



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA**

Caracterización morfológica y molecular del género  
*Pediastrum sensu latum* de diferentes localidades  
de México

**TESIS**

Para obtener el título de  
**BIÓLOGA**

**Presenta**

**DIANA LIDIA GUILLÉN RUIZ**

**Directora de tesis**

**M. en C. GLORIA GARDUÑO SOLÓRZANO**

**HERBARIO IZTA**  
**LOS REYES IZTACALA, ESTADO DE MÉXICO, 2015**





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.



**Este trabajo recibió financiamiento del programa de  
apoyo a profesores de la FES Iztacala; PAPCA 2013  
número 13**



## AGRADECIMIENTOS

### *A mis padres*

Ustedes son el mayor de mis impulsos en mi vida, en el transcurso de esta etapa me han enderezado, sacado de los malos caminos, me han brindado todo el amor y sabiduría que podría necesitar. Lo más valioso que en esta vida pueda existir para un hijo son los PADRES, y ustedes siempre serán mi mayor tesoro, que he de cuidar y proteger durante toda mi vida. Los AMO.

### *A mis hermanos*

La vida nos dio la grata oportunidad de ser hermanos, ahora quiero agradecer todo el apoyo, confianza y amor que me han dado, todos los momentos especiales que hemos compartido, los juegos y aventuras, Ustedes también son mis tesoros y siempre podrán contar conmigo. Los AMO.

Agradezco a todos mis tíos, tías, primos, primas y demás familiares, porque me brindaron su apoyo, fueron y son un sostén a lo largo de esta etapa y de mi vida, la familia es el mejor regalo que esta vida puede ofrecerme.

Estos años han sido amenos en compañía de mis amigos y seres queridos, gracias a mis amigos Armando, Jimena, Celina que con ustedes las tardes eran sumamente divertidas y a carcajadas, nunca olvidare todos esos momentos. A mi amigo Jesús a quien conocí desde antes de la Universidad, es una persona especial porque tuvimos muchos buenos momentos filosóficos, gracias por tu apoyo. En mi última etapa he tenido el placer de conocer a dos peculiares chicas, Monse e Ivonne, ustedes ahora son parte de mi vida y se han vuelto grandes amigas, han hecho felices tardes de risa, gracias chicas por estar conmigo. Hay una mención muy especial de alguien que me ha acompañado en estos últimos tres años, esta persona se ha vuelto un apoyo y un gran ejemplo de superación, me ha ayudado a crecer, a ver el mundo con ojos de un humano pensante y sabio, gracias Daniel, tú eres alguien muy valioso para mí.

Quiero mencionar que en el transcurso de mi carrera he tenido el placer de conocer a excelentes personas, ha personas que me hicieron pasar buenos ratos, con las que me reí, divertí, y que también fueron un gran apoyo, gracias a todos ellos.

En especial quiero reconocer el gran esfuerzo que conllevó la realización de este trabajo y que en colaboración con mis sinodales y directora de tesis fue posible, M. en C. Gloria Garduño Solórzano por sus enseñanzas, el conocimiento brindado y sobre todo la paciencia y comprensión que me tuvo. También agradezco especialmente a la Dr. Martha Martínez García, al Dr. Jorge Eduardo Campos Contreras, al M. en C. Alejandro Cruz Monsalvo Reyes y al M. en C. Rafael E. Quintanar Zúñiga, por su gran apoyo en mi formación y por los conocimientos que sume en esta experiencia de mi tesis.



## CONTENIDO

RESUMEN	6
I. INTRODUCCIÓN	7
II. OBJETIVOS	15
III. MATERIALES Y MÉTODOS	16
Documentación bibliográfica	16
Exploraciones ficológicas	17
Parámetros físicos-químicos	18
Aislamiento de las cepas	19
Condiciones de cultivo	19
Determinación taxonómica	19
Microscopía electrónica de barrido (MEB)	20
PCR y secuenciación	20
Análisis filogenético	21
Análisis de variables y <i>taxa</i> determinados	22
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23
Documentación bibliográfica	23
Exploraciones ficológicas	26
Cuantificación de parámetros físicos-químicos	27
Determinación taxonómica	30
<i>Pediastrum duplex</i> Meyen	30
<i>Pseudopediastrum boryanum</i> (Turpin) E. Hegewald	34
<i>Pseudopediastrum aff. Boryanum</i>	37
<i>Pseudopediastrum integrum</i> (Nägeli) Jena et Bock	39



---

<i>Pseudopediastrum</i> aff <sub>1</sub> . <i>Integrum</i>	41
<i>Pseudopediastrum</i> aff <sub>2</sub> . <i>Integrum</i>	43
<i>Stauridium tetras</i> (Ehrenberg) E. Hegewald	45
<i>Monactinus simplex</i> (Meyen) Corda	47
<i>Pediastrum simplex</i> var. <i>clathratum</i> Schröter	49
Análisis morfológico	51
Análisis filogenético	51
Análisis de variables y <i>taxa</i> determinados	55
Relación del género <i>Pediastrum</i> -variables ambientales	55
V. CONCLUSIONES	56
VI. BIBLIOGRAFÍA	58
VII. ANEXO	64
Anexo 1. Medios de cultivo	64
Anexo 2 Lista de las cepas utilizadas en este estudio	66



## LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1. Tipos de ornamentación de la pared celular en MEB de <i>Pediastrum</i>	12
Tabla 2. Área de estudio en que se realizaron las colectas	18
Tabla 3. Especies registradas del género <i>Pediastrum sensu latum</i> en México.	27
Tabla 4. Registro ficoflorístico del género <i>Pediastrum sensu latum</i>	28
Tabla 5. Parámetros físicos-químicos	29
Tabla 6. Valores de los parámetros físicos-químicos en que se recolectaron las especies	30
Figura 1. Tipos generales de arquitectura del aparato flagelar	9
Figura 2. Ejemplo de cerdas y rosetas de <i>Pediastrum</i>	11
Figura 3. Morfología de las células en <i>Pediastrum</i>	11
Figura 4. Esquema del ciclo de vida de <i>Pediastrum boryanum</i>	13
Figura 5. Ubicación de las tres entidades federativas en México	19
Figura 6. Ficólogos extranjeros y nacionales con aportes del género <i>Pediastrum</i>	25
Figura 7. Distribución de los registros del género <i>Pediastrum</i> en el país periodo 1841–2014	26
Figura 8. <i>Pediastrum duplex</i> Meyen, Laguna de Santa Cruz del Rincón, Estado de México	33
Figura 9. <i>Pediastrum duplex</i> Meyen, Laguna de Santa Cruz del Rincón, Estado de México	33
Figura 10. <i>Pediastrum dúplex</i> Meyen, Xochimilco, Nativitas, D.F.	34
Figura 11. <i>Pediastrum duplex</i> Meyen, Xochimilco, Nativitas, D.F.	34
Figura 12. <i>Pseudopediastrum boryanum</i> (Turpin) E. Hegewald de Eco Parque Acoatl, Tlalnepantla de Baz, Estado de México	36
Figura 13. <i>Pseudopediastrum boryanum</i> (Turpin) E. Hegewald de Eco Parque Acoatl, Tlalnepantla de Baz, Estado de México	37
Figura 14. <i>Pseudopediastrum</i> aff. <i>boryanum</i> Arroyo Tilapa, Zapotitlán, Puebla	39
Figura 15. <i>Pseudopediastrum integrum</i> (Nägeli) Jena et Bock, de Cantera Oriente, reserva ecológica del Pedregal de San Ángel de Ciudad Universitaria	41
Figura 16. <i>Pediastrum</i> aff <sub>1</sub> . <i>Integrum</i> , de Arroyo Tilapa, Zapotitlán, Puebla	43
Figura 17. <i>Pediastrum</i> aff <sub>1</sub> . <i>integrum</i> de Arroyo Tilapa, Zapotitlán, Puebla	43
Figura 18. <i>Pediastrum</i> aff <sub>2</sub> . <i>integrum</i> , de Laguna El Sol, Nevado de Toluca, Estado de México	45
Figura 19. <i>Stauridium tetras</i> (Ehrenberg) E. Hegewald, Laguna de Santa Cruz del Rincón, Estado de México	47
Figura 20. <i>Stauridium tetras</i> (Ehrenberg) E. Hegewald, Laguna de Santa Cruz del Rincón, Estado de México	47
Figura 21. <i>Monactinus simplex</i> (Meyen) Corda, Villa Victoria, Estado de México	49
Figura 22. <i>Pediastrum simplex</i> var. <i>clathratum</i> Schröter, Villa Victoria, Estado de México	51
Figura 23. Árbol filogenético de Hydrodictyaceae.	54
Figura 24. Estructuras secundarias ITS2	55
Figura 25. Diagrama de ordenación confirmatorio del ACC.	56



## RESUMEN

En el mundo se han reconocido para el género *Pediastrum sensu latum* (Hydrodictaceae, Chlorophyceae) 405 especies de los cuales sólo 16 *taxa* son nombres aceptados. Desde el 2005, el género fue separado con base en la ornamentación de la pared celular, la secuencia y estructura del ITS2 en: *Pediastrum*, *Pseudopediastrum*, *Monactinus*, *Lacunastrum*, *Parapediastrum* y *Stauridium*. En este trabajo se analizaron nueve *Pediastrum sensu latum* de ocho localidades del centro de México, utilizando datos morfológicos, ambientales y de los cultivos obtenidos las secuencias del rDNA del ITS2. También se documentó la distribución del género en México de 23 *taxa* infraespecíficos, distribuidos en 16 entidades federativas durante el periodo de 1841-2014. El material biológico fue colectado en Puebla, Estado de México y Distrito Federal, y se determinaron en nueve *taxa*: *Pediastrum duplex* Meyen, *Pseudopediastrum boryanum* (Turpin) E. Hegewald, *Pseudopediastrum aff. boryanum*, *Pseudopediastrum integrum* (Nägeli) Jena et Bock, *Pseudopediastrum aff<sub>1</sub>. integrum*, *Pseudopediastrum aff<sub>2</sub>. integrum*, *Stauridium tetras* (Ehrenberg) E. Hegewald, *Monactinus simplex* (Meyen) Corda y *Pediastrum simplex* var. *clathratum* Schröter. Además se indica la distribución geográfica regional, algunos parámetros físicos químicos, y se describe el material biológico a partir de las muestras de campo y de cultivos en microscopía óptica y MEB. Con base en las características morfológicas y moleculares tanto de secuencia como estructura secundaria del ITS2 se determinó que las cuatro cepas obtenidas se ubicaron en el género *Pseudopediastrum*. A partir del árbol filogenético, se agrupan en un clado independiente varias poblaciones mexicanas. Por lo que con esta información se nombran como: *Pseudopediastrum integrum*, *Pseudopediastrum aff<sub>1</sub>. integrum*, *Pseudopediastrum aff<sub>2</sub>. integrum* y *Pseudopediastrum aff. boryanum*. Conjuntamente, se realizó el Análisis de Correspondencia Canónica (ACC) para los nueve *taxa* determinados, donde se confirma que los factores ambientales delimitantes son: *Pseudopediastrum integrum*, *Pseudopediastrum aff<sub>1</sub>* y *aff<sub>2</sub>. integrum* corresponden a la altitud y el oxígeno disuelto, mientras que para *P. simplex*, *P. boryanum*, *P. duplex*, son los nitratos. En el caso de *P. aff. boryanum* la dureza y alcalinidad total. En cambio la temperatura es el factor principal para *S. tetras*, *P. dúplex* y *M. simplex*. La sumatoria de toda la información permite proponer para dos ambientes extremos de México a *P. aff<sub>2</sub>. Integrum* (Nevado de Toluca), *P. aff<sub>1</sub>. integrum* y *P. aff. boryanum* (Zapotitlán, Puebla) como nuevas especies para la ciencia.



## I. INTRODUCCIÓN

Las microalgas que viven en la columna de agua de los sistemas acuáticos epicontinentales y oceánicos constituyen el fitoplancton (del griego phyton “planta” y planktos “vagabundo o errante”). Esta comunidad está compuesta por diversos organismos y cianobacterias fotosintéticas que pueden ser principalmente unicelulares, colonias o filamentos (CONABIO, 2011).

Las algas, incluyen organismos cuyo origen es polifilético; ubicadas en la clasificación de Adl *et al.*, (2012) en los supergrupos Archaeplastida, Excavata y SAR. Es decir son organismos que no comparten un origen común, pero siguen líneas evolutivas independientes (Barsanti & Gualtieri, 2006).

El gran intervalo de tamaño oscila desde de 0.2-2.0 mm de diámetro, hasta las estructuras complejas de hasta 60m de longitud, la ecología y los hábitats colonizados, estructura celular, los niveles de organización y morfología, los pigmentos para la fotosíntesis, las sustancias de reserva y polisacáridos estructurales, y el tipo de historia de vida, reflejan la variedad de orígenes evolutivos de este conjunto heterogéneo de organismos, incluyendo procariotas y eucariotas. El término incluye tanto a las macroalgas como a microalgas; es un grupo altamente diversificado de microorganismos (Barsanti & Gualtieri, 2006).

Las algas son importantes por su participación como productores primarios en la trama trófica de los ambientes acuáticos, también por ser indicadoras de la calidad del agua o porque constituyen la materia prima para diversos productos en la industria química y alimenticia, son uno de los grupos fotosintéticos más variados y con una amplia distribución mundial. Las algas tienen una gran diversidad de formas y tamaños, se encuentran en su mayoría flotando o adheridas a diferentes sustratos. Son varios los representantes, entre ellas las Chlorophyta o algas verdes que distinguen por los cloroplastos y almidón, como sustancia de reserva (Villa *et al.*, 1996).

Las algas verdes son un grupo polifilético que se ha diversificado con gran variedad y tipos de estructuras: unicelulares, flagelados, colonias, filamentos ramificados o no ramificados y láminas. Durante muchos años, estas fueron clasificadas según dichas



características. Sin embargo, hoy en día reconocemos que las algas verdes han experimentado una amplia evolución.

Las algas verdes poseen varios rasgos unificadores, muchos de los cuales también se comparten con las plantas terrestres. Las células que tienen flagelos poseen típicamente dos (o un múltiplo de dos) que son generalmente de igual longitud y lisos. La arquitectura flagelar, es de cuatro tipos (Figura 1): una de ellas unilateral y tres de tipo cruzada; esta última organiza las fibras proteicas de los flagelos en forma de estrella, conocidos como DO (opuesta), CW (dirección en sentido del reloj), CCW (contra sentido del reloj) (Graham *et al.*, 2009).

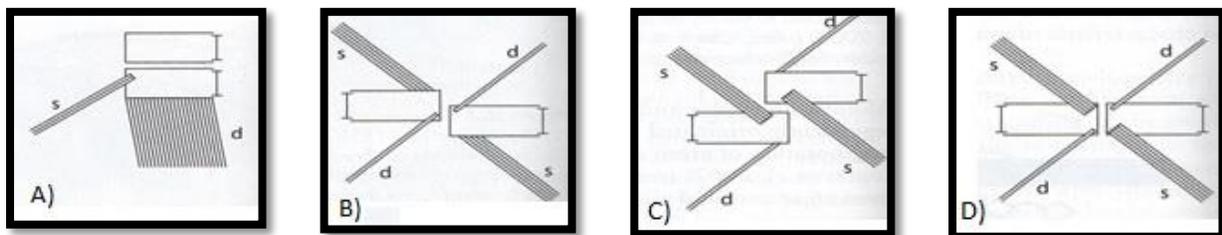


Figura 1. Arquitectura flagelar de las células móviles de las algas verdes A) lateral en Charophyceae, B, C, y D) cruzada: B)CW, C) CCW y D) opuesta s y d) microfibrillas de proteínas.

La familia Hydrodictyaceae (Orden Sphaeropleales, Clase Chlorophyceae, Phylum Chlorophyta), se caracteriza porque forman zoosporas con aparato flagelar CW. Actualmente está conformada por 16 géneros: *Asteriscium*, *Euastropsis*, *Helierella*, *Hydrodictyon*, *Lacunastrum*, *Monactinus*, *Parapediastrum*, *Pediastrum*, *Pseudopediastrum*, *Slenosphaerium*, *Sorastrum*, *Sphaerastrum*, *Stauridium*, *Tetraedroide*, *Tetraedron* y *Tetrapedia* (Guiry & Guiry, 2015).

Guiry & Guiry (2015) reconocen en la base de datos de algas “algaebase” ([www.algaebase.org](http://www.algaebase.org)), 405 especies del género *Pediastrum* de los cuales sólo 16 *taxa* son nombres aceptados. Entre ellos, *Pediastrum angulosum* Ehrenberg ex Meneghini, *P. argentinense* Bourrelly & Tell, *P. bareilliense* I. Habib, U.K. Chaturvedi & U.C. Pandey, *P. berolinense* E. Hegewald, *P. bidentulum* var. *ornatum* Nordstedt, *P. braunii* Wartmann, *P. contiguum* P. González, *P. duplex* Meyen, *P. gracillimum* (West & G.S.West) Thunmark, *P. integrum* (Nägeli) Playfair, *P. obtusum* Lucks, *P. orbitale*, *P.*



*sculptatum* G.M. Smith, *P. tricyclium* Hassall ex Ralfs y *P. willei* Comas González, Pérez Baliero & Rio Rams.

El género *Pediastrum* se desarrolla preferentemente en ambientes acuáticos dulceacuícolas, sin embargo hay pocas especies en ambientes salobres y subáereos. Son especies de amplia distribución *M. simplex*, *P. boryanum*, *P. duplex*, *P. braunii* y *S. tetras*, ya que crecen en diferentes condiciones ecológicas, desde ambientes oligotróficos a eutróficos a lo largo del mundo. En contraste, hay especies endémicas como: *P. pearsonii* citada para Kenia (Jena *et al.*, 2014), *P. marvillense* de las islas Kerguelen y *P. asymmetricum* de Japón. Otros *taxa* se localizan en ciertas regiones biogeográficas, por ejemplo *P. longecornutum* para zonas templadas, *P. integrum* de regiones boreales alpino y *P. argentiniense* en neotropical (Komárek & Jankovska, 2001).

Son indicadores de la calidad de agua, por ejemplo *P. angulosum*, *Parapediastrum birradiatum* y *P. braunii* que son especies dominantes en aguas oligotróficas; mientras, *P. boryanum* y *P. duplex* son características de ambientes alfa-meso saprobios. Por su parte, *P. alternas* crece en aguas frías, oligotróficas y en lagos de montaña con aguas alcalinas (Komárek & Jankovská, 2001).

La pared celular de *Pediastrum* está compuesta por una bicapa, la interna conformada de glucosa, fucosa y ácido galacturónico, y en la capa externa esporopolenina y óxido de sílice. Esto explica porque se han encontrado en sedimentos en conjunto con el polen de las plantas superiores y han dejado registros fósiles, los más antiguos citados para México datan del Eoceno (Lozano-García, 1996).

En los vértices de las uniones de las células del cenobio, se forman estructuras cilíndricas huecas, denominadas rosetas, cuya función es la secreción de proteínas que le permiten formar un mechón de cerdas (Figura 2). Las cerdas, no son uniformes y pueden superar los 100 µm de longitud, cada mechón contiene hasta 80 cerdas. La ultraestructura de estas, revela que son un agregado de túbulos hexagonales dispuestos en filas escalonadas, además se conoce que en cultivos viejos se pueden perder fácilmente y con ello el cenobio no flota en la columna de agua (Gawlik &



Millington, 1988). Komárek & Jankovska (2001) y Buchheim *et al.*, (2005) indican que solo *M. simplex*, *P. asymmetricum*, *P. marvillense*, *P. subgranulatum* y *P. berolensis* forman estas estructuras.

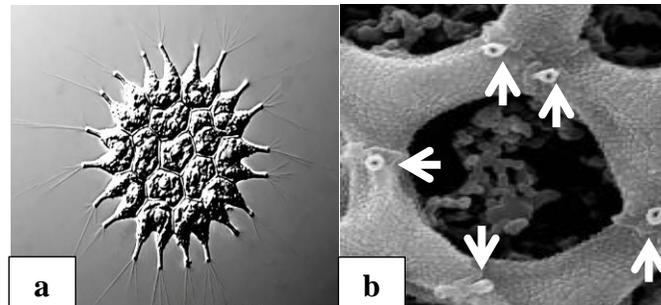


Figura 2. Ejemplo de cerdas y rosetas de *Pediastrum* a) Cerdas en las células marginales de *Monactinus simplex* en microscopía óptica y contraste de fases. b) Detalle de la pared celular y las rosetas (↑), en Microscopía Electrónica de Barrido MEB.

Komárek & Jankovská (2001) describen siete tipos de ornamentaciones de la pared celular del género *Pediastrum* (Tabla 1). Otras características diacríticas son: el número de células, el cenobio circular y laminar, cuyas células internas y externas se organizan en anillos concéntricos, con presencia o ausencia de espacios entre el interior de las células, el número, forma y orientación de los lóbulos de las células del margen del cenobio (Figura 3).

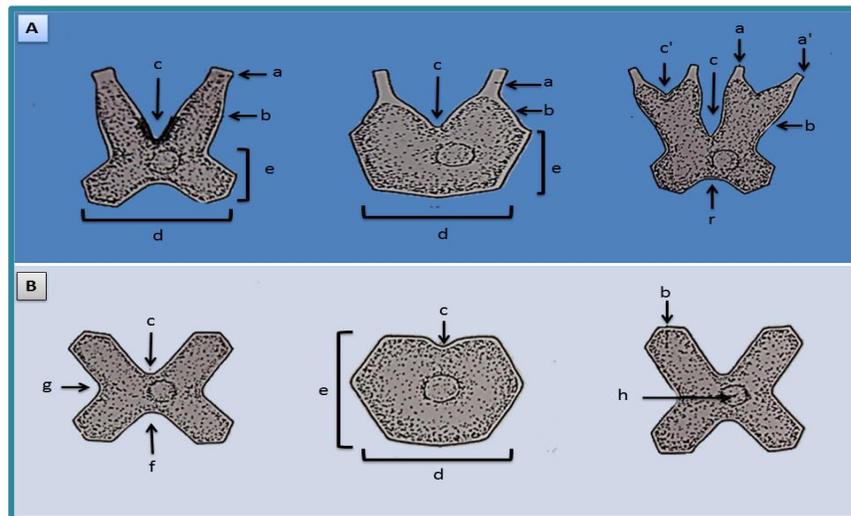
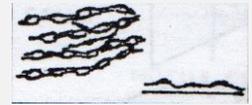
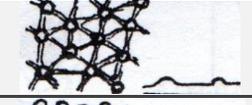
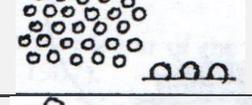
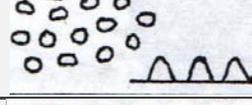
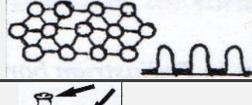
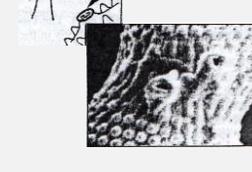


Figura 3. Morfología de las células en *Pediastrum*. A= Células marginales, B= Células internas, a – proceso, a'- proceso secundario, b – lóbulo, c – incisión externa, c'– incisión externa secundaria, d – ancho de la célula, e – longitud de la célula, f – incisión interna, g – incisión lateral, h – pirenoide.



Tabla 1. Tipos de ornamentación de la pared celular en MEB de *Pediastrum* según Komarék & Jankovská (2001).

TIPO	ORNAMENTACIÓN DE LA PARED CELULAR	EJEMPLO	
1	LISA	<i>P. biradiatum</i> var. <i>glabrum</i>	
2	RED	<i>P. duplex</i> var. <i>asperum</i> <i>P. angulosum</i> var. <i>angulosum</i>	
3	ARRUGADA	<i>P. simplex</i> var. <i>simplex</i> <i>P. argentiniense</i> <i>P. braunii</i> <i>P. boryanum</i> var. <i>pseudoglabrum</i>	
4	RED CON VERRUGAS	<i>P. integrum</i> <i>P. subgranulatum</i> <i>P. boryanum</i> var. <i>boryanum</i>	
5	VERRUGAS (CORTAS)	<i>P. boryanum</i> var. <i>forcipatum</i> <i>P. simplex</i> var. <i>clathratum</i>	
6	VERRUGAS (LARGAS)	<i>P. simplex</i> var. <i>Echinulatum</i>	
7	PAPILOSO	<i>Monactinum asymmetricum</i>	
	ROSETAS	<i>M. simplex</i> <i>M. asymmetricum</i> <i>P. marvillense</i> <i>P. subgranulatum</i>	

En la reproducción asexual de *Pediastrum*, el contenido de la célula madre produce zoosporas, estas nadan o se entremezclan en la pared interna de la célula madre por un corto tiempo, ahí forman una vesícula de polisacáridos y proteínas donde se agrupan. Los nuevos cenobios se producen por la acción de autólisis de la vesícula (Millington & Labavitch, 1986). La reproducción sexual, cuando se ha observado, se lleva a cabo por isogamia, donde los gametos se fusionan y forman un cigoto, este al germinar origina zoosporas haploides, luego cambian a un estado inmóvil conocido como células poliédricas, de las cuales se desarrollan nuevos cenobios (Figura 4).

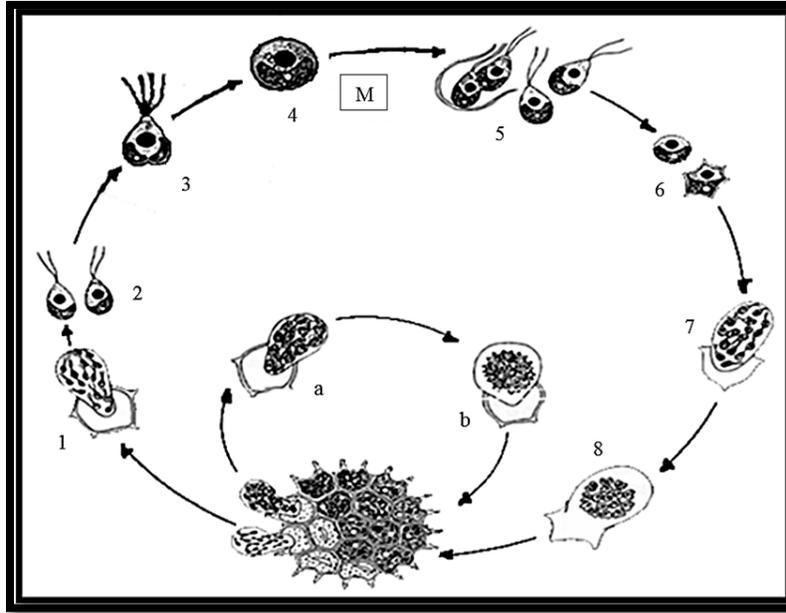


Figura 4. Esquema del ciclo de vida de *Pediatrum boryanum* tomado de Komarek & Jankovská (2001). 1) Célula madre, 2) Isogametos biflagelados, 3) Fusión de los isogametos 4) Hipnocigoto, M) Meiosis, 5) Meioesporas, 6) Las meioesporas pierden la movilidad (célula poliédrica), 7) y 8) Formación del cenobio, a) Zoosporas.

Si bien la morfología es la base de la taxonomía clásica de muchos grupos algales, también desde hace tiempo se ha documentado que esta puede verse influida por factores físicos, químicos y biológicos, como ha quedado comprobado por Segura *et al.*, (2007) quienes investigaron en cultivos de *S. tetras* el tamaño de los cenobios, los cuales fueron pequeños en presencia de altas concentraciones de nutrientes y viceversa. Además de que en presencia de depredadores grandes, los cenobios son de talla pequeña.

En México durante el periodo de 1841-2014 se han publicado en 52 referencias con información de 23 *taxa* infragenéricos del género *Pediatrum sensu latum*, de los cuales siete son indeterminados y una combinación no reconocida, que se distribuyen en 16 entidades federativas del país (Ehrenberg, 1841, 1854; Ralfs, 1848; Wood, 1872; Collins, 1909; Ponce de León, 1909; Sámano-Bishop y Sokoloff, 1931; Sámano-Bishop, 1934; Hoffmann & Sámano-Bishop, 1938; Rioja, 1940, 1942; Osorio-Tafall, 1941, 1944; De Buén, 1941, 1944; Brehm, 1942; Rioja & Herrera, 1951; Deevey, 1957; Sulek, 1969; Kusel-Fetzmann, 1973; Mendoza-González, 1973; Alvarado-Díaz *et al.*, 1984; Ortega,



1984; Mendoza-González *et al.*, 1985; Margain-Hernández, 1989; Arredondo, 1990; Sánchez-Rodríguez & Vázquez, 1990; Alcocer-Durand & Escobar-Briones, 1992; Lozano-García, 1996; Banderas-Tarabay, 1997; López-López & Serna-Hernández, 1999; Quiroz-Castelán *et al.*, 1999; Banderas-Tarabay & González-Villela, 2002; Komárková & Tavera, 2003; Montejano-Zurita *et al.*, 2004; Mora-Navarro *et al.*, 2004; López-Adrián & Barrientos-Medina, 2005; Novelo *et al.*, 2007; Moreno-Ruiz *et al.*, 2008, Figueroa-Torres *et al.*, 2008; Flores-Tena, 2008; Hernández-Morales *et al.*, 2008; Tavera & Díez, 2009; Garduño *et al.*, 2009; Ortega-Murillo *et al.*, 2010; CONABIO, 2011; García-Rodríguez *et al.*, 2011; Garduño-Solórzano *et al.*, 2011; Amateco, 2011; Novelo, 2012 y Oliva-Martínez *et al.*, 2008, 2014).

El concepto de morfoespecie ha sido ampliamente usado en la sistemática algal, y muchos *taxa* han sido designados en principio sólo en la caracterización morfológica. Por tanto, para definir con precisión los límites entre las especies del Orden Sphaeropleales se ha requerido reevaluar los caracteres morfológicos y sumar algunos marcadores moleculares, para que los resultados de los estudios de la biodiversidad y la conservación, las evaluaciones de calidad del agua, y el uso de determinadas especies como indicadores biológicos sean lo más precisos que se requieren. Diferentes investigaciones sobre filogenia molecular y microscopía electrónica de barrido (MEB) de la familia Hydrodictyaceae han confirmado el origen polifilético del género *Pediastrum* (Buchheim *et al.*, 2005; McManus *et al.*, 2011; Jena *et al.*, 2014).

Los caracteres morfológicos y moleculares han permitido una mejor delimitación de los diferentes linajes; sin embargo, aún se debe de tener mucho cuidado en las decisiones taxonómicas, ya que hay ejemplos como *Sorastrum pediastriforme* que morfológicamente es muy semejante a *Pediastrum* mientras que molecularmente se agrupa con el clado de *Sorastrum* (Jena *et al.*, 2014). También los resultados de McManus & Lewis, (2011) señalan en el estudio de 103 cepas de *P. duplex* que morfológicamente eran muy semejantes, pero en los árboles filogenéticos se agruparon aisladamente en un linaje diferente.



De igual forma, *P. duplex* y *Lacunastrum gracillium* son *taxa* que deberán de ser evaluados con mayor precisión morfológica ya que entre ellas pueden confundirse fácilmente por tener fenotipos muy semejantes y presentar una alta plasticidad (McManus *et al.*, 2011).

En las últimas décadas los integrantes de esta familia, han sido investigados a partir del uso de diferentes marcadores moleculares. En particular, Buchheim *et al.*, (2005) reconocieron diferentes linajes utilizando secuencias de la región 26S y del gen mitocondrial *rbcl*, además de las características de la ornamentación de la pared celular observadas en MEB del género *Pediastrum sensu latum* y con base en esta información apuntan que el *taxa* es de origen polifilético, por lo tanto proponen se organice en cuatro géneros adicionales: *Monactinus*, *Parapediastrum*, *Pseudopediastrum* y *Stauridium*. De tal forma que *Pediastrum simplex* fue trasladada a *Monactinus simplex*, *Pediastrum tetras* en *Stauridium tetras*, *Pediastrum boryanum* en *Pseudopediastrum boryanum* y además propusieron el nuevo género *Parapediastrum*. Asimismo, McManus *et al.*, (2011) reconocieron como taxón independiente a *P. duplex* var. *gracillum* y propone el nuevo género *Lacunastrum*. Jena *et al.*, (2014) dan a conocer el análisis filogenético de 28 cepas de tres continentes (Asia, África y Europa), utilizando la región ITS, para con ello confirmar que el género *Pediastrum* es de origen polifilético y con alta plasticidad fenotípica. Keller *et al.*, (2008) basa su estudio en el ITS2, debido a que ofrece un amplio poder de resolución para las relaciones a nivel de especie, debido a su variabilidad en la secuencia y a su estructura secundaria. Por lo que recomienda el uso de este marcador para estudios de filogenia. En el presente estudio se ha tomado la región de ITS2 para la realización de la estructura secundaria demostrando diferencias en cuanto a la determinación morfológica y lo molecular. Estos recursos biológicos se han estudiado en México desde hace varios años, sin embargo no a partir de cultivos, así como sin incorporar marcadores moleculares ni observaciones de MEB para especies mexicanas. Por ello la combinación de estas técnicas ayuda a complementar y dar a conocer así como registrar las especies de este género en México, con un enfoque polifásico.



## OBJETIVOS

### **Objetivo general**

- Comparar taxonómicamente diversos organismos del género *Pediastrum sensu lato* de México, utilizando datos morfológicos, ambientales y moleculares.

### **Objetivos particulares**

- Identificar la distribución regional del género *Pediastrum* en México utilizando los registros publicados durante el periodo 1841-2014, para señalar los ambientes donde crecen y el estado de conocimiento del *taxa* en el país
- Analizar algunas condiciones físicas químicas de los ambientes: pH, temperatura del agua, alcalinidad, dureza total, oxígeno disuelto, amonio, nitratos y ortofosfatos en relación con los *taxa* determinados.
- Describir el material biológico de estudio con base en el concepto de especie morfológica, a partir de las muestras de campo y las cepas aisladas de *Pediastrum* en microscopía óptica (MO) y la ultraestructura de la pared celular en microscopía electrónica de barrido (MEB).
- Analizar las cepas aisladas a partir de la secuencia de la región ITS2 del ADNr, para confirmar la posición filogenética de las especies.



## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### **Documentación bibliográfica**

- a) Para reunir la información publicada sobre el género *Pediastrum* en México, se realizó una base de datos, a partir de la documentación de los trabajos ficológicos de México, que abarcó el periodo 1841-2014.
- b) Para capturar la información ficológica, se diseñó el siguiente formato para reunir la información taxonómica, geográfica y la referencia bibliográfica de cada registro.

<b>Registro de la información bibliográfica</b>	
<b>Género</b> _____	<b>Especie</b> _____
<b>Variedad</b> _____	<b>Nombre válido</b> _____
<b>Entidad federativa</b> _____	<b>Localidad</b> _____
<b>Localización</b> _____	<b>Habitad</b> _____
<b>Fuente</b> _____	<b>Año</b> _____

- c) Una vez obtenida la información, se actualizó la nomenclatura a través de la consulta de Buchheim *et al.*, (2005), McManus *et al.*, (2011), Jena *et al.*, (2014) y Guiry & Guiry (2015).
- d) A partir de la información del banco de datos, se reconocieron los siguientes rubros: la riqueza taxonómica de cada *taxa*, frecuencia de registro, distribución a través de las entidades federativas y referencias de publicación del *taxa* en el país.



### **Exploraciones ficológicas**

El material biológico se obtuvo con una red de fitoplancton de abertura de malla de 20µm y fue colocado en frascos de plástico de 100ml (Villa *et al.*, 1996).

En el presente estudio se realizó la colecta en ocho localidades de tres entidades federativas del país: Puebla, Estado de México y Distrito Federal (Figura 5) que a continuación se detallan en la Tabla 2.

Tabla 2. Entidades federativas, localidades, coordenadas geográficas y ubicación en el mapa de los sitios de colecta.

Entidad Federativa	Localidad	Coordenadas		Ubicación en el mapa Figura 5
		Latitud N	Longitud O	
<b>Puebla</b>	Arroyo Tilapa, Zapotitlán	18°28'00"	97°24'00"	5c), 1
<b>Distrito Federal</b>	Cantera Oriente de la reserva ecológica del Pedregal de San Ángel, Ciudad Universitaria, D.F.	19°19'03.50	99°10'21.48"	5b), 2
	Nativitas, embarcadero, Xochimilco	19°15'50.20"	99°05'23.53"	5b), 3
	Pista Olímpica de Remo y Canotaje, Virgilio Uribe	19°16'31.56"	99°06'15.53"	5b), 4
<b>Estado de México</b>	Eco parque Acoatl, Tlalnepantla de Baz	19°31'53"	99°06'43.43"	5a), 5
	Embalse Villa Victoria	19°27'22.87"	99°59'10.51"	5a), 6
	Laguna de Santa Cruz del Rincón	19°40'05"	99°06'10"	5a), 7
	Lago el Sol, Nevado de Toluca	19°06'36"	99°45'36"	5a), 8

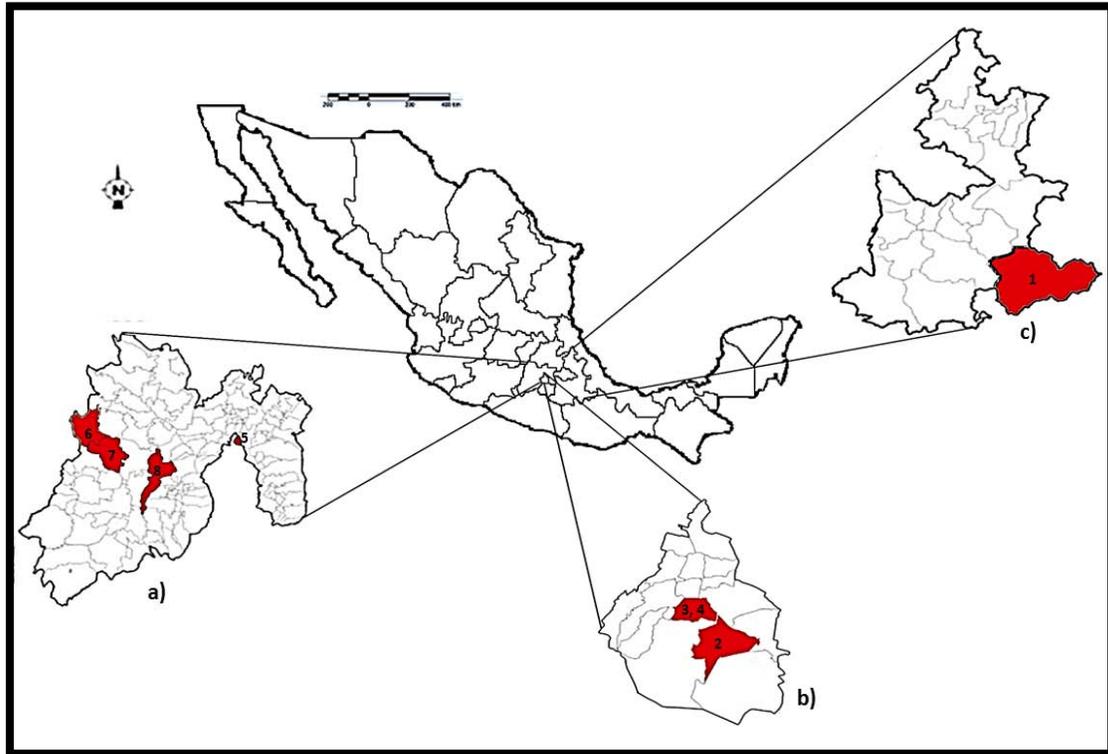


Figura 5. Ubicación de las tres entidades federativas en México y los sitios de colecta; a) Estado de México, b) Distrito Federal y c) Puebla. En rojo se indican con número arábigo la ocho localidades estudiadas; (1) Arroyo Tilapa, Zapotitlán, (2) Cantera Oriente de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel, Ciudad Universitaria, (3) Nativitas, Embarcadero, Xochimilco, (4) Pista Olímpica de remo y canotaje Virgilio Uribe, (5) Eco Parque Acoatl, Tlalnepantla de Baz, (6) embalse Villa Victoria, (7) Laguna de Santa Cruz del Rincón (8) Lago El Sol, Nevado de Toluca.

### **Parámetros físicos-químicos**

Se tomaron algunos parámetros en los lugares de colecta entre ellos el pH: tomado con el potenciómetro de campo marca Cole Parmer, temperatura: con un termómetro de mercurio marca Brannan, coordenadas geográficas: con el GPS Maguellan modelo Meridian. La alcalinidad, dureza total y oxígeno disuelto por técnicas titulométricas (Robles *et al.*, 2007). En el laboratorio se midieron los registros de amonio, nitratos y ortofosfatos mediante las técnicas de Nessler, reducción de cadmio y método de molibdovanato respectivamente utilizando un espectrofotómetro marca Hach modelo DR2800. Esta última sección del trabajo se realizó en el Acuario Juan Luis Cifuentes Lemus de la FES Iztacala.



### ***Aislamiento de las cepas***

El aislamiento de las microalgas se realizó con una pipeta Pasteur cuya punta se adelgazo finamente usando calor y en la boquilla se instaló una manguera de látex, que sirvió como succionador. Por su parte, en un portaobjetos, se colocó una gota con el material biológico y se utilizó la pipeta antes mencionada, para tomar por capilaridad el organismo de interés; esta gota se ubicó en otro portaobjetos que contenía una gota de agua limpia. Misma que se revisaba en el microscopio estereoscópico para confirmar haber realizado el aislamiento (Band-Schmidt, 2007). En caso necesario se repetía esta acción hasta lograr el objetivo.

Los cultivos provienen del material colectado en las localidades de: Cantera Oriente de la reserva ecológica del Pedregal de San Ángel, Ciudad Universitaria, Arroyo Tilapa, Zapotitlán y Lago El Sol, Nevado de Toluca.

### ***Condiciones de cultivo***

Los cultivos se mantuvieron con un fotoperiodo de 12:12 utilizando lámparas de luz incandescentes con intensidad luminosa de  $90 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  y temperaturas de 18-22°C (Band-Schmidt, 2007). Se utilizaron los medios Bold basal 3M y fertilizante foliar Fertiplus (FFF) (Anexo 1, UTEX, 2014; Garduño-Solórzano *et al.*, 2011; Almaraz-Rivera, 2013).

### ***Determinación taxonómica***

El material biológico fue observado con microscopía de luz (ML) Nikon YS2-T, equipado con una cámara Sony DSC-P200 de 8.2 megapíxeles y con microscopía electrónica de barrido (MEB) para registrar los caracteres morfológicos y con ello determinar cada taxón apoyados con tinciones y con las claves de Cambra-Sánchez *et al.*, (1998), Komarék & Jankovská (2001), John & Tsarenko (2002) y Hällfors (2004). El material estudiado fue depositado en colección ficológica del herbario IZTA (Thiers, 2014).



### **Microscopía electrónica de barrido (MEB)**

Las muestras fueron observadas en el MEB marca JEOL modelo JSM 6380 LV localizado en el laboratorio de Fisiología Vegetal de la Unidad de Biotecnología y Prototipos FES Iztacala, UNAM. Se fijaron 10ml de muestra con glutaraldehído al 2%, se tomó una gota de la muestra fijada y se colocó sobre un filtro millipore de 0.45µm de tamaño de poro, dejando secar la muestra al aire, se montó sobre una cinta de doble cara en bases de aluminio, después se cubrió con oro para la observación al MEB (Boltovskoy, 1976).

### **PCR y secuenciación**

Para la obtención del amplicon de la región ITS de cuatro cepas de *Pediastrum sensu latum* se utilizó el kit Thermo Scientific Phire Plant Direct PCR, (Thermo Fisher Scientific, 2013). Modificado de la siguiente forma:

Se tomaron 20µL del cultivo, en principio se le hizo un lavado que consistió en centrifugar la muestra 1 min a 8000rpm, quitar el sobrenadante y luego agregar 50µL de agua destilada, volver a centrifugar, quitar el sobrenadante. A partir de este material se tomaron 20µL y se le agregó 20µL de solución buffer, los cuales se agitaron en vortex 1 min.

Para hacer las reacciones de PCR se realizaron dos muestras: una concentrada y otra diluida. En la primera, fueron colocados 20µL de muestra +20 µL de solución buffer; para la segunda se tomaron 10µL de la muestra concentrada + 20 µL de solución buffer.

Se preparó la mezcla de reacciones para la PCR: 10 µL del buffer 2X, 0.4 µL del primer mix, 0.4 µL de la polimerasa y de cada una de las muestras preparadas (una concentrada y otra diluida) se tomó 0.5 µL y 8.7 µL de H<sub>2</sub>O. Para la técnica de PCR, los primers utilizados fueron: 1800F directo 5'-ACCTGCGGAAGGATCATTG-3' (Helms *et al.*, 2003) e ITS4 reverso 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3' (White *et al.*, 1990) para obtener el amplicon del producto de PCR y que corresponde a la región del ITS.



Las condiciones del termociclador fueron las siguientes: un ciclo inicial de y desnaturalización a 98°C por 5 min, seguido de 40 ciclos, desnaturalización a 98°C por 5s, alineamiento 57°C y 55°C por 5s y extensión a 72°C por 20s; y un ciclo de extensión final a 72°C durante 1min, seguida de una temperatura constante de 4°C. Esta reacción se llevó a cabo en un termociclador Gene Amp PCR System 9700 (Perkin-Elmer, San José California, EUA) (Thermo Fisher Scientific, 2013).

Los amplicones esperados de 250 pb se observaron de igual forma por electroforesis horizontal en geles de agarosa al 1.2%. Los amplicones obtenidos para ITS de los *Pediastrum* fueron secuenciados, en la FES-Iztacala, con el equipo Genetic Analyzer 3130XL de 16 capilares de 50 cm llenados con soporte POP 6, y las reacciones con el paquete BigDye 3.1; los reactivos y equipo son de marca Applied Biosystem.

### **Análisis filogenético**

Para el análisis de las secuencias se utilizó el software bioinformático Geneious ver. 8.0.5. El alineamiento de las secuencias se revisó de manera manual, junto con las herramientas de búsqueda de alineación local básica BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) de la base de datos del Centro Nacional para la Información Biotecnológica de E.U.A. (NCBI) utilizándose las secuencias de los organismos con los que existiera un mayor porcentaje tanto de identidad (I) y cobertura (C) con las cepas estudiadas (Anexo 2)

Con ayuda de software Geneious ver. 8.0.5 se realizó un árbol filogenético de las secuencias obtenidas en este trabajo y se compararon con 42 secuencias del NCBI que tenían el mayor porcentaje de identidad y cobertura con las cepas estudiadas.

Los alineamientos fueron analizados con “Find Model” ([www.hiv.lanl.gov/content/sequence/findmodel/findmodel.html](http://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/findmodel/findmodel.html)) para obtener el mejor modelo que determine las relaciones filogenéticas. El método Neighbor-Joinig se utilizó para la construcción de los árboles y el modelo Jukes-Cantor con el método de “Bootstrap” para el remuestreo con un número de réplicas de 10,000. Se incluyeron cepas representantes de los géneros *Pediastrum*, *Pseudopediastrum*, *Parapediastrum*



*Monactinus* y *Sorastrum*, seleccionados a partir de las base de datos del NCBI. La selección de secuencias adicionales se realizó con base en Buchheim *et al.* (2005), McManus & Lewis (2011) y Jena *et al.*, (2014). Como grupo externo se utilizó *Scenedesmus obliquus* UTEX 393AJ249505.

El análisis de la secuencia de la estructura secundaria se realizó siguiendo el método de mathius RNA a 65°C. Donde utilizó la base de datos ITS2 (geneius). Para las cepas de *Pseudopediastrum integrum*, *Pseudopediastrum* aff<sub>1</sub>. *integrum*, *Pseudopediastrum* aff<sub>2</sub>. *integrum* y *Pseudopediastrum* aff. *boryanum*, se realizó una búsqueda BLAST identificando la estructura de la secuencia de pares en la interfaz web de la base de datos ITS2 (Koetschan *et al.*, 2012). Las múltiples alineaciones globales de la estructura de la secuencia fueron generadas en Geneius ver. 8.0.5 (Seibel *et al.*, 2008).

### **Análisis de variables y taxa determinados**

Para realizar el análisis de correspondencia canónica (ACC), entre las especies y variables físicos químicas cuantificadas, se construyeron dos matrices en Excel; la primera contenía la información taxonómica en cada una de las localidades estudiadas y en la segunda se presentan las nueve variables físicos químicas cuantificadas. En ambas matrices fue necesario transformar en LOG10+1 todos los datos excepto los valores del pH, con la finalidad de homogenizar la información (Ter Braak & Smilauer, 2009).

Se utilizó el software CANOCO versión 4.5, con las matrices diseñadas para el ACC. Para evaluar la significancia estadística de la relación entre las variables ambientales y los *taxa* estudiados se realizó la prueba de permutaciones Monte Carlo (4999 permutaciones,  $\alpha = 0.05$ ) que se incluye en CANACO.



#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

##### ***Documentación bibliográfica***

La investigación bibliográfica del periodo de 1841–2014 del género *Pediastrum* citada en México registró 23 *taxa* infraespecíficos, los cuales están distribuidos en las siguientes entidades federativas: Aguascalientes, Campeche, Distrito Federal, Estado de México, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Morelos, Oaxaca, Puebla, Quintana Roo, San Luis Potosí, Sinaloa, Tlaxcala y Veracruz. De las 16 entidades federativas con información del género, las que presentaron mayor cantidad de registros fueron: Michoacán, Distrito Federal y Estado de México con 39, 27 y 26 respectivamente (Figura 7 y Tabla 3).

El análisis histórico a través de las referencias publicadas que abordan el conocimiento del género *Pediastrum sensu latum* en México a lo largo de 173 años, indicó el siguiente panorama. Durante el periodo 1841-1973 las publicaciones fueron realizadas por colectores o investigadores extranjeros (Figura 6).

Christian Gottfried Ehrenberg (1841, 1843, 1854) fue el primer naturalista, quien colectó material de muchas regiones del mundo, entre ellas materiales biológicos del río Moctezuma, Hidalgo que contenían *Pediastrum senarium* Ehrenberg, *taxa* descrito por él y la cual está depositado en el herbario de Berlín (BHU) (Ortega 1984), pero que requiere ser estudiado para validar su estatus taxonómico, ya que por el momento es una especie que no ha sido reconocida por Guiry & Guiry (2015). Otras seis contribuciones fueron los trabajos de Ralfs (1848), Wood (1872), Collins (1909), Deevey (1957), Sulek (1969) y Kusel-Fetzmann (1973) quienes citaron algunas especies del género en diferentes localidades del país.

Por su parte la producción científica de investigadores mexicanos inició con la contribución de Ponce de León (1909) a través de sus apuntes sobre la flora de Sinaloa citó a *Pediastrum biradiatum* Meyen. Más tarde, en el Instituto de Biología, UNAM se desarrollaron numerosos trabajos sobre la ficoflora del país a cargo de investigadores adscritos al Instituto, entre ellos, Amelia Sámano Bishop y Demetrio Sokoloff (1931,



1934); Hoffmann y Sámano-Bishop (1938) quienes señalaron varias especies para el Valle de México, Oaxaca y otras localidades.

Necesidades nacionales en el manejo acuícola del lago de Pátzcuaro, en Michoacán, coadyuvaron al estudio de la ficoflora por Osorio Tafall y De Buén (1941); Brehm (1942); De Buén (1943, 1944). También, Rioja (1940, 1942) y Rioja & Herrera (1951) estudiaron material de la laguna de San Felipe Xochiltepec, Puebla, así como de la laguna y canales de Lerma del Estado de México.



Figura 6. Ficólogos extranjeros y nacionales con aportes del género *Pediastrum* a) Christian Gottfried Ehrenberg b) Amelia Sámano Bishop y c) Eberto Novelo Maldonado.

En la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, I.P.N, ficólogas mexicanas publicaron materiales del Estado de México, Michoacán e Hidalgo respectivamente (Mendoza González, 1973, Mendoza González *et al.*, 1985 y Sánchez Rodríguez *et al.*, 1990).

Las publicaciones de Alvarado-Díaz (1984) y López-López & Serna-Hernández (1999) incluyen información taxonómica de la ficoflora de Michoacán y Guanajuato; entidades federativas que apoyan el desarrollo del conocimiento de esta disciplina a través de la Universidades locales.

En diferentes Institutos y Facultades de la Universidad Nacional Autónoma de México, en las siguientes décadas se continúa el estudio de ambientes epicontinentales, desde un enfoque limnológico como las investigaciones de Arredondo (1990), Alcocer-Durand & Escobar-Briones (1992), Banderas-Tarabay (1997), Banderas-Tarabay & González-Villela (2002), quienes reconocieron algunos *taxa* del género *Pediastrum*. También, Montejano-Zurita *et al.*, (2004) y Novelo *et al.*, (2007) contribuyen al conocimiento taxonómico del género en estudio.



Investigaciones ficológicas en lagos urbanos, embalses y lagos del D.F., Estado de México y Veracruz han sido abordadas por Oliva Martínez *et al.*, (2008) y Gaytán-Herrera *et al.*, (2011). Ficólogos de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM quienes estudian la ficoflora, sumadas a la caracterización del ambiente donde se colectan. Por primera vez, en México, se incluye información de la ultraestructura de la pared celular y caracterización molecular de algunas especies del género *Pediastrum* por Garduño *et al.*, (2011).

Existen pocos libros especializados que incluyan información del género, entre ellos, el Catálogo de algas Continentales Recientes de México de Ortega (1984), y los apuntes de Xochimilco por Figueroa *et al.*, (2008). La Comisión Nacional de Biodiversidad ha editado varias obras donde reúnen el estado actual de la Diversidad del Estado de México (Garduño *et al.*, 2009), Puebla (CONABIO, 2011) y Veracruz (Okolodkov & Blanco-Pérez, 2011). Una obra regional de la ficoflora de Tehuacán fue publicada por Novelo (2012).

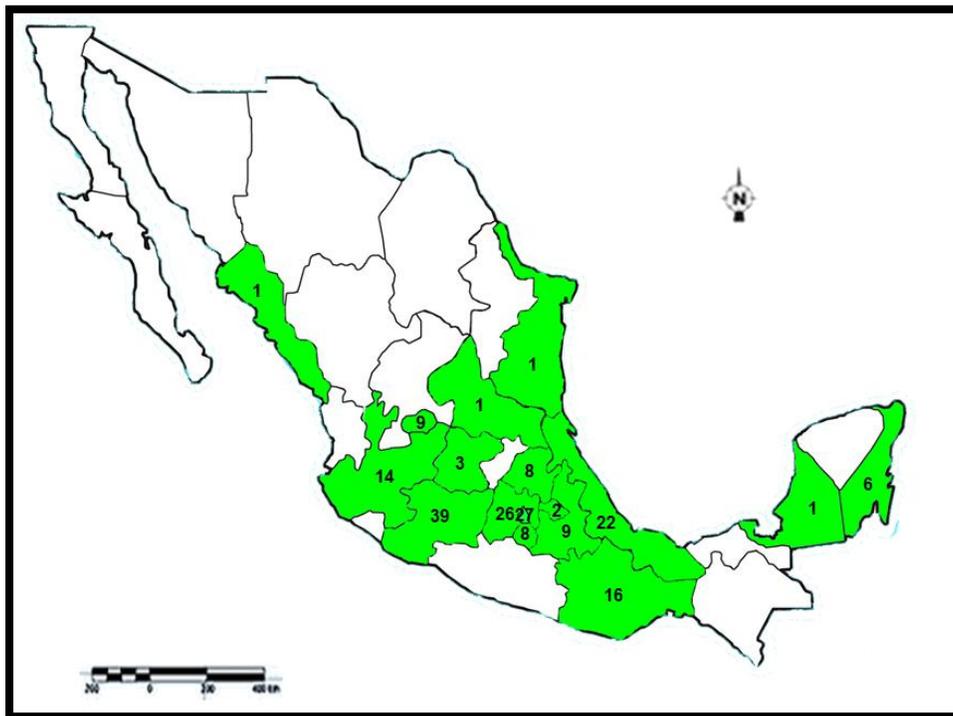


Figura 7. Distribución de los registros del género *Pediastrum* en el país, en las 16 entidades federativas durante el periodo 1841–2014; los números arábigos indican la cantidad de especies citadas para cada estado.



Tabla 3. Especies registradas del género *Pediastrum sensu latum* en México, durante el periodo 1841-2015.

TAXA	DESCRIPTOR
<i>Monactinus duodenarius</i>	J.W. Bailey
<i>Monactinus simplex</i>	(Meyen) Corda
<i>Monactinus simplex</i> var. <i>echinulatum</i>	(Wittrock) Pérez, Maidana & Comas
<i>Monactinus simplex</i> var. <i>sturmii</i>	Reinsch) Pérez, Maidana & Comas
<i>Parapediastrum biradiatum</i>	(Meyen) E. Hegewald
<i>Pediastrum angulosum</i>	Ehrenberg ex Meneghini
<i>Pediastrum argentinense</i>	Bourrelly & Tell
<i>Pediastrum boryanum</i> var. <i>cornutum</i>	(Raciborski)
<i>Pediastrum boryanum</i> var. <i>longicorne</i>	Reinsch
<i>Pediastrum duplex</i>	Meyen
<i>Pediastrum duplex</i> var. <i>clathratum</i>	(A. Braun) Lagerheim
<i>Pediastrum duplex</i> var. <i>cohaerens</i>	(Bohlin) Ergashev
<i>Pediastrum duplex</i> var. <i>reticulatum</i>	Lagerheim
<i>Pediastrum heptactis</i>	(Ehrenberg) Meneghini
<i>Pediastrum simplex</i> var. <i>biwaense</i>	Fukushima
<i>Pediastrum simplex</i> var. <i>clathratum</i>	Schröter
<i>Pediastrum simplex</i> var. <i>radians</i>	Lemmermann
<i>Pediastrum tetras</i> var. <i>tetraodon</i>	(Corda) Hansgirg
<i>Pediastrum clathratum</i> var. <i>baileyianum</i>	Lemmerman
<i>Pediastrum simplex</i> f. <i>compactum</i>	Chodat
<i>Pseudopediastrum boryanum</i>	(Turpin) E. Hegewald
<i>Pseudopediastrum integrum</i>	(Nägeli) Jena et C. Bock
<i>Stauridium tetras</i>	(Ehrenberg) E. Hegewald

### Exploraciones ficológicas

La colecta se realizó en la zona centro del país abarcando Puebla, Estado de México y Distrito Federal. En total se obtuvo material biológico de ocho localidades, de ellas, una corresponde a un ambiente lótico de Puebla, cuatro localidades en el Estado de México que incluyen lagos tropicales de alta montaña Nevado de Toluca y un embalse Villa Victoria, un ambiente léntico Laguna de Santa Cruz del Rincón y un lago urbano Eco Parque Acoatl y tres correspondientes al Distrito Federal: Cantera Oriente que corresponde a un ambiente léntico y dos lóticos en Xochimilco (Tabla 4).

De los aislamientos realizados se obtuvieron cuatro cultivos unialgales, de las localidades del Lago El Sol, Nevado de Toluca, Cantera Oriente y Arroyo Tilapa, Zapotitlán.



Tabla 4. Registro ficoflorístico del género *Pediastrum sensu latum* en las ocho localidades estudiadas, Los cultivos obtenidos, se indican con el número de herbario y con la letra (p) se marca la presencia; donde (1) Arroyo Tilapa, Zapotitlán, (2) Cantera Oriente de la reserva ecológica del Pedregal de San Ángel de Ciudad Universitaria, (3) Nativitas, Embarcadero, Xochimilco, (4) Pista Olímpica de remo y canotaje Virgilio Uribe, (5) Eco Parque Acoatl, Tlalnepantla de Baz, (6) Villa Victoria, (7) Laguna de Santa Cruz del Rincón, (8) Lago El Sol, Nevado de Toluca.

Taxa	Puebla	Distrito Federal			Estado de México			
	1	2	3	4	5	6	7	8
<i>Pediastrum duplex</i> Meyen			p	p		p	p	
<i>Pseudopediastrum boryanum</i> (Turpin) E. Hegewald		p	p	p	p			
<i>Pseudopediastrum</i> aff. <i>boryanum</i>	IZTAc-1847							
<i>Pseudopediastrum integrum</i> (Nägeli) Jena et Bock			IZTAc-1841					
<i>Pseudopediastrum</i> aff. <i>integrum</i>	IZTAc-1842							
<i>Pseudopediastrum</i> aff. <i>integrum</i>								IZTAc-1843
<i>Stauridium tetras</i> (Ehrenberg) E. Hegewald	p		p				p	
<i>Monactinus simplex</i> (Meyen) Corda						p	p	
<i>Pediastrum simplex</i> var. <i>clathratum</i> Schröter						p		

### Cuantificación de parámetros físicos-químicos

En la Tabla 5, se indican las condiciones ambientales que se registraron en las diferentes localidades estudiadas; para la altitud fluctuó entre los 1646 a 4209 m; el pH osciló de 7.3-9.7 por lo que las especies de *Pediastrum* se desarrollaron en ambientes neutros a básicos. Por su parte, la temperatura del agua fue desde 7.5 a 24°C, esto indica que el género es un *taxa* euritérico, ya que el intervalo de variación fue de 16.5°C. Respecto a la alcalinidad total se registraron de 23-250 mg l<sup>-1</sup> CaCO<sub>3</sub> y dureza total fue de 47-320 mg l<sup>-1</sup> CaCO<sub>3</sub>; por tanto los ambientes donde se desarrollan estas especies son de poco a ligeramente mineralizadas. El oxígeno disuelto en la columna de agua osciló entre 4-8 mg l<sup>-1</sup> que se indica que este *taxa* que crece en lugares bien oxigenados. Los valores de amonio fluctuaron entre 0.13-0.33 mg l<sup>-1</sup>, nitratos de 0.2-0.6 mg l<sup>-1</sup> y ortofosfatos 0.1-2.3 mg l<sup>-1</sup>. Estos nutrimentos, nos permiten señalar que las



especies se distribuyen en ambientes oligotróficos como Lago El Sol, Nevado de Toluca y Laguna de Santa Cruz del Rincón. Mientras que valores altos de ortofosfatos y nitratos corresponden con base al criterio de Wetzel (2001) a ambientes eutróficos, como la Pista Olímpica de remo y canotaje.

Tabla 5. Parámetros físico-químicos en: (1) Arroyo Tilapa, Zapotitlán, (2) Cantera Oriente de la reserva ecológica del Pedregal de San Ángel de Ciudad Universitaria, (3) Nativitas, Embarcadero, Xochimilco, (4) Pista olímpica de remo y canotaje Virgilio Uribe, Emiliano Zapata, Iztapalapa, (5) Eco Parque Acoatl, Tlalnepantla de Baz, (6) Villa Victoria, (7) Laguna de Santa Cruz del Rincón, (8) Lago El Sol, Nevado de Toluca.

	Puebla	Distrito Federal			Estado de México			
	1	2	3	4	5	6	7	8
Altitud (msnm)	1646	2280	2243	2240	2300	2563	2500	4209
pH	7.6	9.5	7.3	8.4	9.7	7.8	8	7.3
Temperatura agua (°C)	21	12	20	21	21	24	18	7.5
Alcalinidad (mg l <sup>-1</sup> CaCO <sub>3</sub> )	250	77	137	189	93	57	51	23
Dureza total (mg l <sup>-1</sup> CaCO <sub>3</sub> )	320	35	178	205	218	79	68	47
Oxígeno Disuelto (mg l <sup>-1</sup> )	4	7	4	7.6	8	6	7	4.7
Amonio (mg l <sup>-1</sup> )	0.15	0.18	0.8	0.23	0.25	0.13	0.21	0.33
Nitratos (mg l <sup>-1</sup> )	0.3	0.3	1.2	0.6	0.3	0.2	0.5	0.54
Ortofosfatos (mg l <sup>-1</sup> )	1.6	0.8	0.58	2.3	0.4	0.8	0.1	0.1

En la Tabla 6, se indican las condiciones ambientales de altitud, pH, temperatura, alcalinidad, dureza, oxígeno disuelto, amonio, nitratos y ortofosfatos, registradas para cada una de las especies estudiadas.

*Pediastrum duplex* es una especie reconocida en el río Amacuzac, Morelos donde las condiciones ecológicas fueron de temperatura de 21.5-29°C, pH 6.9-8.1, oxígeno 5.3-7.8 mg l<sup>-1</sup> por García-Rodríguez *et al.*, (2011). En contraste, en las dos localidades estudiadas en este trabajo el registró temperatura fue de 18-20°C; mientras que el pH y oxígeno disuelto fueron similares. Esto confirma que es un taxón euritérmico, con buen



desarrollo en ambientes oligotróficos y eutróficos, ya que las concentraciones de ortofosfatos fueron de 0.1-0.58 mg l<sup>-1</sup>, como ya había sido señalado por Komárek & Jankovská (2001). De la misma manera *Pseudopediastrum* aff<sub>1</sub>. *integrum*, *Monactinus simplex* y *Pseudopediastrum boryanum* se desarrollan en ambientes eutróficos. En contraste, *Stauridium tetras* y *Pseudopediastrum* aff<sub>2</sub>. *integrum* son de ambientes oligotróficos (Tabla 6).

Round (1981) señala que son poco conocidas las condiciones ambientales donde crecen muchas especies ficológicas; con esta información damos a conocer las condiciones para cada población mexicana de los *taxa* estudiados (Tabla 6).

Tabla 6. Valores de los parámetros fisicoquímicos en que se recolectaron las especies

	Altitud msnm	pH	Temperatura agua (°C)	Alcalinidad (mg l <sup>-1</sup> CaCO <sub>3</sub> )	Dureza total (mg l <sup>-1</sup> CaCO <sub>3</sub> )	Oxígeno Disuelto (mg l <sup>-1</sup> )	Amonio (mg l <sup>-1</sup> )	Nitratos (mg l <sup>-1</sup> )	Ortofosfatos (mg l <sup>-1</sup> )
<i>Pediastrum duplex</i> Meyen	2243- 2500	7.3- 8	18-20	51-137	68-178	4-7	0.21-0.8	0.5-1.2	0.1-0.58
<i>Pseudopediastrum</i> <i>boryanum</i> (Turpin) E. Hegewald	2300	9.7	21	93	218	8	0.25	0.3	0.4
<i>Pseudopediastrum</i> <i>aff. boryanum</i>	1646	7.6	21	250	320	4	0.15	0.3	1.6
<i>Pseudopediastrum</i> <i>integrum</i> (Nägeli) Jena et Bock	2280	9.5	12	77	35	7	0.18	0.3	0.8
<i>Pseudopediastrum</i> <i>aff. integrum</i>	1646	7.6	21	250	320	4	0.15	0.3	1.6
<i>Pseudopediastrum</i> <i>aff. integrum</i>	4209	7.3	7.5	23	47	4.7	0.33	0.54	0.1
<i>Stauridium tetras</i> (Ehrenberg) E. Hegewald	2500	8	18	51	68	7	0.21	0.5	0.1
<i>Monactinus</i> <i>simplex</i> (Meyen) Corda	2563	7.8	24	57	79	6	0.13	0.2	0.8
<i>Pediastrum</i> <i>simplex</i> var. <i>clathratum</i> Schröter	2563	7.8	24	57	79	6	0.13	0.2	0.8



## Determinación taxonómica

En cada uno de los *taxa* determinados con caracteres morfológicos y con la información de la secuencia del ITS2, se incluye la siguiente información: nombre válido de la especie, sinónimos, referencias consultadas, descripción morfológica, información del clado mexicano, distribución mundial y nacional, material estudiado, localidad, cultivo, secuencia del ITS2, fotografías al MO y MEB, posición filogenética y observaciones.

### ***Pediastrum duplex* Meyen**

Sinónimos: *Pediastrum napoleonis* Ralfs, *Pediastrum pertusum* Kützing, *Pediastrum selenaea* Kützing 1845, *Pediastrum duplex* var. *reticulatum* Lagerheim 1882, *Pediastrum duplex* var. *clathratum* (A. Braun) Lagerheim 1882.

Cambra-Sánchez *et al.*, 1998; Komarék & Jankovská 2001: 56-60; John & Tsarenko 2002: 377-378, lámina 93G; Hällfors 2004; Buchheim *et al.*, 2005; McManus & Lewis, 2011.

**DESCRIPCIÓN:** Cenobios (28-) 35-135 (-212)  $\mu\text{m}$  de diámetro, con espacios intercelulares, células contiguas generalmente tiene paredes laterales cóncavas, células marginales 6-24 (28-) x 6-24 (-28)  $\mu\text{m}$ , con dos lóbulos de cortos a largos, cilíndricos o estrechándose ligeramente en las puntas, se extienden paralelamente una de la otra, con incisión de tipo V; células internas (4-) 6-21 (-26) x (4-) 5-21 (-30)  $\mu\text{m}$ , teniendo una forma de H a angular, resultando muy evidente los espacios intercelulares; pared ondulada, sin granulaciones, con un patrón en forma de red tipo 4, o arrugada tipo 3.

**DISTRIBUCIÓN MUNDIAL:** **Asia:** Taiwán, China, Singapur; **Europa:** Andorra, Mar Báltico, Mar Negro, Gran Bretaña, Alemania, Polonia, Portugal, Rumania, España; **América del Norte:** Arkansas, Nueva Jersey, Nueva York, Carolina del Norte, Virginia; **Islas del Caribe:** Cuba; **América del Sur:** Brasil; **Australia y Nueva Zelanda:** Nueva Gales del Sur, Queensland, Victoria, Australia Occidental, Tasmania; **islas del Pacífico:** Islas de Hawái (Guiry & Guiry, 2015).

**DISTRIBUCIÓN EN MÉXICO:** **Michoacán** (Osorio-Tafall, 1941; De Buen, 1944; Mendoza-González, 1985), **Distrito Federal** (Sámamo, 1934; Osorio-Tafall, 1941;



Figuroa *et al.*, 2008), **Estado de México** (Margain-Hernández, 1989; Banderas-Taray, 1997), **Tlaxcala e Hidalgo** (Margain-Hernández, 1989), **Veracruz** (Margain-Hernández, 1989) y **Oaxaca** (Ortega, 1984).

*LOCALIDADES ESTUDIADAS:*

1. Laguna de Santa Cruz del Rincón, Estado de México:

**Cenobios** de 15-16 células, de 43-63  $\mu\text{m}$  de diámetro. **Células marginales** de 10-12 x 10-18  $\mu\text{m}$  con dos lóbulos largos, procesos cortos, las paredes laterales cóncavas, las proyecciones son cóncavas situadas paralelamente una de otra. **Células internas** de 7-15 x 7-12  $\mu\text{m}$ , variando de forma angular a “H”, células unidas únicamente por las esquinas. En MEB, se observó la **pared celular** formando una red con verrugas, tipo 4 según Komarék & Jankovská (2001), Figuras 8 y 9.

*Material estudiado:* IZTA-1838.

*Observaciones:* la pared celular de esta variedad había sido citada como tipo 3 por Komarek y Jankovská (2001). Por su parte, John & Tsarenko (2002) indican que la pared está cubierta por gránulos distribuidos al azar y con pliegues, lo que podría interpretarse como una ornamentación tipo 4. En el material mexicano estudiado la ornamentación se observó en forma de red, lo que la ubica en ornamentación tipo 2.

2. Xochimilco, Nativitas: Distrito Federal

**Cenobios** más o menos en forma circular, de 16 células, de 52-98  $\mu\text{m}$  de diámetro, con orificios generalmente más pequeños que el diámetro de la célula; las **células marginales** en forma más o menos cuadrada, de 12-15 x 15-18  $\mu\text{m}$  los lados ligeramente cóncavos, unidas solo por las esquinas, con una incisión en forma de “V” y con dos lóbulos que terminan en procesos cilíndricos; **células internas** 7-10 x 12-15  $\mu\text{m}$ ; en MEB, se observó la **pared celular** formando una red, tipo 2, Figuras 10 y 11.

*Material estudiado:* IZTA-1839.



**Observaciones:** la pared celular de esta especie había sido citada como tipo 2 por Komárek & Jankovská (2001). Sin embargo, esta ornamentación se observó en forma de red con verrugas, tipo 4. Además, John & Tsarenko, (2002) describieron la pared lisa tipo 1.

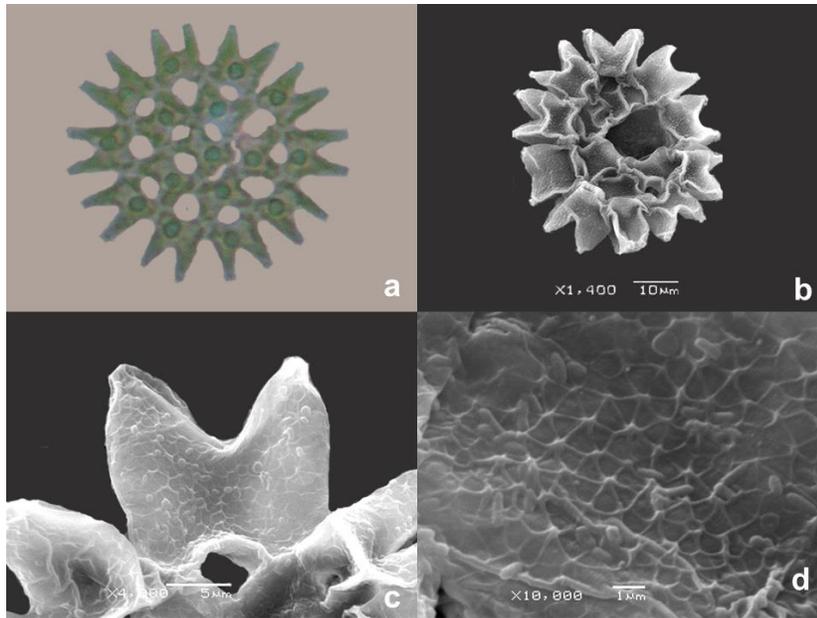


Figura 8. Cenobio de *Pediastrum duplex* Meyen, colectado de la Laguna de Santa Cruz del Rincón, Estado de México, a) y b) Aspecto general del cenobio, c) Aspecto general de las células marginales, incisión, lóbulos y proceso, d) Detalle de la ornamentación de la pared celular tipo 4. ML (a) y MEB (b, c, d).

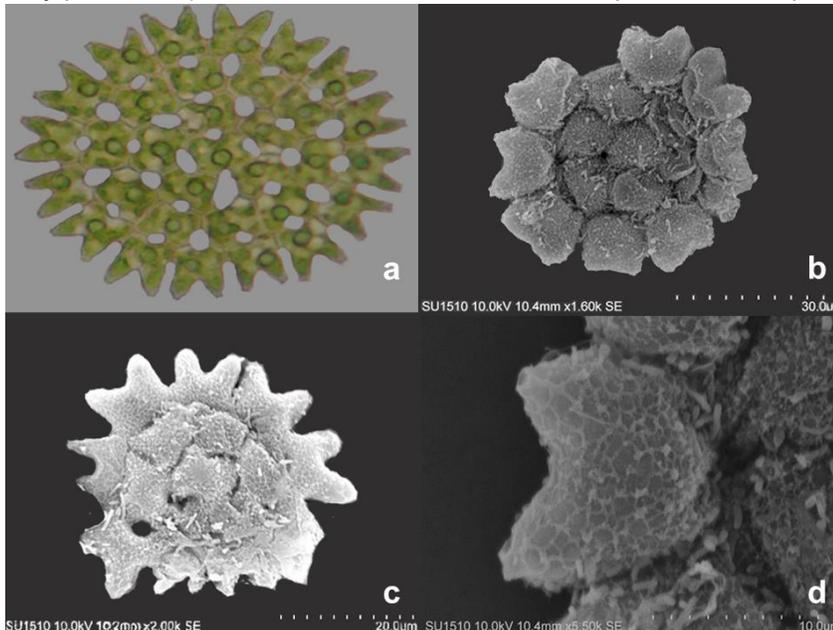


Figura 9. Cenobio de *Pediastrum duplex* Meyen de cultivos de la Laguna de Santa Cruz del Rincón, Estado de México: a) y b) Aspecto general del cenobio, c) Células marginales con dos lóbulos, d) Detalle de la ornamentación de la pared celular tipo 3. ML (a) y MEB (b, c, d).

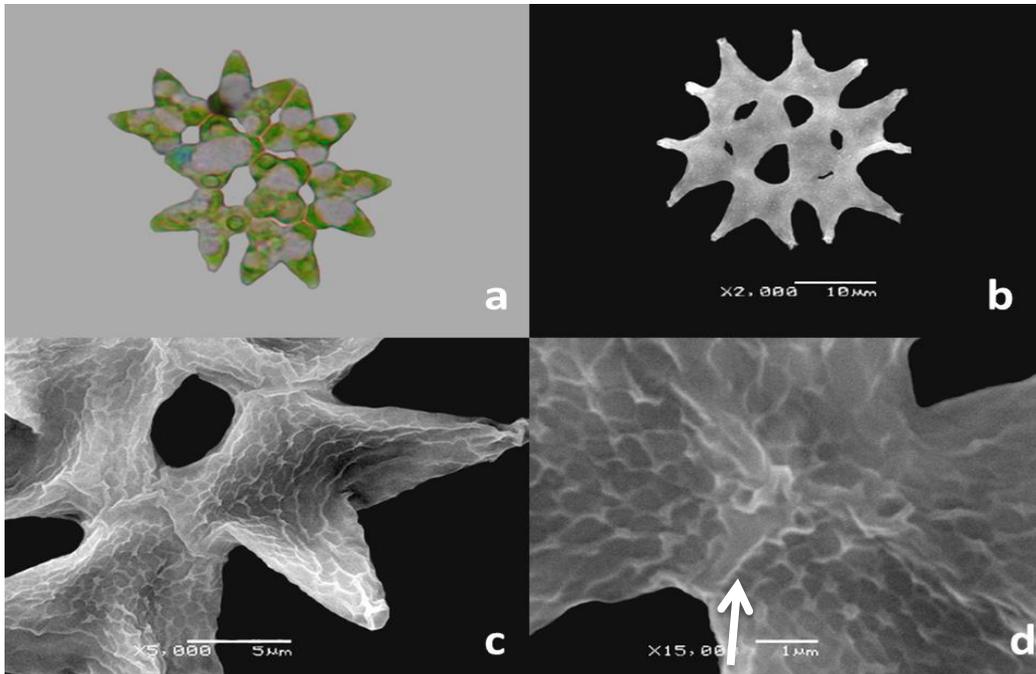


Figura 10. Ctenobio de *Pediastrum duplex* colectado de Xochimilco, Nativitas, D.F. a) y b) Aspecto general del ctenobio, c) Aspecto general de las células marginales, incisión, lóbulos y proceso, d) Detalle de la pared celular con dos rosetas en las uniones de la células, pared celular tipo 3, las flechas indican la posición de las rosetas. ML (a) y MEB (b, c, d).

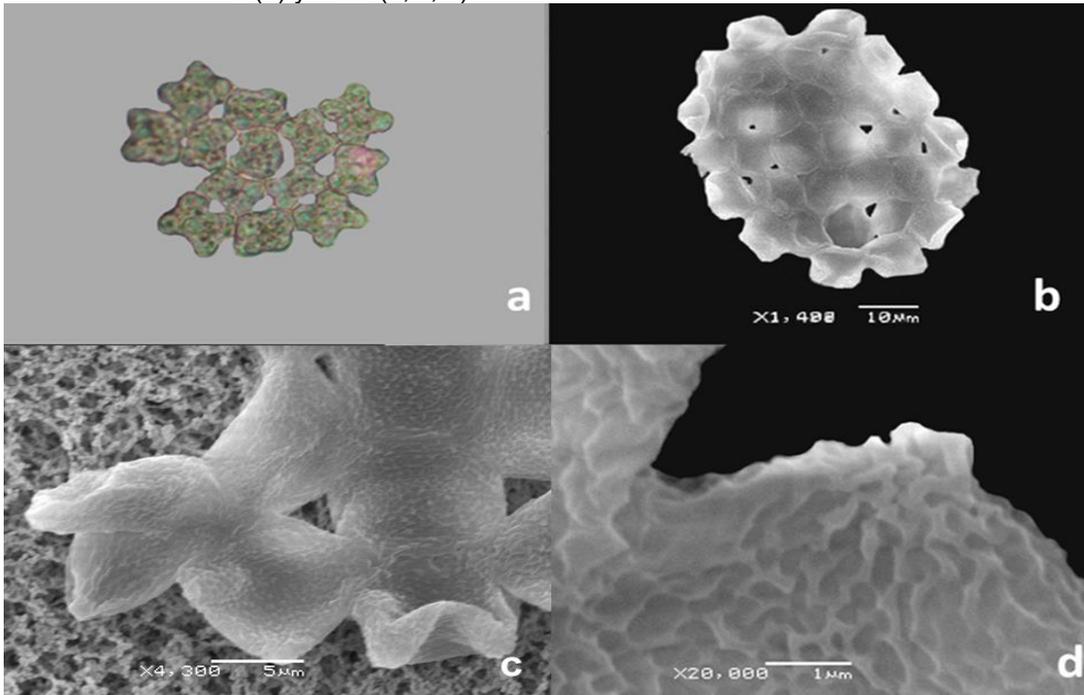


Figura 11. Ctenobio de *Pediastrum duplex* del material cultivado proveniente de Xochimilco, Nativitas, D.F. a) y b) Aspecto general del ctenobio, c) Aspecto general de las células marginales, incisión, lóbulos y proceso, d) Detalle de la ornamentación de la pared celular tipo 3, ML (a) y MEB (b, c, d).



***Pseudopediastrum boryanum* (Turpin) E. Hegewald**

Sinónimos: *Helierella boryana* Turpin 1828, *Pediastrum boryanum* (Turpin) Meneghini 1840

Komárek & Jankovská, 2001:46-53; John & Tsarenko, 2002: 377-378; Buchheim *et al.*, 2005; McManus & Lewis, 2011.

**DESCRIPCIÓN:** Cenobios (16- ) 25-180 (208- )  $\mu\text{m}$  de diámetro, circular y plano, sin hoyos entre las células, con arreglo concéntrico. Las células marginales de forma irregular o poligonales, (5- ) 8-30 (-40) x (5- ) 9-21 (-31)  $\mu\text{m}$ , con dos lóbulos hialinos en el mismo plano del cenobio con procesos cilíndricos y alargados con el ápice abrupto. Incisión profunda en forma de U o V. Pared celular lisa o granulada. Células internas (5- ) 6-20 (-26) x (4- ) 5-7 a 22,5 (-27)  $\mu\text{m}$  de forma poligonal.

**Distribución mundial:** **Ártico:** La isla de Ellesmere; **Asia:** China, Corea, Nepal, Taiwán, Singapur, Irán; **Europa:** Alemania, Andorra, Islas Baleares, Mar Báltico, Mar Negro, Gran Bretaña, Portugal, Rumania, España, Turquía; **América del Norte:** Arkansas, Connecticut, Minnesota; **América del Sur:** Bolivia, Brasil; **Australia y Nueva Zelanda:** Nueva Gales del Sur, Territorio del Norte, Queensland, Tasmania, Victoria; **Islas del Pacífico:** Islas de Hawái (Guiry & Guiry, 2015).

**Distribución en México:** **Distrito Federal** (Sámano-Bishop & Sokoloff 1931; Novelo *et al* 2007; Figueroa *et al.*, 2008), **Michoacán** (Mendoza-González *et al.*, 1985; Osorio-Tafall, 1941), **Hidalgo** (Ehrenberg, 1841), **Oaxaca** (Ehrenberg, 1854; Hoffmann & Sámano-Bishop, 1938), **Estado de México** (Lozano, 1996; Banderas-Tarabay, 1997; Garduño *et al.*, 2009), **Morelos** (Quiroz-Castelán *et al.*, 1999), **Puebla** (Novelo, 2012), **Guanajuato** (López-López & Serna-Hernández, 1999), **Veracruz** (Garduño-Solórzano, 2011).

**LOCALIDAD ESTUDIADA:**

Eco Parque Acoatl, Tlalnepantla de Baz, Estado de México:

**Cenobio** circular y plano de 16 células, con 37-76  $\mu\text{m}$  de diámetro, sin hoyos entre las células, con arreglo concéntrico. **Células marginales** de 8-9 x 9-10 $\mu\text{m}$  con dos lóbulos hialinos en el mismo plano del cenobio con procesos cilíndricos y alargados con un ápice abrupto. Incisión profunda en forma de U. **Células internas** de 5-7 x 8-9  $\mu\text{m}$ ,



poligonales. En MEB, se observó la **pared celular** formando una red con verrugas, tipo 4 según Komarék & Jankovská (2001), con tres rosetas en la unión de las células; Figuras 12 y 13.

*Material estudiado:* IZTA-1840.

*Observaciones:* El cultivo se logró por unos días, actualmente no se cuenta con la cepa. Por tanto no se realizó la secuenciación del mismo. La ultraestructura de la pared celular mostró la presencia de rosetas, carácter que se señala por primera vez en este taxón.

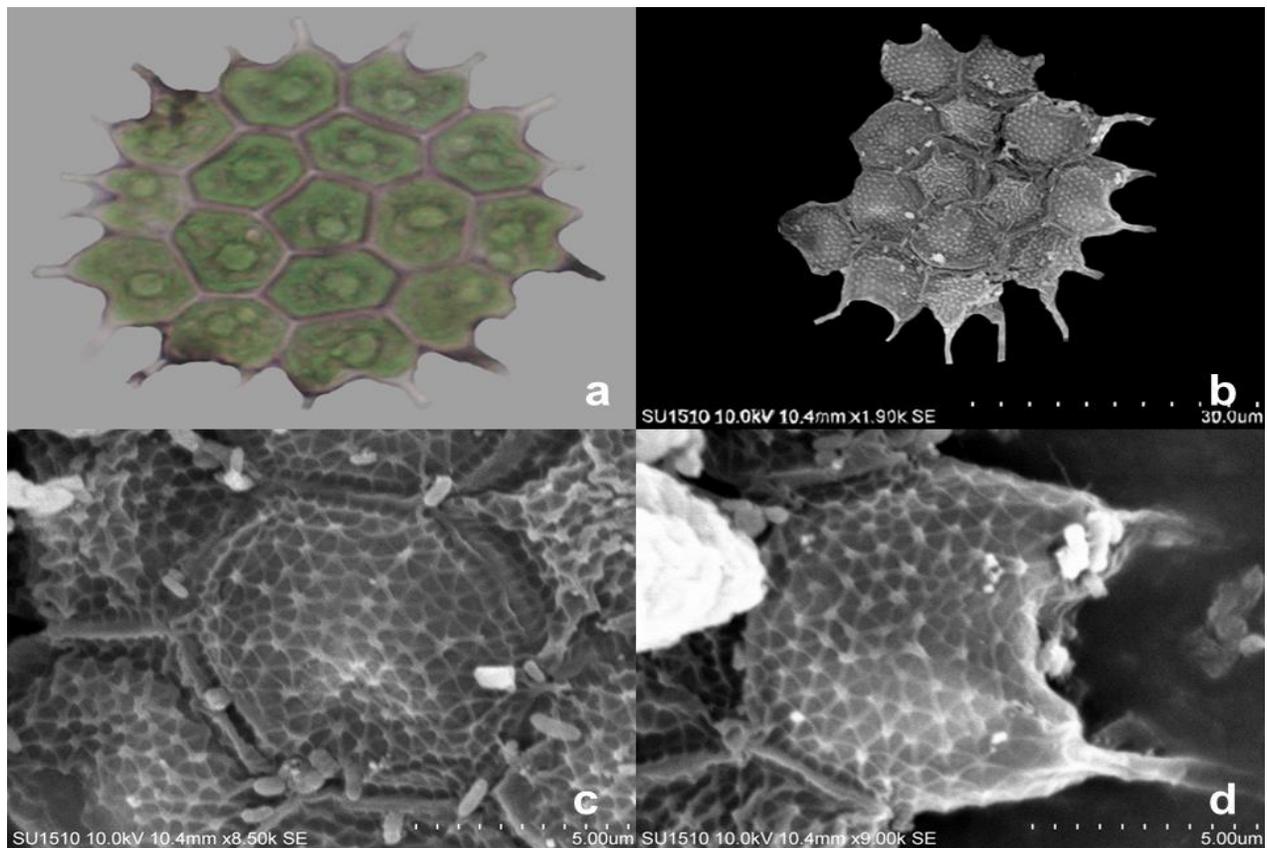


Figura 12. Cenobio de *Pseudopediastrum boryanum* (Turpin) E. Hegewald del Eco Parque Acoatl, Tlalnepantla de Baz, Estado de México: a) y b) Aspecto general del cenobio, a) ML y b) MEB, c) células centrales, pared celular tipo 7 y rosetas. d) lóbulos y proceso de las células marginales (c y d en MEB).

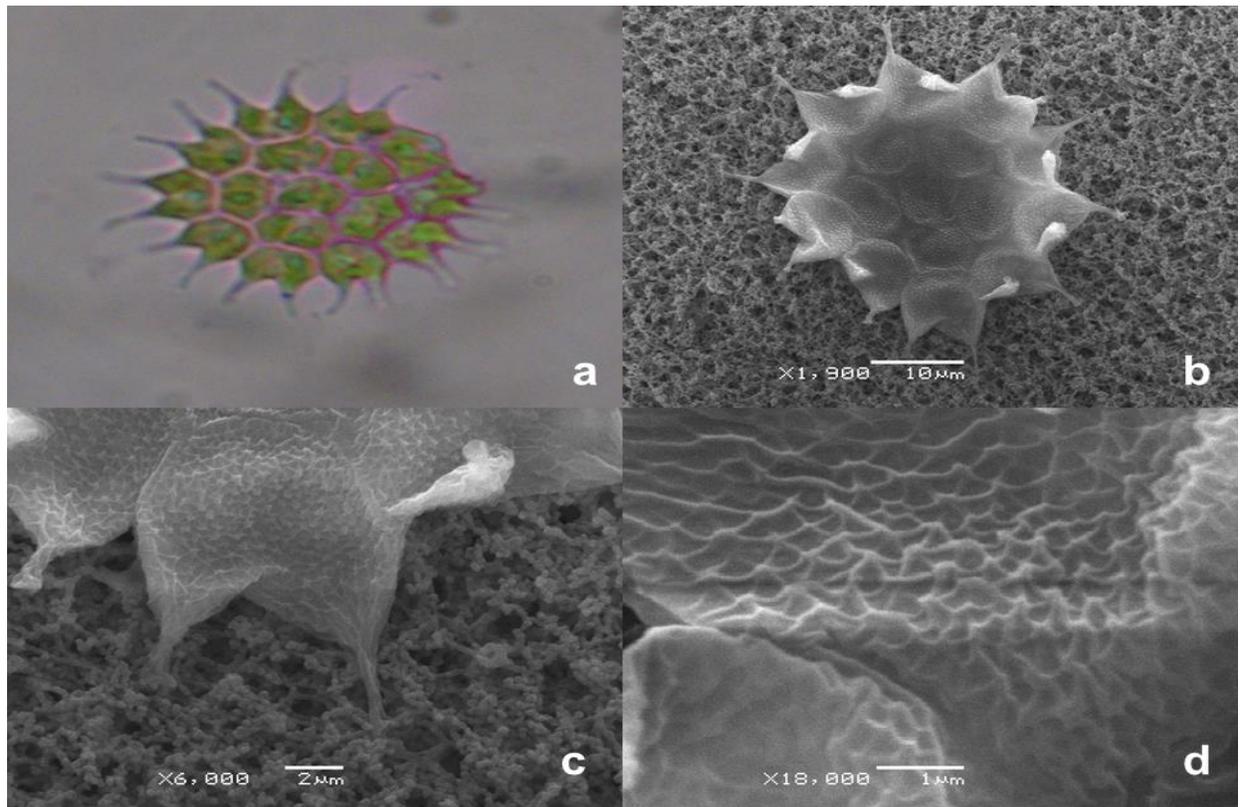


Figura 13. Cenobio de *Pseudopediastrum boryanum* (Turpin) E. Hegewald de cultivos provenientes del Eco Parque Acoatl, Tlalnepantla de Baz, Estado de México: a) y b) Aspecto general del cenobio, c) Células centrales, pared celular tipo 4, d) Lóbulos y proceso de las células marginales. ML (a) y MEB (b, c, d, e).



***Pseudopediastrum aff. boryanum***

Sinónimos: *Helierella boryana* Turpin 1828, *Pediastrum boryanum* (Turpin) Meneghini 1840

Komárek & Jankovská, 2001:46-53 John & Tsarenko, 2002: 377-378; Buchheim *et al.*, 2005; McManus & Lewis, 2011.

LOCALIDAD ESTUDIADA: Arroyo Tilapa, Zapotitlán, Puebla.

**DESCRIPCIÓN:** **Cenobios** de 24-66 µm de diámetro, circular-plano, sin agujeros, por lo general irregular en su contorno, con 16 células. **Células marginales** de 11.5 x 16 µm con dos lóbulos cortos, procesos muy alargados y cilíndricos, ensanchado de la punta. **Células internas** de 11.5 x 11.5 µm, células interiores poligonales. En MEB, se observó la **pared celular** de tipo 3 según Komárek & Jankovská (2001). Presenta engrosamiento entre las delimitaciones de las células. Figura 14.

*Material estudiado:* IZTA-1847.

*Cultivo:* en medio Bold 3N, IZTAc-1847.

*Observaciones:* La determinación taxonómica con base en los caracteres morfológicos indicó que este taxón se trataba de *P. boryanum*, con excepción de la ornamentación de la pared celular (Komárek & Jankovská, 2001, John *et al.*, 2002). Por su parte, en el árbol resultante de la secuencia del ITS2 esta especie se ubica independientemente del clado de *Pseudopediastrum boryanum*, con una probabilidad del 99.14% (Figura 23). , con base en sus caracteres morfológicos y la separación del clado en el árbol construido, se nombra como *P. aff. boryanum* el material estudiado. La información de la estructura secundaria de *P. boryanum* MJ2008/35 comparado con *P. aff. boryanum* (Figura 24 a,b), indicó que las hélices I y III tienen cambios: (TTGG↔TG) y (TAT↔TT), por tanto con toda la información anterior deberá proponerse como una nueva especie.

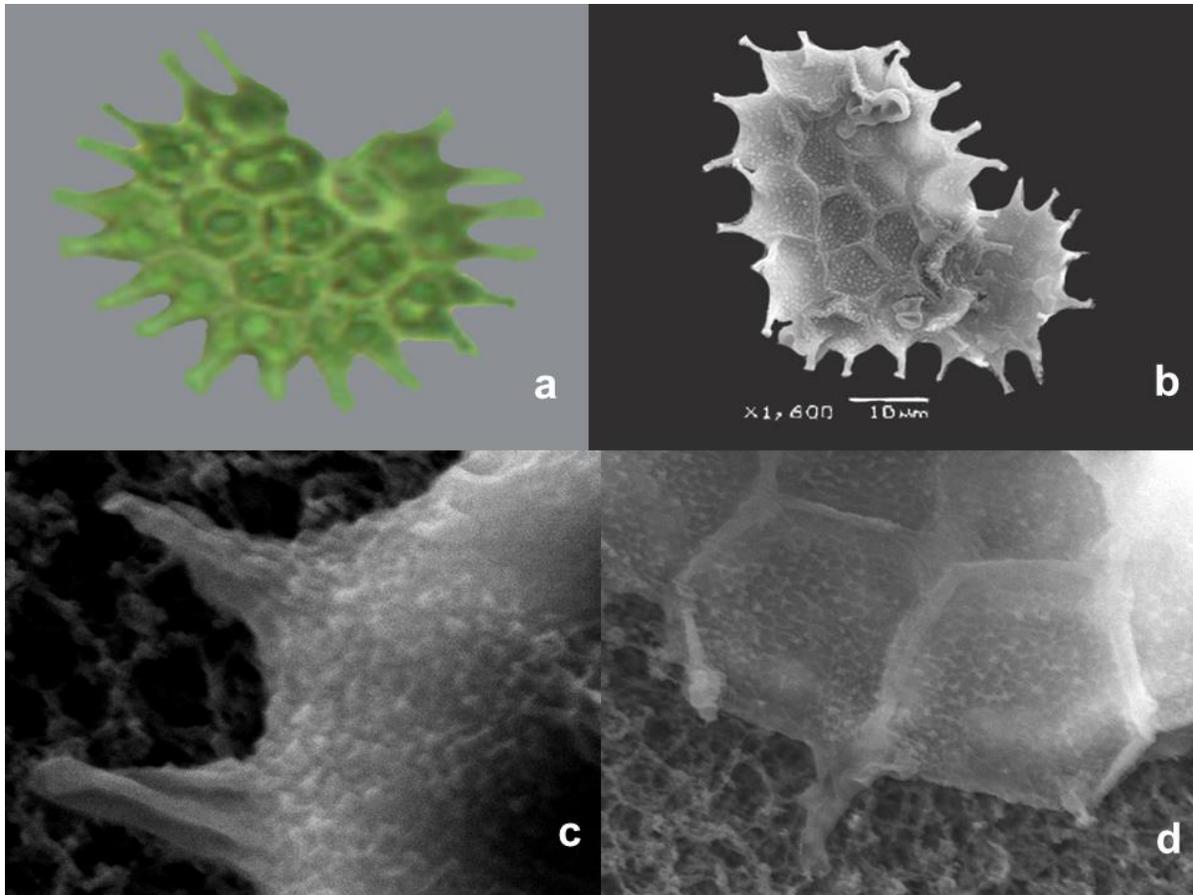


Figura 14. Cenobio de *Pseudopediastrum aff. boryanum* colectado en Arroyo Tilapa, Zapotitlán, Puebla: a) y b) Aspecto general del cenobio, c) Amplificación de la célula de periferia, se observan procesos largos, d) Amplificación de b donde se observa el límite de cada célula, pared celular tipo 3. ML (a) y MEB (b, c, d).



***Pseudopediastrum integrum* (Nägeli) Jena et Bock**

Sinónimos: *Pediastrum integrum* Nägeli

Komárek & Jankovská, 2001: 44-46; John & Tsarenko, 2002: 377-378; Buchheim *et al* 2005; McManus & Lewis, 2011; Jena *et al.*, 2014: 71.

**DESCRIPCIÓN:** Cenobios (4) de 8, 16 o 32 (-128) células, de 75-189 (-320)µm de diámetro, sin espacios intercelulares; células marginales (12-) 23 a 31 x (9-) 15-38µm, que se extiende en dos proyecciones en forma de cono o de dedos, uno generalmente acostado encima del otro y se inclinan en direcciones opuestas, procesos típicamente reducidos; células internas 7,5-16,5 x 7.5-16.5µm, poligonales; paredes celulares generalmente granulares, a veces espinosas, con verrugas o rugosa, tipo 1 o 4.

**DISTRIBUCIÓN MUNDIAL:** **Ártico:** La isla de Ellesmere; **Europa:** Mar Báltico, Gran Bretaña, Alemania, Portugal, Rumania, España; **Asia:** China, Corea, Nepal, Taiwán; **Australia y Nueva Zelanda:** Nueva Zelanda (Guiry & Guiry, 2015).

**Distribución en México:** **Guanajuato** (López-López & Serna-Hernández, 1999).

**LOCALIDAD ESTUDIADA:** Cantera Oriente, reserva ecológica del Pedregal de San Ángel de Ciudad Universitaria.

**Cenobios** de 60-63µm de diámetro, circular plano, sin agujeros, o con muy pocos orificios pequeños, con 16 células. **Células marginales** de 12.5 x 15µm con dos lóbulos cortos, procesos cilíndricos y alargados, a veces terminan con un engrosamiento apical.

**Células internas** de 12.5 x 15µm, poligonales. En MEB, se observó la **pared celular** formando una red con verrugas, tipo 4 según Komarék & Jankovská (2001). Con la presencia de una roseta por cada unión de las células internas; Figura 15.

**Material estudiado:** IZTA-1841.

**Cultivo:** en medio Bold 3N, IZTAc-1841

**Observaciones:** La determinación taxonómica con base en los caracteres morfológicos indicó que este taxón se trataba de *P. boryanum*. Pero, en el árbol resultante de la secuencia del ITS2 se agrupó con una probabilidad del 70.39% junto con *P. integrum* MJ200/86 delimitadas por Jena *et al.*, (2014) (Figura 23), es decir, con la información molecular, se reubico en *P. integrum*. Mientras la estructura secundaria de *P. integrum* MJ2008/86 comparado con *P. integrum* (Figura 24f), indicó que las hélices II y III tienen



cambios; (TCT↔CCC), (CC↔TC) y (T↔A). Por tanto con toda la información anterior se coloca en *P. integrum* y se corrobora la importancia de la delimitación taxonómica con un enfoque polifásico.

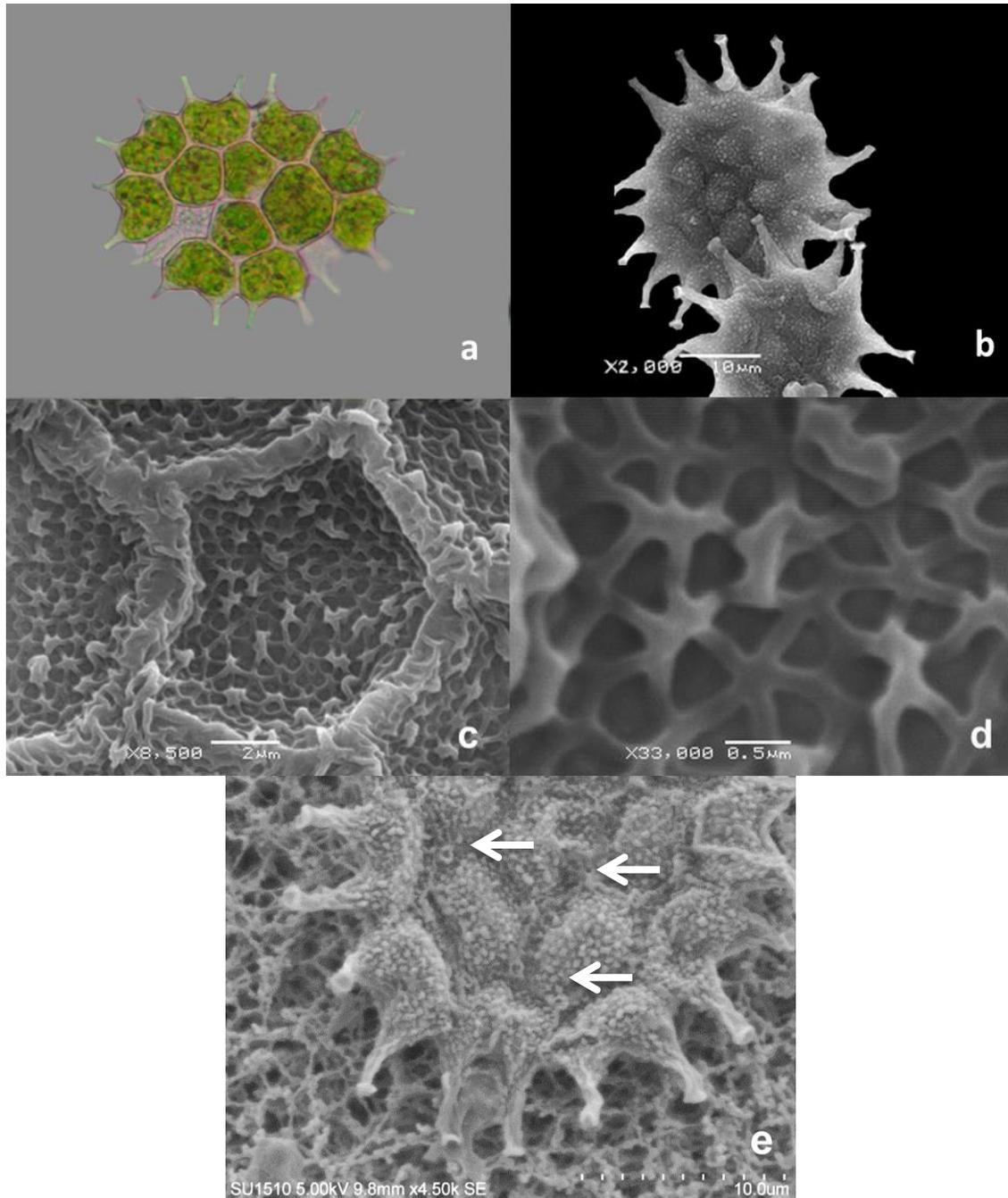


Figura 15. Cenobio de *Pseudopediastrum integrum* (Nägeli) Jena *et* Bock colectado en Cantera Oriente, reserva ecológica del Pedregal de San Ángel de Ciudad Universitaria. a) y b) Aspecto general del cenobio, c) Pared celular de las células centrales tipo 4 con una roseta en la uniones de las células, d) Amplificación de la pared celular tipo 2, e) Rosetas, señaladas con flechas. ML (a).



***Pseudopediastrum aff<sub>1</sub>. integrum***

Localidad estudiada: Arroyo Tilapa, Zapotitlán, Puebla.

**Cenobios** de 38-96  $\mu\text{m}$  de diámetro, circular a ovoide, sin agujeros, con 28-32 células.

**Células marginales** de 13-14 x 15-18  $\mu\text{m}$ , con dos proyecciones, células ligeramente convexas o redondeadas en el exterior, sin ninguna incisión, a veces casi recta, procesos extremadamente cortos, cilíndricos, a menudo desigualmente largos. **Células internas** de 11.5 x 11.5  $\mu\text{m}$ , dispuestas irregularmente, con forma similar a las células marginales sin espacios celulares. En MEB, se observó la **pared celular** tipo 3 según Komarék & Jankovská (2001). Presenta engrosamiento entre las delimitaciones de las células, Figuras 16 y 17.

*Material estudiado:* IZTA-1842.

*Cultivo:* en medio Bold 3N, IZTAc-1842.

*Observaciones:* Según John & Tsarenko, (2002) la pared celular de esta especie es lisa o granular. En este trabajo, el material de campo mostró tipo 2 (red), mientras que los cultivos fueron de tipo 3 (arrugada).

La determinación taxonómica con base en los caracteres morfológicos indicó que este taxón se trataba de *P. integrum*, sin embargo con la secuencia del ITS2 agrupa a este *taxa* en el clado mexicano junto con otras especies del país, las cuales crecen en ambientes extremos, como el Nevado de Toluca y ambientes desérticos como Zapotitlán. Hábitats, que ya han sido señalados como sitios donde potencialmente pueden crecer especies que aumentan la tasa de cambio y se desarrollan nuevas especies a través de un proceso de especiación simpátrica, tal y como lo señala Buchheim *et al.*, (2010).

Por su parte, en el árbol resultante de la secuencia del ITS2 esta especie se ubica independientemente del clado de *Pseudopediastrum boryanum*, con una probabilidad del 99.14% (Figura 23). Con base en sus caracteres morfológicos y la separación del clado en el árbol construido, se nombró como *P. aff<sub>1</sub>. integrum* el material estudiado de esta localidad, Sin embargo, con la información de la estructura secundaria de *P. boryanum* MJ2008/35 comparado con *P. aff<sub>1</sub>. integrum* (Figura 24 a, c), indicó que las



hélices I y III tienen cambios; en la primera (TCC↔CTA) y (T↔A) de manera general esta estructura tiene más semejanza con *P. boryanum* que con *P. integrum*. Por tanto con toda la información anterior deberá proponerse como una nueva especie.

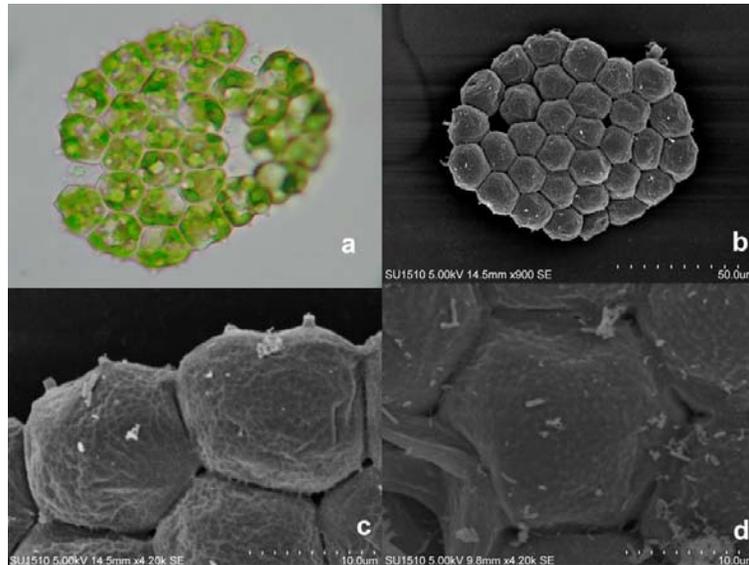


Figura 16. Cenobio de *Pediastrum* aff. *integrum* colectado en Arroyo Tilapa, Zapotitlán, Puebla: a) y b) Aspecto general del cenobio, c) pared celular tipo 2, d) Amplificación de b en las células centrales. ML (a) y MEB (b, c, d).

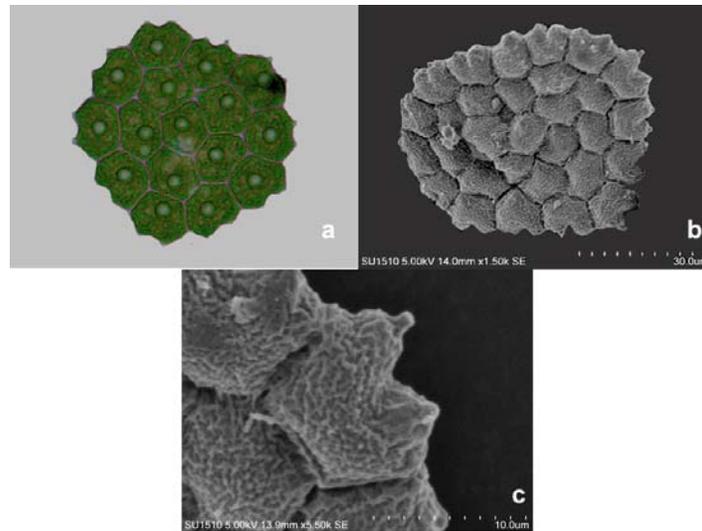


Figura 17. Cenobio de *Pediastrum* aff. *integrum* cultivo de Arroyo Tilapa, Zapotitlán, Puebla: a) y b) Aspecto general del cenobio, c) Células de la periferia, dos lóbulos cortos y procesos muy pequeños, pared celular tipo 3. ML (a) y MEB (b, c).



***Pseudopediastrum aff<sub>2</sub>. integrum***

Localidad estudiada: Laguna El Sol, Nevado de Toluca, Estado de México.

**Cenobios** de 100-121µm de diámetro, circular a ovoide, sin agujeros, con 15-31 células. **Células marginales** de 21-27 x 27-28µm, con dos proyecciones, células ligeramente convexas o redondeadas en el exterior, sin ninguna incisión, a veces casi recta, procesos extremadamente cortos, cilíndricos, a menudo desigualmente largos. **Células internas** de 14-18 x 24-28 µm, dispuestas irregularmente, con forma similar a las células marginales sin espacios celulares. En MEB, se observó la **pared celular** es de tipo 2 en las células maduras y de tipo 3 en las células jóvenes según Komarék & Jankovská (2001), Figura 18.

*Material estudiado:* IZTA-1843.

*Cultivo:* en medio Bold 3N, IZTAc-1843

*Observaciones:* Según John & Tsarenko, 2002 la pared celular de esta especie son lisas o granulares; en este trabajo el material estudiado presentaba ornamentaciones de tipo 2 (red) en las poblaciones silvestres y en cultivo tipo 3 (arrugada).

La determinación taxonómica con base en los caracteres morfológicos indicó que este taxón se trataba de *P. integrum*. Por su parte, en el árbol resultante de la secuencia del ITS2 este taxón se ubica independientemente del clado de *Pseudopediastrum boryanum*, con una probabilidad del 99.14% (Figura 23). Por lo pronto, se nombra como *P. aff<sub>2</sub>. integrum* el material estudiado. Asimismo, la información de la estructura secundaria de *P. boryanum* MJ2008/35 comparado con *P. aff<sub>2</sub>. integrum* (Figura 24 a, d), indicó que las hélices I y III tienen cambios; (TTGG↔TG) a *P. aff. boryanum* y (A↔T) de manera general esta estructura tiene más semejanza con *P. boryanum* que a *P. integrum*. Por tanto con toda la información anterior deberá proponerse como una nueva especie.

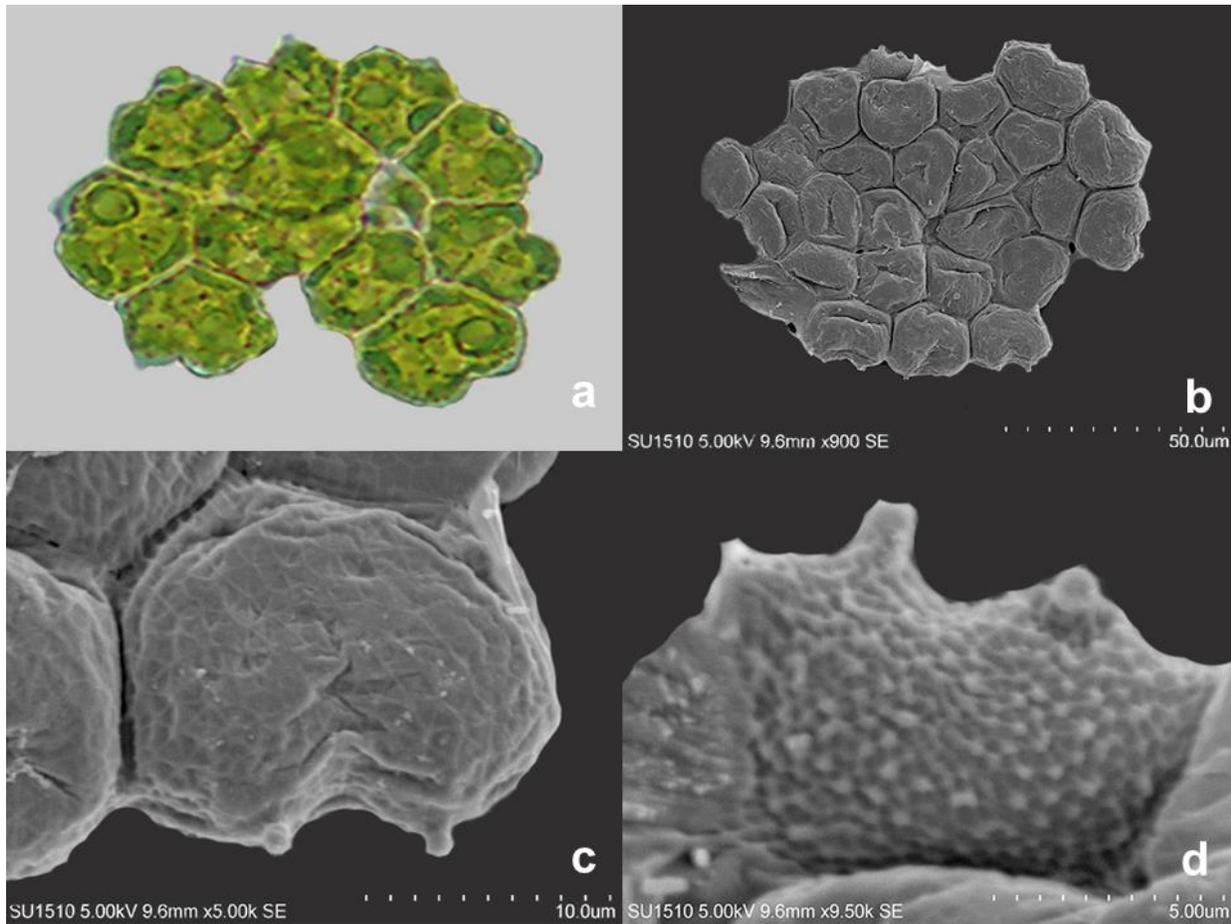


Figura 18. Cenobio de *Pediastrum* aff. *integrum*, colectado de Laguna El Sol, Nevado de Toluca, Estado de México, a) y b) Aspecto general del cenobio, c) Amplificación de las células marginales, pared celular tipo 2, d) Amplificación de células marginales jóvenes, con dos lóbulos pared celular tipo 3. ML (a) y MEB (b, c, d).



### ***Stauridium tetras* (Ehrenberg) E. Hegewald**

Sinónimos: *Micrasterias tetras* Ehrenberg 1838, *Pediastrum tetras* (Ehrenberg) Ralfs 1845, *Helierella renicarpa* Turpin 1828, *Stauridium bicuspidatum* Corda 1835, *Stauridium crux-melitensis* Corda 1835, *Euastrum hexagonum* Corda 1835, *Euastrum ehrenbergii* A.K.J.Corda 1839, *Stauridium obtusangulum* Corda 1839.

Komárek & Jankovská, 2001: 68-69 John & Tsarenko, 2002: 377-378; Buchheim *et al.*, 2005; McManus & Lewis, 2011.

**DESCRIPCIÓN:** Cenobios de 4, 8, 16 o 32 células, 15-35 (-74)  $\mu\text{m}$  de diámetro; células trapezoides con 4-7 ángulos, con una incisión profunda. Células marginales (4-) 8-14 (-18) x (5-) 8-14 (-18)  $\mu\text{m}$ , lateralmente pared unida al ápice, dividido por una incisión central estrecha en dos lóbulos, cada lóbulo truncado y ligeramente emarginada, divididas en dos lóbulos obtusos redondeado; células internas (4-) 8-11 (-14) x (5-) 7-11 (-16)  $\mu\text{m}$ , de lados rectos, sin espacios intercelulares; pared celular lisas tipo 1 o arrugadas tipo 3.

**DISTRIBUCIÓN MUNDIAL:** **Asia:** Taiwán, China, Irán, Turquía; **Europa:** Alemania, Andorra, Islas Baleares, Mar Báltico, Mar Negro, Gran Bretaña, la República Checa y/o Eslovaquia, Rumania, España, Singapur; **Islas del Atlántico:** Islas Canarias; **América del Norte:** Arkansas, Connecticut, Nueva York, Wisconsin; **América del Sur:** Brasil; **Islas del Pacífico:** Islas de Hawái (Guiry & Guiry, 2015).

**DISTRIBUCIÓN EN MÉXICO:** **Estado de México** (Rioja & Herrera, 1951; Margain-Hernández, 1989; Garduño *et al.*, 2009), **Oaxaca** (Ortega, 1984), **Puebla** (Kusel-Fetzmann, 1973; Ortega, 1984; CONABIO, 2011; Novelo, 2012), **Hidalgo** (Kusel-Fetzmann, 1973; Margain-Hernández, 1989), **Morelos** (Quiroz-Castelán, 1999), **Tlaxcala** (Margain-Hernández, 1989), **Veracruz** (Margain-Hernández, 1989; Garduño-Solórzano *et al.*, 2011).

#### **LOCALIDAD ESTUDIADA:**

Laguna de Santa Cruz del Rincón, Estado de México

**Cenobios** de 11-20  $\mu\text{m}$  de diámetro, dividido por una incisión central marcada, con 4-8 células. **Células marginales** trapezoides de 5-7.5 x 6-7.5  $\mu\text{m}$ , la mayoría con 4-7



ángulos, con dos proyecciones, procesos cortos y circulares, lóbulos obtusos redondeados. **Células internas** de 5 x 6-7.5  $\mu\text{m}$ , con una incisión central, de lados rectos. En MEB, se observó la **pared celular** en forma de red, verrugosa y ondulado tipo 2 según Komarék & Jankovská (2001), Figuras 19 y 20.

*Material estudiado:* IZTA-1844.

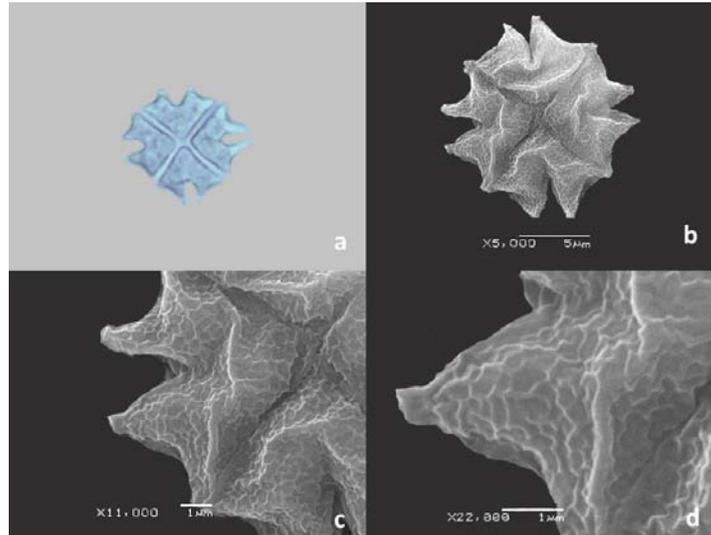


Figura 19. Cenobio de *Stauridium tetras* (Ehrenberg) E. Hegewald colectado de la Laguna de Santa Cruz del Rincón, Estado de México. a) y b) Aspecto general del cenobio, c) Incisión central, pared celular tipo 2, d) Células marginales con dos lóbulos. ML (a) y MEB (b, c, d).

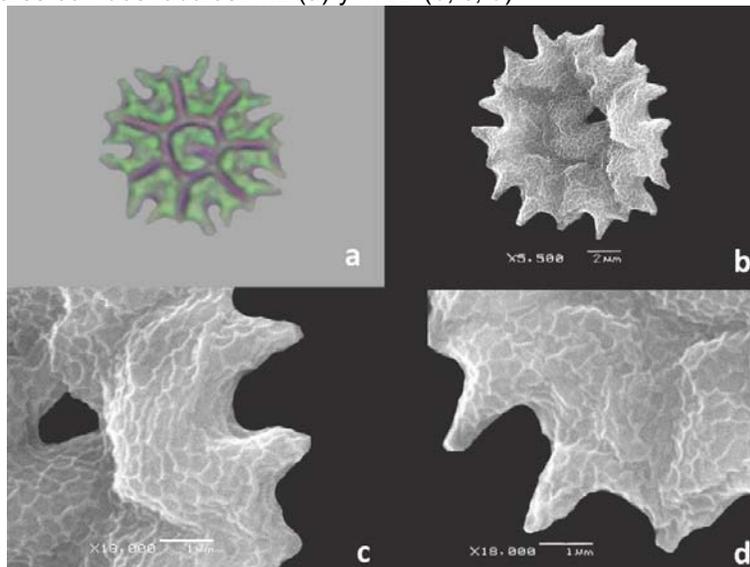


Figura 20. Cenobio de *Stauridium tetras* (Ehrenberg) E. Hegewald colectado de la Laguna de Santa Cruz del Rincón, Estado de México. a) y b) Aspecto general del cenobio, c) Incisión central, pared celular tipo 2, d) Células marginales con dos lóbulos. ML (a) y MEB (b, c, d).



### ***Monactinus simplex* (Meyen) Corda**

Sinónimos: *Pediastrum simplex* Meyen 1829

Komárek & Jankovská, 2001: 32-35; John & Tsarenko, 2002: 377-378; Buchheim *et al.*, 2005; McManus & Lewis, 2011.

**DESCRIPCIÓN:** Cenobios generalmente de 4, 8, 16 o 32 (-128) unicelulares, 65-250µm de diámetro, con o sin espacios intercelulares o de vez en cuando con un solo espacio central; células marginales (6-) 10,5-40 x (6) 7-36µm, con un solo lóbulo que se extiende hasta formar una sola proyección y se adelgaza gradualmente; células internas (8-) 11,7-46,5 (-57) x 6-30 (-38)µm, 3-5 lados poligonales, ovoide o esférica;; pared celular lisa tipo 1, granular o espinosa.

**DISTRIBUCIÓN MUNDIAL:** **Europa:** Alemania, Mar Báltico, Mar Negro, Gran Bretaña, Portugal, Rumania, España; **Islas del Atlántico:** Islas Canarias; **América del Norte:** Arkansas; **Asia:** China, Pakistán, Taiwán, Singapur; **Australia y Nueva Zelanda:** Nueva Gales del Sur, Nueva Zelanda, Queensland, Tasmania; **América del Sur:** Brasil (Guiry & Guiry, 2015).

**DISTRIBUCIÓN EN MÉXICO:** **Distrito Federal** (Sámano & Sokoloff, 1931: Sámano, 1934; Ortega, 1984: Novelo *et al.*, 2007), **Michoacán** (Ortega, 1984; Mendoza-González *et al.*, 1985; Osorio-Tafall, 1941) **Estado de México** (Margain-Hernández, 1989; Garduño *et al.*, 2009), **Morelos** (Quiroz-Castelán, 1999), **Hidalgo** (Margain-Hernández, 1989; Sánchez-Rodríguez & Vázquez, 1990; Montejano *et al.*, 2004), **San Luis Potosí** (Montejano *et al.*, 2004), **Tamaulipas** (Montejano *et al.*, 2004), **Guanajuato** (López-López, 1999), **Tlaxcala** (Margain-Hernández, 1989) y **Veracruz** (Margain-Hernández, 1989; Garduño-Solórzano *et al.*, 2011).

#### **LOCALIDADES ESTUDIADAS:**

Villa Victoria, Estado de México.

**Cenobios** con 16 células de 85-129 µm de diámetro, siempre con orificios distintos y menores o mayores que el diámetro de la célula. **Células marginales** de 11-14 x 25-38 µm, con una sola proyección, lóbulo y proceso muy alargados, con adelgazamiento gradual en la proyección. **Células internas** de 12-14 x 14-20 µm, de lados poligonales,



ovoides o esféricos, con amplios espacios entre las células. En MEB, se observó la **pared celular** de tipo 7 según Komarék & Jankovská (2001) Figura 21.

*Material estudiado:* IZTA-1845.

*Observaciones:* John & Tsarenko, (2002) mencionan que la pared celular es lisa o granular; los materiales analizados presentaron pared tipo 7 que se describe como papilosa.

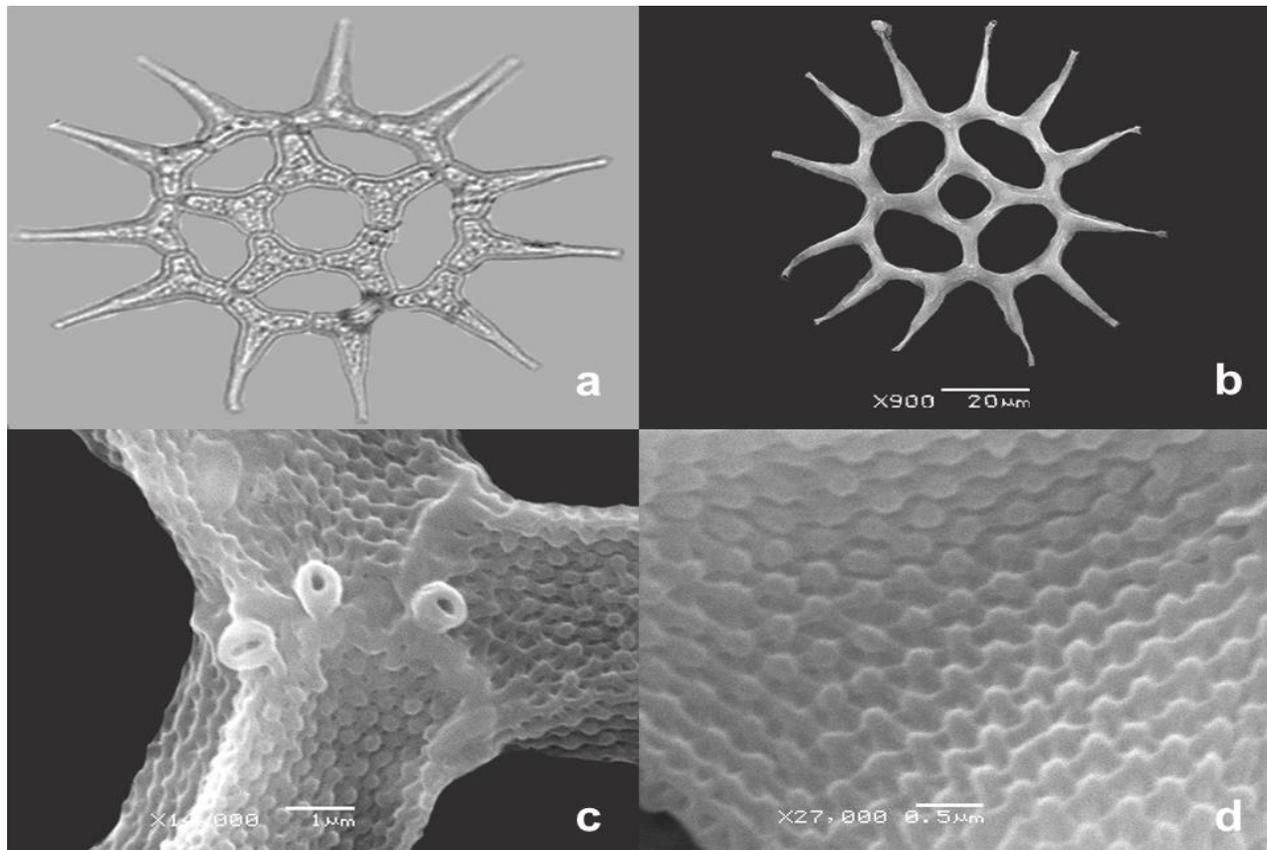


Figura 21. Cenobio de *Monactinus simplex* (Meyen) Corda colectado en Villa Victoria, Estado de México. a) y b) Aspecto general del Cenobio, c) Células centrales con tres rosetas, ubicadas en las interconexiones de la célula, d) Pared celular tipo 7. ML (a) y MEB (b, c, d).



***Pediastrum simplex* var. *clathratum* Schröter**

Komárek & Jankovská, 2001: 32-35; John & Tsarenko, 2002: 377-378; Buchheim *et al.*, 2005; McManus & Lewis, 2011; Garduño *et al.*, 2011.

**DESCRIPCIÓN:** Cenobios generalmente de 4, 8, 16 o 32 (-128) células, 65-250µm de diámetro; células marginales (6-) 10,5-40 x (6) 7-36µm, que se extiende hasta formar una sola y se adelgaza proyección; células internas (8-) 11,7-46,5 (-57) x 6-30 (-38) µm, 3-5 lados de poligonal, ovoide o esférica, con o sin espacios intercelulares o de vez en cuando con un solo espacio central; pared celular granular.

**DISTRIBUCIÓN MUNDIAL:** **Europa:** Alemania, Mar Báltico, Mar Negro, Gran Bretaña, Portugal, Rumania, España; **Islas del Atlántico:** Islas Canarias; **América del Norte:** Arkansas; **Asia:** China, Pakistán, Taiwán, Singapur; **Australia y Nueva Zelanda:** Nueva Gales del Sur, Nueva Zelanda, Queensland, Tasmania; **América del Sur:** Brasil (Guiry & Guiry, 2015).

**DISTRIBUCIÓN EN MÉXICO:** **Veracruz** (Garduño-Solórzano *et al.*, 2011).

**LOCALIDADES ESTUDIADA:**

Embalse, Villa Victoria, Estado de México.

**Cenobios** con 32 células de 130µm de diámetro, de forma circular a irregular, siempre con orificios distintos y menores o mayores que el diámetro de la célula. **Células marginales** de 12-15 x 20-30µm, con una sola proyección, lóbulo y proceso muy alargados, adelgazados gradualmente en la proyección. **Células internas** de 8-20 x 17-20 µm, de lados poligonales, ovoides o esféricos, con amplios espacios entre las células. En MEB, se observó la **pared celular** de tipo 7 según Komárek & Jankovská (2001), Figura 22.

**Material estudiado:** IZTA-1846.

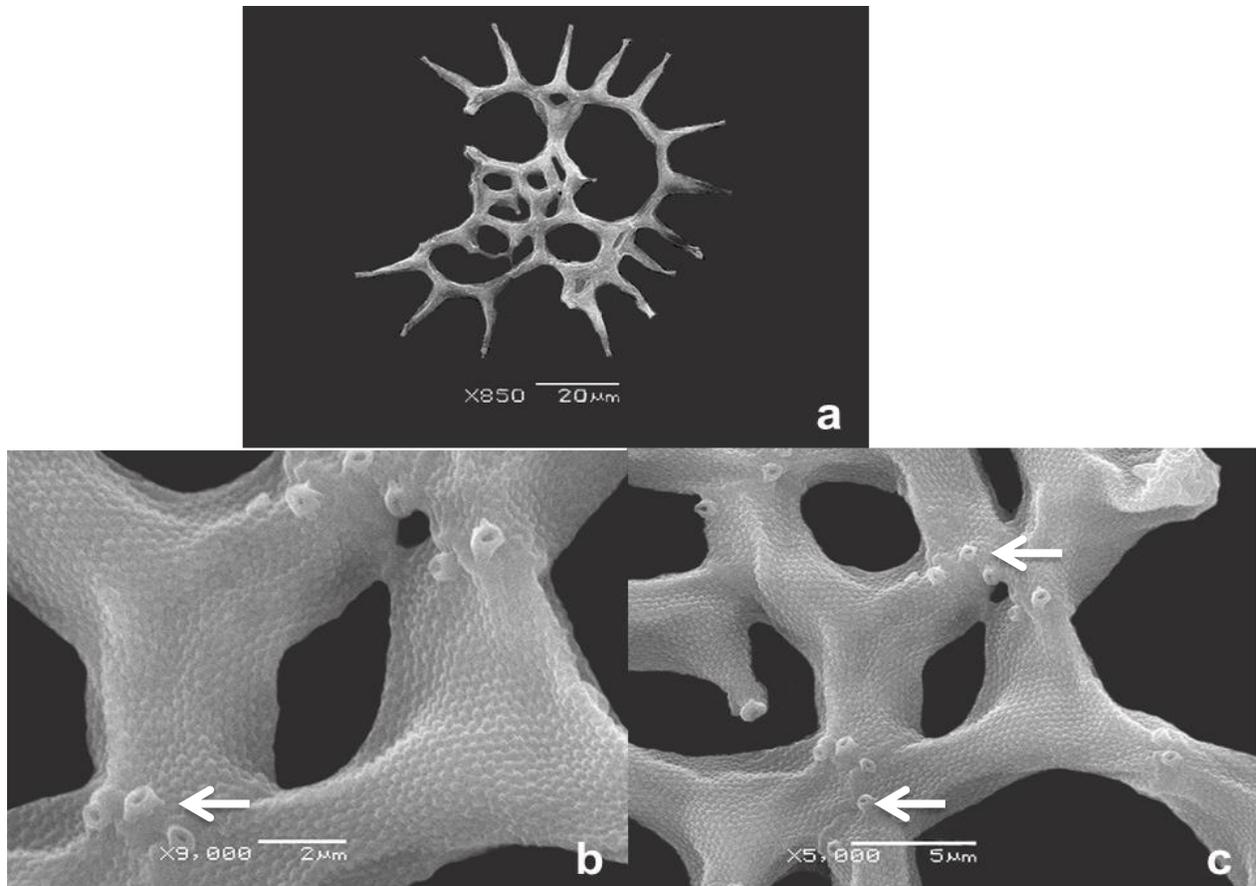


Figura 22. Cenobio de *Pediastrum simplex* var. *clathratum* Schröter colectado en Villa Victoria, Estado de México. a) Aspecto general del cenobio, b) Células centrales y tres rosetas, en las interconexiones de la célula, c) Pared celular tipo 7, indicadas con flechas. ML (a) y MEB (b, c, d).



### Análisis morfológico

A partir del análisis morfológico de las colectas realizadas, solo se determinaron en el género *Pediastrum* a dos *taxa* – *Pediastrum duplex* y *Pediastrum simplex* var. *clathratum*. Mientras que se indican por primera vez en México, *Pseudopediastrum*, *Stauridium* y *Monactinus*; *taxa* propuestos con base en las diferencias moleculares, ya señaladas por Buchheim *et al.*, (2005), McManus & Lewis (2011) y Jena *et al.*, (2014). En total se determinaron nueve *taxa* infraespecíficos: *Pediastrum duplex* Meyen, *Pseudopediastrum boryanum* (Turpin) E. Hegewald, *Pseudopediastrum aff. boryanum*, *Pseudopediastrum integrum* (Nägeli) Jena *et* Bock, *Pseudopediastrum aff<sub>1</sub>. integrum*, *Pseudopediastrum aff<sub>2</sub>. integrum*, *Stauridium tetras* (Ehrenberg) E. Hegewald, *Monactinus simplex* (Meyen) Corda y *Pediastrum simplex* var. *clathratum* Schröter.

Con base en las características morfológicas y moleculares se determinaron *Pseudopediastrum integrum*, *Pseudopediastrum aff<sub>1</sub>. integrum*, *Pseudopediastrum aff<sub>2</sub>. integrum* y *Pseudopediastrum aff. boryanum*.

### Análisis filogenético

Se obtuvieron secuencias de 650-700pb abarcando las regiones ITS1, 5.8, e ITS2, de ellas se utilizó el ITS2, ya que indican que esta región ofrece un amplio poder de resolución para las relaciones específicas, debido a su variabilidad en la secuencia y la estructura secundaria (Keller *et al.*, 2008). En el presente estudio se consideraron los caracteres morfológicos y la información de la secuencia ITS2, así como la estructura secundaria de cada cepa aislada para la delimitación taxonómica de cada *taxa*. Por otra parte Buchheim *et al.*, (2011) menciona que muchas de las limitaciones asociadas con la región ITS2. Por ejemplo, demasiada variación, o muy pocos sitios de nucleótidos han sido vencidos por el análisis de la estructura secundaria que tiene sistemáticamente regiones de variabilidad, así como áreas de sustancial conservación. Por otra parte, la adición de la secuencia de la estructura permite la comparación de espectro filogenético mucho más amplio (Figura 24). Buchheim *et al.*, (2005), McManus y Lewis, (2011) y Jena *et al.*, (2014) han confirmado el origen polifilético del género



*Pediastrum*; con base en sus estudios filogenéticos donde han secuenciado los genes *rbcl* y LSU (26S DNA) donde se han delimitado seis géneros más. En el árbol filogenético obtenido (Figura 23), se observan los siete clados que agrupan a: *Monactinus*, *Parapediastrum*, *Lacunastrum*, *Pseudopediastrum*, *Sorastrum*, *Stauridium* y *Pediastrum*; géneros que actualmente son reconocidos a partir de algunos marcadores moleculares. Todos los nodos del árbol tienen un soporte mayor al 50%, por lo que el análisis tiene un alto nivel de confianza.

Las cepas analizadas en este estudio se ubicaron dentro del clado *Pseudopediastrum*, donde se agrupan en *P. boryanum*, *P. integrum* y *taxa* que incluyen cepas mexicanas. En el clado *P. integrum*, se incluyó el material proveniente de Cantera Oriente (IZTA-1841), que en principio se había determinado con base en los caracteres morfológicos en *P. boryanum* (Figura 15). Sin embargo, considerando las secuencias publicadas por Jena *et al.*, (2014) fue reubicada en *P. integrum* ya que mostró una identidad del 69.49%. Este es un claro ejemplo que nos permite confirmar que es muy útil la información molecular para la determinación taxonómica de los organismos aislados.

Por su parte, en clado donde se agrupan los aislamientos del material mexicano de dos ambientes extremos correspondientes a la laguna El Sol, Nevado de Toluca (IZTA-1843) y del arroyo Tilapa, Zapotitlán (IZTA-1842), mostraron variabilidad en el ITS2, agrupándose independientemente de *P. boryanum* y *P. integrum*. Estas en principio fueron determinadas como *P. integrum*, pero con la información molecular quedaron nombradas como *P. aff1 integrum* y *P. aff2 integrum* (Figura 23). Sin embargo, con la estructura secundaria de las mismas, se confirma que representan dos *taxa* nuevos para la ciencia o especies crípticas de *P. boryanum* (Figura 24 E y F). Por último, la cepa (IZTA 1847) correspondiente al ambiente extremo de Zapotitlán fue denominada como *Pediastrum* aff. *boryanum*. Porque en ellos se registraron el tamaño del cenobio, medidas de las células y el tipo de pared celular diferentes a las señaladas por Komárek & Jankovská (2001) y John & Tsarenko, (2002). Por lo que estos tres caracteres morfológicos apuntan como elementos para diferenciarse de la especie de referencia. Asimismo, la estructura secundaria (Figura 24B) es ligeramente diferente en



una de sus ramas, por lo que se confirma se trata de un *taxa* diferente a *P. boryanum*.

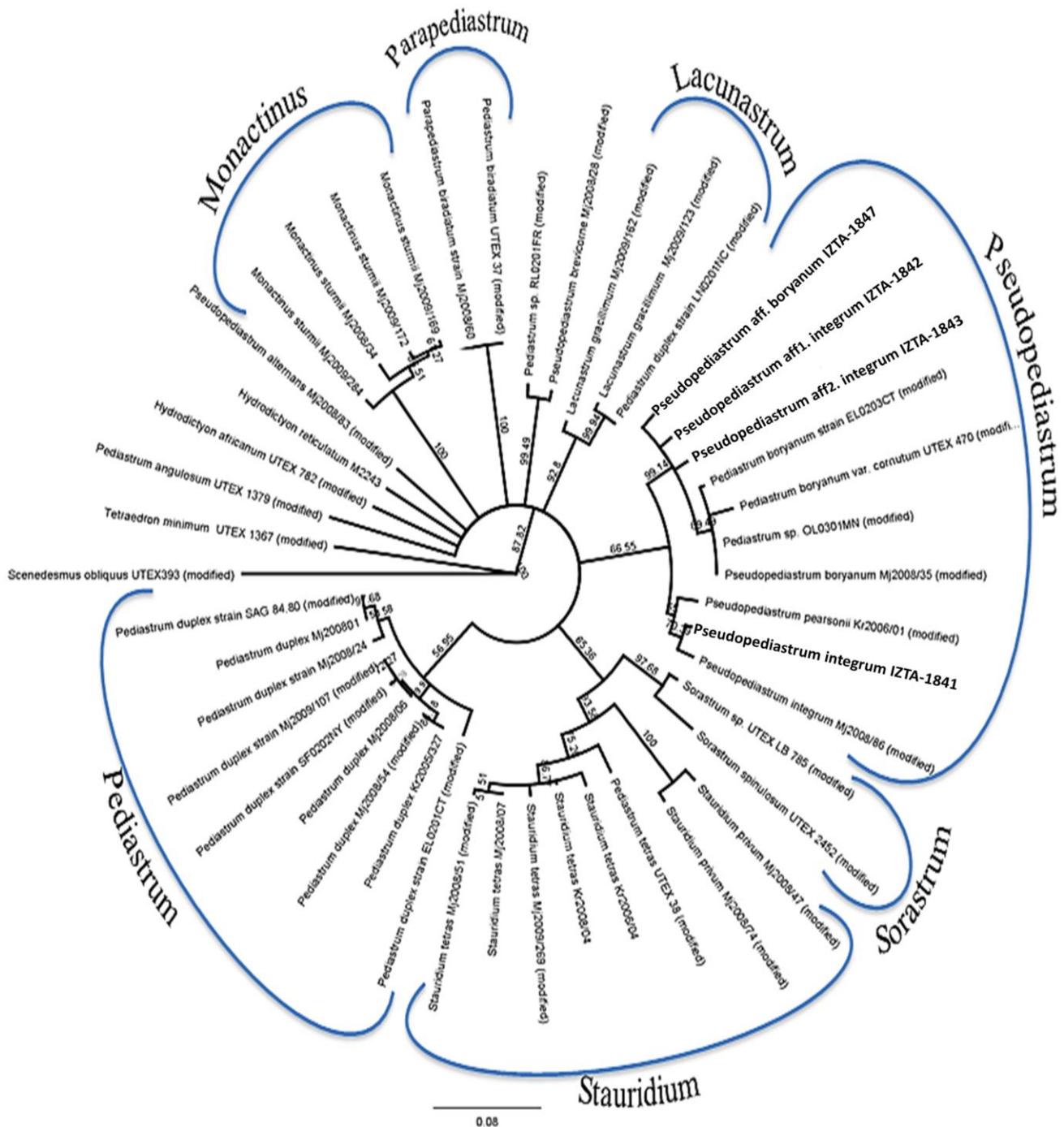


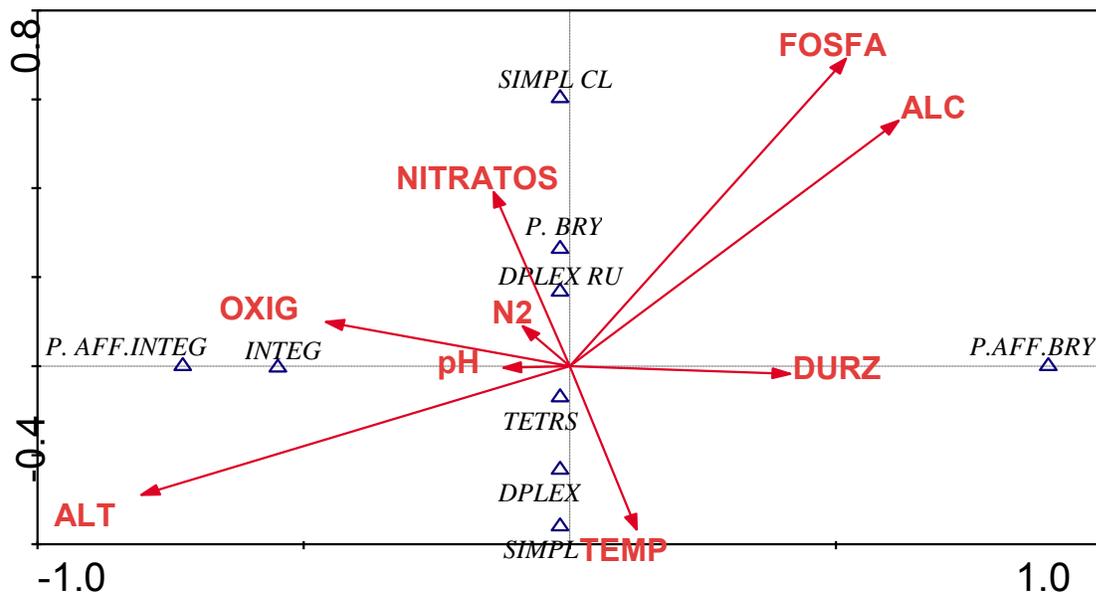
Figura 23. Árbol filogenético de las Hydrodictyaceae donde se indican los clados de los géneros *Lacunastrum*, *Parapediastrum*, *Monactinus*, *Pediastrum*, *Stauridium*, *Sorastrum* y *Pseudopediastrum*. En este último, las cepas aisladas en el presente trabajo, fueron marcadas en negritas, y se anotan el número de herbario correspondiente; las restantes son las secuencias obtenidas del GenBank del banco NCBI junto con su clave de registro. El árbol se realizó con el software Geneious ver. 8.0.5., utilizando el método de Neighbor-Joinig, el modelo Tamura-nei y método de Bootstrap con un número de 10,000 réplicas.





## Análisis de variables y *taxa* determinados

### Relación del género *Pediastrum*-variables ambientales



La correlación *taxa* ambiente ( $F= 2.93$   $P=0.001$ ) para los cuatro ejes canónicos de Análisis de Componentes Canónicos (ACC) Figura 25. Diagrama de ordenación confirmatorio del ACC. Triángulos ( $\Delta$ ) *taxa* y vectores ( $\uparrow$ ) de correlación entre los ejes de ordenación de las variables ambientales cuantificadas. Dónde: OXIG.- Oxígeno, N2.- Nitritos, NITRATOS.- Nitratos, FOSFA.- Fosfatos, ALC.- Alcalinidad total, DURZ.- Dureza total, TEMP.-Temperatura del agua, ALT.- Altitud y pH.- pH; P. AFF. INTEG. - *Pseudopediastrum aff. integrum*, INTEG.- *Pseudopediastrum integrum* DPLEXRU.- *Pediastrum duplex*, P. BRY.- *Pseudopediastrum boryanum*, SIMPL CL.- *Pediastrum simple* var. *chlathratum*, P. AFF. BRY. - *Pseudopediastrum aff. boryanum*, TETRS. - *Stauridium tetras*, DPLEX *Pediastrum dúplex*, SIMPL. - *Monactinus simplex*.

Los dos primeros ejes canónicos del ACC de la figura 25. Definen un espacio en los que los sitios se acomodan en el eje canónico 1, en un gradiente de altitud, oxígeno, pH, nitratos, fosfatos, alcalinidad, dureza y temperatura del agua de los sitios de estudio. *Pseudopediastrum integrum*, se encuentra en lado negativo donde el vector de altitud es opuesto a *Pseudopediastrum boryanum* del lado positivo, más relacionado con el vector de dureza total. En el eje dos están los factores de oxígeno y nitratos. Mientras que a la derecha se muestran las especies que están relacionados con la alcalinidad y fosfatos (Ruacho-González *et al.*, 2013). Siendo así que el *P. integrum* este delimitado por el factor de altitud y los *P. boryanum* por nitratos y fosfatos. La temperatura está más relacionada con las especies de *S. tetras*, *Pediastrum duplex* y *Monactinus simplex*.



## V. CONCLUSIONES

Las investigaciones ficoflorísticas en México han registraron 23 *taxa* del género *Pediastrum* en 16 entidades federativas del país, por lo que aún hace falta explorar muchas áreas del territorio nacional.

Las entidades federativas con mayor número de registros fueron: el Estado de México con cuatro especies, seguido del Distrito Federal con tres y por último, Puebla con dos.

Los resultados del estudio, permitieron reconocer cuatro géneros: *Monactinium*, *Stauridium*, *Pseudopediastrum* y *Pediastrum*; distribuidos en nueve *taxa*: *Pediastrum duplex*, *Pseudopediastrum boryanum*, *Pseudopediastrum aff. boryanum*, *Pseudopediastrum integrum*, *Pseudopediastrum aff<sub>1</sub>. Integrum*, *Pseudopediastrum aff<sub>2</sub>. Integrum*, *Stauridium tetras*, *Monactinus simplex* y *Pediastrum simplex var. clathratum*.

Con base en las observaciones de la ornamentación de la pared celular de los cenobios analizados, se detectó que este carácter cambia en especímenes silvestres o cultivados; por lo que debe de tomarse con cuidado este carácter taxonómico.

Establecer cultivos de *Pediastrum sensu latum* permitió obtener material biológico para la de ITS2 para el estudio filogenético de las poblaciones. Con la metodología empleada se obtuvieron cultivos unialgales de cuatro *taxa*, todas ellas ubicadas en el género *Pseudopediastrum*.

Se comprobó a través de los cultivos de *P. integrum* (IZTA 1841) la presencia de rosetas en el cenobio, carácter que no se indican en la descripción original de la especie.

Para la determinación específica se consideraron caracteres morfológicos, moleculares de las secuencias de ITS2 y estructura secundaria, así como algunos factores ambientales y de cultivo. Algunos *taxa* quedan pendientes su delimitación taxonómica,



mientras tanto las nombramos como afines a *Pseudopediastrum aff. boryanum* y *Pseudopediastrum aff<sub>1</sub>* y *aff<sub>2</sub> integrum*. Para estos últimos, se obtuvieron la estructura secundaria, elementos que apoyan la propuesta de nueva especie para la Ciencia.

Los datos de los análisis físicos-químicos de las localidades donde se colectaron los *taxa* nos indicaron que el género *Pediastrum sensu latum* crece en amplias condiciones ambientales por tanto es de amplia distribución.

Según al ACC se confirma que los factores delimitantes para *Pseudopediastrum integrum* y *aff.* son la altitud y el oxígeno, mientras que para *P. aff. boryanum* fue la dureza y alcalinidad total.

Nuestros resultados corroboran la importancia de incluir la estructura secundaria en el análisis filogenético. Y confirma la importancia de los estudios polifásicos para la determinación taxonómica de muchas microalgas.



## VI. BIBLIOGRAFÍA

- Adl, M.S., Simpson, G.B.A., Lane, C.E., Lukes, C.J., Bass, D.D., Samuel, E., Bowser, Matthew, F., Brown, w., Burki, F.G., Dunthorn, H.M., Hampl, I.V., Heiss, J.A., hoppenrath B.M., Lara, K.E., Le Gall, L.L., Lynn, M.D.H., Mcmanus, N.H., Mitchell, O.E.A.D., Sharon, L., Mozley-Stanridge, E., Parfrey, P.L.W., Pawlowski, Q.J., Rueckert, R.S., Shadwick, S.L., Conrad, T., Schoch, L., Smirnov, A., & Spiegel, F.W. 2012. The Revised Classification of Eukaryotes. *Journal of Eukaryotic Microbiology*. 59(5): 429–493
- Alcocer-Durand, J. & Escobar-Briones, E. 1992. The acuatic biota of the now extinc lacustrine complex of the México basin. *Freshwater biological association ambleside, freshwater forum* 2(3): 171-183.
- Almaraz-Rivera, A. 2013. Remoción de nutrimentos (n: p) a partir del uso de microalgas en agua residual de la planta de tratamiento de San José del Rincón, Estado de México. Tesis para obtener el título de Licenciado en Biología. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Estado de México. 39p
- Alvarado-Díaz, J., Zubieta-Rojas, T., Ortega-Murillo, R., Chacón-Torres, A. & Espinoza, R. 1984. Hipertroficación en un lago tropical somero (Lago de Cuitzeo, Michoacán, México). *Biológicas. Revista de la Escuela de Biología*. UMSNH. Morelia Michoacán. 1:1-22.
- Amateco, F.S.R. 2011. Composición del fitoplancton del lago de Catemaco, Veracruz, México. Tesis para obtener el título de biólogo. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Estado de México. 86pp.
- Arredondo, F.J.L. 1990. La aplicación del análisis de cúmulos y de componentes principales en el estudio limnológicos de estanques temporales. UNAM. *Instituto de Biología*. 229-248.
- Banderas-Tarabay, G.A. 1997. Phycoflora of the tropical high-mountain lake El Sol, and some biogeographical relationships. *Hidrobiología* 354:17-40.
- Banderas-Tarabay, A. & R. González-Villela, 2002. Limnología de El Sol, un lago alpino tropical. In: G. de la Lanza Espino y J.L. García Calderón (compiladores). *Lagos y presas de México*. pp. 51-64, AGT, México. D.F.
- Band-Schmidt, C. J. 2007. Aislamiento, purificación y mantenimiento de cepas de microalgas. In: Arredondo, V.B.O. & D. Voltolina (eds.). *Métodos y Herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal*. Centro de Investigaciones Biológicas del Noreste, S.C. La Paz, 1-16.
- Barsanti, L. & Gualtieri P. 2006. Algae Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology. *Taylor & Francis Group*. U.S. New York. 301pp.
- Boltovskoy, A. 1976. Técnica simple para la preparación de microinvertebrados tecados y loricados lábiles para su examen con el microscopio electrónico de barrido. In: K. Alveal, E. Ferrario, C. Oliveira & E. Sar (Eds). *Manual de métodos ficológicos*. 1995. Ed. Universidad de Concepción. Concepción, Chile. 119-138
- Brehm, V. 1942. Plancton del lago de Pátzcuaro. *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural* 3(1-4): 81-83.
- Buchheim MA, Keller A, Koetschan C, Fo" rster F, Merget B. 2011 Internal Transcribed Spacer 2 (nu ITS2 rRNA) Sequence-Structure Phylogenetics: Towards an Automated Reconstruction of the Green Algal Tree of Life. *PLoS ONE* 6(2): e16931. doi:10.1371/journal.pone.0016931
- Buchheim, M., Buchheim J., Carlson T. Braband A., Hepperle D., Krienitz L. & Wolf M., Hegewald E. 2005. Phylogeny of the Hydrodictyaceae (Chlorophyceae): inferences from rDNA data. *Journal of Phycology* 41: 1039–1054.



- Buchheim, M., Kirkwood, E., Buchheim, J., Verghese B., & Henley J. 2010. Hypersaline soil supports a diverse community of *Dunaliella* (Chlorophyceae). *Journal of Phycology* 46: 1038-1047.
- Cambra-Sánchez, J., Álvarez Cobelas, M. & Aboal Sanjurjo, M. 1998. Lista florística y bibliográfica de los clorófitos (Chlorophyta) de la Península Ibérica, Islas Baleares e Islas Canarias. Burgos: Asociación Española de Limnología. 614 pp.
- Collins, F.S. 1909. The green algae of North America Tufts. *Coll. Stud., Sc. Ser.* 2:79-480.
- CONABIO, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. 2011. *La Biodiversidad en Puebla: Estudio de Estado. México.* Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Gobierno del Estado de Puebla, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. 440 pp.
- De Buén, F. 1941. El Lago Pátzcuaro. Recientes estudios limnológicos. *Revista de Geografía. México.* 1: 20-44.
- De Buén, F. 1944. Limnobiología de Pátzcuaro. *Anales del Instituto de Biología.* Universidad Nacional Autónoma de México. 15: 261-312.
- Deevey, Jr. E.S. 1957. Limnologic studies in Middle América, With a chapter on Aztec limnology. *Trans. Connect. Acad. Arts. Sc.* 39: 213-328.
- Ehrenberg, C.G. 1841. Verbreitung und Einfluss des mikroskopischen Lebens in Sud-und Nord-Amerika. Abh. K. Akad. Wiss. Berlin, Physik. Kl. 291-445 pp.
- Ehrenberg, C.G. 1854. Mikrogeologie. Das Erden und Felsen schaffende Wieken des unischtbar Kleinen selbstsandigen Lebens auf der Erde. xxviii. 291-445pp.
- Figuroa-Torres, M.G., Santos Zafra, D. & Velasco González A.A. 2008. *Ficoflora de Xochimilco, parte 1: Diatomeas y Clorofitas.* Universidad Autónoma Metropolitana. México, Distrito Federal. 122pp.
- Flores-Tena, F.J. 2008. Ecosistemas acuáticos. In: La biodiversidad en Aguascalientes: Estudio de estado. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). Instituto del Medio Ambiente del Estado de Aguas Calientes (IMAE). Universidad Autónoma de Aguascalientes (UAA). México. pp. 97-102.
- García-Rodríguez J., F.I. Molina-Astudillo, H. Quiroz-Castelán, P. Trujillo-Jiménez & Díaz-Vargas M. 2011. Distribución y sistemática del fitoplancton a lo largo del río Amacuzac (Morelos, México). *Acta Universitaria. Universidad de Guanajuato.* 21(2): 11-23.
- Garduño-Solórzano, G., Oliva M.M.G. & Ortega M. 2009. Algas. In: Ceballos G., List R., Garduño G., López C.R., Muñozcano Q.M.J., Collado E. & San Román J.E. (compiladores). La diversidad biológica del Estado de México. Estudio de estado. México. pp. 153-162.
- Garduño-Solórzano, G., Rodríguez-Palacio, M. C., Martínez-García, M., Quintanar-Zúñiga, R. E., Lozano-Ramírez, C., Campos-Contreras, J. E., & Monsalvo-Reyes, A. C. 2011. Cultivos de microalgas del Lago de Catemaco, Veracruz. *Revista Latino Americana de Biotecnología Ambiental Algal* 2(2): 67-80.
- Gawlik, R.S. & Millington F.W. 1988. Structure and function of the bristles of *Pediastrum boryanum* (Chlorophyta). *Journal of Phycology.* 24: 474- 482.
- Gaytán-Herrera, M.L. Martínez-Almeida, V. Oliva-Martínez, M.G. Duran-Díaz A. Ramirez-Garcia P. 2011. Temporal variation of phytoplankton from the tropical reservoir Valle de Bravo, México. *Journal of Environmental Biology.* 32(1)117-126.
- González-Villela, R. & Banderas-Tarabay A. 2002. Multivariate analysis of the primary production in a tropical high mountain lake México. *Journal of freshwater ecology* 17: 75-83.



- Graham L. E., Graham M.J. & Wilcox W.L. 2009. *Algae*. 2da edición. Pearson Education. Pp. 354-358.
- Guiry, M.D. & Guiry, G.M. 2015. *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>; searched on 28 January 2015
- Hällfors, G. 2004. Checklist of Baltic Sea phytoplankton species (including some heterotrophic protistan groups). *Baltic Sea Environment Proceedings* 95: [1]-208.
- Helms, G., T. Friedl & G. Rambold. 2003. Phylogenetic relationships of the Physciaceae inferred from rDNA sequence data and selected phenotypic characters. *Mycologia*. 95(6):1078-1099
- Hernández-Morales, R., M. R. Ortega-Murillo, R. Alvarado-Villanueva, J. D. Sánchez-Heredia & F. Medrano-Zarco, 2008. Variación anual del Fitoplancton en el Lago Cráter La Alberca de Tacámbaro, Michoacán, México. *Revista Biológicas* 10: 5-17.
- Hoffmann, C.C. & A. Sámano-Bishop, 1938. Los criaderos invernales de *Anopheles pseudopunctipennis* en el Estado de Oaxaca. *Anales del Instituto de Biología*. Universidad Nacional Autónoma de México 9: 181-192.
- Jena, M., C. Bock, C. Behera, S.P. Adhikary & L. Krienitz. 2014. Strain survey on three continents confirms the polyphyly of the genus *Pediastrum* (Hydrodictyceae, Chlorophyceae). *Fottea*. Olomouc. 14(1): 63-76.
- John, D.M. & Tsarenko, P.M. 2002. Order Chlorococcales. In: John, D.M., Whitton, B.A. & Brook, A.J. (Eds). *The Freshwater Algal Flora of the British Isles. An identification guide to freshwater and terrestrial algae*. Cambridge. Cambridge University Press. 327-409 pp.
- Keller, A., Schleicher, T., Förster, F., Ruderisch, B. Dandekar, T., Müller, T., & Wolf, M. 2008. ITS2 data corroborate a monophyletic chlorophycean DO-group (Sphaeropleales). *BMC Evolutionary Biology*. 8(218): 1-12
- Koetschan C., Hacki T., Müller T., Wolf M., Förster F., Schultz J. 2012. ITS2 Database IV: Interactive taxon sampling for internal transcribed spacer 2 based phylogenies. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 63 (3): 585-588.
- Komárek, J. & Jankovská V. 2001. Review of the green algal Genus *Pediastrum*; Implication for pollen-analytical Research. *Biblioteca Phycologica*. Berlín. 127pp.
- Komárková, J. & R. Tavera, 2003. Steady state of phytoplankton assemblage in the tropical lake Catemaco (Mexico). *Hydrobiologia* 502: 187-196.
- Kusel-Fetzmann, E. 1973. Beiträge zur Kenntnis der algenflora der Hochgebirge Zentralamerikas und der Nördlichen Anden. *Hochgebirgsforschung* 3: 29-68.
- López-López, E. & Serna-Hernández J.A. 1999. Variación estacional del zooplancton del embalse Ignacio Allende, Guanajuato, México y su relación con el fitoplancton y factores ambientales. *Revista Biológica Tropical* 47(4): 643-657.
- López-Adrián, S. J. & R. C. Barrientos-Medina. 2005. Diversidad y distribución del fitoplancton de agua dulce en la Península de Yucatán, México. *Ibugana. Boletín del Instituto de Botánica. Universidad de Guadalajara* 13: 3-12.
- Lozano-García, M.S. 1996. La vegetación del Cuaternario Tardío en el centro de México: registros palinológicos e implicaciones paleoclimáticas. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 58: 113-127.
- Margain-Hernández, R.M. 1989. Lista Ficoflorística de la cuenca del río Pánuco, México. I. Cuerpos de agua temporales (Regiones Oriental y Sur). *Bioteología Ambiental* 1(3): 24-38.
- McManus, H.A. & Lewis L.A. 2011. Molecular phylogenetic relationships in the freshwater family Hydrodictyceae (Sphaeropleales, Chlorophyceae), with an emphasis on *Pediastrum duplex*. *Journal of Phycology* 47: 152-163.



- McManus, H.A. Lewis, L.A. & Schultz, E.T. 2011. Distinguishing multiple lineages of *Pediastrum duplex* with morphometrics and a proposal for *Lacunastrum gen. nov.* *Journal of Phycology* 47(1): 123-130.
- Mendoza-González, A.C. 1973. Estudio florístico ficológico estacional de la laguna de Victoria o de Santiago Tilapia, Estado de México. Tesis Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. IPN. México. 153 pp.
- Mendoza-González, A.C., L. Huerta-Muzquiz & C. Flores-Granados, 1985. Estudio florístico del fitoplancton del lago. Zirahuén, Michoacán México. *Phytologia* 59: 1-15.
- Millington, W.F. & Labavitch J.M. 1986. An autolysin dissolves the inner cell wall layer of the alga *Pediastrum (Hydrodictyaceae)*. *Protoplasma* 133:29-33.
- Montejano-Zurita, G., Cantoral-Uriza, A. & Carmona-Jiménez J. 2004. Algas de ambientes lóticos en la cuenca baja del río Pánuco. In: Luna, I.J.J. Morrone y D. Espinosa (eds). Biodiversidad de la Sierra Madre Oriental. *Las prensas de Ciencias*. México, D.F. pp.111-126.
- Mora-Navarro, M.R., J.A. Vázquez-García & Y.L. Vargas-Rodríguez. 2004. Ordenación de comunidades de fitoplancton en el lago de Chapala, Jalisco-Michoacán, México. *Hidrobiológica* 14(2): 91-103.
- Moreno-Ruiz, J. L., M. Tapia-García, M. C. González-Macías & M. G. Figueroa-Torres, 2008. Fitoplancton del río Tehuantepec, Oaxaca, México y algunas relaciones biogeográficas. *Revista de Biología Tropical* 56(1): 27-54.
- NCBI (National Center for Biotechnology Information) <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
- Novelo, E. 2012. *Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán*. Chlorophyta. Instituto de Biología, UNAM. 94:1-86.
- Novelo, E., Ponce E., Ramírez R. & Ramírez M. 2007. Algas. In: Lot A. (coordinador) Guía ilustrada de la Cantera Oriente: caracterización ambiental e inventario biológico. Coordinación de la Investigación Científica, Secretaría Ejecutiva de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel de Ciudad Universitaria. UNAM. México. pp. 63-95.
- Okolodkov, Y.B. & Blanco-Pérez R., 2011. Diversidad de microalgas marinas y de aguas salobres. In: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). La biodiversidad en Veracruz: Estudio de Estado. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Gobierno del Estado de Veracruz, Universidad Veracruzana, Instituto de Ecología, A.C. México.
- Oliva-Martínez, M.G., J.L. Godínez-Ortega & C.A. Zuñiga-Ramos, 2014. Biodiversidad del fitoplancton de aguas continentales en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 85: 54-61.
- Oliva-Martínez, M.G., Rodríguez-Rocha A., Lugo-Vázquez A & Sánchez-Rodríguez M.R. 2008. Composición y dinámica del fitoplancton en un lago hipertrófico. *Hidrobiología* 18: 1-13.
- Ortega, M.M. 1984. *Catálogo de algas continentales recientes de México*. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. pp. 226-230.
- Ortega-Murillo, M. R., R. Alvarado-Villanueva, R. Hernández-Morales & J. D. Sánchez-Heredia. 2010. Evolución trófica de un lago tropical hiposalino en México con base al fitoplancton. *Revista Biológicas* 12: 75-81.
- Osorio-Tafall, B.F. 1941. Materiales para el estudio del micro plancton del lago de Pátzcuaro (México). I. Generalidades y fitoplancton. *Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas* 2: 331-383.
- Osorio-Tafall, B.F. 1944. Biodinámica del Lago de Pátzcuaro I. Ensayo-de interpretación de sus relaciones tróficas. *Rev. Soc. Mex. Hist. Nat.*, 5: 197-227.



- Ponce de León, R. 1909. Ligeros apuntes sobre la flora del Estado de Sinaloa. Tip. J. Arce. Culiacán. 20pp.
- Quiroz-Castelán, H., Molina-Astudillo, F.I. & Ortega-Salas, A.A. 1999. Abundancia y diversidad del fitoplancton en estanques con policultivo de peces, utilizando fertilizantes orgánicos, inorgánicos y combinados. *Ciencia y Mar* 3(8): 3-12.
- Ralfs, J. 1848. The British Desmidiaceae. Reeve, Benham and Reeve. London. Reimpreso en 1972 por J. Cramer. *Lehre*. 21: 226pp
- Rioja, E. 1940. Observaciones acerca del plancton del Lago Pátzcuaro. *Anales del Instituto de Biología*. Universidad Nacional Autónoma de México 11: 417-425.
- Rioja, E. 1942. Estudios Hidrobiológicos VII. Observaciones acerca del plancton de la laguna de San Felipe Xochiltepec (Puebla). I. *Anales del Instituto de Biología*. Universidad Nacional Autónoma de México. 13: 519-526.
- Rioja, S. & Herrera T. 1951. Ensayo sobre el limnobia de Ierma y sus alrededores. *Anales del Instituto de Biología* 22(21): 565-591.
- Robles, V. E., González, M.E., Sainz, M.G. Martínez, M.E. y Ayala, R. 2008. Análisis de aguas. Métodos fisicoquímicos y bacteriológicos. Ed. FES Iztacala. Universidad Nacional Autónoma de México. 182 pp.
- Round, F.E. 1981. The Ecology of Algae. Cambridge University Press. Cambridge, 653 pp.
- Ruacho-González, L., González-Elizondo M.S., González-Elizondo M y López-González C. 2013. Diversidad florística en cimbras de la Sierra Madre Occidental, México, y su relación con variables ambientales. *Botanical Sciences* 91(2): 193-205.
- Sámano-Bishop, A. & Sokoloff, D. 1931. La flora y fauna de aguas dulces del Valle de México. Dos fascículos. Monografía I. *Instituto de Biología*. Universidad Nacional Autónoma de México. Fasc. 1:5-38, Fasc 2: 39-49.
- Sámano-Bishop, A. 1934. Contribución al conocimiento de las algas verdes de los lagos del Valle de México. *Anales del Instituto de Biología, UNAM*. 5: 149-177.
- Sánchez-Rodríguez, M.E. & Vázquez G. 1990. Estudio bioecológico de la Laguna de Atezca, Hidalgo, México. II. Anales de la comunidad fitoplanctónica. *An. Esc. Nac. Cienc. Biol. Méx.* 33: 9-19.
- Segura, M., Rojo C. & Rodrigo M.A. 2007. Factores que controlan la variabilidad morfológica de *Pediastrum tetras* bajo diferentes condiciones experimentales. *Limnetica* 26(2): 233-242.
- Seibel, P.N. Müller T., Dandekar T, Wolf M. 2008. Synchronous visual analysis and editing of RNA sequence and secondary structure alignments using 4SALE. *BMC Research Notes* 1:91
- Sulek, J. 1969. Taxonomische Übersicht der Gattung. *Pediastrum* Meyen. In: Fott B. (Ed.). *Studies in Phycology*. E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung (Nâgele u Obermiller). Stuttgart. pp. 197-241.
- Tavera, R. & B. Díez, 2009. Multifaceted approach for the analysis of the phototrophic microbial community in a freshwater recreational area of Xochimilco, Mexico. *Hydrobiologia* 636: 353-368.
- Ter Braak, C.J.F. & Smilauer P. 2009. CANOCO for Windows versión 4.5. Biometrics-Plant Research International, Wageningen.
- Thermo Fisher Scientific. 2013. Thermo scientific Phire plant direct PCR kit.
- Thiers, B. 2014. *Index Herbariorum*: A global directory of public herbaria and associated staff. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium. Available at: <http://sweetgum.nybg.org>



- 
- UTEX. 2014. Culture Collection of Algae at the University of Texas at Austin. <http://www.bio.utexas.edu/research/utex>
- Villa, M.A.L., Moreno J.L.R. & Amaro M.E.J. 1996. *Fitoplancton conceptos básicos y técnicas de laboratorio*. Universidad Nacional Metropolitana. México, D.F. 64 pp.
- Wetzel, R. G. 2001. *Limnology: Lake and River Ecosystem*. Third Edition. Academic Press. San Diego. 1006 p.
- White, T.J., Bruns T., Lee S. & Taylor J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA gene for phylogenetics. In: Innis, M.A., Gelfand, J.J. Sininsky y T.J. White. 1990. PCR Protocols: A guide to Methods and Aplications. Academic Press, Inc. New York. Pp. 315-322.
- Wood, A.C. 1872. A contribution to the history of the freshwater algae of North America. *Smithsonian Contr. Knowl.* 19: 1-262.



## VII. Anexo 1

### Medios de cultivo

<b>MEDIO MODIFICADO BOLD 3N</b>			
Componente	Cantidad	Stock Concentración De la Solución	Concentración Final
NaNO <sub>3</sub> (Fisher BP360-500)	30 mL/L	10 g/400mL dH <sub>2</sub> O	8.82 mM
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O (Sigma C-3881)	10 mL/L	1 g/400mL dH <sub>2</sub> O	0.17 mM
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O (Sigma 230391)	10 mL/L	3 g/400mL dH <sub>2</sub> O	0.3 mM
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (Sigma P 3786)	10 mL/L	3 g/400mL dH <sub>2</sub> O	0.43 mM
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (Sigma P 0662)	10 mL/L	7 g/400mL dH <sub>2</sub> O	1.29 mM
NaCl (Fisher S271-500)	10 mL/L	1 g/400mL dH <sub>2</sub> O	0.43 mM
P-IV Metal Solución	6 mL/L		
Soilwater: GR+ Medium	40 mL/L		
Vitamina B <sub>12</sub>	1 mL/L		
Biotina Vitamina Solución	1 mL/L		
Tiamina Vitamina Solución	1 mL/L		

<b>P-IV Metal Solución</b>		
Componente	Cantidad	Concentración Final
Na <sub>2</sub> EDTA·2H <sub>2</sub> O (Sigma ED255)	0.75 g/L	2 mM
FeCl <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O (Sigma F-1513)	0.097 g/L	0.36 mM
MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O (Baker 2540)	0.041 g/L	0.21 mM
ZnCl <sub>2</sub> (Sigma Z-0152)	0.005 g/L	0.037 mM
CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O (Sigma C-3169)	0.002 g/L	0.0084 mM
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O (J.T. Baker 3764)	0.004 g/L	0.017 mM

<b>Solución suelo: GR+ Medio</b>		
Componente	Cantidad	Concentración Final
Green House Soil	1 tsp/200 mL dH <sub>2</sub> O	
CaCO <sub>3</sub> (opcional) (Fisher C 64)	1 mg/200 mL dH <sub>2</sub> O	0.05 mM

<b>Vitamina B12</b>	
Componente	Cantidad
HEPES buffer pH 7.8 (Sigma H-3375)	2.4 g/200 mL dH <sub>2</sub> O
Vitamina B <sub>12</sub> (cyanocobalamin, (Sigma V-6629)	0.027 g/200 mL dH <sub>2</sub> O

<b>Biotina Vitamina Solución</b>	
Componente	Cantidad
HEPES buffer pH 7.8 (Sigma H-3375)	2.4 g/200 mL dH <sub>2</sub> O
Biotina (Sigma B-4639)	0.005 g/200 mL dH <sub>2</sub> O

<b>Tiamina Vitamina Solución</b>	
Componente	Cantidad
HEPES buffer pH 7.8 (Sigma H-3375)	2.4 g/200 mL dH <sub>2</sub> O
Tiamina (Sigma T-1270)	0.067 g/200 mL dH <sub>2</sub> O



## MEDIO CON EL FERTILIZANTE FOLIAR FERTIPLUS

Con nutrientes orgánicos 11-8-5.

MODO DE PREPARACION: Se agregan 3ml por cada litro de agua destilada esterilizada.

Ingredientes activos (Porcentaje en peso)	
Nitrógeno (N)	7.28%
Potasio (K <sub>2</sub> O)	14.07%
Hierro (Fe)	0.006%
Zinc (Zn)	0.002%
Azufre (S)	1.31%
Fosforo (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )	8.21%
Magnesio (Mg)	0.086%
Boro (B)	0.002%
Calcio (Ca)	0.19%
Molibdeno (Mo)	TRAZAS

Marca registrada Delta, Hecho en México



## Anexo 2. Lista de las cepas de referencia y aisladas en este estudio

Cepa	Especie	Origen	Numero de acceso	Referencia
IZTA-1847	<i>Pseudopediastrum aff. boryanum</i>	Arroyo Tilapa, Zapotitlán, Puebla		Presente estudio
IZTA-1841	<i>Pseudopediastrum integrum</i>	Cantera Oriente, reserva ecológica del Pedregal de San Ángel de Ciudad Universitaria		
IZTA-1842	<i>Pseudopediastrum aff. integrum</i>	Arroyo Tilapa, Zapotitlán, Puebla		
IZTA-1843	<i>Pseudopediastrum aff. integrum</i>	Laguna El Sol, Nevado de Toluca, Estado de México		
UTEX LB782	<i>Hydrodictyon africanum</i>	South África	AY779861 AY663031	Buchheim <i>et al.</i> 2005
M2243	<i>Hydrodictyon reticulatum</i>	EE.UU., Indiana	AY779858 AY779862	
MJ 2009/123	<i>Lacunastrum gracillimum</i>	India, Orissa, estanque en Athagarh	HM021304	Jena <i>et al.</i> 2014
MJ 2009/162	<i>Lacunastrum gracillimum</i>	India, Orissa, estanque en Chandaneswar	HM021305	
MJ 2008/34	<i>Monactinus sturmii</i>	Alemania, Lago Dollgow	HM021323	
MJ 2009/169	<i>Monactinus sturmii</i>	India, Orissa, estanque en Chandaneswar	HM021322	
MJ 2009/172	<i>Monactinus sturmii</i>	India, Orissa, río Mahanadi	HM021321	
MJ 2009/284	<i>Monactinus sturmii</i>	Kenia, el lago Baringo	HM021325	
UTEX 37	<i>Parapediastrum biradiatum</i>	Suecia	AY663034 AY779865	Buchheim <i>et al.</i> 2005
MJ 2008/60	<i>Parapediastrum biradiatum</i>	Alemania, Lago Schwantner	HM021320	Jena <i>et al.</i> 2014
UTEX LB1379	<i>Pediastrum angulosum</i>	Checoslovaquia, Doksy, piscina jezero Machovo	AY779864	Buchheim <i>et al.</i> 2005
LN0201NC	<i>Pediastrum duplex</i>	EE.UU., Carolina del Norte, Lake Norman	AY577744	McManus & Lewis 2005
SAG 84.80	<i>Pediastrum duplex</i>	Alemania, Schöhsee, Plön	AY577748	
SF0202NY	<i>Pediastrum duplex</i>	EE.UU., Nueva York, Imágenes Pot Pisos	AY577757	Jena <i>et al.</i> 2014
KR 2005/327	<i>Pediastrum duplex</i>	Israel, Lago Kineret	HM021298	
MJ 2008/01	<i>Pediastrum duplex</i>	Alemania, Lago Dagow	HM021300	
MJ 2008/06	<i>Pediastrum duplex</i>	Kenia, presa cerca Nyahururu	HM021301	
MJ 2008/24	<i>Pediastrum duplex</i>	Alemania, Lago Geron	HM021303	
MJ 2008/54	<i>Pediastrum duplex</i>	Kenia, presa cerca Nyahururu	HM021299	
MJ 2009/107	<i>Pediastrum duplex</i>	India, Orissa, estanque en Bhubaneswar	HM021302	
RL0201FR	<i>Pediastrum sp.</i>	Francia, Reilhac Lago	AY577749	McManus & Lewis 2005
MJ 2008/83	<i>Pseudopediastrum alternans</i>	Namibia, río Cuando cerca Kongola	HM021311	Jena <i>et al.</i> 2014
OL0301MN	<i>Pseudopediastrum boryanum</i>	EE.UU., Minnesota, Lago Otter	AY577759	McManus & Lewis 2005
EL0203CT	<i>Pseudopediastrum boryanum</i>	EE.UU., Storrs, Connecticut Lago Eagleville	AY577742	
MJ 2008/28	<i>Pseudopediastrum brevicorne</i>	Alemania, Lago Dollgow	HM021310	Jena <i>et al.</i> 2014
MJ 2008/35	<i>Pseudopediastrum boryanum</i>	Alemania, Lago Dollgow	HM021307	
MJ 2008/86	<i>Pseudopediastrum integrum</i>	Namibia, estanque en Mariental	HM021309	
KR 2006/1	<i>Pseudopediastrum pearsonii</i>	Kenia, el lago Naivasha	HM021308	
UTEX LB2452	<i>Sorastrum spinulosum</i>	charco en Finlandia	AY663041 AY779872	Buchheim <i>et al.</i> 2005
UTEX LB785	<i>Sorastrum sp.</i>	EE.UU., Bloomington, Indiana	AY663040 AY779871	
MJ 2008/47	<i>Stauridium privum</i>	Kenia, presa cerca Nyahururu	HM021319	Jena <i>et al.</i> 2014
MJ 2008/74	<i>Stauridium privum</i>	Alemania, Lago Stechlin	HM021318	
UTEX 38	<i>Stauridium tetras</i>	Checoslovaquia	AY779892 AY779869	Buchheim <i>et al.</i> 2005
KR 2006/04	<i>Stauridium tetras</i>	Kenia, el lago Naivasha	HM021317	Jena <i>et al.</i> 2014
KR 2008/04	<i>Stauridium tetras</i>	India, Kerala, estanque en Kochi	HM021316	
MJ 2008/07	<i>Stauridium tetras</i>	Kenia, presa cerca Nyahururu	HM021315	
MJ 2008/51	<i>Stauridium tetras</i>	Kenia, presa cerca Nyahururu	HM021314	
MJ 2009/269	<i>Stauridium tetras</i>	Kenia, Thika, campo de arroz	HM021313	
UTEX 1367	<i>Tetraedron minimum</i>	Eslovaquia. Estanque Rezabinec, Ražice	AY663042 AY779875	