



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

La actividad de especies de *Trentepohlia*
(Trentepohliaceae, Chlorophyta) en el biodeterioro de
dos zonas arqueológicas en Chiapas, México.
Caracterización taxonómica, molecular y de la
actividad metabólica potencialmente biodeteriorante

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
BIÓLOGA

P R E S E N T A :

ANDREA BECERRA CASILLAS

DIRECTORA DE TESIS:
DRA. ANGÉLICA LÓPEZ MORENO



Ciudad Universitaria, CD. MX., 2023



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.

Hoja de datos del jurado

1. Datos del alumno

Becerra
Casillas
Andrea
55 13 08 39 97
Universidad Nacional Autónoma de
México
Facultad de Ciencias
Biología
312191333

2. Datos del tutor

Dra.
Angélica
López
Moreno

3. Datos del sinodal 1

Dr.
Eberto
Novelo
Maldonado

4. Datos del sinodal 2

Dra.
Martha
Martínez
García

5. Datos del sinodal 3

Dra.
Beatriz Irene
Lira
Hernández

6. Datos del sinodal 4

M. en C.
Karina
Osorio
Santos

7. Datos del trabajo escrito

La actividad de especies de *Trentepohlia* (Trentepohliaceae, Chlorophyta) en el biodeterioro de dos zonas arqueológicas en Chiapas, México. Caracterización taxonómica, molecular y de la actividad metabólica potencialmente biodeteriorante

47p
2023

Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México, en especial a la Facultad de Ciencias y al Colegio de Ciencias y Humanidades Azcapotzalco por mi formación académica.

A mi tutora, la Dra. Angélica López Moreno por las innumerables enseñanzas, correcciones, pláticas, la guía que me ha ofrecido a lo largo de todo este tiempo y sobre todo por su eterna paciencia conmigo y mi proceso académico.

Al Dr. Eberto Novelo por aceptarme en LACET desde el primer momento, el acompañamiento y la guía no sólo académica si no también personal, por compartirme su conocimiento y pasión sobre las microalgas y por creer en mí y en mi proyecto.

A la M. en C. Guadalupe Vidal por proporcionarme cultivos necesarios para este trabajo, enseñarme y re-enseñarme los procesos y técnicas necesarias para llevar a cabo este trabajo, mi servicio social y taller, por resolver mis dudas y apoyarme con mis cultivos.

A la Dra. Beatriz Irene Lira por sus comentarios y correcciones de este proyecto, por aclarar mis preguntas y por dedicarle tiempo para que mejorara este escrito.

A la Dra. Martha Martínez y la M. en C. Karina Osorio por el tiempo invertido en este trabajo, sus correcciones y aclaraciones.

Dedicatoria

A Mario Casillas Ramírez, mi abuelito, por guiarme y apoyarme desde niña, por compartir mis alegrías, logros, tristezas y enojos, por todas las enseñanzas y ayuda que me diste, por los abrazos, los trompicones y porque con seguridad puedo decir que me seguirás acompañando hasta que nos volvamos a encontrar.

A Judith y Marifer, mi mamá y mi hermana, por ser mi soporte, por sus consejos, por su compañía, su guía, su apoyo, por las risas, llantos y enojos pero sobre todo por su amor incondicional.

A Carmen, mi abuelita, por toda su fuerza, apoyo y amor a lo largo de mi vida.

A los Salazar por las risas, los abrazos, el chisme y las palabras de aliento que me han dado a lo largo de todos estos años.

A Jonathan, por ser mi compañero, por darme ánimos cuando más lo he necesitado, por todos los bellos momentos y por enseñarme lo bonito del amor.

A Viri, por todas las risas pero también por los regaños, por brindarme tu amistad incondicional desde que nos conocimos, por todo el cariño, por nunca dejarme sola, por siempre cuidarme.

A Ashley y Eli, por ser mis amigas desde hace ya tantos años, por mostrarme que la amistad vale más que las distancias, por todo lo que hemos vivido, por tanto cariño. A Kenia, por brindarme su amistad entre la locura que hemos pasado dentro y fuera de la universidad, por las risas, las salidas y el apoyo.

A Jesús, porque sin él no sería la persona que soy el día de hoy, por el apoyo que me ha brindado.

A mis amigas y compañeras de laboratorio, en especial a Ere por toda su ayuda académica, por las pláticas y el desahogo en momentos difíciles.

Contenido

Resumen.....	2
Introducción.....	3
Justificación.....	12
Objetivos.....	13
General.....	13
Particulares.....	13
Materiales y métodos.....	14
Sitio de estudio.....	14
Condiciones de cultivo.....	15
Identificación morfológica.....	16
Identificación molecular.....	16
Evaluación de producción de ácidos orgánicos.....	17
Identificación de genes que expresan enzimas involucradas en el metabolismo fermentativo.....	18
Condiciones de cultivo para producción de carotenoides.....	19
Evaluación de producción de carotenoides.....	20
Resultados.....	21
Identificación morfológica.....	21
Identificación molecular.....	24
Producción de ácidos orgánicos.....	26
Identificación de genes que expresan enzimas involucradas en el metabolismo fermentativo.....	28
Producción de carotenoides.....	29
Descripción taxonómica.....	30
Discusión.....	32
Identificación morfológica y molecular.....	32
Producción de ácidos orgánicos.....	34
Producción de carotenos.....	35
Conclusiones.....	36
Referencias.....	38

Resumen

Al sureste de la República Mexicana se localizan los sitios arqueológicos mayas, tales como Palenque y Bonampak, en los cuales se han reportado diversos crecimientos algales entre los que destacan los de color rojo-naranja correspondientes a microalgas de la familia Trentepohliaceae. Este trabajo se centra en identificar el alga del género *Trentepohlia* de estas dos zonas arqueológicas y la evaluación de su participación en el biodeterioro químico, como una consecuencia de su actividad metabólica. Para ello se empleó taxonomía tradicional basada en los caracteres morfológicos y biología molecular con los primers EukA f y EukB r para la región 18S rDNA; de igual manera, se utilizaron marcadores moleculares específicos para la enzima Piruvato Formato-Lyasa (PFL), para ello se utilizaron los primers PFL f y PFL r; así mismo, se calculó la concentración de carotenos; por último se evaluó su excreción de ácidos orgánicos con azul de bromotimol al 1% en condiciones de anoxia.

Las muestras estudiadas se lograron identificar como *Trentepohlia abietina* lo que es un nuevo registro para México; se obtuvo un registro fotográfico de las muestras con azul de bromotimol en el que no ocurrió ningún cambio; en cuanto a la identificación de genes para la enzima PFL, se lograron amplificar los genes, sin embargo, es posible que no llegue a expresar su proteína, por lo que se puede decir que *T. abietina* no produce ácidos capaces de degradar la roca; El rendimiento más alto de carotenos fue de 35.62 µg/g, que puede ser más alto en condiciones de alta temperatura e irradiancia, estado en las que fueron encontradas las muestras, por lo que es probable que la presencia de esta alga en los muros de las zonas arqueológicas proporcione una protección contra el intemperismo.

Introducción

Al sureste de la República Mexicana se localizan sitios arqueológicos mayas, tales como Palenque y Bonampak. En las paredes de estos monumentos se observan crecimientos abundantes de microorganismos fotosintéticos tanto eucariontes como procariontes (Loyo Espindola (2015), Mireles Vázquez (2012) y Pedraza Acevedo (2014)).

Palenque fue declarado Patrimonio de la Humanidad en 1987 por la UNESCO y es de gran importancia turística al igual que las zonas arqueológicas de Bonampak y Yaxchilán. Se estima que se ha explorado menos de un 10% de la superficie total que alcanzó la ciudad en su esplendor, actualmente permanecen cubiertas aún más de mil estructuras por la selva (Pedraza Acevedo, 2014; Ramírez Vázquez, 2012; UNESCO, 1987).

Dentro de la zona arqueológica de Palenque, se encuentra el espacio arquitectónico denominado el Palacio, el cual es de gran importancia arquitectónica ya que es posible identificar catorce construcciones dispuestas sobre una plataforma trapezoidal, cuyo eje se extiende de norte a sur con respecto a la ciudad, y que presenta escalinatas en sus extremos oeste, norte y este, siendo la que pertenece al poniente la más completa y la que permite el acceso al recinto en la actualidad. Este conjunto es un punto de convergencia donde la arquitectura, la pintura mural y el relieve conjugan sus cualidades expresivas (Piñeirúa, 2009).

Bonampak es una pequeña zona arqueológica, que fue independiente de Yaxchilán a pesar de su cercanía. Bonampak ocupa varios edificios de mediano

tamaño, que circundan una plaza, algunos de ellos poseen estelas bien elaboradas, sin embargo, su fama se ha generado por los murales que se localizan en uno de sus edificios (Pedraza Acevedo, 2014). La pintura mural de Bonampak se caracteriza, técnicamente, por una amplia gama de colores en su paleta cromática, de igual manera es resaltable las distintas maneras de aplicación dando como resultado distintos tipos de texturas en las pinturas (Magaloni et al., 1993; Pedraza Acevedo, 2014).

Los nombres y las acciones de los gobernantes quedan grabados, en el caso de Bonampak, en la pintura mural (figura 1). Identifica a las expresiones artísticas del periodo Clásico Maya que es cuando fueron pintadas, así como una notable capacidad de representar lo humano y de asociarlo por medio de símbolos, directamente con las fuerzas cósmicas (Magaloni et al., 1993).



Figura 1. **Mural de la Zona Arqueológica de Bonampak.** Tomada por Andrea Becerra Casillas el 18/07/18

La parte más conocida de Bonampak se encuentra alrededor de una plaza y de una acrópolis sobre la cual se erigieron varios edificios. En el conjunto general de la acrópolis, la Estructura 1 es secundaria, ya que el edificio principal era la Estructura 2, al centro de la escalinata, por lo cual también se constituye como un sitio de gran importancia arquitectónica de la cultura maya (Pincemin-Deliberos & Rosas-y-Kifuri, 2014).

Por otro lado, en cuanto a la identificación de organismos en dichos sitios arqueológicos, Ibarra Gallardo (2017), Loyo Espindola (2015), Mireles Vázquez (2012) Pedraza Acevedo (2014) y Torres Soria (1991) reportaron la presencia de cianoprocariontes y algas en ambas zonas. Entre las colonizaciones más llamativas se han encontrado crecimientos de color rojo-naranja correspondientes a microalgas de la familia Trentepohliaceae. Dicha familia está reportada para las zonas de Palenque y Bonampak, con un total de 4 especies.

Ibarra Gallardo (2017) describió tres especies del género *Printzina* y sólo una especie de género *Trentepohlia*, estas especies pudieron identificarse gracias a la morfología del talo, con caracteres como las formas de los filamentos y de los esporangios, basándose en las claves de Thompson y Wujek (1992). De igual manera, Mireles Vázquez (2012) reporta la presencia de este género en Palenque y por su parte, Torres Soria (1991) reporta una especie de *Trentepohlia*, sin embargo, como se menciona más adelante, diversos autores han reportado conflictos con su identidad.

Trentepohlia se encuentra en estas zonas arqueológicas en Chiapas, y ha sido señalada como la supuesta causante de una severa erosión local cuando se presenta en colonias puras (Gaylarde et al., 2006; INAH Mediateca, 2023). De igual manera, otros autores hablan de la progresiva degradación de edificios de roca causados por Trentepohliales en Inglaterra, Escocia, y España, mientras que, en áreas tropicales con condiciones de alta humedad, han sido responsabilizadas por el daño al concreto de los edificios y son consideradas un serio problema al igual que los biocidas (todo acto que implique la muerte de un organismo sin necesidad) que se usan para el control de estos microorganismos (Lopez-Bautista et al., 2002).

Las Trentepohliales son algas subaéreas que pertenecen a la clase Ulvophyceae (Lopez-Bautista et al., 2002) la cual está ampliamente distribuida en climas húmedos y es particularmente abundante en diversas regiones tropicales. Son encontradas usualmente creciendo en hojas, corteza de árboles, tallos, frutas, así como también en rocas y construcciones humanas.

Se han presentado hipótesis contradictorias acerca de la posición filogenética de este orden. El tipo de fragmoplasto citoquinético sugiere una afinidad con el linaje de Charophyceae (Streptophyta) mientras que los componentes del aparato flagelar sugieren una afinidad con Ulvophyceae en el linaje de Chlorophyceae (Chlorophyta). Sin embargo, los análisis filogenéticos más recientes sugieren que las Trentepohliales subaéreas están cercanamente relacionadas con las algas marinas ulvophyceanas en el linaje de Chlorophyta (Lopez-Bautista et al., 2002; Lopez-Bautista et al., 2007).

La flora subaérea del orden Trentepohliales aparece como grupo hermano de formas sifonales y hemisifonales de algas marinas pertenecientes a Ulvophyceae; dada la agrupación actual, el orden contiene una familia con seis géneros que están separados por caracteres morfológicos: *Trentepohlia*, *Physolinum*, *Printzina*, *Phycopeltis*, *Cephaleuros* y *Stomatochroon*, aproximadamente 70 especies son incluidas en este orden, sin embargo, la posición taxonómica de muchas de estas especies es incierta (Lopez-Bautista et al., 2007).

A pesar de su morfología relativamente simple, *Trentepohlia* es un grupo difícil de caracterizar taxonómicamente, debido a una alta plasticidad morfológica correlacionada con factores ambientales que hace que la circunscripción de especies y géneros, sea complicada y confusa. Este género es especialmente confundido con *Printzina* dado que es imposible evaluar los caracteres morfológicos filogenéticamente significativos para la separación de especies y géneros (Lopez-Bautista et al., 2007, *op. cit.*).

Aunado a esto, estudios recientes de la filogenia del taxón *Trentepohlia* usando el marcador molecular 18S rADN indican que el criterio morfológico tradicional usado para la agrupación del género y de las especies no está correlacionado con patrones filogenéticos (Lopez-Bautista et al., 2007, *op. cit.*).

Representantes del género *Cephaleuros* forman un clado monofilético bien soportado (es aquel que incluye al ancestro común y a todas las especies descendientes de él), mientras que *Trentepohlia* resulta polifilético (es el integrado por los descendientes de distintas líneas ancestrales) y cepas de *Trentepohlia*,

Phycopeltis, *Printzina* y *Physolinum* se han clasificado en muchos linajes distintos (Lopez-Bautista et al., 2007, *op. cit.*; Morrone et al., 1992).

El soporte para estos clados en algunos casos es relativamente débil y con la inclusión de un gran número de especies en el análisis filogenético se espera que resuelva sus relaciones evolutivas y por lo tanto, brinde un mejor soporte, en cambio, cuando en la filogenia los linajes principales están relativamente bien soportados es improbable que la inclusión de secuencias adicionales cambie su arreglo (Lopez-Bautista, et al., 2006).

El género *Trentepohlia* cuenta con una distribución cosmopolita y forma espectaculares carpetas de color naranja o rojas porque es rica en carotenoides, especialmente en β -carotenos y luteína, de la misma manera *Trentepohlia* produce algunos antioxidantes y sustancias antimicrobianas como compuestos fenólicos y flavonoides (Chen et al., 2015).

En estos organismos fotosintéticos los carotenos no sólo otorgan diversos colores, sino que representan un aspecto metabólico interesante, estos se unen a proteínas de la membrana tilacoidal donde participan en la recolección de luz y en la protección del aparato fotosintético en contra del daño foto-oxidativo (Cordero, 2013). Los carotenos que contienen las microalgas pueden derivar en la formación de pátinas en sitios donde deje de haber humedad y crecimiento activo como en muros del patrimonio artístico, donde una de las más distintivas son las rojizas (Bolívar & Sánchez, 1998).

Otro de los aspectos metabólicos es la fermentación de compuestos orgánicos almacenados por microorganismos fototróficos, estos pueden

representar una parte significativa del total de sus fondos de energía. Muchos de estos organismos son ecológicamente importantes y pasan gran parte de su ciclo de vida bajo luz limitada y condiciones de anoxia. Durante la fermentación oscura, las reservas celulares de polisacáridos son catabolizadas, generando el necesario ATP, mientras la coproducción de NADH debe ser reoxidada (Catalanotti et al., 2013).

Las vías de fermentación primaria usadas durante la anoxia varían entre las diferentes especies de algas. Dentro de estas, destacan los organismos modelos de algas verdes tales como *Chlamydomonas reinhardtii*, *Chlamydomonas moewusii*, *Chlorogonium elongatum* y *Chlorella fusca* fermentan almidón a una variedad de productos terminales incluyendo el acetato, etanol, formato, glicerol, lactato, H₂, y CO₂. Así mismo, ha sido ampliamente descrito el proceso fermentativo en *Escherichia coli*. Es importante señalar que no existen estudios de este tipo para el género de *Trentepohlia* (Catalanotti et al., 2013, *op. cit.*).

La enzima Piruvato Formato-Lyasa (PFL) cataliza la reacción no oxidativa de conversión de piruvato a formato y acetyl-CoA. PFL es una enzima de activación (PFL-AE), es común entre procariontes anaerobios estrictos y microaerófilos pero es muy rara entre eucariontes. En el proteoma de mitocondria de *Chlamydomonas reinhardtii*, se han encontrado varios péptidos específicos para la identificación de cADNs para PFL y PFL-AE, por lo que se establece la existencia de un sistema de PFL en esta alga fotosintética dada la producción de formato en *C. reinhardtii* (figura 2) en condiciones de oscuridad. La anaerobiosis

y la obscuridad dirigen el incremento de transcripción de PFL pero tiene poco efecto a nivel de proteína (Atteia et al., 2006).

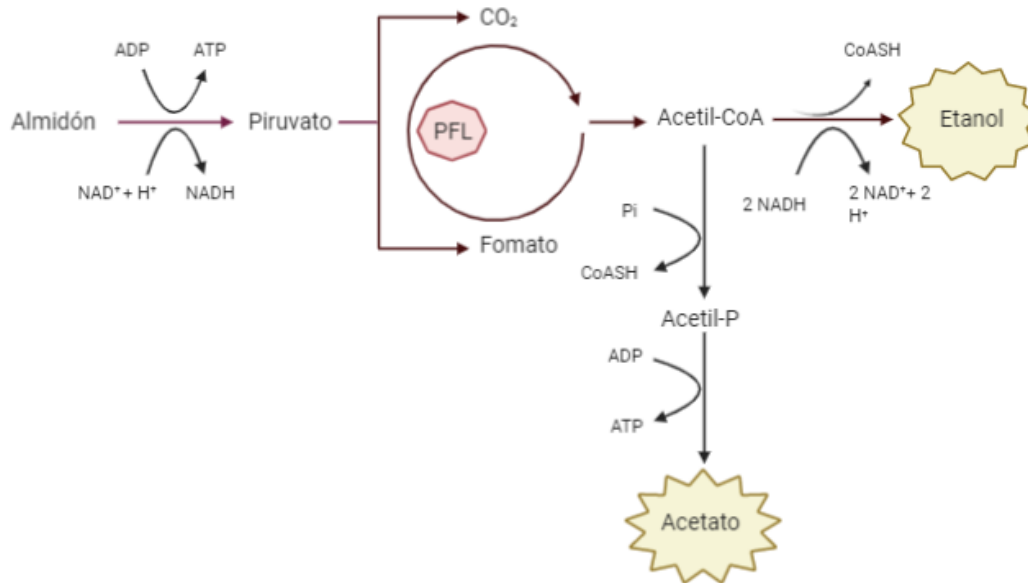


Figura 2. Ruta del metabolismo fermentativo de *Chlamydomonas*. Tomado de Mus et al, 2007.

Del mismo modo, están descritas las rutas de fermentación en *Chlamydomonas* donde se muestra que PFL está involucrada en el metabolismo fermentativo que resulta en etanol y ácido acético, que pueden reaccionar con la roca, solubilizarla a través de la formación de sal y la quelación (figura 2). El deterioro bioquímico es causado por la acción directa de los procesos metabólicos de los organismos sobre el sustrato. Esto implica la exudación de ácidos orgánicos que pueden solubilizar la roca, la secreción de agentes quelantes orgánicos que secuestran los cationes metálicos de la roca o la conversión de sustancias

inorgánicas por reacciones redox que forman ácidos inorgánicos que contribuyen a la formación de sal (Atteia et al., 2006; Griffin et al., 1991; Scheerer et al., 2009).

Existen tres factores principales que se relacionan con la degradación del material de construcciones pertenecientes al patrimonio cultural: a) el proceso de biodeterioro; b) el desgaste de los materiales expuestos al ambiente y c) la contaminación natural y antropogénica. El clima tropical de América Latina y en general de la franja tropical de la tierra, no sólo afecta la integridad estructural del material, sino que también es importante debido a que promueve el crecimiento de comunidades microbianas que colonizan el sitio arqueológico. La colonización de la roca por microorganismos fototróficos y briofitas es uno de los mecanismos principales para la posterior invasión de plantas vasculares, que es una de las principales causas de biodeterioro mecánico de sitios arqueológicos mayas localizados en bosques tropicales (Herrera & Videla, 2004).

El biodeterioro está definido como el crecimiento de biofilms (biopelículas microbianas) en la superficie de la roca que puede conducir al daño estructural y estético (López-Moreno et al., 2014). La palabra biofilm se refiere a comunidades de microorganismos y polímeros extracelulares, fijos en una superficie (Piera Serra, 2003).

El biodeterioro ha sido clasificado en tres posibles daños: el químico, el mecánico o estructural y el estético (Allsopp et al., 2004). El químico es la acción directa de los procesos metabólicos de los organismos sobre el sustrato. Esto implica la exudación de ácidos orgánicos que pueden solubilizar la roca, la secreción de agentes quelantes orgánicos que secuestran los cationes metálicos

de la roca o la conversión de sustancias inorgánicas por reacciones redox que forman ácidos inorgánicos que contribuyen a la formación de sales (Atteia et al., 2006; Griffin et al., 1991; Scheerer et al., 2009).

El crecimiento de biofilms en la superficie de la roca puede conducir al daño estructural y estético, debido a los procesos de hinchazón y encogimiento durante los periodos de humedad y sequía que de forma natural ocurren en los poros de los materiales de construcción. El daño estético está descrito como los cambios visibles en las superficies de los materiales de construcción debido a la presencia o crecimiento de los biofilms que en el caso de las algas como *Trentepohlia* tapizan los edificios en las zonas arqueológicas de colores naranja y rojos (Novelo et al., 2011; López-Moreno et al., 2014).

A pesar de ello, otros autores han manifestado que las algas, al menos en las zonas arqueológicas de Chiapas, lejos de deteriorar, protegen a la roca contra el intemperismo, ya que se ha observado que los efectos adversos de factores como la temperatura, evaporación, desecación y cristalización son disminuidos con la presencia de los tapices de algas a comparación del sustrato desnudo (Novelo et al., 2011).

Justificación

La capacidad de las microalgas para producir biodeterioro ha sido investigada deductivamente ya que diversos trabajos atribuyen el daño químico a las comunidades microbianas presentes en los sitios de estudio, así como en las zonas arqueológicas mexicanas y en el resto del mundo. Sin embargo, estos

trabajos no son concluyentes en cuanto al papel que juegan las microalgas en el biodeterioro.

Algunas de las algas más llamativas que radican en estos sitios son las que pertenecen al género *Trentepohlia*, de las cuales es necesario realizar estudios sobre su posible actividad metabólica biodeteriorante en aspectos químicos y de interés estético sobre las estructuras de las zonas arqueológicas.

La importancia de este estudio radica en el potencial del género *Trentepohlia* para excretar ácidos orgánicos y carotenos que bajo condiciones de anoxia pueden relacionarse con el biodeterioro de monumentos en las zonas arqueológicas de Bonampak y Palenque. Además de la necesidad de generar información molecular (secuencias de nucleótidos) que contribuya al soporte filogenético de los *taxa* relacionados con el biodeterioro e incrementar la información de las bases de datos de nucleótidos de manera confiable.

Objetivos

General

Identificar especies del género *Trentepohlia* de dos zonas arqueológicas de Chiapas, y la evaluación de su participación en el biodeterioro químico en estas zonas, como una consecuencia de su actividad metabólica.

Particulares

1. Identificar especies de *Trentepohlia* empleando taxonomía tradicional y biología molecular mediante la secuenciación de la subunidad pequeña del gen ribosomal 18S rRNA.
2. Identificar a los genes involucrados en la expresión de la enzima PFL responsable de la producción de ácidos orgánicos biodeteriorantes, empleando marcadores moleculares específicos.
3. Evaluar el potencial de biodeterioro químico en *Trentepohlia* con base en su capacidad fermentativa y excreción de ácidos orgánicos, mediante la identificación indirecta de estos productos por colorimetría en condiciones de anoxia y obscuridad.
4. Evaluar la actividad metabólica de *Trentepohlia* por medio de la producción de carotenos causantes del biodeterioro.

Materiales y métodos

Sitio de estudio

El material para este trabajo proviene de dos sitios arqueológicos, que corresponden a Palenque y Bonampak, ubicados en el estado de Chiapas. Más de la mitad del territorio chiapaneco, el 54%, presenta clima cálido húmedo, el 40% clima cálido subhúmedo, el 3% templado húmedo y el 3% restante tiene clima templado subhúmedo. La temperatura media anual, varía dependiendo de la región, de 18 °C en los Altos de Chiapas, a 28 °C en la Llanura Costeña (Servicio Meteorológico Nacional, 2010). La superficie estatal forma parte de las provincias:

Llanura Costera del Golfo Sur, Sierra de Chiapas y Guatemala y Cordillera Centroamericana. La mayor parte del estado está conformado por sierras constituidas por rocas sedimentarias, ígneas intrusivas y metamórficas (Instituto de Geología, 2007).

La zona arqueológica de Palenque se encuentra en el norte del Estado de Chiapas, sus coordenadas son 17°29'30" N y 92°50'20" O. Esta región presenta lluvias intensas de junio a noviembre. La temperatura más baja se da en los meses de octubre a febrero (<32 °C) y las más elevadas (>40 °C) de marzo a junio. La evaporación es elevada durante los meses de marzo a agosto (Loyo Espindola, 2015; Ramírez Vázquez, 2012).

Bonampak se sitúa a unos 30 km al sur de la Ciudad de Yaxchilán se ubica en la selva Lacandona de Chiapas, en el valle del río Lacanhá (16° 40' 34"N y 91° 08' 46" O); a unos 30 km al sur de la Ciudad de Yaxchilán. El clima dominante es el cálido húmedo, con temperatura media anual mayor de 22 °C. La precipitación anual es superior a los 2,500 mm con vientos dominantes del norte (Pedraza Acevedo, 2014).

Las dos muestras con las que se trabajaron provinieron del Herbario del Laboratorio de algas continentales, ecología y taxonomía (LACET) de la Facultad de Ciencias, sus claves son BA241 y BA338 y fueron recolectadas en Palenque en el Edificio Palacio, el 05 de agosto del 2006 y en Bonampak en el edificio murciélagos, el 21 de enero del 2007 respectivamente.

Condiciones de cultivo

Se aislaron de muestras secas de sustrato filamentos que fueron enjuagados dos veces con medio líquido Arnon modificado (Arnon et al., 1974), siguiendo las recomendaciones de Cordero (2013), posteriormente se sembraron en este mismo medio en sólido en cajas petri y en líquido en botellas serológicas con 30 mL y se mantuvieron en condiciones constantes de temperatura a 20 °C, irradianza PAR de $42.85 \mu\text{e m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y un fotoperiodo de 12 :12 horas.

Identificación morfológica

Se realizó una identificación basada en los caracteres morfológicos observados a través del microscopio óptico (Nikon Optiphot, Japón) y se hizo un registro fotográfico de estas. Para su identificación se utilizó la siguiente bibliografía especializada: Printz, (1964); Thompson & Wujek, (1992, 1997).

Por otra parte, realizaron 24 preparaciones semipermanentes con gelatina glicerinada y se observaron en aumentos de 40x y 100x (González-González & Novelo-Maldonado, 1986).

Identificación molecular

Se extrajo el ADN de muestras de cultivadas de BA338 y BA241 siguiendo el protocolo recomendado por el kit Power Soil (MO BIO Laboratories INC., USA) y posteriormente se hicieron sus respectivas amplificaciones de regiones específicas del ADN por PCR en el termociclador (MaxyGene Gradient, AXYGEN, USA) con la enzima Mix ampliçon TEMpase Hot Start 2x Master Mix A (Ampliçon,

Denmark) y los primers EukA f y EukB r para la región 18S rADN (Medlin, et al., 1988), la temperatura de desnaturalización fue de 95 °C, de alineación fue de 60 °C, de elongación y de elongación final de 72 °C, la amplificación constó de 40 ciclos. Los amplicones obtenidos fueron visualizados mediante un gel de agarosa al 1% en cámaras de electroforesis a 80v por 60 min con solución Buffer de Tris Borato EDTA.

Las muestras fueron enviadas a secuenciación a la empresa MacroGen Inc. (Corea). El análisis de secuencias inició con la comparación de éstas mediante el programa estadístico BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) para poder corroborar su identidad para después obtener las secuencias consenso mediante el uso del programa BioEdit, posteriormente (Hall, 1999).

Posteriormente, se seleccionaron 28 secuencias parciales del gen 18S rADN de géneros de la familia Trentepohliaceae con 1439 pb, se alinearon y editaron en Bioedit para realizar un análisis de Máxima Verosimilitud con ayuda del programa MEGA X, para este análisis se empleó el modelo evolutivo Hasegawa-Kishino-Yano. El árbol consenso fue inferido a partir de 1000 réplicas, las ramas correspondientes a las particiones reproducidas en menos del 50% de las réplicas de bootstrap están colapsadas (Hasegawa M. et al., 1985).

Se obtuvo un árbol de máxima verosimilitud, en el que se analizaron las regiones de 18S de las muestras BA338 y BA241, comparándolas con secuencias de las mismas regiones de especies filogenéticamente parecidas como representantes del género de *Cephaleuros*, *Trentepohlia*, *Printzina*, *Phycopeltis*, *Cladophora*, (enraizado con este último) el porcentaje de árboles replicados en los

que los taxones asociados se agruparon en la prueba de arranque (1000 réplicas) se muestran junto a las ramas (Hasegawa M. et al., 1985).

Evaluación de producción de ácidos orgánicos

Para esta evaluación se seleccionaron los cultivos identificados como BA338 y BA241. Ambos crecimientos fueron pretratados para el experimento. El pretratamiento consistió en lavados de los crecimientos en medio de cultivo líquido Arnon modificado, para posteriormente transferirlos a botellas serológicas con el mismo medio de cultivo líquido y azul de bromotimol al 1%. Posteriormente, se burbujeó gas Argón por medio de una jeringa insertada en un tapón de goma durante 10 segundos para garantizar las condiciones de anoxia a una velocidad de 570 ml/min (Jensen, 1978).

Estas muestras, se mantuvieron en condiciones de obscuridad y anoxia durante 2 semanas, llevando un registro fotográfico para observar el cambio de color en el medio de cultivo. Las botellas fueron incubadas en posición invertida para favorecer el mantenimiento de las condiciones anóxicas.

La evaluación de producción de ácidos se desarrolló en condiciones de oxigenación, para ello los cultivos BA338 y BA241, fueron depositados en botellas serológicas con medio de cultivo líquido Arnon modificado y colorante azul de bromotimol al 1%, cubiertas con un tapón de algodón y un fotoperiodo de 12 horas luz y 12 horas oscuridad. Se realizó un registro fotográfico durante 28 días.

Identificación de genes que expresan enzimas involucradas en el metabolismo fermentativo

Para la extracción de ADN se siguió el procedimiento descrito anteriormente, utilizando los mismos cultivos mencionados. En cuanto a las amplificaciones se utilizaron los primers PFL f y PFL r (Atteia et al., 2006), se siguieron las mismas condiciones de amplificación y secuenciación descritas en el apartado de Identificación molecular.

Se utilizó al organismo *Chlamydomonas reinhardtii* en nuestro estudio, debido a que es una especie modelo en el análisis de las rutas de fermentación en organismos eucariontes de modo que tanto las regiones de ADN asociadas a PFL, tanto como la expresión de esta enzima pueden ser similares (Atteia et al., 2006; Catalanotti et al., 2013; Mus et al., 2007).

Las secuencias fueron alineadas y comparadas con 11 secuencias de 749 pb obtenidas en la base de datos del NCBI de regiones correspondientes al gen de Piruvato Formato Liasa en *Chlamydomonas reinhardtii*, *Chlorella variabilis*, *Tetrabaena socialis* y *Escherichia coli* (enraizado con este último).

Se obtuvo un árbol consenso utilizando el método de máxima verosimilitud con ayuda del programa MEGA X, utilizando el modelo evolutivo General Time Reversible. El árbol de consenso bootstrap fue inferido a partir de 1000 repeticiones. Las ramas correspondientes a particiones reproducidas en menos del 50% de réplicas de arranque se colapsan. El porcentaje de árboles replicados en los que los taxones asociados se agruparon en la prueba de arranque (1000 repeticiones) se muestra junto a las ramas (Nei M. & Kumar S. 2000).

Condiciones de cultivo para producción de carotenoides

Se cultivaron las muestras BA241 y BA338, por duplicado en medio líquido Arnon modificado (Cordero, 2013), cada botella serológica contenía 4 colonias y 30 mL de medio. Estas muestras se obtuvieron de cultivos preexistentes proporcionados por el Laboratorio de Algas Continentales. Ecología y Taxonomía. La temperatura de incubación fue de 24 °C, con una irradiancia PAR en un intervalo de 218.7 a 113.7 y de 113.7 a 81.2 $\mu\text{ε m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y un fotoperiodo de 24 horas de luz durante 2 semanas.

Evaluación de producción de carotenoides

Para la obtención de carotenoides se realizó una modificación de las metodologías de Acacio-Chirino et al. 2013 y de Jensen 1978.

Inicialmente se pesaron los crecimientos secos de cada una de las muestras experimentales y se colocaron en un tubo Eppendorf con 1 mL de acetona, posteriormente se maceraron con un pistilo (Thomas Scientific Spectrum 3411D50, Thomas Scientific, USA), la maceración se repitió hasta lograr la extracción completa de los pigmentos.

A continuación, se dejó evaporar la muestra hasta obtener un concentrado y se resuspendió en 1 mL de acetona en un tubo de ensayo de vidrio de 5 mL, al cual se agregó una pizca de CaCO_3 y se dejó en reposo alrededor de dos minutos para posteriormente, medir el pH de la muestra y asegurar su neutralidad.

Por último, se diluyó la muestra 1:20 para medir su absorbancia a 427 y 497 nm (dado que es son las longitudes de onda de absorción de los carotenos) en el

espectrofotómetro (HACH DR 1900, USA), a continuación, se calculó la concentración de carotenos con la siguiente fórmula (Acacio-Chirino et al., 2013; Jensen, 1978):

$$C = \frac{D*V*F*10}{2500}$$

Donde:

C: cantidad total de carotenos

D: absorbancia

V: volumen en mililitros del extracto original

F: factor de dilución

2500: factor promedio de extinción de los pigmentos

El rendimiento de los carotenos se calculó dividiendo el resultado de la fórmula descrita arriba entre el peso de la muestra analizada, por lo que las unidades en las que se encuentran son µg/g.

Resultados

Identificación morfológica

Las muestras BA241 y BA338 se lograron identificar como *Trentepohlia abietina* gracias a la presencia de esporangios y filamentos conservados en las preparaciones semipermanentes de gelatina glicerinada (Printz, 1964; Thompson & Wujek, 1992, 1997). Los cultivos en estado puro no mostraron la producción de

esporangios, por lo que se procedió a contaminarlos con hongos ambientales para observar este fenómeno (Nakano & Ihda, 1996).

A continuación, tanto en la figura 3 sección A como en la figura 4, se pueden apreciar los esporangios presentes en las muestras; como se observa, estos esporangios son grupales y están dispuestos en fila, de igual manera se señala el poro papilar lateral de uno de ellos.

En la sección B de la misma figura se señalan los filamentos de la muestra, que son de color naranja, cilíndricos y finos, mismos que tienen un ancho de entre 4 y 8 micrómetros.

Por último, en la sección C se muestran los esporangios que presentan distintos tipos de morfología (dos redondos y uno ovalado), así como su aparición en solitario o en grupo dentro de la misma muestra.

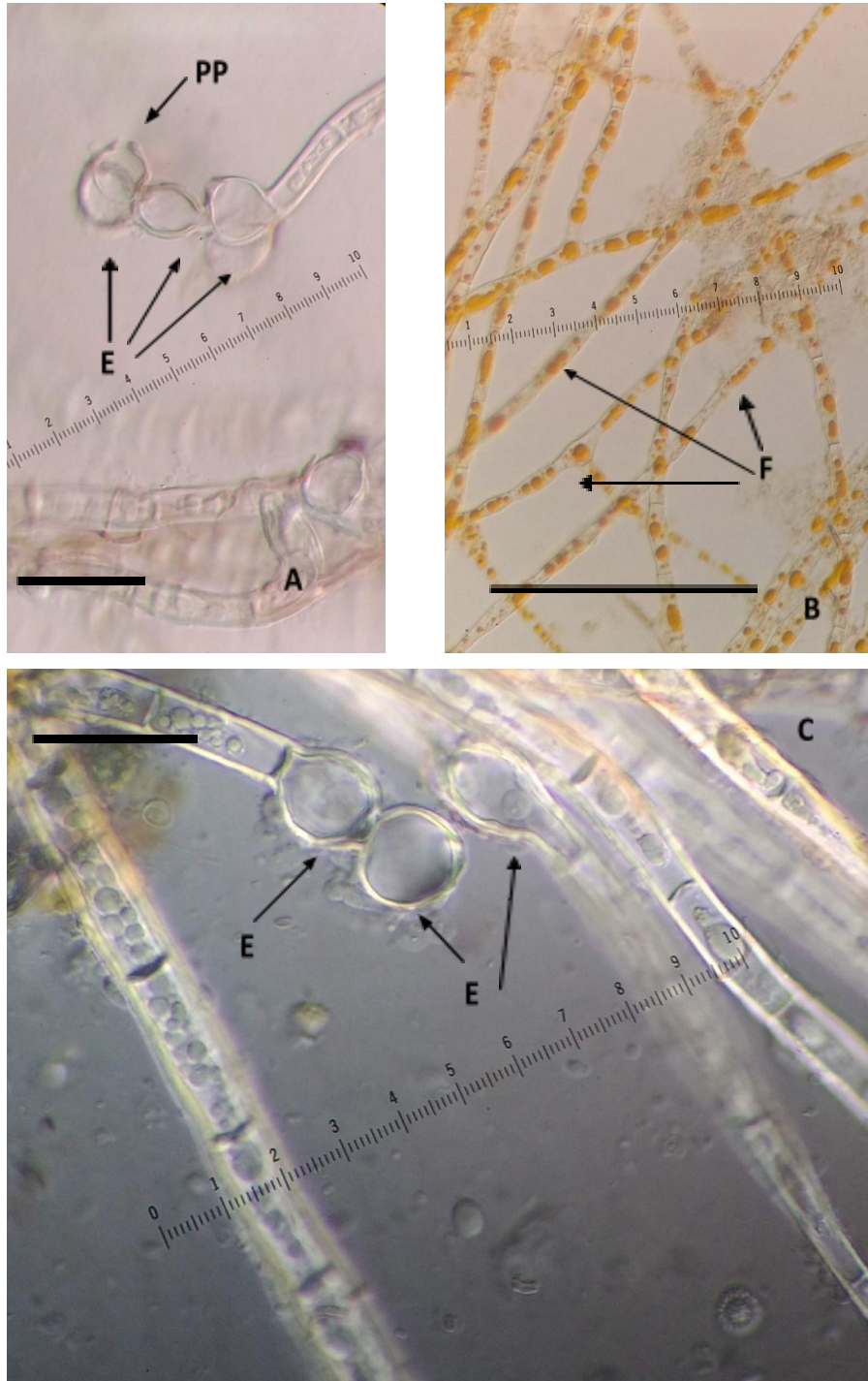


Figura 3. *Trentepohlia abietina*. A: Esporangios (E) en columna con la presencia de un poro papilar lateral (PP); B: Filamentos (F) de la muestra; C: Esporangios de distinta morfología en la misma muestra. Las barras equivalen a 50 μm .

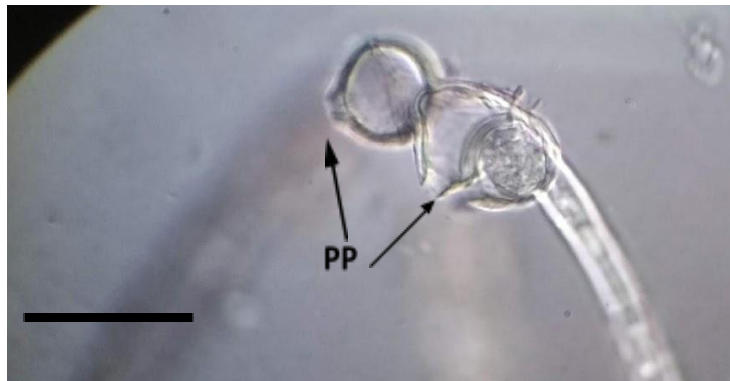


Figura 4. *Trentepohlia abietina*. Presencia de poro papilar lateral (PP) en la muestra. La barra equivale a 50 μm .

Identificación molecular

De acuerdo con el programa BLAST la muestra BA338 tuvo mayor porcentaje de similitud con secuencias de *Trentepohlia aurea*. La secuencia de esta muestra se asemeja a la secuencia con número de acceso AB110783.1 de GeneBank para la región de 18S con un porcentaje de cobertura del 97 % y un porcentaje de identidad del 94%.

Por otro lado, la muestra BA241 no obtuvo un buen porcentaje de similitud con ninguna secuencia de GeneBank, por lo que no se logró identificar molecularmente de manera adecuada. Sin embargo, se reconoce que hace falta robustez de secuencias bien identificadas tanto en el clado de *Trentepohlia* como en el de *Printzina* en GeneBank.

De igual manera, se obtuvo un árbol de máxima verosimilitud, el cual se aprecia en la figura 5 donde observó que las secuencias BA338 y BA241 se agruparon en un sólo cluster, sin embargo, se muestra que hay posiciones que no

están bien definidas entre géneros sobre todo entre *Printzina* y *Trentepohlia*, que es donde las dos muestras problema se ubican.

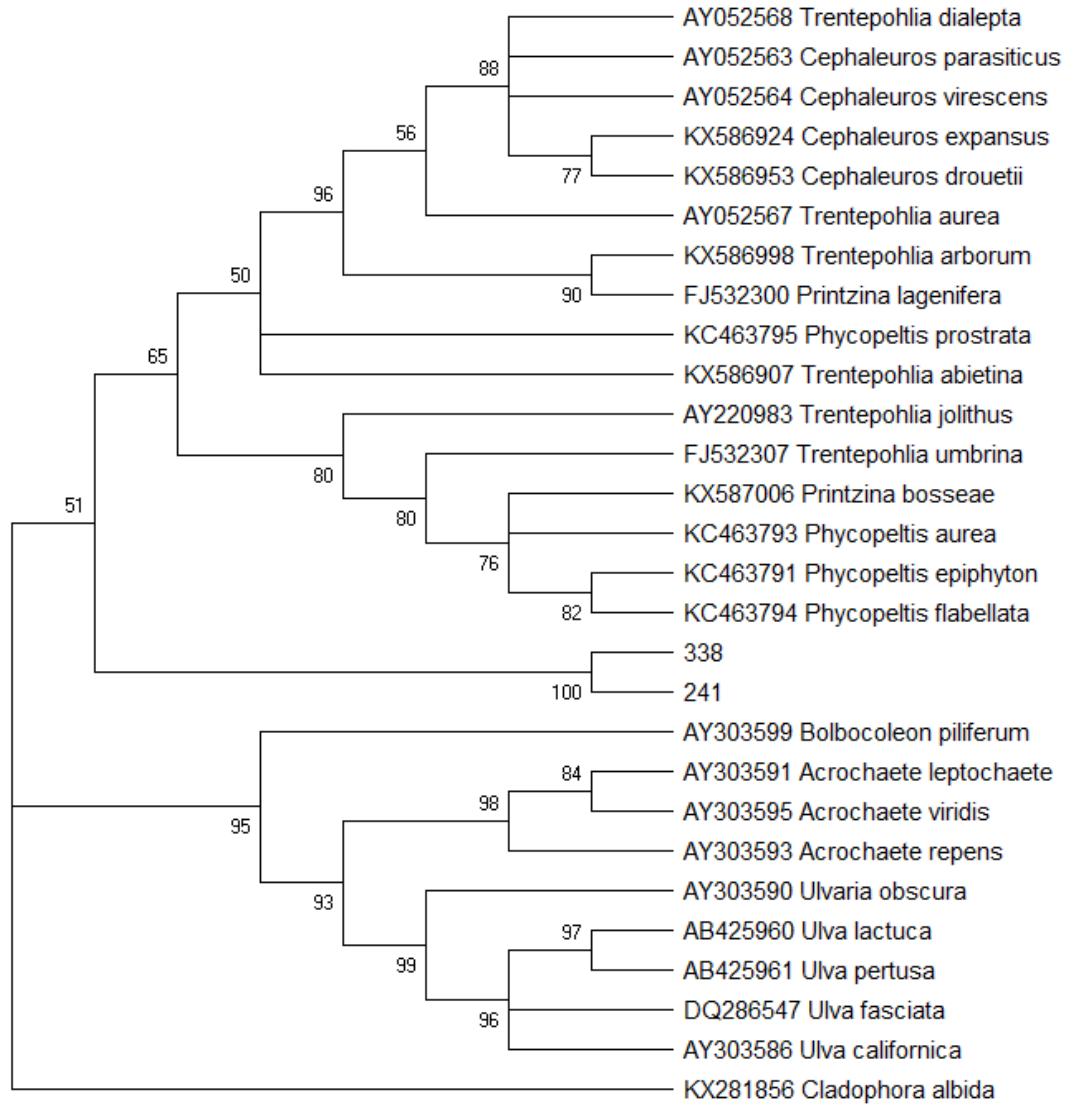


Figura 5. Árbol consenso para el gen 18S de la inferencia filogenética generada a partir de un análisis de máxima verosimilitud. Los valores sobre las ramas corresponden al porcentaje de soporte de bootstrap.

Producción de ácidos orgánicos

Se obtuvieron fotografías en las que se muestra que no ocurrió ningún cambio en el color de los frascos, tanto en el experimento en condiciones anaerobias (figuras 6, 7, 8 y 9) como en el de condiciones aerobias (figuras 10 y 11) a pesar de que ambos experimentos duraron alrededor de 2 semanas. Fue posible comprobar la viabilidad de las colonias empleadas en los experimentos ya que se mantuvieron en cultivo a lo largo de los siguientes meses.

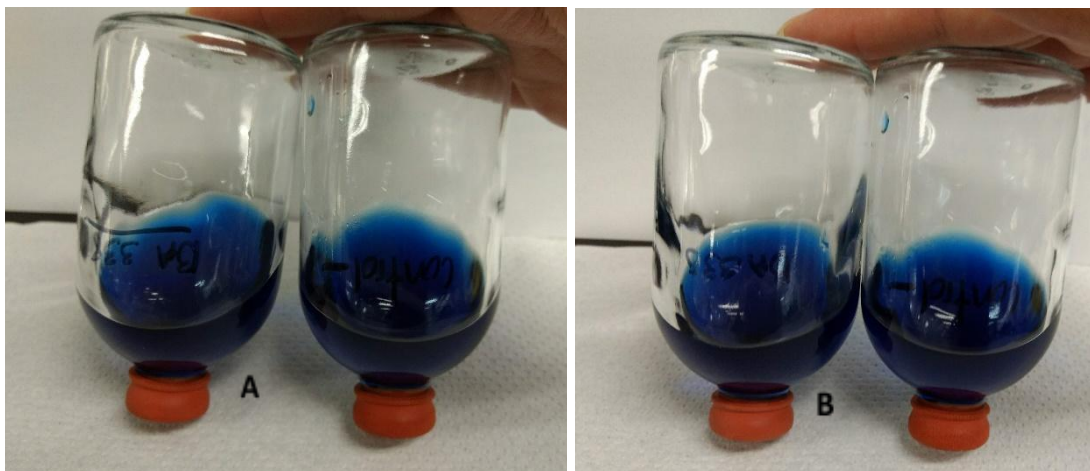


Figura 6. A) Muestra BA338 junto al control negativo; B) Duplicado de BA338 junto al control negativo, ambos al inicio del experimento anaerobio.

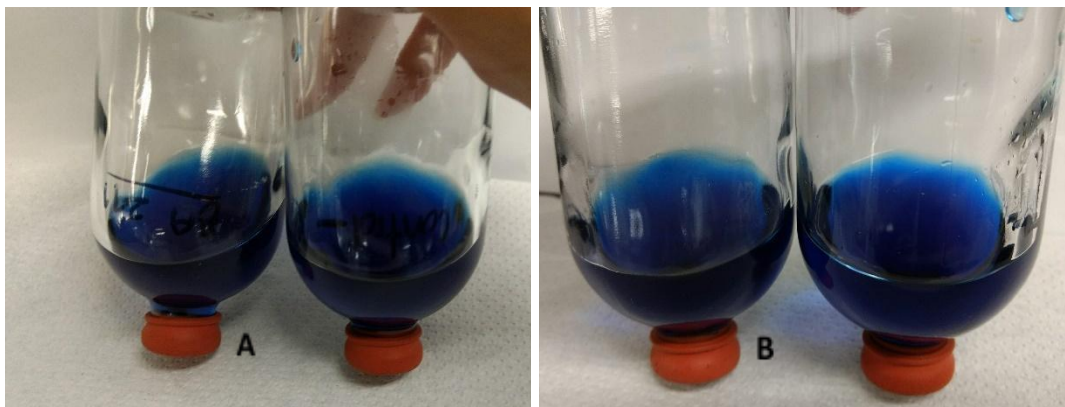


Figura 7. A) Muestra BA241 junto al control negativo; B) Duplicado de BA241 junto al control negativo, ambos al inicio del experimento anaerobio.



Figura 8. A) Muestra BA338 junto al control negativo; B) Duplicado de B338 junto al control negativo, ambos al término del experimento anaerobio.



Figura 9. A) Muestra BA241 junto al control negativo; B) Duplicado de B241 junto al control negativo, ambos al término del experimento anaerobio.

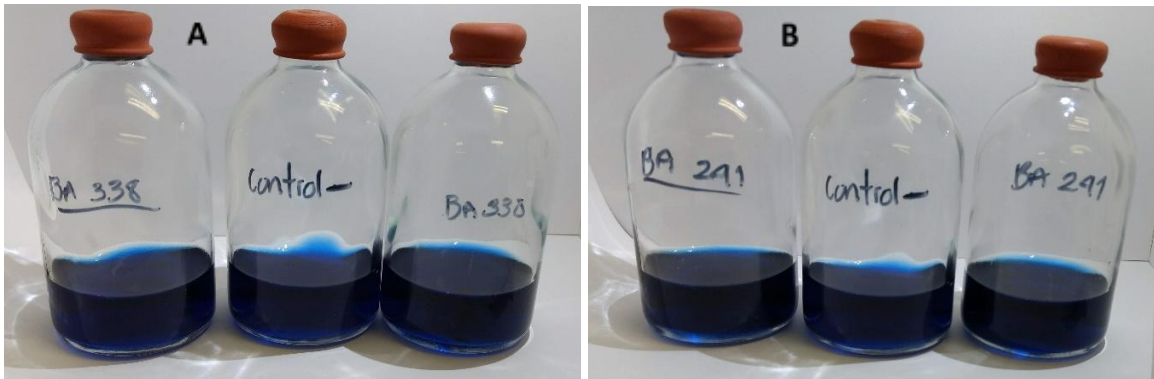


Figura 10. A) Muestra BA338 y su duplicado junto al control negativo;. B) muestra 241 y su Duplicado junto al control negativo ambos al inicio del experimento aerobio.

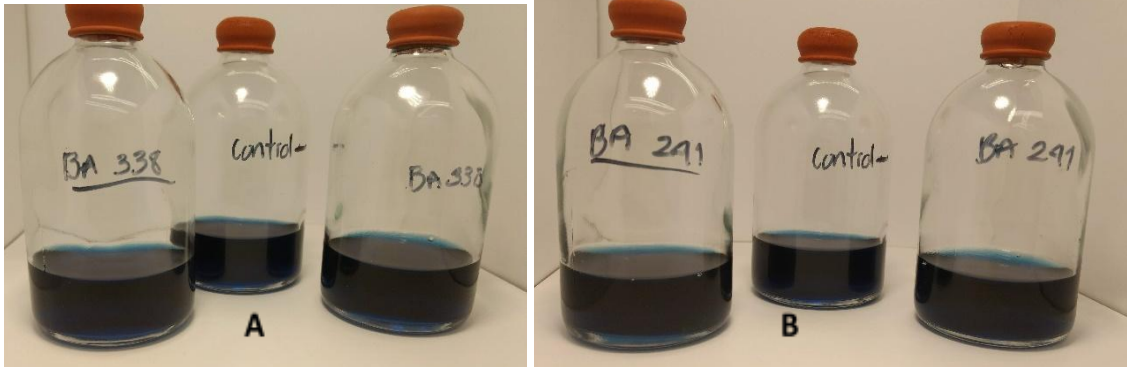


Figura 11. A) Muestra BA338 y su duplicado junto al control negativo; B) muestra 241 y su Duplicado junto al control negativo ambos al término del experimento aerobio.

Identificación de genes que expresan enzimas involucradas en el metabolismo fermentativo

En la figura 12 se observa el árbol de consenso generado de la prueba de máxima verosimilitud para las secuencias de los genes PFL.

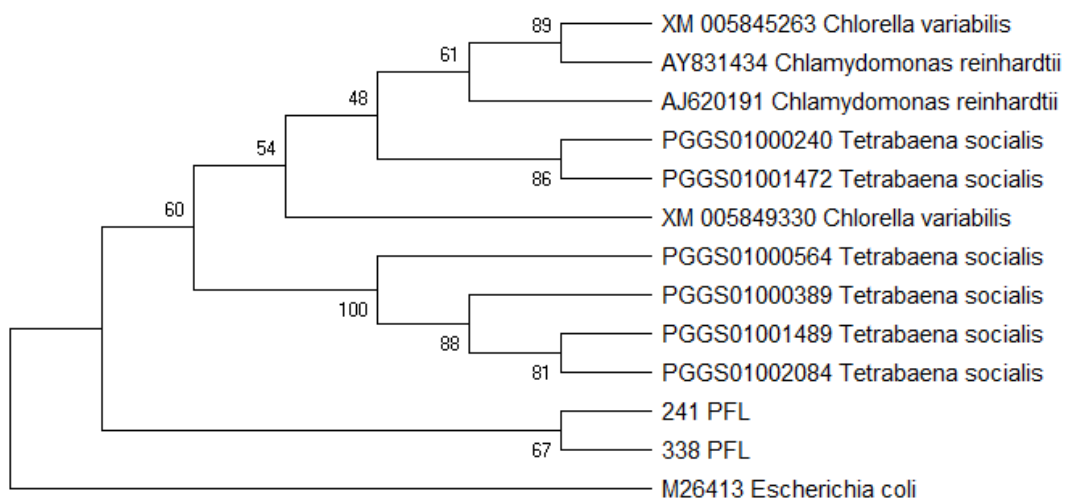


Figura 12. Árbol consenso para el gen *pfl* a partir de un análisis de máxima verosimilitud. Los valores sobre las ramas corresponden al porcentaje de soporte de bootstrap.

El árbol muestra dos clados basales, el primero conformado por las secuencias de *E.coli* para los genes *pfl*. El segundo clado está conformado por la secuencia 338 y 241 del mismo gen, separado del cluster conformado por las secuencias de *Chlamydomonas reinhardtii*, *Tetrabaena socialis* y *Chlorella variabilis*.

Producción de carotenoides

En la tabla 1 se muestran los valores obtenidos de las lecturas de absorbancia para 427 y 497 nm de las diferentes muestras así como su rendimiento.

Tabla 1. **Rendimiento de carotenos.** Se muestra la absorbancia a 427 y 497 nm de cada una de las muestras, así como el rendimiento expresado en $\mu\text{g/g}$.

	Nombre de la muestra	Absorbancia en nm	Rendimiento en $\mu\text{g/g}$
Absorbancia a 427	241a	0.093	31.00
	214b	0.387	16.82
	338a	0.472	35.62
	338b	0.076	19.00
Absorbancia a 497	241a	0.048	16.00
	214b	0.267	17.22
	338a	0.264	19.92
	228b	0.071	17.75

Como se puede observar, el rendimiento más alto fue producido por la muestra 338a con $35.62 \mu\text{g/g}$ mientras que el de menor producción fue de la muestra 241a con un rendimiento de $16 \mu\text{g/g}$.

Descripción taxonómica

División Chlorophyta Reichenbach 1834

Clase Ulvophyceae Mattox et Stewart 1984

Orden Trentepohliales Chadeaud ex R.H Thompson et Wujek 1997

Familia Trentepohliaceae Hansgirg 1886

***Trentepohlia* Martinus 1817**

***Trentepohlia abietina* (Flotow ex Kützing) Hansgirg 1886**

Prodr. Alg. Böhmen 1: 86., 1886

Crecimiento macroscópico de aspecto aterciopelado con coloración naranja, amarilla o verdosa. Células en filamentos erectos, cilíndricos. Las células de los filamentos son predominantemente entre 4 y 8 μm de ancho por 48-57 μm de largo, contienen gotas al interior de las células que pueden ser rojas hasta amarillas. Esporangios terminales solitarios o en grupo con morfologías globulares y ovoides en su mayoría, sin embargo, pueden ser reniformes con poro papilar lateral.

Las muestras estudiadas concuerdan con las descripciones de la bibliografía en el crecimiento macroscópico, de igual manera, se encontraron filamentos erectos y cilíndricos. El tamaño de las células, así como el color de las gotas que contienen son consistentes con las fuentes documentales. En cuanto a los esporangios, se observan coincidencias con lo reportado, como lo son la forma globular u ovoide y su disposición terminal, sin embargo, se presentaron con formas reniformes y presencia de poro papilar lateral, características que difieren de la bibliografía.

Ambiente:

Las muestras fueron encontradas en sitios con altas temperaturas, clima cálido-húmedo. Localizada sobre roca, formando un tapete aterciopelado en color naranja-rojizo.

Comúnmente en sitios con condiciones frescas y húmedas, particularmente en bosques. Es mayormente corticícola, formando parches en la corteza de árboles muertos y coníferas. Raramente encontrada en roca (Guiry & Guiry, 2022).

Distribución:

Este es el primer registro para México de *Trentepohlia abietina*, anteriormente se han reportado en el país a otros representantes del mismo género que son: *T. aurea*, *T. gracilis*, *T. jolithus*, *T. umbrina* y *T. villosa* (Novelo & Tavera, 2023).

Europa: Austria, Inglaterra, República Checa, Georgia, Alemania, Irlanda, Italia, Polonia, Portugal, Rumania, Rusia, España, Suiza y Ucrania (Guiry & Guiry, 2022).

América: Canadá, Estados Unidos de América, Brasil, Guayana Francesa (Guiry & Guiry, 2022).

África: Sudáfrica (Guiry & Guiry, 2022).

Asia: Bangladesh, India, Sri Lanka, China, Indonesia (Guiry & Guiry, 2022).

Australia: Nueva Zelanda, Queensland (Guiry & Guiry, 2022).

Islas del pacífico: Islas Hawái (Guiry & Guiry, 2022).

Discusión

Identificación morfológica y molecular

Como se muestra en los resultados, las muestras BA338 y BA241 se lograron identificar como *T. abietina*, debido al tipo, el tamaño de los filamentos, así como su color, de acuerdo con Thompson & Wujek (1992).

Sin embargo, las distintas morfologías de los esporangios dentro de la misma muestra y la presencia de poro papilar lateral, muestra que la diversidad de

estos caracteres es amplia dentro de la misma especie y se reafirma lo que diversos autores han mencionado con anterioridad, la plasticidad morfológica es amplia dentro del grupo de *Trentepohlia* por lo que la posición taxonómica de muchas de las especies es incierta. La identificación de especies dentro de este género resulta sumamente confusa (Ibarra Gallardo, 2017; Lopez-Bautista et al., 2007; Lopez-Bautista et al., 2006).

En cuanto a la identificación molecular de las muestras, a pesar de que la muestra BA338 fue identificada morfológicamente como *T. abietina*, como se ha mencionado con anterioridad, las secuencias del grupo de *Trentepohlia* no tienen una buena resolución cuando se emplean métodos moleculares (Lopez-Bautista et al., 2002; Rindi et al., 2009). Esto se puede corroborar con los datos mostrados en la figura 5 en donde el grupo de *Printzina* y *Trentepohlia* no está bien definido a comparación de los otros géneros que se analizaron los cuales forman grupos bien definidos entre ellos.

De igual manera, existen especies dentro de los géneros *Printzina* y *Trentepohlia* que son especies crípticas de las cuales su posición filogenética aún no se encuentra resuelta, en este sentido, Lopez-Bautista et al., 2006, mencionan que los análisis que realizaron no brindan soporte para la validez del grupo de *Physolinum* o *Printzina* y es probable que estos géneros deberán reducirse a sinónimos de otros géneros y en particular, en el caso de *Printzina*, la circunscripción en el nivel de especie necesitará una reevaluación, que sin embargo, esto no es una conclusión sorprendente (Ibarra Gallardo, 2017; Lopez-Bautista et al., 2007; Rindi et al., 2009).

Al mismo tiempo, existe una gran pobreza en las bases de datos internacionales en cuanto a las secuencias de 18s para representantes del grupo de *Printzina* y *Trentepohlia*, ya que no se cuentan con la información suficiente de secuencias de especies bien delimitadas de estos dos taxones.

Por lo anterior, se determinó a estas dos muestras como *T. abietina*, ya que la falta de estudios moleculares con una buena identificación morfológica provoca que los datos obtenidos en las bases de datos sean inciertos.

La identificación de esta especie representa un nuevo registro para México, ya que anteriormente únicamente se había identificado *T. aurea* en el país.

Por otro lado, el género de *Printzina* es relativamente nuevo (Thompson & Wujek, 1992) por lo que muchas especies pertenecientes a *Printzina* aún están siendo reclasificadas, lo cual hace evidente la necesaria investigación para estos dos grupos (Ibarra Gallardo, 2017).

Producción de ácidos orgánicos

Como se muestra en los resultados, no sucedió la producción de ningún tipo de ácido tanto en condiciones anaerobias como aerobias debido a que no ocurrió ningún cambio en la coloración del azul de bromotimol que actúa como indicador de pH, sin embargo, se identificaron genes de *pfl* obtenidos de muestras de cultivos, relacionados por medio de la vía de la fermentación a la producción de ácidos como etanol y ácido acético. Se logró identificar esto gracias a los estudios

previos que se han hecho en *Chlamydomonas reinhardtii* y *Escherichia coli* y su posterior comparación con los resultados obtenidos (Atteia et al., 2006).

Aunado a esto, Atteia et al. 2006 menciona que en condiciones de anaerobiosis y de obscuridad se propicia el incremento de la transcripción de PFL pero tiene poco efecto a nivel de proteína lo cual es respaldado con nuestros resultados debido a que no se produce ningún cambio de color en ninguna de las botellas a pesar de que se logró identificar el gen de *pfl* dado que se amplificó. Esto sugiere que, esta alga no puede tener efecto de biodeterioro de las zonas arqueológicas de donde proviene, al menos en cuanto a la degradación de roca por la producción masiva de ácidos orgánicos.

Por otro lado, se han identificado ácidos orgánicos producidos por hongos que dañan los monumentos, como lo son el ácido carbónico que solubiliza fácilmente el carbonato de calcio y de magnesio presente en las rocas calizas, así mismo estos organismos producen y excretan otros ácidos como lo son el glucónico, cítrico, oxálico entre otros (Savković et al., 2021).

Es importante resaltar que la producción de esporangios de las muestras sólo se dio a partir de que fueron contaminadas con hongos ambientales, lo que se demuestra una relación importante entre estos dos organismos. Debido a esto es posible que la roca de las zonas arqueológicas sea degradada por los hongos que existen en los muros en asociación con *Trentepohlia* o bien, en solitario.

Producción de carotenos

Como se mostró en los resultados, el rendimiento más alto de carotenos fue de 35.62 µg/g, probablemente este número, pueda mejorar si se cambian las condiciones de cultivo, en especial con una mayor temperatura e irradiancia (Cordero, 2013).

Lo anterior, debido a que los factores de estrés ayudan a la producción de carotenos, de igual manera, existen otros métodos en los que se aumenta la producción, por ejemplo, en los que el alga se encuentre en condiciones particulares como bajo contenido de nitrógeno, alta salinidad y más eficientemente, de alta irradiancia en conjunto con alta temperatura estas últimas, son condiciones que se encuentran en el sitio de estudio (Sánchez et al., 1999; Anzures et al., 2021).

Los β-carotenos resguardan a las células del alga contra el daño foto-oxidativo, por lo que es probable que la presencia de esta alga en los muros de las zonas arqueológicas proporcione una protección contra la radiación solar propia de la zona (Cordero, 2013).

Este rendimiento de carotenos muestra que *Trentepohlia abietina* puede llegar a producir pátinas sobre los muros de las construcciones en estas zonas arqueológicas, sin embargo, hay que evaluar la protección que esta alga puede proporcionar a la roca.

Por lo anteriormente mencionado y dado que existe una asociación entre *Trentepohlia* y hongos, se generan biofilms sobre la roca que como lo mencionan Novelo et al., 2011, el crecimiento de biofilms ayuda a proteger a la roca contra el

intemperismo por lo que habría que evaluar la importancia de la producción de pátinas y si es preferible la remoción de estos microorganismos para evitarlas o bien, su protección y de la misma manera proteger la roca.

Conclusiones

Dados los resultados, se sugiere la reevaluación del género de *Printzina*, ya que existe incertidumbre en las características morfológicas que deberían de ser propias del género y aún más en las secuencias de ADN para su correcta identificación molecular.

Por otro lado, se aporta un nuevo registro para México ya que *T. abietina* no había sido identificada en nuestro país. Y de este modo se cumple una de las características de México, un país megadiverso donde no sólo se contempla su fauna, sino también su flora que en diversas ocasiones no se conoce, dando pie a nuevas investigaciones que dan una apertura al mundo científico. Esta aportación amplía el listado de especies ficológicas en el país.

Así mismo, es importante conocer cuál o cuáles son las especies de hongo que se relacionan con *Trentepohlia* para la producción de esporangios, así como la determinación de las interacciones que estas especies pueden tener de modo que se amplie el conocimiento de esta relación.

Al tener a esta alga en la roca puede llegar a protegerla contra el intemperismo y la coloración de estas microalgas le brindan distintas tonalidades atractivas a los monumentos que pueden llegar a atraer aún más visitas de turistas a estos sitios.

Los resultados mostraron que esta especie de microalgas no daña la roca en cuanto la degradación por ácidos por lo anterior, se sugiere la reconsideración de la limpieza constante de los monumentos, así como los métodos utilizados, esto con la finalidad de preservarlos de una manera óptima de manera que se alargue su tiempo de vida.

Ligado a esto, se puede llegar a realizar una campaña de educación ambiental para la concientización sobre los micro y los macroorganismos que se encuentran ligados a estas Zonas Arqueológicas y así el público en general pueda comprender la importancia de preservar todas estas formas de vida.

Referencias

- Acacio-Chirino, N. J., Zumalacárregui-de-Cárdenas, L. M., Almera-Medina, J. C., Barreno-Medina, D. M., Betancourt-Betancourt, R. A., Colina-Luchón, R. L., & Araujo-Blanco, J. A. (2013). Desarrollo de un procedimiento para la extracción de B-caroteno y glicerol a partir de la microalga *Dunaliella* sp. en la salina Las Cumaraguas. *Revista Cubana de Química*, 24, 214–228.
- Allsopp, D., Kenneth, S., & Gaylarde, C. (2004). *Introduction to Biodeterioration*. Cambridge University Press.
- Anzures, M., Gaytán, M., & Cuna, E. (2021). Algas extremófilas: estrategias de supervivencia y uso potencial. *BioTecnología*. 25(2), 9-21.
- Arnon, D. I., McSwain, B. D., Tsujimoto, H. Y., & Wada, K. (1974). Photochemical activity and components of membrane preparations from blue-green algae. I. Coexistence of two photosystems in relation to chlorophyll a and removal of phycocyanin. *BBA - Bioenergetics*, 357(2), 231–245. [https://doi.org/10.1016/0005-2728\(74\)90063-2](https://doi.org/10.1016/0005-2728(74)90063-2)
- Atteia A, van Lis R, Gelius-Dietrich G, Adrait A, Garin J, Joyard J, Rolland N, Martin W. (2006). Pyruvate formate-lyase and a novel route of eukaryotic ATP synthesis in *Chlamydomonas*

mitochondria. *Journal of Biological Chemistry*, 281 (15), 9909–9918.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M507862200>

Becerra Casillas, Andrea. (2018). Material original.

Bolívar Galiano, F. C., & Sánchez Castillo, P. M. (1998). Biodeterioro del patrimonio artístico por cianobacterias, algas verdes y diatomeas. *Revista PH*, 52.
<https://doi.org/10.33349/1998.24.687>

Catalanotti, C., Yang, W., Posewitz, M. C., & Grossman, A. R. (2013). Fermentation metabolism and its evolution in algae. *Frontiers in Plant Science*, 4 (May), 1–17.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00150>

Chen, L., Zhang, L., Zhang, W., & Liu, T. (2015). Comparative analysis of growth and carotenoid accumulation of *Trentepohlia arborum* in aerial, subaerial, and aquatic cultivation. *Journal of Applied Phycology*, 27(3), 1079–1087. <https://doi.org/10.1007/s10811-014-0436-x>

Cordero, B. F. (2013). Caracterización de la ruta carotenogénica en *Chlorella zofingiensis*, (Tesis Doctoral inédita). Universidad de Sevilla, Sevilla.

Gaylarde, P., Englert, G., Ortega-Morales, O., & Gaylarde, C. (2006). Lichen-like colonies of pure *Trentepohlia* on limestone monuments. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 58(3–4), 119–123. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2006.05.005>

González-González, J., & Novelo-Maldonado, E. (1986). Manual de herbario. In *Manual de herbario* (pp. 47–54). México: Consejo Nacional de la Flora de México.

Griffin, P. S., Indictor, N., & Koestler, R. J. (1991). The biodeterioration of stone: a review of deterioration mechanisms, conservation case histories, and treatment. *International Biodeterioration*, 28 (1–4), 187–207. [https://doi.org/10.1016/0265-3036\(91\)90042-P](https://doi.org/10.1016/0265-3036(91)90042-P)

Guiry, W., & Guiry, G. (2022). *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <https://www.algaebase.org>.

Hall, T. A. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*. 41:95-98.

Hasegawa M., Kishino H., and Yano T. (1985). Dating the human-ape split by a molecular clock of mitochondrial DNA. *Journal of Molecular Evolution* 22:160-174.

- Herrera, L. K., & Videla, H. A. (2004). The importance of atmospheric effects on biodeterioration of cultural heritage constructional materials. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 54(2–3), 125–134. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2004.06.002>
- Ibarra Gallardo, C. E. (2017). Caracterización morfológica de los cianoprocariontes y las algas epilíticas de la zona arqueológica de Yaxchilán, Chiapas. (Tesis de Maestría). Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. 135 p.
- INAH Mediateca. (2023). Lugares INAH Edzná. Accesible en <https://lugares.inah.gob.mx/es/zonas-arqueologicas/zonas/1667-edzn%C3%A1.html>
- Instituto de Geología. (2007). Carta Geológica de México. Accesible en <https://www.geologia.unam.mx/contenido/carta-geologica-mexicana>
- Jensen. (1978). Chlorophylls and carotenoids. En Hellebust, J. A., & Craigie. J. S (Eds.). *Handbook of Phycological Methods, Physiological and Biochemical Methods* (1st ed., pp. 59–70). London, New York, Melbourne: Cambridge University Press.
- Lopez- Bautista, J. M., Waters, D. A., & Chapman, R. L. (2002). The Trentepohliales Revisited. *Constancea* 83(1): 1-23. University and Jepson Herbaria, University of California, Berkeley.
- Lopez-Bautista, J. M., Rindi, F., & Guiry, M. D. (2006). Molecular systematics of the subaerial green algal order Trentepohliales: An assessment based on morphological and molecular data. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56(7), 1709–1715. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.63990-0>
- Lopez-Bautista, J. M., Rindi, F., & Casamatta, D. (2007). The Systematics of Suberial Algae. En Seckbach, J. (Ed.). *Algae and Cyanobacteria in Extreme Environments* (pp. 599–617). Springer.
- López-Moreno, A., Sepúlveda-Sánchez, J. D., Alonso Guzmán, E. M. M., & Le Borgne, S. (2014). Calcium carbonate precipitation by heterotrophic bacteria isolated from biofilms formed on deteriorated ignimbrite stones: influence of calcium on EPS production and biofilm formation by these isolates. *Biofouling: The Journal of Bioadhesion and Biofilm Research*, 30 (5), 547–560.
- Loyo Espindola, E. S. (2015). Ecología de algas epilíticas de la zona arqueológica de Palenque, Chiapas. (Tesis de Maestría). Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. 155 p.

- Magaloni, D., Newman, R., & Banos, L. (1993). Los Pintores de Bonampak. En. Martha J. Macri, McHarque Jan (Eds.). Eighth Palenque Round Table (pp. 159-168). San Francisco, United States: Pre-Columbian Art Research Institute.
- Medlin, L., Elwood, H. J., Stickel, S., & Sogin, M. L. (1988). The characterization of enzymatically amplified eukaryotic 16S-like rRNA-coding regions. *Gene*, 71(2), 491–499. [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(88\)90066-2](https://doi.org/10.1016/0378-1119(88)90066-2)
- Mireles Vázquez, A. (2012). Especies de la Familia Pseudanabaenaceae en monumentos mayas de la zona de Palenque, Chiapas. Aspectos ecológicos y de cultivo. (Tesis para obtener el título de Bióloga). Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. 83 p.
- Morrone, J., Cigliano, M., & Crisci, J. (1992). Cladismo y diversidad biológica. *Ciencia Hoy*, 4 (21), 1–12. Retrieved from <http://www.agro.unlpam.edu.ar/ingenieria/botanica/bot-Cladismo y Div Biologica1.pdf>
- Mus, F., Dubini, A., Seibert, M., Posewitz, M. C., & Grossman, A. R. (2007). Anaerobic acclimation in *Chlamydomonas reinhardtii*: Anoxic gene expression, hydrogenase induction, and metabolic pathways. *Journal of Biological Chemistry*, 282(35), 25475–25486. <https://doi.org/10.1074/jbc.M701415200>
- Nakano, T., & Ihda, T. A. (1996). The identity of photobionts from the lichen *Pyrenula japonica*. *Lichenologist*, 28(5), 437–442. <https://doi.org/10.1006/lich.1996.0042>
- Nei M. and Kumar S. (2000). *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press, New York.
- Novelo, E. y R. Tavera. 2023 . bdLACET Base de datos de algas continentales. Facultad de Ciencias, UNAM. México. Disponible en: <https://bdlacet.mx/s-sitios-arqueologicos-mayas-biologia-y-conservacion-del-patrimonio.html>
- Novelo, E., Tavera, R., & Vidal, G. (2011). Las algas en los sitios arqueológicos mayas, biología y conservación del patrimonio. *Ciencias*, 104, 26–35. Retrieved from <https://www.revistaciencias.unam.mx/es/112-revistas/revista-ciencias-104/976-las-algas-en-l>
- Pedraza Acevedo, C. I. (2014). Diversidad de géneros *Scytonema* y *Petalonema* (Scytonemataceae, Cyanoprokaryota) en los monumentos arqueológicos de Palenque, Bonampak y Yaxchilán, Chiapas. (Tesis para obtener el título de Bióloga). Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. 97 p.

- Piera Serra, G. (2003). ESTUDIO DEL BIOFILM : Formación y Consecuencias. Curso de Biofilm, 2002-2003.
- Pincemin-Deliberos, S., & Rosas-y-Kifuri, M. (2014). Propuesta de estudio semiótico para los murales de Bonampak, Chiapas, México. *LiminaR. Estudios Sociales y Humanísticos*, XII (1), 17–35.
- Piñeirúa Menéndez, L. (2009). Más allá de las palabras... las formas. Una propuesta interpretativa para el estudio de arte prehispánico: el caso de El Palacio de Palenque. (Tesis de Doctorado). Facultad de Filosofía y Letras, Universidad Nacional Autónoma de México. 218 p.
- Printz, H. (1964). Die Chaetopholaren der Binnengewässer (eine systematische übersicht). *Hydrobiologia*, 24(1), 1-376.
- Ramírez Vázquez, M. (2012). Biodeterioro algal en monumentos históricos mayas de la zona tropical húmeda : Palenque , Yaxchilán y Bonampak (Chiapas , México).(Tesis de Doctorado). Facultat de Farmàcia, Universitat de Barcelona. 177 p.
- Rindi, F., Lam, D. W., & López-Bautista, J. M. (2009). Phylogenetic relationships and species circumscription in Trentepohlia and Printzina (Trentepohliales, Chlorophyta). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 52 (2), 329–339. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2009.01.009>
- Sánchez, Á., Flores-Cotera, L. B., Langley, E., Martín, R., Maldonado, G., & Sánchez, S. (1999). Carotenoides: Estructura, Función, Biosíntesis, Regulación y Aplicaciones. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 41, 25–34.
- Savković, Ž., Stupar, M., Unković, N., Knežević, A., Vukojević, J., & Grbić, M. L. (2021). Fungal Deterioration of Cultural Heritage Objects. En K. F. Mendes, R. o. de Sousa, & K. C. Mielke (Eds.), *Biodegradation Technology of Organic and Inorganic Pollutants*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.98620>
- Scheerer, S., Ortega-Morales, O., & Gaylarde, C. (2009). Microbial Deterioration of Stone Monuments-An Updated Overview. In *Advances in Applied Microbiology* (1st ed., Vol. 66, pp. 97–139). Elsevier Inc. [https://doi.org/10.1016/S0065-2164\(08\)00805-8](https://doi.org/10.1016/S0065-2164(08)00805-8)
- Servicio Meteorológico Nacional (2010). Mapas de climatología 1981-2010. Accesible en: <https://smn.conagua.gob.mx/es/climatologia/informacion-climatologica/mapas-de-climatologia-1981-2010>

Thompson, R. H., & Wujek, D. E. (1992). *Printzina* gen . nov . (Trentepohliaceae), including a description of a new species. *Journal of Phycology*, 28, 232–238.

Thompson, R. H., & Wujek, D. E. (1997). *Trentepohliales: Cephaleuros, Phycopeltis, and Stomatochroon Morphology, Taxonomy, and Ecology*. Science Publisher, Inc.

Torres Soria, P. (1991). *La ficoflora de la zona arqueológica de Palenque, Chiapas*. (Tesis de Maestría). Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. 116 p.

UNESCO (Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura). (1987). *World Heritage Centre 1992-2023 Lista del Patrimonio Mundial*. Accesible en <https://whc.unesco.org/es/list/>