.924
SL.20	105,287	76,514	73	511	3.95	0.921
SL.21	73,670	48,884	66	591	5.14	0.985
SL.22	115,208	79,425	69	640	4.63	0.964
SL.23	92,679	8,291	9	259	4.32	0.963
SL.24	56,197	30,962	55	472	4.77	0.973
SL.25	54,875	9,657	18	331	4.62	0.969
SL.26	36,950	7,965	22	302	4.34	0.952
SL.27	76,428	33,236	43	207	1.27	0.305
SL.28	30,574	13,553	44	253	2.18	0.525
SL.29	56,012	6,584	12	255	2.93	0.681
SL.30	43,797	31,049	71	370	4.45	0.970
SL.31	73,976	22,462	30	350	4.56	0.978
SL.32	29,891	6,431	22	113	3.07	0.871
SL.33	61,941	45,497	73	389	4.15	0.958
SL.34	65,197	40,704	62	365	4.07	0.956
SL.35	58,473	37,448	64	378	3.89	0.946
SL.36	93,928	57,438	61	534	3.61	0.887
SL.37	100,769	66,216	66	516	3.77	0.915
SL.38	130,783	92,869	71	641	3.71	0.857
SL.39	73,188	39,408	54	335	3.06	0.860
SL.40	83,282	54,352	65	314	3.11	0.889
Secuencias totales	2,759,879	1,497,308	54	16909	*nd: no determinado	



## 12.2 Asignación filogenética de las secuencias ADNr 16S

Todos los ASVs fueron procesados para su clasificación taxonómicamente empleando la base de datos Silva v.138, y asignados con una confianza de más del 80% a los niveles de Dominio, Phylum, Clase, Orden, Familia, Género y Especie. Los ASVs obtenidos (16,909) se agruparon en 6,171 taxones, donde poco más del 89% fueron asignados confiablemente a nivel Familia y rangos superiores. Sin embargo, el 31.44% y el 42.88% de las secuencias no pudieron ser clasificadas al nivel taxonómico de Género y Especie, respectivamente (Fig. 2). Lo anterior podría deberse a que muchos de los procariontes del núcleo sedimentario del lago San Lorenzo no pueden ser asignados confiablemente a aquello encontrado en la base de datos. Cabe mencionar, que una gran proporción de secuencias fueron clasificadas como secuencias de organismos no cultivables.



**Figura 2.** Porcentaje de ASVs procariontes asignados con una confianza >80% a los diferentes rangos taxonómicos de la secuencia sedimentaria proveniente del lago San Lorenzo, Montebello, Chiapas.

### 12.3 Clasificación de las secuencias ADNr 16S a nivel Dominio

A nivel Dominio, se encontró que la abundancia relativa de Archaea fue menor al 3.3% (Fig. 3b); mientras que las secuencias ADNr 16S que corresponden a Bacteria fue mayor al 97% (Fig. 3a).

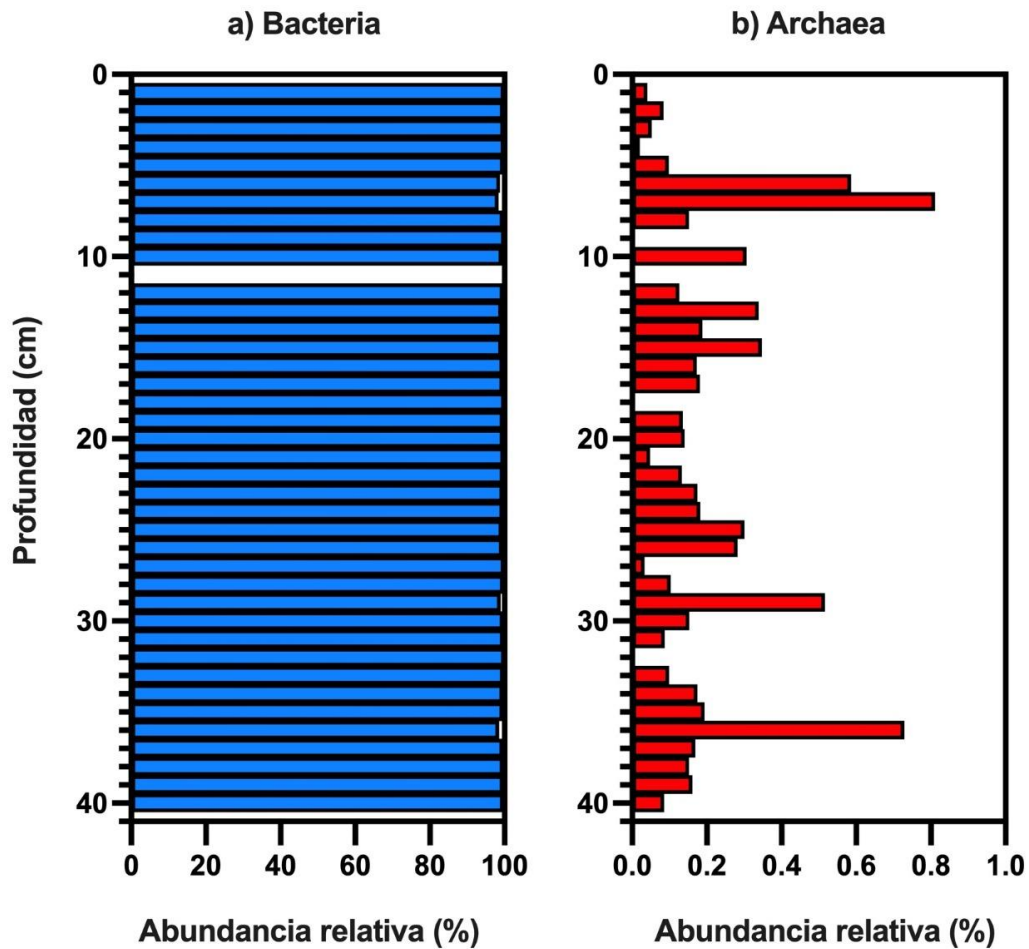
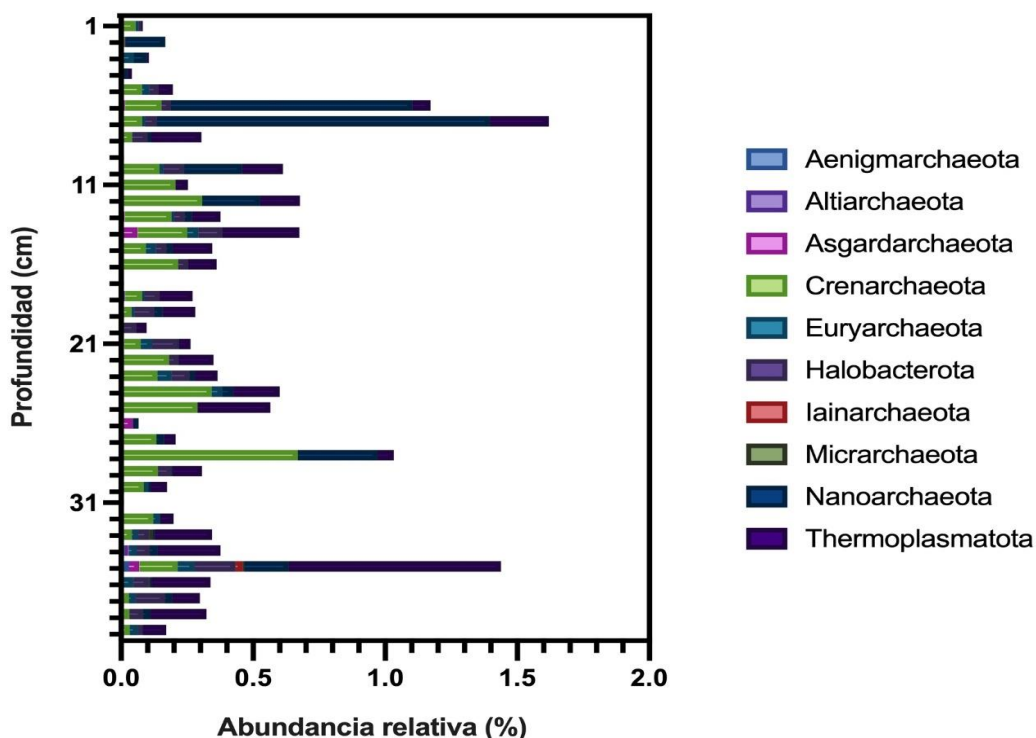


Figura 3. Abundancia relativa de las secuencias ADNr 16S obtenidas a nivel Dominio de: a) Archaea y b) Bacteria

### 12.3.1. Dominio Archaea en la secuencia sedimentaria

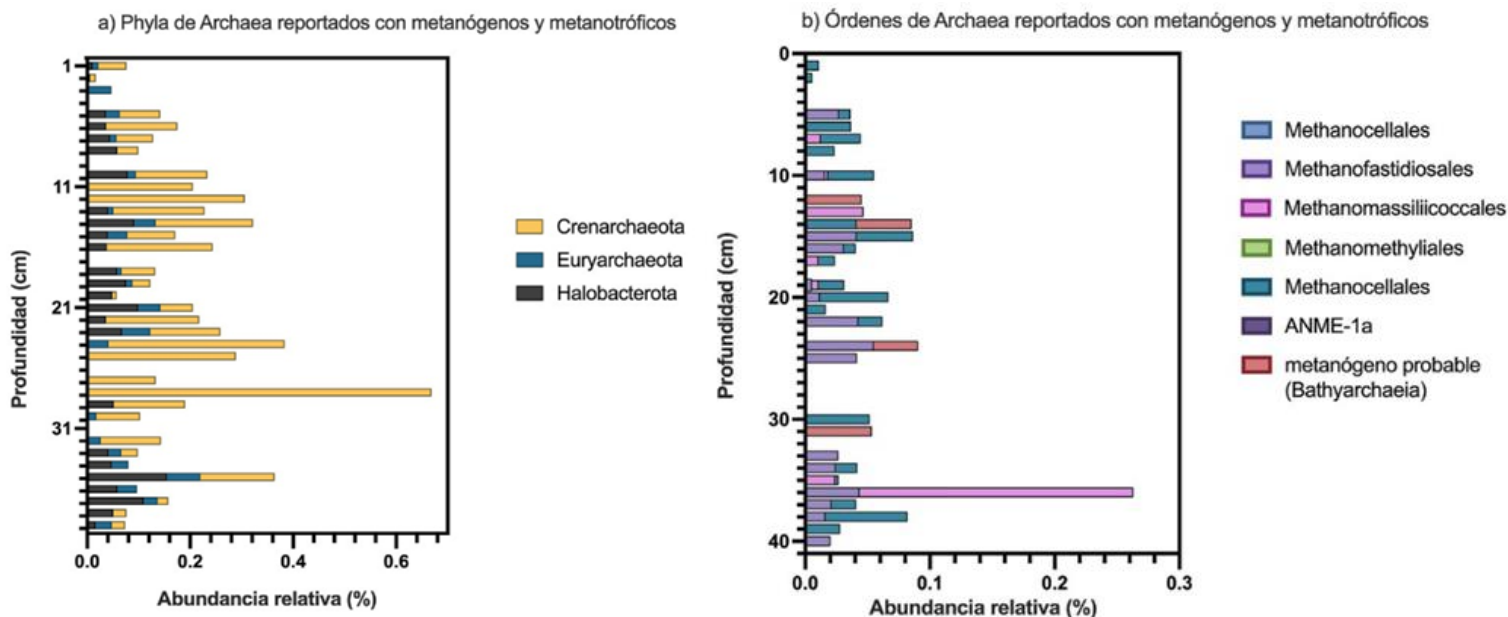
A pesar de que la abundancia de Bacteria es mucho mayor a la de Archaea, en este último dominio se detectaron varios ASVs afiliados a distintos phyla como Aenigmarchaeota, Altiarchaeota, Asgardaeota, Crenarchaeota, Euryarchaeota, Halobacterota, Iainarchaeota, Micrarchaeota, Nanoarchaeaeota y Thermoplasmatota (Fig. 4). En los estratos más superficiales (específicamente a los 6 y 7 cm), se encontró que Nanoarchaeaeota domina en comparación con el resto. Sin embargo, la presencia de este phylum se ve disminuida en sedimentos más profundos, con una dominancia del phyla Thermoplasmatota (Fig. 4).



**Figura 4.** Abundancia relativa de secuencias ADNr 16S de los Phylum de Archaea a lo largo del perfil sedimentario del Lago San Lorenzo, Chiapas.

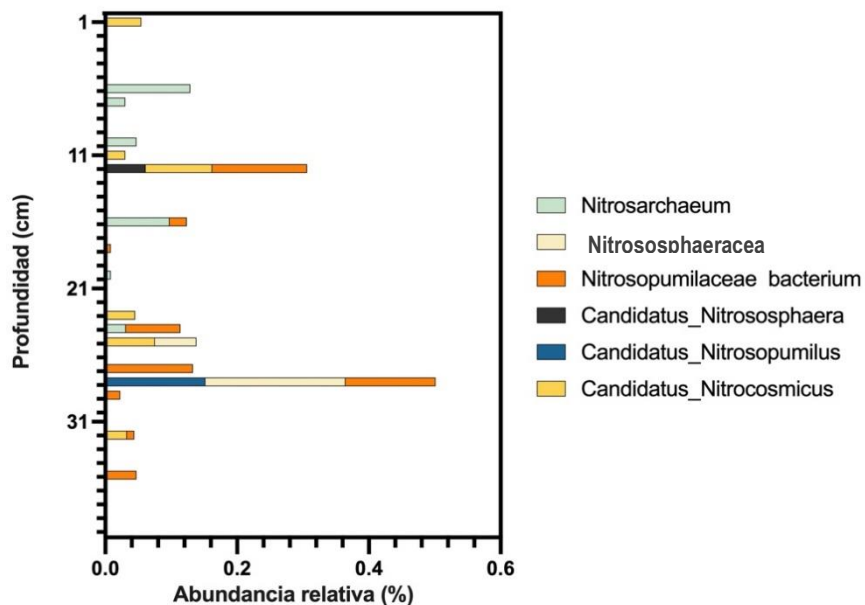
Se encontraron los phyla Crenarchaeota, Euryarchaeota y Halobacterota entre los estratos SL 10 al SL 36 con una alta abundancia relativa (Fig. 5a), cuya importancia se debe a que estas secuencias de arqueas se involucran en los procesos de metanogénesis. Utilizando la base de datos SILVA138 se detectaron los órdenes Bathyarchaeia y Methanomethyliales en el phylum Crenarchaeota entre el centímetro 12 al 31. En Euryarchaeota se encuentran Methanomicrobiales y Methanofastidiosales, órdenes de las clases Methanobacteria y Thermococci, respectivamente (Fig. 5b).

Con la más reciente actualización de la base de datos SILVA, se encontró un nuevo phylum, Halobacterota, cuya importancia se debe a que en este se reorganizan grupos metanotróficos, como el orden Methanocellales, Methanomicrobiales y Methanosarcinales que antes se agrupaban en Euryarchaeota. Además, se encontró la secuencia de la ahora clase ANME-1 dentro de Halobacterota, la cual está estrechamente relacionada con la oxidación anaeróbica del metano (AMO). Finalmente, las secuencias de Methanomassiliicoccales, se agrupan en la clase Termoplasmata, antiguamente parte de Euryarchaeota y ahora del phylum Termoplasmata (Fig. 5b).



**Figura 5.** Abundancia relativa de las secuencias ADNr 16S de arqueas metanogénicas y metanotróficas. a) Secuencias ADNr 16S de los phyla de arqueas metanogénicas y metanotróficas. b) Secuencias ADNr 16S de órdenes metanogénicos y metanotróficos.

También se detectaron arqueas del phylum Crenarchaeota, que están relacionadas con la oxidación de amonio con una abundancia que puede llegar a los 0.5% del total de la huella del ADNr 16S. Algunos de los géneros encontrados fueron “*Candidatus Nitrososphaera*”, “*Candidatus Nitrosopumilus*” y “*Candidatus Nitrocosmicus*”, que se encuentran en la clase Nitrososphaeria (Fig. 6). El término “*Candidatus*” hace referencia aquellos microorganismos procariontes que no han sido cultivados pero que se ha determinado su relación filogenética y su autenticidad por sondeos *in situ* (Schleifer, 2009).

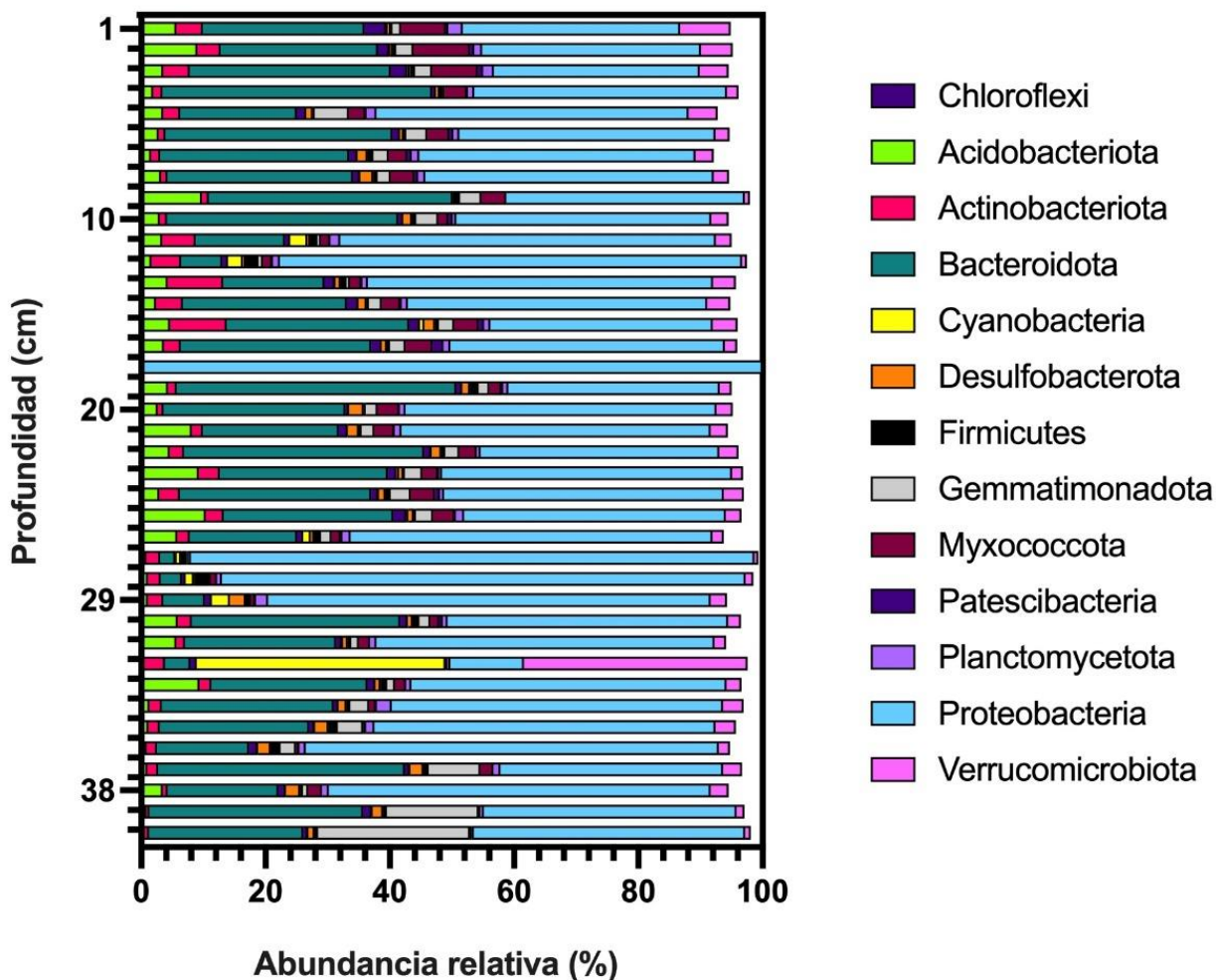


**Figura 6.** Abundancia relativa de secuencias ADNr 16S a nivel género de la Clase Nitrososphaeria.

### 12.3.2. Dominio Bacteria en la secuencia sedimentaria

Del dominio Bacteria, se detectaron 60 phyla (Anexo Tabla 2S) y de los cuales, 13 de ellos representan al menos el 50% de la abundancia relativa ADNr 16S a lo largo del núcleo sedimentario. Proteobacteria (23.08%), Bacteroidota (9.53%), Verrucomicrobiota (8.12%), Planctomycetota (7.83%), Chloroflexi (6.34%), Actinobacteriota (6.32%) y Acidobacteriota (4.75%) son los phyla bacterianos con mayor abundancia relativa.

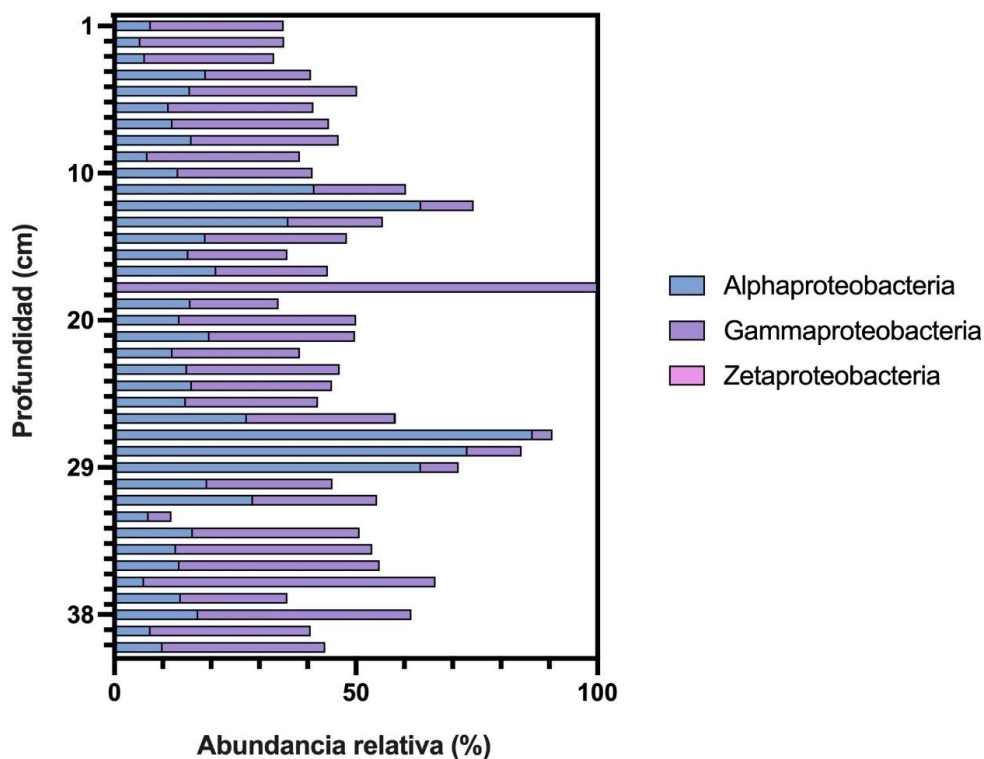
Los phyla Proteobacteria y Bacteroidota se encontraron en todas las secciones estudiadas del núcleo. Si bien, estos phyla se encuentran en todas las muestras sedimentarias, en el centímetro 32 ambos disminuyen, y aumenta considerablemente la abundancia relativa de Cyanobacteria. Mientras que, en el resto de los segmentos, la presencia de secuencias cianobacteriales es mucho menor (Fig. 6). Del mismo modo, el phylum Gemmatimonadota es más abundante en SL39 y SL40; y Verrucomicrobiota en SL32 (Fig. 7).



**Figura 7.** Abundancia relativa de las secuencias ADNr 16S de los principales phyla de Bacteria en la secuencia sedimentaria del Lago San Lorenzo, Chiapas.

### 12.3.2.1 Proteobacteria

Las secuencias relacionadas con el phylum Proteobacteria se dividieron en tres clases diferentes: Alphaproteobacteria, Gammaproteobacteria y Zetaproteobacteria. A pesar de que la clase Betaproteobacteria no se encontró en la base de datos utilizada (SILVA versión 138), si se encontraron algunos miembros de Betaproteobacteria en la clase Gammaproteobacteria, como es el orden Burkholderiaceae.

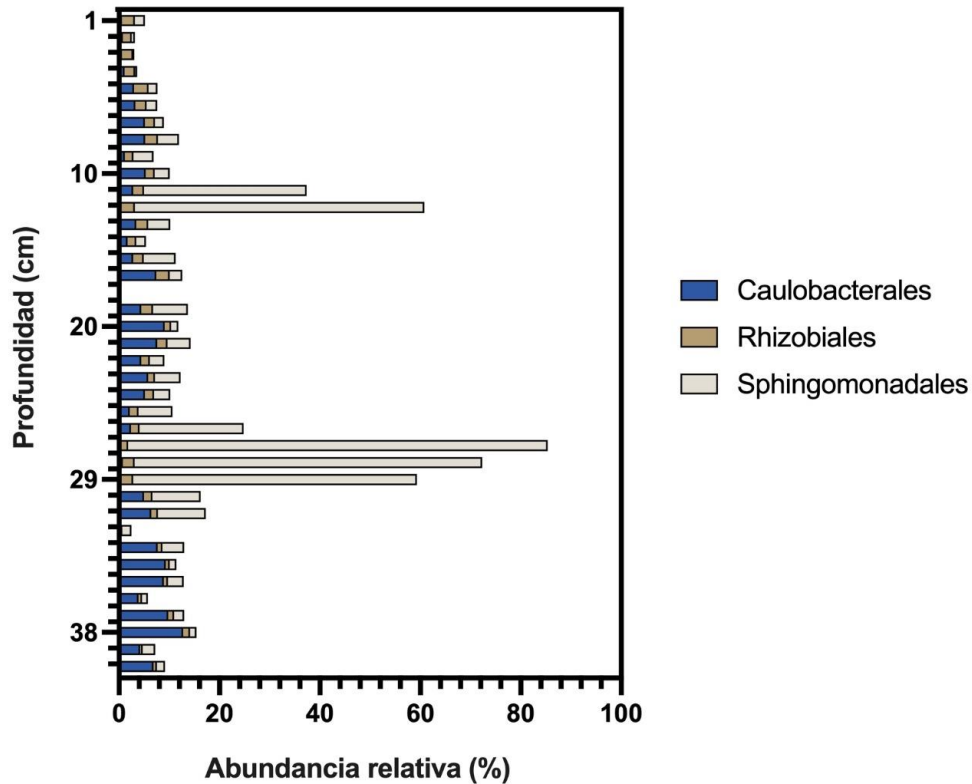


**Figura 8.** Abundancia relativa de secuencias ADNr 16S del phylum Proteobacteria a nivel clase.

Alfaproteobacteria y Gammaproteobacteria fueron las clases con mayor abundancia relativa en todo el perfil sedimentario. En Alfaproteobacteria se encontró una mayor abundancia entre los 12 a 15 y 27 a 29 centímetros. La clase Gammaproteobacteria se encontró presente en toda la columna sedimentaria con ligeras disminuciones en los centímetros 12 a 14, 28, 29 y 32 (Fig. 8).

Entre las secuencias de Alfaproteobacteria se encontró 28 órdenes distintos, de los cuales tres de ellos son de mayor abundancia. El primero es Rhizobiales, presente en todos los estratos sedimentarios, con mayor abundancia en las capas superficiales de, SL.1 a SL.6; por otro lado, entre el centímetro 32 al 40 disminuye considerablemente (Fig.9). Este orden bacteriano alberga organismos que establecen una relación simbiótica con distintos hospederos, por lo que tienen importantes implicaciones agrícolas, ecológicas y médicas (Bernhard, 2010; Garrido-Oter *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2020).

Las secuencias del orden Sphingomonadales incrementaron su abundancia entre los estratos 12, 13 y del 26 al 31, en especial en los centímetros 12, 13, 27, 28 y 29 donde tiene su mayor pico de abundancia relativa. Por otro lado, Caulobacterales abundaba desde el estrato SL.33 al 40, y disminuye en los primeros 4 centímetros del núcleo sedimentario (Fig. 9).



**Figura 9.** Abundancia Relativa de las secuencias ADNr 16S de los órdenes más abundantes de Alphaproteobacteria.

En la clase Gammaproteobacteria se encontraron secuencias que corresponden a 53 órdenes distintos. Particularmente Burkholderiales, anteriormente parte de la clase Betaproteobacteria, es el orden más abundante, el cual tiene varios géneros patógenos de animales y plantas (Austin, 2014; Rojas-Rojas *et al.*, 2018); además de algunos géneros capaces de fijar nitrógeno, como *Nitrosomonas* y *Nitrosospira*. Este orden se distribuye a lo largo del núcleo sedimentario, con una especial dominancia en el centímetro 18, así como en los estratos más profundos (entre SL.33 a SL.40; Fig. 10).

Dentro de esta clase, se encontró que la abundancia relativa el orden Pseudomonadales es más alta en los primeros 10 centímetros del perfil sedimentario y llega a disminuir en los estratos más profundos, entre SL.29 hasta el SL.40 (Fig. 10). A nivel género se localizaron secuencias relacionadas con *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Psychrobacter* y *Pseudomonas*, en las que se pueden encontrar algunas cepas de importancia clínica y con capacidades parasitarias (de Amorim y dos Santos Nascimento, 2017; López-Serrano *et al.*, 2020); además de que algunas especies desnitrificantes del género *Pseudomonas*. En el caso de los órdenes Xanthomonadales, Diplorickettsiales y Coxiellales presentaron una alta abundancia relativa, que si bien, no se encuentran en toda la columna sedimentaria de manera constante, están sobrerrepresentados en los primeros 10 estratos más superficiales (Fig. 10).



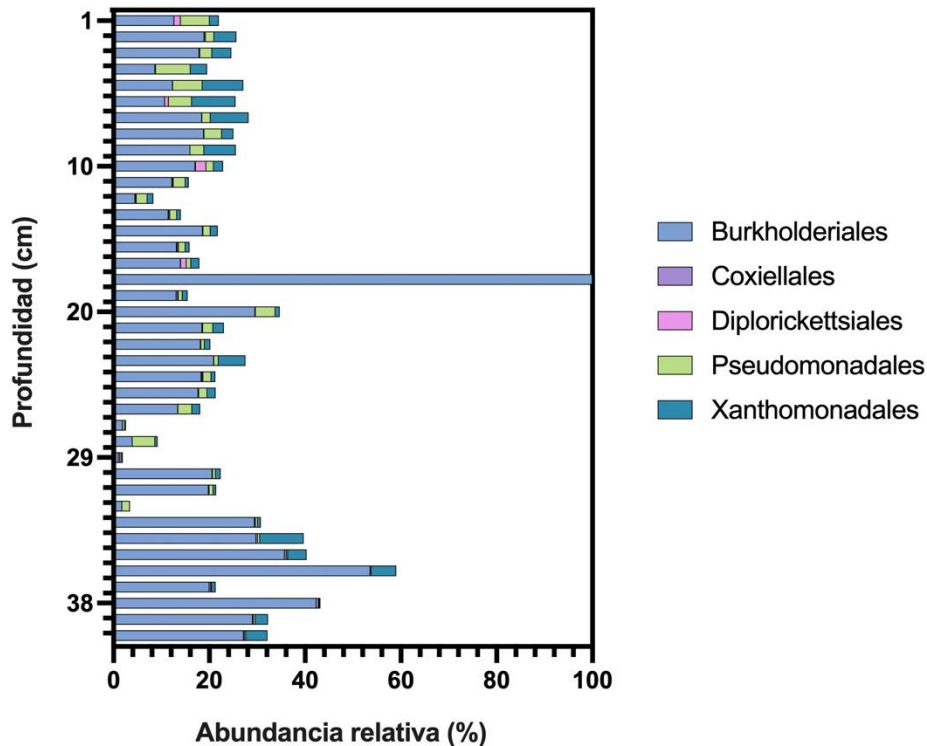
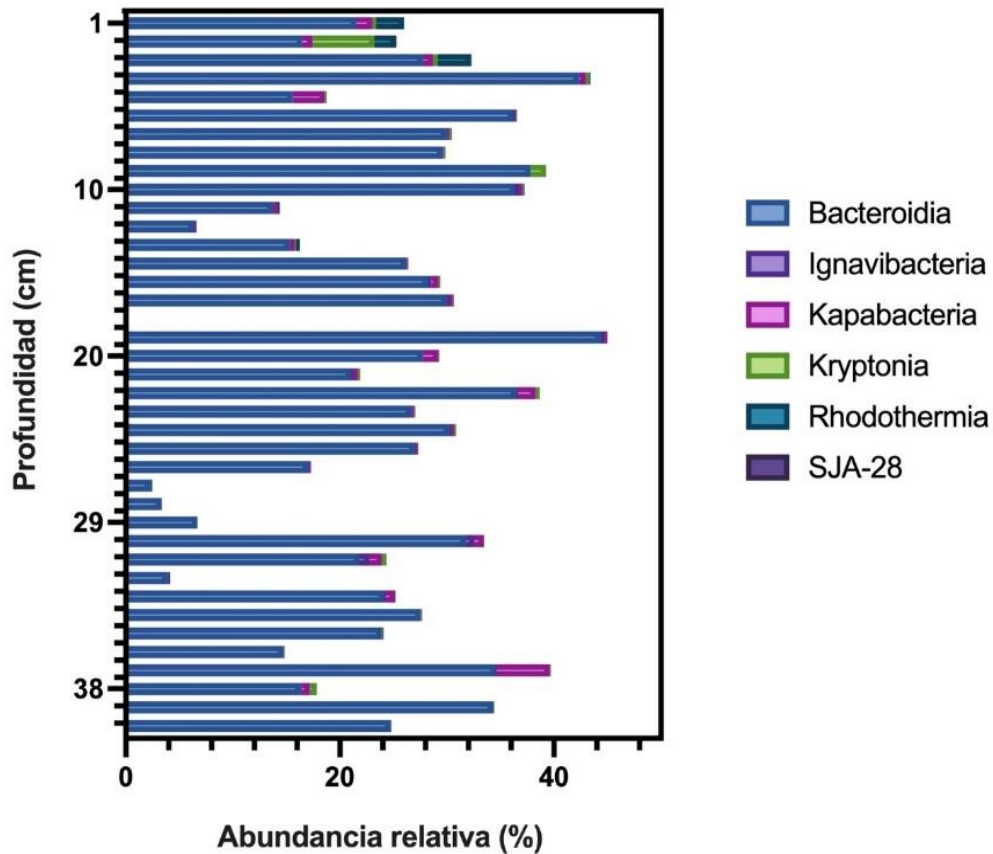


Figura 10. Abundancia Relativa de secuencias ADNr 16S a nivel orden de la clase Gammaproteobacteria.

### 12.3.2.2 Bacteroidota

Las secuencias del phylum Bacteroidota registrados se dividen en 6 clases (Fig. 11). Bacteroidia fue la clase con mayor abundancia relativa de este phylum, ya que representó, poco más del 88% aproximadamente. En los estratos SL.4, 6, 9, 10, 19, 30, 37 y 39 se encontraron las abundancias más altas de Bacteroidia, mientras que, en los sedimentos SL.12, 13, 27, 28 y 29 se observaron el menor número de secuencias (Fig. 11). Por otro lado, al utilizar la versión 138 de la base de datos SILVA, se detectaron algunos cambios taxonómicos interesantes. Por ejemplo, las familias Chitinophagaceae y Saprospiraceae, antes miembros de la clase Sphingobacteriia, ahora pertenecen a Bacteroidia. Así mismo los órdenes Cytophagales, Flavobacteriales y Sphingobacteriales, que anteriormente se encontraban en Cytophagia, Flavobacteriia y Sphingobacteriia, respectivamente, ahora son miembros de la clase Bacteroidia.

Ignavibacteria es otra de las clases encontradas en el perfil sedimentario con una baja abundancia relativa en la mayoría de los estratos; aunque presentan ligeros incrementos en los centímetros 30 y 31. Kapabacteria por su parte cuenta con mayor presencia en las secciones SL. 5 y SL.37, además de pequeños picos en las SL. 20, 21 y 22. En los primeros tres centímetros de profundidad se registró un incremento de las secuencias de las clases Kryptonia y Rhodothermia.



**Figura 11.** Abundancia relativa de las secuencias ADNr 16S de clases miembros al phylum Bacteroidota.

### 12.3.2.3 Otros (Acidobacteriota, Mixococcota, Desulfobacterota)

#### Acidobacteriota

Como ya se mencionó en apartados anteriores, Acidobacteriota es el séptimo phylum con mayor abundancia relativa en todo el núcleo de sedimentos. La importancia de estos organismos bacterianos se debe a la alta diversidad y distribución global que presentan. Sin embargo, de los 26 clados o subgrupos reportados, no todos se encuentran clasificados taxonómicamente (Dedysh y Yilmaz, 2018). En cuanto al perfil sedimentario analizado, se encontraron cinco clases con representación taxonómica registradas en el NCBI Taxonomy (2020): Acidobacteriia o Acidobacteriae, Blastocatellia, Holophagae, Thermoanaerobaculia y Vicinamibacteria. Sin embargo, con la base de datos SILVA (versión 138, actualizada Nov 2020), se reporta otra clase más: Aminicenantia.

## Mixococcota

Con la más reciente actualización de la base de datos de SILVA (138), se agregaron cambios en la asignación taxonómica de diversos phyla, que anteriormente pertenecían a otro u otros más grandes. El phylum Mixococcota es uno de los tantos phyla nuevos que, al menos en esta secuencia sedimentaria, se encontró con tres clases; bacteriap25, Myxococcia y Polyangia. La clase Myxococcia es la que más llama la atención, dado que se encuentra con un solo orden, Myxococcales, que anteriormente se consideraba en la clase de Deltaproteobacteria. La importancia de Myxococcales se debe a su capacidad de formar cuerpos fructíferos multicelulares en momentos de resiliencia (Cao *et al.*, 2019). Algunas de las familias encontradas son Anaeromyxobacteraceae, Myxococcaceae y Vulgatibacteraceae.

La clase Polyangia se divide en 9 órdenes distintos, entre los que se encuentran Haliangiales, Nannocystales y Polyangiales, mismos que aparecieron recientemente en la más reciente clasificación de la base de datos SILVA. Se encontró que el orden Haliangiales se divide en una sola familia Haliangiaceae, mientras que, en Nannocystales se halla Nannocystaceae, y finalmente Polyangiales se subdivide en Polyangiaceae, Phaselicystidaceae y Sandaracinaceae. Por último en la clase bacteriap25 no se encontraron niveles taxonómicos inferiores a esta clase.

## Desulfobacterota

El phylum Desulfobacterota es uno de los phyla que recientemente han sido agregados en la nueva clasificación taxonómica de SILVA 138 (liberación 2020). En el perfil sedimentario del lago San Lorenzo, la abundancia relativa de las secuencias de Desulfobacterota fue mayor en los estratos SL.8, 20, 29, 35, 36, 37 y 38, por otro lado, en los primeros cuatro centímetros y en el 9, 12, 13, 23, 26, 27, 28 y 32, fueron los de menor abundancia (Fig. 7). Si bien este phylum no representó ser uno de los más abundantes en todo el núcleo de sedimentos, si es uno de los más importantes, ya que albergo muchos linajes de bacterias reductoras de sulfato (SRB, por sus siglas en inglés). Se encontraron nueve clases que aún no han sido reportadas en el NCBI Taxonomy (2020): Desulfobaccia, Desulfobacteria, Desulfobulbia, Desulfomonilia, Desulfovibrionia, Desulfuromonadia, Syntrophia, Syntrophobacteria y Syntrophorhabdia (Fig. 12).

En la clase Desulfobaccia se encontró un nuevo orden, Desulfobaccales, que a su vez alberga a la nueva familia Desulfobaccaceae. A nivel género se detectó *Desulfobacca* con una única especie clasificada, *D. acetoxidans*, que anteriormente pertenecía a la familia Syntrophaceae (Anexo 4). La clase Desulfobaccia fue uno de las menos abundantes en todo el phylum, con incrementos en los sedimentos SL.8, 16, 20, 21, 35 y 36. Así mismo, en los centímetros 2, 3, 7, 13, 27, 28, 29, 30, 32, y 34 disminuyo fuertemente esta clase (Fig. 12).

La clase más abundante de Desulfobacterota fue Desulfobacteria, principalmente en la muestra sedimentaria SL.29 y en los estratos más profundos. Sin embargo, en los sedimentos SL.1, 2, 3, 12, 13, 27, 28 y 32 la abundancia relativa disminuyó (Fig. 12). Se descubrieron 2 órdenes de Desulfobacteria; Desulfatiglandales (que aún no ha sido reportado en el NCBI Taxonomy 2020), y Desulfobacterales. En Desulfatiglandales se encontró el género *Desulfatiglans*, antes del miembro de Desulfobacterales. En el orden Desulfobacterales se detectó la familia Desulfobacteraceae con el género *Desulfobacter* y la especie *Desulfobacter postgatei*. También se encontraron dos nuevas familias Desulforegulaceae, con el género *Desulforegula* (anterior miembro de Desulfobacteraceae), y a la familia Desulfosarcinaceae, esta última con tres géneros clasificados: *Desulfatirhabdium*, *Desulfatitalea* y *Desulfosarcina* (miembros anteriores de Desulfobacteraceae) (Anexo Tabla 4S).

La clase Desulfobulbia fue de las menos abundantes en el phylum, con la mayor parte las secuencias concentradas en los sedimentos SL. 13, 29 y 32 (Fig. 12). En esta clase se encontró el nuevo orden Desulfobulbales, que a su vez albergo a la familia Desulfobulbaceae (miembro que perteneció a Desulfobacterales), con el género *Desulfobulbus*. También se reportó a la reciente familia Desulfocapsaceae con dos géneros: *Desulfoprunum* y *Desulforhopalus* (anteriormente miembros de Desulfobulbaceae) (Anexo Tabla 4S).

La clase Desulfomonilia contó con el único y nuevo orden Desulfomonilales, mismo que alberga a la nueva familia Desulfomonilaceae, en ésta se registró el género *Desulfomonile*, que antes se encontraba en la familia Syntrophaceae. La abundancia relativa de la clase Desulfomonilia no fue de las más abundantes y en ocasiones llegó a estar ausente, sin embargo, tuvo máximos de abundancia importantes en los 13, 15, 16, 35 y 37 centímetros (Fig. 12). En cuanto a la clase Desulfovibrionia se encontró al orden Desulfovibrionales con dos familias Desulfomicrobiaceae y Desulfovibrionaceae con los géneros *Desulfomicrobium* y *Desulfovibrio*, respectivamente. Así mismo, estuvo presente la especie *Desulfovibrio hontreensis* (Anexo Tabla S4). La abundancia relativa de la clase Desulfovibrionia apenas fue perceptible en los estratos SL. 26 y 29 (Fig. 12).

Se encontró que la clase Desulfuromonadia estaba presente en la mayoría del perfil sedimentario, en especial en los estratos SL.1, 2, 8, 20, 27 y 38 donde su abundancia relativa fue más abundante. Mientras que, en algunas secciones llegó a estar ausente (SL.5, 6, 25, 26, 28, 31, 32 y 36) (Fig. 12). En la clase Desulfuromonadia se encontraron los órdenes Bradymonadales, Desulfuromonadia y Geobacterales. Tanto Desulfuromonadia y Geobacterales son órdenes que recientemente acaban de ser reportados en la base de datos SILVA 138 (2020). En el orden Desulfuromonadia se encontraron secuencias de la familia Desulfuromonadaceae, también se encontró a la familia Geothermobacteraceae con el género *Geothermobacter*, antes clasificado en Geobacteraceae. Así mismo, se detectaron secuencias de la familia Geobacteraceae dentro del orden Geobacterales, además, del género *Citrifermentans*, el cual no aparece en el NCBI Taxonomy (2020), y el género *Trichlorobacter* que es sinónimo heterotípico de *Geobacter* (Anexo Tabla S4).

Para el caso de las clases Syntrophia y Syntrophorhabdia, se encontró que la abundancia relativa de ambos es más abundante en los estratos más profundos, SL.36, 37 y 38 para el caso de Syntrophia, y SL.30, 31 y 34 al 38 para Syntrophorhabdia. Por otro lado, la clase Syntrophobacteria tuvo mayor abundancia relativa en estratos superficiales como SL.5, 8, 10, 16, 19, 20 y 21 (Fig. 12). En la clase Syntrophia se encontraron dos géneros *Smithella* (de la nueva familia Smithellaceae) y *Syntrophus* de la familia Syntrophaceae, ambos pertenecientes al nuevo orden Syntrophales. Para el caso de la clase Syntrophobacteria se encontró al orden Syntrophobacterales, con la familia Syntrophobacteraceae, y dos géneros: *Desulfovira* y *Syntrophobacter*. Así mismo en Syntrophorhabdia, alberga al género *Syntrophorhabdus*, miembro de la familia Syntrophorhabdaceae, del nuevo orden Syntrophorhabdales (Anexo Tabla S4).

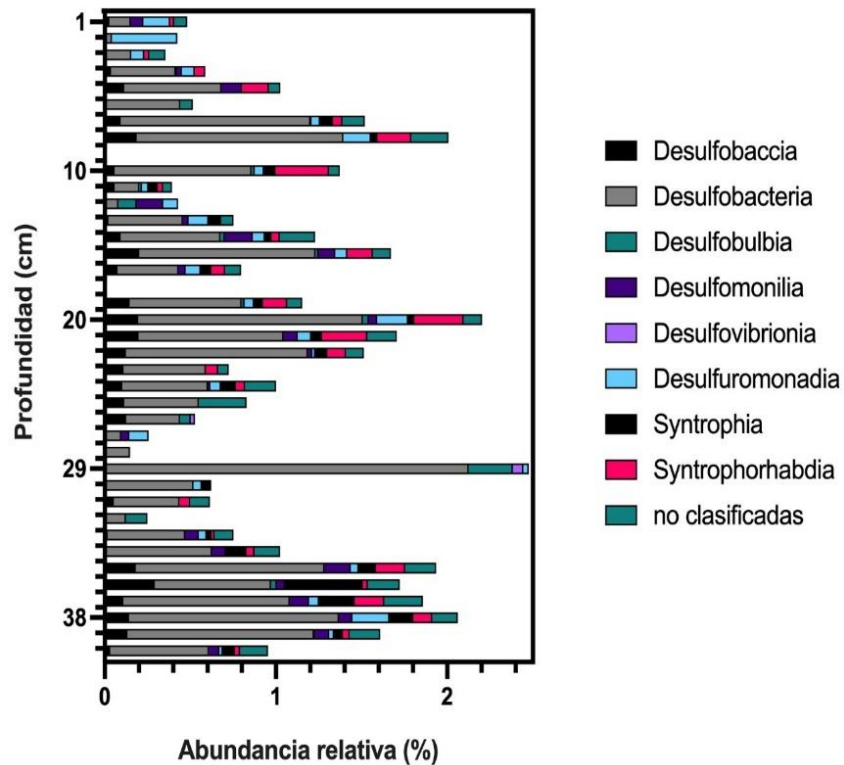


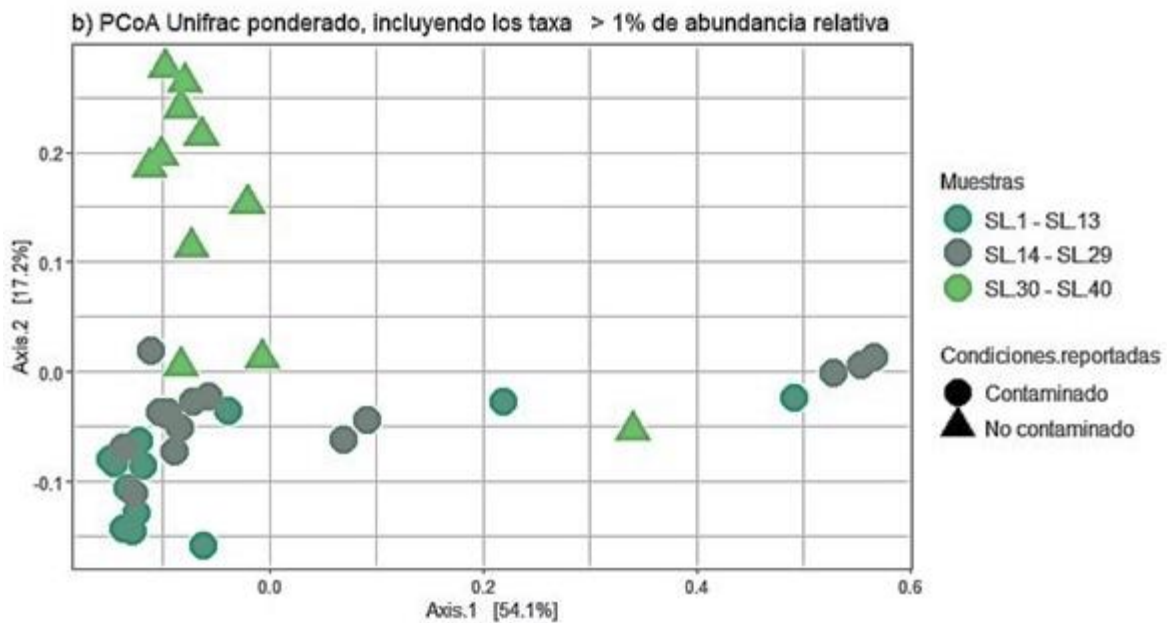
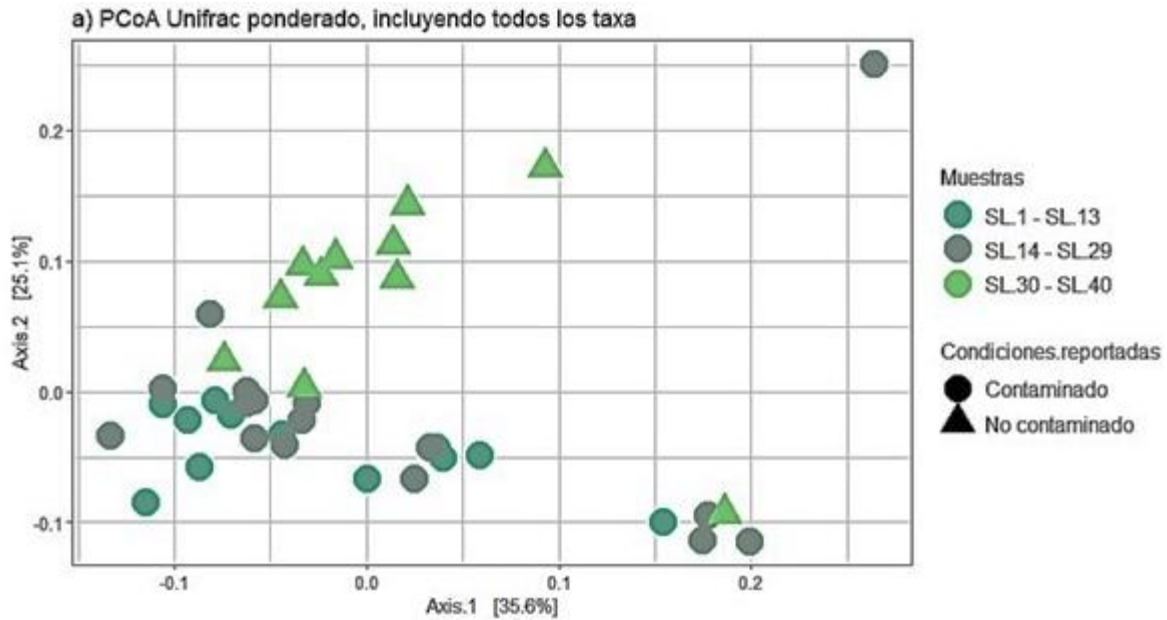
Figura 12. Abundancia relativa de las secuencias ADNr 16S de las clases miembros del phylum Desulfobacterota.

## 12.4 Patrones de presencia/ausencia y abundancia relativa de taxones indicadores de contaminación en la secuencia sedimentaria del lago San Lorenzo.

Se realizó un Análisis de Coordenadas Principales con distancia UNIFRAC (PCoA-UNIFRAC) para conocer las diferencias en la estructura de la comunidad procarionte a lo largo del perfil sedimentario, considerando: i) la abundancia de los ASVs (ponderado), y/o ii) los patrones de presencia/ausencia de los taxa encontrados (no ponderado). Así mismo, gracias a un modelo de datación realizado por el grupo de Paleolimnología del Instituto de Geofísica de la UNAM, se conocen los segmentos donde se saben las fechas de mayor contaminación en el lago, por lo que también se consideraron dos estados de condiciones reportadas: contaminado y no contaminado.

El PCoA ponderado con todos los ASVs encontrados ( $n=6,171$ ) mostró que existen ligeras diferencias entre las muestras analizadas conforme a la profundidad de muestreo, definiéndose tres secciones: SL.01-13, SL.14-29 y SL.30-40. Este análisis muestra una explicación total del 60.7% (Fig. 13a), sin mostrar diferencias significativas a un valor  $p < 0.05$  (Fig. 13c). Estos resultados sugieren un ligero cambio en la composición de la comunidad procarionte respecto a la profundidad de muestreo y al estado trófico reportado del lago, pero no lo suficiente como para ser significativos. Al no observarse diferencias significativas, se hizo un segundo análisis considerando sólo las señales 16S ADNr más abundantes (y aquí definida como ASVs con menos del 0.1% de abundancia y encontrados en al menos el 25% de las muestras ( $n=132$ )) (Fig. 13b). Estos resultados muestran que la explicación del PCoA aumenta al 71.3%, pero siguen sin encontrarse diferencias significativas a valores de  $p < 0.05$  entre los grupos de segmentos (Fig. 13c).

De igual forma, se realizó un PCoA no ponderado utilizando todos los ASVs encontrados ( $n=6171$ ), donde se observan ligeras diferencias entre las muestras analizadas conforme a la profundidad, obteniendo una explicación del 19.3% (Fig. 14a). Sin embargo, estas diferencias no son significativas, ya que los valores  $p$  fueron mayores a 0.05 (Fig. 14c). Este análisis, a diferencia del PCoA anterior, sugiere un cambio más marcado en la composición microbiana en cuanto a la profundidad y a los niveles tróficos reportados para el lago. De forma similar, cuando se consideran sólo los ASVs con una abundancia relativa  $>0.1\%$  y encontrados en el 25% de las muestras analizadas ( $n = 132$ ), la explicación del PCoA aumenta al 58.1%, y tampoco se encontraron diferencias significativas (Fig. 14b y c).

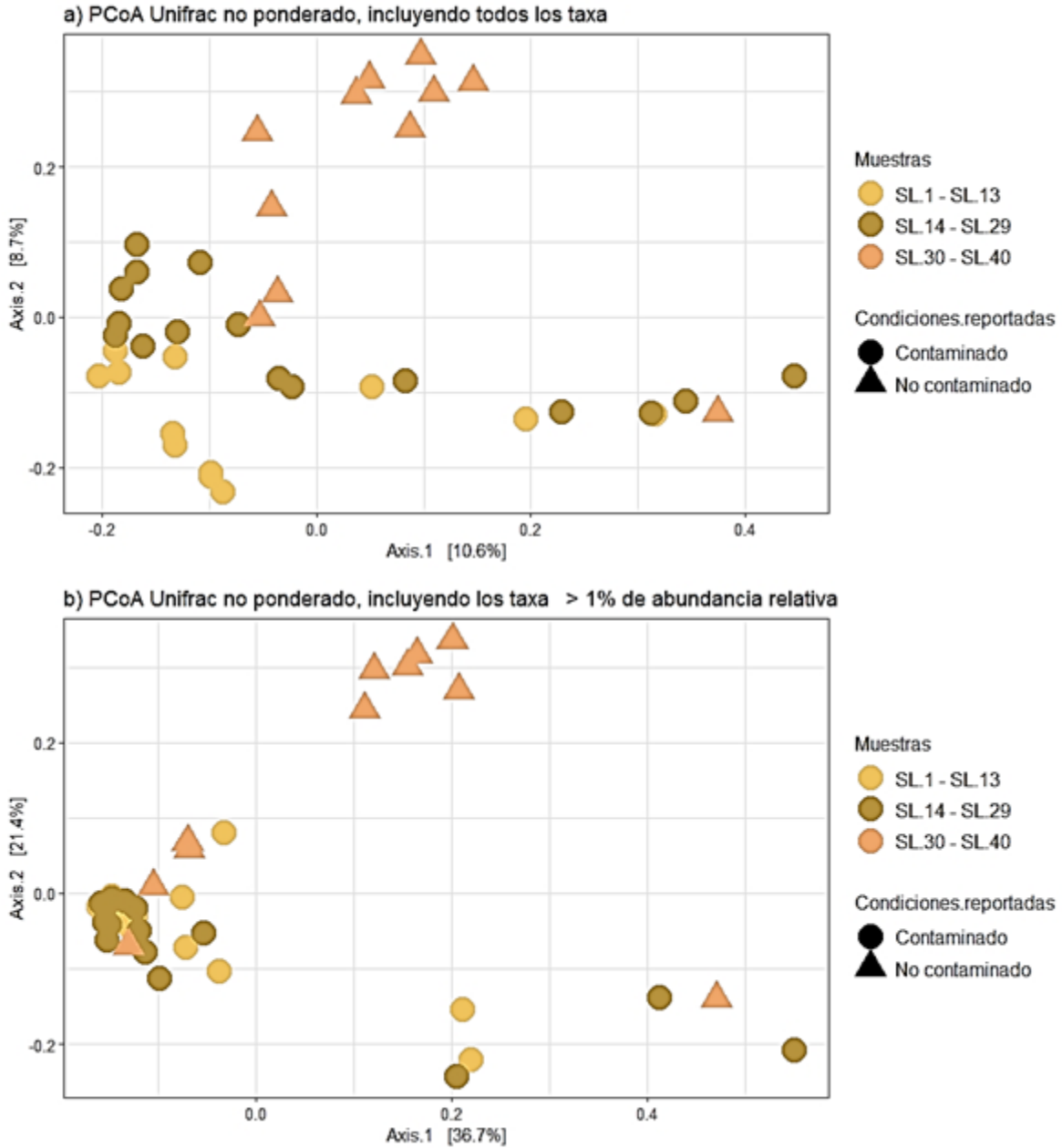


c) Prueba de PERMANOVA del PCoA ponderado

	Valor <i>p</i> calculado con	
	Todos los ASVs	ASVs > 0.1%
SL.1:SL.13 - SL.14:SL.29	0.92	0.533
SL.1:SL.13 - SL.30:SL.40	0.654	0.305
SL.14: SL.29 - SL.30:SL.40	0.768	0.811

**Figura 13.** Análisis de Coordenadas Principales con distancia Unifrac de las comunidades procarionóticas (ADNr 16S) del núcleo sedimentario del lago San Lorenzo, Chiapas. a) PCoA UNIFRAC ponderado donde se consideran todos los taxones ( $n=6,171$ ). b) PCoA UNIFRAC ponderado considerando los taxones detectados con > 0.1% abundancia relativa ( $n= 132$ ). c) Resultados de la prueba de PERMANOVA para los grupos de segmentos analizados.





c) Prueba de PERMANOVA del PCoA no ponderado

	Valor <i>p</i> calculado con	
	Todos los ASVs	ASVs > 0.1%
SL.1:SL.13 - SL.14:SL.29	0.759	0.922
SL.1:SL.13 - SL.30:SL.40	0.799	0.319
SL.14:SL.29 - SL.30:SL.40	0.993	0.519

**Figura 14.** Análisis de Coordenadas Principales con distancia Unifrac de las comunidades procarionticas (ADNr 16S) del núcleo sedimentario del lago San Lorenzo, Chiapas. a) PCoA UNIFRAC no ponderado donde se consideran todos los taxones ( $n=6,171$ ). b) PCoA UNIFRAC no ponderado considerando los taxones detectados con > 0.1% abundancia relativa ( $n = 132$ ). c) Resultados de la prueba de PERMANOVA para los grupos de segmentos analizados.



## 12.5 Relación de eventos ambientales con los taxones encontrado en el núcleo sedimentario del lago San Lorenzo, Chiapas

### 12.5.1 Eventos ambientales registrados que impactaron al PNLM (1957-2013)

Con ayuda del modelo de datación realizado por el grupo de Paleolimnología del Instituto de Geofísica de la UNAM, y acotando las fechas de interés de este estudio al periodo 1957-2013 (Tabla 2), se realizó una investigación bibliográfica de eventos naturales o antrópicos que impactaron directa o indirectamente al PNLM. Estos eventos incluyeron observaciones relacionadas con el aumento en la tasa de deforestación, el incremento de la erosión sedimentaria, el cambio de coloración de los lagos, entre otros. Así mismo, se recabó información de la base de datos del Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), del incremento poblacional de los tres municipios aledaños al PNLM desde la década de los 60 hasta el año 2013, y del registro histórico de sequías en la zona de estudio (Tabla 5).

El primer reporte encontrado sobre el cambio de coloración en los lagos de planicie se dio en 2003, incluyendo desde Vuelta de Agua hasta Bosque Azul (CONANP, 2007; CONAGUA, 2009, CFE, 2012a, 2012b). Desde entonces, en temporada invernal, se han registrado esta misma situación acompañada con la aparición de natillas amarillas y verdosas en los sistemas lacustres, incluyendo el lago San Lorenzo (CONANP, 2007; CONAGUA, 2009, CFE, 2012a, 2012b). Del mismo modo, se encontraron registros donde se informa que el cambio de coloración venía acompañado de la presencia de peces muertos y de aromas a azufre (CONAGUA, 2009, CFE, 2012a, 2012b). Se encontró la presencia de coliformes y sulfuros, muy probablemente asociados con las constantes descargas de aguas residuales en la zona (CONANP, 2007; CONAGUA, 2009; CFE, 2012b).

También hay reportes del uso de agroquímicos por parte de las comunidades aledañas al PNLM, el cual comenzó en la década de los 1970s, y se intensificaron después de 1998. Primeramente, muchos de los ejidatarios preferían realizar la práctica tradicional de roza-tumba-quema para preparar las tierras de uso agrícola (Zárate y García, 2017). Sin embargo, en 1998 se produjo uno de los mayores incendios forestales reportados en el PNLM donde las intensas sequías de la década de 1990 y el impacto del efecto del Niño, jugaron un papel importante (Calderón *et al.*, 2020). Como consecuencia, en 1999 se impulsaron varias políticas para limitar la práctica de la roza-tumba-quema como la Norma Oficial Mexicana NOM-015-SEMARNAP/SAGAR-1997 por el gobierno Federal, y la “Ley para la Prevención, Control y Combate de Incendios Forestales” por el gobierno de Chiapas. Para hacer cumplir estas leyes y normas, se repartieron estímulos para que se eliminara el uso del fuego y castigos por su empleo. Estas medidas incrementaron el uso de agroquímicos por parte de los ejidatarios, provocando un aumento en la contaminación del suelo, y por consiguiente en los cuerpos acuíferos del PNLM (Ponce Calderón *et al.*, 2020).

**Tabla 2. Registro de eventos ambientales en el PNLM y zonas aledañas\* (X significa detectado/reportado))**

Muestras	Años	Cambios ambientales que afectaron al PNLM y zonas aledañas							
		Cambios de coloración	Explotación de actividad forestal	Porcentaje de cobertura vegetal en el PNLM (%)	Uso de agroquímicos	Sequías	No. de habitantes determinado en cada censo		
							Comitán	La Independencia	La Trinitaria
SL.01	2013		X		X	X			
SL.02	2012	X	X		X	X			
SL.03	2010		X		X	X	141,013	41,266	72,769
SL.04	2009	X	X		X	X			
SL.05	2007		X		X	X			
SL.06	2006		X		X	X			
SL.07	2004		X		X	X			
SL.08	2003	X	X		X	X			
SL.09	2002		X		X				
SL.10	2000		X	29.59	X		105,210	32,245	59,686
SL.11	1999		X						
SL.12	1997		X			X (1998)			
SL.13	1996		X						
SL.14	1995		X						
SL.15	1993		X	39.14					
SL.16	1992		X						
SL.17	1990		X				78,896	27,073	57,975
SL.18	1989		X						
SL.19	1987		X						
SL.20	1986		X						
SL.21	1985		X						
SL.22	1983		X						
SL.23	1982		X						
SL.24	1980		X				54,733	17,613	35,272
SL.25	1979		X						
SL.26	1977		X						
SL.27	1976		X						
SL.28	1975		X	43.58					
SL.29	1973		X						
SL.30	1972		X						
SL.31	1970		X				39,006	13,147	29,218
SL.32	1969		X						
SL.33	1968		X						
SL.34	1966		X						
SL.35	1965		X						
SL.36	1963		X						
SL.37	1962		X						
SL.38	1960		X				31,269	9,683	21,925
SL.39	1959								
SL.40	1957								

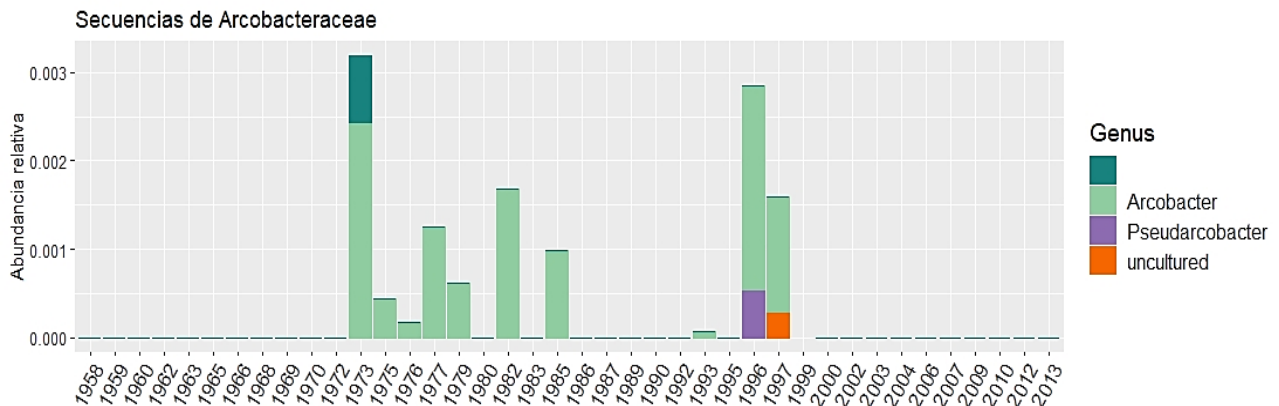
\*Tomado de Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI)

## 12.5.2 Indicadores microbianos encontrados en los sedimentos del Lago San Lorenzo

Se realizó una búsqueda de los organismos encontrados en las muestras sedimentarias del lago San Lorenzo y que podrían estar relacionados con los eventos ambientales ocurridos en el PNLM desde finales de la década de los 1950 hasta el año 2013. Así mismo, se tomó en cuenta el aumento de la abundancia relativa de los procariotas encontrados aumentara en las secciones donde ocurrieron los eventos naturales y antrópicos, por lo tanto, en las próximas figuras se sustituirá la etiqueta de las muestras (SL) por los años correspondientes. Queda mencionar que la presencia de estos bioindicadores se relaciona con momentos cuando se expuso el lago a altas cargas de aguas residuales. Aunque su presencia es clara en los segmentos datados, estas señales son menores a aquellas de la comunidad sedimentaria. Por lo que, los segmentos donde hay mayores reportes de contaminación no sobresalen en el análisis de diversidad beta PcoA-Unifrac (Figs. 13 y 14).

### 12.5.2.1 Arcobacter

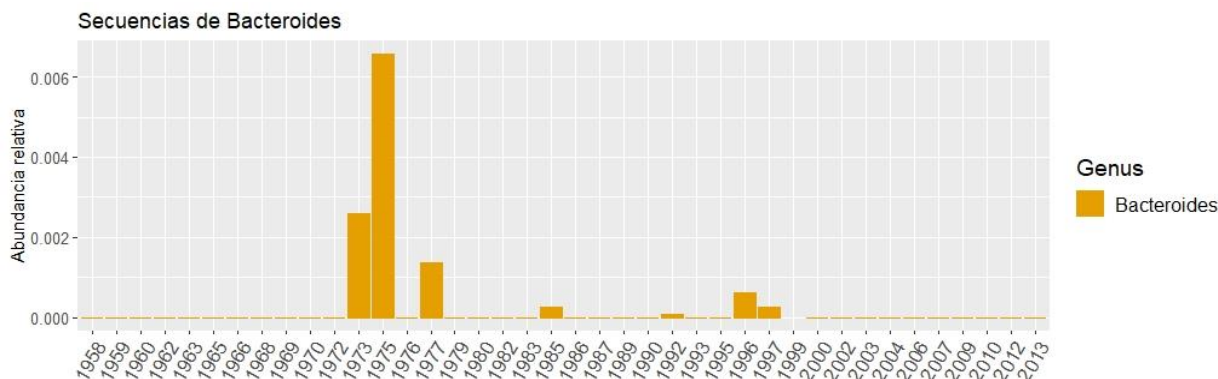
Se ha demostrado en estudios previos que el género *Arcobacter* se encuentra en sitios contaminados por aguas residuales, así como como las plantas de tratamiento y/o lodos activados (Ghaju Shrestha *et al.*, 2019; Munk Kristensen *et al.*, 2020). En el núcleo sedimentario del lago en estudio, se encontró que el género *Arcobacter* tiene distintos picos de abundancia relativa, principalmente en el año 1997, 1996 y 1973 aunque también se detecta en los años 1993, 1985, 1982, 1979, 1977, 1976 y 1975 con menor abundancia (Fig. 13).



**Figura 15.** Abundancia relativa de las secuencias ADNr 16S de los miembros de la familia Arcobacteraceae a lo largo del núcleo sedimentario del lago San Lorenzo, Chiapas, segmentado desde 1958 al 2013.

### 12.5.2.2 Bacteroides

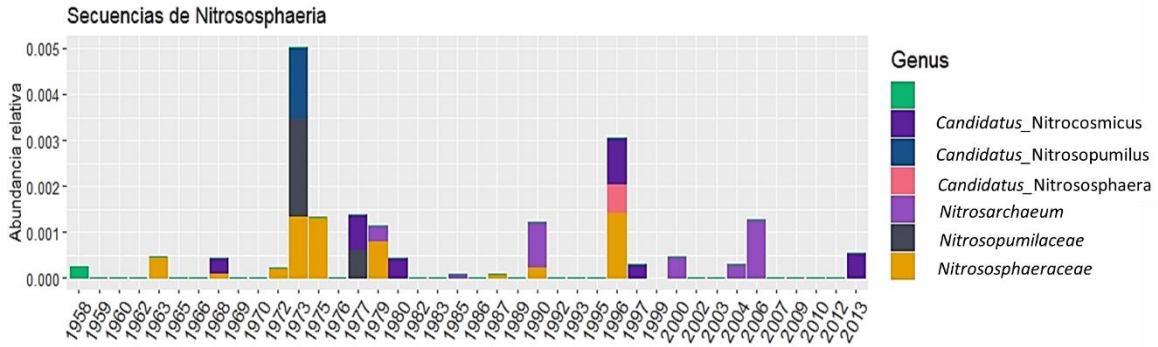
Los miembros del phylum Bacteroidota son reconocidos por su asociación con el ser humano, en especial por habitar los intestinos, por lo tanto, se les encuentra en las heces humanas, como el género *Bacteroides* (Feng y McLellan, 2019). En las muestras sedimentarias se encontró una alta abundancia relativa de las secuencias de este género *Bacteroides* en el año de 1973 y 1975, siendo este último con la mayor abundancia. Por otro lado, en los años de 1985, 1992, 1996 y 1997 se encuentra una ligera presencia de *Bacteroides* (Fig. 14).



**Figura 16.** Abundancia relativa de las secuencias ADNr 16S del género *Bacteroides* en el núcleo sedimentario del lago San Lorenzo, Chiapas, segmentado desde 1958 al 2013.

### 12.5.2.3 Nitrososphaeria

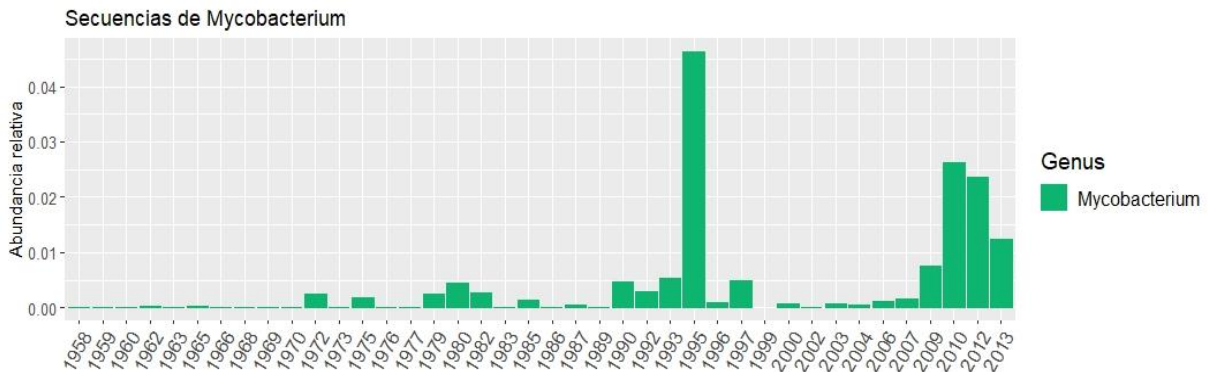
Los miembros de la clase Nitrososphaeria, son conocidos por su capacidad de oxidación de amonio (Stieglmeier et al., 2014). En el núcleo sedimentario del lago San Lorenzo, se encontró picos de abundancia relativa de la clase Nitrososphaeria en los años 1973 y 1996. Sin embargo, en los sedimentos correspondientes a los años 1975, 1977, 1979, 1980, 1985, 1987 y 1990 se detectó la presencia de esta misma clase, aunque en menor abundancia. Así mismo, algunos de los géneros encontrados son: *Nitrosarchaeum*, *Candidatus Nitrososphaera*, *Candidatus Nitrosopumilus* y *Candidatus Nitrocosmicus* (Fig. 17). Estos grupos se han reportado en diferentes plantas de tratamiento de agua residual (Yin, Bin. y Xu, 2018). Encontrarlos en la secuencia sedimentaria del Lago San Lorenzo puede entonces sugerir que llegaron con el agua residual o que su abundancia en el lago se vio incrementada, tal vez por el aporte de amonio por las aguas residuales no tratadas.



**Figura 17.** Abundancia relativa de las secuencias ADNr 16S de los miembros clase Nitrososphaeria en el núcleo sedimentario del lago San Lorenzo, Chiapas, segmentado desde 1958 al 2013.

### 12.5.2.5 Mycobacterium

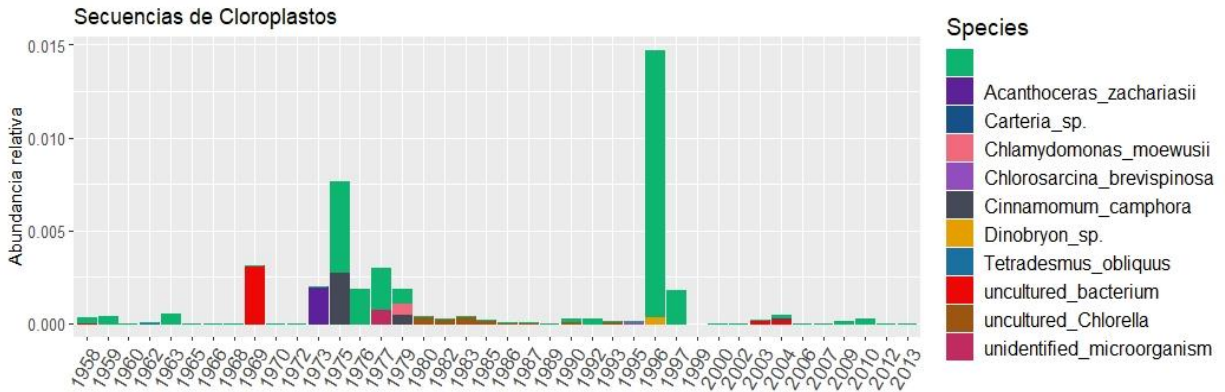
Distintos estudios han identificado que los organismos del género *Mycobacterium* están altamente distribuidos en ambientes acuáticos como de agua salada, sin embargo, la importancia de estos microorganismos se debe a que muchas especies son considerados patógenos para humanos y animales (Garchitorena *et al.*, 2015). Así mismo se ha encontrado que la abundancia de los miembros de *Mycobacterium* prolifera en condiciones eutróficas, principalmente por las descargas de nutrientes como el nitrógeno (Jacobs *et al.*, 2009). En el núcleo sedimentario del lago San Lorenzo, se encontró que la abundancia de *Mycobacterium* incrementa en el año de 1995, y vuelve a incrementar a partir de los años del 2009, 2010, 2012 y 2013 (Fig. 17). Los incrementos anteriores coinciden con el uso intensivo de agroquímicos en las inmediaciones del PNLM (Tabla 2).



**Figura 18.** Abundancia relativa de las secuencias ADNr 16S del género *Mycobacterium* en el núcleo sedimentario del lago San Lorenzo, Chiapas, segmentado desde 1958 al 2013.

### 12.5.2.6 Cloroplastos

Para el presente estudio, se encontraron secuencias ADNr 16S afiliadas a cloroplastos y cuya abundancia relativa mostró un incremento en la muestra del año de 1996. Sin embargo, en los años de 1997, 1979, 1977, 1976, 1975, 1973 y 1969 también se encontró un aumento de abundancia relativa (Fig. 17). Estas secuencias correspondieron a diatomeas (*Acanthoceras zachariasii*), algas (*Chlamydomonas moewusii*, *Chlorosarcina brevispinosa*, *Tetradismus obliquus*, *Carteria* sp. y *Dinobryon* sp.) y una planta (*Cinnamomum camphora*).



**Figura 19.** Abundancia relativa de las secuencias ADNr 16S de los miembros de la secuencia de Cloroplastos en el núcleo sedimentario del lago San Lorenzo, Chiapas, segmentado desde 1958 al 2013.

## 13. Discusión

### 13.1 Análisis de las secuencias ADNr 16S e índices de diversidad

En el presente estudio se observó que la secuenciación ambiental de amplicones ADNr 16S es una aproximación factible para recuperar y estudiar huellas moleculares de procariotas de la secuencia sedimentaria del lago kárstico de San Lorenzo del PNLM. El proceso de secuenciación resultó en ~2.8 millones de secuencias, que tras un proceso de filtración resultaron en ~1.5 millones (Tabla 1), representando cerca del 54% de recuperación de las secuencias obtenidas (es decir, la relación de secuencias filtradas y no-quiméricas con las secuencias totales obtenidas) (Tabla 1). En trabajos previos, donde se estudiaron sedimentos de cuerpos acuáticos se observó que la eficiencia de recuperación fue mayor que la encontrada en este trabajo. Por ejemplo, se recuperó ~65% de amplicones ADNr 16S de sedimentos laguno-costeros de Pom-Atasta y Palizada-Del Este (Orchet, 2019), y 72% de sedimentos del lago Alchichica (Santillan, 2018). Estas variaciones entre estos estudios pueden deberse a diferentes factores, como la profundidad con la que se muestreo en este trabajo y las condiciones ambientales de cada sitio. En los trabajos de Orchet (2019) y Santillan (2018) se estudiaron secciones que iban de 0 a 10 cm de profundidad; mientras que, en este trabajo se utilizó una sección de 40 cm. Se ha reportado que los niveles de profundidad influyen en la cantidad de células microbianas vivas, ya que en la superficie es mayor a la encontrada en sedimentos profundos (Kallmeyer *et al.*, 2012; Schippers *et al.*, 2010; Roussel *et al.*, 2008). De igual forma, en la revisión de Parkes *et al.* (2014), se reporta que en sedimentos subterráneos la necromasa procariota incrementa conforme a la profundidad en comparación con las zonas superficiales. Esto implica que, cuando se extrae ADN de sedimentos superficiales, éste corresponde mayormente a ADN de procariotas vivos lo que resulta en mayor calidad de los amplicones obtenidos. Contrariamente, a mayor profundidad, el ADN liberado al ambiente por las células muertas puede ser degradado y consecuentemente, los amplicones obtenidos sean de menor calidad o fomente la formación de quimeras. El material genético extracelular termina siendo fuente de alimento para otros grupos de procariotas en el subsuelo sedimentario (Parkes *et al.*, 2014). Sin embargo, pueden recuperarse algunas huellas ambientales debido a que este ADN extracelular puede preservarse como archivo sedimentario (Levy-Booth, 2007), bajo condiciones ambientales que permitan su conservación.

Con ello, el análisis de las secuencias obtenidas de los sedimentos del lago San Lorenzo tienen valores de diversidad de 1.2-5.5 (índice de Shannon ( $H'$ )) y de riqueza procariótica 0.3-0.98 (índice de Simpson ( $1-D$ )). Aunque no se observó una tendencia significativa en los cambios de estos índices conforme a la profundidad, se vio una tendencia donde los valores de  $H'$  disminuyeron con respecto a esta. Por ejemplo, a partir del centímetro 27 (SL.27), se registraron valores de 1.26 y 4.55, y en la porción SL.35-40 los valores de  $H'$  no excede de 3.8. Esta tendencia es similar a la observada por otros estudios de secuencias sedimentarias (Highton *et al.*, 2016; Tsuboi *et al.*, 2019). Por lo tanto, la distribución de los sedimentos conforme a la profundidad generaría una variación en sus condiciones físicas, químicas y biológicas (Beaulne *et al.*, 2020), lo cual estaría influyendo en las comunidades



microbianas vivas y, en la calidad del ADN de células necróticas, disminuyendo la diversidad de los taxa encontrados en este estudio.

Por otra parte, los arreglos verticales de las comunidades procariotas metabólicamente activas podrían influir en los índices de diversidad microbiana. Pues algunos factores como variaciones en las concentraciones de oxígeno y nutrientes a mayores profundidades provocan que ciertos grupos específicos de arqueas y bacterias utilicen otro tipo de aceptor de electrones diferente de oxígeno para generar su energía (Wurzbacher *et al.*, 2017; Fenchel y Finlay, 2008). Además, recientemente se reportó que los índices de diversidad de procariotas metabólicamente activos tienden a disminuir conforme con la profundidad en sedimentos lacustres (Tsuboi *et al.*, 2019).

Al considerar los valores de diversidad ( $H'$ ) de los sedimentos superficiales del Lago San Lorenzo éstos parecen asemejarse, debido a que el nivel trófico actual del lago (eutrófico) se ha mantenido constante desde los primeros años del siglo veintiuno (Hernández, 2016; Maya, 2017). En estudios de la laguna oligo-mesotrófica de Paliza-Del Este, los valores  $H'$  oscilaron entre 5.3-6.7 (Tabla 3). Paralelamente, en trabajos anteriores se ha reportado que la diversidad procariota de sedimentos es menor en condiciones de eutrofización extrema (Tsuboi *et al.*, 2019). Mientras que, Feng *et al.* (2019) reportan que la diversidad de procariotas es mayor en sedimentos de lagos con bajos niveles. Por lo tanto, la diversidad microbiana en sedimentos lacustres varía dependiendo del nivel trófico del lago, que aquí vemos reflejado con valores de 4.0 a 5.1 dado su nivel eutrófico. Por lo que se esperaría que sedimentos superficiales de otros lagos no eutroficados del Parque Montebello, tuvieran mayor diversidad.

**Tabla 3. Cuadro comparativo entre los índices de diversidad procariótica (Shannon) en sedimentos de lagos con diferente estado trófico y este estudio**

Lago	Estado trófico	$H'$	Referencia
San Lorenzo (0 – 5 cm)	Eutrófico	4.0 – 5.41	este estudio
Kasumigaura (0 – 6 cm)	Hipereutrófico	4.41 – 4.50	Tsuboi <i>et al.</i> (2019)
Palizada Del Este (0 – 10 cm)	Oligo-mesotrófico	5.3 – 6.7	Orchet (2019)
Basomtso (superficial)	Oligotrófico	6.3 – 6.4	Feng <i>et al.</i> (2019)

### 13.1.1 Afiliación taxonómica

La clasificación taxonómica de las secuencias ADNr 16S del núcleo sedimentario del lago San Lorenzo mostró más señales del dominio Bacteria con >97% de abundancia relativa a comparación del dominio Archaea. En otros trabajos, se ha observado un comportamiento similar en los sedimentos de diferentes cuerpos de agua y con distintos estados tróficos (Zhang *et al.*, 2015; Chernitsyna *et al.*, 2016; Obi *et al.*, 2016; Pavludi *et al.*, 2016; Aguayo *et al.*, 2017; Salem *et al.*, 2019; Rathour *et al.*, 2020).

En el presente trabajo se encontró una mayor abundancia relativa del phylum Proteobacteria a comparación de otros phyla. Se ha reportado que la gran abundancia de Proteobacteria es bastante común en distintos cuerpos de agua, en especial en estratos sedimentarios lacustres (Kwon *et al.*, 2009; Song *et al.*, 2012; Cheng *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2014). Las proteobacterias son microorganismos que se han descrito como multifacéticas metabólicamente hablando al estar involucradas en una amplia variedad de procesos biogeoquímicos (Song *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2014; Cheng *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2015), incluyendo el ciclo del C, N, S y Fe, entre otros. Las dos clases más abundantes de Proteobacteria (Alphaproteobacteria y Gammaproteobacteria) se han encontrado en sedimentos de cuerpos de agua dulce y salinos, así como también en algunos humedales (Kwon *et al.*, 2009; Cheng *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2014; Rathour *et al.*, 2020). A diferencia de la bibliografía citada (Kwon *et al.*, 2009; Cheng *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2014; Rathour *et al.*, 2020), en este estudio no se encontró a la clase Betaproteobacteria, pero si a uno de sus órdenes (Burkholderiales) el cual fue clasificado en Gammaproteobacteria con la base de datos SILVA ver.138.

En algunos estudios se ha reportado que los miembros de la clase Alphaproteobacteria es menos abundante en sedimentos de sistemas acuáticos (Kwon *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2014; Rathour *et al.*, 2020), mientras que, en suelos boreales e insulares es más abundante (Nie *et al.*, 2012; Lin *et al.*, 2019). En este estudio se encontraron miembros de la clase Alphaproteobacteria que participan directamente en el ciclo biogeoquímico del nitrógeno. Si bien, no son los más abundantes en las secuencias de esta clase, si son de gran importancia para los procesos metabólicos del sistema. Se detectaron miembros del orden Rhizobiales, los cuales son mayormente diazótrofos y hacen relaciones simbióticas con plantas de la familia Leguminosae como fijadores de nitrógeno (Bernhard, 2010; Garrido-Oter *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2020). Además, se encontraron secuencias de géneros desnitrificadores como *Nitratireductor*, *Pseudahrensia* y *Paracoccus* (Bernhard, 2010; Jang *et al.*, 2011; Jung *et al.*, 2012).

Sphingomonadales fue el orden más abundante de la clase Alphaproteobacteria y sus miembros son metabólicamente diversos. Los géneros *Sphingomonas* y *Sphingobium*, tienen el potencial de degradar compuestos contaminantes, como herbicidas, pesticidas y otros agentes xenobióticos (Li *et al.*, 2013; Asaf *et al.*, 2020). La abundancia relativa de estos géneros sobresale a partir de la muestra SL.31 (año 1970) donde según el registro histórico, los ejidatarios comenzaron a implementar el uso de agroquímicos en sus cultivos aledaños al PNLM. Por lo tanto, posiblemente su abundancia está relacionada con la

implementación de estos compuestos; sin embargo, más estudios deben realizarse para comprobar el efecto de esta correlación.

En trabajos previos se ha observado que algunos taxones de Gammaproteobacteria son los más abundantes en lagos eutróficos, salobres y glaciales (Kwon *et al.*, 2009; Bai *et al.*, 2012; Aguayo *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2019). En este trabajo las Gammaproteobacterias se dividen en muchos taxones con diferentes potenciales metabólicos. Por ejemplo, se encontraron algunos miembros del orden Pseudomonadales con propiedades potenciales infecciosas, como los géneros *Moraxella* y *Acinetobacter* (de Amorim y dos Santos Nascimento, 2017; López-Serrano *et al.*, 2020). El orden Burkholderiales termino siendo el orden más abundante para las Gammaproteobacterias, además, se hallaron algunos géneros a destacar como *Nitrosomonas* y *Nitrosospira*, los cuales incluyen microorganismos nitrificantes (Bernhard, 2010; Chen *et al.*, 2019). De igual forma, se ha reportado la presencia de ambos géneros en sedimentos lacustres (Rathour *et al.*, 2020). También se identificaron las secuencias ADNr 16S de algunos géneros como *Methyloglobulus* y *Methylomicrobium*, así como otros no identificados de la familia Methylococcaceae, los cuales son considerados metanótrofos aerobios. Estos microorganismos se han encontrado en suelos de arrozales, sedimentos de estanques y sedimentos de manantiales (Islam *et al.*, 2015). Además, se encontraron taxones metilótrofos como los géneros *Methyloversatilis* y *Methylotenera* (Kalyuzhnaya *et al.*, 2006; Kalyuzhnaya *et al.*, 2012) y oxidantes de azufre como el género *Thiobacillus* (Boden *et al.*, 2017), el cual, ha sido reportado en sedimentos lacustres eutróficos (Chen *et al.*, 2015). Sinkko *et al.* (2013) informan en su estudio que la clase Gammaproteobacteria se correlacionó positivamente con concentraciones de carbono orgánico, fósforo y nitrógeno en sedimentos lacustres eutróficos.

Otro grupo importante que se descubrió en la secuencia sedimentario fue el phylum Planctomycetota. Los planctomicetos son microorganismos con un alto grado de importancia ambiental al jugar un papel clave en los ciclos globales del carbono y del nitrógeno. Por otro lado, desde su descubrimiento en la década de los años 40, han causado mucha controversia debido a las características morfológicas y fisiológicas que los ha posicionado como una pieza clave en las teorías evolutivas entre procariotas y eucariotas, aunque estudios recientes los han alejado de esas hipótesis (Wiegand *et al.*, 2018).

Entre los grupos de interés que conforman a las planctomicetos se encuentran las bacterias que realizan el proceso anammox (por sus siglas en inglés de *anaerobic ammonium oxidation*), que se enfoca en la oxidación anaerobia del amonio. En distintos ecosistemas estos microorganismos son una pieza clave para el ciclo del nitrógeno ya que, se ha estimado que en océanos liberan aproximadamente un 50% de todo el N<sub>2</sub> a la atmósfera (Kartal *et al.*, 2013). Las bacterias anammox se han detectado en distintos hábitats como sedimentos anóxicos y en columnas de agua de sistemas marinos y lacustres, en ecosistemas terrestres y en plantas de tratamiento de aguas residuales (Hu *et al.*, 2011).

Para este perfil sedimentario en estudio se encontraron dos géneros anammox: *Ca. Brocadia* y *Ca. Anammoximicrobium*, las cuales se han reportado en distintas plantas de

tratamiento de agua residual, en reactores de lodos activados e incluso en aguas subterráneas (Chen *et al.*, 2019; Aguilar-Rangel *et al.*, 2020). En México, se ha reportado la presencia de bacterias anammox como *Ca. Brocadia* en aguas subterráneas contaminadas con nitratos en el Valle del Mezquital (Aguilar-Rangel *et al.*, 2020), y en sedimentos estuarinos en la ciudad de Coatzacoalcos, Veracruz (Ronzon *et al.*, 2021).

El phylum Bacteroidota representó cerca del 10% de la abundancia relativa en el núcleo sedimentario de este estudio. En otros trabajos sedimentarios de diferentes cuerpos de agua, se ha reportado que Bacteroidota es uno de los phyla más abundantes (Bai *et al.*, 2012; Song *et al.*, 2012; Chen *et al.*, 2015; Gugliandolo *et al.*, 2016; Horton *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2019; Tsuboi *et al.*, 2019; Zang *et al.*, 2019; Rathour *et al.*, 2020). En este perfil sedimentario se descubrió la presencia de algunas bacterias indicadoras fecales (FIB por sus siglas en inglés), como el género *Bacteroides*, el cual se ha reportado en otros estudios sobre sedimentos lacustres (Nevers *et al.*, 2020). Además de *Bacteroides*, algunos miembros de *Prevotella* y *Porphyromonas*, géneros presentes en este perfil sedimentario, se encuentran en la mayor parte del intestino humano (Jhonson *et al.*, 2017). Sin embargo, otros miembros de este phylum son de carácter ambiental y normalmente encontrados en distintos sistemas como suelo, lodos activados, materia vegetal en descomposición, muestras de agua lacustres y marinas, sedimentos, entre otros (Thomas *et al.*, 2011).

Se encontraron las secuencias de algunos miembros de los órdenes Flavobacteriales, Cytophagales y Sphingobacteriales, que con la nueva versión de la base de datos SILVA 138 (<https://www.arb-silva.de/>) pertenecen a la clase Bacteroidia. Se ha documentado que algunos miembros de estos órdenes son las principales bacteroidotas ambientales, posiblemente debido a sus capacidades degradadoras de materia orgánica compleja (polisacáridos, proteínas y compuestos de alto peso molecular) (Thomas *et al.*, 2011; Gómez-Pereira *et al.*, 2012). En trabajos anteriores se ha reportado la presencia de estos órdenes en el suelo, en sistemas oceánicos, y en cuerpos lacustres (sedimentos y agua) (Thomas *et al.*, 2011; Larsbrink y McKee, 2020).

El phylum Acidobacteriota es reconocido por ser uno de los grupos bacterianos más diversos del planeta debido a su amplia variedad de procesos metabólicos (Kielak *et al.*, 2016; Huber y Overmann, 2018; Dedysh y Yilmaz, 2018). A pesar de la enorme abundancia numérica de este phylum en muchos entornos, aún no se logra aclarar las funciones ecológicas de estos microorganismos. Sin embargo, algunos estudios han logrado identificar algunos genes que se relacionan con procesos ecológicos importantes como algunos ciclos biogeoquímicos como del C, N y S (Ward *et al.*, 2009; Kalam *et al.*, 2020). En este trabajo se encontraron microorganismos del subgrupo 1 (clase Acidobacteriae), 4 (clase Blastocatellia), 6 (clase Vicinamibacteria), 8 (clase Holophagae) y 23 (clase Thermoanaerobaculiabianos) mismos que se han reportado en suelos de distintos ecosistemas y en sedimentos lacustres (Ji *et al.*, 2016; Dedysh y Yilmaz, 2018).

En la clasificación taxonómica SILVA v.138 (2020), se reportan dos nuevos phyla: Mixococcota y Desulfobacterota, cuyos miembros pertenecían a la extinta clase Deltaproteobacteria. Entre los miembros Mixococcota, la clase Mixococcia destaca en el

núcleo sedimentario por la presencia de secuencias ADNr 16S del orden Myxococcales, el cual se ha reportado en sedimentos lacustres de clima tropical (Kou *et al.*, 2016). El grupo Myxococcales se ha caracterizado por su capacidad de formar cuerpos fructíferos, multicelulares, en momentos de resiliencia y, además, de albergar reductores de Fe como el género *Anaeromyxobacter* (Cao *et al.*, 2019).

A partir de la nueva clasificación taxonómica SILVA v.138 (2020), en el phylum Desulfobacterota se encuentran principalmente organismos con potencial reductor de sulfatos. Las bacterias reductoras de sulfato (SRB, por sus siglas en inglés) se han visto ampliamente distribuidas tanto en ecosistemas sedimentarios lacustres como marinos (Purdy *et al.*, 2001; Watanabe *et al.*, 2013; Ji *et al.*, 2016;). En el perfil sedimentario en estudio, se encontraron algunos géneros con alta importancia ecológica en sistemas acuáticos. Por ejemplo, el género *Desulfobulbus*, el cual puede utilizar distintos aceptores de electrones, como el nitrato, nitrito y hierro férrico, en los momentos que hay escasez de sulfatos (Purdy *et al.*, 2001). El género *Desulfobacter* se ha reportado como un grupo asimilador de acetato como fuente de carbono (Dyksma *et al.*, 2018), o el género *Desulfovibrio* el cual se ha caracterizado como el taxón con mayor abundancia relativa en otros estudios de sedimentos lacustres (Purdy *et al.*, 2001). Sin embargo, en este trabajo la abundancia relativa de estos géneros es de poco menos del 2% cada uno. Los géneros *Smithella* y *Syntrophus* son productores de H<sub>2</sub>, por lo que es común encontrarlos en estratos anaerobio para realizar una simbiosis con otros grupos de bacterias que utilizan H<sub>2</sub> como los metanógenos, acetógenos y reductores de azufre (Nealson, 1997; Röske *et al.*, 2012).

En las muestras estratificadas del núcleo del lago San Lorenzo, la abundancia relativa del dominio Archaea fue menor al 3.3%. En trabajos previos en cuerpos acuáticos se ha reportado una tendencia similar (Ji *et al.*, 2016; Pavloudi *et al.*, 2016; Aguayo *et al.*, 2017; Salem *et al.*, 2019; Rathour *et al.*, 2020). Sin embargo, se encontraron varios taxones de arqueas con una alta importancia ecológica para los cuerpos lacustres y sus procesos biogeoquímicos. Por ejemplo, los phyla Euryarchaeota y Crenarchaeota que contienen órdenes metanogénicos y metanotróficos (Vanwonterghem *et al.*, 2016; Adam *et al.*, 2017; Baker *et al.*, 2020). Además, en el nuevo phylum Halobacterota, se albergan grupos metanógenos reasignados como Methanocellales, Methanomicrobiales y ANME-1 antes pertenecientes a la clase Methanomicrobia. Además, también se asignó el orden Methanosarciniales, el cual recientemente se reporta con esta nueva taxonomía.

Los miembros de los phyla Euryarchaeota, Crenarchaeota y Halobacterota juegan un papel importante en el ciclo global del carbono, incluyendo fermentadores, metanogénicos y metanotrófos. El proceso de metanogénesis se refiere a una respiración anaerobia donde ocurre la oxidación de compuestos simples como el CO<sub>2</sub>, el H<sub>2</sub>, el acetato, el formiato y compuestos metilados, liberando metano hacia el ambiente. Es por eso por lo que estas comunidades de arqueas son comunes en zonas anaerobias con ausencia de otros aceptores de electrones como O<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, Fe<sup>3+</sup> y SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>. Sin embargo, se ha reportado que los metanógenos son capaces de generar metano en condiciones aerobias. A nivel mundial tan sólo el 70% de todo el metano producido en la tierra proviene de los metanógenos, del cual el 40% es liberado a la atmósfera y el resto es consumido por algunas bacterias y arqueas oxidantes de metano (Lyu *et al.*, 2018; Evans *et al.*, 2019).

Las arqueas metanotróficas (ANME, *anaerobic methane oxidation*) son microorganismos que oxidan el metano en condiciones anaerobias para utilizarlo como fuente de carbono. Además, mantienen una relación con sulfato reductores, desnitrificantes o reductores de nitratos de los que obtiene energía a cambio de electrones para los procesos redox del sistema (Baker et al., 2020). Este proceso de metanotrofia anaerobia realizado por algunos clados de arqueas tiene un impacto importante en el ciclo global del carbono, ya que reduce considerablemente los niveles de metano en los sedimentos oceánicos y en ambientes terrestres (Evans et al., 2019). En este trabajo se encontró solo un filotipo ANME (ANME-1a) a 15 y 19 cm, con una abundancia relativa < 0.1%. Los grupos ANME se han encontrado en sedimentos lacustres (Weber et al., 2017), y sería interesante estudiar a futuro la distribución e implicación biogeoquímica de este grupo en los sedimentos de los lagos del PNLM.

Para este estudio, en el phylum Euryarchaeota se encontraron dos órdenes Methanomicrobiales y Methanofastidiosales. En Methanofastidiosales se encontró el género *Candidatus Methanofastidiosum*, que solo puede desmetilar tioles metilados para la generación de CH<sub>4</sub>, por lo que lo convierte en el único grupo capaz de realizarlo reportado a la fecha (Nobu et al., 2016). Por otro lado, el grupo Methanomicrobiales alberga el género *Methanobacterium* el cual es capaz de utilizar H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> para generar metano, conocido como hidrogenotrófico (Zhu et al., 2011; Vanwonterghem et al., 2016).

En Crenarchaeota se encontró el orden Methanomethyliales, el cual se ha reportado en diferentes sistemas como humedales, suelos y sedimentos lacustres. Las condiciones anóxicas y con altas concentraciones de compuestos metilados favorecen la abundancia de Methanomethyliales, los cuales cuentan con genes involucrados en la metanogénesis metilotrófica (Vanwonterghem et al., 2016). Se hallaron secuencias no identificadas de la clase Bathyarchaeia, la cual se le ha reportado en diversos hábitats como sedimentos marinos y lacustres, suelos, biorreactores e incluso asociados con animales (Adam et al., 2017; Feng et al., 2019). La importancia de Bathyarchaeia se debe a su extensa variedad de metabolismos, permitiendo una amplia distribución ambiental y capacidad de participar activamente en los ciclos biogeoquímicos globales (Feng et al., 2019). También se encontraron las secuencias de la clase Nitrososphaeria, la cual pertenece al phylum antes denominado Thaumarchaeota y que con la actualización 138 de la base de datos SILVA, actualmente está posicionado en Crenarchaeota. Nitrososphaeria tiene integrantes conocidos como arqueas oxidantes de amonio (AOA, por sus siglas en inglés) (Stieglmeier et al., 2014). Algunos de los taxones encontrados en este núcleo sedimentario son los géneros *Ca. Nitrosopumilus*, *Nitrosarchaeum*, *Ca. Nitrocosmicus*, *Ca. Nitrososphaera* y algunas secuencias no identificadas de las familias Nitrososphaeraceae y Nitrosopumilaceae (Fig. 6).

Como ya se mencionó, al phylum Halobacterota se le asignaron cuatro clases metanogénicas (Methanocellales, Methanomicrobiales, Methanosarcinales y ANME-1). En la clase Methanocellales se encontraron secuencias de un grupo "Rice Cluster I", el cual es un grupo metanógeno aún sin cultivar y que se ha vinculado con la producción de metano a partir de H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> (Conrad et al., 2006). En Methanomicrobiales los géneros encontrados



son *Methanolinea* y *Methanoregula* los cuales producen metano a partir de H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> y formiato (Imachi *et al.*, 2008; Bräuer *et al.*, 2011). La clase Methanosarcinales alberga los géneros *Methanosarcina* y *Methanosaeta* ambos con miembros acetoclásticos (Ma *et al.*, 2006; Garushyants *et al.*, 2015).

### 13. 2 Patrones de presencia / ausencia y abundancia relativa de la comunidad microbiana

En los Análisis de Coordenadas Principales (Fig.13 y 14), las comunidades microbianas de este perfil sedimentario se diferenciaron en tres distintas agrupaciones (SL.01 – SL.13, SL.14 – SL.29 y SL. 30 – SL.40), las cuales podrían estar influenciadas por la profundidad y los eventos de contaminación que han impactado la zona de estudio (Fig. 13a y 14a). Si bien, no se observa diferencias significativas entre las muestras (Fig. 13c y 14c), se observó que las procariotas de sedimentos anaerobios (grupo SL. 30 – SL.40) se encuentran separadas del resto de las comunidades. Esto puede significar que ciertos grupos de arqueas y bacterias sean específicos de estos sitios, debido a las variaciones en la concentración de oxígeno y de nutrientes (Fenchel y Finlay, 2008; Wurzbacher *et al.*, 2017). En otros estudios, se reportó que, en efecto, la diversidad microbiana disminuye conforme los niveles de profundidad aumentan (Tesubio *et al.*, 2019).

En los grupos más superficiales (SL.01 – SL.13 y SL.14 – SL.29), se aprecia que las comunidades de procariotas se diferencian menos entre sí. Posiblemente, los eventos de contaminación en los últimos 53 años han provocado que ciertos microorganismos se vean beneficiados al aumentar su abundancia relativa. Asimismo, la resuspensión de sedimentos derivado de la baja profundidad de la zona de muestreo puede estar jugando un papel en la heterogeneidad de las comunidades. Sin embargo, es necesario realizar más estudios que lo comprueben. En trabajos anteriores, se ha reportado que la perturbación a las condiciones ambientales prístinas de un sistema puede influir, negativa o positivamente, en la estructura microbiana de éste (Arroyo *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2015; Horton *et al.*, 2019).

En los PCoA donde se eliminó la biósfera rara < 0.1% de abundancia relativa (Fig. 13b y 14b) en el 25% de las muestras, se encontró un aumento en el porcentaje de explicación. Sin embargo, los grupos microbianos conformados comienzan a homogenizarse entre ellos (Fig. 13a y Fig. 14b). Lo anterior puede deberse a que en la biosfera de < 0.1% de abundancia relativa se encuentren microorganismos influenciados por los niveles de contaminación, generando que la distribución de las comunidades microbianas sea más por un factor como la profundidad (Horton *et al.*, 2019; Tesubio *et al.*, 2019).

La capacidad de tener estratos claros sedimentables en este lago parece entonces ser limitada, y puede ser de un factor que provocará que entre los grupos microbianos no existan diferencias significativas conforme con la profundidad. En otros estudios se ha observado que las comunidades microbianas se diferencian entre ellas conforme la profundidad aumenta (Vuillemin *et al.*, 2018). Incluso, en núcleos sedimentarios de otros



lagos del PNLM se ha visto una clara estratificación de las comunidades microbiana cuando el núcleo también muestra segmentos estratificados claros (com. personal, Rocío Alcántara. Abstract ASM).

### 13. 3 Paleoindicadores de contaminación/eutrofización en el lago San Lorenzo

En los últimos años, el PNLM se ha visto afectado por problemas de contaminación que han influido en sus sistemas acuáticos, principalmente por las descargas de aguas residuales, resultado del arrastre de drenaje del municipio de Comitán y agroquímicos que se utilizan para la agricultura en la zona. Esto ha provocado que los sistemas acuáticos como el lago San Lorenzo se vean afectados con cambios de coloración del agua, presencia de natillas y olores fétidos (García *et al.*, 2017).

Con la ayuda de la tecnología de secuenciación de segunda generación y una base de datos apoyada por un modelo de datación de, 1957 a 2013, (Tabla 2), se encontraron cinco taxones que podrían ser considerados como indicadores de perturbación ambiental en el lago San Lorenzo. Estos incluyen taxones de *Arcobacter*, *Bacteroides*, *Mycobacterium*, algunos microorganismos (afiliados con el phylum Cyanobacteria) y miembros de la clase Nitrososphaeria (Fig. 20). Estos taxones son considerados como indicadores paleoambientales.

El género *Arcobacter* se ha caracterizado por albergar microorganismos asociados con las aguas residuales, los cuales muchos de ellos son considerados como patógenos (Ghaju Shrestha *et al.*, 2019; Kristensen *et al.*, 2020; Merga *et al.*, 2021). En este perfil sedimentario se encontraron secuencias de *Arcobacter* con incrementos de abundancia relativa principalmente en los segmentos datados de 1973, 1996 y 1997 (Fig. 15). Estos máximos de abundancia se podrían asociar al incremento en las descargas de agua residual debido al aumento poblacional en especial en el municipio de Comitán. El primer reporte de censo poblacional que se encontró es de la década de 1960 (Tabla 2). La población del municipio de Comitán no sobrepasaba las 32,000 personas en 1960. Sin embargo, el censo de 1990 reflejó un crecimiento del 60% en relación con el primero. Esto pudo significar que, a mayor número de personas, se incrementó el número de descargas de agua residual, y, por lo tanto, es de esperar la presencia de las secuencias ADNr 16S de *Arcobacter* durante esos años (Fig. 20).

Por otro lado, existen reportes de que los primeros ejidos que se establecieron alrededor del PNLM en 1937, tuvieron dos ampliaciones de territorio que modificaron la vegetación autóctona de la zona para poder implementar la actividad agraria y establecer las primeras viviendas. Esto provocó que el sistema de agua próximo a estas comunidades, es decir, el lago San Lorenzo, se viera explotado para la agricultura y consumo humano. Por lo que se pudiera pensar que las primeras descargas de aguas residuales provengan de estas comunidades (Fig. 20) (CONAGUA, 2009; Zárate y García, 2017).

La abundancia de las secuencias ADNr 16S de *Arcobacter* dejaron de aparecer en los estratos/años siguientes, esto puede deberse a la ubicación geográfica del lago San Lorenzo, ya que antes de éste se encuentran los lagos Balantetic (mesotrófico) y Liquidámbar (eutrófico) (Maya, 2017). Estos pueden hacer la función de filtros albergando secuencias de *Arcobacter* en sus sedimentos y, posiblemente aquí, se encuentre la mayor abundancia de secuencias indicadoras de contaminación. Sin embargo, también pudo deberse a que los pobladores empezaron a cuidar los lagos al ver que la contaminación de estos tenía un efecto negativo sobre los ingresos turísticos. Para lograrlo se implementaron estrategias como programas de educación ambiental en instituciones educativas, ejecutar programas y acciones para restablecer el ecosistema alrededor y dentro del parque, impulsar los centros de acopio de envases de agroquímicos, entre otros (CONAGUA, 2009).

Para el caso de las huellas moleculares del género *Bacteroides*, éstas siguieron el mismo patrón que el del género *Arcobacter*. Los miembros de *Bacteroides* son conocidos como bacterias indicadoras fecales (FIB), pues se caracterizan por encontrarse en heces humanas (Nevers *et al.*, 2020). Cabe resaltar que algunos de sus filotipos están asociados con diferentes enfermedades de humanos debido a su capacidad parasitaria (Feng y McLellan, 2019). La tendencia de que las abundancias relativas de *Arcobacter* y *Bacteroides* se encuentren conjuntamente en los mismos estratos/años, hace suponer que ambos grupos derivaron del arrastre de aguas residuales urbanas hacia el PNLM (Fig. 20).

Las secuencias encontradas de *Mycobacterium* siguen un patrón similar que los grupos anteriores, pues se han encontrado en distintas plantas de tratamiento de agua residual y como agentes infecciosos para los humanos (Garchitorena A. *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2020; Sun *et al.*, 2020). A pesar de que las secuencias de *Mycobacterium* comienzan a ser más frecuentes tras la aparición de *Arcobacter*, fue hasta los años de entre 1995 y 2013 cuando incrementó su abundancia relativa en la zona de estudio. Este incremento podría significar que el uso intensivo de agroquímicos, tras el incendio forestal en la década de 1990, aportó grandes cantidades de nutrientes, como el nitrógeno, que beneficiaron a este grupo (Fig. 20). (Jacobs *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2020; Sun *et al.*, 2020).

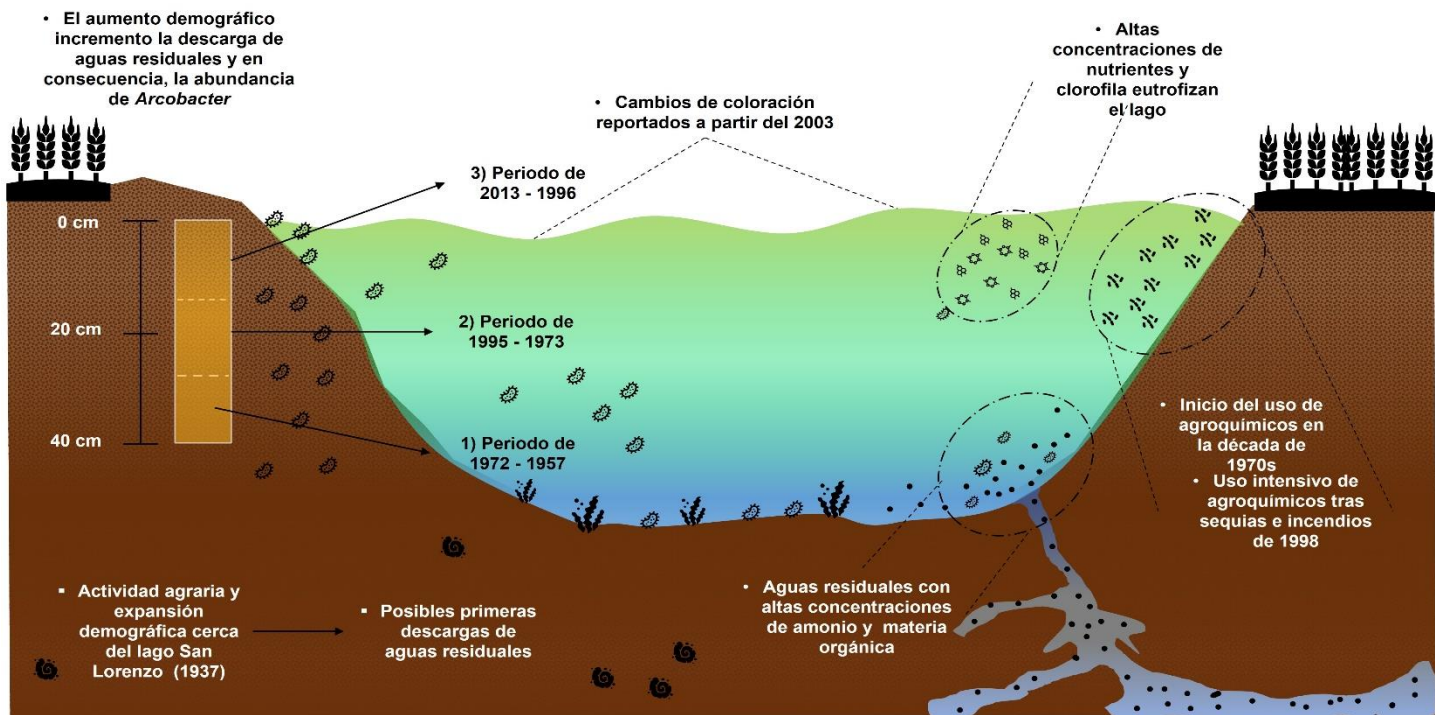
Al igual que *Bacteroides*, las secuencias afiliadas a Cloroplastos, que se encontraron en el phylum Cyanobacteria, se encuentran mejor representadas en los estratos donde *Arcobacter* tiene sus mayores picos de abundancia, entre los años de 1973 – 1997. Esto sugiere que tras las descargas de agua residual el lago San Lorenzo sufrió un proceso de eutrofización, lo que derivó en un incremento de microalgas debido al aporte excesivo de nutrientes (Fig. 20). Actualmente se ha reportado altas concentraciones de clorofila “a” (Clor-a) fitoplanctónica (49.77 µg/L en promedio) por lo que se clasifica como uno de los sistemas acuáticos más eutrofizados del PNLM (Hernández, 2016; Maya, 2017). Efectos similares se han reportado en distintos trabajos de microbioma lacustres (Xu *et al.*, 2015; Richardson *et al.*, 2019).

Las constantes descargas de aguas residuales, las altas concentraciones de nutrientes por parte de los agroquímicos y algunos fenómenos naturales dan pie a que muchos cuerpos de agua epicontinentales sufran de un incremento en la abundancia del fitoplancton y, al mismo tiempo, de cianobacterias (Xu *et al.*, 2015; Richardson *et al.*, 2019; Zhang *et al.*,

2019; Ma y Wang *et al.*,2020). Esto provocaría una serie de cambios que aceleran los fenómenos de eutrofización en los lagos. Algunos de esas alteraciones son: el cambio de coloración del agua, diversidad de fitoplancton y otros microorganismos, el alto consumo de oxígeno, la formación de zonas anaerobias, la presencia de malos olores, e incluso, la aparición de toxinas (Bukowska *et al.*, 2017).

En el PNLM, se midieron los niveles de clorofila “a” (Clor-a) fitoplanctónica en diferentes cuerpos lacustres (Hernández, 2016). Con el cual, se comprobó que los niveles de Clor-a encontrados corresponden con las características físicas y químicas de muchos de los cuerpos impactados, por lo que se intuye que el aumento de biomasa fitoplanctónica influye en el estado trófico de los lagos. Entre los cuerpos lacustres estudiados, el de San Lorenzo resultó ser uno de los más eutrofizados por los altos niveles de biomasa de fitoplancton, por lo que se mantiene en estado eutrófico (Fig. 20) (Hernández, 2016).

Finalmente, las secuencias de miembros de la clase Nitrososphaeria se relaciona con organismos capaces de oxidar amonio. El amonio es la principal fuente de N en el agua residual (Zhang *et al.*, 2015; Huang *et al.*, 2018). Por lo tanto, la contaminación de los lagos por agua residual puede incrementar la concentración de amonio en los cuerpos lacustres, propiciando un incremento de este grupo de AOA. Alternativamente, puede suceder que el proceso de eutrofización, derivado de la contaminación del lago, fomente los procesos anaerobios de remineralización del lago. Por lo que, este fenómeno incrementó las concentraciones de amonio hacia el fondo del lago, y consecuentemente, incrementó también la abundancia de este grupo (Fig. 20).



**Figura 20.** Esquema representativo del lago San Lorenzo durante el periodo de 1957 a 2013; a) Periodo de 2013 a 1996: Primeros registros de cambio de coloración de las aguas del parque acompañado con malos olores y algunos peces muertos; La abundancia de *Arcobacter* incrementó entre los años de 1996 y 1997, se podría asociar al incremento de aguas residuales debido al aumento poblacional constante en los municipios aledaños como Comitán de Domínguez. El excesivo uso de agroquímicos tras las sequías e incendios de 1998, pudo desencadenar que géneros como *Mycobacterium* y algunas secuencias de cloroplastos. b) Periodo de 1995 a 1973: Se descubrieron los primeros picos de abundancia relativa de las secuencias de *Arcobacter* entre los años de 1973 a 1993, además de picos de abundancia de *Bacteroidetes* y secuencias de cloroplastos. Así mismo se encontró AOA que pudieron incrementar su abundancia debido a las constantes descargas de aguas residuales o por procesos anaerobios de remineralización debido al estado trófico del lago (eutrófico), impulsado por el uso de nutrientes y agroquímicos al inicio de la década de 1990s. c) Periodo de 1972 a 1957 : A finales de la década de 1950 se encontraron algunos picos de abundancia de algunas secuencias de AOA y de Cloroplastos, posiblemente las primeras descargas de aguas residual provenientes de los primeros ejidatarios que se fueron acumulando desde 1937, cuando comenzaron a explotar las actividades agrarias alrededor del lago.

## 14. Conclusión

El presente estudio es uno de los primeros en caracterizar la comunidad procariota de los sedimentos lacustres en el Parque Nacional Lagunas Montebello, específicamente del lago San Lorenzo. El análisis de secuenciación ambiental de amplicones ADNr 16S permitió recuperar y estudiar las huellas moleculares de los procariotas del perfil sedimentario. Los datos obtenidos demuestran una eficacia de recuperación del 54% de las muestras filtradas, lo cual se debe principalmente a la profundidad de muestreo. De igual forma, este estudio muestra que la diversidad microbiana disminuyó en sedimentos profundos, específicamente a partir del centímetro 27, ya que las condiciones ambientales a estas profundidades son anóxicas y con menos nutrientes en relación con la superficie, provocando la lenta proliferación de ciertos grupos. Sin embargo, sería necesario que estudios posteriores lo comprueben.

Los datos ADNr 16S muestran la presencia de grupos taxonómicos relacionados con diferentes procesos biogeoquímicos como nitrificación, fijación de nitrógeno y desnitrificación. La presencia arqueas oxidantes de amonio de la clase Nitrososphaeria se relacionó con momentos donde el lago mostró mayor impacto por descarga de agua residual. También se detectaron microorganismos involucrados con el ciclo del carbono, incluyendo órdenes metanogénicos y metanotróficos de los phyla Euryarchaeota, Crenarchaeota y Halobacterota. De igual forma, se encontraron algunos taxones de Gammaproteobacteria que son metilótrofos y metanótrofos aerobios. También, se identificaron bacterias sulfato reductoras del phylum Desulfobacterota, y algunos phyla metabólicamente diversos como Bacteroidota y Acidobacteriota. La presencia de estos grupos se relaciona con la cantidad de materia orgánica que es generada dentro del lago y con las descargas de aguas residual que aportan material orgánico.

En el global, la estructura de la comunidad microbiana del núcleo parece estar mejor relacionada con la profundidad del núcleo sedimentario y no con las etapas de contaminación. Sin embargo, si se encontraron bioindicadores de perturbación por ingreso de aguas residuales en los años registrados, los cuales no se reflejan en los análisis de diversidad beta de la comunidad procarionte. Si bien, la estructura microbiana no es diferente entre los segmentos, sí se encontraron secuencias de microorganismos indicadores de contaminación por agua residual como *Arcobacter*, *Bacteroides*, y *Mycobacterium*; así como otros cuya abundancia pudo incrementarse por los macrocontaminantes del lago, como microalgas (detectados aquí como cloroplastos) y arqueas oxidadoras de amonio. Estas huellas moleculares indicadoras se observaron en fechas de mayor arribo de agua residual y contaminantes al lago según al modelo de datación (Fig. 20). Esto sugiere que, para esta secuencia sedimentaria, las huellas moleculares de estas bacterias y arqueas si pueden ser indicadores potenciales de los eventos de contaminación por descarga de agua residual y eutrofización del lago.



## 15. Referencias

- Adam, P. S., Borrel, G., Brochier-Armanet, C., y Gribaldo, S. (2017). The growing tree of Archaea: new perspectives on their diversity, evolution and ecology. *The ISME journal*, 11(11), 2407-2425.
- Aguayo, P., González, P., Campos, V., Maugeri, T. L., Papale, M., Gugliandolo, C., y Martínez, M. A. (2017). Comparison of prokaryotic diversity in cold, oligotrophic remote lakes of Chilean Patagonia. *Current microbiology*, 74(5), 598-613.
- Aguilar-Rangel, E. J., Prado, B. L., Vásquez-Murrieta, M. S., Estrada-de Los Santos, P., Siebe, C., Falcón, L. I., Santillan J. y Alcántara-Hernández, R. J. (2020). Temporal analysis of the microbial communities in a nitrate-contaminated aquifer and the co-occurrence of anammox, n-damo and nitrous-oxide reducing bacteria. *Journal of Contaminant Hydrology*, 234, 103657.
- Alcocer, J., y Bernal-Brooks, F. W. (2010). Limnology in Mexico. *Hydrobiologia*, 644(1), 1-54.
- Alcocer J, Merino-Ibarra M., Oseguera L. A. and Escolero O. (2018). Anthropogenic impacts on tropical karst lakes: "Lagunas de Montebello," Chiapas. *Ecohydrology*. 11. e2029. 1-13.
- Arroyo, P., de Miera, L. E. S., y Ansola, G. (2015). Influence of environmental variables on the structure and composition of soil bacterial communities in natural and constructed wetlands. *Science of the Total Environment*, 506, 380-390.
- Asaf, S., Numan, M., Khan, A. L., y Al-Harrasi, A. (2020). *Sphingomonas*: from diversity and genomics to functional role in environmental remediation and plant growth. *Critical reviews in biotechnology*, 40(2), 138-152.
- Base de datos SILVA versión 138. (2020). <https://www.arb-silva.de/>
- Bai, Y., Shi, Q., Wen, D., Li, Z., Jefferson, W. A., Feng, C., y Tang, X. (2012). Bacterial communities in the sediments of Dianchi Lake, a partitioned eutrophic waterbody in China. *PLoS ONE*, 7(5), e37796.
- Baker, B. J., De Anda, V., Seitz, K. W., Dombrowski, N., Santoro, A. E., y Lloyd, K. G. (2020). Diversity, ecology and evolution of Archaea. *Nature microbiology*, 5(7), 887-900.
- Baker, G. C., Smith, J. J., y Cowan, D. A. (2003). Review and re-analysis of domain-specific 16S primers. *Journal of Microbiological Methods*, 55(3), 541-555.
- Beaulne, J. S., Mishra, S. R., Suar, M., Panda, A. N., Rastogi, G., Pattnaik, A. K., Raina V. y Vogel, T. M. (2020). Spatial analysis of bacteria in brackish lake sediment. *International Journal of Sediment Research*.
- Bernhard, A. (2010). The nitrogen cycle: processes, players, and human impact. *Nature Education Knowledge*, 3(10), 25.
- Bloesch, J. (2004). Sedimentation and lake sediment formation. In Sullivan P. E. O' and Reynolds C. S. *The Lakes Handbook*, Volume 1. Blackwell Publishing. 197-229.
- Boden, R., Hutt, L. P., y Rae, A. W. (2017). Reclassification of *Thiobacillus aquaesulis* (Wood y Kelly, 1995) as *Annwoodia aquaesulis* gen. nov., comb. nov. Transfer of *Thiobacillus* (Beijerinck, 1904) from the Hydrogenophilales to the Nitrosomonadales, proposal of Hydrogenophilalia class. nov. within the 'Proteobacteria', and 4 new families within the orders Nitrosomonadales and Rhodocyclales.
- Boere, A. C., Rijpstra, W. I. C., De Lange, G. J., Sinninghe Damsté, J. S., y Coolen, M. J. L. (2011). Preservation potential of ancient plankton DNA in Pleistocene marine sediments. *Geobiology*, 9(5), 377-393.
- Bolyen, E., Rideout, J. R., Dillon, M. R., Bokulich, N. A., Abnet, C., Al-Ghalith, G. A. y Bai, Y., (2018). QIIME 2: Reproducible, interactive, scalable, and extensible microbiome data science (No. e27295v2). *PeerJ Preprints*.
- Bräuer, S. L., Cadillo-Quiroz, H., Ward, R. J., Yavitt, J. B., y Zinder, S. H. (2011). *Methanoregula boonei* gen. nov., sp. nov., an acidiphilic methanogen isolated from an acidic peat bog. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 61(1), 45-52.
- Bukowska, A., Kaliński, T., Koper, M., Kostrzewska-Szłakowska, I., Kwiatowski, J., Mazur-Marzec, H., y Jasser, I. (2017). Predicting blooms of toxic cyanobacteria in eutrophic lakes with diverse cyanobacterial communities. *Scientific reports*, 7(1), 1-12.
- Caballero M., Valadez F. y Rodríguez A. (2013). Paleolimnología: como descifrar la historia de los lagos y su entorno a partir del estudio de sus sedimentos. *Paleontología Mexicana*, 3(1), 22-28.

- Caballero, M., Mora, L., Muñoz, E., Escolero, O., Bonifaz, R., Ruiz, C., y Prado, B. (2020). Anthropogenic influence on the sediment chemistry and diatom assemblages of Balametik Lake, Chiapas, Mexico. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(14), 15935-15943.
- Capo, E., Debroas, D., Arnaud, F., y Domaizon, I. (2015). Is planktonic diversity well recorded in sedimentary DNA? Toward the reconstruction of past protistan diversity. *Microbial Ecology*, 70(4), 865-875.
- Capo, E., Debroas, D., Arnaud, F., Guillemot, T., Bichet, V., Millet, L., Gauthier, E., Massa, C., Develle, A., Pignol, C., Lejzerowicz, F. y Domaizon, I. (2016). Long-term dynamics in microbial eukaryotes communities: A palaeolimnological view based on sedimentary DNA. *Molecular Ecology*, 25(23), 5925-5943.
- Capo, E., Debroas, D., Arnaud, F., Perga, M. E., Chardon, C., y Domaizon, I. (2017). Tracking a century of changes in microbial eukaryotic diversity in lakes driven by nutrient enrichment and climate warming. *Environmental Microbiology*, 19(7), 2873-2892.
- Cao, P., Wei, X., Awal, R. P., Müller, R., y Wall, D. (2019). A highly polymorphic receptor governs many distinct self-recognition types within the Myxococcales order. *MBio*, 10(1), e02751-18.
- Cao, Y., Fanning, S., Proos, S., Jordan, K., y Srikumar, S. (2017). A review on the applications of next generation sequencing technologies as applied to food-related microbiome studies. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1829.
- Chan, O. C., Claus, P., Casper, P., Ulrich, A., Lueders, T., y Conrad, R. (2005). Vertical distribution of structure and function of the methanogenic archaeal community in Lake Dagow sediment. *Environmental Microbiology*, 7(8), 1139-1149.
- Chen, N., Yang, J. S., Qu, J. H., Li, H. F., Liu, W. J., Li, B. Z., Wang E. T., y Yuan, H. L. (2015). Sediment prokaryote communities in different sites of eutrophic Lake Taihu and their interactions with environmental factors. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 31(6), 883-896.
- Chen, R., Yao, J., Ailijiang, N., Liu, R., Fang, L., y Chen, Y. (2019). Abundance and diversity of nitrogen-removing microorganisms in the UASB-anammox reactor. *PloS one*, 14(4), e0215615.
- Cheng, W., Zhang, J., Wang, Z., Wang, M., y Xie, S. (2014). Bacterial communities in sediments of a drinking water reservoir. *Annals of Microbiology*, 64(2), 875-878.
- Chernitsyna, S. M., Mamaeva, E. V., Lomakina, A. V., Pogodaeva, T. V., Galach'yants, Y. P., Bukin, S. V., Pimenov N. V., Khlystov O. M. y Zemskaya, T. I. (2016). Phylogenetic diversity of microbial communities of the Posolsk Bank bottom sediments, Lake Baikal. *Microbiology*, 85(6), 672-680.
- Comisión Federal de Electricidad (CFE). (2012a). Estudio para conocer la calidad del agua de las lagunas de Montebello, Chiapas. Tomo II: Geohidrología. México
- Comisión Federal de Electricidad (CFE). (2012b). Estudio para conocer la calidad del agua de las lagunas de Montebello, Chiapas. Tomo I: Hidrometeorología, México.
- Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). (2009). Capítulo IV. Diagnóstico Hídrico en Plan de Gestión de la Cuenca del Río Grande-Lagunas de Montebello Chiapas-México. 53 – 75.
- Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). (2009) Capítulo VI. Estrategias y líneas de acción para gestión integrada de la cuenca río Grande-Lagunas de Montebello en Plan de Gestión de la Cuenca del Río Grande-Lagunas de Montebello Chiapas-México. 107 – 110.
- Comisión Nacional de Áreas Protegidas (CONANP). (2007). Programa de Conservación y Manejo Parque Nacional Lagunas de Montebello. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. México. DF. 21-22.
- Cohen, A. S. (2003). Chapter 1 – Lakes as Archives of Earth History, en *Paleolimnology: The History and Evolution of the Lake Systems*. Oxford University Press. 3 – 19.
- Coolen, M. J., Talbot, H. M., Abbas, B. A., Ward, C., Schouten, S., Volkman, J. K., y Damsté, J. S. S. (2008). Sources for sedimentary bacteriohopanepolyols as revealed by 16S rDNA stratigraphy. *Environmental Microbiology*, 10(7), 1783-1803.
- Conrad, R., Erkel, C., y Liesack, W. (2006). Rice Cluster I methanogens, an important group of Archaea producing greenhouse gas in soil. *Current Opinion in Biotechnology*, 17(3), 262-267.
- Cortés G. K. (2017). Evaluación Paleolimnológica de un lago en el parque Nacional Lagunas de Montebello, Chiapas. Tesis para obtener el grado de Licenciado en Biología. Facultad de Estudios Superiores Iztacala.
- Cronin, T. M. (2009). *Paleoclimates: understanding climate change past and present*. Columbia University Press.



- de Amorim, A. M. B., y dos Santos Nascimento, J. (2017). *Acinetobacter*: an underrated foodborne pathogen?. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 11(02), 111-114.
- Dedysh, S. N., y Yilmaz, P. (2018). Refining the taxonomic structure of the phylum Acidobacteria. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 68(12), 3796-3806.
- Domaizon, I., Savichtcheva, O., Debroas, D., Arnaud, F., Villar, C., Pignol, C., Alric, B. y Perga, M. E. (2013). DNA from lake sediments reveals the long-term dynamics and diversity of *Synechococcus* assemblages.
- Domaizon, I., Winegardner, A., Capo, E., Gauthier, J., y Gregory-Eaves, I. (2017). DNA-based methods in paleolimnology: new opportunities for investigating long-term dynamics of lacustrine biodiversity. *Journal of Paleolimnology*, 58(1), 1-21.
- Dong, X., Rao, D., Tian, L., Wang, Q., y Yang, K. (2020). A slurry microcosm study on the interaction between antibiotics and soil bacterial community. *Heliyon*, 6(2), e03348.
- Dyksma, S., Lenk, S., Sawicka, J. E., y Mußmann, M. (2018). Uncultured gammaproteobacteria and desulfobacteraceae account for major acetate assimilation in a coastal marine sediment. *Frontiers in microbiology*, 9, 3124.
- Ellegaard, M., Clokie, M. R., Czypionka, T., Frisch, D., Godhe, A., Kremp, A., Letarov A., McGenity T. J., Ribeiro S. y Anderson, N. J. (2020). Dead or alive: sediment DNA archives as tools for tracking aquatic evolution and adaptation. *Communications Biology*, 3(1), 1-11.
- Epp, L. S., Stoof, K. R., Trauth, M. H., y Tiedemann, R. (2010). Historical genetics on a sediment core from a Kenyan lake: intraspecific genotype turnover in a tropical rotifer is related to past environmental changes. *Journal of Paleolimnology*, 43(4), 939-954.
- Evans, P. N., Boyd, J. A., Leu, A. O., Woodcroft, B. J., Parks, D. H., Hugenholtz, P., y Tyson, G. W. (2019). An evolving view of methane metabolism in the Archaea. *Nature Reviews Microbiology*, 17(4), 219-232.
- Fenchel, T., y Finlay, B. (2008). Oxygen and the spatial structure of microbial communities. *Biological Reviews*, 83(4), 553-569.
- Feng, C., Jia, J., Wang, C., Han, M., Dong, C., Huo, B., ... y Liu, X. (2019). Phytoplankton and Bacterial community structure in two Chinese Lakes of different trophic status. *Microorganisms*, 7(12), 621.
- Feng, S., y McLellan, S. L. (2019). Highly specific sewage-derived *Bacteroides* quantitative PCR assays target sewage-polluted waters. *Applied and environmental microbiology*, 85(6), e02696-18.
- Fleury, S., 2009. Karst processes, landforms and issues, in: *Land Use Policy and Practice on Karst Terrains*. Springer, Dordrecht, pp. 1–18.
- Feng, X., Wang, Y., Zubin, R., y Wang, F. (2019). Core metabolic features and hot origin of Bathyarchaeota. *Engineering*, 5(3), 498-504.
- Franco-Gaviria, F., Correa-Metrio, A., Cordero-Oviedo, C., López-Pérez, M., Cárdenes-Sandí, G. M., y Romero, F. M. (2018). Effects of late Holocene climate variability and anthropogenic stressors on the vegetation of the Maya highlands. *Quaternary Science Reviews*, 189, 76-90.
- Franco-Gaviria, F., Correa-Metrio, A., Núñez-Useche, F., Zawisza, E., Caballero, M., Prado, B., ... y Olivares, G. (2020). Millennial-to-centennial scale lake system development in the mountains of tropical Mexico. *Boreas*, 49(2), 363-374.
- Ford, D., y Williams, P. D. (2013). Chapter 1 – Introduction to Karst, en *Karst hydrogeology and geomorphology*. John Wiley y Sons. 1 – 8.
- García A. G., Soares D. y Zárate Toledo A. (2017). Calentamiento global en la cuenca hidrográfica Río Grande-Lagunas de Montebello, Chiapas. Percepciones, manifestaciones, causas e impactos, en *La cuenca del río Usumacinta desde la perspectiva del cambio climático*. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua, México. 363 – 408.
- García E. (2004). Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Instituto de Geografía-UNAM. México, D.F. 42 – 44.

- Garchitorena, A., Guégan, J. F., Léger, L., Eyangoh, S., Marsollier, L., y Roche, B. (2015). *Mycobacterium ulcerans* dynamics in aquatic ecosystems are driven by a complex interplay of abiotic and biotic factors. *Elife*.
- Garushyants, S. K., Kazanov, M. D., y Gelfand, M. S. (2015). Horizontal gene transfer and genome evolution in *Methanosarcina*. *BMC evolutionary biology*, 15(1), 1-14.
- Garrido-Oter, R., Nakano, R. T., Dombrowski, N., Ma, K. W., Team, T. A., McHardy, A. C., y Schulze-Lefert, P. (2018). Modular traits of the Rhizobiales root microbiota and their evolutionary relationship with symbiotic rhizobia. *Cell host y microbe*, 24(1), 155-167.
- Ghaju Shrestha, R., Sherchan, S. P., Kitajima, M., Tanaka, Y., Gerba, C. P., y Haramoto, E. (2019). Reduction of *Arcobacter* at two conventional wastewater treatment plants in southern Arizona, USA. *Pathogens*, 8(4), 175.
- Gilbert, J. A., Bailey, M., Field, D., Fierer, N., Fuhrman, J. A., Hu, B., Jansson J., Knight, R., Kowalchuk, G. A., Meyer, F. y Stevens, R. (2011). The Earth Microbiome Project: The Meeting Report for the 1st International Earth Microbiome Project Conference, Shenzhen, China, June 13th–15th 2011. *Standards in Genomic Sciences*, 5(2), 243-247.
- Gómez-Pereira, P. R., Schüler, M., Fuchs, B. M., Bennke, C., Teeling, H., Waldmann, J., ... y Amann, R. (2012). Genomic content of uncultured Bacteroidetes from contrasting oceanic provinces in the North Atlantic Ocean. *Environmental Microbiology*, 14(1), 52-66.
- Gugliandolo, C., Michaud, L., Giudice, A. L., Lentini, V., Rochera, C., Camacho, A., y Maueri, T. L. (2016). Prokaryotic community in lacustrine sediments of byers peninsula (Livingston Island, Maritime Antarctica). *Microbial ecology*, 71(2), 387-400.
- Haglund, A. L., Lantz, P., Törnblom, E., y Tranvik, L. (2003). Depth distribution of active bacteria and bacterial activity in lake sediment. *FEMS Microbiology Ecology*, 46(1), 31-38.
- Hernández Victoria P. P. (2016). Concentración y distribución vertical de la clorofila a fitoplanctónica de los lagos de Montebello, Chiapas, México. Tesis para obtener el grado de Licenciada en Biología. Facultad de Ciencias, UNAM.
- Highton, M. P., Roosa, S., Crawshaw, J., Schallenberg, M., y Morales, S. E. (2016). Physical factors correlate to microbial community structure and nitrogen cycling gene abundance in a nitrate fed eutrophic lagoon. *Frontiers in microbiology*, 7, 1691.
- Horton, D. J., Theis, K. R., Uzarski, D. G., y Learman, D. R. (2019). Microbial community structure and microbial networks correspond to nutrient gradients within coastal wetlands of the Laurentian Great Lakes. *FEMS microbiology ecology*, 95(4), fiz033.
- Hu, B. L., Shen, L. D., Xu, X. Y., y Zheng, P. (2011). Anaerobic ammonium oxidation (anammox) in different natural ecosystems. *Biochemical Society Transactions*, 39(6), 1811-1816.
- Huang, J., Kankanamge, N. R., Chow, C., Welsh, D. T., Li, T., y Teasdale, P. R. (2018). Removing ammonium from water and wastewater using cost-effective adsorbents: A review. *Journal of Environmental Sciences*, 63, 174-197.
- Huber, K. J., y Overmann, J. (2018). *Vicinamibacteraceae* fam. nov., the first described family within the subdivision 6 Acidobacteria. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 68(7), 2331-2334.
- Imachi, H., Sakai, S., Sekiguchi, Y., Hanada, S., Kamagata, Y., Ohashi, A., y Harada, H. (2008). *Methanolinea tarda* gen. nov., sp. nov., a methane-producing archaeon isolated from a methanogenic digester sludge. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58(1), 294-301.
- Islam, T., Larsen, Ø., Torsvik, V., Øvreås, L., Panosyan, H., Murrell, J. C., ... y Bodrossy, L. (2015). Novel methanotrophs of the family Methylococcaceae from different geographical regions and habitats. *Microorganisms*, 3(3), 484-499.
- Jacobs, J., Rhodes, M., Sturgis, B., y Wood, B. (2009). Influence of environmental gradients on the abundance and distribution of *Mycobacterium* spp. in a coastal lagoon estuary. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(23), 7378-7384.

- Jang, G. I., Hwang, C. Y., y Cho, B. C. (2011). *Nitratireductor aquimarinus* sp. nov., isolated from a culture of the diatom *Skeletonema costatum*, and emended description of the genus *Nitratireductor*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 61(11), 2676-2681.
- Ji, Y., Angel, R., Klose, M., Claus, P., Marotta, H., Pinho, L., Enrich-Prast, A. y Conrad, R. (2016). Structure and function of methanogenic microbial communities in sediments of Amazonian lakes with different water types. *Environmental microbiology*, 18(12), 5082-5100.
- Johnson, E. L., Heaver, S. L., Walters, W. A., y Ley, R. E. (2017). Microbiome and metabolic disease: revisiting the bacterial phylum Bacteroidetes. *Journal of Molecular Medicine*, 95(1), 1-8.
- Jung, Y. T., Park, S., Lee, J. S., Oh, T. K., y Yoon, J. H. (2012). *Pseudahrensia aquimaris* gen. nov., sp. nov., isolated from seawater. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 62(9), 2056-2061.
- Kaiser, K., Wemheuer, B., Korolkow, V., Wemheuer, F., Nacke, H., Schöning, I., Schrumpf M. y Daniel, R. (2016). Driving forces of soil bacterial community structure, diversity, and function in temperate grasslands and forests. *Scientific Reports*, 6(1), 1-12.
- Kalam, S., Basu, A., Ahmad, I., Sayyed, R. Z., El Enshasy, H. A., Dailin, D. J., y Suriani, N. (2020). Recent understanding of soil Acidobacteria and their ecological significance: A critical review. *Frontiers in Microbiology*, 11, 2712.
- Kalyuzhnaya, M. G., Beck, D. A., Vorobev, A., Smalley, N., Kunkel, D. D., Lidstrom, M. E., y Chistoserdova, L. (2012). Novel methylophilic isolates from lake sediment, description of *Methylophilus versatilis* sp. nov. and emended description of the genus *Methylophilus*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 62(1), 106-111.
- Kalyuzhnaya, M. G., De Marco, P., Bowerman, S., Pacheco, C. C., Lara, J. C., Lidstrom, M. E., y Chistoserdova, L. (2006). *Methylophilus universalis* gen. nov., sp. nov., a novel taxon within the Betaproteobacteria represented by three methylophilic isolates. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56(11), 2517-2522.
- Kallmeyer, J., Pockalny, R., Adhikari, R. R., Smith, D. C., y D'Hondt, S. (2012). Global distribution of microbial abundance and biomass in subseafloor sediment. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(40), 16213-16216.
- Kartal, B., de Almeida, N. M., Maalcke, W. J., Op den Camp, H. J., Jetten, M. S., y Keltjens, J. T. (2013). How to make a living from anaerobic ammonium oxidation. *FEMS microbiology reviews*, 37(3), 428-461.
- Kielak, A. M., Barreto, C. C., Kowalchuk, G. A., van Veen, J. A., y Kuramae, E. E. (2016). The ecology of Acidobacteria: moving beyond genes and genomes. *Frontiers in microbiology*, 7, 744.
- Korajkic, A., Parfrey, L. W., McMinn, B. R., Baeza, Y. V., VanTeuren, W., Knight, R., y Shanks, O. C. (2015). Changes in bacterial and eukaryotic communities during sewage decomposition in Mississippi river water. *Water Research*, 69, 30-39.
- Kou, W., Zhang, J., Lu, X., Ma, Y., Mou, X., y Wu, L. (2016). Identification of bacterial communities in sediments of Poyang Lake, the largest freshwater lake in China. *SpringerPlus*, 5(1), 1-9.
- Kristensen, J. M., Nierychlo, M., Albertsen, M., y Nielsen, P. H. (2020). Bacteria from the genus *Arcobacter* are abundant in effluent from wastewater treatment plants. *Applied and environmental microbiology*, 86(9), e03044-19.
- Kwon, S., Moon, E., Kim, T. S., Hong, S., y Park, H. D. (2009). Pyrosequencing demonstrated complex microbial communities in a membrane filtration system for a drinking water treatment plant. *Microbes and Environments*, 1103150283-1103150283.
- Larsbrink, J., y McKee, L. S. (2020). Bacteroidetes bacteria in the soil: Glycan acquisition, enzyme secretion, and gliding motility. *Advances in applied microbiology*, 110, 63-98.
- Levy-Booth, D. J., Campbell, R. G., Gulden, R. H., Hart, M. M., Powell, J. R., Klironomos, J. N., Pauls K. P., Swanton C. J., Trevors J. T. y Dunfield, K. E. (2007). Cycling of extracellular DNA in the soil environment. *Soil Biology and Biochemistry*, 39(12), 2977-2991.
- Li, B. B., Peng, Z. Y., Zhi, L. L., Li, H. B., Zheng, K. K., y Li, J. (2020). Distribution and diversity of filamentous bacteria in wastewater treatment plants exhibiting foaming of Taihu Lake Basin, China. *Environmental Pollution*, 267, 115644.

- Li, F., Zhang, X., Xie, Y., y Wang, J. (2019). Sedimentary DNA reveals over 150 years of ecosystem change by human activities in Lake Chao, China. *Environment International*, 133, 105214.
- Li, L., Liu, H., Shi, Z., y Wang, G. (2013). *Sphingobium cupriresistens* sp. nov., a copper-resistant bacterium isolated from copper mine soil, and emended description of the genus *Sphingobium*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 63(2), 604-609.
- Lin, Y. T., Lin, Y. F., Tsai, I. J., Chang, E. H., Jien, S. H., Lin, Y. J., y Chiu, C. Y. (2019). Structure and diversity of soil bacterial communities in offshore islands. *Scientific reports*, 9(1), 1-9.
- López de Heredia, U. L. (2016). Las técnicas de secuenciación masiva en el estudio de la diversidad biológica. *Munibe Ciencias Naturales. Natur Zientziak*, (64), 7-31.
- López-Serrano, S., Galofré-Milà, N., Costa-Hurtado, M., Pérez-de-Rozas, A. M., y Aragon, V. (2020). Heterogeneity of *Moraxella* isolates found in the nasal cavities of piglets. *BMC veterinary research*, 16(1), 28.
- Lyu, Z., Shao, N., Akinyemi, T., y Whitman, W. B. (2018). Methanogenesis. *Current Biology*, 28(13), R727-R732.
- Ma, J., y Wang, P. (2020). Effects of rising atmospheric CO<sub>2</sub> levels on physiological response of cyanobacteria and cyanobacterial bloom development: A review. *Science of The Total Environment*, 141889.
- Ma, K., Liu, X., y Dong, X. (2006). *Methanosaeta harundinacea* sp. nov., a novel acetate-scavenging methanogen isolated from a UASB reactor. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 56(1), 127-131.
- Maya García E. E. (2017). Estimación del estado trófico de 18 lagos del Parque Nacional "Lagunas de Montebello", Chiapas, México. Tesis para obtener el grado de Licenciada en Ciencias de la Tierra. Facultad de Ciencias. UNAM.
- McMurdie, P. J., y Holmes, S. (2013). phyloseq: an R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. *PloS One*, 8(4), e61217.
- Merga, L. B., Mengistie, A. A., Alemu, M. T., y Van den Brink, P. J. (2021). Biological and chemical monitoring of the ecological risks of pesticides in Lake Ziway, Ethiopia. *Chemosphere*, 266, 129214.
- Mora, P., Bonifaz, R., y López-Martínez, R. (2016). Unidades geomorfológicas de la cuenca del Río Grande de Comitán, Lagos de Montebello, Chiapas-México. *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana*, 68(3), 377-394.
- Kristensen, J. M., Nierychlo, M., Albertsen, M., y Nielsen, P. H. (2020). Bacteria from the genus *Arcobacter* are abundant in effluent from wastewater treatment plants. *Applied and environmental microbiology*, 86(9), e03044-19.
- Nealson, K. H. (1997). Sediment bacteria: who's there, what are they doing, and what's new?. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences*, 25(1), 403-434.
- Nevers, M. B., Byappanahalli, M. N., Nakatsu, C. H., Kinzelman, J. L., Phanikumar, M. S., Shively, D. A., y Spoljaric, A. M. (2020). Interaction of bacterial communities and indicators of water quality in shoreline sand, sediment, and water of Lake Michigan. *Water research*, 178, 115671.
- Nichols, G. (2009). *Sedimentology and Stratigraphy*. John Wiley y Sons.
- Nie, M., Meng, H., Li, K., Wan, J. R., Quan, Z. X., Fang, C. M., ... y Li, B. (2012). Comparison of bacterial and fungal communities between natural and planted pine forests in subtropical China. *Current microbiology*, 64(1), 34-42.
- Nobu, M. K., Narihiro, T., Kuroda, K., Mei, R., y Liu, W. T. (2016). Chasing the elusive Euryarchaeota class WSA2: genomes reveal a uniquely fastidious methyl-reducing methanogen. *The ISME journal*, 10(10), 2478-2487.
- Obi, C. C., Adebuseye, S. A., Ugoji, E. O., Ilori, M. O., Amund, O. O., y Hickey, W. J. (2016). Microbial communities in sediments of Lagos Lagoon, Nigeria: elucidation of community structure and potential impacts of contamination by municipal and industrial wastes. *Frontiers in microbiology*,
- Olea-Olea, S., y Escolero, O. (2018). Nutrients load estimation to a lake system through the local groundwater flow: Los Lagos de Montebello, México. *Journal of South American Earth Sciences*, 84, 201-207.
- Onac, BP y van Beynen, P. (2020). Cuevas y Karst en Engineering Geology and Hydrogeology. *Encyclopedia of Geology*. Second Edition. Volume 6. 495 – 509.

- Orchet Pomier J. (2019). Microdiversidad y Detección de Genes de Degradación de Contaminantes en Sedimentos de las Cabeceras Estuarinas Pom-Atasta y Palizada del Este en Laguna de Términos, Campeche. Tesis para obtener el grado de Maestra en Ciencias de la Tierra. Instituto de Geología, UNAM.
- Orland, C., Yakimovich, K. M., Mykytczuk, N. C., Basiliko, N., y Tanentzap, A. J. (2020). Think global, act local: The small-scale environment mainly influences microbial community development and function in lake sediment. *Limnology and Oceanography*, 65, S88-S100.
- Palomino, L. M., García, L. A., Ramos, Y. R., Bonifaz, R., y Escolero, O. (2017). Description of chemical changes in a large karstic system: Montebello, Mexico. *Procedia Earth and Planetary Science*, 17, 829-832.
- Parkes, R. J., Cragg, B., Roussel, E., Webster, G., Weightman, A., y Sass, H. (2014). A review of prokaryotic populations and processes in sub-seafloor sediments, including biosphere: geosphere interactions. *Marine Geology*, 352, 409-425.
- Pavloudi, C., Oulas, A., Vasileiadou, K., Sarropoulou, E., Kotoulas, G., y Arvanitidis, C. (2016). Salinity is the major factor influencing the sediment bacterial communities in a Mediterranean lagoonal complex (Amvrakikos Gulf, Ionian Sea). *Marine genomics*, 28, 71-81.
- Ponce Calderon, L., Vera Cortés, G., Álvarez Gordillo, G. D. C., Rodríguez Fernández, I., Rodríguez Trejo, D. A., y Villanueva Díaz, J. (2020). El nacimiento de los "Sin fuego": caso Parque Nacional Lagunas de Montebello, Chiapas, México. *Nova scientia*.
- Purdy, K. J., Nedwell, D. B., Martin Embley, T., y Takii, S. (2001). Use of 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes to investigate the distribution of sulphate-reducing bacteria in estuarine sediments. *FEMS Microbiology Ecology*, 36(2-3), 165-168.
- Rathour, R., Gupta, J., Mishra, A., Rajeev, A. C., Dupont, C. L., y Thakur, I. S. (2020). A comparative metagenomic study reveals microbial diversity and their role in the biogeochemical cycling of Pangong lake. *Science of the Total Environment*, 731, 139074.
- Richardson, J., Feuchtmayr, H., Miller, C., Hunter, P. D., Maberly, S. C., y Carvalho, L. (2019). Response of cyanobacteria and phytoplankton abundance to warming, extreme rainfall events and nutrient enrichment. *Global change biology*, 25(10), 3365-3380.
- Roldán Pérez, G., y Ramírez Restrepo, J. J. (2008). Capítulo 4 – Lagos, en *Fundamentos de limnología neotropical*. Segunda edición. 49-53.
- Rojas-Rojas, F. U., López-Sánchez, D., Meza-Radilla, G., Mendez-Canarios, A., Ibarra, J. A., y Estrada-de Los Santos, P. (2018). The controversial Burkholderia cepacia complex, a group of plant growth promoting species and plant, animals and human pathogens. *Revista Argentina de microbiología*, 51(1), 84-92.
- Ronzon Bravo, J. J., de María Cuervo-López, F., Andrade Torres, A., Arteaga-Vázquez, M. A., y Martínez Hernández, S. (2021). Physiological stabilization, community characterization, and nitrogen degradation dynamics in an anammox consortium from estuarine sediments. *Water Environment Research*, 93(4), 636-644.
- Roussel, E. G., Bonavita, M. A. C., Querellou, J., Cragg, B. A., Webster, G., Prieur, D., y Parkes, R. J. (2008). Extending the sub-sea-floor biosphere. *Science*, 320(5879), 1046-1046.
- Röske, K., Sachse, R., Scheerer, C., y Röske, I. (2012). Microbial diversity and composition of the sediment in the drinking water reservoir Saidenbach (Saxonia, Germany). *Systematic and applied microbiology*, 35(1), 35-44.
- Salem, F. B., Said, O. B., Cravo-Laureau, C., Mahmoudi, E., Bru, N., Monperrus, M., y Duran, R. (2019). Bacterial community assemblages in sediments under high anthropogenic pressure at Ichkeul Lake/Bizerte Lagoon hydrological system, Tunisia. *Environmental pollution*, 252, 644-656.
- Santillan Manjarrez J. J. (2018). Caracterización del componente bacteriano en los sedimentos superficiales del lago cráter Alchichica, México. Tesis para obtener el grado de Maestra en ciencias de la Tierra. Instituto de Geología. UNAM.
- Schippers, A., Köweker, G., Höft, C., y Teichert, B. M. (2010). Quantification of microbial communities in forearc sediment basins off Sumatra. *Geomicrobiology Journal*, 27(2), 170-182.
- Schleifer, K. H. (2009). Classification of Bacteria and Archaea: past, present and future. *Systematic and applied microbiology*, 32(8), 533-542.



- Segundo Fuerte K. V. (2019). Caracterización sedimentológica de los lagos del Parque Nacional "Lagunas de Montebello", Chiapas. Tesis para conseguir el grado de Licenciada en Ciencias de la Tierra. Facultad de Ciencias, UNAM.
- SEMARNAT, 2016. Capítulo 6: Agua en, Informe de la Situación del Medio Ambiente en México: Compendio de Estadísticas Ambientales, Indicadores Clave, de Desempeño Ambiental y de Crecimiento Verde. Edición 2015. 391-416.
- Sinkko, H., Lukkari, K., Sihvonen, L. M., Sivonen, K., Leivuori, M., Rantanen, M., ... y Lyra, C. (2013). Bacteria contribute to sediment nutrient release and reflect progressed eutrophication-driven hypoxia in an organic-rich continental sea. *PLoS one*, 8(6), e67061.
- Sirisena, K. A., Ramirez, S., Steele, A., y Glamoclija, M. (2018). Microbial diversity of hypersaline sediments from lake Lucero playa in white sands national monument, New Mexico, USA. *Microbial Ecology*, 76(2), 404-418.
- Shao, K., Gao, G., Wang, Y., Tang, X., y Qin, B. (2013). Vertical diversity of sediment bacterial communities in two different trophic states of the eutrophic Lake Taihu, China. *Journal of Environmental Sciences*, 25(6), 1186-1194.
- Song, H., Li, Z., Du, B., Wang, G., y Ding, Y. (2012). Bacterial communities in sediments of the shallow Lake Dongping in China. *Journal of applied microbiology*, 112(1), 79-89.
- Srinivasan, R., Karaoz, U., Volegova, M., MacKichan, J., Kato-Maeda, M., Miller, S., Nadarajan R., Brodie E. L. y Lynch, S. V. (2015). Use of 16S rRNA gene for identification of a broad range of clinically relevant bacterial pathogens. *PLoS One*, 10(2), e0117617.
- Stieglmeier, M., Klingl, A., Alves, R. J., Rittmann, S. K. M., Melcher, M., Leisch, N., y Schleper, C. (2014). *Nitrososphaera viennensis* gen. nov., sp. nov., an aerobic and mesophilic, ammonia-oxidizing archaeon from soil and a member of the archaeal phylum Thaumarchaeota. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64(Pt 8), 2738.
- Stokes, T., Griffiths, P., y Ramsey, C. (2010). Karst geomorphology, hydrology, and management. *Compendium of forest hydrology and geomorphology in British Columbia*. BC Min. For. Range, 66, 373.
- Sun, C., Zhang, B., Chen, Z., Qin, W., y Wen, X. (2020). Sludge retention time affects the microbial community structure: A large-scale sampling of aeration tanks throughout China. *Environmental Pollution*, 261, 114140.
- Thomas, F., Hehemann, J. H., Rebuffet, E., Czek, M., y Michel, G. (2011). Environmental and gut bacteroidetes: the food connection. *Frontiers in microbiology*, 2, 93.
- Tsuboi, S., Kohzu, A., Imai, A., Iwasaki, K., y Yamamura, S. (2019). Vertical variation of bulk and metabolically active prokaryotic community in sediment of a hypereutrophic freshwater lake. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(9), 9379-9389.
- Vanwonterghem, I., Evans, P. N., Parks, D. H., Jensen, P. D., Woodcroft, B. J., Hugenholtz, P., y Tyson, G. W. (2016). Methylophilic methanogenesis discovered in the archaeal phylum Verstraetearchaeota. *Nature microbiology*, 1(12), 1-9.
- Vinçon-Leite, B., y Casenave, C. (2019). Modelling eutrophication in lake ecosystems: A review. *Science of the Total Environment*, 651, 2985-3001.
- Villanueva, L. A. G., Fuentes, O. A. E., y Villagómez, G. F. Hydrogeochemistry lake San Lorenzo in Montebello, Chiapas (Mexico).
- Vuillemin, A., y Ariztegui, D. (2013). Geomicrobiological investigations in subsaline maar lake sediments over the last 1500 years. *Quaternary Science Reviews*, 71, 119-130.
- Vuillemin, A., Ariztegui, D., Horn, F., Kallmeyer, J., Orsi, W. D., y PASADO Science Team. (2018). Microbial community composition along a 50 000-year lacustrine sediment sequence. *FEMS Microbiology Ecology*, 94(4), fiy029.
- Wang, S., Meade, A., Lam, H. M., y Luo, H. (2020). Evolutionary timeline and genomic plasticity underlying the lifestyle diversity in Rhizobiales. *Msystems*, 5(4), e00438-20.

- Ward, N. L., Challacombe, J. F., Janssen, P. H., Henrissat, B., Coutinho, P. M., Wu, M., Xie G., Haft D. H., Salt M., Badger J., Barabote R. D., Bradley B., Brettin T. S., Brinkac L.M., Bruce D., Creasy T., Daugherty S. C., Davidsen T. M., DeBoy R. T., Detter J. C., Dodson R. J., Durkim A. S., Ganapathy A., Gwinn-Giglo M., Han C. S., Khouri H., Kiss H., Kothari S. P., Madupu R., Neison K. E., Nelson W. C., Paulsen I., Penn K., Ren Q., Rosovitz M. J., Selengut J. D., Shrivastava S., Sullivan S. A., Tapia R., Thompson L. S., Watkins K. L., Yang Qi., Yu C., Zafar N., Zhou L. y Kuske, C. R. (2009). Three genomes from the phylum Acidobacteria provide insight into the lifestyles of these microorganisms in soils. *Applied and environmental microbiology*, 75(7), 2046-2056.
- Watanabe, T., Kojima, H., Takano, Y., y Fukui, M. (2013). Diversity of sulfur-cycle prokaryotes in freshwater lake sediments investigated using *aprA* as the functional marker gene. *Systematic and applied microbiology*, 36(6), 436-443.
- Weber, H. S., Habicht, K. S., y Thamdrup, B. (2017). Anaerobic methanotrophic archaea of the ANME-2d cluster are active in a low-sulfate, iron-rich freshwater sediment. *Frontiers in microbiology*, 8, 619.
- Wetzel, G. R. (2001). Chapter 24 – Past Productivity: Paleolimnology, en *Limnology: Lake and River Ecosystems*. Tercera edición. Academic Press. 785 – 804.
- White, W.B. (1988). *Geomorphology and Hydrology of Karst Terrains*. Oxford University Press, New York.
- Wiegand, S., Jogler, M., y Jogler, C. (2018). On the maverick Planctomycetes. *FEMS microbiology reviews*, 42(6), 739-760.
- Williams, P. (2008). Chapter 1 Review Of Karst Landscapes and Caves in Relation To The World Heritage List en *World heritage caves and karst*. IUCN, Gland, Switzerland. 1 – 5.
- Winand, R., Bogaerts, B., Hoffman, S., Lefevre, L., Delvoeye, M., Van Braekel, J., Fu Q., Roosens N. HC., De Keersmaecker S. CJ. y Vanneste, K. (2020). Targeting the 16s rRNA gene for bacterial identification in complex mixed samples: Comparative evaluation of second (Illumina) and third (Oxford nanopore technologies) generation sequencing technologies. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(1), 298.
- Wurzbacher, C., Fuchs, A., Attermeyer, K., Frindte, K., Grossart, H. P., Hupfer, M., Casper P. y Monaghan, M. T. (2017). Shifts among Eukaryota, Bacteria, and Archaea define the vertical organization of a lake sediment. *Microbiome*, 5(1), 1-16.
- Xu, H., Paerl, H. W., Qin, B., Zhu, G., Hall, N. S., y Wu, Y. (2015). Determining critical nutrient thresholds needed to control harmful cyanobacterial blooms in eutrophic Lake Taihu, China. *Environmental science y technology*, 49(2), 1051-1059.
- Yang, B., Wang, Y., y Qian, P. Y. (2016). Sensitivity and correlation of hypervariable regions in 16S rRNA genes in phylogenetic analysis. *BMC bioinformatics*, 17(1), 1-8.
- Yin, Z., Bi, X., y Xu, C. (2018). Ammonia-oxidizing archaea (AOA) play with ammonia-oxidizing bacteria (AOB) in nitrogen removal from wastewater. *Archaea*, 2018.
- Zárate Toledo A. y García García A. (2017). Apropriación de recursos naturales en Montebello, Chiapas: prácticas productivas y capacidades adaptativas frente al cambio climático en La Cuenca del Río Usumacinta Desde la Perspectiva del Cambio Climático. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua, México. 335 – 358.
- Zhang, J., Yang, Y., Zhao, L., Li, Y., Xie, S., y Liu, Y. (2015). Distribution of sediment bacterial and archaeal communities in plateau freshwater lakes. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99(7), 3291-3302.
- Zhang, J., Zhang, X., Liu, Y., Xie, S., y Liu, Y. (2014). Bacterioplankton communities in a high-altitude freshwater wetland. *Annals of Microbiology*, 64(3), 1405-1411.
- Zhang, R., Qi, F., Liu, C., Zhang, Y., Wang, Y., Song, Z., Kumirska J. y Sun, D. (2019). Cyanobacteria derived taste and odor characteristics in various lakes in China: Songhua Lake, Chaohu Lake and Taihu Lake. *Ecotoxicology and environmental safety*, 181, 499-507.
- Zhu, J., Liu, X., y Dong, X. (2011). *Methanobacterium movens* sp. nov. and *Methanobacterium flexile* sp. nov., isolated from lake sediment. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 61(12), 2974-2978.



## 16. Anexos

**Tabla 1S. Rendimiento de la extracción de ADN del núcleo sedimentario del lago San Lorenzo**

<b>Muestras</b>	<b>ADN extraído (ng/g)</b>
SL.01	306
SL.02	992
SL.03	144.4
SL.04	700
SL.05	550
SL.06	1124
SL.07	54.2
SL.08	1426
SL.09	376
SL.10	1078
SL.11	662
SL.12	834
SL.13	12.2
SL.14	27.8
SL.15	520
SL.16	89.2
SL.17	160.4
SL.18	81
SL.19	84.4
SL.20	1088
SL.21	2100
SL.22	1120
SL.23	35.8
SL.24	408
SL.25	51.6
SL.26	44
SL.27	2996
SL.28	1514
SL.29	3036
SL.30	79.4
SL.31	54.2
SL.32	3126
SL.33	180
SL.34	2560
SL.35	4620
SL.36	4640
SL.37	4960
SL.38	4700
SL.39	414
SL.40	584

**Tabla 2S. Abundancia bacteriana a nivel de phylum bacterianos en el núcleo sedimentario del Lago San Lorenzo, Chiapas**

	<b>Phyla</b>	<b>Número de ASV s asignados a nivel Phylum</b>
1	Abditibacteriota	4
2	Acidobacteriota	283
3	Actinobacteriota	377
4	Armatimonadota	81
5	Bacteroidota	568
6	Bdellovibrionota	95
7	Caldatribacteriota	2
8	Caldisericota	1
9	Calditrichota	9
10	Campilobacterota	19
11	Chloroflexi	378
12	CK-2C2-2	2
13	Cloacimonadota	2
14	Cyanobacteria	109
15	Dadabacteria	7
16	Deinococcota	5
17	Dependentiae	91
18	Desulfobacterota	165
19	Edwardsbacteria	1
20	Elusimicrobiota	15
21	FCPU426	2
22	Fermentibacterota	3
23	Fibrobacterota	5
24	Firmicutes	260
25	Fusobacteriota	5
26	FW113	1
27	Gemmatimonadota	114
28	GN01	2
29	Hydrogenedentes	27
30	Latescibacterota	75
31	LCP-89	14
32	Margulisbacteria	2
33	Marinimicrobia_(SAR406_clade)	3
34	MBNT15	10
35	Methylomirabilota	13
36	Modulibacteria	1
37	Myxococcota	208
38	NB1-j	17
39	Nitrospinota	3
40	Nitrospirota	44
41	NKB15	17
42	Patescibacteria	180
43	Planctomycetota	467
44	Proteobacteria	1376
45	RCP2-54	7
46	SAR324_clade (Marine_group_B)	39
47	Schekmanbacteria	6
48	Spirochaetota	48
49	Sumerlaeota	37
50	Sva0485	40
51	Synergistota	3
52	TA06	7
53	TX1A-33	4
54	Verrucomicrobiota	484
55	WOR-1	18
56	WPS-2	7
57	WS1	12
58	WS2	20
59	WS4	2
60	Zixibacteria	33
<b>Total</b>		<b>5830</b>

**Tabla 3S. Taxonomía del phylum Desulfobacterota en el núcleo sedimntario del lago San Lorenzo, Chiapas**

Phylum	Clase	Orden	Familia	Género	Especie	
Desulfobacterota	Desulfobaccia	Desulfobaccales	Desulfobaccaceae	<i>Desulfobacca</i>	<i>acetoxidans</i>	
	Desulfobacteria	Desulfobacterales	Desulfatiglandales	Desulfatiglandaceae	<i>Desulfatiglans</i>	x
			Desulfobacteraceae	<i>Desulfobacter</i>	<i>postgatei</i>	
				Desulforegulaceae	<i>Desulforegula</i>	x
				Desulfosarcinaceae	<i>Desulfatirhabdium</i>	x
			<i>Desulfatitalea</i>		x	
			<i>Desulfosarcina</i>	x		
	Desulfobulbia	Desulfobulbales	Desulfobulbaceae	<i>Desulfobulbus</i>	x	
			Desulfocapsaceae	<i>Desulfoprunum</i>	x	
				<i>Desulforhopalus</i>	x	
	Desulfomonilia	Desulfomonilales	Desulfomonilaceae	<i>Desulfomonile</i>	x	
	Desulfovibrionia	Desulfovibrionales	Desulfomicrobiaceae	<i>Desulfomicrobium</i>	x	
			Desulfovibrionaceae	<i>Desulfovibrio</i>	<i>hontreensis</i>	
	Desulfuromonadia	Desulfuromonadia	Bradymonadales	Bradymonadales	<i>Bradymonadales</i>	x
			Geothermobacteraceae	<i>Desulfuromonadaceae</i>	<i>Desulfuromonadaceae</i>	x
				<i>Geothermobacter</i>	x	
			Geobacterales	Geobacteraceae	<i>Citrifermentans</i>	x
	<i>Trichlorobacter</i>	x				
	Syntrophia	Syntrophales	Smithellaceae	<i>Smithella</i>	x	
			Syntrophaceae	<i>Syntrophus</i>	x	
Syntrophobacteria	Syntrophobacterales	Syntrophobacteraceae	<i>Desulfovirga</i>	x		
			<i>Syntrophobacter</i>	x		
Syntrophorhabdia	Syntrophorhabdales	Syntrophorhabdaceae	<i>Syntrophorhabdus</i>	x		