



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

**FICOFLORA DE ZAPOTITLÁN SALINAS, VALLE DE
TEHUACÁN, PUEBLA**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**B I Ó L O G A
P R E S E N T A**

ALEIDA GARCÍA HERNÁNDEZ



**DIRECTORA DE TESIS
DRA. MARTHA MARTÍNEZ GARCÍA**

**Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla Edo. de México,
2017**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS

A mi directora de tesis Dra. Martha Martínez, mi más amplio agradecimiento por creer en mí, por su paciencia y motivación para ayudarme a concluir mis estudios con éxito.

A la Maestra Gloria Garduño un agradecimiento muy especial por su apoyo incondicional y su dedicación, por compartirme de sus amplios conocimientos y permitir realizar una parte muy importante de este trabajo.

A los académicos Dr. Jorge Campos, Dr. Víctor Salazar, M. en C. Carlos Rosas, M. en C. Alejandro Monsalvo Reyes, M. en C. Rafael Quintanar por sus consejos y apoyo en partes cruciales de esta tesis.

Al Sistema de Becas para Estudiantes de Pueblos Indígenas y Negros de la UNAM, SBEI por el apoyo económico y moral proporcionado a lo largo de mi formación académica.

A mis padres, esto no habría sido posible sin ellos, gracias por nunca dejar de creer en mí y que a pesar de la distancia siempre estuvieron a mi lado dándome fuerza y confianza de seguir.

A mi hermana Nadia y mi cuñado Raúl por todo su apoyo y cariño. No me alcanzan las palabras para agradecer todo lo que han hecho por mí. A mi sobrino Bruno, quien me dio mucha fuerza para seguir adelante.

A mis hermanos por su invaluable compañía y ánimos en momentos en que esto se veía muy lejano.

A Omar por su amor incondicional, quien me alentó y presionó siempre para concluir mis estudios.

ÍNDICE DE CONTENIDO

| | |
|---|----|
| RESUMEN | 4 |
| INTRODUCCIÓN | 5 |
| OBJETIVOS | 11 |
| Objetivo general | 11 |
| Objetivos particulares..... | 11 |
| MATERIALES Y MÉTODOS | 12 |
| Área de estudio | 12 |
| Expediciones ficológicas | 12 |
| Material biológico | 14 |
| Determinación taxonómica..... | 15 |
| Variables fisicoquímicas..... | 15 |
| Comparación de sitios de colecta | 15 |
| Aislamiento y cultivo de Cyanoprokaryota | 16 |
| Análisis molecular de Cyanoprokaryota | 16 |
| RESULTADOS | 18 |
| Ficoflora | 18 |
| Variables fisicoquímicas..... | 40 |
| Comparación de los sitios de colecta..... | 41 |
| Estructura secundaria de hélices de Cyanoprokaryota | 43 |
| DISCUSIÓN | 44 |
| Ficoflora | 44 |
| Variables fisicoquímicas..... | 46 |
| Estructura secundaria de hélices del ARN..... | 48 |
| CONCLUSIONES..... | 53 |
| BIBLIOGRAFÍA | 54 |
| Anexo 1 Clasificación taxonómica..... | 61 |
| Anexo 2 Secuencias Moleculares | 65 |
| Anexo 3. Estructura secundaria de de la subunidad pequeña de la molécula de rRNA (16S) de <i>Escherichia coli</i> | 66 |
| GLOSARIO..... | 67 |

RESUMEN

La ficoflora es un conjunto de organismos que contienen pigmentos fotosintéticos que les permite realizar fotosíntesis oxigénica, bajo este criterio se ha considerado tradicionalmente a Cyanoprokaryota dentro de esta clasificación. Para su determinación se utilizan criterios morfológicos, genéticos, bioquímicos y reproductivos, su estudio es importante ya que representan una alternativa biotecnológica en distintos campos. En años recientes los trabajos taxonómicos se han conjuntado con análisis fenotípicos y moleculares, lo que ha permitido reorganizar su sistemática. El objetivo de este trabajo fue determinar la ficoflora eucariota bajo el concepto de especie morfológica y mediante datos moleculares dos Cyanoprokaryota del Valle de Zapotitlán, donde se realizaron dos exploraciones ficológicas y se seleccionaron ocho sitios de colecta. En laboratorio se hicieron observaciones tanto en microscopia de luz y microscopia electrónica de barrido. Se determinaron 97 especies incluyendo 8 morfotipos, los cuales se distribuyeron en: 39 (40%) de Cyanoprokaryota, 25 (25%) de Bacillariophyta, 18 (19%) de Chlorophyta, 14 (15%) de Charophyta y 1 (1%) de Xanthophyta. De ellas 15 especies son nuevos registros para la zona y tres nuevos registros para el país, *Merismopedia marsonii* Lemmermann, *Pseudanabaena minima* (G. S. An) Anagnostidis (Cyanoprokaryota) y *Palmodyction viride* Kützing (Chlorophyta). Además, se realizó la descripción de 51 especies apoyadas con fotografías originales. Los ocho sitios de colecta fueron comparados con un análisis de conglomerado, el grado de similitud entre estos fue solo respecto a la baja presencia de especies. Así mismo, mediante los índices de diversidad de Shannon-Wiever y α se determinó que los sitios de colecta tienen baja diversidad $H=0.23$ y 0.89 . Se obtuvieron cultivos monoalgales de *Geitlerinema amphibium* C. Agardh ex Gomont y *Porphyrosiphon martensianus* (Meneghini ex Gomont) Anagnostidis & Komárek, así como las secuencias nucleóticas parciales de la subunidad del 16S rRNA, logrando identificar las hélices 17, 21 y 41. Lo cual corresponde al primer reporte de este tipo para ambas especies en el Valle de Zapotitlán.

INTRODUCCIÓN

La ficoflora está constituida por uno de los grupos más variados de talofitas. Son microorganismos autótrofos que se distinguen por carecer de una diferenciación celular que produzca tejidos verdaderos (Hoek *et al.*, 1995), contienen clorofila *a* y otros pigmentos fotosintéticos, por lo que encontramos algas verdes, verde azules, pardas y rojas, capaces de transformar la energía luminosa en energía química con una eficiencia cuatro veces mayor a la de las plantas superiores. Su organización va desde formas unicelulares, hasta filamentos, colonias o cenobios de poco hasta ciento de células (González, 1992; Garibay *et al.*, 2009). En conjunto, representan más de la mitad de la producción primaria total en todo el mundo. Tienen la capacidad de colonizar cualquier ambiente, las hay subaéreas, acuáticas o terrestres; viven dentro o sobre las rocas, fango o arena, plantas o animales; en el agua dulce, en el mar o en agua salobre, y habitan desde los lagos tropicales hasta en nieves alpinas y polares (Hoek *et al.*, 1995; Benemann & Oswald, 1996).

Estos organismos son llamados de manera vernácula con el término alga, el cual fue utilizado por primera vez por Linneaus en 1753, en *Species plantarum* cuando así designó a unos de los cuatro órdenes propuestos para las criptógamas. Actualmente, alga no corresponde a ninguna categoría taxonómica y como mencionan Parra y Bicudo (1996) es un grupo artificial que reúne a organismos extremadamente diversos.

Se estima que dentro de esta denominación se agrupan entre 30,000 a 1 millón de especies descritas y no descritas (Guiry, 2012), difieren notablemente en forma, tamaño, estructura celular, metabolismo, composición química, ciclos de vida y el hábitat, este último determinado por las limitaciones impuestas por la presencia o ausencia de ciertos factores ecológicos. Algunas variables que intervienen en la distribución son: la iluminación, temperatura, minerales y nutrimentos (Prescott, 1982; Novelo, 2013).

Las Cyanoprokaryota o algas verde-azules son un antiguo y diverso linaje de organismos fototróficos oxigénicos ampliamente distribuidos, que producen c-ficocianina, c-ficoeritrina, c-alloficocianina y tienen la capacidad de sintetizar clorofila *a*, por lo que se les ha considerado tradicionalmente dentro del grupo

de las algas (Vargas & Novelo, 2007; Gómez, 2007; Perkinson *et al.*, 2011; Whitton & Potts, 2000;). Son a menudo los primeros organismos en colonizar roca y suelo. Las adaptaciones, como la absorción de pigmentos ultravioleta a través de la vaina, aumentan su aptitud en el medio terrestre relativamente expuesto, en donde son importantes en los procesos funcionales de los ecosistemas y los ciclos de los nutrientes (Whitton, 1992). Un ejemplo de ello es *Chroococidiopsis* sp. quien tiene una alta tolerancia al calor y la desecación, siendo capaz de rehidratarse muy rápidamente después de que la humedad se encuentra disponible (Boison *et al.*, 2004).

La importancia del estudio de las algas dulceacuícolas radica en que su cultivo representa una oportunidad para futuros estudios en biotecnología. Investigaciones de las últimas décadas han demostrado que algunas de ellas producen sustancias anti-inflamatorias, antitumorales, antivirales y antimicrobianas; por ejemplo, en *Staurastrum gracile* se demostró actividad antibacteriana (Cannell *et al.*, 1988); el género *Chlorella* ha sido ampliamente utilizado principalmente para la obtención de luteína; *Scenedesmus* spp. se cultivan con el propósito de obtener alimento vivo en acuicultura y la biorremediación de aguas residuales (Sánchez y García, 1999; Costa y Liss, 1999; Ospina y Peña, 2004; Garduño *et al.*, 2011), así como para la producción de biocombustibles por cantidad de lípidos (Chisti, 2007; Schenk *et al.*, 2008; Rittman, 2008). Por su parte, en *Chara zeylanica* Willdenow se ha indicado su uso como bioinsecticida por lo metabolitos secundarios que destruyen del epitelio digestivo de las larvas de mosquito (John *et al.*, 2002; Garduño *et al.*, 2010). También son utilizadas como indicadores de la calidad del agua; por ejemplo, *Vaucheria geminata* se desarrolla en ambientes oligotróficos, en contraste *Aulacoseira granulata* crece en condiciones eutróficas (De la Lanza *et al.*, 2000; Schagerl y Kerschbaumer, 2008, Bonilla *et al.*, 2013). Múltiples estudios han demostrado efectos favorables de las costras de suelo microbióticas y las Cyanoprokaryota de vida libre edáficas, en el aumento de la estabilidad de suelos áridos, la penetración del agua y la disponibilidad de nutrientes (Rivera *et al.*, 2006; Mühlsteinová *et al.*, 2014).

A pesar de esta larga historia de estudio, existe un vacío de información de la cual aún no se tiene conocimiento tanto a nivel taxonómico como a nivel

filogenético. Nuevas especies son descubiertas cada año y las investigaciones moleculares han revelado muchas especies crípticas y relaciones filogenéticas inesperadas (Hall *et al.*, 2010).

En la actualidad hay dos tipos de determinación taxonómica: la tradicional, basada en los caracteres morfológicos y la molecular. En la primera se consideró, el concepto de especie morfológica y por lo cual surgieron a través de las décadas diferentes clasificaciones desde Gomont (1892), Geitler (1932), Desikachary (1959), Bourrelly (1970) donde se definieron numerosas *taxa*. A partir de las investigaciones de Komárek (1985), se inician los trabajos con un enfoque polifásico donde además de caracteres morfológicos, son incluidos marcadores moleculares, además de información obtenida a partir del cultivo de los organismos (Oliva & Garduño, 2017). Dando como resultado una revolución en la clasificación de estos, de tal forma que géneros como *Nostoc* y *Lyngbya* han sido reordenados en diferentes *taxa* por ser de origen polifilético (Fanés *et al.*, 2010; Velázquez y Quesada, 2011).

Los nuevos marcadores moleculares que se están utilizando para dilucidar la posición filogenética de los diferentes taxones están demostrando una convergencia morfológica con importante distancia filogenética, lo que está conduciendo a una rápida reordenación de las especies y a una reasignación en la posición taxonómica. En particular, el gen 16S rRNA ha sido utilizado en muchos estudios para examinar relaciones filogenéticas entre Cyanoprokaryota. Otros marcadores genéticos son ITS, el operón de ficocianina y microcistina (Komárková *et al.* 2013). Así como el análisis de la estructura secundaria de la molécula de rRNA que está comenzado a desempeñar un rol importante en la sistemática y taxonomía. Esta estructura es crítica para la función del rRNA en el ribosoma, por esta razón está bajo estrecha restricción por la selección natural, lo que ha dado lugar a que la molécula sea altamente conservada en su estructura secundaria, por lo que proporciona información valiosa sobre regiones filogenéticamente conservadas y variables (Gutell *et al.*, 1990; Reháková *et al.*, 2014; Rybarczyk *et al.*, 2015).

El rRNA presenta estructuras diferentes, con base en la diversidad de conformaciones y reactividad química, lo que le confiere la capacidad de formar

una hélice específica a cada taxón (Figura 1), las regiones de doble cadena ocurren por el plegamiento de la cadena sencilla sobre sí misma formando una estructura secundaria y da lugar a los que se denomina tallo, el cual presenta apareamientos de tipo Watson-Crik, estas regiones de una misma cadena están conectadas por segmentos de cadena sencilla, que adoptan una forma globular nombrada bucle (Rodicio y Mendoza, 2004; Reyes, 2012).

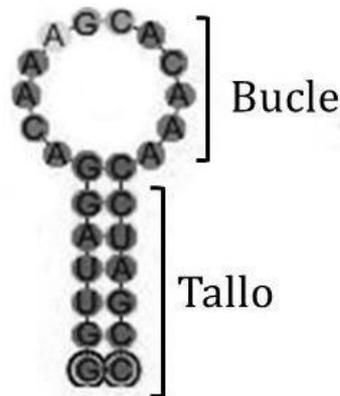


Figura 1. Estructura de la hélice, donde se observa el tallo y bucle.

Reháková *et al.*, (2014) reportaron el modelo de estructura secundaria para *Nostoc commune* Vaucher ex Bornet et Flahault con el que demostraron que dicha estructura es muy similar a la observada en otros *taxa* procariontes, como *E. coli*. Sugieren que este tipo de análisis tiene el beneficio de la detección de errores en las secuencias y el poder seleccionar regiones que permitan un análisis filogenético.

Estudios filogenéticos de *Leptolyngbya* han demostrado que este es polifilético. Como el realizado a un grupo de cepas que se ajustaba dentro de la circunscripción actual de *Leptolyngbya* pero eran genética y filogenéticamente distintas al taxón. Por consecuencia estos organismos poseen un sinapomorfía morfológica y comparten la estructura secundaria del gen ITS 16S-23S, lo que permitió proponer el nuevo género *Nodosilinea*. En el desierto de Atacama fue posible describir una nueva especie del género *Trichocoleus* utilizando secuencias del gen 16S y la asociación de la región ITS 16S-23S (Perkenson *et al.*, 2011; Mühlsteinová *et al.*, 2014).

El nuevo género *Chakia* fue descrito con base en secuencias de 16S rRNA de cuatro cepas aisladas de dos localidades en pantanos alcalinos en Belice, acompañado de la descripción de caracteres morfológicos en cultivo y de poblaciones naturales (Komárková *et al.*, 2013).

Por otro lado, para describir la respuesta de una comunidad a las condiciones imperantes de un ambiente determinado se han utilizado los índices de diversidad que consideran la riqueza, la equidad y los diferentes tipos de abundancia (Metcalf, 1989). Según los intereses de la investigación la diversidad se analiza bajo distintas perspectivas. En este caso se eligió el análisis de la diversidad α , que evalúa la presencia de diferentes especies dentro de un hábitat particular y el índice de Shannon-Wiener que cuantifica la diversidad específica y refleja la heterogeneidad de una comunidad (Whittaker, 1972).

Las exploraciones ficológicas más antiguas en México datan en la década de los 30's por Sámano Bishop y Sokoloff (1931) quienes estudiaron diferentes ambientes epicontinentales. Más tarde, Ortega (1984) publicó el "*Catálogo de algas continentales recientes de México*", donde señala 837 *taxa* infragenéricos, y en los últimos 28 años las publicaciones ficológicas han aportado nuevos registros algales. Sin embargo, aún hay numerosos ambientes continentales que requieren ser estudiados (Novelo, 1998; Godínez, 2008).

México es un país cuyo territorio representa extensas regiones de zonas áridas, muy áridas y semiáridas, que cubren el 54.3% de su superficie total. De los 32 estados que integran el territorio nacional, 25 presentan porciones áridas en mayor o menor proporción. Su presencia no se limita a la franja de los desiertos (latitud de 30°), sino que también existen dentro de la porción tropical del país, en las cuencas de los ríos Zacatula-Balsas y Mezcala-Tlapaneco (Guerrero); así mismo, en la confluencia de los valles de Tehuacán-Cuicatlán, entre Puebla y Oaxaca (Cervantes, 2006).

El estudio de las zonas áridas y semiáridas representan un reto biológicamente hablando, pero son particularmente ricas en diversidad biológica (Mühlsteinová *et al.*, 2014). Comprenden una flora en la cual predominan los géneros de

afinidad neotropical (37%), estos tipos de vegetación están entre los más importantes de México por su extensión y contribución a la flora endémica del país (Challenger y Soberón, 2008).

La Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza ha considerado al Valle de Tehuacán-Cuicatlán como uno de los centros más importantes de riqueza biológica en el mundo, y en 1998 fue decretada como área natural protegida, con el carácter de Reserva de la Biosfera ya que en ella se desarrollan comunidades vegetales únicas en el país, con un gran número de especies endémicas y muchas en peligro de extinción (CONANP, 2013). Esto significa que una región con restricciones en el acceso al agua y una presión social muy alta sobre ese recurso, con temperaturas altas y humedad relativa baja durante todo el año, contiene una parte significativa de la riqueza de algas mexicanas.

El primer registro ficológico para el Valle de Tehuacán corresponde a Sámano-Bishop (1931) donde describió *Chara tehuacanensis*. Más tarde, Novelo (1998, 2011, 2012 a, b) elaboró la *Ficoflora del Valle de Tehuacán*, en principio como parte de sus estudios de doctorado y en fascículos de la Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán.

Con un enfoque ecológico, Rivera *et al.* (2006) describieron las costras biológicas de suelos del Valle de Tehuacán, donde indicaron que las Cyanoprokaryota más comunes en costras fueron: *Scytonema javanicum*, *Microcoleus paludosus* y *Chroococciopsis* sp. Además, los análisis de ensamblajes de comunidades de Cyanoprokaryota y musgos muestran que son diferentes de otros desiertos, a pesar de la presencia de varias especies cosmopolitas.

La ficoflora mexicana, registra 3,256 *taxa* de algas continentales (Novelo & Tavera, 2011), mientras que la Ficoflora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán, está representada con más de 347 especies; esto representa más del 10% por lo cual es una zona megadiversa de gran interés biológico y considerada una de las regiones de alto endemismo (Villaseñor, 2015).

Por lo que, será posible ampliar el conocimiento una vez que se suman otros criterios de reconocimiento de la ficoflora, como cultivos y análisis con diferentes marcadores moleculares, sumados a la caracterización de sus ambientes.

OBJETIVOS

Objetivo general

Inferir con base en el concepto de especie morfológica la ficoflora eucariota y adicionalmente por datos moleculares dos Cyanoprokaryota del Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla.

Objetivos particulares

Determinar taxonómicamente a través de caracteres morfológicos en microscopia de luz (ML) y electrónica de barrido (MEB) la ficoflora del área de estudio.

Caracterizar el hábitat de cada uno de los sitios de colecta con ayuda de la medición de algunos parámetros fisicoquímicos.

Determinar la secuencia nucleotídica de la región 16S rDNA de cultivos monoalgales de Cyanoprokaryota para la identificación de las hélices principales que conforman su estructura secundaria.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El municipio de Zapotitlán Salinas forma parte del Valle de Tehuacán-Cuicatlán y se localiza en la parte sureste del estado de Puebla. Sus coordenadas geográficas son los paralelos 18° 07'18" y 18° 26'00" de latitud Norte y los meridianos 97° 19' 24 y 97° 39'06" de longitud Oriente. Comprende una superficie aproximada de 485 km², con altitud entre 1242 a los 2800 msnm. Desde el punto de vista edáfico, en la mayor parte del área los suelos son someros, pedregosos y muestran diferentes niveles de minerales y salinidad, producto de la influencia de los diferentes substratos geológicos en el sitio (López *et al.*, 2003; CONANP, 2013).

El municipio pertenece a la cuenca del Papaloapan en su mayor parte; solo el extremo Sur-oeste pertenece a la cuenca del Balsas, es recorrido por numerosos arroyos intermitentes en varias direcciones concentrándose en un arroyo principal al centro-este llamado Agua el Gavilán principal afluente del Zapotitlán. El Río Zapotitlán presenta gran cantidad de sales de sodio provenientes de las depresiones de Zapotitlán. (Osorio *et al.*, 1996; Valiente *et al.*, 2001).

Destacan las grandes áreas de matorral crasicaule, generalmente asociado con cardonales, y ocasionalmente con vegetación secundaria arbustiva; es la vegetación dominante, presentando en algunas áreas erosión. Existen zonas de chaparrales asociados a vegetación secundaria arbustiva, dispersos por todo el municipio (Osorio *et al.*, 1996)

Expediciones ficológicas

Se realizaron dos colectas, la primera el 26 de enero y la segunda el 24 de marzo de 2012. Se seleccionaron 8 sitios por constituir crecimientos visibles en el cauce (Fig. 2 y 3).

De acuerdo al tipo de crecimiento se determinó el tipo de colecta: las algas fijas a un sustrato se colectaron directamente utilizando una navaja; las natas, películas y espumas algales se colectaron directamente en contenedores de plástico. El material se tomó por triplicado: el primero para observación inmediata, el segundo se lavó con carbón activado y se mantuvo *in vivo* a baja

temperatura para poder ser transportadas al laboratorio para su cultivo, y el último para preservación, para lo que se utilizó formol al 4% siguiendo la técnica convencional en ficología (González y Novelo, 1986).



Figura 2. S1 arroyo, S2 arroyo, S3 manantial de aguas azufradas, S4 jagüey, S5 arroyo, S6 arroyo.



Figura 3. S7 cascada, S8 estanque artificial.

Material biológico

La descripción morfológica de los organismos se realizó a través de observaciones en microscopia de luz (ML). En el campo fueron revisadas con el apoyo de un microscopio marca Leica y en el laboratorio se utilizó un microscopio marca Nikon, en ambos se tomaron fotografías con una cámara Sony Cyber-Shot de 12 megapíxeles y se registraron los datos morfométricos. Las tinciones de verde brillante, azul de cresil, acetocarmín y lugol permitieron una mejor observación de la pared celular, vainas, núcleos y pirenoides respectivamente (Kumar y Singh, 1979).

Para la observación de las diatomeas en microscopia electrónica de barrido (MEB) se realizó la limpieza de las frústulas con base a la técnica de Simonsen utilizando KMnO_4 , H_2O_2 , y H_2SO_4 (Tomas, 1997). Cada muestra fue filtrada con un filtro Millipore 0.45 μm y se dejaron secar al aire, seguido de esto las muestras fueron montadas en una cinta doble cara sobre una base de aluminio. Finalmente, las muestras se recubrieron de oro para su observación utilizando un microscopio electrónico de barrido marca JOEL modelo JSM 6380 LV, localizado en el laboratorio de Fisiología Vegetal de la Unidad de Biotecnología y Prototipos (UBIPRO), bajo la asesoría del M. en C. Rafael E. Quintanar Zúñiga.

Determinación taxonómica

La determinación de los *taxa* se realizó con los caracteres delimitados a través de las observaciones en ML, MEB y el análisis de claves especializadas: para Cyanoprokaryota, Komárek y Anagnostidis (2005), Novelo (2011); para Chlorophyta, Bourrelly (1972), Wher y Sheath (2003), John *et al.* (2002), Entwisle y Skinner (2007), Novelo (2012b); para Charophyta, Cirujano *et al.* (2008), Prescott (1982); para Xanthophyta, John *et al.* (2002) y Bacillariophyta Lawson y Rushforth (1975), Novelo (2012a). La validez taxonómica específica se corroboró según Guiry y Guiry (2017).

La ficoflora determinada fue organizada alfabéticamente en una matriz de datos asignándole el número uno a *Achnanthydium affine* (Grunow) Czarnecki y el número 97 a la especie *Zygnema conspicuum* (Hassall) Transeau (Anexo 1).

Variables fisicoquímicas

En cada una de los sitios (S1-S8) se registraron *in situ* algunas variables fisicoquímicas: Las coordenadas geográficas fueron registradas con un GPS marca Magellan modelo Meridian. La temperatura ambiental y del agua se midieron utilizando un termómetro de mercurio marca Brannan, pH fue medido con un potenciómetro marca Cole Parmer modelo Digi-Sense, el oxígeno fue determinado con el método de Winkler modificado, la alcalinidad y dureza total fueron registrados mediante técnicas titulométricas (Robles *et al.* 2008). Los nutrientes fueron cuantificados con los métodos de molibdovanadato, de reducción de Cadmio y de Nessler para ortofosfatos, nitratos y amonio respectivamente utilizando un espectrofotómetro marca Hach modelo 2800 (APHA *et al.*, 1995).

Comparación de sitios de colecta

Se realizó un análisis numérico de los sitios de colecta de acuerdo a la presencia-ausencia de especie, apoyado de un conglomerado con distancia euclidiana y ligamiento promedio como medida de distancia y método de agrupamiento mediante el software JMP SAS Versión 12.2.0 (SAS JMP, 2015). La información se arregló en una matriz de 8 x 97, donde las filas correspondieron a los sitios de colecta y las columnas a las especies (Sneath y Sokal, 1973).

Aislamiento y cultivo de Cyanoprokaryota

Para el cultivo de Cyanoprokaryota se preparó Medio BG11. Las cepas se aislaron por micromanipulación, seleccionando un solo filamento al microscopio éste se colocó en un vial de vidrio de 8 mL de capacidad con 2 mL del medio BG11 (Rippka, 1988).

Medio sólido para Cyanoprokaryota: Una vez que fue visible el crecimiento en líquido, se sembraron en placas por estría cruzada hasta obtener cultivos monoalgales. Se prepararon placas con Agar bacteriológico al 1.3%, y enriquecidas con medio de cultivo BG11 a 17mM de Nitrato adicionado con Cicloheximida ($50 \mu\text{g L}^{-1}$, Sigma) para eliminar a todos los organismos eucariontes (Vaara *et al.* 1979). Cada especie se sembró por triplicado y se mantuvieron durante 1-3 meses, con un fotoperíodo luz: oscuridad 12:12 h a temperatura ambiente y 50 lux en la cámara de cultivo en el herbario IZTA.

Análisis molecular de Cyanoprokaryota

Aislamiento de DNA. Para cada una de las cepas de Cyanoprokaryota se realizó la extracción de DNA genómico utilizando el protocolo de MO BIO, PowerPlant Pro DNA Isolation Kit®, se almacenó a una temperatura de -20°C , para la verificación de la calidad se visualizó por medio de la electroforesis horizontal en geles de agarosa al 0.8% adicionando Midori green™ como intercalante.

Reacciones de amplificación de DNA. Para las reacciones de amplificación de fragmentos de rDNA, se utilizaron los primers específicos para Cyanoprokaryota (CYAF 5'- AGC AGT GGG AAA TTT TCC G – 3' y CYAR 5'- TTC ACY GCA GTA TGC TGA CC –3') descritos por Pineda *et al.* (2011) en el cual, por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se amplificaron fragmentos de 950 pb correspondientes a la subunidad ribosomal 16s.

La mezcla de reacción contenía 5 μl de buffer PCR 10X, 10 mM de cada uno de los primers, 1 μl de DNA [50 ng/ μl], 1U de Taq Polimerasa y 17 μl de agua milli-Q estéril. Las reacciones de amplificación se realizaron en un termociclador marca BIO RAD mod. T100. Para observar el rendimiento, el

tamaño y calidad de los amplicones obtenidos se realizaron electroforesis (70V, 40 min) en geles de agarosa-TBE al 1.2%.

Secuenciación de DNA. La secuenciación se llevó a cabo en un secuenciador GeneticAnalyzer 3100. Applied Biosystems, de 16 capilares 36 cm y 50 cm con Soporte POP 6 y POP 4. Las reacciones de secuenciación fueron realizadas con el kit de secuencia Big Dye Terminator versión 3.1 y se corrió en el equipo ABI / Hitachi 3130xl Genetic Analyzer de la Unidad de Biotecnología y Prototipos.

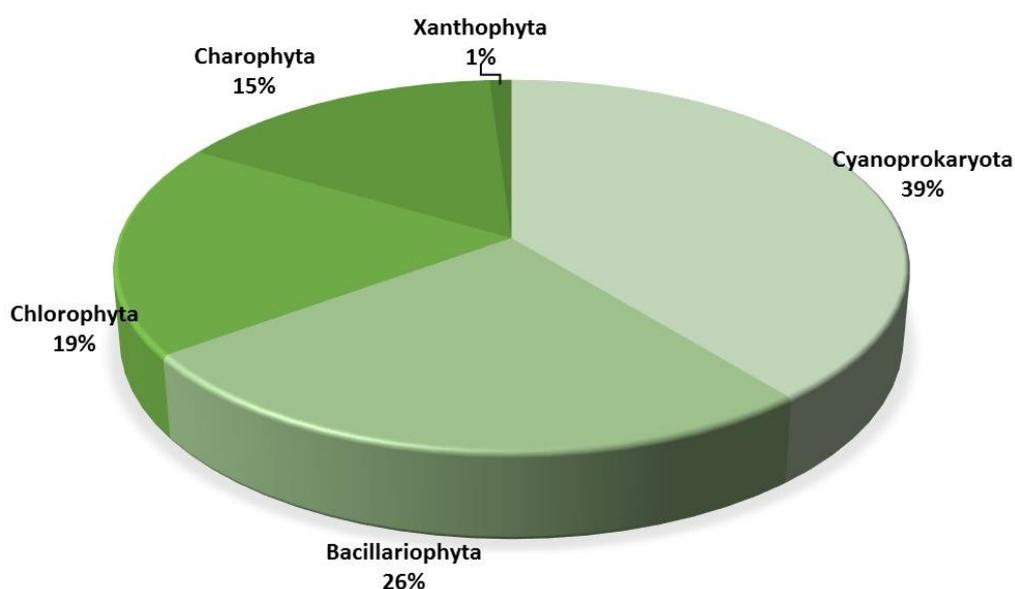
Análisis de datos de secuencias. Para visualizar los cromatogramas se utilizó el programa Geneious 7.1.3, con el cual se verificaron las posibles lecturas erróneas y omisiones. Las secuencias crudas se analizaron mediante el programa BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) del NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Blast/>) para su comparación con secuencias publicadas en el GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), verificando su identidad, así como las especies más relacionadas, su porcentaje de homología y cantidad de bases similares.

Determinación de la estructura secundaria de hélices. Las hélices determinadas de la estructura secundaria de *Geitlerinema amphibium* IZTA 1228 y *Porphyrosiphon martensianus* IZTA 1262 de la molécula de rRNA 16S fueron elaborados mediante el programa Geneious 7.1.3 de acuerdo al modelo de Andronescu 2007 a una temperatura de 20°C. Se realizó un análisis comparativo, tomando como modelo la estructura de *Escherichia coli*, por ser una bacteria de amplio conocimiento (Gutell *et al.*, 2002).

RESULTADOS

Ficoflora

Según los esquemas de clasificación mencionados previamente se determinaron un total de 5 Divisiones, 65 géneros y 97 especies, incluyendo 8 morfotipos que no presentaron estructuras reproductoras necesarias para su determinación. Las especies determinadas se encuentran distribuidas en: 39 (39%) de Cyanoprokaryota, 25 (26%) de Bacillariophyta, 18 (19%) de Chlorophyta, 14 (15%) de Charophyta y 1 (1%) de Xanthophyta (Gráfica 1). De las cuales 15 especies son nuevos registros para la zona y tres nuevos registros para el país. En el anexo 1 se incluyen la lista taxonómica, con el número de referencia para las imágenes, el estadístico, la cita correspondiente y los nuevos registros.



Gráfica 1. Porcentaje de especies determinadas para cada División en el Valle de Zapotitlan de las Salinas.

En Cyanoprokaryota dos especies fueron nuevo registro para la zona y dos nuevos registros para el país *Merismopedia marsonii* Lemmermann y *Psedanabaena minima* Anagnostidis. Para Bacillariophyta se colaboró a la flora de la zona con un nuevo registro, *Gomphonema vibrioides*. En Chlorophyta se determinaron dos especies que son nuevo registro para la zona y una especie

que es nuevo registro para el país *Palmodyction viride* Kützing. Charophyta contribuyó con ocho especies nuevas para la zona, dos de ellas del género *Zygnema* y cinco de *Spyrogira* las cuales pudieron ser identificadas por la presencia de estructuras reproductoras y *Nitella flexilis*. De *Mougeotia* solo se determinó el morfotipo ya que no presentó las estructuras necesarias para la identificación de especie.

Se realizó la ilustración de 57 especies con fotografías originales. En los organismos que fueron nuevos registros para el Valle de Zapotitlán se adjuntó la descripción taxonómica, mientras que en aquellos que presentaron características similares a la descripción de Novelo (2011, 2012a, 2012b y 2012c) sólo se presentaron las imágenes.

Anabaena sp. Bory ex Bornet & Flahault (Fig. 4)

Filamentos con células elipsoidales de 6-7 μm diámetro, 8-9 μm largo, con aspecto sinuoso. Heterocito intercalar con forma de barril alargado, visiblemente de mayor longitud que las células vegetativas, 7 μm diámetro, 15 μm largo.

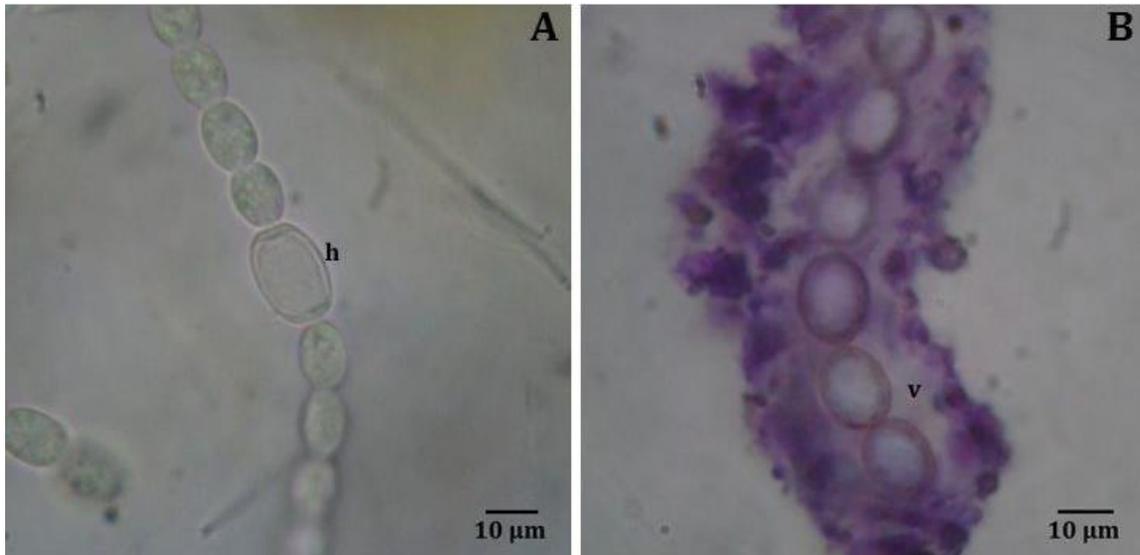


Figura 4. *Anabaena* sp. A) filamento con heterocito h, B) filamento con células vegetativas, tinción con azul de cresil, permite la observación de la vaina v.

Komvophoron crassum (Vozzhennikova) Anagnostidis & Komárek (Fig. 5)

Tricomatos cortos individuales, lineales o flexuosos. No atenuados en los ápices. Las células con forma de barril, hasta $1\frac{3}{4}$ más anchas que largas, 3-5 μm ancho; 3-7 μm largo. Célula apical redondeada.

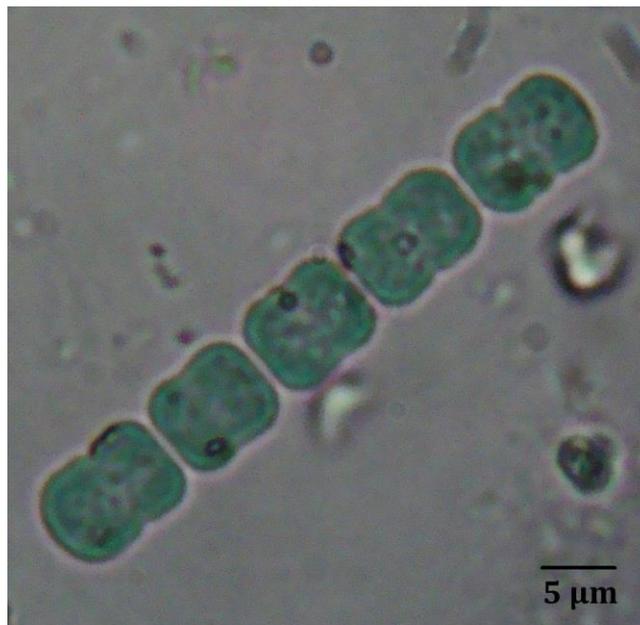


Figura 5. *Komvophoron crassum* filamento corto con células en forma de barril.

Merismopedia marssonii Lemmermann (Fig. 6)

Células esféricas o subesféricas, de 2-4 μm de diámetro y 5 μm de largo. Colonias rectangulares con 16 a 128 células, aerotopos presentes.

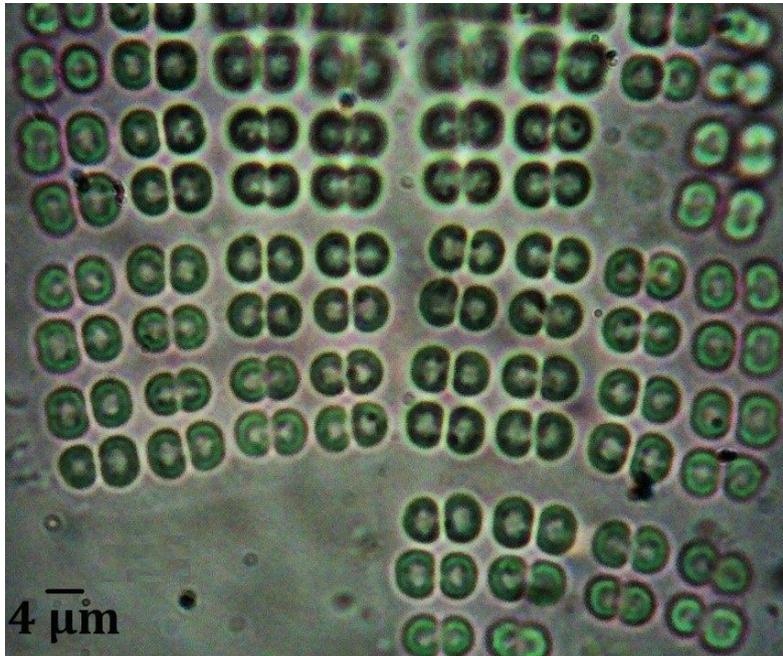


Figura 6. *Merismopedia marssonii* colonia de células con aerotopos.

Pseudanabaena minima Anagnostidis (Fig. 7)

Tricomas solitarios o aglomerados en matas mucilaginosas muy finas, rectas o ligeramente onduladas o arqueadas, verde azul o verde azul pálido. No muy largos. Células cilíndricas, diámetro 0.92 μm ; largo 3 μm . Constricciones en las paredes transversales. Célula apical no atenuada, contenido celular homogéneo.

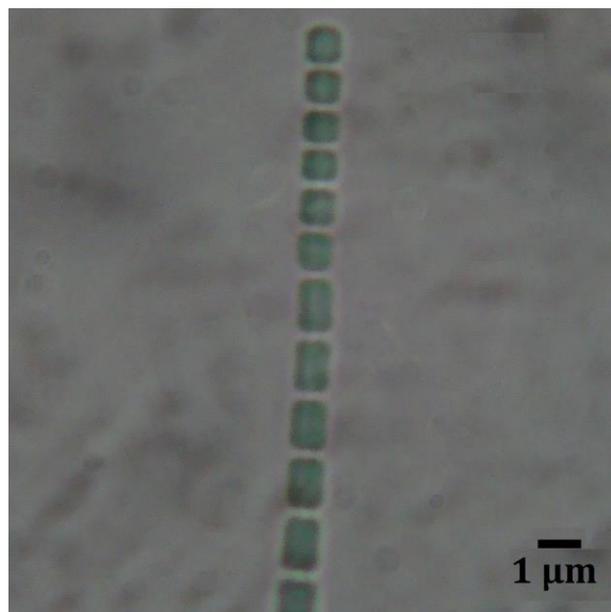


Figura 7. *Pseudanabaena minima* tricoma con células vegetativas. Solitario

Gomphonema vibrioides E.Reichardt & Lange-Bertalot (Fig. 8)

Valvas con la porción central más amplia que los extremos. Polos agudos-redondeados. Área central pequeña y rectangular-tranversal. Estrías punteadas ligeramente radiadas en el centro de la valva y paralelas en los extremos. Con un estigma. Largo: 23 μm . Ancho: 4 μm .

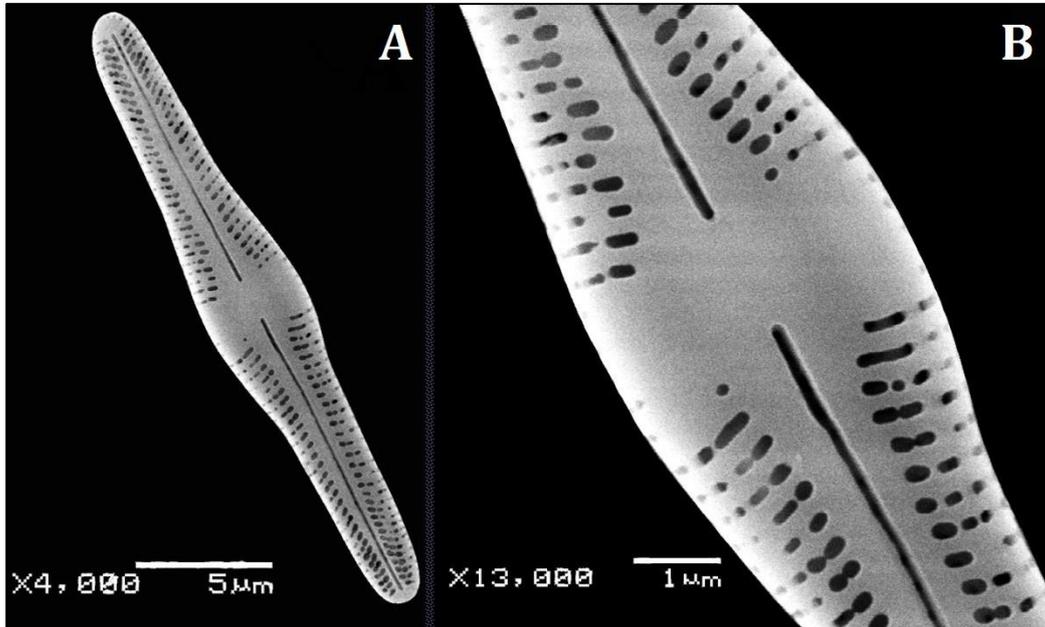


Figura 8. *Gomphonema vibrioides* A) valva con rafe r, B) acercamiento del área central, estigma e.

Palmodictyon viride Kützing (Fig. 9)

Colonias unidas o de libre flotación. Consistiendo en cilindros simples o ramificados, mucilago sin estructura o ligeramente estratificado. Contiene hileras de células o células desorganizadas, solitarias o en grupos de 2 o 4. Cada célula rodeada por una envoltura mucilaginosa. Cloroplasto parietal, 1 o varios por célula, con o sin pirenoides. Células esféricas 5-8 μm de diámetro.

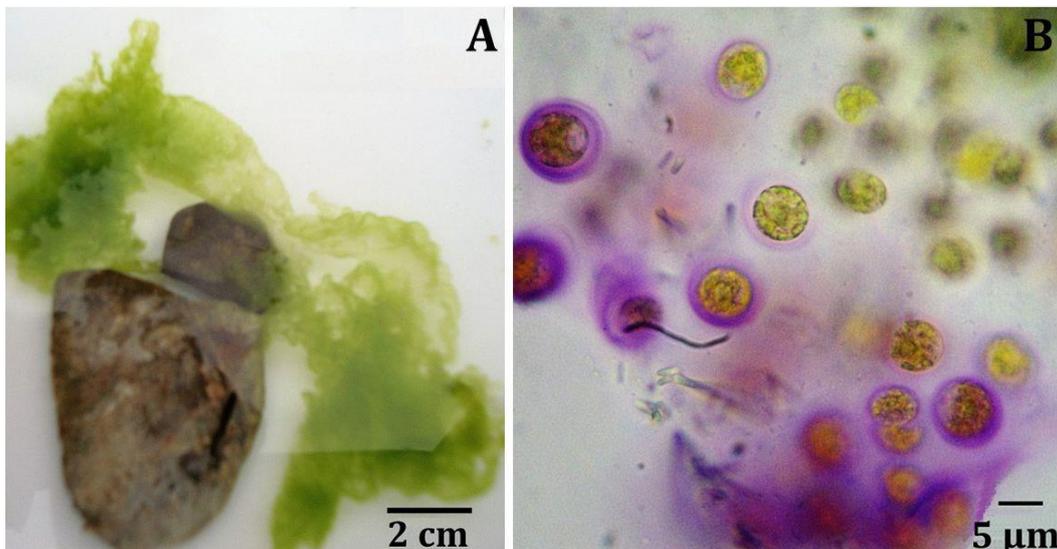


Figura 9. *Palmodictyon viride* A) colonia silvestre, B) colonia teñida con lugol, se observa la envoltura mucilaginosa.

Monactinus simplex var. *sturmii* (Reinsch) Pérez, Maidana & Comas 2009 (Fig. 10)

Cenobios con 29 células, 90 μm diámetro, con o sin pequeñas perforaciones entre células. Las células marginales de 20-35 μm de largo y 7-15 μm de ancho, con un proceso delgado en la parte media. Las células de la periferia con células marginales maduras que presentan márgenes convexos, células internas de 10-15 μm de ancho, esféricas o poligonales.

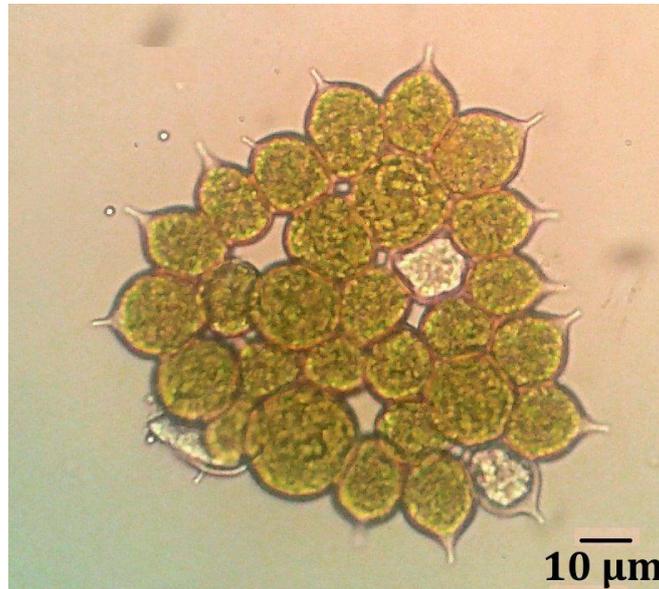


Figura 10. Cenobio de *Pseudopediastrum simplex* var. *Sturmii*.

Tetradesmus obliquus (Turpin) M.J. Wynne (Fig. 11)

Cenobios rectos de 11-20 μm diámetro. Células internas con lados rectos, polos curvos, ápice agudo, 3-4 μm diámetro, 10-16 μm largo. Cloroplasto parietal, pirenoide uno, granulaciones citoplasmáticas abundantes y gotas de aceite dispersas. Pared celular lisa.

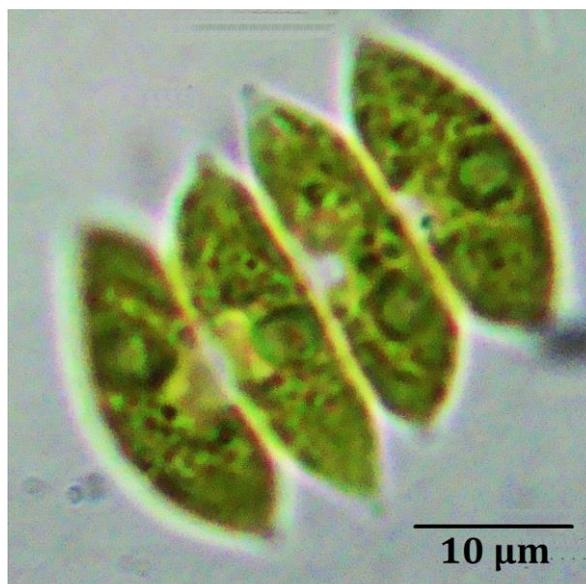


Figura 11. Cenobio de *Tetradesmus obliquus*.

Nitella flexilis (Linnaeus) C.Agardh (Fig. 12)

Organismo monoico de 12 a 15 cm. De color verde pardusco. Filoides 8, curvados hacia el eje, de longitud mayor a los internodos, 2.2 y 1.2 cm respectivamente. Diámetro del eje 0.8 mm. Dáctilos unicelulares, agudos. Glóbulos de 0.35 mm de diámetro. Núcula solitaria (con corónula) diámetro: 0.5 mm, largo 0.53 mm. Epipsámica.x

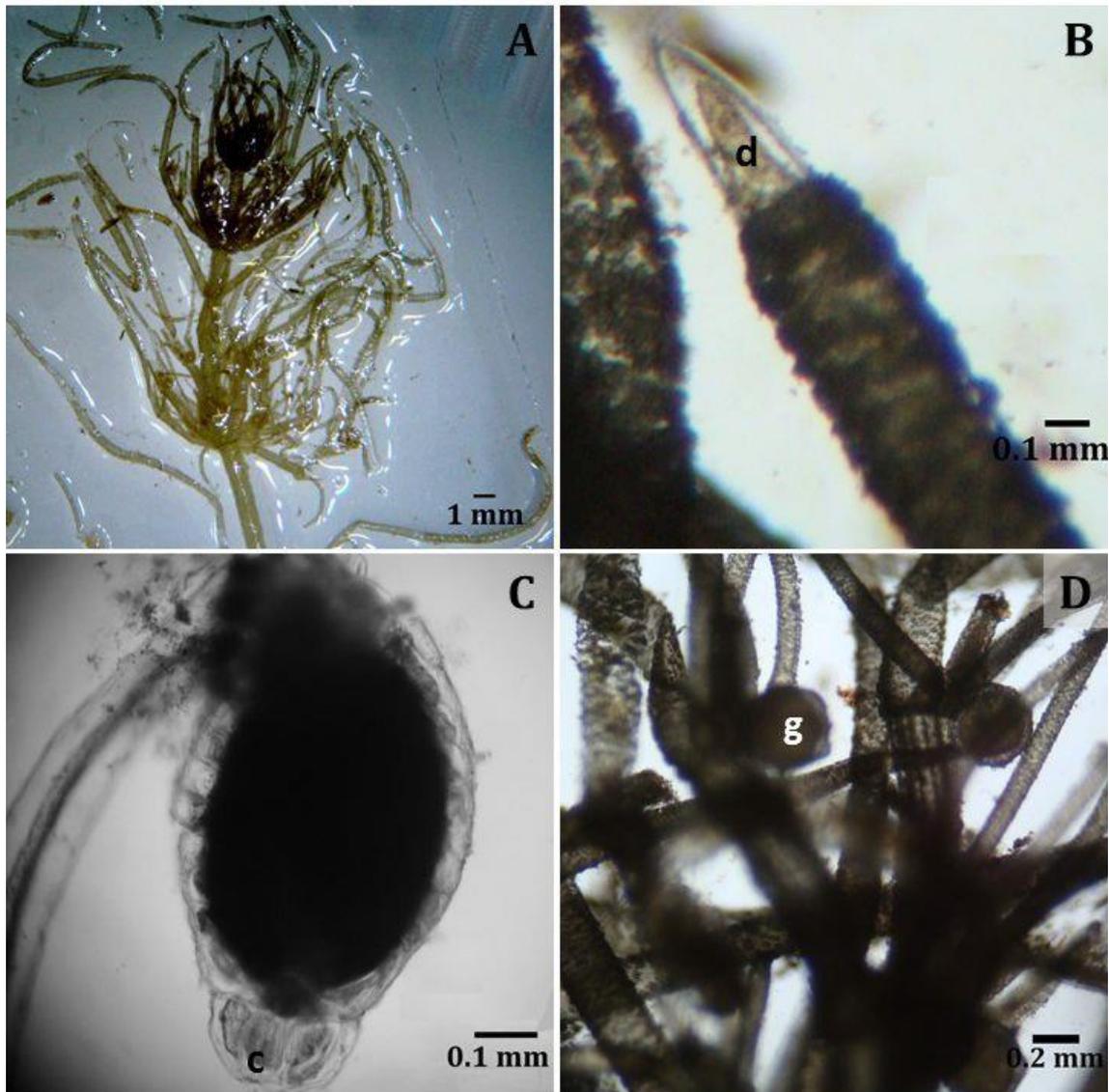


Figura 12. *Nitella flexilis* A) talo color verde pardusco, B) dáctilo unicelular **d**, C) núcula con corónula **c**, D) glóbulos **g**.

Spirogyra collinsi (I.F.Lewis) Printz (Fig. 13)

Filamento con células de 30 μm de diámetro; 45 μm de largo. 1 cloroplasto por célula. Zigospora de 25-30 μm de diámetro y 42-45 μm de largo.

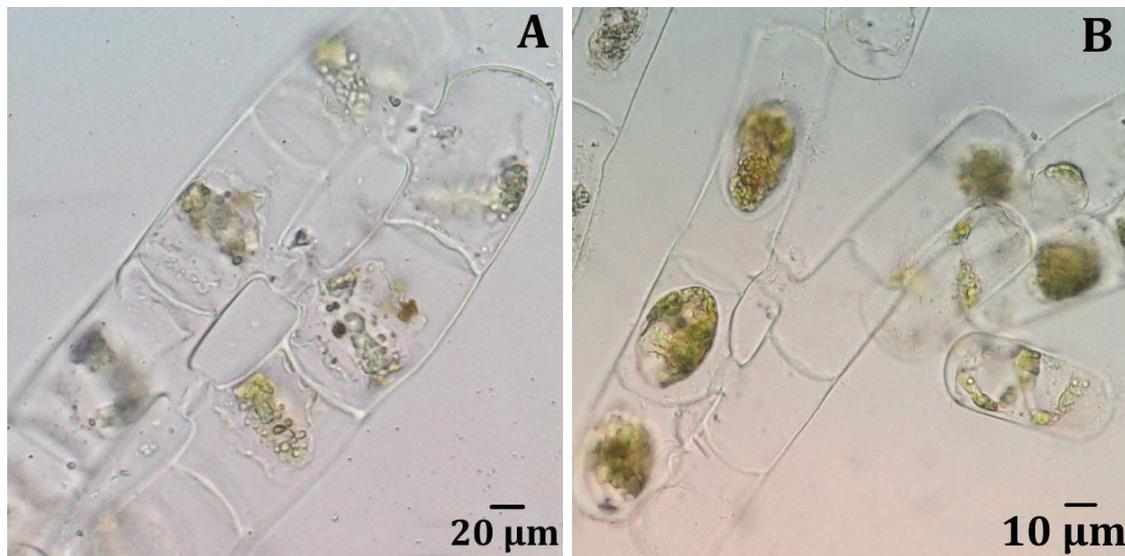


Figura 13. *Spirogyra collinsi* A) conjugación escaleriforme, tubos de conjugación señalados, B) zigospora madura.

Spirogyra rivularis (Hassall) Rabenhorst (Fig. 14)

Filamento con células vegetativas de 57 μm de largo, 35 μm de diámetro; con tres cloroplastos; pirenoides de 10-14. Conjugación escaleriforme, formado equitativamente por ambos gametangios. Gametangio inflado de ambos lados. Zygospora elipsoidal, 70 μm de largo, 47 μm de diámetro, con pared media amarilla. Crece en arroyos formando tapetes, con textura viscosa.

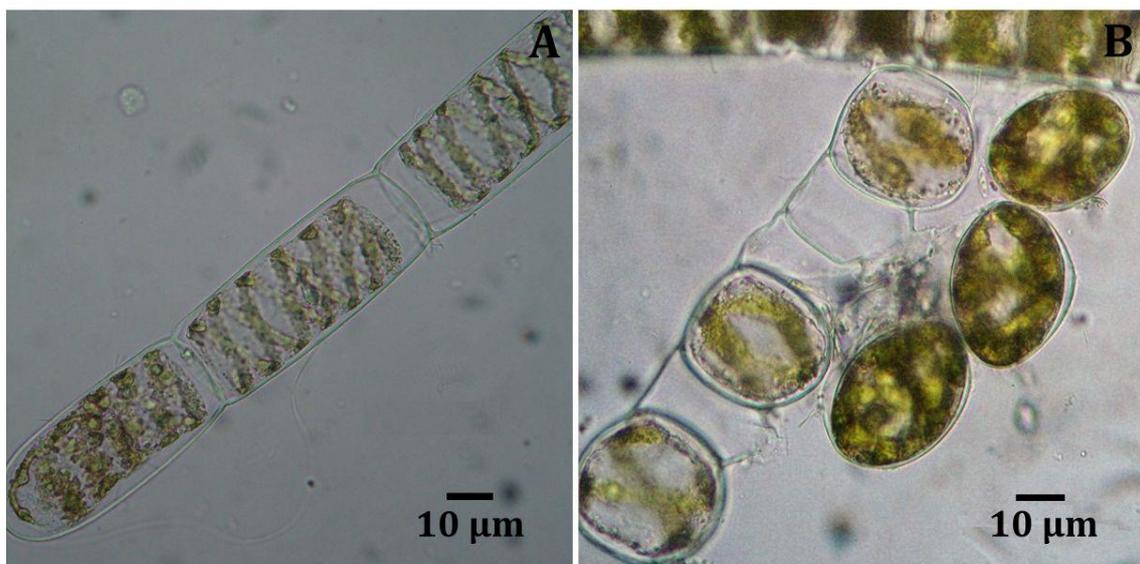


Figura 14. *Spirogyra rivularis* A) filamento con células vegetativas, B) zigospora madura.

Spirogyra dubia Kützing (Fig. 15)

Filamento con células de 42 μm diámetro, 60 μm largo. Dos cloroplastos con pirenoides de 10 a 14. Pared media de la zigospora de color amarillo, de 47 μm diámetro, 70-77 μm largo.

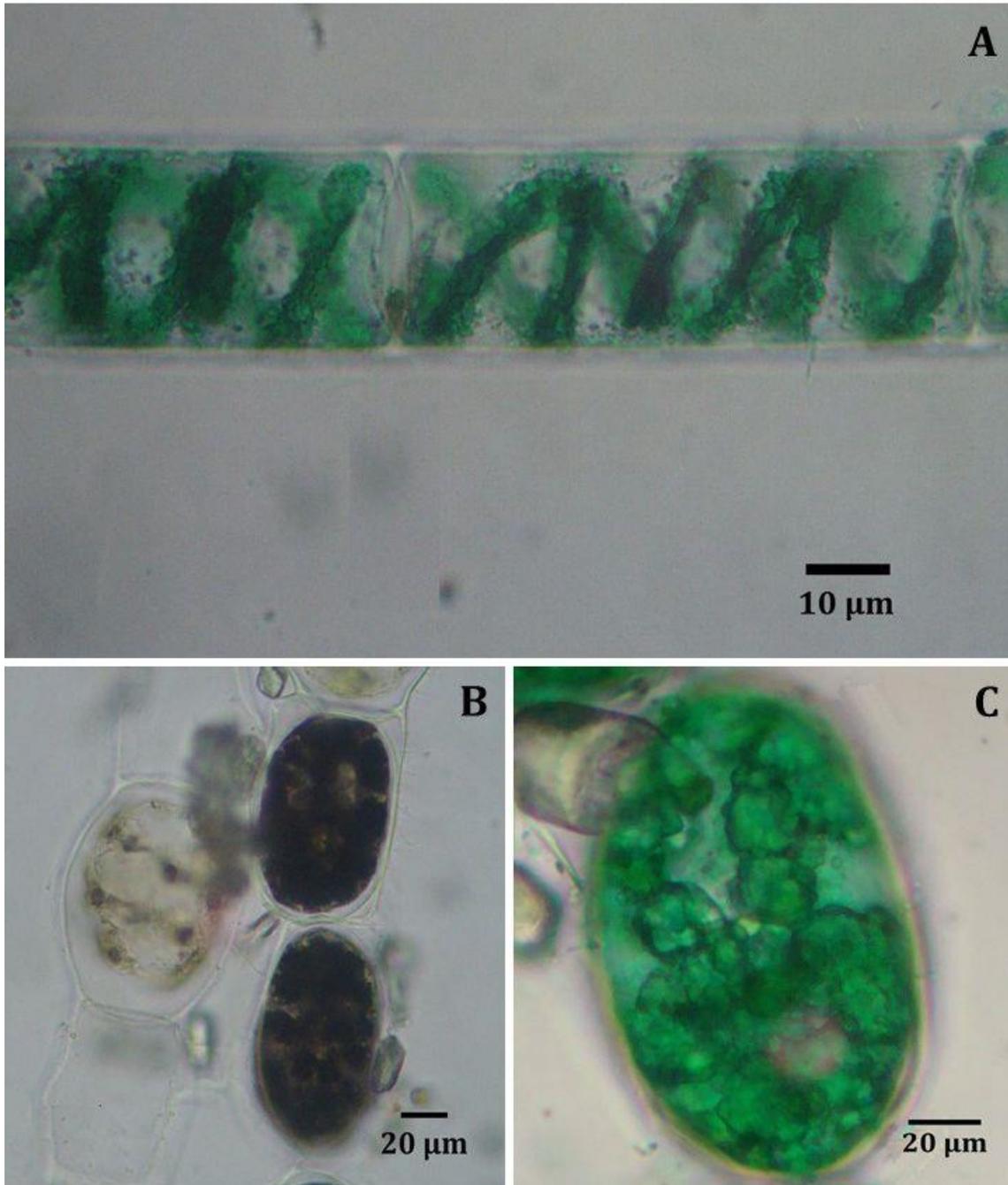


Figura 15. *Spirogyra dubia* A) filamento con células vegetativas, B) zigospora madura en tubo de conjugación, C) zigospora madura teñida con verde brillante, pared media de color amarillo.

Spirogyra suecica Transeau. (Fig. 16)

Filamento con células vegetativa de 45 μm de largo y 30 μm de diámetro. Un cloroplasto por célula. Zigospora en serie de 45 μm de largo y 25 μm de diámetro.

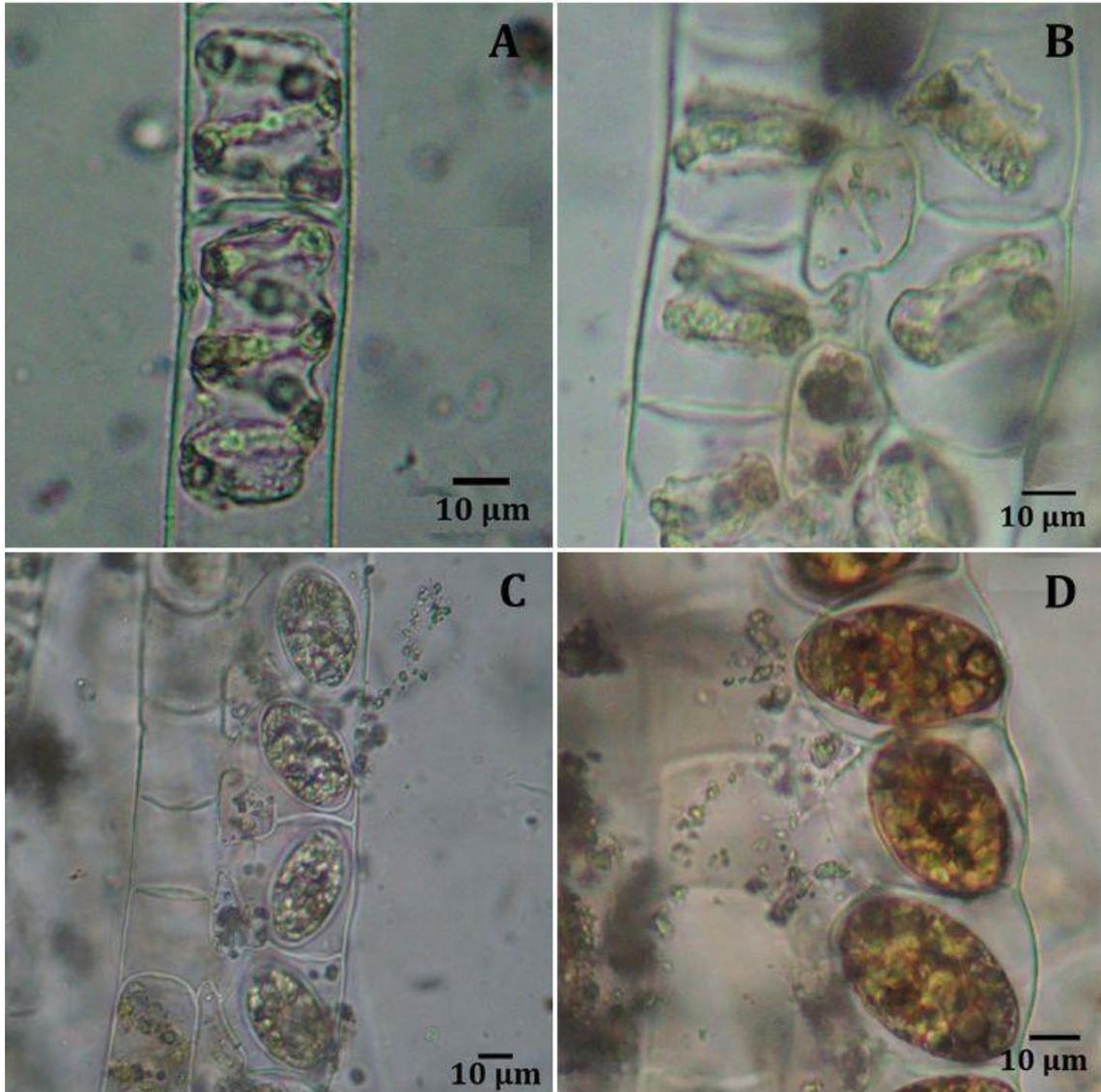


Figura 16. *Spirogyra suecica* A) células vegetativas con un cloroplasto, B) conjugación escaleriforme, C) zigospora inmadura, D) zigospora madura.

Spirogyra weberi Kützing (Fig. 17)

Filamento con células vegetativas de 190 μm de largo y 30 μm de diámetro. Paredes de los extremos doblados hacia atrás. Con un cloroplasto, dando de 2-10 vueltas. Zigospora elipsoidal de 25 μm de diámetro y 57 μm de largo.

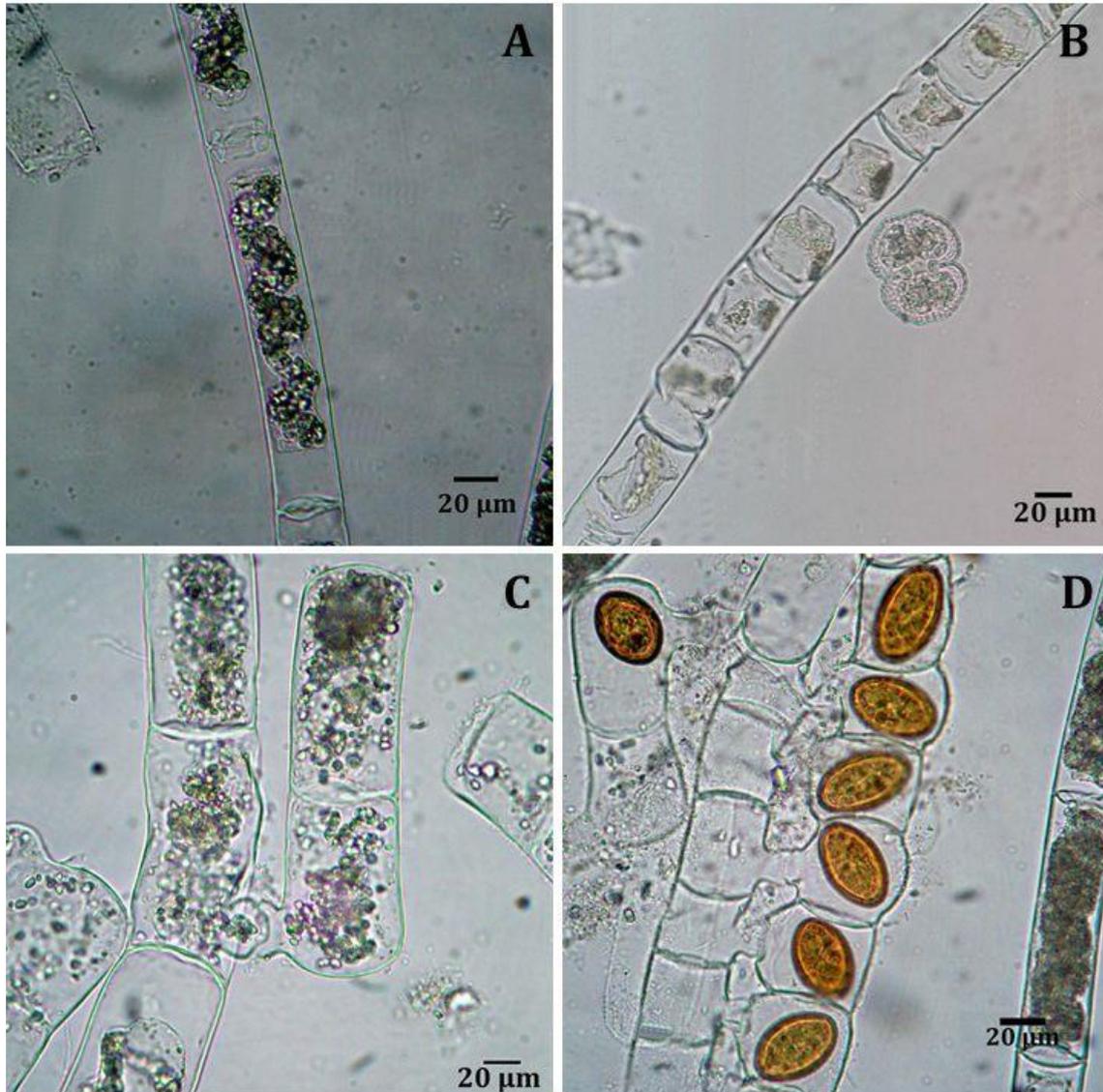


Figura 17. *Spirogyra weberi* A) células vegetativas, B) condensación del contenido celular, C) conjugación escaleriforme, D) zigospora madura en serie.

Zygnema adpectinatum Transeau (Fig. 18)

Filamento con células vegetativas de 20-50 μm diámetro, 35-40 μm largo. Conjugación escaleriforme. Zigopora subglobosa, 30 μm largo, 28 μm diámetro, pared media con una pequeña depresión o surco.

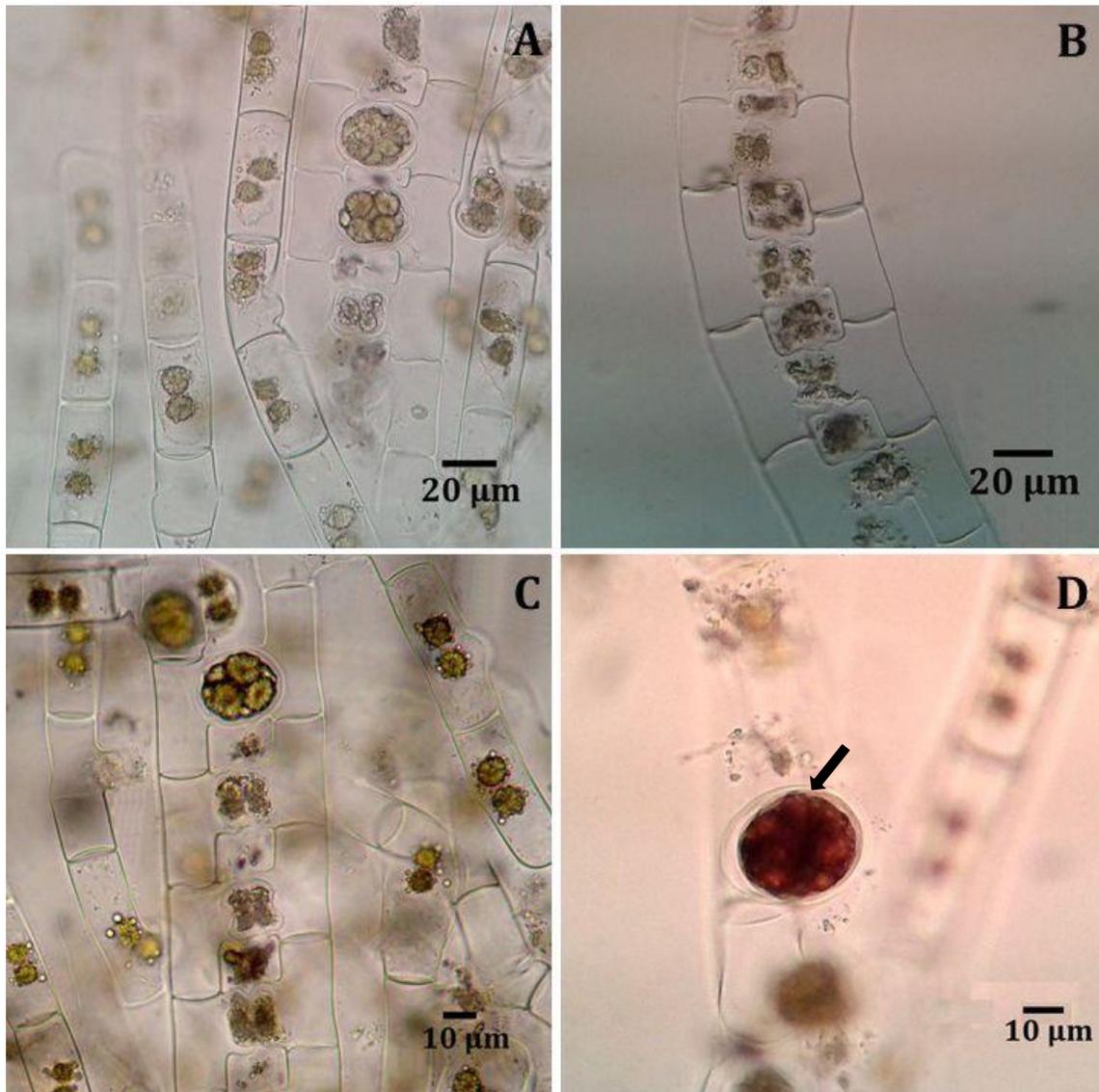


Figura 18. *Zygnema adpectinatum* A) células vegetativas y zigosporas inmaduras, B) inicio de la conjugación del contenido celular, C) conjugación escaleriforme, zigospora inmadura, d) Zigospora madura, pared media (flecha).

Zygnema conspicuum (Hassall) Transeau (Fig. 19)

Filamento con células vegetativas de 22-27 μm de diámetro y 62 μm de largo. Con dos cloroplastos estrellados. Zigospora de color verde de 32-35 μm de diámetro y 27-37 μm de largo. Crece en arroyos, formando películas filamentosas, con textura suave.

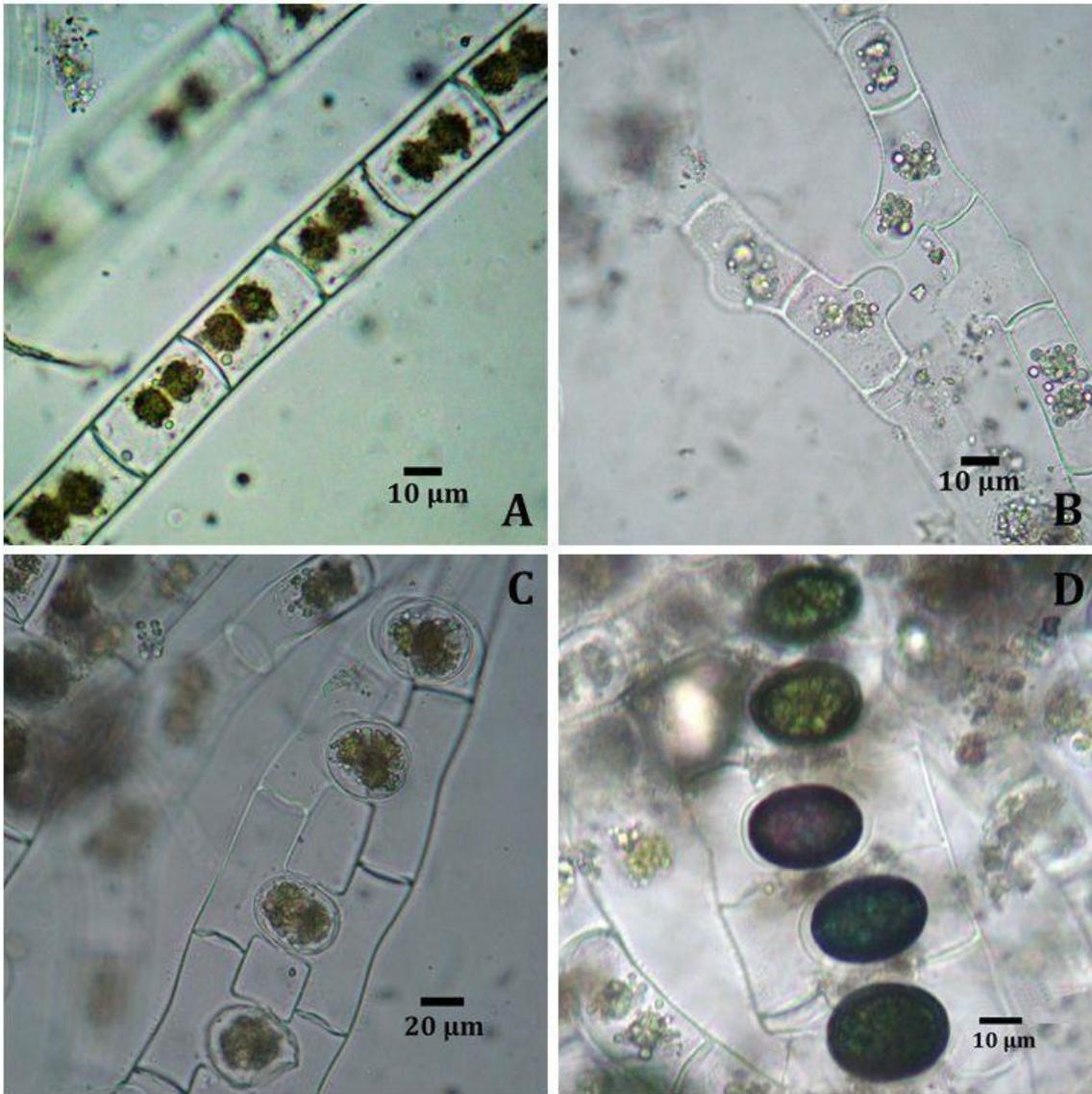


Figura 19. *Zygnema conspicuum* A) células vegetativas, B) formación de los tubos de conjugación, C) conjugación escaleriforme, Zigospora inmadura, D) Zigospora madura en serie.

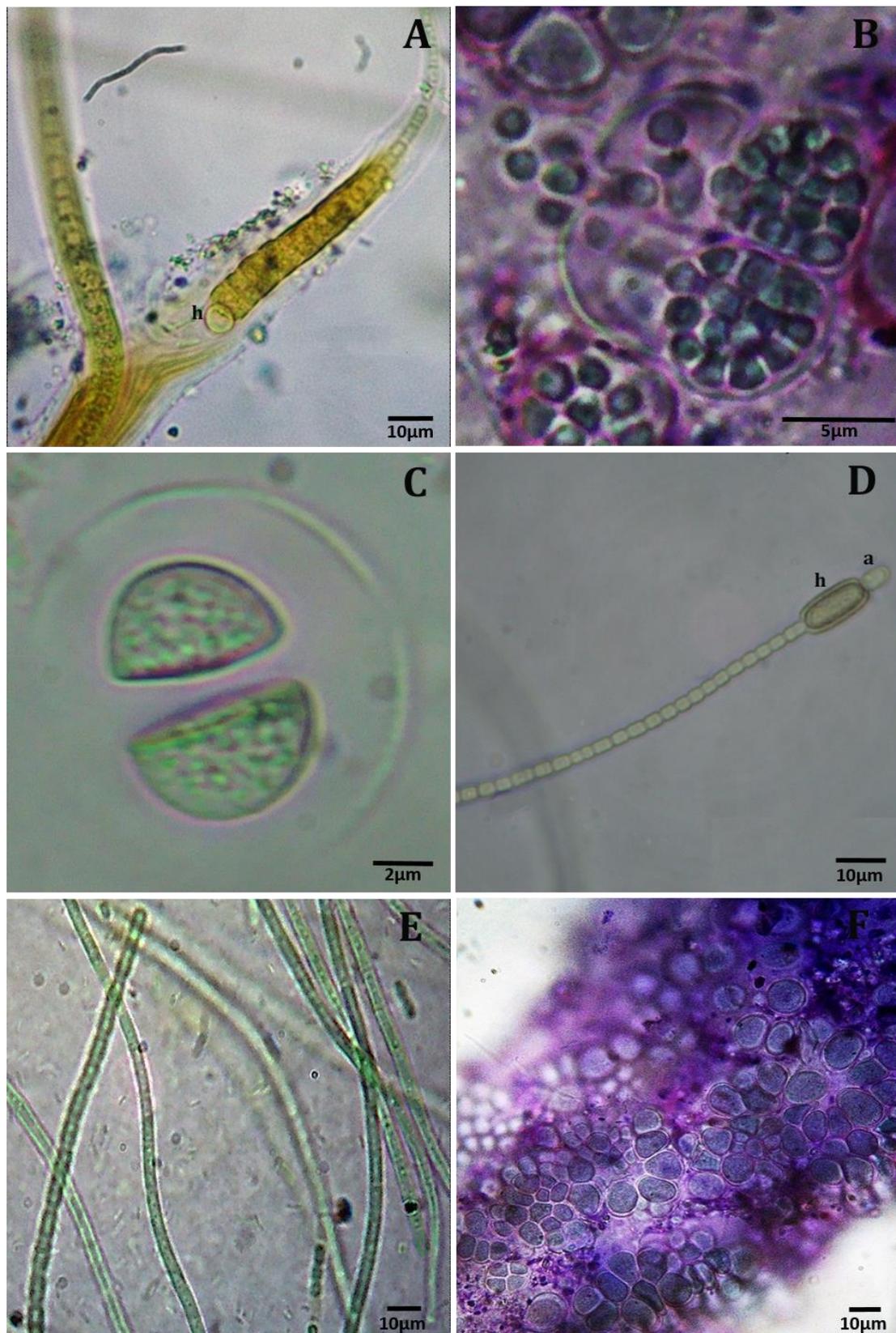


Figura 20. A) *Calothrix parietina* (Nägeli) Thuret filamento con heterocito **h**, B) *Chroococcopsis fluviatilis* (Lagerheim) Komárek & Anagnostidis colonia teñida con azul de cresil, C) *Chroococcus minutus* (Kützing) Nägeli par de células dentro de una vaina incolora, D) *Cylandrospermum stagnale* Bornet & Flahault filamento con heterocito **h** y acineto **a**, E) *Geitlerinema amphibium* C.Agardh ex Gomont filamentos móviles, F) *Gloeocapsopsis pleurocapsoides* (Nováček) Komárek & Anagnostidis colonia con células poliédricas de 4-7 μm diámetro, 6-8 μm largo, teñida con azul de cresil.

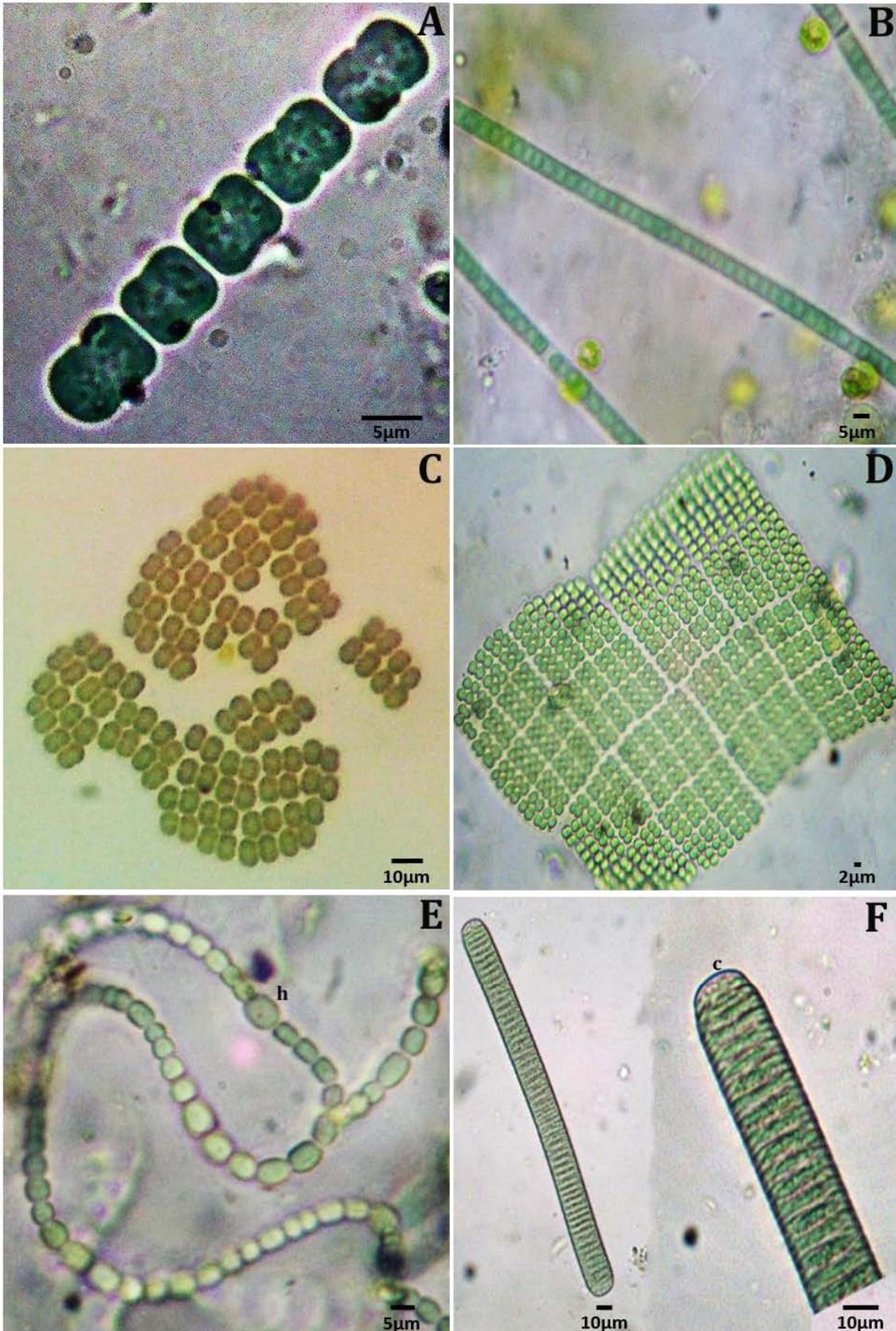


Figura 21. A) *Komvophoron crassum* tricoma corto, B) *Leptolyngbya valderiana* (Gomont) Anagnostidis & Komárek filamentos rectos, C) *Merismopedia convoluta* Brébisson colonia, D) *Merismopedia punctata* Meyen colonia grande, E) *Nostoc muscorum* C.Agardh ex Bornet & Flahault filamento con heterocito **h**, F) *Oscillatoria limosa* C.Agardh izquierda filamento recto, derecha acercamiento de parte apical, célula ampliamente redondeada con caliptra **c**.

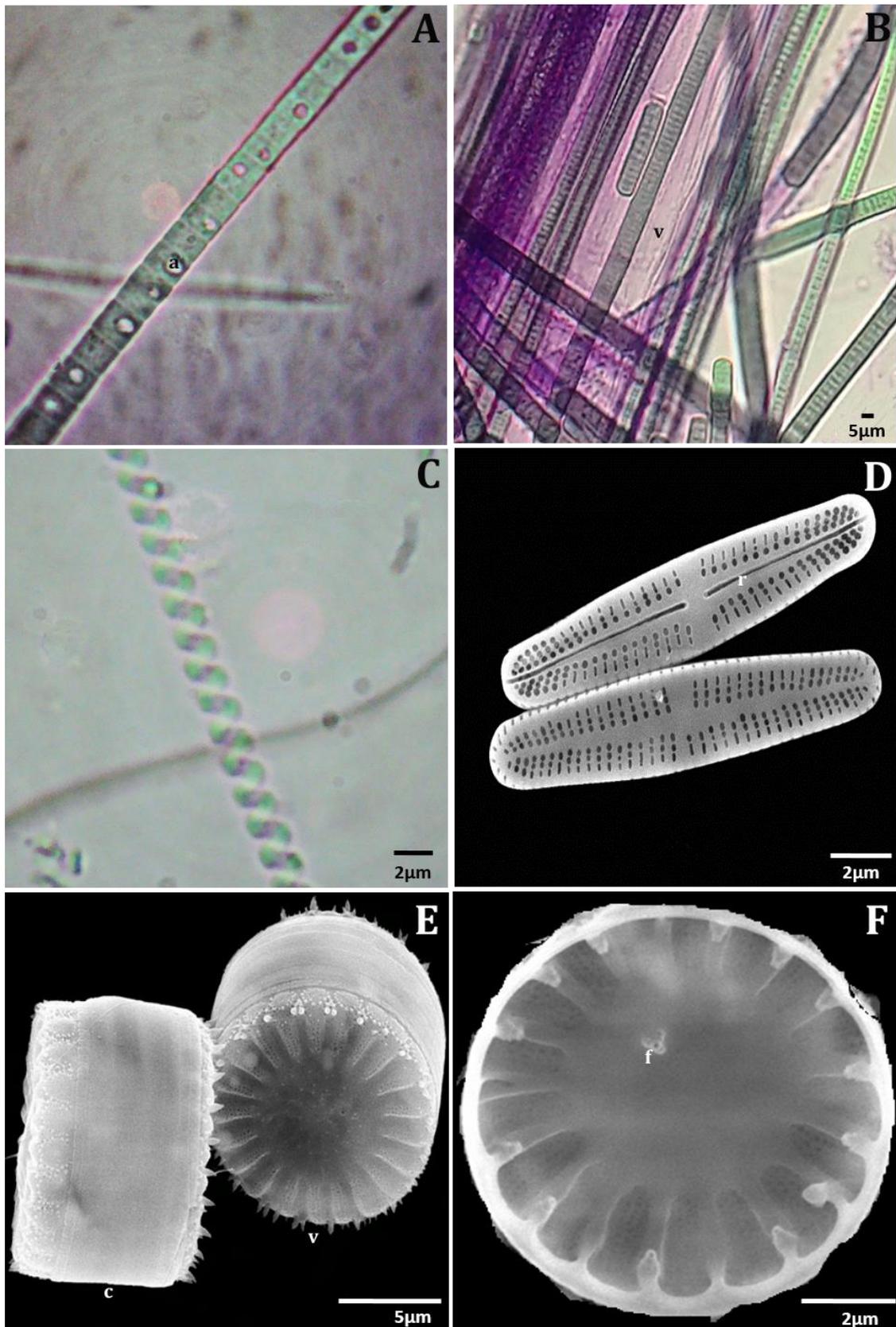


Figura 22. A) *Planktothrix agardii* (Gomont) Anagnostidis & Komárek filamento con aerotopos, B) *Porphyrosiphon martensianus* (Meneghini ex Gomont) Anagnostidis & Komárek filamentos dentro de una vaina lamelada v, C) *Spirulina major* Kützing ex Gomont filamento enroscado, D) *Achnantheidium affine* (Grunow) Czarnechi valva con rafe r, E) *Cyclotella meneghiniana* Kützing izquierda vista conectiva c, derecha vista valvar v, F) vista interna de *C. meneghiniana* con fultopórtula f.

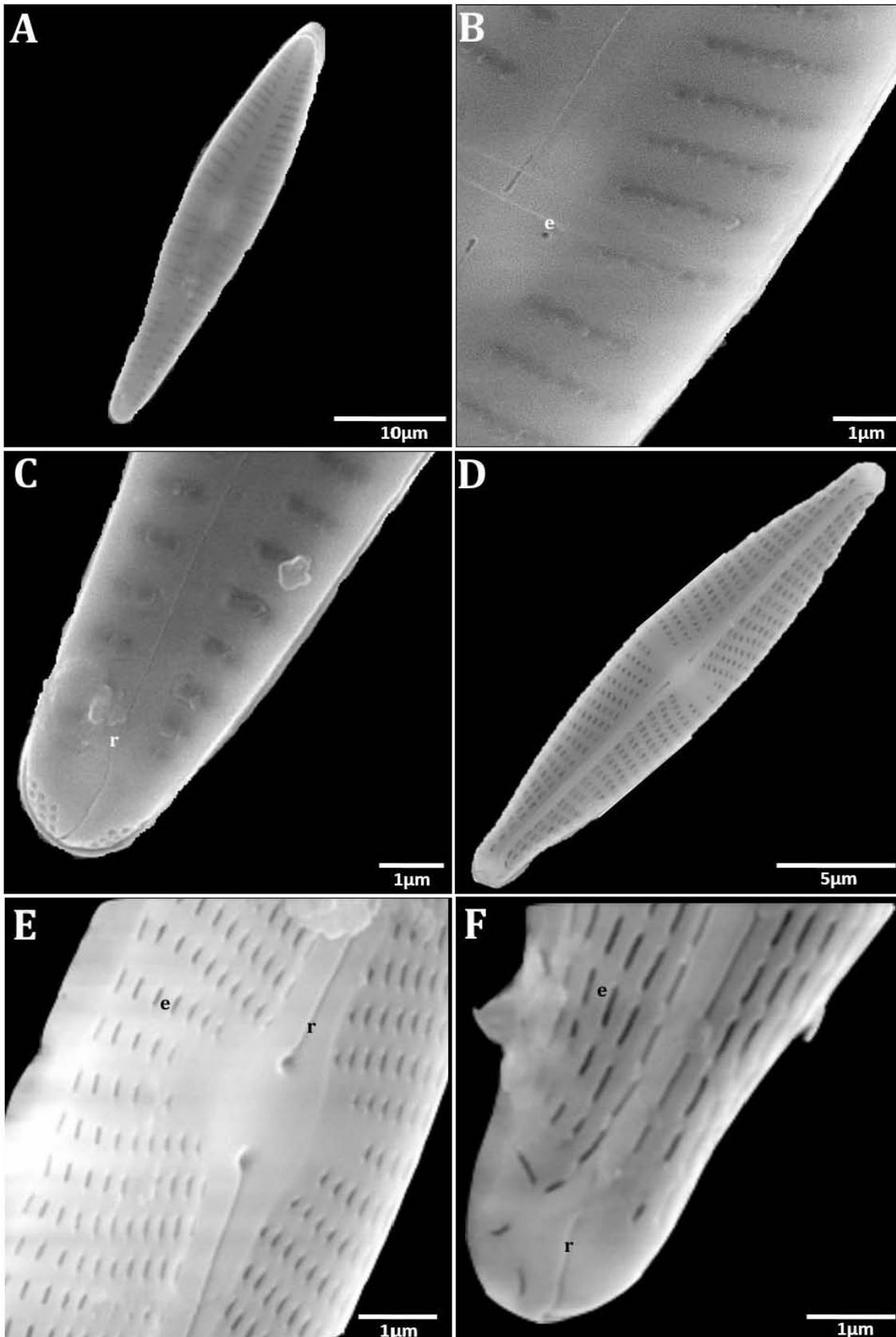


Figura 23. A) *Gomphonema angustum* C.Agardh valva linear-lanceolada, B) parte central con un estigma **e**, C) área apical con el rafe terminal con forma de horquilla **r**, D) *Navicula cryptocephala* Kützing valva lanceolada, E) área central con rafe recto **r** y estrías **e**, F) área apical con prolongamiento del rafe.

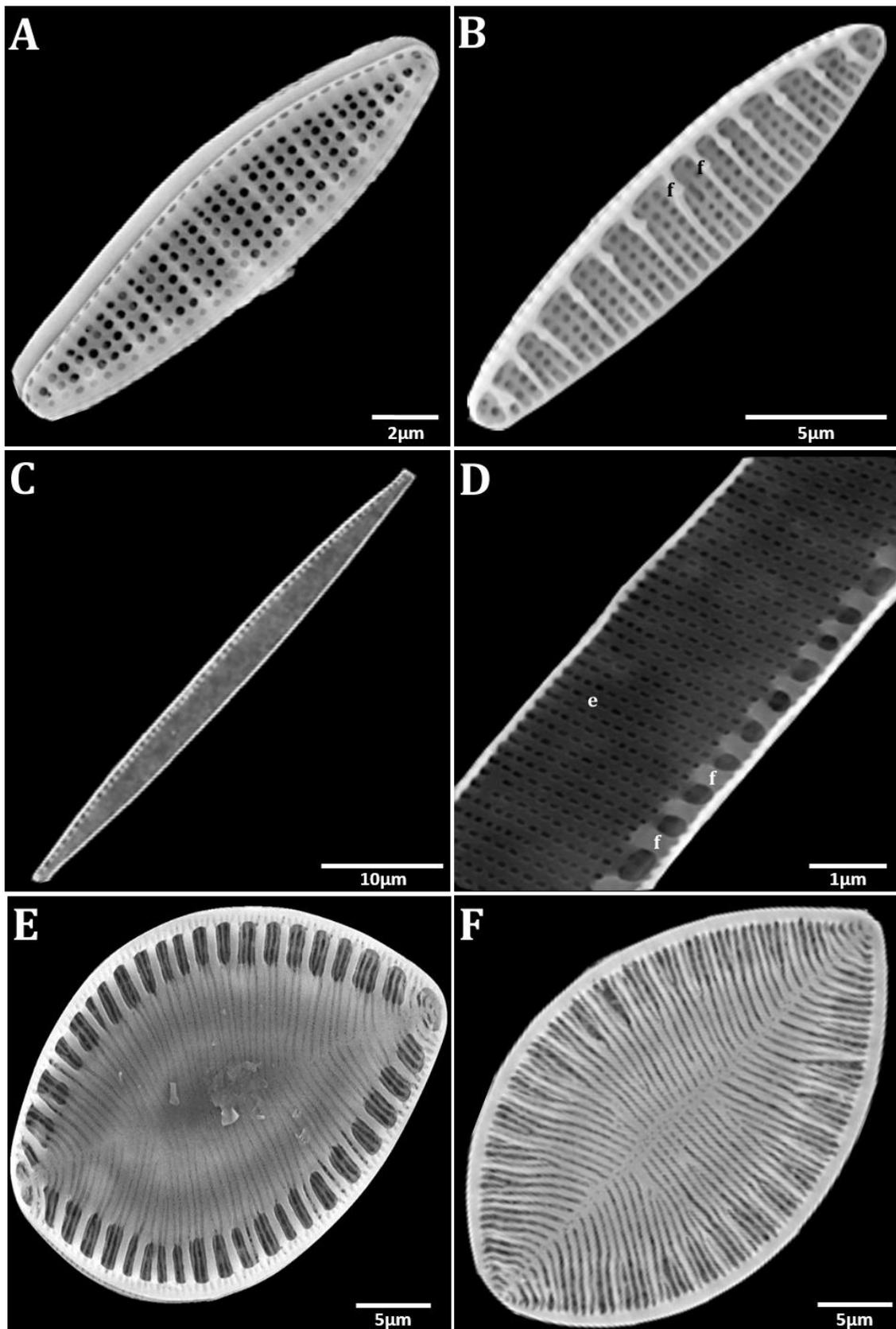


Figura 24. A) *Nitzschia amphibia* Grunow valva lanceolada, B) vista interna de *N. amphibia* se distinguen las fibulas f, C) *Nitzschia linearis* W. Smith valva recta, D) acercamiento de *N. linearis* se observan las fibulas f y estrías e, E) *Surirella brebissonii* Krammer & Lange-Bertalot valva oval a rómbica, F) vista interna de *S. brebissonii*.

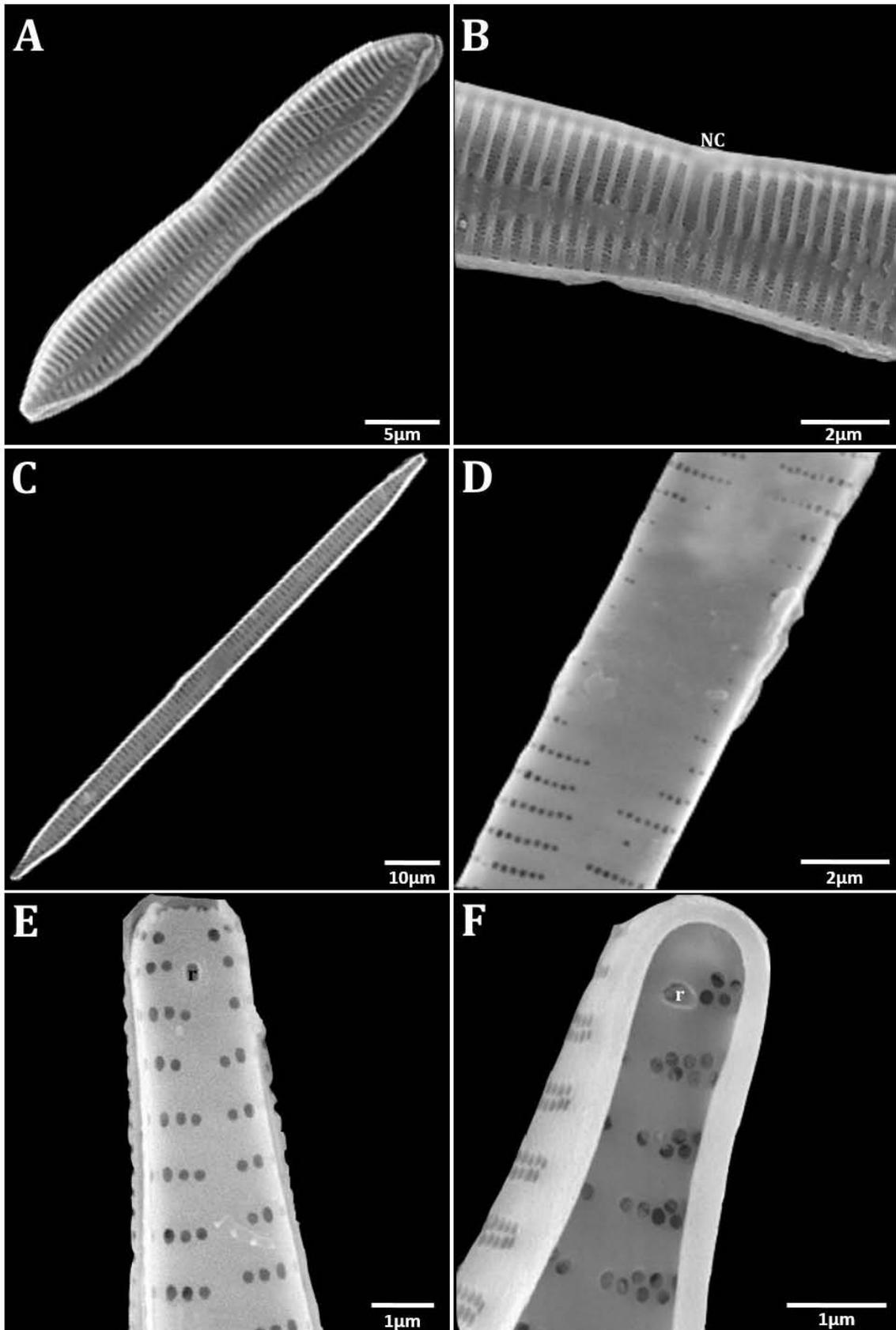


Figura 25. A) *Tryblionella hungarica* (Grunow) Frenguelli valva con ondulaciones, B) acercamiento de *T. hungarica*, presente nódulo central **NC**, C) *Ulnaria ulna* (Nitzsch) P. Compère valva lineal. Acercamientos de *U. ulna* D) parte central, E) ápice con una rimopórtula **r**, F) vista interna del ápice con rimopórtula.

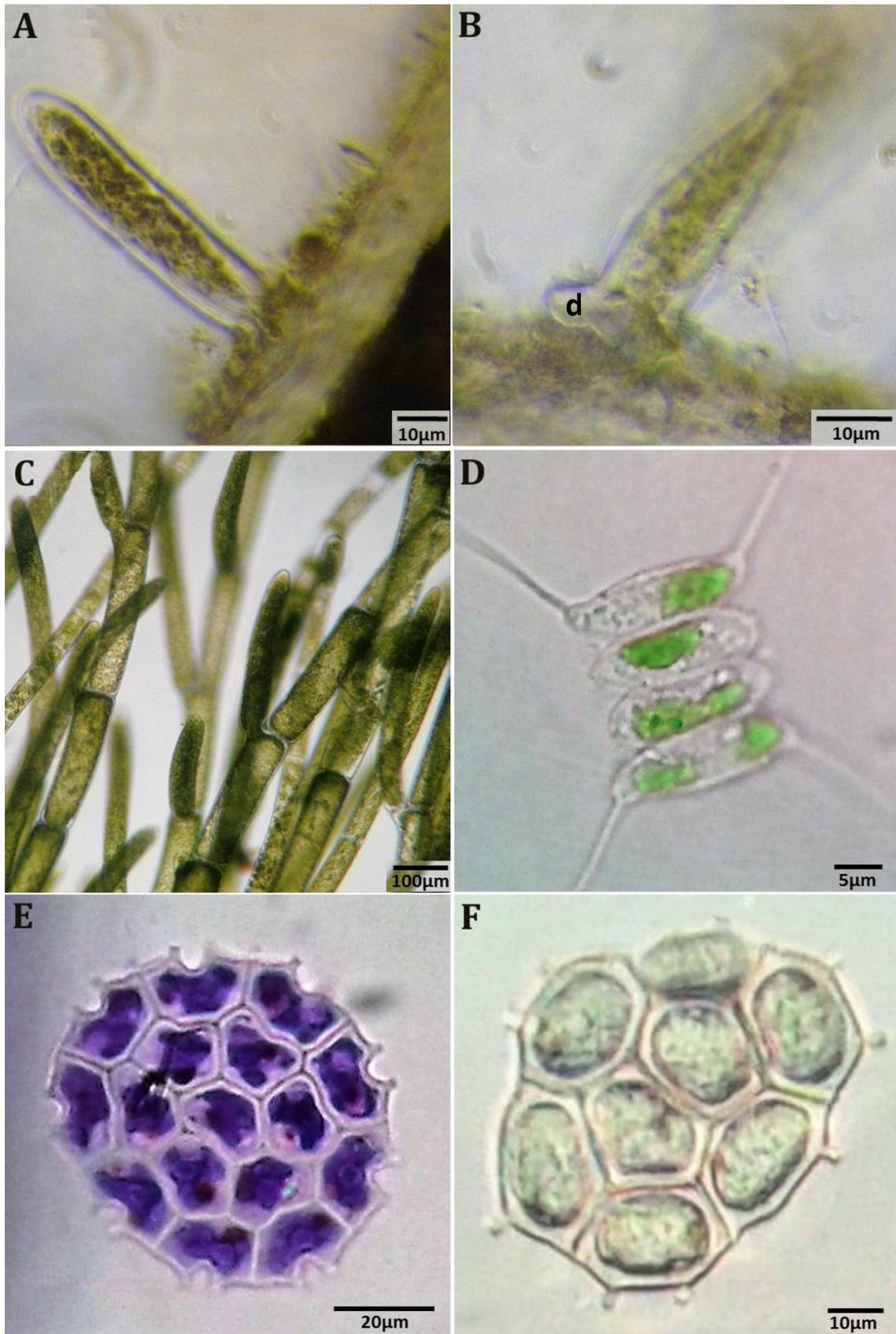


Figura 26. A) *Characium ensiforme* Hermann epífita de *Rizhoclonium*, B) disco de fijación de *C. ensiforme* **d**, C) *Cladophora glomerata* (Linnaeus) Kützing, D) *Desmodesmus abundans* (Kirchner) E. Hegewald, E y F) *Pseudopediastrum boryanum* (Turpin) en diferentes estadios.

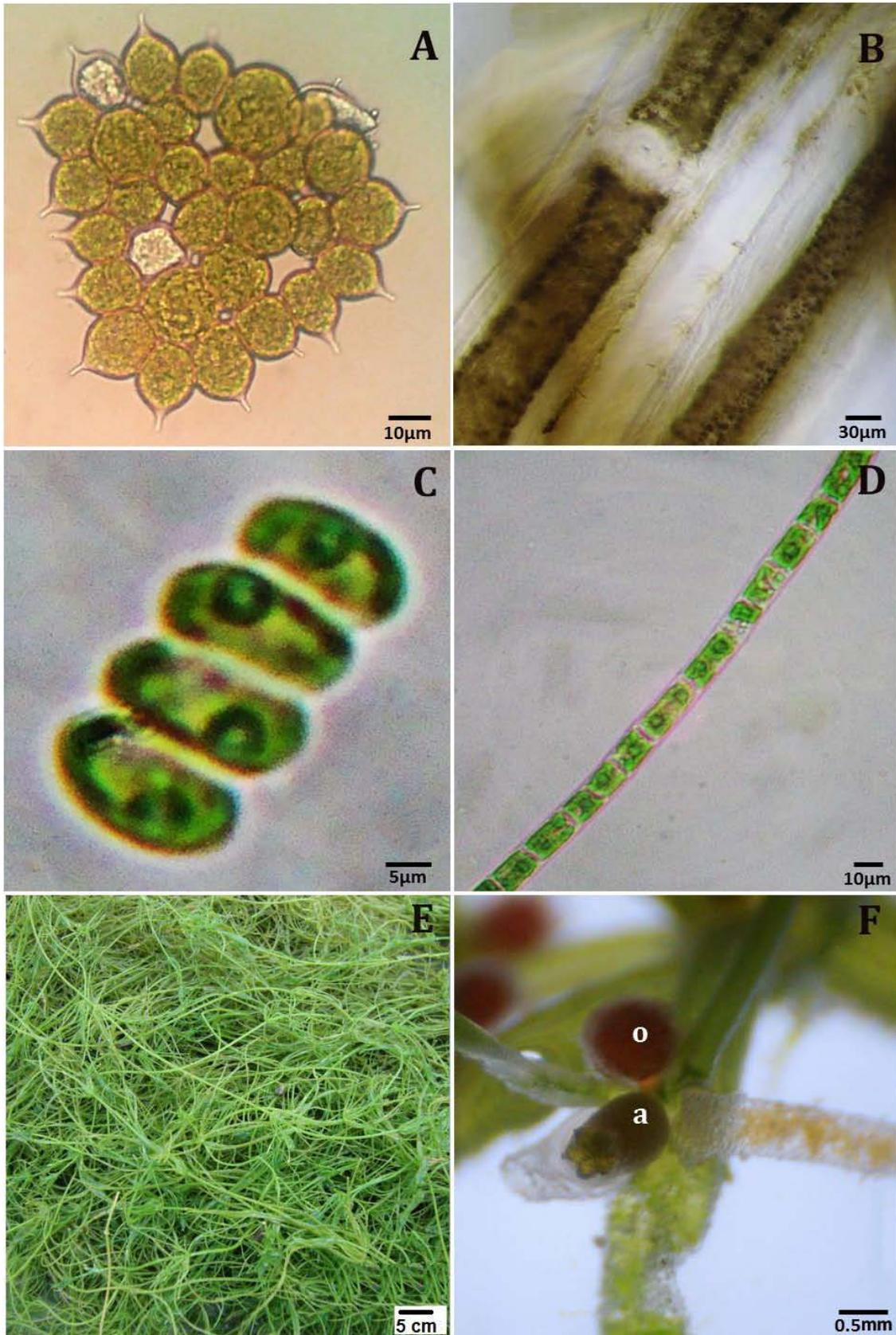


Figura 27. A) *Monactinus simplex* var. *sturmsii*, B) *Rhizoclonium hieroglyphicum* (Agardh) Kützing, C) *Scenedesmus acutus* Meyen, D) *Ulothrix variabilis* Kützing, E) *Chara hispida* Linnaeus, organismo silvestre, F) estructuras reproductoras de *C. hispida*, oogonióforo o y anteridióforo a.

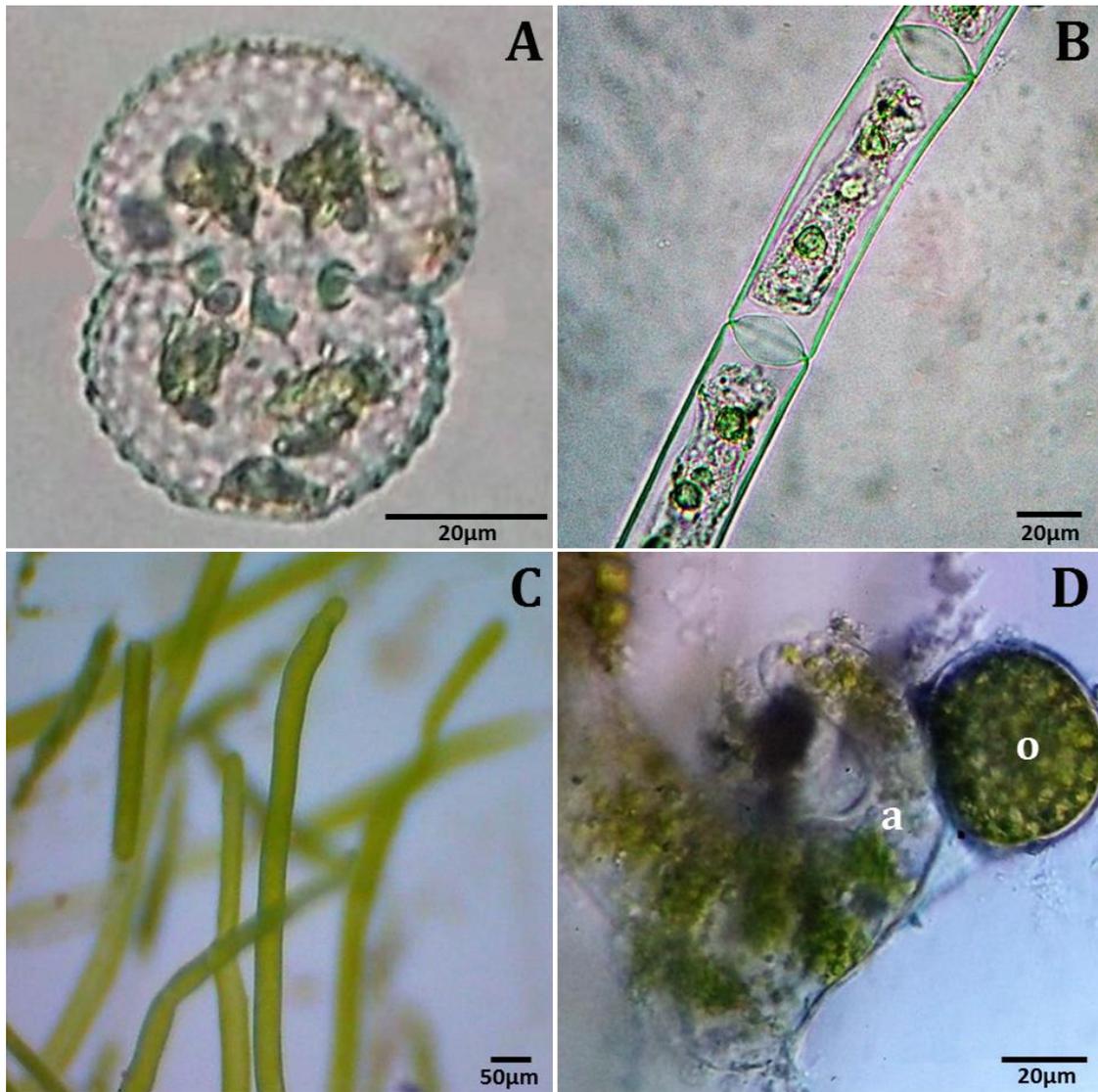


Figura 28. A) *Cosmarium formosulum* Hoff, B) *Mougeotia* sp. C) *Vaucheria geminata* filamentos, D) estructuras reproductoras de *V. geminata*, anteridio a y oogonio o.

VARIABLES FÍSICOQUÍMICAS

La temperatura ambiental y del agua en el área de estudio fluctuó de 23.5-30.0 °C y 19-27.5 °C respectivamente. El oxígeno registrado fue de 4-14 mg/l.

La alcalinidad total registrada osciló entre 156-200 mg/L de CaCO₃, y la medición de pH en los sitios de colecta osciló de 7.7-8.3. Mientras que los datos de dureza total fueron de 291-388 mg/l.

En cuanto a los nutrientes obtenidos, los valores de nitratos oscilaron entre 0.01-0.3 mg/L y los de ortofosfatos fueron de 0.1-1.6 mg/L. El amonio fluctuó de 0.09-0.82 mg/L.

En algunos sitios de colecta no fue posible realizar la obtención de algunos datos, y se encuentran representados por el símbolo NR.

Tabla 1. Datos de parámetros ambientales analizados, las variables sin información fueron señaladas con el símbolo NR.

| Variables fisicoquímicas | S1 Arroyo | S2 Arroyo | S3 Manantial aguas azufradas | S4 Jagüey | S5 Arroyo | S6 Arroyo | S7 Pared de cascada | S8 Estanque |
|---------------------------------------|---------------|---------------|---------------------------------------|---------------|-------------------|----------------------|------------------------------|----------------|
| Longitud N | 18°49' 25" | 18°16' 25" | 18°16'25" | 18°16' 28" | 18°16' 23" Izq | 18°16' 23" Der | 18°16'2 2" | 18°16' 33" |
| Longitud O | 97°32' 46" | 97°32' 38" | 97°32'38" | 97°32' 48" | 97°29' 13" | | 97°29'1 4" | 97°29' 11" |
| Temperatura ambiente °C | 26.5 | 30 | 30 | 30 | 28 | 26 | 25 | 23.5 |
| Temperatura agua °C | 27 | 27.5 | 26 | 23 | 19 | 20 | 20 | 19 |
| pH | 7.7 | 8.3 | 8.1 | 7.7 | 8.1 | 7.6 | 8.3 | 8.3 |
| Alcalinidad mg/l de CaCO ₃ | 200 | 200 | 200 | 156 | 200 | 194 | 170 | NR |
| Amonio mg/l | 0.82 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.15 | 0 | 0.09 |
| Nitratos mg/l | 0.01 | 0 | 0 | 0.04 | 0.04 | 0.3 | 0.3 | 0.2 |
| Ortofosfatos mg/l | 0.1 | 0.3 | 0.3 | 0.2 | 0 | 1.6 | 0.3 | 0.1 |
| Oxígeno (mg/l) | NR | NR | NR | 14 | 8 | 4 | 4 | 6 |
| Dureza total (mg/l) | 388 | 339 | 291 | 301 | 310 | NR | NR | NR |

Comparación de los sitios de colecta

Con base en la ficoflora determinada se compararon los ocho sitios de colecta, donde se obtuvo una distancia de corte con 6 grupos: (I) número de referencia para las especies de acuerdo al anexo 1, (II) los bloques en que se agruparon las especies, donde con base al índice de Jaccard, el rectángulo en color azul y blanco refleja la presencia o ausencia de especies respectivamente.

Los sitios S1, S2 y S8 congregaron un grupo con baja diversidad, y se observan en color rojo; en contraste los sitios de colecta 5, 6 y 4 fueron los de mayor diversidad. Cabe señalar que los sitios 5 y 6 se localizaron muy cercanos entre ellos y comparten 21 especies. El S6 es el hábitat donde solo crecieron algunas especies registradas en este trabajo, por ejemplo, *Anabaena* sp., *Closterium parvulum* Nägeli, *Microspora stagnorum* (Kützing) Lagerheim, *Oedogonium* sp., *Spyrogira collinsi*, *Spyrogira dubia*, *Ulnaria ulna* (Nitzsch) P. Compère, *Vaucheria geminata* Vaucher ex De Candolle y *Zygnema adpectinatum* (Fig. 29).

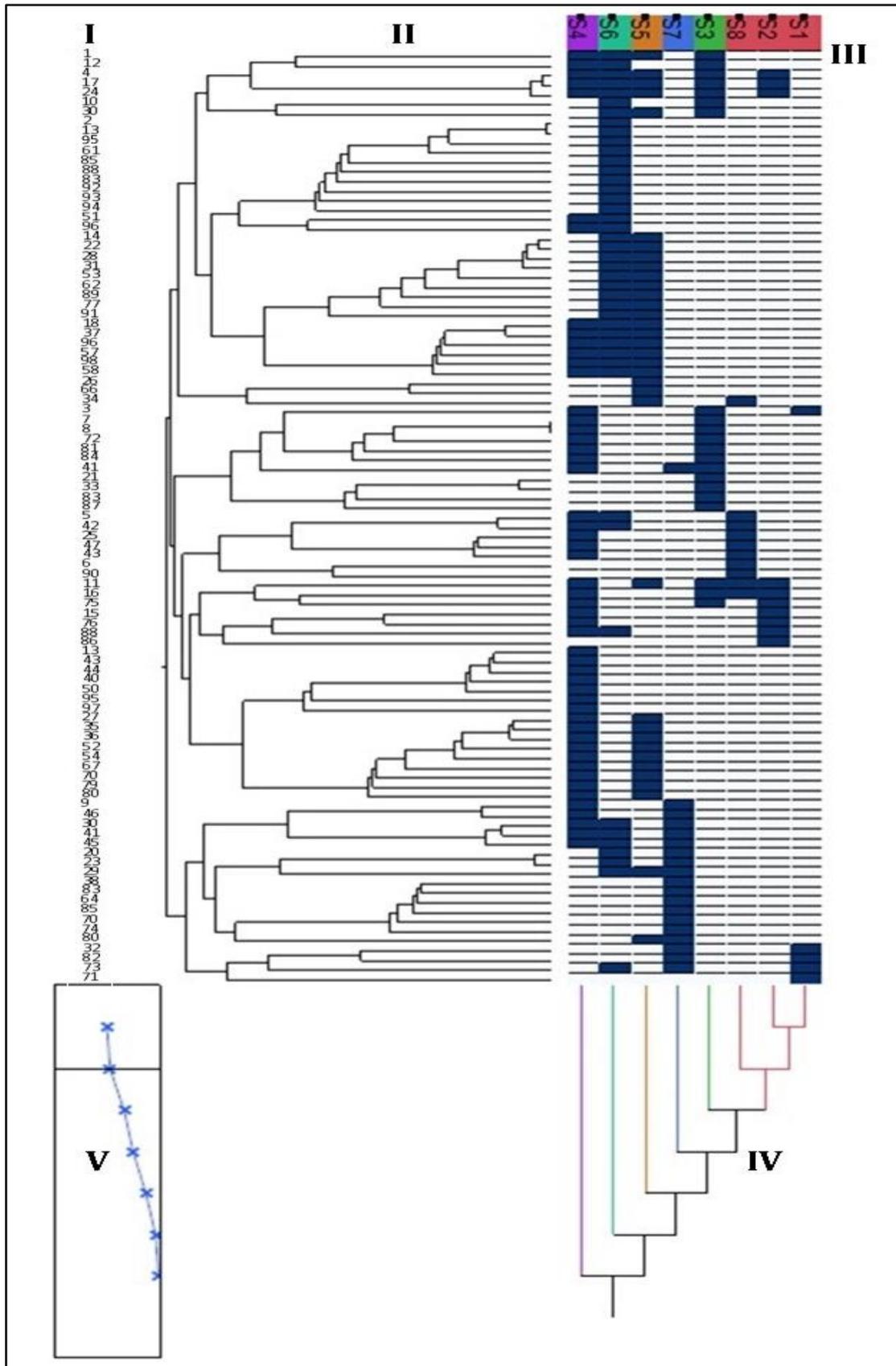


Figura 29. Dendrograma de similitudes construido con las especies de cada sitio de colecta, el conglomerado azul integra la presencia de especies mientras que el conglomerado blanco representa la ausencia de especies.

En la tabla 2 se registró el índice de diversidad de Shannon-Wiener (H') con valores entre 0.23 y 1.97; y la diversidad Alfa (α).

Tabla 2. Índices de diversidad de cada localidad del área de estudio. h' : índice Shannon-Wiener, α : diversidad alfa, γ diversidad gamma.

| Sitio de colecta | H' | α |
|------------------|--------|----------|
| 1 | 0.2356 | 5 |
| 2 | 0.4712 | 10 |
| 3 | 0.8946 | 21 |
| 4 | 2.2611 | 52 |
| 5 | 1.6492 | 35 |
| 6 | 1.9787 | 44 |
| 7 | 0.8791 | 19 |
| 8 | 0.4712 | 10 |

Análisis molecular de Cyanoprokaryota

A partir de los cultivos monoalgales de *Geitlerinema amphibium* y *Porphyrosiphon martensianus* se obtuvieron las secuencias nucleotídicas parciales del 16S del rDNA de ambas especies de 900 pares de bases. Con ayuda de un paquete bioinformático se realizó la traducción a rRNA. La búsqueda realizada en BLAST no arrojó resultados concluyentes para la ratificación de los géneros. En el caso de *G. amphibium* los organismos que resultaron con una similitud mayor o igual a 99% fue *Leptolyngbya* y *Halomiconema*; para *P. martensianus* fue *Geitlerinema*.

Estructura secundaria de hélices de Cyanoprokaryota

Las hélices determinadas de la estructura secundaria de *G. amphibium* y *P. martensianus* fueron muy similares a los diagramas publicados de la subunidad pequeña de la molécula de rRNA en *Escherichia coli* (anexo 3). Las figuras 30 y 31 representan la ubicación física tridimensional de dichas hélices en la molécula de rRNA de *E. coli*. Dentro de la estructura secundaria parcial de la molécula pequeña del 16S rRNA se lograron determinar las hélices 17, 21 y 41 de ambas especies. Para cada hélice fue posible determinar sus regiones más conservadas.

DISCUSIÓN

Ficoflora

Una de las metas de la florística es dar explicaciones sobre el desarrollo histórico del conjunto de plantas de un lugar, haciendo énfasis en diversos puntos, como el grado de conservación en que se encuentran las poblaciones (Novelo, 2012c). Al comparar las especies de este trabajo y las que fueron previamente registradas (ver anexo 1), se observa que a lo largo de un poco más de una década la ficoflora es semejante y se agregan 16 nuevos registros, lo que nos podría decir que las poblaciones algales del Valle de Zapotitlán están conservadas.

Novelo (1998, 2011, 2012 a, b, c) da a conocer 357 especies para el Valle de Tehuacán, por lo que las especies determinadas en este trabajo corresponde a un 27% de esta flora. Para Bacillariophyta se aporta un 1%, en Cyanoprokaryota y Chlorophyta la aportación de cada una fue del 5%.

De las especies que son nuevo registro para México; *Merismopedia marssonii* es citada su distribución en Europa: Alemania y Rumania; Norteamérica: Arkansas; Sureste de Asia, India e Iraq; China; Australia y Nueva Zelanda. Mientras, *Palmodictyon viride* su distribución corresponde a: Ártico, Isla de Ellesmere; Europa: Gran Bretaña, Portugal, Rumania y España; Suroeste de Asia, India; NorteAmérica: Grandes Lagos, Michigan y Wisconsin; Sudamérica: Argentina. Por su parte *Pseudabaena minima* su distribución se limita a Europa: España; Asia: Korea y Rusia (Guiry & Guiry, 2017), vive en reservorios oligotróficos, mesotróficos hasta aguas ligeramente eutróficas (Komárek & Hauer, 2014a).

Con base en esta información, de forma general han sido registrados en ambientes templados y por lo cual deberá de estudiarse con mayor amplitud estos registros. (Guiry & Guiry, 2017).

Novelo (2012a) indica el registro de organismos de Zygnemataceae, distribuidas en cuatro géneros, ninguno de ellos fue determinado específicamente, debido a la falta de estructuras reproductivas, como zigósporas. En contraste, la autora reconoció siete especies, quizá por las fechas de colecta, así como la exploración en ambientes temporales, tales

como pequeñas charcas poco profundas, que cuando se desecan favorecen la producción de estadios de resistencia (Abbayes, 1989). Por su parte, *Nitella flexilis* es común de las aguas estancadas oligotrofas, frías y mineralizadas (Guiry y Guiry, 2017).

De Chlorophyta dos especies se reportaron por segunda ocasión para el país, *Monactinus simplex* var. *sturmii* es un taxón registrado en ambientes lénticos; por primera vez citado en el lago de Catemaco, Veracruz (Garduño *et al.*, 2016) en aguas bien oxigenadas, con temperatura de 24°C y eutróficas. Mientras, Lenarczyk (2014) y Mrutyunjay *et al.*, (2014) la indicaron para cuerpos de agua pequeños con baja cantidad de nutrientes y condiciones mesotróficas. En contraste, en el área de estudio fue colectada en ambientes lóxicos, oligotróficos; por lo cual se trata de un taxón que vive en ambientes lénticos y lóxicos.

Por su parte, *Tetrademus obliquus* fue reportada por Figueroa *et al.*, (2015) en canales, en condiciones eutróficas del área natural protegida Ejidos de Xochimilco. Contrastando con las condiciones oligotróficas de los sitios de colecta de este trabajo.

Las Cyanoprokaryota son importantes en muchos ambientes terrestres, en los áridos tiene la característica de tolerar la desecación y el estrés hídrico. *Anabaena* es un género común de las zonas áridas, aunque muchas especies tienen una distribución geográfica limitada (Tiwari *et al.*, 2005). *Komvophoron crassum* es de distribución poco conocida, debido quizá a las limitaciones ecológicas que demanda (Komárek & Hauer, 2014b). Para México *K. crassum* ha sido citada por Montejano & Ramos (2010) en la flora ficológica de la Huasteca potosina.

Según Metzeltin & Lange-Bertalot (1998) *Gomphonema vibrioides* se considera presente en sustratos kársticos y oligohalinos de América tropical, para México Novelo *et al.* (2007) reportaron este organismo en sabanas inundadas, cenotes y estanques de la reserva ecológica El Edén, Yucatán; condiciones semejantes a la cuenca sedimentaria de Valle de Tehuacán donde predominan suelo de tipo rendzinas, donde el horizonte A se forma por encima de material calcáreo, que presenta carbonato de calcio mayor al 40% (CONANP, 2013).

El índice de Shannon y Wiever (1949) tiene como valores de referencia a 1 para baja diversidad y 5 para alta diversidad, lo que determinó entonces que el Valle de Zapotitlán valores entre $H=0.23$ y 1.97 ; lo que se interpreta con baja diversidad. Aunque un índice bajo se ha asociado con un aumento de las condiciones tróficas de un sistema acuático (Margalef, 1983), no podemos aplicar este principio a los sitios analizados aquí, ya que los parámetros fisicoquímicos medidos nos infieren que se trata de aguas oligotróficas.

El promedio de especies encontradas en cada sitio de colecta fue de 12 y al tratarse de una zona árida podríamos inferir que no existen condiciones propicias para el desarrollo de las algas. Y aunque los ambientes son heterogéneos entre sí, son constantes en sus condiciones limnológicas (Novelo, 2012b). Lo que puede explicar la diversidad α que nos señala que el sitio con mayores condiciones limitantes fue el S1 con solo 5 *taxa* con respecto de otras como el S4, lugar que al acumularse el agua y tener mayor profundidad la ficoflora puede crecer con mayor facilidad y por lo cual se reconocieron 52 especies.

Variables fisicoquímicas

Las aguas del Valle de Zapotitlán, debido a la predominancia de sustratos geológicos de naturaleza calcárea y su contacto con esta, son de carácter alcalino y moderadamente duras. Es por esto que en las zonas de colecta se obtuvieron valores de alcalinidad >150 mg/L de CaCO_3 y un pH promedio de 8. La alcalinidad, no sólo representa el principal sistema amortiguador del agua dulce, sino que también desempeña un rol principal en la productividad de cuerpos de agua naturales (Rodier, 1981; Fuentes y Massol, 2002).

En el sitio de colecta 1, las condiciones organolépticas sugieren se trata de un manantial de aguas azufradas y con lo que pudiera explicar la concentración de nitratos cuantificados (0.82 mg/L). Motivo que explica el desarrollo casi exclusivo de *Oscillatoria limosa* C. Agardh, *Calothrix parietina* (Nägeli) Thuret, *Pseudanabaena mínima* Anagnostidis y *Planktothrix agardhii* (Gomont) Anagnostidis & Komárek.

Los niveles de nutrientes como nitratos y ortofosfatos en cuerpos de agua naturales han sido utilizados para caracterizar el nivel trófico. De acuerdo al

principio general que se aplica en estudios de eutroficación, el nivel de productividad de los arroyos analizados en este estudio está dentro de la denominación de Oligotrófico, al presentar una concentración (Wetzel, 1981; Roldán y Ramírez, 2008), ya que el promedio de concentración de nitratos y ortofosfatos fue de 0.065 y 0.51 mg/L respectivamente. Las aguas oligotróficas presentan una gran diversidad de algas aunque no en cantidad, y permanecen oxigenados durante todo el año (Figueruelo y Davila, 2004; Roldan, 2009).

Cirujano *et al.*, (2008) mencionan que algunos carofitos viven principalmente en ambientes en aguas oligohalinos y oligotróficas. Es por esto que en las zonas de colecta (S8) donde crece *Chara hispida* Linnaeus y (S6) *Nitella flexilis*. Esta última es más sensible a la contaminación ambiental, de la misma forma *Vaucheria geminata* es indicadora de ambientes oligotróficos (Schagerl y Kerschbaumer, 2008). Podemos determinar con base en el crecimiento de estos organismos que los arroyos del Valle de Zapotitlán presentan una baja contaminación orgánica.

Estructura secundaria de hélices del ARN

En Cyanoprokaryota la estructura secundaria de la subunidad pequeña de la molécula de rRNA es muy similar a la bacteria Gram- *Escherichia coli* (Rehakova *et al.* 2014). Es por esa razón que las comparaciones de las hélices y su ubicación tridimensional (Fig. 30, 31) de las especies estudiadas se hacen en base a lo descrito para dicha bacteria.

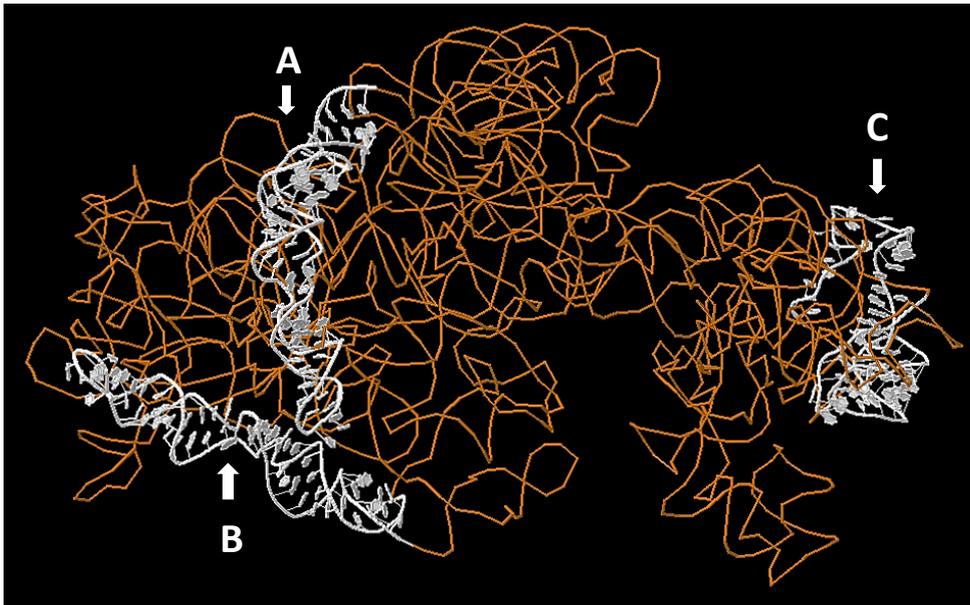


Figura 30. Vista tridimensional de la subunidad pequeña de la molécula RNAr (16S). En color gris se resalta la ubicación de las hélices determinadas para *Porphyrosiphon martensianus*. A-H17, B- H21 y C- H41.

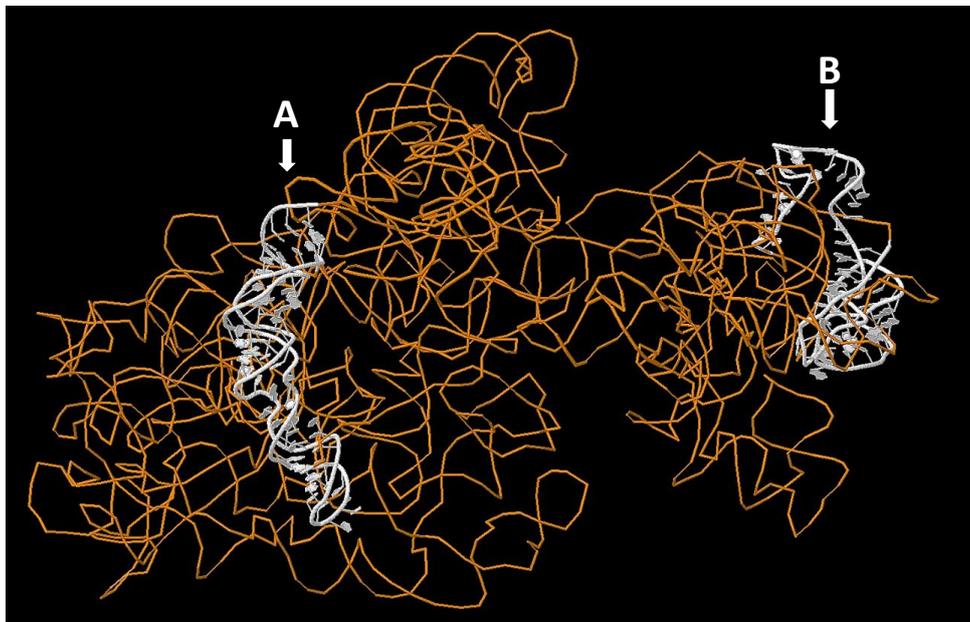


Figura 31. Vista tridimensional de la subunidad pequeña de la molécula de RNAr (16S). En gris se resalta la ubicación de las hélices determinadas para *Geitlerinema amphibium*. A- H17 y B- H41.

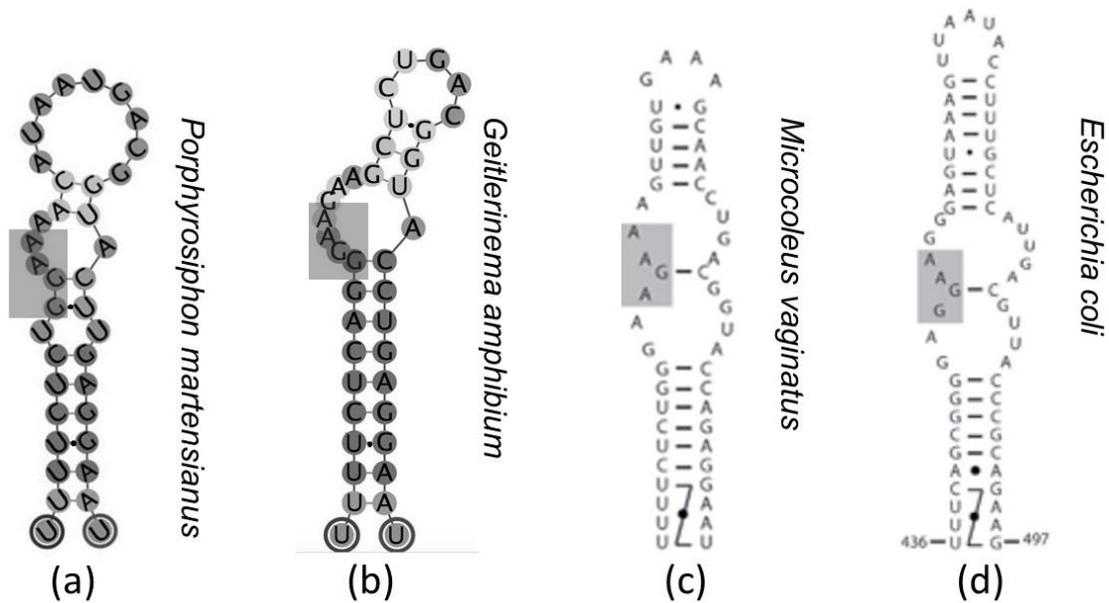


Figura 32. Hélice 17: (a) *Porphyrosiphon martensianus*; (b) *Geitlerinema amphibium*, cepas cultivadas del Valle de Zapotitlán; (c) *Microcoleus vaginatus* y (d) *Escherichia coli*, tomadas de Reháková *et al.*, (2014). Se resaltan los sitios altamente conservados.

La hélice 17 de *Porphyrosiphon martensianus* mostró un tallo con tres bucles consecutivos, estructura general según *E. coli* y *Microcoleus vaginatus*, las cuales fueron consideradas como especies de referencia (Reháková *et al.*, 2014). Sin embargo, *P. martensianus* presenta un tallo con 6 pares de bases (pb), a diferencia de 9 en las ER, por lo cual es más corto. Con respecto al primer bucle es visiblemente más pequeño, pero la región conservada se presenta a la misma altura. La siguiente modificación, se ostenta entre el segundo y tercer bucle, donde solo en las ER presentan de tres a seis pb, que constituyen la continuación del tallo. Por último, la especie analizada tiene un tercer bucle más grande que las ER y los bucles de ella misma.

En *G. amphibium* su estructura contiene dos bucles, por tanto, es significativamente diferente a las ER. El tallo presentó nueve pb y el sitio conservado como ER. La continuación del tallo fue de un par de bases, a diferencia de tres a seis que contienen las ER.

Según lo descrito por Powers & Noller (1995) la secuencia altamente conservada en la hélice 17 5'-AGAA-3', puede ser necesaria para una interacción con la proteína ribosomal S16. La cual está relacionada con eventos de protección a la molécula, de acuerdo a estudios *in vitro* realizados en proteínas ribosomales de *E. coli* (Seth *et al.* 1988).

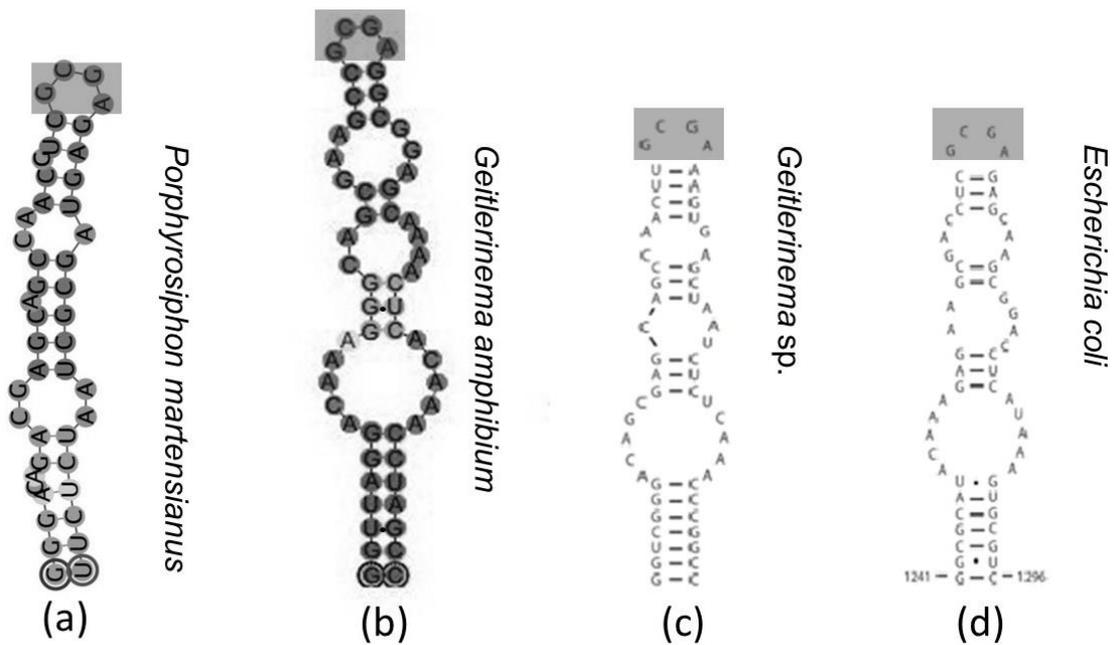


Figura 33. Hélice 21: (a) *Porphyrosiphon martensianus*; (b) *Geitlerinema amphibium*, cepas cultivadas del Valle de Zapotitlán; (c) *Geitlerinema sp.* y (d) *Escherichia coli*, tomadas de Reháková *et al.*, (2014). Se resaltan los sitios altamente conservados.

La hélice 21 de *P. martensianus* reveló un tallo con tres bucles y fue la que más modificaciones tuvo en su estructura general, a diferencia de las ER que presentan un cuarto bucle. En el tallo se encontraron nucleótidos sin aparear, bucles pequeños y separados cada uno por un tallo de dos a tres pb, características que no presentaron las ER. No obstante, la región conservada 5'-GCGA-3' se presenta en a la misma altura.

G. amphibium conservó altamente la estructura general de su H21 como las ER, un tallo con cuatro bucles y la región conservada 5'-GCGA- 3'.

Se ha demostrado que la hélice 21 interactúa con la proteína ribosomal S8 (Power & Noller, 1995). Esta es una de las proteínas de unión del 16S que actúa en las etapas tempranas del ensamblaje ribosomal. La cual tiene influencia en la organización estructural del dominio central (Held *et al.* 1974).

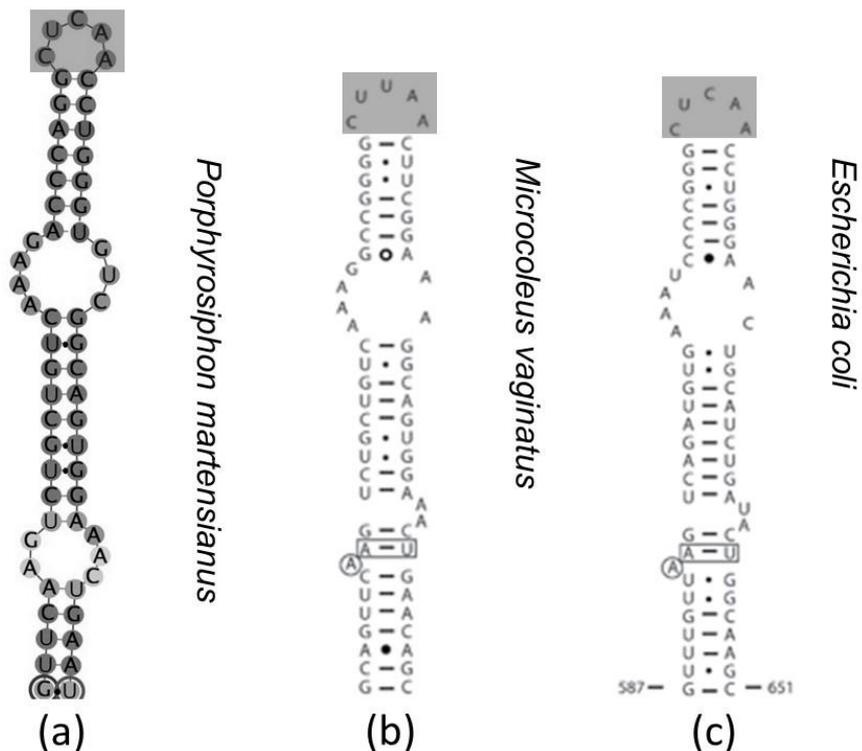


Figura 34. Hélice 41: (a) *Porphyrosiphon martensianus*; (b) *Microcoleus vaginatus* ambas cepas cultivadas del Valle de Zapotitlán; (c) *Escherichia coli* imagen tomada de Reháková *et al.* (2014). Se resaltan los sitios altamente conservados.

La hélice 41 de *P. martensianus* presentó la estructura general de un tallo con 3 bucles, similar a las ER. Sin embargo, tuvo un tallo de 4 pb evidentemente más corto que las ER, quienes mostraron 8 pb. La siguiente modificación se evidenció en el primer bucle, que en las ER son solo dos nucleótidos que no se aparean y forman una pequeña burbuja, en contraste en la especie analizada se forma por completo un bucle con 5 nucleótidos. El resto de la hélice se observó igual en todos los organismos y se demostró la presencia de la región altamente conservada 5'-CUCAA-3', la cual se ha demostrado que se encuentra asociada a la actividad de la GTPasa, enzimas que participan en la traducción de señales del rRNA (Baranov *et al.* 1998).

La búsqueda realizada en el GenBank con la secuencia primaria de *P. martensianus* presentó homología con *Geitlerinema* sp. No obstante, el análisis de la estructura secundaria de las hélices de *P. martensianus* mostró que es una especie diferente a *Geitlerinema*, ya que al estructurarse las hélices presenta diferencias en secuencia y estructura (Fig. 32, 33) mientras que en la

fig. 34 se observa que *P. martensianus* guarda similitud con *Microcoleus vaginatus*, los cuales son pertenecientes a la misma familia.

En el caso de *Posphyrosiphon martensianus* de acuerdo al análisis morfológico se corroboró con lo reportado por Novelo (2012), con estos datos moleculares se confirma lo dicho por Komárek & Anagnostidis (2005) al trasladar este *taxa* de *Lyngbya* al nuevo género *Porphyrosiphon*. Por lo cual es importante profundizar en el estudio polifásico del organismo en cuestión.

En todas las hélices determinadas en este trabajo se constató la presencia de enlaces no canónicos (No Watson-Crik), los cuales se dan entre bases no complementarias. La existencia de este tipo de enlaces es ampliamente aceptada, se ha descubierto que aproximadamente el 40% de todas las bases en rRNA estructurados son interacciones no canónicas, las cuales causan problemas en la determinación de la estructura secundaria. El par G:U se forma fácilmente por lo que es un rasgo frecuentemente característico de determinados elementos helicoidales, lo que conduce a reducir la estabilidad de la molécula al tratarse de apareamiento por balanceo (Gutell *et al.*, 1994; Nagaswamy *et al.*, 2002; Reháková *et al.*, 2014; Rybarczyk *et al.*, 2015).

CONCLUSIONES

- La ficoflora determinada en este estudio fue representada por 97 especies, distribuidas en 5 divisiones. De ellos, 16 nuevos registros, 13 de éstas para la zona de estudio y tres especies; *Merismopedia marssonii*, *Pseudanabaena minima* y *Palmodyction viride* fueron nuevos registros para el país, lo que infiere que la zona del Valle de Zapotitlán alberga organismos aún no registrados.
- Los sitios de estudio fueron ambientes con alta cantidad de CaCO_3 y condiciones limnológicas que permiten el desarrollo de especies indicadoras de aguas oligotróficas como *Chara hispida*, *Nitella flexilis* y *Vaucheria geminata*.
- Las secuencias nucleotídicas parciales del 16S rRNA de los *taxa* aisladas del Valle de Zapotitlán, identificados morfológicamente como *Geitlerinema amphibium* y *Porphyrosiphon martensianus* corresponden al primer informe de datos moleculares para el país.
- La secuencia parcial del 16S de *Porphyrosiphon* es la primera para este género en el mundo y muestra diferencias estructurales en las 3 hélices identificadas con respecto a las especies de referencia.

BIBLIOGRAFÍA

- Abbayes H. 1989. Botánica: Vegetales Inferiores. Barcelona. Ed. Reverte. 2ª ed. 748 pp.
- APHA, AWWA & WEF. 2005. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. American Public Health Association. 21st ed.
- Baranov P., Gurvich O., Bogdanov A., Brimacombe R. & Dontsova. 1998. New features of 23S ribosomal RNA folding: The long helix 41–42 makes a “U-turn” inside the ribosome. *RNA*, 4:658–668.
- Benemann R. J. & Oswald J. W. 1996. *Systems and Economic Analysis of Microalgae Ponds for Conversion CO₂ to Biomass*. Dept. of Civil Engineering University of California Berkeley. Pag. 3
- Boison G., Mergel A., Jolkver H. & Bothe H. 2004. Bacterial Life and Dinitrogen Fixation at a Gypsum Rock. *Appl. Environ. Microbiol.* 70(12): 7070-7077.
- Bonilla R., Garduño S., Martínez G., Campos, Monsalvo R. & Quintanar Z. 2013. *Vaucheria zapotecana* (Xanthophyceae) a new specie from Oaxaca, Mexico. *Phycologia* 52(6): 550-556.
- Bourrelly P. 1972. *Les Algues d' euadouce*. Éditions N. Bubée & Cie pp.17-447.
- Cannell R. J. P., Owsianka A. M. & Walker J. M. 1988. Results of a large-scale screening programme to detect antibacterial activity from freshwater algae. *Br. Phycol. J* 23(1):41-44.
- Cervantes R. C. 2006. Las zonas áridas y semiáridas de México. Revisado en: http://fenix.cichcu.unam.mx/libroe_2006/0965822/05_c01.pdf el 23 de febrero de 2016.
- Cirujano S., Cambra J., Sánchez C. P. M., Meco A. & Flor A. N. 2008. *Flora Ibérica. Algas continentales. Carofitos (Characeae)*. Real Jardín Botánico, Madrid, 122 pp.
- Challenger A., & Soberón J. 2008. Los ecosistemas terrestres, en Capital natural de México, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad. Conabio, México, pp. 87-108.
- Chisti Y. 2007. Biodiesel from microalgae. *Biotechnol. Adv.* 25(3):294-306.
- CONANP. 2013 Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas. Programa de Manejo Reserva de la Biosfera Tehuacán-Cuicatlán. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. 329 pp.
- Costa M. & Liss P., S. 1999. Photoreduction of mercury in sea water and its possible implications for Hg₀ air–sea fluxes. *Marine Chemistry* 68: 87-95.
- De la Lanza E. G., Hernández P. S., & Carbajal P. J. 2000. *Organismos indicadores de la calidad del agua y de la contaminación (Bioindicadores)*. Ed. Plaza y Valdez S.A de C.V. 20.

- Desikachary T. V. 1959. Cyanophyta. Volume 2 of I.C.A.R. monographs on algae. *Indian Council of Agriculture Research*. Universidad de California. 686 pp.
- Entwistle T. J. & Skinner S. 2007. *Algae of Australia. Batrachospermales, Thoreaales, Oedogoniales and Zygnemaceae*. ABRS, Canberra; CSIRO Publishing, Melbourne. 191 pp.
- Fanés T. I., Sánchez C. P. & Comas G. A. 2010. Nuevas citas de algas verdes Coccales en la Península Ibérica. *Bol. R. Soc. Esp. Hist. Nat. Sec. Biol.*, 104:5-24.
- Figueruelo J. E. & Dávila M. M. 2004. *Química Física del medio ambiente y de los procesos medioambientales*. Ed. Reverté. Barcelona pag. 518
- Figuroa T. M. G., Arana M. F., Almanza E. S., Ramos E. M. G. & Ferrara G. M. J. 2015. Microalgas del Area Natural Protegida Ejidos de Xochimilco y San Gregoria Atlapulco, México. *CienciaUAT* 9(2): 15-29.
- Fuentes F. & Massol D. A. 2002. *Manual de laboratorios. Parámetros Fisicoquímicos*. Universidad de Puerto Rico. 94 pp. Revisado el 23 de abril de 2016 en <http://www.uprm.edu/biology/profs/massol/manual/>
- Garibay H. A., Vázquez D. R., Sánchez S. M., Serrano C. L., & Martínez J. A. 2009. Biodisel a partir de Microalgas. *BioTecnol.*, 13(3): 30-61.
- Garduño S. G., Cartaneja A. M. G., Oliva M. M. G. & García G. Ma. A. 2010. *Caráceas Charophyceae*. Universidad Nacional Autónoma de México. 59-60 pp.
- Garduño S. G., Rodríguez P. M. C., Martínez G. M., Quintanar Z. R. E., Lozano R. C., Campos C. J. E., & Monsalvo R. A. C. 2011. Cultivos de microalgas del Lago de Catemaco, Veracruz. *Rev. Latinoam. Biotecnol. Amb. Algal* 2(2):67-80.
- Garduño S. G., Guillén R. D., Martínez G. M., Quintanar Z. R., Campos J. E. & Comas G. A. 2016. *Pediastrum* sensu lato (Chlorophyceae) of central Mexico. *Cryptogamie, Algologie* 37(4): 273-295
- Godínez O. J. L. 2008. Colectores de algas de México (1787-1954). *Act. Bot. Mex.* 85: 75-95.
- Gómez L. L. 2007. Microalgas: aspectos ecológicos y biotecnológicos. *Revista cubana de Química*. 19:3-20.
- Gonzales G. J. 1992. Flora ficológica de México: concepciones y estrategias para la integración de una flora ficológica nacional. *Ciencias* 6:14-33.
- González-González, J., y E. Novelo-Maldonado, 1986. Algas. En: A. Lot y F. Chiang (ed.). Manual de herbario. Administración y manejo de colecciones técnicas de recolección y preparación de ejemplares botánicos. Consejo Nacional de la Flora en México A. C. pp. 47-54.
- Guiry M. D. 2012. How many species of algae are there? *J. Phycol.* 48(5): 1057-1063.

- Guiry M.D. & Guiry G.M. 2017. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>; consultado el 01 de marzo 2016.
- Gutell R. R., Schnare M. N. & Gray M. W. 1990. A compilation of large subunit (23S-like) ribosomal RNA sequences presented in a secondary structure format. *Nucleic Acids Research*, 18: 2319-2330.
- Gutell R., Larsen N. & Woese C. 1994. Lessons from an Evolving rRNA: 16S and 23S rRNA Structures from a Comparative Perspective. *Microbiological reviews*, 58:10-26.
- Gutell R., Lee J. C. Cannone J. J. 2002. The accuracy of ribosomal RNA comparative structure models. *Nucleic acids*. 12: 301-310.
- Held W.A., Ballo B., Mizushima S. & Nomura M. 1974. Assembly mapping of 30S ribosomal proteins from *Escherichia coli*: Further studies. *J. Biol. Chem.* 249:3103-3111.
- Hall D. J., Fucikova B. Lo C. & Karol G. K. 2010. An assessment of proposed DNA barcodes in freshwater green algae. *Cryptogamie Algologie* 31 (4): 529-555.
- Hoek C. Van Den, Mann D. G. & Jahns H. M. 1995. *Algae. An Introduction to Phycology*. Trad. por D. Mann. Cambridge University Press, Cambridge. 576 pp.
- John D., M., Whitton B., A., & Brook A., J. 2002. *The Freshwater Algal Flora of the British Isles*. Cambridge, United Kingdom. 702 pp
- Komárek J. & Anagnostidis K. 2005. *Cyanoprokaryota 2. Teil/2nd Part: Oscillatoriales*, Büdel, B., Krienitz, L., Gartner, G. & Schaerl, M. (eds): Süßwasserflora von Mitteleuropa 19/2 Italia 759 pp.
- Komárková J., Zapomělová E. & Komárek J. 2013. *Chakia* (cyanobacteria), a new heterocytous genus from Belizean marshes identified on the basis of the 16S rRNA gene. Czech Phycological Society. *Fottea* 13(2): 227-233.
- Komárek J. & Hauer T. 2014a. *Komvophoron*. En: <http://www.cyanodb.cz/Komvophoron>. Revisado el 25 de mayo de 2017.
- Komárek J. & Hauer T. 2014b. *Pseudanabaena*. En: <http://www.cyanodb.cz/Komvophoron>. Revisado el 30 de mayo de 2017.
- Kumar H. D. & Singh H. N. 1979. *A textbook on Algae*. Macmillan Tropical Biology Series. Hong Kong. 216 pp.
- Lawson I. I. & Rushforth S. R. 1975. The diatom flora of the Provo River, Utah, U.S.A. *Biblioth. Phycol.* 17: 1-149.
- Lenarczyk J. 2014. *The algal genus Pediastrum Meyen (Chlorophyta) in Poland*, Kraków, W. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences, 104 p'.
- López G. F., Muñoz I M., Hernández M., Soler A. M. C., Castillo L. & Hernández A. 2003. Análisis integral de la toposecuencia y su influencia en la distribución

- de la vegetación y la degradación del suelo en la Subcuenca de Zapotitlán Salinas, Puebla. *Bol. Soc. Geol. Mex.* 56(1): 19-41.
- Margalef R. 1983. Limología. Ediciones Omega, Barcelona 1010 pp.
- Metcalfe J. L. 1989. Biological water quality assessment of running waters based on macroinvertebrate communities: history and present status in Europe. *Environment and Pollution*, 60: 101-139.
- Metzeltin D. & Lange-Bertalot H. 1998. Tropical Diatoms of South America I: About 700 predominantly rarely known or new taxa representative of the neotropical flora 695 pp.
- Montejano Z. G. & Ramos R. P. 2010. Flora Ficologica de la Huasteca Potosina. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Ciencias. Base de datos SNIB-CONABIO proyecto No. FM007, México DF.
- Mühlsteinová R., Johansen J., Pietrasiak N., Martin M., Osorio-Santos K. & Warren S. 2014. Polyphasic characterization of *Trichocoleus desertorum* sp. nov. (Pseudanabaenales, Cyanobacteria) from desert soils and phylogenetic placement of the genus *Trichocoleus*. *Phytotaxa* 163 (5): 241–261.
- Mrutyunjay J., Christina B., Chhandashree B., Siba P & Lothar K. 2014. Strain survey on three continents confirms the polyphyly of the genus *Pediastrum* (Hydrodictyaceae, Chlorophyceae). *Fottea, Olomouc*, 14(1): 63-76.
- Nagaswamy U., Larios-Sanz M., Hury J., Collins S., Zhang Z., Zhao Q. & Fox G. 2002. NCIR: a database of non-canonical interactions in known RNA structures. *Nucleic Acids Research*, 30:395-397.
- Novelo M. E. 1998. Floras Ficológicas del Valle de Tehuacán, Puebla. Tesis para obtener el título de doctor en ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Ciencias de la UNAM. 651 pp.
- Novelo M. E. 2011. *Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Fascículo 90. Cyanoprokaryota* J. Komárek. Universidad Nacional Autónoma de México Instituto de Biología. Departamento de Botánica. 103 pp.
- Novelo M. E. 2012a. *Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Fascículo 102. Bacillariophyta* Hustedt. Universidad Nacional Autónoma de México Instituto de Biología. Departamento de Botánica. 237 pp.
- Novelo M. E. 2012b. *Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Fascículo 94. Chlorophyta* Pascher. Universidad Nacional Autónoma de México Instituto de Biología. Departamento de Botánica. 47 pp.
- Novelo M. E. 2012c. Consideraciones sobre las algas del Valle de Tehuacán, Cuicatlán. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 15(2):85-96.
- Novelo M. E. 2013. Diversidad de algas dulceacuícolas. Una riqueza y un potencial por descubrir. La biodiversidad en Chiapas: Estudio de Estado. *Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO) y Gobierno del Estado de Chiapas, México*, pag 97-102.

- Novelo M. E. & Tavera R. 2011. Un panorama gráfico de las algas de agua dulce de México. *Hidrobiológica* 21(3):333-341.
- Novelo M. E. Tavera R. & Ibarra C. 2007. Bacillariophyceae from Karstic Wetlands in México. *Bibliotheca Diatomologica*. Berlín. 136 pp.
- Oliva M. M. G. & Garduño S. G. 2017. *Cyanobacterias. Cyanobacteria, Cyanoprokaryota*. Universidad Nacional Autónoma de México. 246 pp.
- Ortega M.M. 1984. *Catálogo de Algas Continentales Recientes de México*. Universidad Nacional Autónoma de México 308 pp.
- Osorio B. O., Valiente B. A., Dávila P. y Medina R. 1996. Tipos de vegetación y diversidad β en el Valle de Zapotitlán de las Salinas, Puebla, México. *Bol. Soc. Bot. Méx.* 59: 35-58
- Ospina A. N. & Peña J.E. 2004. *Alternativas de Monitoreo de Calidad de Aguas: Algas como Bioindicadores*. Centro de Estudios e Investigaciones en Desarrollo Regional-CEIDER Grupo de Investigación Ambiental-GIAM Universidad Santiago de Cali. 515 pp.
- Parra O. & Bicudo C. 1996. Algas de Aguas Continentales: Introducción a la Biología y Sistemática. Ediciones Universidad de Concepción. 268 pp
- Perkerson III R., Johansen J., Kováčik L., Brand J., Kastovsky J. & Casamatta D. 2011. A unique Pseudanabaenalean (cyanobacteria) genus *Nodosilinea* gen. nov. based on morphological and molecular. *J. Phycol.* 47, 1397–1412.
- Pineda M. R., Martínez J. F., Garduño S. G. & Olvera R. R. 2011. Caracterización morfológica y molecular de cianobacterias filamentosas aisladas de florecimientos de tres lagos urbanos eutróficos de la ciudad de México. *Polibotánica*, 31: 31-50
- Powers N. & Noller H. 1995. Hydroxyl radical footprinting of ribosomal proteins on 16S RNA. *RNA*, 1: 194-209.
- Prescott W. G. 1982. *Algae of the western great lakes area*. Institute of Science 334-341 pp.
- Reyes D. A. 2012. Caracterización de un Nuevo mutante termosensible de la RNAsa E en el metabolismo del RNA de *Escherichia coli*. Tesis para obtener el título de doctor en ciencias. Universidad Complutense Madrid. Facultad de Ciencias Biológicas. 222 pp.
- Reháková K., Johansen R. J., Bowen B, M., Michael P. Martin M. P. & Sheil A. C. 2014. Variation in secondary structure of the 16S rRNA molecule in cyanobacteria with implications for phylogenetic analysis. *Fottea, Olomouc*, 14(2): 161–178.
- Rippka R. 1988. Isolation, identification, and culturing of cyanobacteria. *Methods. Enzimol.* 167: 3-27.
- Rivera A. V., Montejano G., Rodríguez Z. S. & Duran D. A. 2006. Distribution and composition of Cyanobacteria, mosses and lichens of the biological soil crusts

- of the Tehuacan Valley, Puebla, Mexico. *Journal of Arid Environments*, 67:208-225.
- Rodier J. 1981. *Análisis de las aguas: aguas naturales, aguas residuales y agua de mar*. Editorial Omega. Barcelona, España. 1059 pp.
- Rodicio M. R. & Mendoza M. C. 2004. Identificación bacteriana mediante secuenciación del ARNr 16S: fundamento, metodología y aplicaciones en microbiología clínica. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 22(4): 238-245.
- Roldan P. G. 2009. Desarrollo de la limnología en Colombia: cuatro décadas de avances progresivos. *Actual Biol* 31 (91): 227-237.
- Roldán P. A. G. & Ramírez R. J. J. 2008. *Fundamentos de limnología neotropical*. 2da edición. Editorial Universidad de Antioquia. 244 pp.
- Rybarczyk A., Szostak N., Antczak M., Zok T., Popenda M., Adamiak R., Blazewicz J. & Szachniuk M. 2015. New in silico approach to assessing RNA secondary structures with non-canonical base pairs. *BMC Bioinformatics* 16:276
- SAS JMP® 2015. Versión 12.2.0. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, 1989-2007.
- Sámano B. A. & Sokoloff D. 1931. La flora y fauna de aguas dulces del Valle de México. *Monogr. Ints. Biol. Univ. Nac. México*. 1:48-49.
- Sánchez V. A. & García N. R. 1999. Biomonitorio de ríos en la gestión de cuencas. Una aproximación introductoria. IX Congreso Nacional de Irrigación, Culiacán, Sinaloa, México. *Simposio 4*. Pág. 64-71.
- Schagerl M. & Kerschbaumer M. 2008. Autecology and morphology of selected *Vaucheria* species (Xanthophyceae). *Acuat. Ecol.* 43:295-303.
- Schenk P. M., Hall T. S. R, Stephens E., Marx U. C., Mussnug J. H., Posten C., Kruse O. & Hankamer B. 2008. Second generation biofuels: high-efficiency microalgae for biodiesel production. *Bioenerg. Res.* 1: 20-43.
- Seth S., Changchien Li-M., Craven G. & Noller H. 1988. Interaction of Proteins S16, S17 and S20. *J. Mol. Biol.* 200, 291-299.
- Shannon C. E. & Wiever W. 1949. *The mathematical theory of communication*. Ed. University Illinois Press. Urbana IL. USA.
- Sneath P.H.A. & Sokal R.R. 1973. *Numerical Taxonomy: The Principles and Practice of Numerical Classification*. W.H. Freeman, San Francisco.
- Tiwari O. N., Shing B. V., Upasana M., Singh A. K., Dolly W. D & Singh P. K. 2005. Distribution and physiological characterization of cyanobacteria isolated from arid zones of Rajasthan. *Tropical Ecology* 46(2): 165-171.
- Tomas C. R. (Ed.). 1997. *Identifying marine phytoplankton*. Academic Press. 858 pp.
- Vaara T., Vaara M. & Niemela S. 1979. Two improved methods for obtaining axenic cultures of cyanobacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 38: 1011- 1014.

- Valiente B. A., Casas A., Alcántara A. Dávila, Flores H. P., Villaseñor J. L & Ortega J. 2001. La vegetación del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. *Bol. Soc. Bot. Méx.* 67: 25-74.
- Vargas R., & Novelo M. E. 2007. Seasonal changes in periphyton nitrogen fixation in a 3 protected ropical wetland. *Biology and Fertility of Soils* 43:367-372.
- Velázquez D. & Quesada A. 2011. Las cianobacterias en ambientes polares. *Ecosistemas* 20 (1): 14-22.
- Villaseñor J. L. 2015. ¿La crisis de la biodiversidad es la crisis de la taxonomía? *Botanical Sciences* 93(1): 3-14.
- Wehr J.D. & Sheath R.G. 2003. *Freshwater Algae of North America: Ecology and Classification*. Academic Press, USA: 935 pp.
- Wetzel G. R. 1981. *Limnology. Lake and river ecosystems*. 3ra edition. Academic Press, USA. 1006 pp.
- Whittaker R. H. 1972. Evolution and measurement of species diversity. *Taxon* 21(2/3):213-251.
- Whitton B. A. 1992 *Photosynthetic Prokaryotes*. Plenum Press, New York, 51 pp.
- Whitton B.A. & M. Potts. 2000. *The ecology of cyanobacteria. Their diversity in time and space*. Kluwer Academic Publishers. Países Bajos, 631 pp.

Anexo 1 Clasificación taxonómica

A) Clasificación para Cyanoprokaryota por Komárek & Anagnostidis 1999 y Novelo 2011; para Bacillariophyta se basaron en Rushforth y Lawson (1975), Novelo (2012); para Chlorophyta, Bourrelly (1972), Wher y Sheath (2003), John *et al.* (2002), Entwisle y Skinner (2007) y Novelo (2012); para Charophyta, Cirujano *et al.* (2008) y Prescott (1982); y Xanthophyta, John *et al.* (2002). B) Referencia asignada para el conglomerado. C) Citas correspondientes para el área de estudio: 1- Rivera *et al.*, 2006; 2- Novelo, 2011; 3- Novelo, 2012; 4- Novelo, 2012b; 5- En este trabajo; y D) número de figura.

| | | A) Cyanoprokaryota | B | C | D | |
|--|--|---|-----|-------|-----|---|
| | | Clase: Cyanophyceae | | | | |
| Orden: Chroococcales | Familia: Chroococcaceae | | | | | |
| | <i>Chroococcus minutus</i> | | 11 | 2,5 | 20C | |
| | <i>Gloeocapsopsis pleurocapsoides</i> | | 33 | 2,5 | 20F | |
| | Familia: | | | | | |
| | Cyanobacteriaceae | | | | | |
| | <i>Cyanobacterium cedrorum</i> (Sauvageau) Komárek, Kopecky & Cepák | | 20 | 3,5 | | |
| | Familia: Microcystaceae | | | | | |
| | <i>Gloeocapsa</i> Kützing | | 32 | 2,5 | | |
| | Orden: Nostocales | Familia: Nostocaceae | | | | |
| | | <i>Anabaena</i> sp. Bory ex Bornet & Flahault | | 2 | 5 | 4 |
| | <i>Cylindrospermum stagnale</i> | | 23 | 2,5 | 20D | |
| | <i>Nostoc muscorum</i> | | 60 | 1,5 | 21E | |
| | Familia: Rivulariaceae | | | | | |
| | <i>Calothrix parietina</i> | | 5 | 1,5 | 20A | |
| | Familia: Scytonemataceae | | | | | |
| | <i>Scytonema bohneri</i> Schmidle | | 90 | 2,5 | | |
| Orden: Oscillatoriales | Familia: Coleofasciculaceae | | | | | |
| | <i>Geitlerinema amphibium</i> | | 29 | 2,5 | 20E | |
| | <i>Geitlerinema claricentrosom</i> (N.L.Gardner) | | 30 | 2,5 | | |
| | Anagnostidis | | | | | |
| | <i>Geitlerinema splendidum</i> (Greville ex Gomont) K. Anagnostidis | | 31 | 2,5 | | |
| | Familia: Cyanothecaceae | | | | | |
| | <i>Cyanothece aeruginosa</i> (Nägeli) Komárek | | 21 | 1,5 | | |
| | Familia: Gomontiellaceae | | | | | |
| | <i>Komvophoron crassum</i> (Vozzhennikova) Anagnostidis & Komárek | | 40 | 5 | 5 | |
| | <i>Komvophoron minutum</i> (Skuja) Anagnostidis & Komárek | | 41 | 1,2,5 | | |
| | Familia: Microcoleaceae | | | | | |
| | <i>Microcoleus</i> Desmazières ex Gomont, <i>Planktothrix agardhii</i> (Gomont) Anagnostidis & Komárek | | 50 | 2,5 | | |
| | | | 71 | 2,5 | 22A | |
| | <i>Porphyrosiphon martensianus</i> | | 73 | 2,5 | 22B | |
| | Familia: Oscillatoriaceae | | | | | |
| | <i>Lyngbya hieronymusii</i> Lemmermann | | 46 | 2,5 | | |
| | <i>Oscillatoria geminata</i> Schwabe ex Gomont | | 63 | 2,5 | | |
| <i>Oscillatoria subbrevis</i> Schmidle | | 64 | 2,5 | | | |
| <i>Oscillatoria limosa</i> | | 65 | 2,5 | | | |
| <i>Phormidium autumnale</i> Gomont | | 70 | 2,5 | 21F | | |

| | | | | |
|----------------------------|--|----|-----|-----|
| Orden: Pseudanabaenales | Familia: Schizotriachaceae <i>Schizothrix lardacea</i> Gomont | 82 | 2,5 | |
| Orden: Pleurocapsales | Familia: Hyellaceae <i>Chroococcopsis fluviatilis</i> | 10 | 2,5 | 20B |
| Orden: Synechococcales | Familia: Leptolyngbyaceae <i>Leptolyngbya foveolarum</i> (Rabenhorst ex Gomont) Komárek & Anagnostidis | 42 | 2,5 | |
| | <i>Leptolyngbya laminosa</i> (Gomont) Anagnostidis & Komárek | 43 | 2,5 | |
| | <i>Leptolyngbya tenuis</i> (Gomont) Anagnostidis & Komárek | 44 | 2,5 | |
| | <i>Leptolyngbya valderiana</i> | 45 | 2,5 | 21B |
| | Familia: Merismopediaceae <i>Merismopedia punctata</i> | 47 | 2,5 | 21D |
| | <i>Merismopedia convoluta</i> | 48 | 2,5 | 21C |
| | <i>Merismopedia marssonii</i> | 49 | 5 | 6 |
| | Familia: Pseudanabaenaceae <i>Jaaginema angustissimum</i> (West & G.S.West) Anagnostidis & Komárek | 36 | 2,5 | |
| | <i>Jaaginema geitleri</i> (W. West y G. S. West) K. Anagnostidis & J. Komárek | 37 | 2,5 | |
| | <i>Jaaginema pseudogeminatum</i> (G.Schmid) Anagnostidis & Komárek | 38 | 2,5 | |
| | <i>Jaaginema quadripunctulatum</i> (Brühl & Biswas) Anagnostidis & Komárek | 39 | 2,5 | |
| | <i>Pseudanabaena minima</i> | 74 | 5 | 7 |
| Orden: Spirulinales | Familia: Spirulinaceae <i>Spirulina major</i> | 88 | 2,5 | 22C |

| A) Bacillariophyta | | B | C | D |
|--------------------------|---|----|-----|-------|
| Clase: Bacillariophyceae | | | | |
| Orden: Bacillariales | Familia: Bacillariaceae <i>Denticula kuetzingii</i> Grunow | 24 | 3,5 | |
| | <i>Nitzschia amphibia</i> Grunow | 56 | 3,5 | 24A,B |
| | <i>Nitzschia linearis</i> W. Smith | 57 | 3,5 | 24C,D |
| | <i>Nitzschia frustulum</i> (Kützing) Grunow | 59 | 3,5 | |
| | <i>Tryblionella hungarica</i> (Grunow) Frenguelli | 91 | 3,5 | 25A,B |
| Orden: Cocconeidales | Familia: Cocconeidaceae <i>Cocconeis placentula</i> var. <i>Placentula</i> | 14 | 3,5 | |
| | Familia: Achnanthidiaceae <i>Achnanthidium affine</i> (Grunow) Czarnecki | 1 | 3,5 | 22D |
| | <i>Planothidium lanceolatum</i> (Brébisson) Round et Bukhtiyarova | 72 | 3,5 | |
| Orden: Cymbellales | Familia: Anomoeoneidaceae <i>Anomoeoneis sphaerophora</i> Pfitzer | 3 | 3,5 | |
| | Familia: Cymbellaceae <i>Navicella pusilla</i> (Grunow) Krammer | 54 | 3,5 | |
| | Familia: Gomphonemataceae <i>Gomphonema angustum</i> C. Agardh | 58 | 3,5 | 23A,B |
| | <i>Gomphonema vibrioides</i> E.Reichardt & Lange- Bertalot | 35 | 5 | 8 |
| | Familia: Rhoicospheniaceae | | | |

| | | | | |
|--|---|----|-----|-----------|
| | <i>Rhoicophenia abbreviata</i> (C.Agardh) Lange-Bertalot | 77 | 3,5 | |
| Orden: Fragillariales | Familia: Fragilariaceae <i>Fragilaria</i> sp. Lyngbye | 28 | 3,5 | |
| Orden: Licmophorales | Familia: Ulnariaceae <i>Ulnaria ulna</i> (Nitzsch) P.Compère | 92 | 3,5 | 25C,D,E,F |
| Orden: Mastogloiales | Familia: Achnantheaceae <i>Achnanthes inflata</i> (Kützing) Grunow | 96 | 3,5 | |
| Orden: Naviculales | Familia: Brachysiraceae <i>Brachysira vitrea</i> (Grunow) R.Ross | 4 | 3,5 | |
| | Familia: Naviculaceae <i>Navicula cryptocephala</i> | 53 | 3,5 | 23D,E,F |
| | Familia: Pinnulariaceae <i>Pinnularia streptoraphe</i> Cleve | 52 | 3,5 | |
| | Familia: Stauroneidaceae <i>Craticula cuspidate</i> (Kützing) D.G.Mann | 19 | 3,5 | |
| Orden: Rhopalodiales | Familia: Rhopalodiaceae <i>Rhopalodia gibba</i> (Ehrenberg) Otto Müller | 78 | 3,5 | |
| | <i>Epithemia turgida</i> (Ehrenberg) Kützing | 26 | 3,5 | |
| | <i>Epithemia adnata</i> (C.Agardh) Lange-Bertalot | 27 | 3,5 | |
| Orden: Surirellales | Familia: Surirellaceae <i>Surirella brebissonii</i> Krammer & Lange-Bertalot | 89 | 3,5 | 24E,F |
| Clase: Mediophyceae Orden: Stephanodiscales | Familia: Stephanodiscaceae <i>Cyclotella meneghiniana</i> | 22 | 3,5 | 22E,F |

| | | A) Chlorophyta | B | C | D |
|--------------------------|--|--|----|-----|----------|
| | | Clase: Trebouxiophyceae | | | |
| Orden: Chlorellales | Familia: Oocystaceae <i>Oocystis solitaria</i> Wittrock | | 62 | 4,5 | |
| | <i>Chlorella vulgaris</i> Beyerinck [Beijerinck] | | 8 | 4,5 | |
| Orden: Chlamydomonadales | Clase: Chlorophyceae Familia: Chlorosarcinaceae <i>Chlorosarcinopsis</i> Herndon | | 9 | 4,5 | |
| | Orden: Oedogoniales | Familia: Oedogoniaceae <i>Oedogonium</i> Link ex Hirn | | 61 | 4,5 |
| Orden: Sphaeropleales | Familia: Characiaceae <i>Characium ensiforme</i> | | 7 | 4,5 | 26 A,B |
| | Familia: Hydrodictyaceae <i>Pseudopediastrum boryanum</i> | | 67 | 4,5 | 26E,F |
| | <i>Monactinus simplex</i> var. <i>sturmii</i> (Reisnch) Perez, Maidana & Comas. | | 69 | 5 | 10, 26 A |
| | Familia: Radiococcaceae <i>Gloeocystis</i> sp. Nägeli | | 34 | 4,5 | |
| | <i>Palmodictyon viride</i> Kützing | | 66 | 5 | 9 |

| | | | | |
|--|---|----|----------|------|
| | Familia: Scenedesmaceae | | | |
| | <i>Scenedesmus ecornis</i> (Ehrenberg) Chodat | 79 | 4,5 | |
| | <i>Tetradesmus obliquus</i> (Turpin) Kützing | 80 | 5 | 11 |
| | <i>Scenedesmus acutus</i> | 81 | 4,5 | 2 |
| | <i>Desmodesmus abundans</i> | 25 | 4,5 | 26 D |
| | <i>Coelastrum</i> sp. Nägeli | 15 | 4,5 | |
| | <i>Microspora stagnorum</i> (Kützing) Lagerheim | 93 | 4,5 | |

| | | | | |
|----------------------|------------------------------------|----|-----|------|
| | Clase: Ulvophyceae | | | |
| Orden: Cladophorales | Familia: Cladophoraceae | | | |
| | <i>Cladophora glomerata</i> | 12 | 4,5 | 26 C |
| | <i>Rhizoclonium hieroglyphicum</i> | 76 | 4,5 | 27 B |
| | Familia: Ulotrichaceae | | | |
| | <i>Ulothrix variabilis</i> | 68 | 4,5 | 27 D |

| | | | | |
|-----------------|----------------------------|----|----------|----------------|
| | A) <u>Charophyta</u> | B | C | D |
| | Clase: <u>Charophyceae</u> | | | |
| Orden: Charales | Familia: Characeae | | | |
| | <i>Chara hispida</i> | 6 | 4,5 | 27 E,F, 28A |
| | <i>Nitella flexilis</i> | 55 | 5 | 12 |

| | | | | |
|---------------------|--|----|----------|------|
| | Clase: Conjugatophyceae (Zygnematophyceae) | | | |
| Orden: Desmidiiales | Familia: Closteriaceae | | | |
| | <i>Closterium parvulum</i> Nägeli | 13 | 4,5 | |
| | Familia: Desmidiaceae | | | |
| | <i>Cosmarium angulosum</i> Brébisson | 16 | 4,5 | |
| | <i>Cosmarium formosulum</i> Hoff | 17 | 4,5 | 28 A |
| | <i>Cosmarium granatum</i> Brébisson ex Ralfs | 18 | 4,5 | |
| Orden: Zygnematales | Familia: Zygnemataceae | | | |
| | <i>Mougeotia</i> sp. C. Agardh | 51 | | 28 B |
| | <i>Spirogyra collinsii</i> (I.F. Lewis) Printz charo | 83 | 5 | 13 |
| | <i>Spirogyra rivularis</i> (Hassall) Rabenhorst | 84 | 5 | 14 |
| | <i>Spirogyra dubia</i> Kützing | 85 | 5 | 15 |
| | <i>Spirogyra suecica</i> Transeau | 86 | 5 | 16 |
| | <i>Spirogyra weberi</i> Kützing | 87 | 5 | 17 |
| | <i>Zygnema adpectinatum</i> Transeau | 95 | 5 | 18 |
| | <i>Zygnema conspicuum</i> (Hassall) Transeau | 97 | 5 | 19 |

| | | | | |
|---------------------|---|----|-----|------------|
| | A) <u>Xantophyta</u> | B | C | D |
| | Clase: <u>Xantophyceae</u> | | | |
| Orden: Vaucheriales | <i>Vaucheria geminata</i> (Vaucher De Candolle) | 94 | 2,5 | 28 C, D |

Anexo 2 Secuencias Moleculares

Secuencias de las especies determinadas del Valle de Zapotitlán.

Especie: *Geitlerinema amphibium*

Región: rRNA 16S

Lugar y fecha de colecta: Arroyo Tilapa, Valle de Zapotitlán, 26 de enero 2012.

| | | | | | | |
|-----|------------|------------|------------|------------|-------------|------------|
| 1 | TAAGTCTGCT | TTCAAAGAGT | GGGGCTCAAC | CCCATAGGGG | GAGTGGA AAC | TGTTTAGCTA |
| 61 | GAGTATGGTA | GGGGCAGAGG | GAATTCCCAG | TGTAGCGGTG | AAATGCGTAG | ATATTGGGAA |
| 121 | GAACACCAGT | GGCGAAGGCG | CTCTGCTGGA | CCGAGACTGA | CGCTGAGGGA | CGAAAGCTAG |
| 181 | GGGAGCGAAA | GGGATTAGAT | ACCCCTGTAG | TCCTAGCTGT | AAACGATGGA | CACTAGGTGT |
| 241 | TGCGCGTATC | GACCCGTGCA | GTGCCGTAGC | TAACGCGTTA | AGTGTCCCGC | CTGGGGAGTA |
| 301 | CGCACGCAAG | TGTGAAACTC | AAAGGAATTG | ACGGGGGCC | GCACAAGCGG | TGGAGTATGT |
| 361 | GGTTTAATTC | GATGCAACGC | GAAGAACCTT | ACCAGGGTTT | GACATCCCTC | GAATCTCTGT |
| 421 | GAAAGCGGAG | AGTGCCTTCG | GGAGCGAGGA | GACAGGTGGT | GCATGGCTGT | CGTCAGCTCG |
| 481 | TGTCGTGAGA | TGTTGGGTTA | AGTCCCGCAA | CGAGCGCAAC | CCACGTTTTT | AGTTGCCAGC |
| 541 | ATTAAGTTGG | GGACTCTGGA | GAGACTGCCG | GTGACAAACC | GGAGGAAGGT | GTGGACGACG |
| 601 | TCAAGTCATC | ATGCCCTTA | CATCCTGGGC | TACACACGTA | CTACAATGGT | TAGGACAAAG |
| 661 | GGCAGCGAAG | CCGCGAGGCG | GAGCAAAACT | CACAAACCTA | GCCTCAGTTC | AGATTGCAGG |
| 721 | CTG | | | | | |

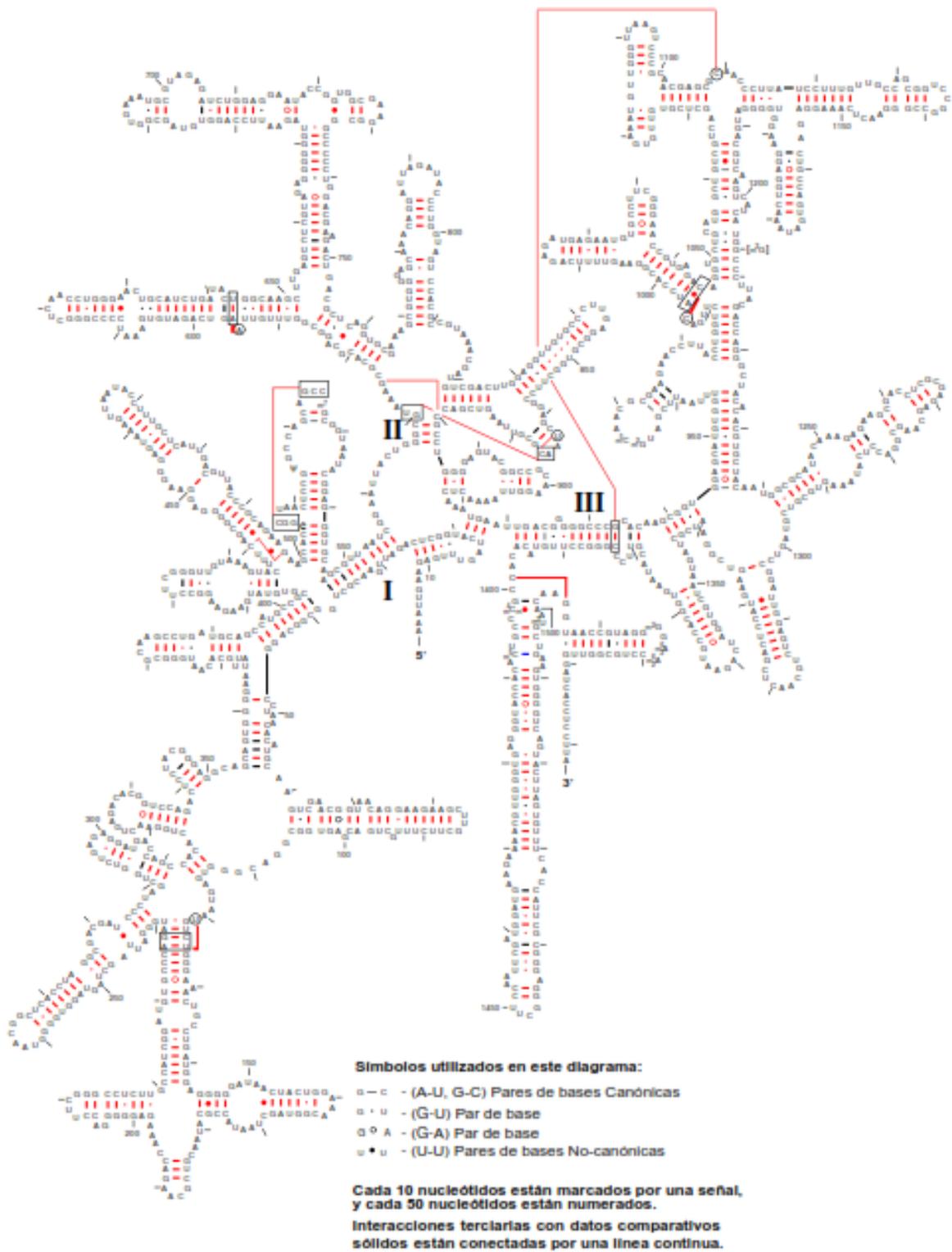
Especie: *Porphyrosyphon martensianus*

Región: rRNA 16S

Lugar y fecha de colecta: Arroyo San Martín, Valle de Zapotitlán, 26 de enero 2012.

| | | | | | | |
|-----|-------------|-------------|------------|------------|-------------|------------|
| 1 | TTCAAGTCTG | CTGTCAAAGA | CCMAGGCTCA | ACCTTYGRGT | CGGCAGKGGG | AACKGAWTAG |
| 61 | CTAGAGKTCG | GTAGGGG CAR | AGGGAATTCC | CAGTGTAGCG | GTGAAATGCG | TAGATATTGG |
| 121 | GAAGAACACC | GGTGGCGAAR | GCGCTCTGCT | GGGCCSMACC | TGACGCTGAG | GGACGAAAGC |
| 181 | TAGGGGAGCG | AATGGGATTA | GATACCCGK | TAGTCCTAGC | CGTAAACGAT | GGAAACTAGG |
| 241 | TGTGGCCTGT | ATCGACCCGG | KCCGTGCCGA | ASCTAACGCG | TTAAGTTTCC | CGCCTGGGGA |
| 301 | GTACGCACGC | AAGTGTGAAA | CTCAAAGGAA | TTGACGGGGG | CCCGCACAAAG | CGGTGGAGTA |
| 361 | TGTGGTTTAA | TTCGATGCAA | CGCGAAGAAC | CTTACCAGGG | CTTGACATGC | CGCGAATCTC |
| 421 | TTTGAAAGGA | GAGAGTGCCT | ACGGGAGCGC | GGACACAGGT | GGTGCATGGC | TGTCGTCAGC |
| 481 | TCGTGTCGTG | AGATGTTGGG | TTAAGTCCCG | CAACGAGCGC | AACCCTCGTC | CTTAGTTGCC |
| 541 | ATCATTAAAGT | TGNGGCACTC | TAGGGAGACA | TGCCGGTGAT | AAACCGGAGG | AAGGTNGGGG |
| 601 | ATGACGTCAA | GTCATCATGC | CCCATATGTC | CTGGGCTACA | CACGTCAC TA | CAATGGTTCC |
| 661 | GGACAGACGA | GCAGCCAACN | TCGCG | | | |

Anexo 3. Estructura secundaria de de la subunidad pequeña de la molécula de rRNA (16S) de *Escherichia coli*.



Disponible en: <http://www.rna.icbm.utexas.edu>.

GLOSARIO

Acineto: célula vegetativa que crece, engrosa su pared y acumula sustancias de reserva en Cyanoprokaryota, puede germinar un tricoma vegetativo o un filamento.

Aerotopo: conjunto de vesículas de gas que cumplen la función de regular la posición del organismo en la columna de agua.

Amplicón: Conjunto de moléculas de DNA idénticas que resulta de una reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Es esencialmente un clon molecular.

Apomorfo: carácter derivado de un estado ancestral.

Caliptra: célula apical de tricomas en Cyanoprokaryota con apariencia de una capucha.

Cenobio: forma de organización celular de algunos grupos de algas, se encuentran dentro de una matriz mucilaginosa.

Dáctilos: ramas unicelulares terminales presentes en los nudos de *Nitella*, que pueden ser uni o pluricelulares (Charophyta).

Electroforesis: técnica de separación de moléculas de acuerdo a su movilidad en un campo eléctrico.

Enlace canónico: tipo de enlace Watson-Crick.

Enlace no canónico: tipo de enlace entre bases no complementarias.

Escrobiculado: depresión o surco

Especie críptica: especies que son morfológicamente similares, pero diferentes genéticamente.

Estigma: perforación de la valva en la parte central de diatomeas pennadas, internamente con una apertura elevada. Es un orgánelo fotosensible.

Estrías: apariencia de una línea formada sólidamente o por puntos, en microscopía fotónica.

Fenotípico: de fenotipo, manifestación variable del genotipo de un organismo en un determinado ambiente.

Filoide: ramas de crecimiento limitado, en Charophyta.

Frústula: pared celular de las diatomeas.

Gametangio: célula diferenciada en la cual se originan los gametos.

Glóbulos: estructura reproductora masculina en las Charophyta.

Heterocito: células especializadas que se originan de células vegetativas en algunas especies de Cyanoprokaryota. Su función es la de fijar el nitrógeno atmosférico.

Homoplasia: cambio evolutivo paralelo que lleva a que dos organismos presenten un mismo carácter adquirido independientemente.

Monoico: organismos en el cual las estructuras reproductoras masculinas y femeninas se encuentran en el mismo individuo.

Morfotipo: tipo morfológico que caracteriza a un grupo determinado de organismos.

Mucílago: envoltura de consistencia gelatinosa formada de polisacáridos excretados por las propias células, generalmente transparente.

Núcula: estructura reproductora femenina en las Charophyta.

Oligotrófico: propiedad de las aguas de alta montaña con escasa cantidad de nutrimentos y poca producción de fitoplancton.

Parietal: que se ubica en un extremo.

Pirenoide: estructura proteica ubicada dentro o asociada a los cloroplastos de las algas eucariotas. Relacionado a las reservas en algunos grupos

Primer: secuencia nucleotídica de RNA que permite que la DNA polimerasa III comience la síntesis de DNA.

Rafe: fisura en el esternón que se forma como consecuencia de uno de los tipos particulares de formación de la hipovalva en diatomeas pennadas.

Rimopórtula: proceso tubular a través de la valva de algunas diatomeas. En la cara interna la abertura de la rimopórtula tiene la forma de un par de labios, en la parte externa puede ser una abertura redonda simple o un tubo que se extiende fuera de la valva.

Sinapomorfia: carácter apomorfo compartido por dos o más taxones.

Tricoma: en Cyanoprokaryota, hilera de células vegetativas o reproductivas sin vaina conectadas entre sí.

Valva: cada una de las partes rígidas que forman una diatomea.

Vaina: en Cyanoprokaryota, cubierta mucilaginosa que contiene a las unicélulas o al tricoma, las mantiene unidas.

Zigospóra: espora de resistencia, ocurre en algas Zygnematales.