



**Universidad Nacional Autónoma de
México**

**Facultad de Estudios Superiores
Iztacala**

**Caracterización polifásica de una cepa
Synechococcus-like del centro de
México**

Que para obtener el título de Biólogo

P R E S E N T A

Rocío Eloradana Olvera Carrillo

DIRECTORA DE TESIS

M. en C. Gloria Garduño Solórzano

**Los Reyes Iztacala, Estado de México a 12
de febrero del 2025**





Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

ÍNDICE

Agradecimientos.....	3
Resumen.....	5
Introducción.....	6
Generalidades.....	6
Pigmentos.....	6
Clasificación taxonómica.....	7
Género <i>Synechococcus</i> -like	8
Usos y aplicaciones.....	11
Antecedentes.....	13
Justificación.....	15
Objetivo general.....	15
Objetivos particulares.....	15
Materiales y métodos.....	16
Área de estudio.....	16
Exploración ficológica.....	18
Aislamiento y cultivo.....	19

Determinación taxonómica y tinciones.....	19
Microscopía de epifluorescencia.....	19
Microscopía electrónica de transmisión (MET)	19
Extracción y aislamiento de DNA.....	20
Amplificación del gen rRNA 16S.....	20
Análisis <i>in silico</i> de secuencias.....	21
Caracterización ambiental.....	22
Resultados.....	23
Discusión.....	30
Conclusiones.....	35
Literatura citada.....	36
Apéndice 1.....	43
Preparación del medio Zarrouk	
Apéndice 2.....	44
Preparación de Sudan III	
Preparación de Azul de Cresil	
Preparación de Tinción de Gram	
Apéndice 3.....	45
Secuencia del gen rRNA 16S	

AGRADECIMIENTOS

Quiero empezar dándole las gracias a Dios por darme paciencia, sabiduría, madurez y fuerza para seguir adelante, por no dejarme sola cuando más lo necesitaba y sobre todo por ponerme en el lugar y con las personas correctas.

Le agradezco profundamente a mi madre, Verónica Carrillo Flores por su perseverancia, por estar para mí en los momentos tanto felices como complicados, por siempre ser un ejemplo de mujer fuerte y trabajadora, por ser mamá y papá durante toda mi vida, por confiar en mí, por alentarme cada día a seguir creciendo profesionalmente y como persona, por corregirme cuando es necesario, por brindarme el soporte emocional y económico para terminar mis estudios, además de trasnochar y madrugar conmigo durante mi formación.

A mí pareja, Fatima Danae Palacios Avalos por siempre ser mi cómplice sin dudarlo, que con su cariño y apoyo me motiva a ser mejor persona además de seguir creciendo profesionalmente, por no dejarme rendir cuando ya no podía más y recordarme de lo que soy capaz. Por creer en mí cuando yo misma lo dudaba, por escucharme, ayudarme y estar a mi lado en los momentos de cansancio e incertidumbre.

A mis padrinos, Silvia Patricia Carrillo Flores y José de Gerardo Aguilar Romero, quiénes fueron un pilar importante en mi vida y me ayudaron durante mi formación.

Mi más alto reconocimiento a mi familia materna por su cariño y apoyo, que sin sus palabras y correcciones no hubiese podido lograr llegar hasta aquí. Gracias por su guía y todos sus consejos, los llevaré siempre conmigo para mi futuro profesional y personal.

Quisiera expresar mi más profundo agradecimiento a mi directora de tesis, la maestra Gloria Garduño Solórzano. Su experiencia, comprensión y paciencia contribuyeron a mi formación en el complejo y gratificante camino de la investigación. Su guía constante y su confianza en mis habilidades me han motivado a concluir esta meta. No tengo palabras para expresar mi gratitud y respeto por su inmenso apoyo durante este viaje.

A mis dos perritos Chiquis y Max, que durante tantos años han sido mi apoyo emocional y han estado conmigo en los mejores momentos, así como en los difíciles.

A la Facultad de Estudios Superiores Iztacala y a la UNAM por darme el privilegio y la oportunidad de explotar mis habilidades, por brindarme una amplia preparación a través de los docentes que han sido parte de mi camino universitario, a quienes les quiero agradecer por transmitirme los conocimientos, valores y principios necesarios para hoy poder estar aquí, reconozco también su tiempo, dedicación y compromiso, los cuales me permiten ser una profesional con un gran amor a la Biología e investigación.

Asimismo, quisiera expresar mi gratitud a los académicos involucrados en el desarrollo de mi investigación, de la FES Iztacala y Facultad de Medicina (UNAM), CIATEJ y la Secretaría del Medio ambiente y Recursos Naturales (CONAGUA). En principio a los docentes de la FES Iztacala: Dra. Martha Martínez García, por ser un ejemplo como investigadora, así como sus aportaciones constantes en este trabajo. Al Dr. Hugo Virgilio Perales Vela y la Mtra. Hayde Saldaña Esquivel por aportar el material biológico para esta investigación, así como el medio de cultivo requerido. Al Dr. Miroslav Macek por brindarme su apoyo en el trabajo de microscopia epifluorescente, además de sus valiosas observaciones. Al M. en C. Alejandro Cruz Monsalvo Reyes, por su apoyo en la secuenciación del material y los cursos de biología molecular que me permitieron concluir este trabajo. Al Dr. Jorge Campos Contreras por el análisis *in silico* de las secuencias. Al Biól. Daniel Sánchez Ávila quién en diversas ocasiones me ayudó, incluyendo la realización digital de los Mapas del ExLago de Texcoco.

A la Unidad de Microscopia de la Facultad de Medicina, a través de las Dras. Mónica Ramírez Vázquez e Irma Elena López Martínez por su labor en técnicas utilizadas en MET. Asimismo, al Dr. Nutan Prasad Rout de CIATEJ- Guadalajara por sus revisiones y comentarios.

Por último, a la Mtra. Citlalli Elizabeth Peraza Camacho, Directora General del Organismo de Cuenca aguas del Valle de México quién autorizó la visita guiada a la zona federal del Lago de Texcoco (CONAGUA oficio 1709). Así como, la atención personal de la Biól. Emma Cortés Romero, Responsable del área de difusión y educación ambiental.

RESUMEN

Las cianobacterias poseen una amplia diversidad morfológica y forman un grupo heterogéneo de procariotas que generalmente tienen la capacidad de realizar fotosíntesis oxigénica, sin embargo, algunos taxones son simbioses o parásitos. Hasta ahora, en el mundo se conocen 4,669 especies ubicadas en más de 866 géneros; su clasificación en principio se basó en la caracterización morfológica. Posteriormente, los estudios polifásicos han permitido delimitar complejos taxonómicos. Por tanto, esta contribución analiza bajo un enfoque polifásico la cepa *Synechococcus*-like proveniente del exLago de Texcoco, a través de los caracteres moleculares (16S), morfológicos, ultraestructura celular mediante las microscopías: de luz (ML), epifluorescencia y electrónica de transmisión (MET), así como condiciones limnológicas del hábitat. En el ML se observaron células solitarias o en pares, cilíndricas u ovales, rectas de 1.4-3 μm de diámetro por 1.6-5 μm de largo, con mucílago hialino fino; de color verde pálido, verde brillante o verde olivo. La Microscopía epifluorescente demostró que las células contienen clorofila a y lípidos; en MET se observaron: nucleoplasma, pared celular, espacio intermembranal, citoplasma que contiene los tilacoides situados longitudinalmente, ribosomas, gránulos de polifosfato y poli- β hidroxibutirato. También fue posible observar estados iniciales de la división celular con células hemisféricas y un evidente surco. La secuencia del 16S (939 pb) de la cepa IZTA 063 mostró 98.61% de identidad con *Cyanobacterium* sp CENA 527 aislada de Brasil, mientras *Cyanobacterium* sp. HL-69 fue de 98.39%, material proveniente de un lago hipersalino de USA; seguida de *Cyanobacterium stanieri* PCC 7202 de 98.07% aislado de Chad, África. La cepa IZTA 063, se ubicó en el clado del género *Cyanobacterium*, cuyo contenido de G+C fue de 52.4%. Por su parte, la hidrología del Exlago de Texcoco indicó un ambiente salino-alcálico con pH 9.0, donde prosperan las halófilas como es la cepa de *Synechococcus*-like IZTA 063. Este análisis con un enfoque polifásico conlleva al primer esfuerzo para delimitar una cianobacteria unicelular de un ambiente extremo.

Palabras clave: cianobacteria, *Cyanobacterium*, exLago de Texcoco, rRNA 16S, *Synechococcus*-like.

INTRODUCCIÓN

Generalidades

Las Cyanoprokaryota (= Cianobacterias), son representantes de los organismos más antiguos del planeta y poseen características comunes con las bacterias, además forman un grupo heterogéneo de procariotas con la capacidad de realizar fotosíntesis oxigénica, con excepción del género *Vampirovibrio*, parásito no fotosintético de *Chlorella* ubicado en la Clase Vampirovibriophyceae (Strunecký *et al.*, 2023). Las cianobacterias poseen una amplia diversidad morfológica, encontrándose formas: unicelulares, agregados, colonias, filamentosos simples y ramificados, así como pseudoparénquimas complejos (Garbisu *et al.*, 1999; Komárek, 2003; Singh *et al.*, 2017).

La mayoría son de vida libre, mientras otros establecen simbioses con hongos (líquenes) y con ascidias (tunicados). Con una variedad estructural, ecológica y fisiológica que pueden adaptarse a una amplia gama de condiciones; se desarrollan en ecosistemas, acuáticos tanto marinos, como epicontinentales; así como crecen en ambientes semi-acuáticos y terrestres (Whitton & Potts, 2000; Mundt *et al.*, 2001; Prasanna *et al.*, 2013). En México algunas especies, tienen la capacidad de crecer en hábitats extremos alcalinos o ácidos, o bien en temperaturas de 55-76°C; por ejemplo, ha sido citada *Synechococcus bigranulatus* como termófila y extremófila (López *et al.*, 2016), así como *S. nidulans* en ambientes extremófilos de Michoacán (Zaragoza & Mora, 2006).

Pigmentos

Los pigmentos producidos por las cianobacterias son: clorofilas, carotenoides y ficobiliproteínas (PBP). En la actualidad se conocen cuatro tipos de clorofilas en las cianobacterias (*a*, *b*, *d* y *f*) (Miyashita *et al.*, 2014; Komárek *et al.*, 2020). La primera, en general es dominante en numerosos taxones, mientras el género *Prochloron* se reconoce la presencia de clorofila *b*. Resultado de nuevos hallazgos, durante el cultivo de cianobacterias marinas y de estromatolitos de la bahía Shark, Australia, se descubrieron

en *Acaryochloris marina* dominancia de la clorofila *d* y por su parte *Halomicronema hongdechloris* produce clorofila *f* (Chen *et al.*, 2010; Miyashita *et al.*, 2014). Otros pigmentos corresponden a los carotenoides, que son moléculas tetraterpenoides, las cuales se clasifican en **carotenos**, moléculas no oxigenadas, mientras que las **xantofilas** corresponden a grupos oxigenados con propiedades hidrofílicas debidas a la presencia de hidroxilo y ceto en los anillos de su molécula. Por último, los ficobilisomas contienen c-ficocianina (PC), c-ficoeritrina (PE) y c-aloficocianina (APC) (Silva *et al.*, 2024).

La concentración y presencia de cada uno de estos pigmentos le permiten adaptarse a los medios donde se desarrollan, ambientes extremos o altas salinidades, entre otros. Por ejemplo, el análisis de los pigmentos de cianobacterias extremófilas del lago Chichonal, México mostró la presencia en diferentes concentraciones de: clorofilas a, β -caroteno y equinenona (Silva *et al.*, 2024).

Clasificación taxonómica

Guiry (2024) indicó que se conocen 4,669 especies de Cyanoprokaryota vivas en el mundo, de las cuales se distribuyen en 866 géneros. La mayoría son aeróbicas, cuyo ciclo vital requiere agua, CO₂ y luz, lo que les permite crecer en condiciones autótrofas, y en algunos casos en diferentes medios de cultivo (Forján-Lozano, 2008).

A lo largo del estudio de las cianobacterias su investigación se ha basado tradicionalmente en la caracterización morfológica. Sin embargo, la misma es imprecisa porque la plasticidad fenotípica de estos organismos conlleva a contener muchos taxones crípticos. Por ello, se requiere reconocer bajo el concepto polifásico que implica el uso de diferentes marcadores moleculares, en principio las regiones 16S, 23S e ITS, así como su estructura secundaria; además de la morfología, ultraestructura celular, condiciones fisiológicas y ecológicas de las poblaciones silvestres de interés (Iteman *et al.*, 2000, Lee *et al.*, 2014; Corrales *et al.*, 2017; Strunecký *et al.*, 2023).

Nuevas clasificaciones de las Cyanoprokaryota propuestas por Komárek *et al.* (2014) y Strunecký *et al.* (2023) ubican en el orden Synechoccales Hoffmann *et al.*, (2005), familia Synechococcaceae Komárek & Anagnostidis al género *Synechococcus* Nägeli 1849. Por su parte, para este taxón se conocen en el mundo 27 nombres válidos (Guiry & Guiry, 2024).

Género Synechococcus

La especie tipo del género *Synechococcus* corresponde a *S. elongatus* Nägeli, la cual fue descrita a partir de material del bentos de un lago cercano a Zürich, Suiza - 47°25'57"N, 8°29'34"E- (Nägeli, 1849). Asimismo, hasta el siglo XX fue citada en diferentes ambientes dulceacuícolas y marinos con varios morfotipos semejantes a este taxón (Komárek *et al.*, 2020).

Son células sencillas cilíndricas, ovales o baciliformes, rectas, curvas o sigmoides; de 1.5 a 20 µm de largo por 0.4 a 6 µm (11 µm) de diámetro, solitarias o en agregados, no forman colonias, con mucílago delgado, homogéneo y hialino fino. El contenido celular es homogéneo con tilacoides parietales, carboxisomas y distintos gránulos de reserva, sin aerotopos. Su color es verde pálido, verde brillante, verde olivo o rojo; contienen ficoeritrina y emite una intensa fluorescencia naranja, y como pigmento multiespecífico produce zeaxantina (Waterbury *et al.*, 1979; Scanlan, 2003; Guiry & Guiry, 2024). La división celular es por fisión binaria, perpendicular en un solo plano de división, usualmente hacen un surco. Las células hijas crecen antes de la siguiente división y se separan, pero se mantienen cercanas en hileras cortas (Komárek & Anagnostidis, 1999; Komárek, 2003).

El género *Synechococcus* fue delimitado como polifilético por Komárek *et al.* (2014); más tarde, Komárek *et al.* (2020) reconocen varios linajes con base 16S, a partir del estudio de 134 morfotipos y genotipos similares al género *Synechococcus*. En la tabla 1, se indican los diferentes órdenes, familias y géneros resultado de la reclasificación de *Synechococcus*-like; donde el orden Thermostichales incluye organismos termófilos del género *Thermostichus* que viven en ambientes con temperaturas mayores de 80°C.

El género *Thermosynechococcus*, ubicado en el orden Pseudanabaenales (Komárek *et al.*, 2020) fue reubicado en el orden Acaryichloridales (Strunecký *et al.*, 2023), ya que corresponden a morfotipos unicelulares o con filamentos cortos de dos o cuatro células, de ambientes termales de 20-70°C, además de la posición filogenética observada por Komárek *et al.* (2020).

Por su parte, el orden Synechococcales incluye la familia Prochlorococcaceae donde se localizan morfotipos unicelulares con tilacoides parietales de 1 a 4, esta familia contiene tres géneros del picoplancton tanto dulceacuícola (*Cyanobium*) como de ambientes marinos oligotróficos (*Parasynechococcus* y *Prochlorococcus*). Para la familia Synechococcaceae incluye *Synechococcus* Nägeli; por último en la familia Geminocystaceae donde se reubican taxones planctónicos marinos muy pequeños de los géneros *Picosynechococcus* y *Geminocystis*; además de dos nuevos géneros: *Cyanobacterium* y *Annamia* (Strunecký *et al.*, 2023; Guiry & Guiry, 2024).

A partir de las cepas de *Synechococcus* sp. (PCC 7202 y ATCC 29140) provenientes de charcos alcalinos de Chad, África y de charcos de Francia, fueron reubicadas en *Cyanobacterium stainerii*, especie que tuvo limitaciones en su validación porque Rippka & Cohen-Bazire (1983) publicaron este epíteto a partir de un cultivo vivo, sin resguardar material biológico permanente en una colección de referencia ni lo conservaron en estado metabólicamente inactivo como lo exige el artículo 8 del código de nomenclatura de procariontes. Por tanto, Oren *et al.* (2022) validan el nombre agregando las omisiones, además de la información genética del mismo. Paralelamente, señalan que son géneros que se confunden fácilmente con *Cyanobium* y *Synechococcus* solo por su morfología, aunque difieren en la organización de los tilacoides, así como en la composición del DNA para G+C que oscila entre 37.5 - 38.7%.

Tabla 1. Clasificación de las diferentes jerarquías taxonómicas donde se incluyen *Synechococcus*-like, con base en la propuesta de Strunecký *et al.* (2023)

Orden	Familia	Género
Thermotichales Komárek <i>et al.</i> , 2020	Thermotichaceae Komárek <i>et al.</i> , 2020	<i>Thermotichus</i> Komárek <i>et al.</i> , 2020
Acaryichloridales Strunecký <i>et al.</i> , 2023	Thermosynechococcaceae Komárek <i>et al.</i> , 2020	<i>Thermosynechococcus</i> Katoh <i>et al.</i> , 2001
Synechococcales Hoffmann <i>et al.</i> , 2005	Synechococcaceae Komárek <i>et al.</i> , 1995	<i>Synechococcus</i> Nägeli, 1849
	Prochlorococcaceae Komárek & Strunecký, 2020	<i>Cyanobium</i> Rippka <i>et al.</i> , 1983 <i>Prochlorococcus</i> Chisholm <i>et al.</i> , 1992 <i>Parasynechococcus</i> Coutinho, Tschoeke, Thompson <i>et al.</i> , 2020
	Geminocystaceae Tuji <i>et al.</i> , 2021	<i>Picosynechococcus</i> Komárek, Johansen <i>et al.</i> , 2020 <i>Cyanobacterium</i> R. Rippka & G. Cohen-Bazire, 2022 <i>Geminocystis</i> Korelusová, Kaštovský & Komárek, 2009 <i>Annamia</i> Nguyen, 2013 <i>Microcrocis</i> Richter, 1882

En México se han registrado especies de *Synechococcus* en diferentes ambientes de agua dulce (Novelo & Tavera, 2024), así como en USA en hábitat extremos como el Parque Nacional de Yellowstone (Edwards *et al.*, 1968). También son componentes del

picoplancton de océanos tropicales y subtropicales en condiciones oligotróficas (Raven, 1998; Hernández-Becerril y Pastén-Miranda, 2015).

Usos y aplicaciones

Dentro de los factores abióticos que regulan su crecimiento, la luz es una variable importante en el cultivo de cianobacterias al ser utilizadas para la producción de compuestos de valor comercial (Becker, 1994; Betancourt, 1997; Yun & Park, 1997, 2001; Jeon *et al.*, 2005).

En cuanto al aprovechamiento de cianobacterias, se han desarrollado avances biotecnológicos que han demostrado el potencial que poseen en diversas áreas, convirtiéndose así en un grupo de alto valor económico; por ello son ampliamente estudiadas con varios propósitos y se utilizan como modelos experimentales (Ventosa & Nieto, 1995; Singh *et al.*, 2017). Entre las aplicaciones se encuentra la producción de biomasa como una fuente de compuestos químicos, debido a que se confirman como una fuente de sustancias de uso industrial y farmacológico de gran valor económico; tales como: clorofila, carotenoides, ficobiliproteínas, proteínas, exopolisacáridos y otros metabolitos biológicamente activos (Paniagua-Michel & Sasson, 1995; Philippis & Vincenzini, 1998; Hejazi & Wijffles, 2004; García-González *et al.*, 2005; Dayananda *et al.*, 2007).

Algunas cianobacterias producen compuestos de importancia biotecnológica como los poli- β -hidroxialcanoatos (PHAs), con sus derivados poli- β -hidroxibutirato (PHB). Estas sustancias de reserva son excelentes alternativas por sus características de maleabilidad y termoplasticidad para remplazar el uso de los plásticos derivados del petróleo, sumado a que son materiales biodegradables no tóxicos al ambiente (Amaro *et al.*, 2019; Serrano-Torres, 2023).

La producción de metabolitos de interés económico en cultivos de *Synechococcus* sp. está regulada por la irradiancia, obteniéndose una buena producción de biomasa en alta radiación fotosintética activa a $156 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Para la producción de clorofila, proteínas y lípidos, esta aumenta a bajas e intermedias irradiancias como es $78 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$; mientras que la producción de carotenoides y exopolisacáridos tiene mejores rendimientos a altas irradiancias (Rosales-Loaiza *et al.*, 2008). Un ejemplo corresponde a la cepa *Synechococcus* sp. MA 19, quien produce 275 de PHB (w/w) bajo condiciones de 50°C (Nishioka *et al.*, 2001). También, diversos estudios han concluido que las cianobacterias, poseen el potencial de acondicionar suelos y preservar el ambiente, convirtiéndose en los candidatos más adecuados para el desarrollo de prácticas agrícolas sostenibles, reduciendo así la dependencia de fertilizantes (Kishore & Bimal, 2010).

El uso de cianobacterias como biofertilizantes en campos de cultivo por su capacidad de fijar N_2 se posiciona como una alternativa ecológicamente positiva, que podría sustentarse puesto que en su producción se puede utilizar agua no potable, lixiviados orgánicos, CO_2 atmosférico y trabajarlo en espacios reducidos en sistemas de fotobiorreactores (Prasad & Prasad, 2001; Borowitzka, 2005; Sahu *et al.*, 2012). Además, desempeñan un papel esencial en el mantenimiento de la fertilidad de los suelos a largo plazo, ya que durante su ciclo de vida incrementan la materia orgánica y segregan compuestos bioactivos como: fitohormonas, vitaminas y aminoácidos, los cuales promueven el crecimiento y desarrollo de las plantas. Igualmente, liberan metabolitos secundarios que ayudan al control biológico de enfermedades bacterianas y fúngicas en los cultivos. A su vez, se ha reportado que las cianobacterias contribuyen a la conversión de formas de fósforo insolubles asimilables para las plantas (Sahu *et al.*, 2012; Khadatare & Suryawanshi, 2016).

Antecedentes

El material biológico procede de una zona emblemática del país; antes del siglo XIX la cuenca del Valle de México contenía una gran zona lacustre donde los lagos: Zumpango, Xaltocan, Texcoco, Xochimilco y Chalco permanecían interconectados entre ellos. A lo largo del tiempo, la tala inmoderada de los bosques y el envío de grandes volúmenes de agua hacia afuera de la cuenca provocaron notables cambios en su hidrología, que, sumado al crecimiento urbano, originó diferentes modificaciones en su paisaje natural. Algunas de las contingencias ambientales que se han presentado corresponden a inundaciones de la Ciudad de México en época de lluvia; la desecación del vaso hídrico y la captación de aguas residuales de origen doméstico, que causó durante los años sesenta tolveneras durante la época de estiaje, provocando problemas de salud pública por enfermedades respiratorias y gastrointestinales a la población aledaña. De la cuenca original aún subsisten humedales del lago de Texcoco, además de los lagos Xochimilco y Zumpango (Departamento del Distrito Federal, 1975 y Biol. Cortés-Romero *com. per.*).

Está área tiene una historia rica y una diversidad natural única, que ha presentado una notable transformación, así como es testigo de cambios del paisaje natural, cultural y urbano del ecosistema lacustre, cuya salinidad ha provocado suelos alcalinos con un pH básico donde solo crecen plantas halófitas. Este tipo de suelo se forma por la descomposición de minerales, como los feldespatos sódicos y potásicos que abundan en las rocas del área. No menos importante es el alto valor histórico-cultural, el nombre y fundación de México-Tenochtitlán y el Escudo Nacional se concibieron desde los elementos del antiguo Lago de Texcoco (Conanp, 2021).

El lago tiene condiciones limnológicas únicas, contiene cloruro de sodio (NaCl), sulfato de sodio (Na₂SO₄) y sulfito de sodio (Na₂SO₃); condiciones hidrológicas de pocos lagos en el mundo (San Román *et al.*, 2013). En los cuerpos de agua temporales han sido citadas las siguientes cianobacterias y diatomeas: *Arthrospira platensis*, *Anabaena* spp., *Chroococcus turgidus*, *Nodularia* sp., *Oscillatoria* spp., *Phormidium tenue* y *Gomphonema* spp. (Conanp, 2021).

La taxonomía tradicional sobre el género *Synechococcus* reconoce para Europa 15 especies, además, fuera del Viejo Continente, nueve especies (Komárek & Anagnostidis, 1999; Hauer & Komárek, 2021). Asimismo, database algae, señala 27 especies válidas para el mundo, con 46 sinónimos y otros taxa inciertos (Guiry & Guiry, 2024); sin olvidar que probablemente existen especies crípticas no descritas aún. Por su parte, la ultraestructura con microscopía electrónica de transmisión (MET) de *Thermotichus lividus* (Copeland) Komárek & Strunecký 2020 = *Synechococcus lividus* Copeland, cepa termofílica aislada del Parque Nacional de Yellowstone, USA; fue investigada por Edwards *et al.* (1968); donde la pared celular reveló similitudes con las bacterias Gram negativas; los ribosomas predominaron en la región nuclear central; los tilacoides parietales y casi paralelos entre sí a lo largo de la membrana plasmática. También se observaron diferentes tipos de inclusiones celulares, como gotas de lípidos, cuerpos de polifosfato (o volutina) y carboxisomas. Por otra parte, Komárek *et al.*, (2020) estudian filogenéticamente el género *Synechococcus*-like y reconocer diferentes linajes.

Estudios sobre la diversidad del género *Synechococcus* en México, indican el registro de diez especies bajo el enfoque de la taxonomía tradicional (Novelo & Tavera, 2024). *S. aeruginosus*, *S. ambiguus*, *S. bigranulatus*, *S. cedrorum*, *S. elongatus*, *S. epigloeicus*, *S. nidulans*, *S. roseopurpureus*, *S. socialis* y *S. vantieghemi*, provenientes de ambientes extremos, lagos y suelos de: Jalisco, Puebla, Tabasco, Veracruz, Estado de México, Ciudad de México, Quintana Roo, Michoacán, Oaxaca, Yucatán y Chiapas (Novelo, 1985; Ávila, 1989; Lara *et al.*, 1996; López-Cortés, 1998; Novelo, 1998; Macek *et al.*, 2002). Asimismo, Barrientos-Medina *et al.*, (2004), registraron por primera vez el género en cenotes de la península de Yucatán. Otro aspecto incluye aportes sobre su fisiología, donde se ha investigado la cuantificación de pigmentos en la biomasa de *Synechococcus* en aguas del Pacífico mexicano (Díaz y Maske, 2000).

Justificación

Los estudios de taxonomía tradicional sobre la diversidad biológica del género *Synechococcus* en México nos indican la presencia de 10 especies. Sin embargo, no hay información de índole genético para corroborar estos taxa por lo cual, esta información permitirá sumar datos que permitan realizar la corroboración taxonómica correspondiente.

Debido a la importancia y sus posibles aplicaciones de las cianobacterias como recurso biológico, cada vez aumenta el interés por el desarrollo de técnicas para su cultivo, al igual que la necesidad de una determinación taxonómica robusta; por lo que es relevante que, seguido del aislamiento y mantenimiento de las cepas, se realice la determinación taxonómica polifásica. En particular, la cepa *Synechococcus-like*, aislada del lago de Texcoco, Estado de México, la cual carece de un estudio polifásico que permitan corroborar su estatus taxonómico y su relación filogenética.

Objetivo general

Analizar bajo un enfoque polifásico la cepa de *Synechococcus-like*, aislada del exLago de Texcoco, Estado de México para confirmar su estatus taxonómico y futuro uso biotecnológico.

Objetivos particulares

- Aislar y cultivar *Synechococcus-like* a partir de material biológico recolectado en los humedales del exLago de Texcoco, para incrementar los recursos genéticos de cianobacterias silvestres de México a través del cepario de la FES Iztacala, UNAM.
- Describir morfológicamente, bajo el concepto de especie, el material biológico de estudio a través de las microscopías: de luz (ML), epifluorescencia y electrónica de transmisión (MET) para sumar caracteres taxonómicos en la delimitación taxonómica.
- Construir a partir de las secuencias 16S de la cepa *Synechococcus-like* con base en el concepto de especie filogenética, la filogenia del material mexicano, para delimitar su estatus taxonómico.
- Registrar las condiciones limnológicas del hábitat para su integración polifásica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio. El Lago de Texcoco es un humedal lacustre, ubicado entre los siguientes municipios del Estado de México: Texcoco, Atenco, Chimalhuacán, Ecatepec de Morelos y Nezahualcóyotl (Fig. 1D), entre las coordenadas 19°00' - 20°00' latitud N y 98°15' - 99°30' longitud O, cuenta con una superficie de 14 mil Ha en una cota de 2 700 m s.n.m. Hay dos tipos de climas; el predominante es semiárido (BS₁kw) templado, con verano cálido, donde la temperatura máxima alcanza 32°C entre abril y junio. También, en la porción noroeste el clima es seco templado C(wo) y templado subhúmedo en los municipios de Chiconcuac; con una temperatura promedio de 15°C, una máxima extrema de 33°C y una mínima de 11°C (Conanp, 2021).

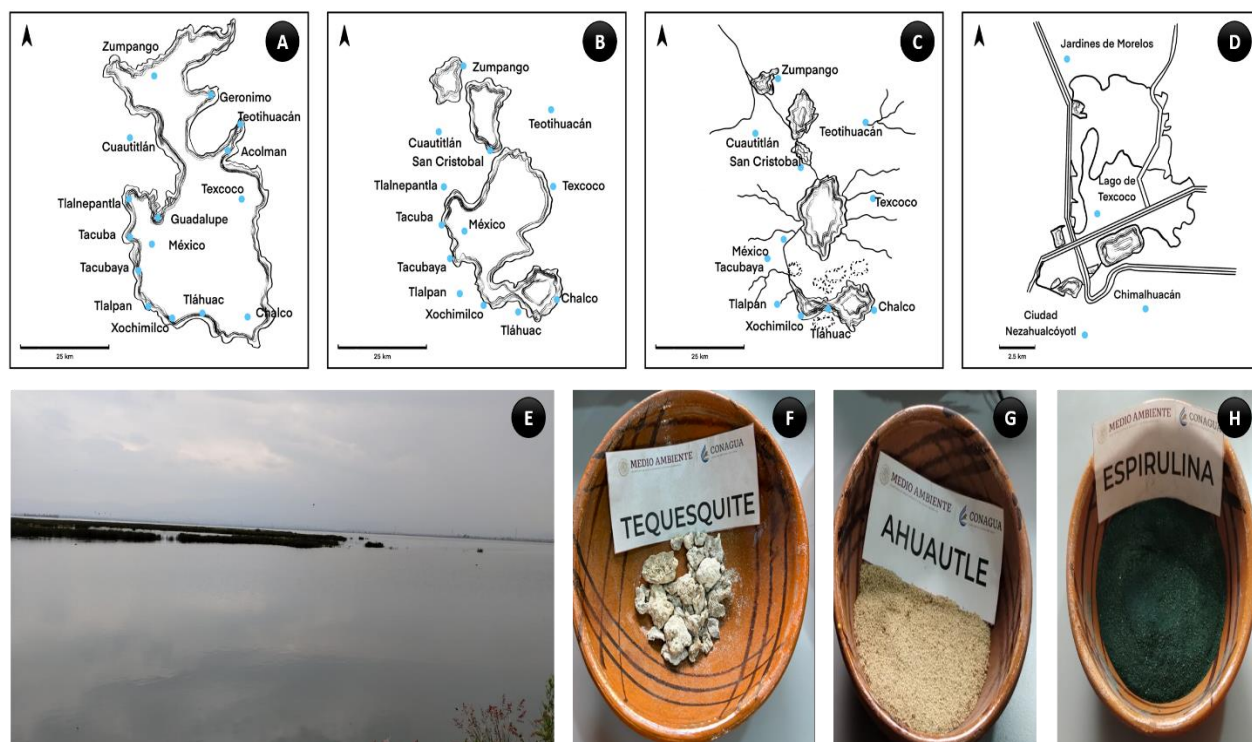


Figura 1. A-B) Cambios de la zona lacustre de la Cuenca del Valle de México durante el siglo XVII y XVIII, C) Panorama actual de la zona lacustre de la cuenca del Valle de México (Departamento del Distrito Federal, 1975), D) ubicación geográfica del Lago de Texcoco (Google maps), E) Lago artificial Nabor Carrillo, F) tequesquite, G) ahuatele o “huevo de mosquito”, H) espirulina (Imágenes originales: E-H, Permiso CONAGUA- oficio 1709).

Actualmente, hay varias zonas: una corresponde al vivero donde se producen las plantas halófitas, *Tamarix ramosissima*, para la rehabilitación de las áreas desérticas que provocaban tolvaneras (Fig. 2A), otra es el cauce de recepción de aguas residuales del sur de la Ciudad de México, donde las obras hidráulicas captan 1,500 l/min para tratamientos biológicos en lagunas de oxidación (Fig. 2B-E) y lodos activados (Fig. 2C). También, a partir del hundimiento diferencial del subsuelo, previo a la preparación de la obra hidráulica se construyó el vaso regulador “Lago artificial Nabor Carrillo” para la recuperación acuícola de la zona, conformado de 10 Km² (Fig. 2F); y recientemente, el Parque Ecológico Lago de Texcoco (PELT), área trazada en 5 mil Ha, donde era el sitio para la construcción del nuevo aeropuerto de la Ciudad de México, el cual fue suspendido tras la declaración como Área Natural Protegida durante marzo de 2022.



Figura 2. Zonas actuales del Área Natural Protegida: A) vivero B) recepción de aguas residuales con cribas C) lagunas facultativas D) efluente del agua tratada E) lodos activados, F) humedales relictos del ANP (Imágenes originales, permiso CONAGUA, oficio 1709).

Para este parque se han construido plataformas que rompen la capilaridad de las sales, para apoyar la restauración ecológica, recarga del acuífero y conservación del hábitat; donde contiene andadores, miradores, áreas deportivas, ciclopistas y estacionamiento (Echeverría y Lestrade, 2024). Está área fue decretada como Área Natural Protegida

(ANP) denominada “Área de Protección de Recursos Naturales Lago de Texcoco” (Conanp, 2021).

Está ANP alberga una variedad de ecosistemas terrestres y acuáticos: como vegetación halófila, ciénegas, tulares y el lago Nabor Carrillo, construido en los 80’s bajo la dirección de la CONAGUA para el tratamiento de aguas residuales del sur de la Ciudad de México. La diversidad registrada es de 755 especies, de ellas 107 especies son endémicas. Representa un espacio vital para las aves acuáticas migratorias de Norteamérica durante el otoño, por ello denominado sitio RAMSAR No. 114 (el cual fomenta la conservación y el uso racional de los humedales) e incluido en AICA MX001 para sumar esfuerzos en la restauración (Conanp, 2021).

Es el único regulador hídrico y climático de la zona poniente de la Ciudad de México e importante de las zonas residenciales vecinas, proporciona materias primas para diferentes usos. Desde la época prehispánica, se ha consumido la cianobacteria “espirulina” *Arthrospira geitleri* -Fig. 1H- (Basurto-Peña, 2009), ahuate – Fig. 1G – (huevos de hemípteros de Corixidae y Notonectidae) y tequesquite – Fig. 1F- (conformado principalmente por bicarbonato de potasio, sulfato de sodio y arcilla), entre otros.

La vegetación que se desarrolla en el ANP corresponde a: 1) Nopalera con elementos de Selva Baja Caducifolia, 2) vegetación halófila terrestre primaria, 3) vegetación halófila terrestre introducida, 4) vegetación acuática enraizada y flotante, 5) vegetación halófila con cuerpos de agua temporales y 6) Tular.

Exploración Ficológica. El material biológico utilizado fue recolectado durante el año 2014 por los Doctores Hugo V. Perales Vela (FES Iztacala) y Giuseppe Torzillo (Associated Researcher at CRN and prof Emeritus University of Costa Rica), en las coordenadas geográficas 19° 51’ 87” N y 99° 00’ 91” O, altitud de 2,700 m s.n.m; cercano al Parque Ecológico Lago de Texcoco, Estado de México.

Aislamiento y cultivo. Se realizaron cultivos de la cepa *Synechococcus-like* (IZTA 063) en medio líquido a $25 \pm 1^\circ\text{C}$. En principio, en frascos de 125 ml con 50 ml de medio Zarrouk (1966) -apéndice 1-, pasando a frascos de 250 ml con 150 ml de medio, 500 ml con 250 ml de medio, hasta frascos de 1 L con 700 ml de medio Zarrouk. Cada escala fue durante dos semanas bajo iluminación a $85 \mu\text{E}$. Los cultivos por lotes fueron inoculados con pre-cultivos stock con una OD750 (Singh *et al.*, 2011). Para obtener un cultivo unialgal, se agregó $0.1 \mu\text{g}$ de ciclohexamida para evitar el crecimiento de organismos eucariontes (Rout *et al.*, 2013).

Determinación taxonómica y tinciones. El material biológico se revisó bajo un microscopio óptico marca Leica® con cámara incorporada de 20 megapíxeles, en las diferentes fases de su curva de crecimiento. Para lo cual se realizaron preparaciones húmedas con tinciones según los siguientes procedimientos: a) Azul de Cresil (Kumar & Sing, 1979) para la tinción de mucílago, b) Tinción de Gram para la diferenciación de pared celular (Gram positivas/negativas), c) Sudan III para la tinción de cuerpos lipídicos (Gaviño de la Torre *et al.*, 1999). Para la determinación a partir de los caracteres morfológicos se consultaron las obras de Komárek & Anagnostidis (1999), Komárek (2003) y Komárek *et al.*, (2020).

Microscopia de epifluorescencia. A partir de la cepa IZTA 063, se obtuvo el material biológico, el cual fue concentrado en una membrana de policarbonato de $0.2 \mu\text{m}$ y montado en aceite de inmersión Olympus, para observarse en el microscopio de epifluorescencia marca Leica modelo DM LB; la fluorescencia óptima provino del conjunto de filtros Cy3: A DAPI, Y3 ficobilinas, I3 clorofila a (excitación verde y observación de luz roja). También se utilizó como fluorocromo el DAPI, para teñir el material nuclear de las células (Macek *et al.*, 2009).

Microscopia electrónica de transmisión (MET). A partir de una alícuota del cultivo, la muestra se procesó de la siguiente forma; para obtener el paquete celular se centrifugó a 3500 rpm por ocho min en cada uno de los pasos. Primero fueron preservadas con glutaraldehído al 6% durante un día. A continuación, la muestra se lavó con buffer de

fosfatos 0,05 M (pH 7,2); después se realizó una post-fijación con tetraóxido de Osmio al 2% por 2 h, enseguida se lavó con el mismo buffer a temperatura ambiente durante 2 h. La deshidratación de las células se obtuvo con una serie gradual de isopropanol de 60, 70, 80, 90 y 100%. Posteriormente se incluyó en resina Araldita 6005 para obtener los cortes finos con un ultramicrotomo modelo (EM UC7) con navaja punta de diamante de tamaño 1.5, ángulo 45° y con una velocidad de 1 mm/s. Se realizaron cortes de 110 nm, los cuales fueron contrastados con acetato de uranilo al 4% (Bohunická *et al.*, 2015) y citrato de plomo al 0.4%; finalmente el material fue observado en un microscopio electrónico de transmisión marca ZEISS, modelo Crossbeam 550, a un voltaje de 15.00 kV, con aumentos independientes de 10, 000 a 60 000 X. Equipo ubicado en la Unidad de Microscopia de la Facultad de Medicina, UNAM, bajo la asesoría de las doctoras Mónica Ramírez Vázquez e Irma Elena López Martínez.

Extracción y aislamiento de DNA. Para la extracción de DNA se utilizó el kit “PowerPlant Pro DNA Isolation”, marca MOBIO Laboratories, Inc., siguiendo el protocolo del fabricante. Con un espectrofotómetro NanoDrop™ ONE se verificó la concentración de ácidos nucleicos y pureza de la extracción del DNA.

Amplificación de 16S rRNA. Para amplificar el gen 16S rRNA de la cepa *Synechococcus-like*, se utilizaron los cebadores, 16S3-F 5' TGY GGC TGG ATC ACC TCC TT 3' (Baurain *et al.*, 2002), 23S3R 5' ACC GTT AGC CCT TTG TAG CT 3', 16S CYAAR 5'- TTC ACY GCA GTA TGC TGA CC-3', 16S CYAF- 5'-AGC AGT GGG GAA TTT TCC G-3' descritos por Pineda *et al.* (2011) con los cuales, por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se amplificaron fragmentos de aproximadamente 750 pb correspondientes al 16S.

Para la amplificación del gen, el PCR se realizó en un volumen de reacción de 20 µl, con 20 ng de DNA genómico (Neilan *et al.*, 1995), utilizando un termociclador automático programado con un precalentamiento durante 4 min a 94°C, seguido de 35 ciclos de 30 seg a 94°C, 30 seg a 55°C y 30 seg a 72°C, una extensión final de 7 min a 72°C antes de mantener a 4°C, indefinidamente. Todos los productos de PCR fueron visualizados

por electroforesis, a 70 volts durante 40 min., en gel de agarosa 1% (p/v), usando buffer TBE al 1X. Donde la muestra fue cargada con 1 µl de MIDORI GREEN y se utilizó como referencia el marcador de peso molecular CSL-MDNA-1 Kb PLUS DNA LADDER RTU.

Los productos de PCR se amplificaron con la enzima AccuPower® PCR PreMix, marca Bioneer® para los genes específicos 16S rRNA con 939 pb. Los productos de PCR fueron purificados a través del GenElute™ Gel Extraction Kit, marca Sigma-Aldrich®. Los productos purificados se secuenciaron con el método de Sanger usando los mismos cebadores, directo y reverso, utilizados en la amplificación de PCR. Las muestras fueron secuenciadas en las instalaciones del Instituto de Biología, UNAM.

Análisis in silico de secuencias. Las secuencias se editaron con el programa BioEdit, la edición se llevó a cabo a partir de las secuencias directa y reversa de cada una de las regiones parciales de la región 16S. Una vez editadas las secuencias se hicieron búsquedas en BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) de la National Center for Biotechnology Information (NCBI) para encontrar secuencias homólogas de nucleótidos, donde se excluyeron cepas de secuencias recurrentes y no cultivadas.

Usando el programa Geneious 9.1.8 se alinearon las secuencias mediante método de Geneious y se construyeron los árboles filogenéticos por medio del análisis de Máxima Verosimilitud, el cual fue probado usando 16 secuencias, 10,000 réplicas bootstrap y el modelo Tamura & Nei (Tamura & Nei, 1993; Tamura *et al.*, 2021). Para el análisis de inferencia Bayesiana se utilizó el modelo GTR + Gamma, usando 16 secuencias, se corrieron un millón cien longitudes de cadena. Para ambos análisis se consideró como grupo externo a *Microcrocis geminata* MC10.

Caracterización ambiental. Las condiciones limnológicas fueron registradas durante una visita reciente de la autora, 4 de octubre del 2024; donde la temperatura fue registrada con un termómetro marca Brannan, el pH se midió con un potenciómetro marca Cole Parmer, modelo Digi-sense (Fig. 3B), la conductividad eléctrica con un conductímetro marca Hanna modelo HI98312, la radiación solar se midió con un luxómetro digital modelo LX1010B (Fig. 3A) y la humedad con un termohigrómetro manual modelo TH400- Fig. 3F- (Garduño-Solórzano *et al.*, 2024). La alcalinidad y dureza total mediante titulometría con anaranjado de metilo y negro de eriocromo, respectivamente – Figs. 3D-E (APHA *et al.*, 1995). Por último, las coordenadas se registraron a través de la aplicación GPS (Fig. 3C).

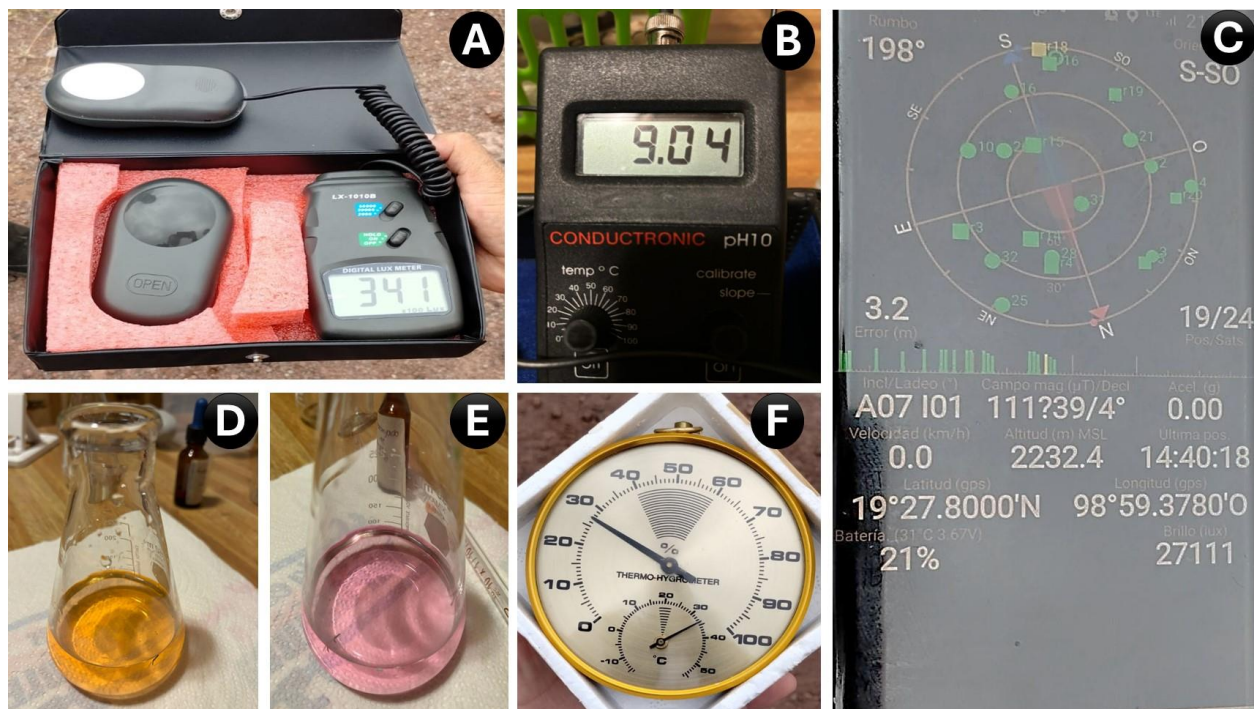


Figura 3. A) luxómetro digital modelo LX1010B, B) registro del pH con el equipo utilizado, C) aplicación GPS para registrar las coordenadas geográficas, D-E) Pruebas titulométricas para alcalinidad y dureza total, respectivamente, F) termohigrómetro manual modelo TH400.

RESULTADOS

Aislamiento y cultivo: Se logró obtener un cultivo unialgal de *Synechococcus*-like en medio líquido Zarrouk (Fig. 4A), el cual se anexo al cepario de microalgas de la FES Iztacala bajo las condiciones previamente descritas.

Determinación taxonómica y tinciones: El aspecto general de *Synechococcus*-like en microscopio óptico es ilustrado con la (Figs. 4B - C) donde se observan células procariotas solitarias o en pares, cilíndricas u ovaes, rectas de 1.4-3 μm de diámetro por 1.6-5 μm de largo, con mucílago hialino fino. El contenido celular homogéneo, con algunos gránulos. La coloración puede ser verde pálido, verde brillante o verde olivo. La división celular es en el mismo plano, por fisión binaria y perpendicular al eje longitudinal de la célula; las células hijas crecen antes de la siguiente división y se separan, también pueden mantenerse cercanas en hileras cortas; al realizar las preparaciones húmedas se encontró que al teñir las células con Azul de Cresil (Fig. 4B), se logra visualizar un mucílago hialino fino que envuelve a las células en pares o aglomeraciones. Por otra parte, la tinción de Gram permitió diferenciarlas como Gram negativas gracias a su coloración rosada (Fig. 4C). Para la tinción por Sudan III, no fue posible visualizar los cuerpos lipídicos teñidos de color amarillo.

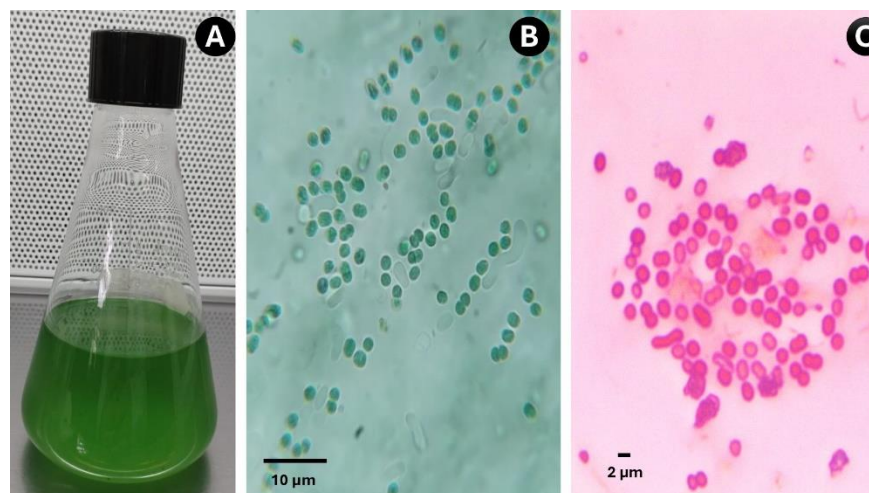


Figura 4. A) Cultivo: IZTA 063/ Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM, B) tinción de Azul de Cresil a partir de material en cultivo, C) Tinción de Gram negativa, a partir del cultivo.

Microscopia epifluorescente. Las observaciones indican que las células contienen clorofila a (rojo) y se agregan en pares o aglomeraciones embebidas en mucílago (Fig. 5 a, b, c); así mismo se pudo distinguir el material nuclear (azul) y los lípidos (amarillo) contenidos dentro de la célula, como se muestra en la Fig. 5d.

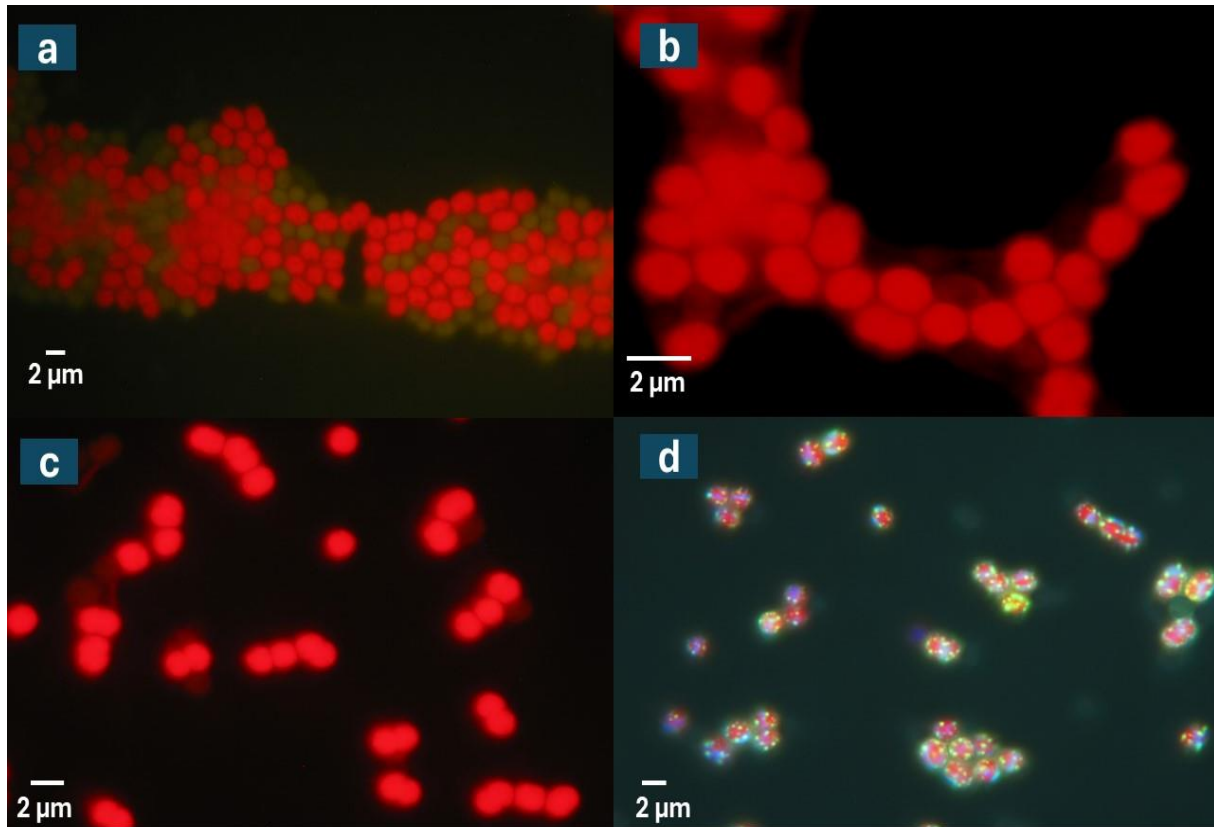


Figura 5. Imágenes de Microscopia de epifluorescencia. a-b) Células agregadas en un mucílago común con clorofila a, c) células individuales y formando pequeñas cadenas de dos o tres células, d) células con clorofila a (rojo) y lípidos (amarillo) y material nuclear (azul).

Microscopia electrónica de transmisión (MET). Los resultados de microscopía mostraron células solitarias de forma esférica o ligeramente ovaladas de 1.6-3.4 µm de largo por 1.4-3.0 µm de ancho, donde se observan diferentes estructuras: pared celular, nucleoplasma, ribosomas, tilacoides, gránulos de polifosfatos y PHB. También fue posible observar estados iniciales de la división celular con células hemisféricas y un evidente surco (Figs. 6D, 7B).

Pared celular: fue localizada entre la membrana plasmática y el mucílago, donde aparece como una estructura multicapa de LI a LIV (Fig. 6D).

Nucleoplasma. Las células fueron fijadas con tetraóxido de osmio y teñidas con acetato de uranilo al 4% que evidencia el nucleoplasma de un poco más de 800 nm diámetro, conformado de fibras de DNA (Figs. 6B, 7 A-B).

Ribosomas. Pequeños organelos circulares altamente electrodensos, presentes en el citoplasma (Figs. 6 C-D).

Tilacoides. Estructuras celulares conformadas por vesículas aplanadas, arregladas en sección longitudinal paralelamente (Figs. 7 A-B). Además, entre el espacio intertilacoidal, se localizan pequeños gránulos electrodensos agregados y dispersos que sugieren corresponden a los pigmentos fotosintéticos, organizados en **ficobilisomas** (Figs. 6 B-C, 7B).

Inclusiones citoplasmáticas. Se observa en los extremos polares del centroplasma, gránulos de polifosfato o metacromáticos. Estos son altamente opacos a los electrones, negros después de la fijación del Osmio, pero también transparentes, cuando el polifosfato es degradado (Figs. 6D, 7B). Por último, se localizan sitios blancos correspondientes a sustancias de reserva PHB (Figs. 6B, 7B).

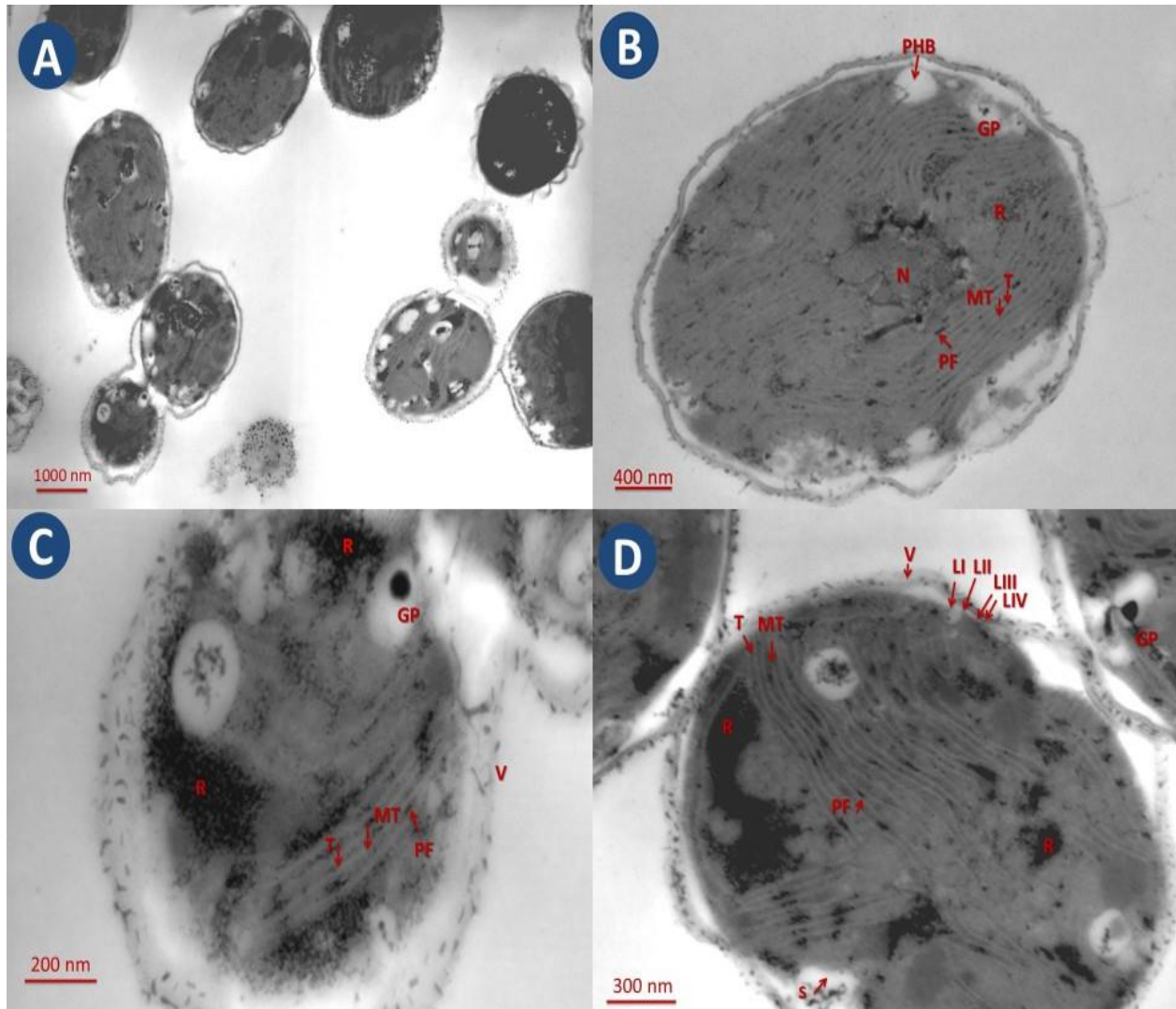


Figura 6. Sección longitudinal: A) Vista panorámica de células en diferente estado de desarrollo, así como el número variable de gránulos en la célula, B) citoplasma con tilacoides (T) los cuales contienen pigmentos fotosintéticos (PF) y sus membranas tilacoidales (MT) que los separan entre sí, ribosomas (R), gránulos de polifosfato (GP), sustancias de reserva PHB (PHB) y el nucleoplasma (N), C) vaina (v), tilacoides (T), fotosintéticos (PF), membranas tilacoidales (MT), ribosomas (R) y gránulos de polifosfato (GP), D) vaina (v), la pared celular que contiene varias capas (LI a LIV), tilacoides (T), pigmentos fotosintéticos (PF) y membranas tilacoidales (MT). Ribosomas (R), nucleoplasma (N), surco (S) y gránulos de polifosfato (GP).

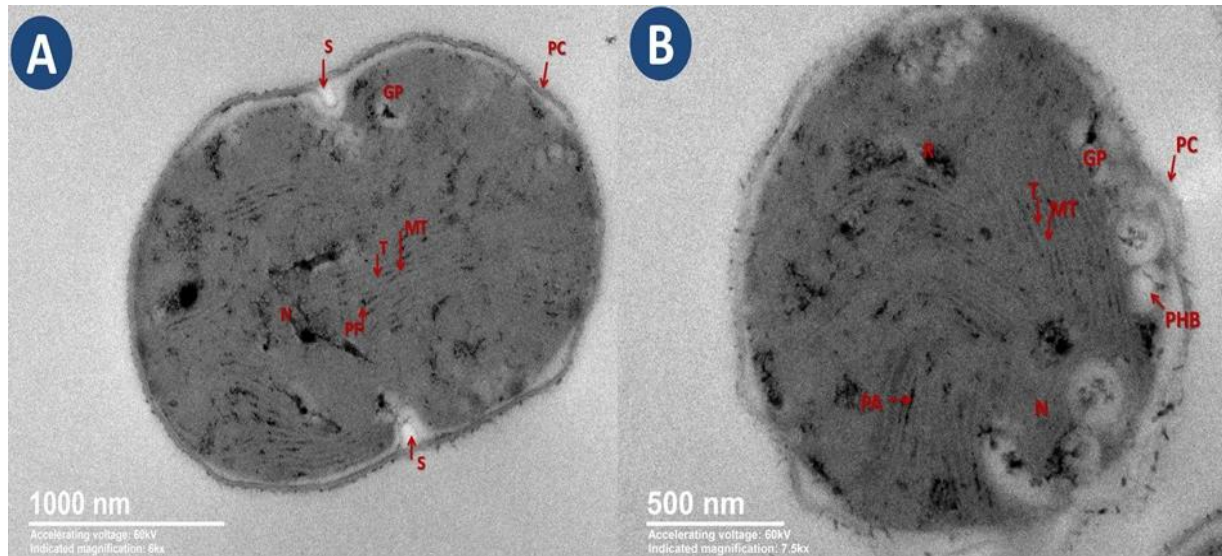


Figura 7. Sección longitudinal: A) pared celular (PC), tilacoides (T), pigmentos fotosintéticos (PF), nucleoplasma (N), surco (S) y gránulos de polifosfato (GP). B) pared celular (PC), tilacoides (T), pigmentos fotosintéticos, ficobilisomas (PF), membranas tilacoidales (MT); sustancias de reserva PHB (PHB) y gránulos de polifosfato (GP).

Extracción y aislamiento de DNA. La extracción de la secuencia de nucleótidos del fragmento de DNA que correspondía al RNA ribosómico de la región del 16S fue exitosa y se logró visualizar en un gel de agarosa para su posterior amplificación por PCR (Fig. 8).

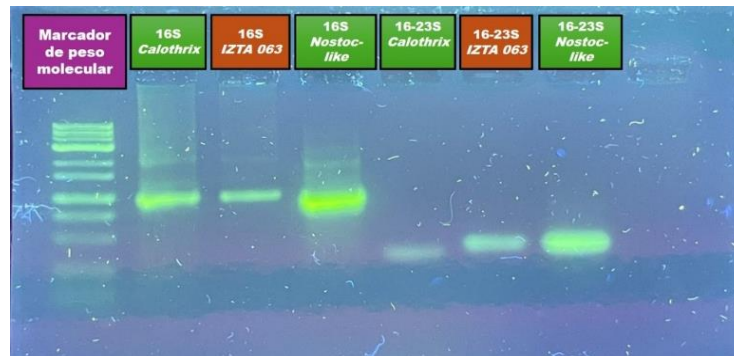


Figura 8. Electroforesis en gel de agarosa del PCR donde: carril 1, marcador de peso molecular, 16S; carril 2, *Calothrix*; carril 3, **cepa IZTA 063**; carril 4, *Nostoc-like* y 16-23S para carril 5, *Calothrix*; carril 6, **cepa IZTA 063**; carril 7, *Nostoc-like*. Nota: las cepas *Calothrix* y *Nostoc-like* fueron ocupadas como controles.

Amplificación de 16S rRNA. La secuencia que correspondía al 16S rRNA de la cianobacteria aislada IZTA 063 fue de 939 pb; cuyo contenido de G+C es de 52.4%. La búsqueda realizada en Blast mostró un 98.61% de identidad con *Cyanobacterium* sp. CENA527 y contenido de G+C de 52.1%. Por lo tanto, sobre la base de estudios microscópicos y moleculares, asignamos la cepa recientemente aislada como *Cyanobacterium* sp.

Parentesco genético: La secuencia RNAr 16S (939 pb) de la cepa **IZTA 063** tiene identidad con la región del 16S con *Cyanobacterium* sp CENA527 de 98.61%, *Cyanobacterium* sp. HL-69 de 98.62%, *Cyanobacterium stanieri* PCC 7202 de 98.52%, *Synechococcus elongatus* PCC Cepa11801 de 97.99%, *Synechocystis* sp. AICB51 de 97.78%, *Synechococcus elongatus* TAU-MAC 2317 de 96.84% y *Geminocystis urbisnovae* CALU 1807 de 94.27%.

Análisis in silico de secuencias. Se realizó un árbol filogenético por análisis de Máxima Verosimilitud basado en las secuencias del gen rRNA de 16S (Fig. 9). Se demostró que la secuencia de **IZTA 063** está incluida en el mismo clado donde se agruparon *Cyanobacterium* sp CENA527, *Cyanobacterium stanieri* (PCC 7202), *Synechococcus elongatus* (PCC Cepa11801 CTR4), *Cyanobacterium* sp. (HL-69) de hermana de secuencias reportadas para *Cyanobacterium* sp. HL-69 y *Cyanobacterium aponinum* (IkISCC30).

Separadas en otro clado, se localizan las cepas del género *Geminocystis*: *G. urbisnovae* (CALU 1807), *G. urbisnovae* (CALU 1759), *G. herdmannii* (PCC6308), *G. papuanica* (FBCC-A202) y *G. papuanica* (FBCC-A202). Otro clado agrupó los géneros de *Annamia*, *Limnothece* y *Picosynechococcus*: *Annamia dubia* (NIES-4383), *Annamia toxica* (HOS24), *Limnothece alkaliphila* (FACHB-3576), *Picosynechococcus* sp. (PCC 700). Y como grupo externo, *Microcrocis geminata* (MC10).

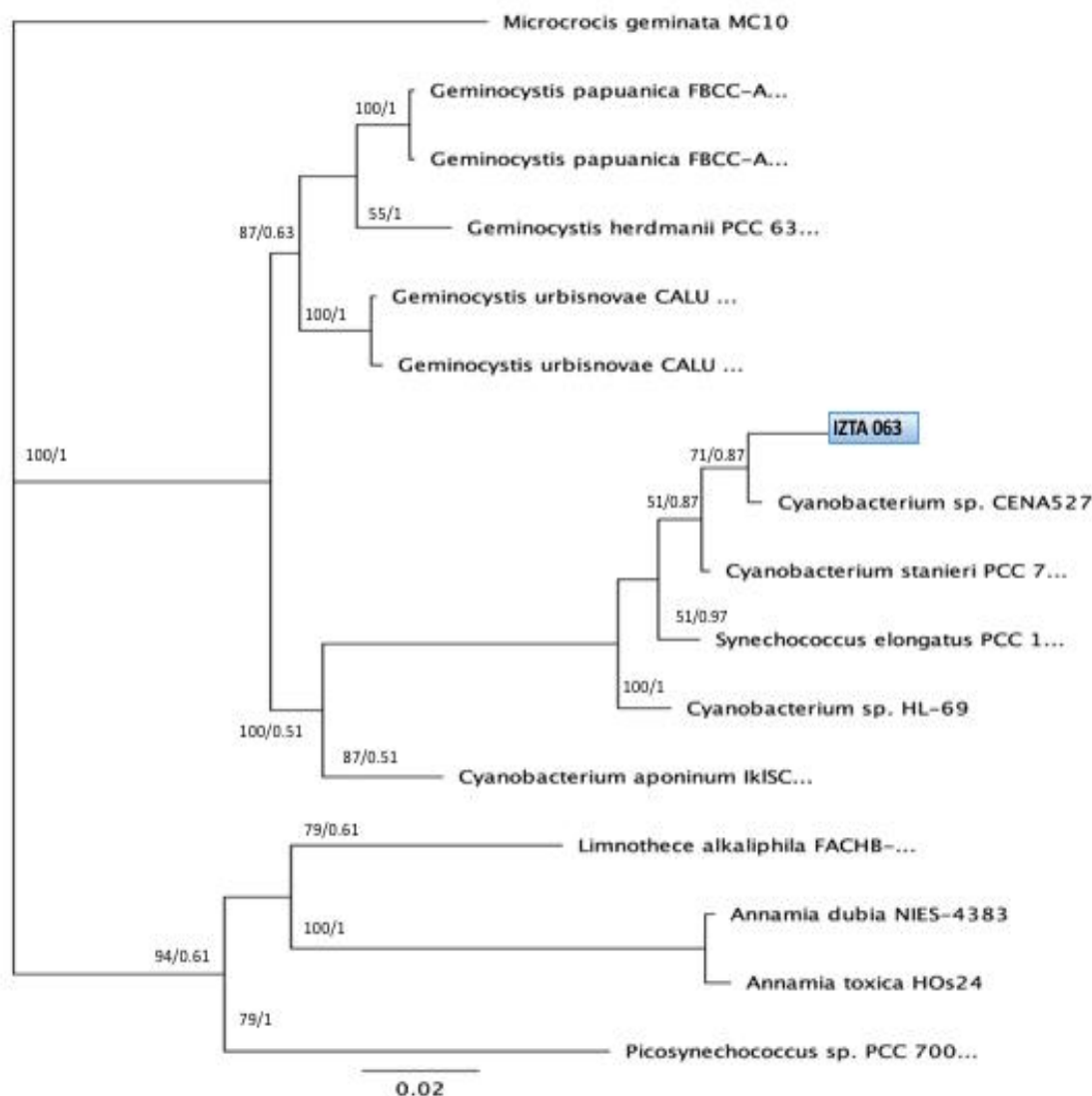


Figura 9. Árbol filogenético compuesto por 16 secuencias parciales de la región 16S rRNA incluidas de la familia Geminocystaceae con las cepas de los géneros *Cyanobacterium*, *Synechococcus*, *Geminocystis*, *Annamia*, *Limnothece*, *Picosynechococcus* y la cepa IZTA 063. Como grupo externo se usó a *Microcrocis geminata* MC10. Los valores de los nodos representan ML/Bayesiano. En el cuadro azul se indica la **cepa IZTA 063**, formando un clado con *Cyanobacterium* sp CENA 527.

Caracterización ambiental: Las condiciones limnológicas registradas (Fig. 3) en octubre del 2024 fueron: temperatura ambiental 22°C, temperatura del agua 19°C, pH 8.9-9.0, conductividad 1730 μ S, con iluminación de 341-769 lux, 38% de humedad y alcalinidad total 570-600 mg CaCO₃, dureza total 800 mg CaCO₃ por lo cual se trata de agua clasificada como muy dura.

DISCUSIÓN

La morfología la cepa estudiada, presentó células cilíndricas u ovales, rectas de 1.4-3.0 μm de diámetro por 1.6-5.0 μm de largo, mucílago hialino fino; información que coincide con la descripción de *Cyanobacterium stanieri* Rippka & Cohen-Bazire (Oren *et al.*, 2022) cuyas medidas son de 1.7-3.0 μm de diámetro y 2.6-5.2 μm de largo. Además, la ultraestructura los tilacoides, alineados paralelamente a través de las células son semejantes entre la cepa de estudio y el género *Cyanobacterium*.

Las micrografías electrónicas de transmisión de la cepa estudiada coinciden con la organización celular de procariontes. Es decir, corresponden a la ultraestructura observada por Baers *et al.* (2019) y Komárek *et al.* (2020) donde la pared celular es rígida con una tinción de Gram negativa, nucleoplasma (región fibrilar de DNA), ribosomas (gránulos de RNA asociados a las fibras de DNA), sistema de membranas fotosintéticas (tilacoides) e inclusiones citoplasmáticas (gránulos de polifosfato y PHB, entre otros).

La pared celular demostró estar formada por varias capas, y localizada entre la membrana celular y la vaina; donde la LI, transparente como lo indican Fogg *et al.*, (1973).

La región del nucleoplasma observada, corresponde al material genético organizado en fibras anastomosadas de DNA. Asimismo, numerosos ribosomas fueron localizados, después de la fijación con tetraóxido de osmio y teñidos con acetato de uracilo en el citoplasma tal como ha sido citados por Fogg *et al.*, (1973).

La posición de los tilacoides en el material mexicano -cepa IZTA 063- fue paralela y ocupan todo el citoplasma en sección longitudinal, ultraestructura que coincide con los tilacoides mostrados en MET para *Geminocystis* y *Cyanobacterium stainerii* PCC 7202 descritos por Korelusová *et al.* (2009). Asimismo, tienen la misma disposición de la cepa termofílica *Thermostichus lividus* (= *S. lividus*) (Edwards *et al.*, 1968).

Las inclusiones citoplasmáticas del material estudiado fueron observadas y diferenciadas gracias a la afinidad con el tetróxido de osmio; los gránulos de polifosfatos llenos (negros) o vacíos (transparentes) coinciden con los registros citados por Fogg *et al.*, (1973). Ultraestructura también observada para *Thermotichus lividus* (= *S. lividus*) (Edwards *et al.*, 1968); cuya función corresponden a reservorios de fosfato inorgánico.

El material biológico analizado mostró gránulos no electrodensos, de color blanco, los cuales sugieren tratarse de gránulos de PHB, también observados en *Synechocystis* sp PCC 6803 (Serrano-Torres, 2023) y *Synechococcus* sp. PCC7002 (Inabe *et al.*, 2025). Sustancia de reserva de interés biotecnológico que Tsang *et al.* (2013) ya había interpretado en otra cianobacteria cercana a las membranas tilacoidales.

El aislamiento y cultivo de *Synechococcus*-like de un ambiente salino-alcálido representa un incremento en el conocimiento de la diversidad alfa de cianobacterias del exLago de Texcoco, sitio emblemático del centro del país, donde el conocimiento de su fitoflora ha sido poco estudiada y limitada a la taxonomía tradicional (Conanp, 2021). Por lo tanto, el análisis con un enfoque polifásico del material de dicha área de estudio conlleva al primer esfuerzo para delimitar una cianobacteria unicelular de un ambiente extremo donde la salinidad y la alcalinidad corresponden a un ambiente alcalino.

En la cepa IZTA 063 se observaron células solitarias o en pares agregadas dentro de un mucílago fino, cilíndricas o subcilíndricas, de color azul verdoso, de 1,4–3 µm de diámetro por 1,6–5 µm de largo, dividiéndose transversalmente. Los tilacoides son paralelos; ultraestructura que coincide por la descrita para *Cyanobacterium stanieri* por Oren *et al.* (2022). Ambas cepas tienen un alto grado de similitud morfológica y crecen en condiciones ecológicas semejantes, filogenéticamente se ubican en el mismo clado donde la identidad con la región 16S con *Cyanobacterium* sp CENA527 fue de 98.61%, por lo cual queda incluida dentro de la familia Geminocystaceae del orden Synechococcales.

El árbol filogenético del gen 16S obtenido señala que la cepa IZTA 063 está incluida en el clado (71/0.87) con otras cepas de *Cyanobacterium* de ambientes extremos, salinos

como es el exLago de Texcoco (Fig. 9), donde el taxón más cercano fue *Cyanobacterium* CENA 527, también agrupada con *Cyanobacterium* sp. HL-69 (100/1) aislada de tapetes bentónicos de un lago hipersalino caliente, con alta concentración de sulfato de magnesio del norte de Washington, USA (Mobberley *et al.*, 2024). Asimismo, se agrupa con la cepa *Synechococcus elongatus* PCC 1200 (51/0.97), lo cual no es de sorprenderse ya que muchas especies se han confundido con el género cuando solo se consideran caracteres morfológicos, por consiguiente deberá en un futuro verificarse la identificación de este material a partir de un estudio polifásico.

Por su parte, nuestros resultados confirman la separación en otro clado, donde se agrupan las cepas del género *Geminocystis* (87/0.63); esto se explica al ser un taxón con estructura secundaria de 16S-23S rRNA e ITS con variaciones en el largo de las regiones D1-D1', Box B y V3. Tanto *Geminocystis* como *Cyanobacterium* tienen una secuencia en D1-D1' muy corta con 17-18 nucleótidos *versus* 35 nucleótidos para muchos de los representantes de cianobacterias. Por tanto, colocan como un taxón hermano al género *Cyanobacterium*; sumado a presentar dos planos de división perpendicular en la división celular, además del bajo contenido de G-C (34%). Información molecular que difiere entre los géneros a pesar de su alta semejanza morfológica, tilacoides paralelos a lo largo de la célula y condiciones ecológicas similares (Korelusová *et al.*, 2009).

En otro clado, se agruparon los géneros *Limnothece*, así como *Annamia* y *Picosynechococcus* (94/0.61). Este último género, característico del plancton de ambientes salinos y en el litoral de ambientes marinos; donde las células son muy pequeñas entre 0.8-2.0 µm de diámetro y 1.2-3.0 µm de largo, sin mucílago y con tilacoides irregulares; taxón críptico por lo que se ha confundido con morfotipos de *Synechococcus-like* (Komárek *et al.*, 2020).

Por su parte, la cepa *Annamia toxica* HOs24 corresponde a un morfotipo semejante a *Pseudanabaena* con tricomas que presentan tilacoides radiales, de un ambiente dulceacuícola de Vietnam (Nguyen *et al.*, 2013); por lo cual quedan fuera del clado de la

cepa en estudio porque claramente corresponde a un morfotipo unicelular diferente que crece en condiciones ecológicas extremas.

Con respecto a la comparación de las secuencias genómica completas entre las cepas más cercanas, según los árboles filogenéticos de la cepa de estudio. Starikov *et al.* (2016) y Mobberley *et al.* (2024) indicaron el tamaño del genoma de *Cyanobacterium* sp. La cepa IPPAS B-1200 y *Cyanobacterium stanieri* PCC 7202 son de 3 410 249 pb y 3 163 381 pb, respectivamente. Por su parte, señalaron que la cepa *Cyanobacterium* sp. HL-69, aislada de ambientes extremos del Norte de Washington, USA, tiene un 95.8% de identidad con *Cyanobacterium* sp. cepa IPPAS B-1200 aislada del lago Balkhash, Kazajstán. Asimismo, 82.75% de identidad con *Cyanobacterium stanieri* PCC 7202, aislado de Chad, África, cuyo tamaño del genoma es de 3 166 381 pb. Por tanto, es deseable contar con la información del genoma completo y su estructura secundaria de la cepa IZTA 063 en estudio para confirmar su estatus taxonómico y delimitar el epíteto específico.

Otra particularidad, no menos importante, corresponde al aspecto nomenclatural. En este caso, los nombres *Cyanobacterium* y su especie tipo *Cyanobacterium stanieri* fueron publicados por Rippka y Cohen-Bazire (2022). Sin embargo, los nombres no fueron aceptados bajo las reglas de la ICNP (entonces llamado Código Internacional de Nomenclatura de Bacterias) o las reglas del ICN (Código Internacional de Nomenclatura para algas, hongos y plantas, entonces llamado Código Internacional de Nomenclatura Botánica) porque la validación del nombre de filo Cyanobacteriota con *Cyanobacterium* como género tipo es decisión del Comité Internacional de Sistemática de Procariotas (ICSP) de colocar la jerarquía de filo bajo las reglas del Código Internacional de Nomenclatura de Procariotas (ICNP).

Synechococcus cedrorum como se describió originalmente, a la cepa PCC 7202 fue transferida a *Cyanobacterium stanieri* sp. nov. como la cepa tipo. Para *Synechococcus* sp la cepa ATCC 29140 para ser utilizada como basónimo de *Cyanobacterium* gen. nov. (Oren *et al.*, 2022). Por está problemática deberá de hacerse en un futuro una revisión

cuidadosa de la asignación del posible nuevo taxón que corresponda para la cepa IZTA 063, una vez que se reúnan los datos moleculares del 16-23S e ITS y la estructura secundaria correspondiente.

Finalmente, las condiciones hidrológicas del Exlago de Texcoco corresponde a un lago salino-alkalino con pH 9.0 que limitan el desarrollo de muchas especies, ya que solo prosperan las halófilas como es la cepa de *Synechococcus*-like IZTA 063. Así como, los lagos salinos de Brasil donde se han reconocido 28 cepas, entre ellas CENA 526 y CENA 527 que corresponden a *Geminocytis*, nuevo género de los humedales Pantonal, Centenario, Grande, Verde y Negro (Korelvsová *et al.*, 2009).

CONCLUSIÓN

El estudio polifásico de la cepa IZTA 063 permitió el análisis de una cianobacteria unicelular aparentemente sencilla de un ambiente extremo del Estado de México. A pesar de que existen trabajos donde se citan en diferentes ambientes tanto dulceacuícolas como marinos la presencia de *Synechococcus*, debe de revisarse con apoyo de MET para delimitar su ultraestructura, así como sumar la información de marcadores moleculares para confirmar el estatus taxonómico propio.

El enfoque polifásico suma diferentes caracteres morfológicos y moleculares, pero no menos importante, el caracterizar el hábitat de las poblaciones silvestres que permitan confirmar la delimitación del material biológico mexicano.

Esté es el primer informe que describe la diversidad de cianobacterias cultivadas del exLago de Texcoco utilizando un enfoque polifásico. Por tanto, estos datos resaltan la importancia de los mismos para determinar taxonómicamente a las cianobacterias; la cepa estudiada se ubicó en el clado del género *Cyanobacterium*, incluida en la familia Geminocystaceae del orden Synechococcales con base en el mayor porcentaje de identidad a partir de la secuencia del 16S y el contenido de G+C de 52.4%.

El árbol filogenético del 16S indicó que la cepa IZTA 063 es más parecida a *Cyanobacterium* sp. CENA527 con una similitud de 98.61%; pero se observó que la rama formada por la cepa IZTA 063 es más larga, lo cual podría ser un taxón diferente. Para confirmar esto se requiere conocer el genoma completo u obtener la secuencia de la región 23-16S e ITS, además de las estructuras secundarias.

El material de estudio crece en un hábitat con alta mineralización (570 - 600 mg CaCO₃), agua muy dura (800 mg CaCO₃) y pH básico (9); coinciden con los registros previamente citados para los humedales del ExLago de Texcoco.

LITERATURA CITADA

- Amaro, T. M. M. M., Rosa, D., Comi, G. & Lacumin, L. (2019). Prospects for the use of whey for polyhydroxyalkanoate (PHA) production. *Frontiers in Microbiology*, 10, 992.
- Ávila, J. (1989). *Ficoflora potencial del suelo húmedo del Valle de Tehuacán, Puebla, México* [Tesis de maestría, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México].
- APHA, AWWA, WPFC. (1995). *Standard methods for the examination of water and waste water* (20 ed). American Public Health.
- Baers, L. L., Breckels, L. M., Mills, L. A., Gatto, L., Deery, M. J., Stevens, T. J., Howe, C. J., Lilley, K. S., Lea-Smith, D. J. (2019). Proteome Mapping of a Cyanobacterium Reveals Distinct Compartment Organization and Cell-Dispersed Metabolism. *Plant Physiology*, 181(4), 1721–1738.
- Barrientos-Medina, R., Catzim-Cruz, L. y López-Adrián, S. (2004). Registro del género *Synechococcus* (Cyanoprokaryota) en Yucatán, México. *Anales del Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Botánica*, 75(2), 225-228.
- Basurto-Peña, F. (2009). El Tecuítlatl o espirulina (*Arthrospira máxima* Setchell & Gardner): Alimento prehispánico con potencial al futuro. En: P. M. Arenas (Ed), *Etnoficología Aplicada Estudio de casos en relación a la salud y la alimentación en ambientes rurales y urbanos* (pp. 43-68).
- Baurain, D., Renquin, L., Grubisic, S., Scheldeman, P., Belay, A. & Wilmotte, A. (2002). Remarkable conservation of internally transcribed spacer sequences of *Arthrospira* ("Spirulina") (Cyanophyceae, Cyanobacteria) strains from four continents and of recent and 30-year-old dried samples from Africa. *Journal of Phycology*, 38(2), 384-393.
- Becker, E. (1994). *Microalgal Biotechnology and Microbiology*. Cambridge University.
- Betancourt, L. (1997). *Producción, purificación y caracterización de la ficocianina de Synechococcus sp. IO-9201 aislada en aguas de Cuba*. [Tesis de Doctorado, Universidad de La Coruña].
- Bohunická, M., Pietrasiak, N., Johansen, J., Berrendero-Gómez, E., Hauer, T., Gaysina, L. & Lukešová, A. (2015). *Roholtiella*, gen. nov. (Nostocales, Cyanobacteria) —a tapering and branching cyanobacteria of the family Nostocaceae. *Phytotaxa*, 197(2), 84–103.
- Borowitzka, M. A. (2005). *Culturing Microalgae in Outdoor Ponds*. En: R.A. Andersen (Ed). *Algal Culturing Techniques* (pp. 205-218). Elsevier Academic Press.

- Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (Conanp). (2021). *Estudio previo justificativo para la declaratoria del área de protección de recursos naturales Lago de Texcoco*. México. Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas, Secretaría de medio ambiente y recursos naturales.
- Corrales-Morales, M., Villalobos, K., Rodríguez, A., Muñoz, N. y Umaña-Castro, R. (2017). Identificación y caracterización molecular de cianobacterias tropicales de los géneros *Nostoc*, *Calothrix*, *Tolypothrix* y *Scytonema* (Nostocales: Nostocaceae), con posible potencial biotecnológico. *UNED Research Journal*, 9(2), 280-288.
- Chen, M., Schliep, M., Willows, R. D., Cai, Z.L., Neilan, B.A. & Scheer, H. (2010). A red-shifted chlorophyll. *Science*, 329, 1318-1319.
- Dayanandaa, C., R. Saradaa, M. Usha Ranib, T. Shamalab & Ravishankara, G. (2007). Autotrophic cultivation of *Botryococcus braunii* for the production of hydrocarbons and exopolysaccharides in various media. *Biomass Bioenergy*, 31, 87-93.
- Departamento del Distrito Federal, (1975). *Memoria de las obras del sistema de drenaje profundo del Distrito Federal* (Tomo I). Departamento del Distrito Federal.
- Díaz, C. & Maske, H. (2000). Abundance of coccoid cyanobacteria, hydrographic parameters and the possible underestimation of in situ chlorophyll a in the northern Gulf of California and the Mexican California Current. *Ciencias Marinas*, 26, 441-461.
- Edwards, M., Berns, D., Ghiorse, W. & Holt, S. (1968). Ultrastructure of the thermophilic blue-green alga, *Synechococcus lividus* Copeland. *Journal of Phycology*, 4, 283-298.
- Echeverría, I. y Lestrade, J. (2024). Lago de Texcoco, la obra ecológica más importante en el valle de México. *La Jornada*, 27, febrero, 2024. Suplemento Especial.
- Fogg, G. E., Stewart, W. D. P., Fay, P. & Walsby, A. E. (1973). *The blue-green algae*. Academic Press. Great Britain. pp. 35-77.
- Forján-Lozano, M. D. (2008). Cianoalerta: estrategia para predecir el desarrollo de cianobacterias tóxicas en embalses. *Ecosistemas*, 17(1), 37-45.
- Garbisu, C., Blanco, A., Alkorta, I., Llama, M. y Serra, J. (1999). Biotecnología con cianobacterias. *Investigación Ciencia*, 272, 65-71.
- García-González, M., Moreno, J. C. Manzano, F., Florencio & Guerrero, M. (2005). Production of *Dunaliella salina* biomass rich in 9-cis- β -carotene and lutein in a closed tubular photobioreactor. *Journal of Biotechnology*, 115, 81-90.
- Garduño-Solórzano, G., Espinoza-Rodríguez, C., Jiménez-Arreola, G., González-Fernández, J., Martínez-García, M., Sánchez-Ávila, D. y López-Salas, C. (2024). Investigación Científica. *Protistas, hongos e invertebrados no artrópodos. Conceptos, métodos de campo y laboratorio*. FES Iztacala, UNAM.
- Gaviño de la Torre, G., Juárez-López, C. y Figueroa-Tapia, H. H. (1999). *Técnicas Biológicas Selectas de Laboratorio y de Campo* (2da). Limusa.
- Guiry, M.D. & Guiry, G.M. (2024). AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <https://www.algaebase.org>; searched on 24 April 2024.

- Guiry, M.D. (2024). How many species of algae are there? A reprise. Four kingdoms, 14 phyla, 63 classes and still growing. *Journal of Phycology* 00,1-15.
- Hauer, T. & Komárek, J. (2021). CyanoDB 2.0- On-line database of cyanobacterial genera. - World-wide electronic publication, Univ. of South Bohemia & Inst. of Botany AS CR, <http://www.cyanodb.cz>.
- Hejazi, M. & Wijffels, R. (2004). Milking microalgae. *Trends Biotechnol*, 22, 189-194.
- Hernández-Becerril, D. U. y Pastén-Miranda, N. (2015). Abundancia y distribución de la cianobacteria picoplanctónica *Synechococcus* en Bahía de La Paz y Cuenca Carmen, Golfo de California. *Hidrobiológica*, 25 (3), 357-364.
- Hoffmann, L., Komránek, J. & Kaštovský, J. (2005). System of cyanoprokaryotes (cyanobacteria) – state in 2004. *Algological Studies*, 117(1), 95–115.
- Inabe, K., Hidese, R., Kato, Y., Matsuda, M., Yoshida, T., Matsumoto, K., Kondo, A., Sato, S. & Hasunuma, T. (2025). Introduction of acetyl-phosphate bypass and increased culture temperatures enhanced growth-coupled poly-hydroxybutyrate production in the marine cyanobacterium *Synechococcus* sp. PC7002. *Metabolic Engineering*, 88, 228-239.
- Iteman, I., Rippka, R., Tandeau de Marsac, N. & Herdman, M. (2000). Comparison of conserved structural and regulatory domains within divergent 16S rRNA-23S rRNA spacer sequence of cyanobacteria. *Microbiology*, 146(5), 1275–1286.
- Jeon, Y., Cho, C. & Yun, Y. (2005). Measurement of microalgal photosynthetic activity depending on light intensity and quality. *Biochemical Engineering Journal*, 27, 127-131.
- Khadatara, S. & Suryawanshi, D. S. (2016). Isolation blue green algae from maize fields of Mohol Tahasil in Solapur. *International Journal of Science and Research*, 5(6), 1597-1599.
- Kishore, K. & Bimal, R. (2010). Distribution of nitrogen-fixing cyanobacteria (Nostocaceae) during rice cultivation in fertilized and unfertilized paddy fields. *Nordic Journal of Botany*, 28(1), 100-103.
- Komárek, J. (2003). Coccoid and colonial Cyanobacteria. En: D. J., Wehr, J. P. Kociolek & R. G., Sheath (Ed). *Freshwater algae of North America. Ecology and Classification* (pp. 88-89). Academic Press.
- Komárek, J. & Anagnostidis, C. (1999). *Süßwasserflora von Mitteleuropa: Cyanoprokaryota 1. Teil: Chroococcales*. Gustav Fischer, Stuttgart.
- Komárek, J., Kaštovský, J., Mareš, J. & Johansen, J. R. (2014). Taxonomic classification of Cyanoprokaryotes (cyanobacterial genera) 2014, using a polyphasic approach. *Preslia*, 86, 295–335.
- Komárek, J., Johansen, J. R., Šmarda, J. & Strunecký, O. (2020). Phylogeny and taxonomy of *Synechococcus*-like cyanobacteria. *Fottea*, 20 (2), 171–191.

- Korelusová, J., Kastovsky, J. & Komárek, J. (2009). Heterogeneity of the Cyanobacterial genus *Synechocystis* and description of new genus, *Geminocystis*. *Journal of Phycology*, 45, 928-937.
- Kumar, H. D. & Sing, H. N. (1979). *A text book on algae*. The MacMillan Press LTD.
- Lara-Villa, M.A., Moreno-Ruiz, J. L. y Amaro E. J. (1996). *Fitoplancton: conceptos básicos y técnicas de laboratorio*. Universidad Autónoma Metropolitana, unidad Iztapalapa.
- Lee, E., Ryan, U. M., Monis, P., McGregor, G. B., Bath, A., Gordon, C. & Paparini, A. (2014). Polyphasic identification of cyanobacterial isolates from Australia. *Water Research*, 59, 248-261.
- López-Cortés, A. (1998). Ecología y biotecnología de las comunidades microbianas. *Ciencia y desarrollo*, 138, 11-17.
- López-Sandoval, O., Montejano, G., Carmona, J., Cantoral, E. y Becerra Absalón, I. (2016). Diversidad algal de un ambiente extremo: el manantial geotermal Los Hervideros, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 87, 1-9.
- Macek, M., Martínez-Pérez, M. E., Peralta-Soriano, L. y Oseguera-Pérez, L. A. (2002). Dinámica espacial y temporal del picoplancton en el lago Alchichica. XXI Coloquio de investigación, División de investigación y posgrado, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Autónoma de México.
- Macek, M., Alcocer, J., Lugo-Vázquez, A., Martínez-Pérez, M. E., Peralta-Soriano, L. & Vilaclara-Fatjó, G. (2009). Long term picoplankton dynamics in a warm-monomictic, tropical high altitude lake. *Journal of Limnology*, 68(2), 183.
- Miyashita, H., Ohkubo, S., Komatsu, H., Sorimachi, Y., Fukayama, D., Fujinuma, D., Akutsu, S. & Kobayashi, M. (2014). Discovery of Chlorophyll d in *Acaryochloris marina* and Chlorophyll f in a Unicellular *Cyanobacterium*, Strain KC1, Isolated from Lake Biwa. *Journal of Physical Chemistry & Biophysics*, 4(4), 149.
- Mundt, S., Kreitlow, S., Nowotny, A. & Effmert, U. (2001). Biochemical and pharmacological investigations of selected cyanobacteria. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 203, 327-334.
- Nägeli, C. (1849). Gattungen einzelliger Algen, physiologisch und systematisch bearbeitet. *Neue Denkschriften der Allg. Schweizerischen Gesellschaft für die Gesamten Naturwissenschaften*, 10(7), 1-39.
- Neilan, B. A., Jacobs, D. & Goodman, A. E. (1995). Genetic diversity and phylogeny of toxic cyanobacteria determined by DNA polymorphisms within the phycocyanin locus. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(11), 3875-3883.
- Nguyen, L.T.T., Cronberg, G., Moestrup, Ø. & Daugbjerg, N. (2013). *Annamia toxica* gen. et sp. nov. (Cyanobacteria), a freshwater cyanobacterium from Vietnam that produces microcystins: ultrastructure, toxicity and molecular phylogenetics. *Phycologia*, 52, 25–36.

- Nishioka, M., Nakai, K., Miyake, M., Asada, Y. & Taya, M. (2001). Production of poly- β -hydroxybutyrate by thermophilic cyanobacterium, *Synechococcus* sp. MA19, under phosphate-limited conditions. *Biotechnology Letters*, 23(14), 1095–1099.
- Novelo, E. (1985). Flora dinámica del suelo del Valle de Tehuacán, Puebla, México. Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Novelo, E. (1998). Floras ficológicas del Valle de Tehuacán, Puebla. [Tesis de doctorado, Facultad de ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México].
- Novelo, E. y Tavera, R. (2024). bdLACET Base de datos de algas continentales. Facultad de Ciencias, UNAM. México. Disponible en: <https://bdlacet.mx>.
- Oren, A., Mareš, J. & Rippka, R. (2022). Validation of the names *Cyanobacterium* and *Cyanobacterium stanieri*, and proposal of Cyanobacteriota phyl. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 72 (10), 1-7.
- Paniagua-Michel, J. y Sasson, A. (1995). Moléculas de microalgas de importancia económica. En K., Alveal, M., Ferrario, E., Oliveira, y E., Sar (Eds.), *Manual de Métodos Ficológicos* (pp. 297-310). Universidad de concepción.
- Prasanna, R., Sood, A., Ratha, S. K. & K. Singh, P. (2013). Cyanobacteria as a “green” option for sustainable agriculture. En N., Sharma, A., Rai, & L. J., Stal (Eds.), *Cyanobacteria: An Economic Perspective*. (pp145-166). Wiley-Blackwell.
- Prasad, R. C. & Prasad, B. N. (2001). Cyanobacteria as a source biofertilizer for sustainable agriculture in Nepal. *Journal of Plant Sciences*, 1,127-133.
- Philippis, R. & Vincenzini, M. (1998). Exocellular polysaccharides from cyanobacteria and their possible applications. *FEMS Microbiology Reviews*, 22, 151-175.
- Pineda, M. R., Martínez, J. F., Garduño-Solórzano, G. y Olvera, R. R. (2011). Caracterización morfológica y molecular de cianobacterias filamentosas aisladas de florecimientos de tres lagos urbanos eutróficos de la Ciudad de México. *Polibotánica*, 31, 31-50.
- Raven, J. A. (1998). The twelfth Tansley Lecture. Small is beautiful: the picophytoplankton. *Functional Ecology*, 12, 503-513.
- Rosales-Loaiza, N., Guevara, M., Lodeiros, C. y Morales, E. (2008). Crecimiento y producción de metabolitos de la cianobacteria marina *Synechococcus* sp. (Chroococcales) en función de la irradiancia. *Revista Biología Tropical*, 56(2), 421-429.
- Sahu, D., Priyadarshani, I. & Rath, B. (2012). Cyanobacteria as potential biofertilizer. *CIBTech Journal of Microbiology*, 1(2-3), 20-26.
- San Román, J., Marín-García, L., Muñoz, N., López, M. A. & Gutiérrez-Yurrita, P. J. (2013). Ecological considerations for the management of a protected area with a strong urban pressure: the case of Lake Texcoco, México. *International Journal of Ecology and Environmental Sciences*, 39(1), 26-37.

- Scanlan, J. D. (2003). Physiological diversity and niche adaptations in marine *Synechococcus*. *Advances in Microbial Physiology*, 47, 1-64.
- Serrano-Torres, C. (2023). Producción de polihidroxialcanoatos en dos cepas de la cianobacteria *Synechocystis* sp. PCC 6803 en cultivos adicionados con agua del proceso de producción de aceite de oliva [Tesis de Maestría, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada].
- Silva, R., Goncalves, T., Morone, J., Alves Moreira, G., Morais, J., Hetschke, S. G., Alvarez Gutierrez, P. E., Batista-García, R. A., Vasconcelos, V. & Lopes, G. (2024). Pigments profile and antioxidant potential of extremophile cyanobacteria isolated from the Mexican Volcanic Lake Chichonal. *Algal Research*, 81, 1-13
- Singh, S. P., Pathak, J. & Sinha, R. P. (2017). Cyanobacterial factories for the production of green energy and value-added products: An integrated approach for economic viability. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 69, 578-595.
- Starikov, A.Y., Usserbaeva, A. A., Sinetova, M. A., Sarsekeyeva, F. K., Zayadan, B. K., Ustinova, V. V., Kupriyanova, E. V., Los, D. A. & Mironov, K. S. (2016). Draft genome sequence of *Cyanobacterium* sp. strain IPPAS B-1200 with a unique fatty acid composition. *Genome Announc*, 4(6), e01306-16.
- Strunecký, O., Ivanova, A. P. & Mareš, J. (2023). An updated classification of cyanobacterial orders and families based on phylogenomic and polyphasic analysis. *Journal of Phycology*, 59(1), 12–51.
- Tamura, K. & Nei, M. (1993). Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolutions*, 10, 512-526.
- Tamura, K., Stecher, G. & Kumar, S. (2021). MEGA 11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution*, 38(7), 3022-3027.
- Tsang, T. K., Roberson, R. W. & Vermaas, W. F. J. (2013). Polyhydroxybutyrate particles in *Synechocystis* sp. PCC 6803: facts and fiction. *Photosynthesis Research*, 118(1–2), 37–49.
- UNESCO. (2009). Cianobacterias Planctónicas del Uruguay. *Manual para la identificación y medidas de gestión*. S. Bonilla (Ed.). Documento Técnico.
- Ventosa, A. & Nieto, J. (1995). Biotechnological applications and potentialities of halophilic microorganism. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 11, 85-94.
- Waterbury, J. B., Watson, S. W., Guillard, R. R. & Brand, I. E. (1979). Widespread occurrence of a unicellular, marine planktonic, cyanobacterium. *Nature*, 277, 293-294.
- Whitton B. & Potts, M. (2000). Introduction to cyanobacteria, En B., Whitton & M., Potts, M (Eds.), *The ecology of cyanobacteria* (pp. 1-19). Kluwer Academic.

- Yun, Y. S. & Park, J. M. (1997). Development of gas recycling photobioreactor system for microalgal carbon dioxide fixation. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 14, 1297-1300.
- Yun, Y. S. & Park, J. M. (2001). Attenuation of monochromatic and polychromatic lights in *Chlorella vulgaris* suspensions. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 55, 765-770.
- Zaragoza R., M. d. I. Á. y Mora Navarro, M. R. (2006). Cianofitas del Rio Caliente del Bosque La Primavera, Jalisco, México. En M. d. R. Mora Navarro, J. A. Vázquez-García, Y. L. Vargas-Rodríguez y R. M. Hernández-Herrera (Eds). *Algas del occidente de México. Florística y Ecología*. Universidad de Guadalajara (CUCBA).
- Zarrouk, C. (1966). Contribution à l'étude d'une cyanophycée influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthèse de *Spirulina maxima* (Seth et Gardner) Geitler. Ph. D. Thesis. Université de Paris.

APÉNDICE 1

Preparación del medio Medio Zarrouk (1966)

El medio Zarrouk, consta de nueve soluciones stock de macronutrientes y una solución de micronutrientes (Solución A5).

Prepare cada una de las soluciones stock 1-9 en un litro de agua destilada. Después de ello agregue 10 ml de cada una de las soluciones en el mismo orden, en un matraz aforado de 1000 ml; después añada 1 ml de la solución A5 y afore con agua destilada.

Soluciones stock de macronutrientes		Concentración	Cantidad
1	NaCl	1.0 g/L	100 g
2	CaCl ₂ •2H ₂ O	0.04 g/L	4 g
3	NaNO ₃	2.5 g/L	250 g
4	FeSO ₄ •7H ₂ O	0.01 g/L	1 g
5	EDTA	0.08 g/L	8 g
6	K ₂ SO ₄	1.0 g/L	100 g
7	MgSO ₄ •7H ₂ O	0.20 g/L	20 g
8	NaHCO ₃	16.8 g/L	168 g
9	K ₂ HPO ₄ *	0.5 g/L	50 g

Solución de micronutrientes A5		Concentración
1	ZnSO ₄ •7H ₂ O	0.222 g/L
2	CuSO ₄ •5H ₂ O	0.079 g/L
3	MoO ₃	0.015 g/L
4	H ₃ BO ₃	2.86 g/L
5	MnCl ₂ •4H ₂ O	1.81 g/L

APÉNDICE 2

Preparación de Sudan III, para diferenciar grasas **(Gaviño de la Torre et al., 1999)**.

Acetona 50 cc

Alcohol 70%. 50 cc

Sudan III o Sudan IV 0.2%

Preparación de Azul de Cresil, para diferenciar mucilago **(Kumar & Sing, 1979)**.

0.5 gr de Azul de Cresil

100 mL de agua destilada

Preparación de Tinción de Gram, para diferenciar bacterias Gram positivas de negativas

a) Solución de cristal violeta o violeta de genciana

10 mL de solución alcohólica de cristal violeta

100 mL de solución acuosa de fenol al 1%

a1) solución alcohólica de cristal violeta

1 gr de cristal violeta

100 mL de agua destilada

b) Solución de Lugol

1gr de yodo

300 mL de agua destilada

2gr de yoduro de potasio

c) Safranina

0.25gr de safranina

10 mL de alcohol al 95%

100 mL de agua destilada

ANEXO 3

Secuencias de DNA de la Cepa 063 IZTA editadas con el programa BioEdit.

CGCAATGGGCGAAAGCCTGACGGAGCAATACCGCGTGAGGGAGGAAGGCTCTTG
GGTTGTAAACCTCAAACTTAGGGAAGAAGAAAGTGACGGTACCTAATATAAGCAT
CGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGATGCAAGCGTTATCCG
GAATCATTGGGCGTAAAGCGTCCGTAGGTGGCACTTCAAGTCCGCATTCAAAGAC
CGAGGCTCAACCTCGGGCAGGGTGTGGAACTGAAGAGCTAGAGTACAGGAGGG
GTAGAGGGAATTCCTAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATTAGGAAGAACACCA
GTGGCGAAGGCGCTCTACTGGACATGTACTGACACTGAGGGACGAAAGCTAGGGT
AGCGAAAGGGATTAGATACCCCTGTAGTCTTAGCTGTAAACGATGGATACTAAGTG
TAGCGGGTATAAACTCCTGCTGTGCTGAAGCAAACGCGTTAAGTATCCCGCCTGG
GGAGTACGCACGCAAGTGTGAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGC
GGTGGAGTATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGACTTGACA
TCCGATGAATTTTCTTGAAAGAGAGAAGTGCCTTAGGGAACATCGTGACAGGTGGT
GCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGC
GCAACCCTCGTCCTTAGTTGCCAGCATTAAAGTTGGGGACTCTAGGGAGACCGCCG
GGGAGAACTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCAGCATGCCCCTTACGTC
TTGGGCTACACACGTACTACAATGGTTGGGACAAAGGGATGCGAAGCCGCAAGGT
GAAGCGAAACCCATCAAACCCAGCCCCAGTTCAGATCGTCGGCTGAACTCGCCG
GCGTGAAGTCGAATCTCATCAAACCTCAGCCCCAGTTCAGATCGTCGGCTGGAAAC
TCCGCCGGCGTGGAAG