



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA**

**Caracterización morfológica y molecular de  
cianoprocariontes filamentosas homocitadas de  
la Faja Volcánica Transmexicana**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**BIÓLOGO**

**Rivero Morales Oswaldo Augusto**

Directora de tesis

**M. en C. Gloria Garduño Solórzano**

Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México  
2022



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

**Becario del proyecto 316016  
Evaluación de un herbicida a partir de cianobacterias  
(aleloquímicos) como alternativa de control y manejo de  
arvenses**

**Convocatoria**

Desarrollo de innovaciones tecnológicas para una agricultura mexicana libre de agroinsumos tóxicos "Programas Nacionales Estratégicos de Ciencia, Tecnología y Vinculación con los Sectores Social, Público y Privado"

## ÍNDICE

<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	4
<b>RESUMEN</b> .....	5
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	6
<b>Generalidades</b> .....	6
<b>Taxonomía de cianoprocariontes</b> .....	6
<b>Biodiversidad e Importancia</b> .....	9
<b>Usos y aplicaciones</b> .....	10
<b>ANTECEDENTES</b> .....	11
<b>JUSTIFICACIÓN</b> .....	12
<b>OBJETIVO GENERAL</b> .....	12
<b>Objetivos particulares</b> .....	12
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	13
<b>Área de Estudio</b> .....	13
<b>Recolecta de cepas de interés</b> .....	13
<b>Aislamiento y cultivo</b> .....	14
<b>Determinación taxonómica</b> .....	14
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	15
<b>CONCLUSIONES</b> .....	30
<b>ANEXO 1</b> .....	31
<b>Protocolo Extracción de ADN</b> .....	31
<b>ANEXO 2</b> .....	32
<b>Protocolo de Purificación</b> .....	32
<b>ANEXO 3</b> .....	33
<b>Secuencias ADN</b> .....	33
<b>ANEXO 4</b> .....	35
<b>Alineamiento Secuencias</b> .....	35
<b>REFERENCIAS</b> .....	37

## AGRADECIMIENTOS

A mi padre, Jaime Rivero, a mi madre, Ernestina Morales y mi hermano Alfredo Rivero, quienes siempre han sido el motor que me motiva y apoya incondicionalmente para alcanzar mis metas en la vida.

Los amo

A la Universidad Nacional Autónoma de México, en particular a la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, por darme la oportunidad de crecer profesionalmente, ser mi segunda casa y ser fuente de tantas experiencias que llevaré conmigo.

Al Dr Nutan, responsable académico del proyecto 316016 “Evaluación de un herbicida a partir de cianobacterias (aleloquímicos) como alternativa de control y manejo de arvenses” quien me apoyó en las instalaciones del CIATEJ, durante tiempos de pandemia CODIV-19, así como en sus espacios personales para desarrollar parte del trabajo de la tesis.

Al CONACyT por la beca otorgada para concluir esta tesis de licenciatura.

A la M. en C. Gloria Garduño Solórzano, quien, desde mi formación académica, en varias de las asignaturas de la carrera me apoyo con su tiempo y conocimientos, ahora después del esfuerzo académico de año tras año, veo el producto de la confianza que depositó en mí y en mi formación profesional.

A la Dra. Martha Martínez García, quien siempre con su apoyo y asesoría en el aspecto de biología molecular, nos permite avanzar en los proyectos.

Al comité revisor de esta tesis; la Dra. Martha Martínez, Dr. Jorge E. Campos, M. en C. Alejandro Cruz Monsalvo Reyes, la M. en C. Gabriela Jiménez Arreola por brindarme su tiempo y recomendaciones.

A mis amigos que conocí y formaron parte de mi vida a lo largo de la carrera.

## RESUMEN

El potencial bioactivo de los metabolitos secundarios extraídos de los cianoprocariontes ha incrementado las investigaciones con el fin de encontrar nuevas fórmulas para elaborar productos naturales y poder suprimir la aplicación de herbicidas y pesticidas que dañan la salud humana y contaminan el ambiente. Este trabajo forma parte del proyecto (316016) intitulado “Evaluación de un herbicida a partir de cianobacterias (aleloquímicos) como alternativa de control y manejo de arvenses”. Cuyo objetivo fue caracterizar morfológica y molecularmente el material biológico correspondiente a cianoprocariontes filamentosos homocitados aislados de diferentes localidades de la Faja Volcánica Transmexicana (FVTM) para usar, en un futuro, sus compuestos aleloquímicos para actividades agrícolas. Se obtuvieron cuatro cepas de cianoprocariontes de diferentes localidades: *Letolyngbya laminosa*, *Microcoleus amoenum*, *Laspinema thermale* y *Ramsaria avicennae*. Para los aislamientos se utilizó el medio BG11 con 0.1 µg de ciclohexamida. Para delimitar los caracteres morfológicos se apoyó en microscopía óptica, mientras las secuencias del gen 16r RNA (750pb) obtenidas se utilizaron para el análisis *in silico* y analizados por Máxima Verosimilitud. Los alineamientos se realizaron usando BioEdit. Toda la información obtenida, permitió sumar los caracteres morfológicos, ecológicos y moleculares para determinar los taxones estudiados. Asimismo, basados en los resultados, *L. thermale* y *R. avicennae* representan dos nuevos registros para el país; ambas especies de ambientes extremos.

Palabras clave: cianoprocarionte, caracterización morfológica, evaluación molecular, gen 16S, ambientes extremos

# INTRODUCCIÓN

## Generalidades

Los Cianoprocariontes, también conocidos como cianobacterias, son organismos procariontes cuyo origen son las eubacterias (Komárek & Kaštovsky, 2003), los cuales presentan características básicas de una bacteria como pared Gram-negativa, ausencia de membrana nuclear y organelos de doble membrana, además que se reproducen de forma asexual (Castenholz *et al.*, 2001). Sin embargo, los cianoprocariontes se diferencian por la capacidad de realizar la fotosíntesis oxigénica a través de mecanismos y estructuras como los tilacoides, clorofila *a* y otros pigmentos como la *c*-ficocianina, *c*-ficoeritrina, *c*-ficoeritrocianina y alloficocianina. Además, son los únicos organismos oxifototróficos que contienen genes-Nif, así como mecanismos y adaptaciones para la fijación de nitrógeno (Komárek, 2006; Stadnichuk *et al.*, 2015; Pagels *et al.*, 2019).

A partir del registro fósil, se estima que los cianoprocariontes datan del precámbrico temprano, hace más de 2,500 millones de años, colocándolos como los organismos oxifototróficos más longevos y el principal responsable de la oxigenación del planeta, evento conocido como la “Gran Oxigenación” que data de 2450-2320Ma (Knoll, 2003). Debido a su larga historia evolutiva junto a su capacidad de adaptarse a diferentes condiciones ambientales, incluyendo los hábitats más extremos del planeta, los cianoprocariontes se han considerado como uno de los filos más diversos y ampliamente distribuidos en el planeta (Dvořák *et al.*, 2015; Mishra *et al.*, 2019).

La organización celular, va desde unicelulares, filamentosas, así como formar colonias con diferente grado de organización (Anagnostidis & Komárek, 1985, 1990). Algunas pueden desarrollar células especializadas como los heterocitos (diazocitos en *Trichodesmium*) cuya función es la fijación de nitrógeno atmosférico; y los acinetos, para la reproducción o resistir condiciones adversas. A los cianoprocariontes que forman heterocitos se les denomina heterocitadas, y aquellas que no tienen capacidad de producirlo se llaman homocitadas (Sandh *et al.*, 2012; Fernández-Carrera, 2013).

Según Komárek (2016), el concepto de especie en cianoprocariontes se circunscribe a un grupo de poblaciones, de las cuales se obtienen cepas, que pertenecen a un mismo genotipo, que se caracterizan por un fenotipo estabilizado con rasgos característicos (definibles y reconocibles con distinguidos límites de variación) y con las mismas demandas ecológicas; deben ocurrir repetidamente, en el tiempo, en varias localidades con las mismas condiciones ecológicas.

## Taxonomía de cianoprocariontes

Los cianoprocariontes fotosintéticos son los únicos organismos procariontes que pueden ser clasificados bajo dos esquemas. El primero, considera el código botánico (Código Internacional de Nomenclatura para Algas, Hongos y Plantas (ICN), antes ICBN) (Turland *et al.*, 2018) y el segundo, el código bacteriológico

(Código Internacional de Nomenclatura de Procariotas (ICNP), antes ICNB) (Parker *et al.*, 2019). Ambos esquemas son diferentes y tienen sus propias reglas de clasificación y validación taxonómica que se basan en caracteres morfológicos, ecológicos, fisiológicos y genéticos para la descripción de estos organismos (Oren, 2011; Oren & Ventura, 2017; Willis & Woodhouse, 2020).

Convencionalmente, la taxonomía tradicional de los cianoprocariontes se basaba principalmente en caracteres morfológicos y ecológicos, sin embargo, debido a falta de apomorfías claras, se dificulta la correcta identificación. Por esta razón, el enfoque polifásico suma métodos moleculares y filogenéticos basados en secuencias de 16S, ITS y ultraestructura celular, junto a caracteres morfológicos, ecológicos y fisiológicos, para determinar taxonómicamente con mayor precisión poblaciones silvestres y cultivadas (Hoffman *et al.*, 2005; Mareš, 2018; Komárek, 2020).

Para la evaluación de la diversidad, Komárek (2006) sugirió seis enfoques tradicionales y moleculares que deberían ser usados: 1) Análisis moleculares, principalmente aquellos concernientes a las relaciones filogenéticas, diversidad de genotipos, procesos de diversificación y especiación; 2) Diversidad morfológica incluyendo variación natural y en cultivo; 3) Límites ecológicos, ecofisiológico y biogeográfico; 4) Estudios ultraestructurales; 5) Caracteres bioquímicos e información sobre procesos metabólicos (producción de metabolitos secundarios, procesos de adaptación, entre otros; 6) Correcta designación formal de taxones que respete las reglas de nomenclatura bacteriológica y botánica. Siendo obligatorios el primer, tercer y sexto enfoque para el reconocimiento de nuevas especies de cianoprocariontes.

La gran cantidad de estudios que han aplicado este enfoque polifásico han permitido analizar y reestructurar las clasificaciones supraespecíficas, así como el hallazgo de nuevos taxones basados exclusivamente en su posición en el árbol filogenético (Komárek, 2006; 2010; Komárek & Kaštovský, 2003; Komárek *et al.*, 2014; Komárek, 2020).

A partir del análisis molecular en el gen 16S de 133 genomas de *Synechococcus*, Komárek *et al.* (2020) revelaron la polifilia y diversidad filogenética de tales cianoprocariontes, lo que resultó en el establecimiento del orden *Thermostichales*, la familia *Thermostichaceae* y el género *Thermostichus*. Asimismo, causó cambios dentro del ordenes *Chroococcales*, *Pseudoanabinales* y *Synechococcales* donde se ubican las familias *Aphanothecaceae*, *Thermosynechococcaceae* y *Prochlorococcaceae*. Por lo cual, actualmente se reconocen 12 órdenes (Fig. 1) para la clase *Cyanophyceae* (Guiry & Guiry, 2022).



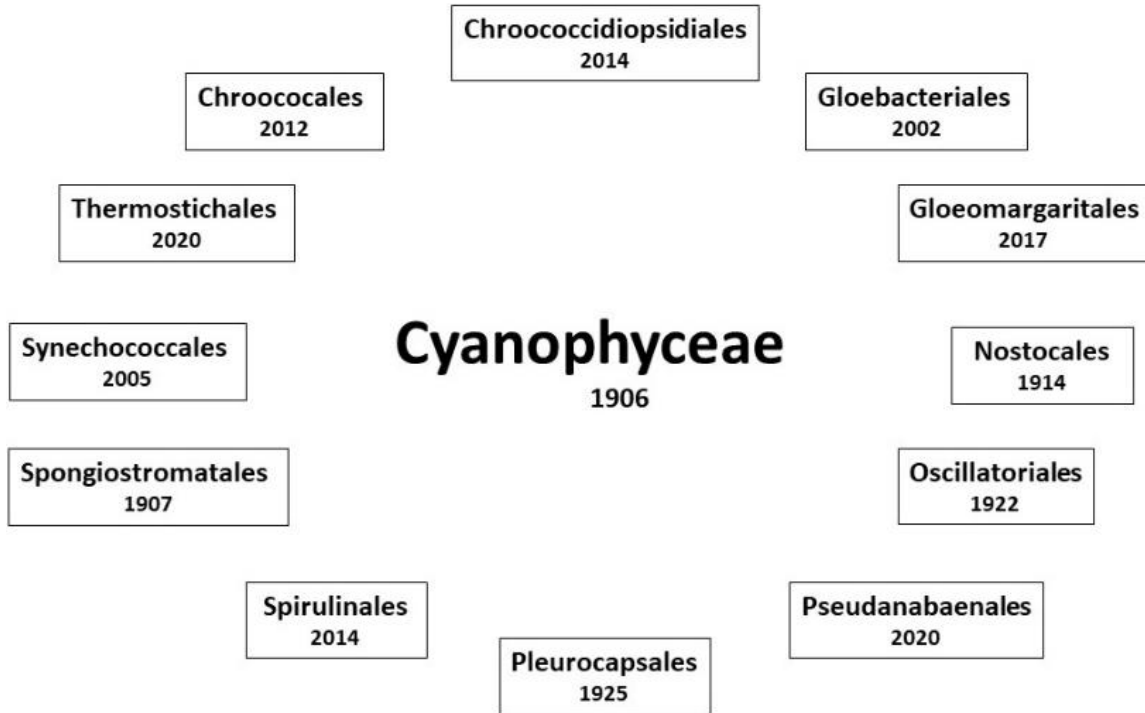


Figura 1. Esquema de clasificación de la Clase Cyanophyceae, rodeada por 12 órdenes establecidos, abajo el año que se realizó la última actualización taxonómica correspondiente (Guiry & Guiry, 2022).

Basados en los avances de numerosas investigaciones polifásicas del complejo *Lyngbya*, *Leptolyngbya*, *Oscillatoria* y *Phormidium*; géneros que se reconoce que, cada uno posee varios criptogéneros (linajes que no pueden ser distinguidos por su morfología y ecología, solamente se observan a través de marcadores moleculares) (Komárek *et al.*, 2014; Komárek, 2016; Cairns *et al.*, 2018). Esto ha generado la reubicación y modificación taxonómica con base en el análisis filogenético del 16S dentro del orden Oscillatoriales, tal como en las familias Cyanothecaceae, Coleofasciculaceae (Komárek *et al.*, 2014), Microcoleaceae (Strunecky *et al.*, 2013) y Sirenicapillariaceae (Berthold *et al.*, 2022) donde incluyen siete géneros: *Affixifilum*, *Capilliphycus*, *Limnoraphis*, *Limnospora*, *Neolyngbya*, *Sirenicapillaria* y *Tigrinifilum*. Así como la creación de nuevas familias, como: Desertifilaceae (Hasler *et al.*, 2017), Laspinemataceae (Zimba *et al.*, 2020) que incluye dos géneros: *Perforafilum* y *Laspinema* (Heidari *et al.*, 2018) y Vermifilaceae (Berthold *et al.*, 2020). Información que actualmente registra 15 familias para el orden Oscillatoriales (Fig. 2).

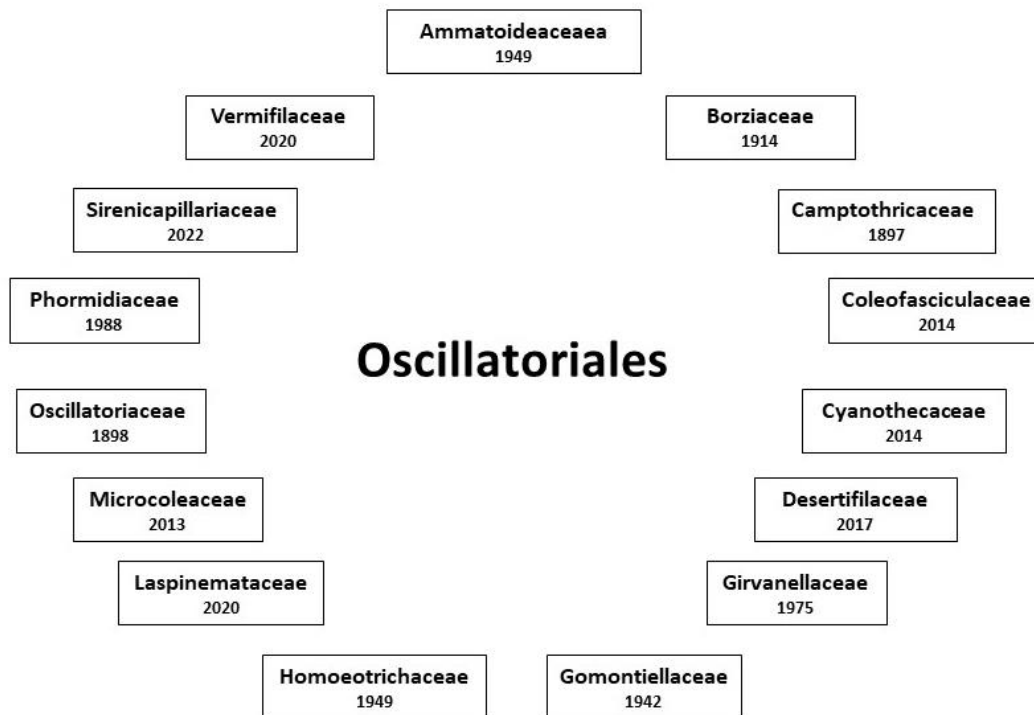


Figura 2. Familias que componen el orden Oscillatoriales, las familias Laspinemataceae y Sirenicapillariaceae corresponden a nuevas jerarquías basadas en material obtenido de Irán (Guiry & Guiry, 2022).

A pesar de estos avances, aún hay numerosas cepas similares que todavía se determinan como *Leptolyngbya*, *Lyngbya*, *Oscillatoria* o *Phormidium* en función de las filogenias del ARNr 16S, incluso si están lejanamente relacionadas con el clado de la especie tipo. Por tanto, hace falta seguir documentando las características ultraestructurales y ecológicas, además de los datos moleculares, para evitar subestimar los *taxa* crípticos (Komárek & Anagnostidis, 2005).

Actualmente, en el mundo, se han descrito 2,196 *taxa* de cianoprocariontes con un total de 439 géneros válidos y cerca de 4,616 genomas completos o en proceso, disponibles en la GenBank® (Hauer & Komárek, 2022). Sin embargo, se estima que la riqueza específica seguirá en aumento, particularmente porque en los ambientes tropicales y extremófilos, han sido poco investigados o desconocidos (León-Tejera *et al.*, 2009; Nabout *et al.*, 2013).

### **Biodiversidad e Importancia**

La participación de los cianoprocariontes a nivel ecológico es de suma importancia ya que contribuyen en la producción primaria en diferentes ambientes, participando en los ciclos del carbono, nitrógeno, oxígeno y en la producción de metano (Rippka *et al.*, 1979; Tomitani *et al.*, 2006; Bižić *et al.*, 2020).

También se conocen de algunas cianoprocariontes capaces de producir compuestos bioactivos con características tóxicas (cianotoxinas) tales como: microcistina, anatoxina, cilindrospermopsina, nodularina y saxitoxina, representando un potencial riesgo para los organismos acuáticos y la salud humana, debido a su capacidad de proliferar y formar florecimientos algales nocivos (Blooms). Este fenómeno ha provocado el estudio, monitoreo y desarrollo de estrategias para su mitigación por considerarse una contingencia ambiental cuando se desarrollan en sistemas acuáticos que abastecen de agua potable, zonas de pesca o zonas recreativas y turísticas (Cronberg *et al.*, 2003; Cronberg & Dotter, 2006; Van Apeldoorn *et al.*, 2007; Demay *et al.*, 2021). Por el contrario, otros compuestos químicos como: alcaloides, depsipeptidos, lipopéptidos, macrólidos, péptidos, terpenos, polisacáridos, lípidos, poliquelidos, fenoles, esteroides y vitaminas, se han considerado para su uso y aplicación en cosmetología, farmacología, agricultura, alimentación, entre otros (Guihéneuf *et al.*, 2016; Mazard *et al.*, 2016).

### Usos y aplicaciones

Demay *et al.* (2019) realizaron una revisión exhaustiva del uso de los productos naturales de los cianoprocariontes donde 90 géneros, principalmente de Oscillatoriales y Nostocales, destacan por su uso potencial y aplicaciones de los metabolitos secundarios. En total señalan 14 clases de bioactividades y 260 familias de metabolitos atribuidos a cianoprocariontes de diferentes niveles taxonómicos. Las bioactividades descritas son: letalidad en invertebrados, neurotoxicidad, hepatotoxicidad, toxicidad dermal, citotoxicidad, actividad antiinflamatoria y antioxidante, antifúngica, antiviral, anti algal, anti-protozoos e inhibición enzimática (Singh *et al.*, 2017).

Por su parte, Tsolcha *et al.* (2017) desarrollaron en UK, exitosamente un cultivo mixto de *Leptolyngbya*, *Ochromonas* y *Poterioochromonas* para tratar aguas residuales de la industria de la vid, centrándose en el crecimiento celular y la producción simultánea de lípidos, evaluando la influencia de diferentes concentraciones iniciales de contaminantes. Sugiriendo la posible aplicación efectiva de este cultivo en el tratamiento integrado de aguas residuales y la producción de biodiesel. Asimismo, Zada *et al.* (2018) revelaron que la síntesis biogénica de nanopartículas de plata (AgNP) a partir de extractos de *Leptolyngbya*, provenientes de China, (Synechococcales, fam. Leptolyngbyaceae) y poseen una fuerte actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, así como la capacidad de inducir la apoptosis en la línea de células cancerosas (HeLa).

Brenes-Guillén *et al.* (2019) demostraron el potencial de *Leptolyngbya*, extraída de aguas termales de Costa Rica, para eliminar los herbicidas Paraquat y Bromacil de la solución acuosa en condiciones de laboratorio. Proponiendo a *Leptolyngbya*, como una opción biológica adecuada para desarrollar estrategias de biorremediación de bajo costo y para la desintoxicación de herbicidas en campos agrícolas.

Gara-Ali *et al.* (2021) investigaron la composición química de los extractos lipofílicos de *Leptolyngbya* sp. aislada de una fuente geotérmica de Túnez, África, donde se obtuvo una alta abundancia de ácido pamitoleico, diterpenos (neofitadieno, fitol), alcanos/alquenos (pentacosano, heptacosano), esteroides ( $\gamma$ -sitosterol) y terpenos (limoneno), los cuales mostraron potencial para el desarrollo de complementos alimenticios naturales y agentes antiproliferativos contra cáncer de ovario y colon.

## ANTECEDENTES

En la agricultura, el desarrollo de herbicidas orgánicos a partir de los metabolitos secundarios extraídos de cianoprocariontes ha tomado lugar como alternativa a los herbicidas químicos, como el glifosato, cuyo uso excesivo y persistente ha dado lugar a varios casos de resistencia al herbicida, así como causan de efectos negativos en la salud humana debido a la exposición directa o indirecta a estos herbicidas (Lee *et al.*, 2015; Daniel *et al.*, 2018; Van Bruggen *et al.*, 2018; Adetunji *et al.*, 2019).

La capacidad para actuar sobre la germinación de semillas o para inhibir o retardar el crecimiento de malezas u otros organismos autótrofos se define como potencial alelopático o fitotóxico, el cual altera los procesos de la fotosíntesis y la respiración, particularmente relacionados con la inhibición de las actividades enzimáticas (Soltys *et al.*, 2013; Iqbal *et al.*, 2020). En el caso de los cianoprocariontes, principalmente dulceacuícolas, su actividad alelopática incluye particularmente a otras protistas fotosintéticas y plantas acuáticas, al competir por los nutrientes y la luz, limitando el crecimiento de ellos en los ecosistemas (Berry *et al.*, 2008).

A finales del siglo XX, investigaciones con cepas de los géneros *Fischerella*, *Nostoc*, *Calothrix* y *Anabaena* mostraron capacidad alelopática al detener la fotosíntesis de otras algas verdes (Schlegel *et al.*, 1998). A partir del metabolito secundario, cianobacterina, extraída de *Scytonema hofmanni*, mostró de igual forma inhibir el crecimiento de algas verdes y otras cianoprocariontes como *Synechococcus*, modificando la acción del fotosistema II (Gleason & Paulson, 1984; Gleason & Case, 1986). A partir de extractos etanólicos de *Lyngbya aestuarii* mostraron que inhibe fuertemente el crecimiento de la planta acuática *Lemna minor* (Entzeroth *et al.*, 1985).

En gran parte, el mecanismo de alelopatía es la inhibición del transporte de electrones del fotosistema II, tal como lo demostraron Flores & Wolk (1986) utilizando nostocyclamida en *Ankistrodesmus*, *Scenedesmus obliquus* y *S. subspicatus*, así como con rotíferos y crustáceos. También, Vepritskiĭ *et al.* (1991) y Gromov *et al.* (1991) utilizaron cianobacterina LU-1 y LU-2 extraída de *Nostoc linckia*, contra otras cianobacterias y algas. Hagmann & Jüttner (1996) mostraron que fischerelina A presenta una fuerte inhibición contra *Anabaena*, *Synechococcus*, en algas verdes como *Scenedesmus obliquus*, *S. subspicatus*; en el crecimiento de la lenteja de agua (*Lemna minor*), y de algunos hongos acuáticos e imperfectos, como roya del frijol (*Uromyces appendiculatus*), tizón del trigo (*Erysiphe graminis*), tizón tardío en tomate (*Phytophthora infestans*) y tizón del arroz (*Pyricularia oryzae*).

Asimismo, Pflugmacher (2002) demostró que la microcistina LR inhibe el crecimiento de varias plantas acuáticas como *Ceratophyllum*, *Myriophyllum* y *Elodea*, afectando la producción de oxígeno fotosintético. Hirata *et al.* (2003) señalaron que, a partir de la nostocina A, extraída de *Nostoc spongiaforme* exhibió actividad inhibitoria para el crecimiento de cianobacterias, algas verdes, inhibición en el alargamiento de las raíces de *Echinochloa crusgalli*, actividad anti-alimentaria para el gusano de bola de algodón (*Heliothis armigera*) y toxicidad aguda para los ratones, lo que generó su clasificación como un veneno peligroso. Por otra parte, Brilisauer *et al.* (2019) reconocieron 7-deoxy-sedoheptulosa extraída de *Synechococcus elongatus* para inhibir el crecimiento de especies de cianobacterias, así como de *Saccharomyces* sp. y *Arabidopsis* sp.

El conocimiento de la gama de usos de los cianoprocariontes permite indicar que se requieren más investigaciones aplicadas en México para la búsqueda de nuevas fórmulas para elaborar productos naturales y poder suprimir la aplicación de herbicidas y pesticidas que dañan la salud humana y contaminan el ambiente (López Obrador, 2021).

## **JUSTIFICACIÓN**

El reconocimiento de la biodiversidad de cianoprocariontes de una región con alta riqueza de recursos naturales, como es México, resulta esencial para llegar a explorar el campo de su uso biotecnológico. Es por ello cada vez más importante contar con un cepario que apoye diferentes líneas de investigación. En particular, se inicia este trabajo a través del proyecto (316016), “Evaluación de un herbicida a partir de cianobacterias (aleloquímicos) como alternativa de control y manejo de arvenses”, apoyado por la convocatoria: Desarrollo de innovaciones tecnológicas para una agricultura mexicana libre de agroinsumos tóxicos “Programas Nacionales Estratégicos de Ciencia, Tecnología y Vinculación con los Sectores Social, Público y Privado”. Donde se busca delimitar la morfología y algunos caracteres moleculares de cepas de cianoprocariontes homocitadas nativas de México para validar la identidad taxonómica del material biológico que serán usados en futuras aplicaciones agrícolas.

## **OBJETIVO GENERAL**

Caracterizar morfológica y molecularmente cianoprocariontes homocitadas aisladas de diferentes localidades de la Faja Volcánica Transmexicana (FVTM) para usar, en un futuro, sus compuestos aleloquímicos para actividades agrícolas.

### **Objetivos particulares**

Aislar cepas de cianoprocariontes homocitadas para su cultivo monoespecífico recolectadas en el Bosque La Primavera, Jalisco y en el Río San Juan, Teotihuacan, que permitan aumentar el cepario de la FES Iztacala, UNAM.

Describir morfológicamente bajo el concepto de especie, el material biológico de estudio a través de microscopía de luz (ML).

Analizar las cepas estudiadas a partir de las secuencias de la región 16S, con base en el concepto de especie filogenética.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Área de Estudio.** La Faja Volcánica Transmexicana (FVT), es un conjunto de cordilleras de volcanes alineados sobre una franja que cruza el territorio mexicano de oeste a este, desde Cabo Corrientes, Nayarit hasta la sierra Chinconquiaco, Veracruz (Fig. 3). Esta unidad se reconoce como centro de diversificación, endemismo y transición biogeográfica para una gran variedad de taxones. Además, existe un gran número de zonas geotérmicas que están relacionadas con alguna actividad volcánica, donde el conocimiento de la biota que habita en estos ambientes es escaso (Ferrusquía–Villafranca, 2007; Gámez *et al.*, 2012; Suárez-Mota *et al.*, 2013).

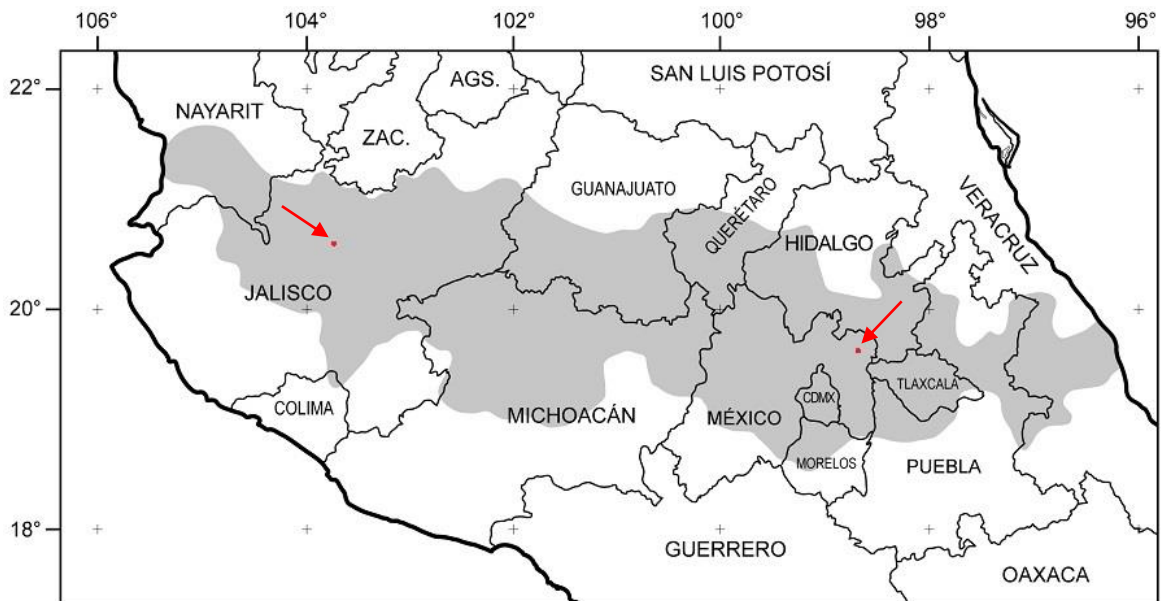


Figura 3. Mapa Faja Volcánica Transmexicana extraído de Rzedowski, J. (2020). Áreas de estudio señaldas con una flecha.

**Recolecta de cepas de interés.** Se realizaron recolectas durante el mes de octubre, 2021 en: Río San Juan, Teotihuacán, Estado de México (19°41'2"N, 98°50'29"O) y Río Caliente, Bosque de la Primavera, Jalisco (20° 40'49" N, 103° 34'43" O). En ambos sitios se registraron: temperatura, pH, conductividad y luminosidad, para la temperatura del agua se utilizó un termómetro marca Brannan, el pH se midió con un potenciómetro marca Cole-Parmer®, modelo Digi-sense, la conductividad con conductímetro marca Hanna® y la cantidad de luz con un luxómetro digital LX-1010B, marca Tondaj®.

Las dos muestras de interés fueron colocadas en tubos estériles con medio BG-11c sólido y líquido. El proceso de aislamiento fue escalado hasta obtener un cultivo monoespecífico (Rippka *et al.*, 1979). Además, se cultivaron cianoprocariontes homocitadas pertenecientes al cepario de la FES Iztacala, UNAM, provenientes de los Hervores, Teuchitlán (Jalisco), hasta obtener una cepa monoespecífica.

**Aislamiento y cultivo.** Se realizaron cultivos por lote de cada especie, para los cultivos en medio líquido a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ . Se inició con frascos de 125 ml con 50 ml de medio BG-11c, pasando a frascos de 250 ml con 150 ml de medio, 500 ml con 250 ml de medio hasta frascos de 1 litro con 700 ml de medio BG11c. Cada escala fue durante dos semanas bajo iluminación a  $85 \mu\text{E}$ . Los cultivos por lotes se inocularon con pre-cultivos stock con una OD750 (Singh *et al.*, 2011). Para los cultivos en medio sólido, se realizaron en placa y en tubo con agar al 2% con medio BG11c. Se continuó hasta tener un cultivo puro. En algunos casos se agregó  $0.1 \mu\text{g}$  de ciclohexamida para evitar el crecimiento de organismos eucariontes en los cultivos (Rout *et al.*, 2013).

**Determinación taxonómica.** El material biológico fue revisado bajo un microscopio óptico marca Leica® con cámara incorporada de 10 megapíxeles. Para destacar la vaina de los filamentos se utilizó Azul de Cresil (Kumar & Sing, 1979). Para la determinación a partir de los caracteres morfológicos se consultaron las obras de Anagnostidis & Komárek (1985, 1988), Komárek & Anagnostidis (2005), Komárek (2018), Komárek *et al.* (2014), Heidari *et al.* (2018), entre otras fuentes especializadas.

**Extracción y aislamiento de ADN.** Para la extracción de ADN se utilizó el kit “GenElute Plant Genomic DNA Miniprep”, marca Sigma-Aldrich®, siguiendo el protocolo del fabricante (anexo 1). Con un espectrofotómetro NanoDrop™ ONE se verificó la concentración de ácidos nucleicos y pureza de la extracción del ADN.

**Amplificación de 16rRNA.** La identificación molecular se realizó según los protocolos de Hrouzek *et al.* (2013) y Rout *et al.* (2015). Para amplificar el gen 16S rRNA de las cepas de cianoprocariontes, se utilizaron los cebadores (Primers), 27F1 (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') y 809R (5'-GCTTCGGCACGGCTCGGGTTCGATA-3') propuestos por Saker *et al.* (2005).

Para la amplificación del gen, el PCR se realizó en un volumen de reacción de 20  $\mu\text{l}$ , con 20ng de ADN genómico (Neilan *et al.*, 1995), utilizando un termociclador automático programado con un precalentamiento durante 4 min a  $94^\circ\text{C}$ , seguido de 35 ciclos de 30 seg a  $94^\circ\text{C}$ , 30 seg a  $55^\circ\text{C}$  y 30 seg a  $72^\circ\text{C}$ , una extensión final de 7 min a  $72^\circ\text{C}$  antes de mantener a  $4^\circ\text{C}$  indefinidamente. Todos los productos de PCR fueron visualizados por electroforesis, a 70 volts durante 40 min., en gel de agarosa 1% (p/v), usando buffer TBE al 1X.

Los productos de PCR se amplificaron con la enzima AccuPower® PCR PreMix, marca Bioneer® para los genes específicos 16S rRNA con 750 pb. Los productos de PCR se purificaron a través del GenElute™ Gel Extraction Kit, marca Sigma-

Aldrich® (anexo 2). Los productos purificados se secuenciaron usando los mismos cebadores, directo y reverso, utilizados en la amplificación de PCR. Las muestras de cada cepa fueron secuenciadas por duplicado en las instalaciones del CINVESTAV, Irapuato.

**Análisis *in silico* de secuencias.** El montaje y edición de las secuencias se realizaron usando el programa BioEdit (anexo 3). La base de datos para el análisis filogenético se compuso por secuencias parciales de la región 16S ARNr, identificadas por el programa BLAST®, donde se excluyeron cepas de secuencia recurrente y no cultivadas.

Usando el programa Mega11 se alinearon las secuencias mediante ClustalW (anexo 4) y se construyeron los árboles filogenéticos por medio del análisis de máxima verosimilitud, el cual fue probado usando 100 réplicas bootstrap y el modelo Tamura & Nei (Tamura & Nei, 1993; Tamura *et al.*, 2021).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A partir de las claves taxonómicas y la identificación molecular (Fig. 4) sobre las cepas recolectadas y del herbario de la FES Iztacala, se determinaron cuatro morfotipos de cianoprocariontes homocitados: *Leptolyngbya laminosa*, perteneciente al orden Synechococcales y *Microcoleus amoenum*, *Laspinema thermale* (\*) y *Ramsaria avicennae* (\*), pertenecientes al orden Oscillatoriales (Tabla 1). De ellas con base en Oliva & Garduño (2017) y Novelo & Tavera (2011, 2022) se indican dos nuevos registros (\*) para el país, lo cual incrementa el conocimiento de la flora ficológica para México.

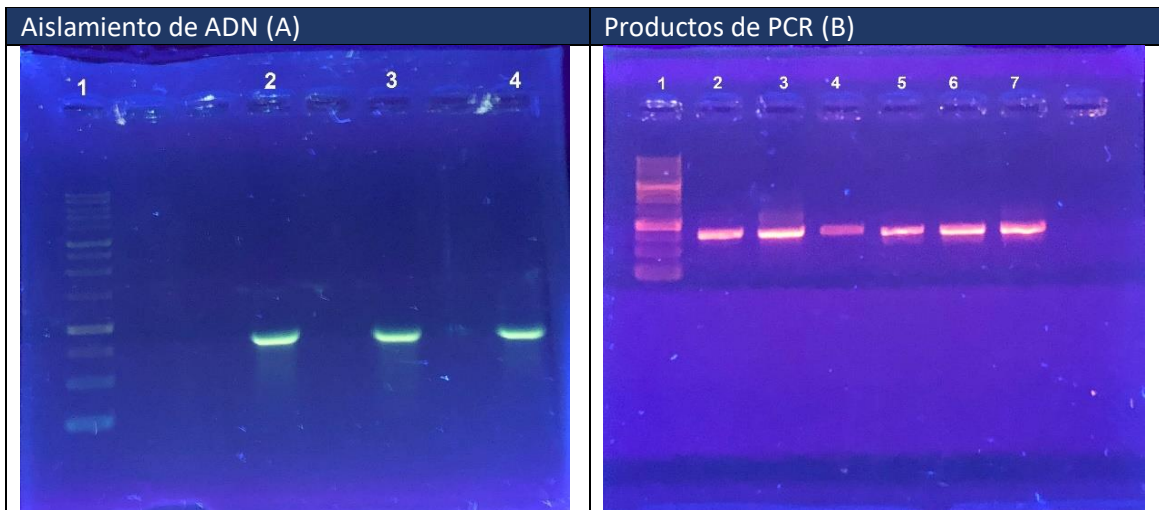


Figura 4. **Aislamiento de ADN (A):** 1- Marcador molecular, 2- POIzta 4.1, 3- OsR-01-Te, 4- F59. **Productos de PCR (B):** 1- Marcador molecular, 2- POIzta 6, 3- Glo-01-Ver, 4- *Calothrix*, 5- POIzta, 4.1, 6- OsR-01-Te, 7- F59.



Tabla 1. Condiciones ambientales de los sitios de recolecta de los materiales biológicos aislados (gris) y material biológico del cepario de la FES Iztacala, UNAM (naranja).

Especie	Código	Localidad	Temp. Agua °C	Temp. Ambiental °C	pH	Cond. ( $\mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$ )	Lum. (lux)
<i>Leptolyngbya laminosa</i>	POIzta 4.1	Río Caliente, Bosque de la Primavera, Chapala, Jal.	50	38	8.4	1440	900
<i>Microcoleus amoenum</i>	OsR-01-Te	Río San Juan, Teotihuacán, Edo Mex.	22.9	28	7.2	990	788
<i>Laspinema thermale</i>	F23*	Los Hervores, Teuchitlán, Jal.	60	35	-	-	-
<i>Ramsaria avicennae</i>	F59*	Los Hervores, Teuchitlán, Jal.	65	33	-	-	-

Para este trabajo fue fundamental el apoyo de los marcadores moleculares para delimitar los géneros y especies de las cianoprocariontes homocitadas estudiadas. Tal y como ha sido mencionado por varios especialistas, entre ellos Komárek (2006, 2018) quien además ha indicado que el número de caracteres morfológicos aplicados a la identificación de cianoprocariontes es, en muchos casos ambiguo, donde los fenotipos son dependientes de las condiciones ambientales, causando confusión y como resultado, una mala determinación. Con el uso y aplicación de métodos moleculares aunado a los caracteres morfológicos y ecológicos, es decir con un enfoque polifásico, han permitido identificar claramente algunas especies de cianoprocariontes.

A continuación, se indican los nombres de las especies determinadas junto a la descripción morfológica, la localidad y condiciones ambientales de la población estudiada, el código del cultivo y las microfotografías que apoyan la información. También, se añade el árbol filogenético con base en el análisis del 16S que se realizó para su determinación molecular.

***Leptolyngbya laminosa*** (Gomont)  
Anagnostidis & Komárek, 1988

**Clasificación:** Orden: Synechococcales, Familia: Leptolyngbyaceae

**Descripción:** Filamentos de textura gelatinosa y color verde esmeralda. En cultivo, forman fascículos alargados hasta de 2 cm de largo. Son bentónicas que forman tapetes sobre rocas cercanas al margen del río con filamentos rectos o curvos con arreglo irregular, densamente enredados. Células siempre más largas que anchas, 1.2-1.3  $\mu\text{m}$  x 2.6-3.0  $\mu\text{m}$  (n=20), con célula apical redondeada, sin caliptra. Vaina delgada, firme y hialina, con proyección en punta, 0.2-0.5  $\mu\text{m}$  de ancho. Tricomas rectos o flexuosos sin aerótopos, no constreñido en la pared transversal. No presentan heterocistos, ni acinetos (Fig. 5).

**Localidad:** Río Caliente, Bosque de La Primavera, Jalisco. Coordenadas: 20° 40' 48" LN, 103° 34' 41" LO.

**Fecha de colecta:** 7-octubre-2021; Colector. Oswaldo A. Rivero Morales.

**Condiciones ambientales:** pH= 8.4, temperatura del agua 50°C, temperatura ambiental 38°C, conductividad 1440  $\mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$ , intensidad de luz directa 900 lux.

**Cultivo:** código POIzta 4.1, Medio BG11c. Crecimiento óptimo en agitación constante.

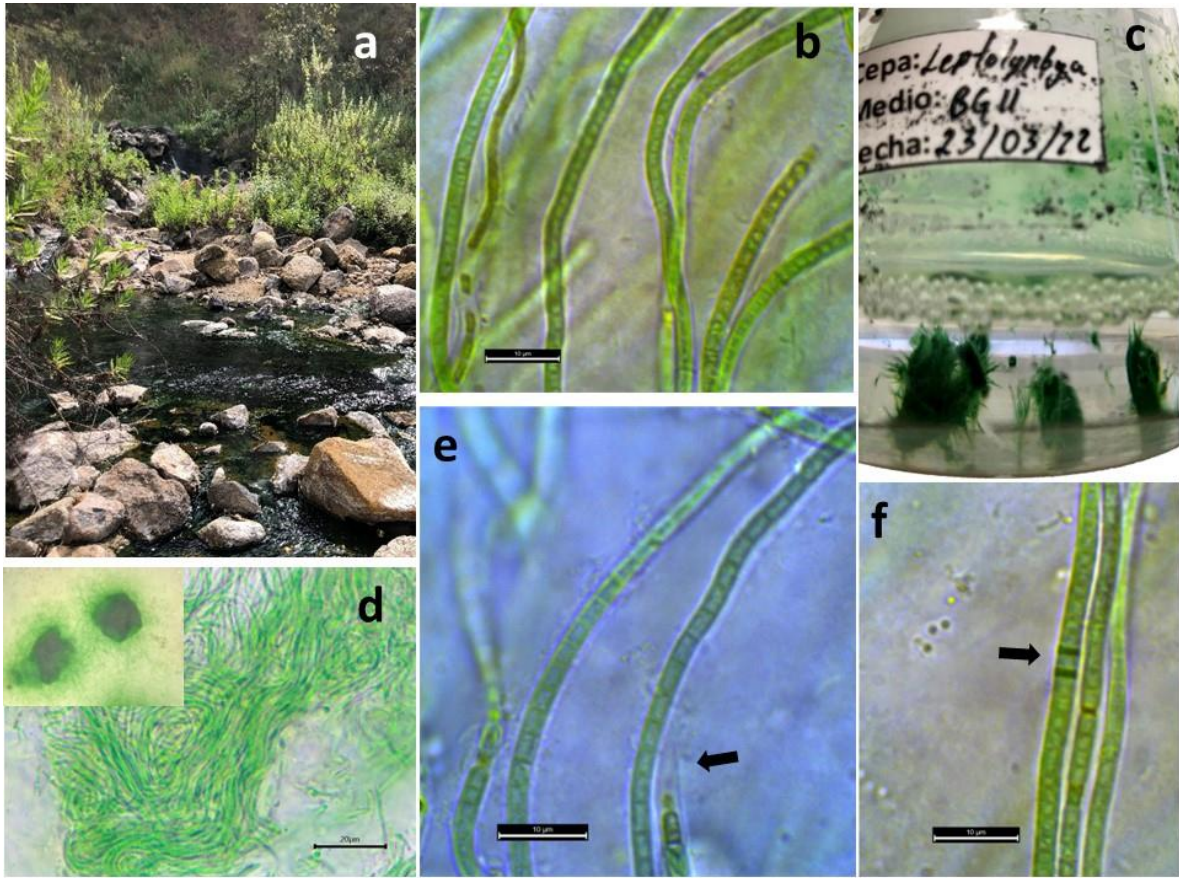


Figura 5. a) Aspecto general de la zona de recolecta, Río Caliente, Jalisco; b) Tricoma con vaina incolora; c) fascículos en cultivo medio BG11c; d) *Leptolyngbya laminosa*, filamentos con arreglo irregular, rectos y curvos; e) Célula terminal redondeada, proyección en punta de la vaina (flecha); f) necridios (flecha). Barra= 10 µm.

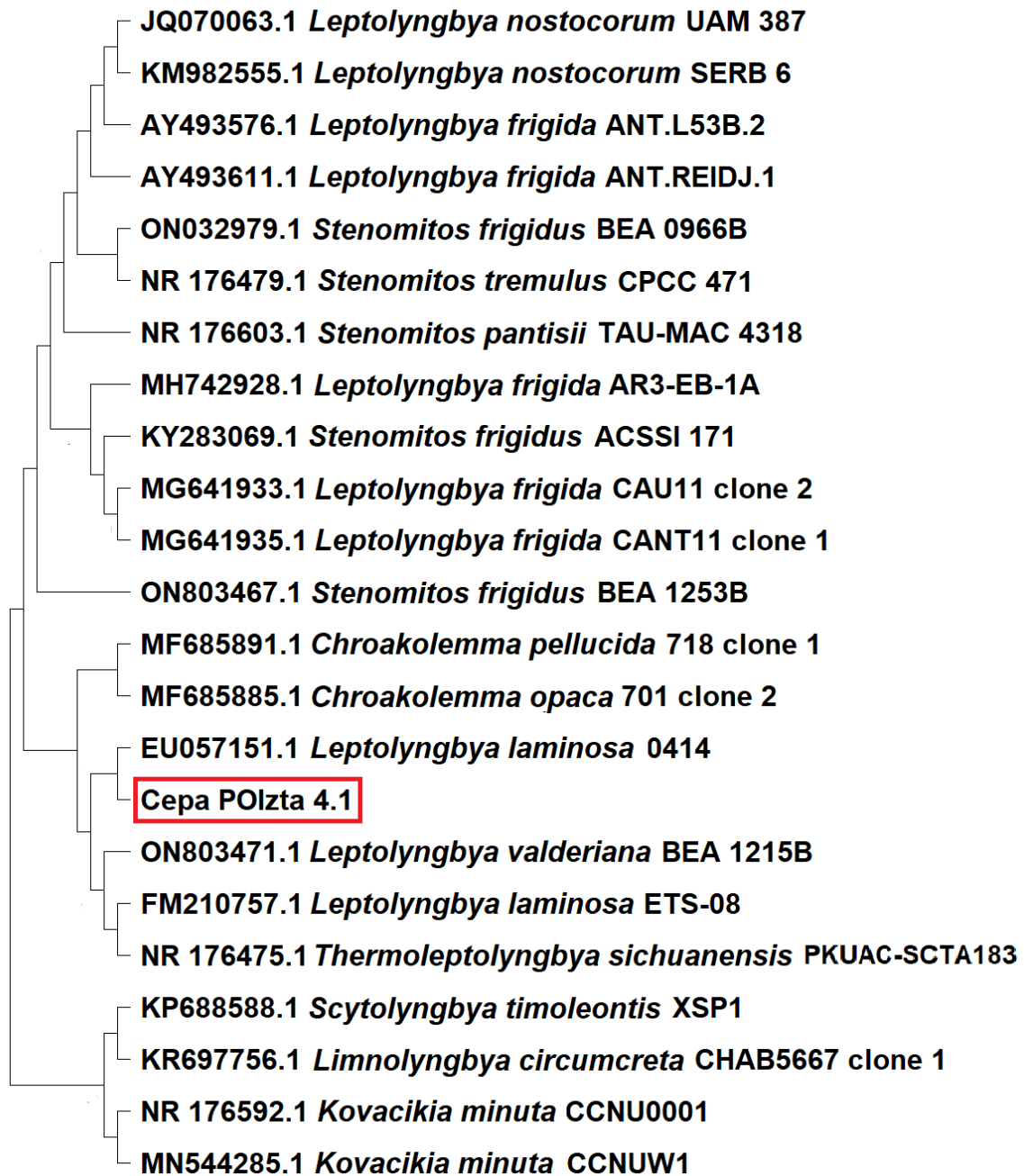


Figura 6. Árbol filogenético compuesto por secuencias parciales de la región 16S rRNA identificadas por el programa BLAST, que incluye cepas del género *Leptolyngbya*. Se alinearon las secuencias mediante ClustalW y se construyó árbol, usando el análisis de Máxima Verosimilitud, con 100 réplicas bootstrap y el modelo Tamura-Nei. Los análisis evolutivos se realizaron con el programa MEGA11 (Tamura & Nei, 1993; Tamura *et al.*, 2021). En el cuadro rojo se indica la cepa recolectada en el Río Caliente, Bosque la Primavera, formando un cluster con *Leptolyngbya laminosa* 0414, con una homología del 96.17%.

**Aspectos taxonómicos de *Leptolyngbya laminosa*.** A partir de las claves taxonómicas de Komárek & Anagnostidis (2005) y de Sant'Anna *et al.* (2017), la cepa POIzta 4.1 se identificó dentro del género *Leptolyngbya*, grupo VIII (especies de hábitats minerales y termales, con células visiblemente más largas que anchas), donde inicialmente fue determinado como *L. thermalis*. Sin embargo, la descripción morfológica no coincide a la de este estudio, debido a que esta especie se presenta como filamentos solitarios, rectos, ligeramente curvos y con un gránulo único en el tricoma característico en la especie.

En el análisis molecular, la cepa POIzta 4.1 formó un cluster directo con *L. laminosa*, con una homología del 96.17% (Fig. 6). A partir de la descripción de la especie realizada por Anagnostidis & Komárek (1988), se confirma su identidad taxonómica, al coincidir morfológica y ecológicamente, tratándose de una especie cosmopolita, comúnmente de ambientes termales, asociado con *Mastigocladus laminosus*.

Zaragoza-Rotstein (2002) investigó el primer listado ficoflorístico de Río Caliente, donde 29 especies morfológicas de cianoprocariontes, pertenecientes a 13 géneros, aunque no registró el género *Leptolyngbya*. Por tanto, según la consulta de base de datos de algas continentales de Novelo & Tavera (2022) se indica que *L. laminosa* representa el primer material biológico determinado molecularmente del área de estudio, así como el primer registro para la localidad y Jalisco.

***Microcoleus amoenum*** (Gomont) Strunecky,  
Komárek & J.R. Johansen, 2013

**Clasificación:** Orden: Oscillatoriales, Familia: Microcoleaceae

**Descripción:** Tapete extendido, delgado, liso, verde azulado a verde oscuro. Filamentos generalmente rectos a ondulados. Tricomas verde-azul pálido, cilíndrico, con pared celular ligeramente constreñido. Presenta movimiento oscilatorio. Vaina delgada e incolora. Células isodiamétricas más anchas que largas 4-5.5  $\mu\text{m}$  x 2-4  $\mu\text{m}$ , célula apical redondeada, algunas veces atenuada. Presencia de necridios y caliptra (Fig. 7).

**Localidad:** Río San Juan, Teotihuacán, Estado de México, 19°41'2" LN, 98°50'29" LO, aerofítica, suelo fangoso, pantanoso; fecha de recolecta: 26 octubre 2021.

**Condiciones ambientales:** pH 7.2, temperatura agua 22.9°C, temperatura ambiental 26°C, conductividad 990  $\mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$ , intensidad de luz 78 800 lux.

**Cultivo:** código OsR-01-Te, Medio BG11c. Crecimiento óptimo sin agitación.

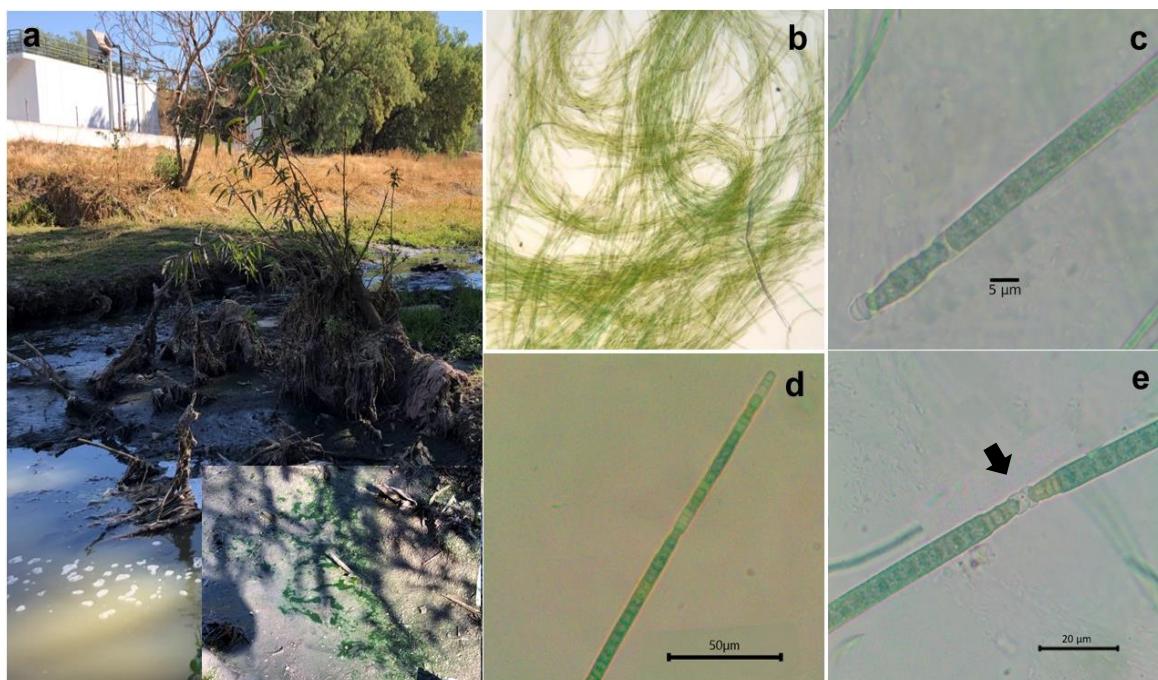


Figura 7. *Microcoleus amoenum*. a) Aspecto general de la zona de recolecta, Río San Juan, Teotihuacán, sobre lodo; b) forma de crecimiento, filamentos rectos a curvos; c) célula apical con caliptra; d) tricomas rectos con células más cortas que anchas, vaina muy fina e incolora e) formación de necridios (flecha).

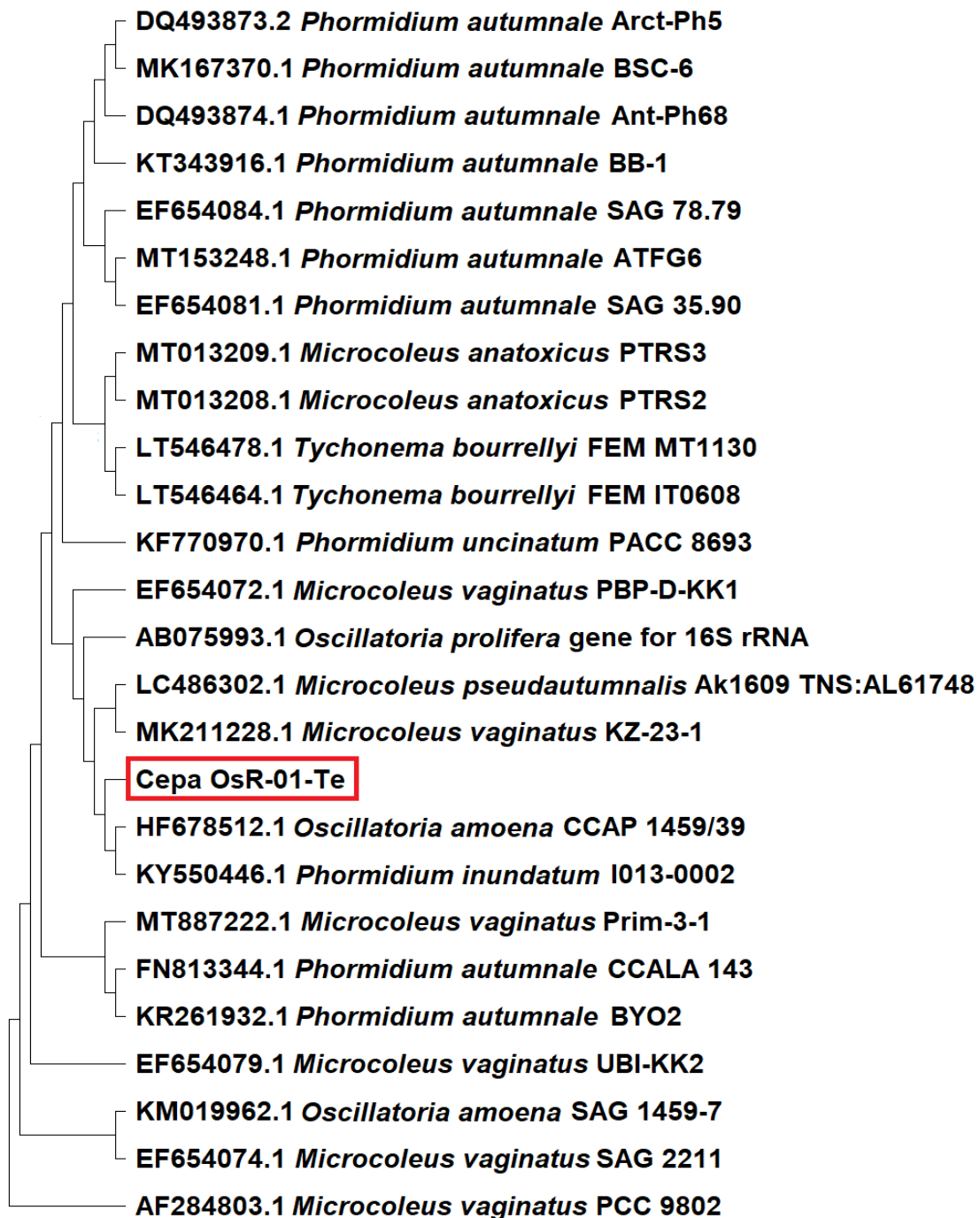


Figura 8. Árbol filogenético compuesto por secuencias parciales de la región 16S rRNA identificadas por el programa BLAST, incluye cepas del género *Phormidium*, *Microcoleus*, *Oscillatoria* y *Tychonema*. Se alinearon las secuencias mediante ClustalW y se construyó el árbol, usando el análisis de Máxima Verosimilitud, con 100 réplicas bootstrap y el modelo Tamura-Nei. Los análisis evolutivos se realizaron con el programa MEGA11 (Tamura & Nei, 1993; Tamura *et al.*, 2021). En el cuadro rojo se indica la cepa recolectada en el Río San Juan, Teotihuacán, formando un cluster con *O. amoena* y *P. inundatum*, ambas especies con una homología del 100%.

**Aspectos taxonómicos de *Microcoleus amoenum*.** A partir de la clave taxonómica de Komárek & Anagnostidis (2005), la cepa OsR-01-Te, fue identificada dentro del género *Phormidium*, grupo VII. En el análisis del árbol filogenético, la cepa de referencia formó un cluster con *Oscillatoria amoena* y *Phormidium inundatum*, ambas cepas con una homología del 100% (Fig. 8).

A partir de la descripción morfológica y ecológica, se descartó a *P. inundatum*, debido a que esta especie presenta vaina mucilaginosa, células isodiamétricas a más largas que anchas y no presenta caliptra, cuyo hábitat son aguas oligotróficas y mesotróficas de zonas subpolares, tropicales y de aguas termales (Kützing ex Gomont, 1892).

Por otro lado, con base en las descripciones realizadas por Kützing (1843), Kondrateva (1968) y Anagnostidis & Komárek (1988), se confirmó la identidad taxonómica de *Oscillatoria amoena*, siendo morfológica y ecológicamente similar a la cepa OsR-01-Te. Esta especie, considerada cosmopolita, solamente ha sido registrada para el Estado de Sonora, México (Novelo & Tavera, 2022), por lo que representa el primer registro para el Estado de México y el primer registro ficoflorístico para Río San Juan, Teotihuacán. Es importante mencionar que, debido a la amplia diversidad de ambientes donde puede ser localizado, se sugiere tener cuidado con las descripciones de otros autores ya que difieren los caracteres dependiendo el lugar donde fueron colectados, por lo que podría tratarse de otros taxones (Komárek, 2002).

Para ajustarse del nombre válido, el epíteto *O. amoena* fue modificado a *Microcoleus amoenum*, esto debido a Strunecký *et al.* (2013), quienes lo transfirieron, con base a caracteres morfológicos y genéticos, a especies de *Phormidium*, del grupo VII, dentro del clado de *Microcoleus*, entre ellos, *P. amoenum* (basiónimo: *O. amoena*).



***Laspinema thermale*** Heidari et Hauer, 2018

**Clasificación:** Orden: Oscillatoriales, Familia: Laspinemataceae

**Descripción:** Filamentos formando tapetes bentónicos de color verde intenso. Tricoma sin ramificaciones o falsas ramificaciones, rectos u ondulados, ligeramente constreñido en la pared celular, sin aerótopos, presenta movimiento. Vaina hialina de 1  $\mu\text{m}$  de ancho, un tricoma por vaina. Células siempre más anchas que largas, 5-6 x 2-3  $\mu\text{m}$ . Célula apical cónica y doblada, a veces redonda y sin caliptra. No presentan heterocitos ni acinetos. Reproducción por hormogonios con formación de necridios.

**Localidad:** Hervores, Jalisco. En aguas termales con temperatura 55 a 70° C, olor a azufre.

**Cultivo:** código F23, BG11c, (Fig. 9). Crecimiento óptimo sin agitación.

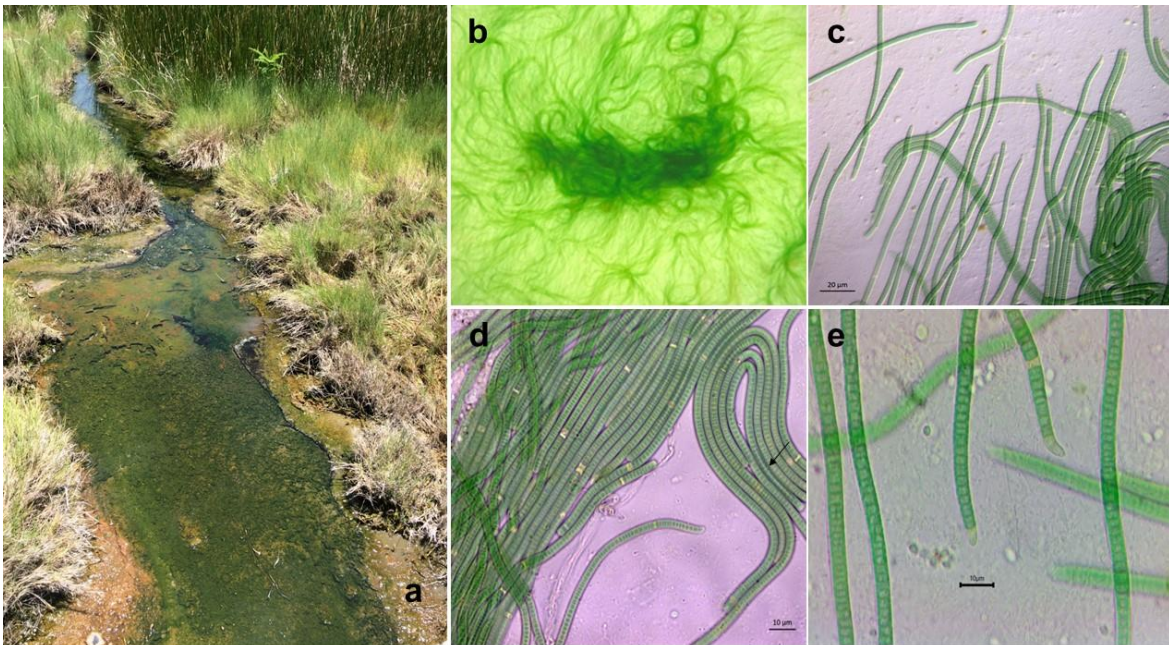


Figura 9. *Laspinema thermale*. a) Aspecto general de la zona de recolecta, los Hervores, Jalisco; b) forma de crecimiento de los tapetes; c y d) filamentos rectos y curvos; e) formación de necridios, célula apical atenuada y curva.

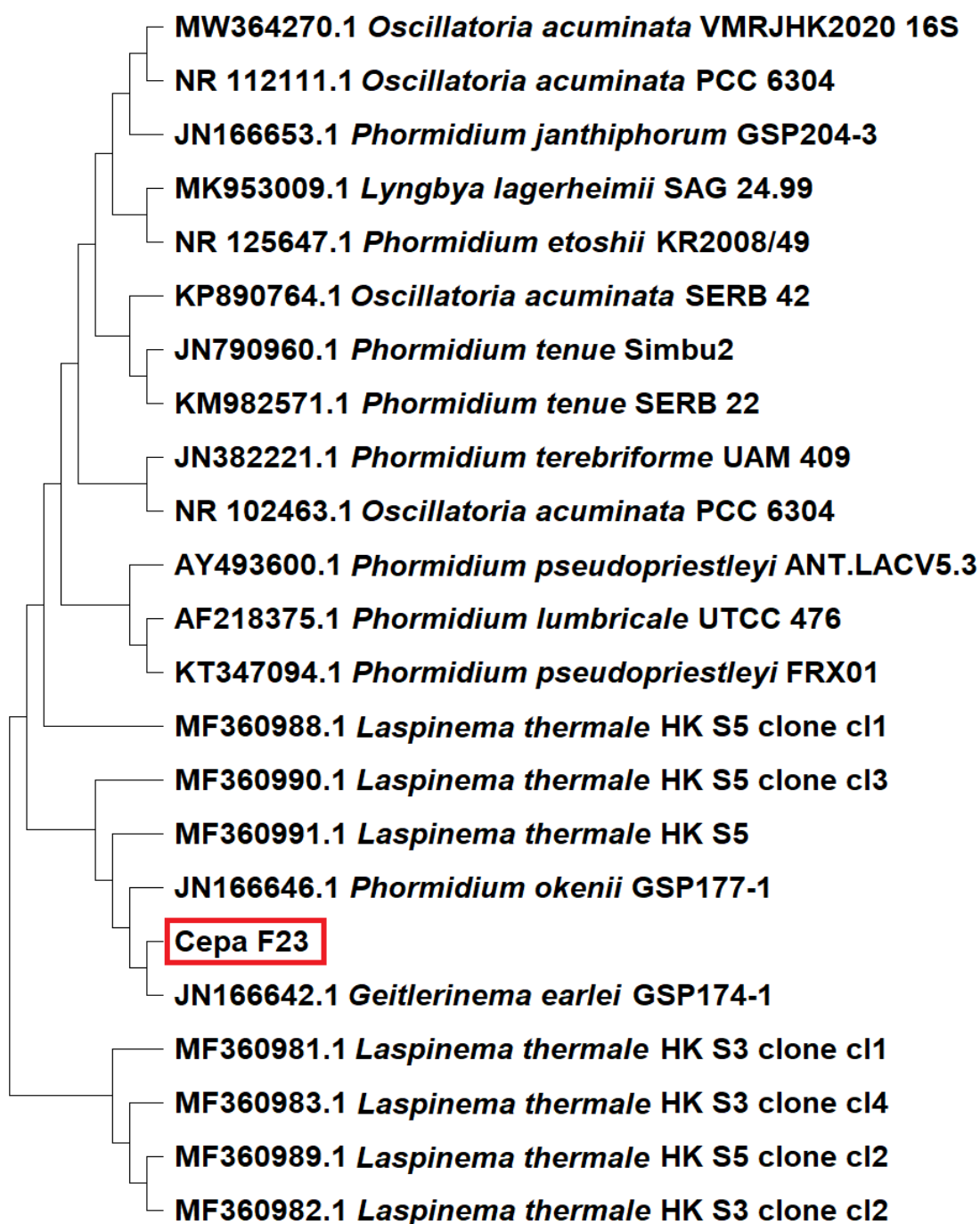


Figura 10. Árbol filogenético compuesto por secuencias parciales de la región 16S rRNA identificadas por el programa BLAST, que incluye cepas del género *Laspinema*. Se alinearon las secuencias mediante ClustalW y se construyó árbol, usando el análisis de Máxima Verosimilitud, con 100 réplicas bootstrap y el modelo Tamura-Nei. Los análisis evolutivos se realizaron con el programa MEGA11 (Tamura & Nei, 1993; Tamura *et al.*, 2021). En el cuadro rojo se indica la cepa F23, perteneciente a la localidad de Los Hervores, Jalisco, formando un cluster con *Geitlerinema earlei* y *Phormidium okenii*, con una homología del 99.67% y 99.66% respectivamente.

**Aspectos taxonómicos de *Laspinema thermale*.** La cepa perteneciente de la FES Iztacala, recolectada en los Hervores, Jalisco, estaba registrada inicialmente dentro del género *Lyngbya* sp. A partir de la clave taxonómica de Komárek & Anagnostidis (2005), la cepa F23 se determinó dentro del género *Phormidium*, grupo III, como *P. boryanum*.

Después, con el análisis del árbol filogenético (Fig. 10), la cepa F23 forma un clúster relacionado con varias cepas, entre ellas *Phormidium okenii*, con una homología del 99.66%, la cual tiene poca relación taxonómica debido a que esta especie no presenta movimiento (Anagnostidis & Komárek 1988) y a pesar de estar registrado para ambientes termales, Komárek & Anagnostidis (2005) mencionan que puede tratarse de otra especie; también, formando un cluster con *Geitlerinema earlei*, con homología de 99.67%. tampoco tiene relación taxonómica debido a que esta especie no presenta vaina, el tamaño de la célula es menor, siendo de 2.2-2.4  $\mu\text{m}$  de ancho y 2.5 veces más largo que ancho, además, cuenta con una célula apical prominentemente puntiaguda (Anagnostidis, 1989); por último, *Laspinema thermale*, con una homología del 99.42%, corresponde morfológica y ecológicamente con la cepa F23, con base en la descripción taxonómica realizada por Heidari *et al.* (2018), sobre las poblaciones bentónicas de los manantiales termales de Irán. Para esta especie, se suman los datos sobre la capacidad de movimiento y formación de necridios obtenidos en este estudio.

Con base en el catálogo de Novelo & Tavera (2022) corresponde a un nuevo taxón para México.

***Ramsaria avicennae*** Heidari & Hauer, 2018

**Clasificación:** Orden: Oscillatoriales, Familia: Coleofasciculaceae

**Descripción:** Filamentos entrelazados, fasciculados o flexuosos. Vaina firme, delgada, homogénea e incolora, de 0.70-1.2  $\mu\text{m}$  de ancho, un tricoma por vaina. Tricomas cilíndricos, rectos, constreñidos en la pared celular, presencia de movilidad, de color verde-azul pálido. Células más largas que anchas, 3.3-4.0 x 4.5-6.0  $\mu\text{m}$ , célula apical redondeada o con forma cónica, sin caliptra. Contenido celular de color verde-azul, homogéneo a finamente granuloso. Heterocitos y acinetos ausentes. Sin presencia de necridios.

**Localidad:** Hervores, Jalisco. En aguas termales con temperatura 55 a 70° C y olor a azufre.

**Cultivo:** código F59, BG11c (Fig. 11). Crecimiento óptimo sin agitación.

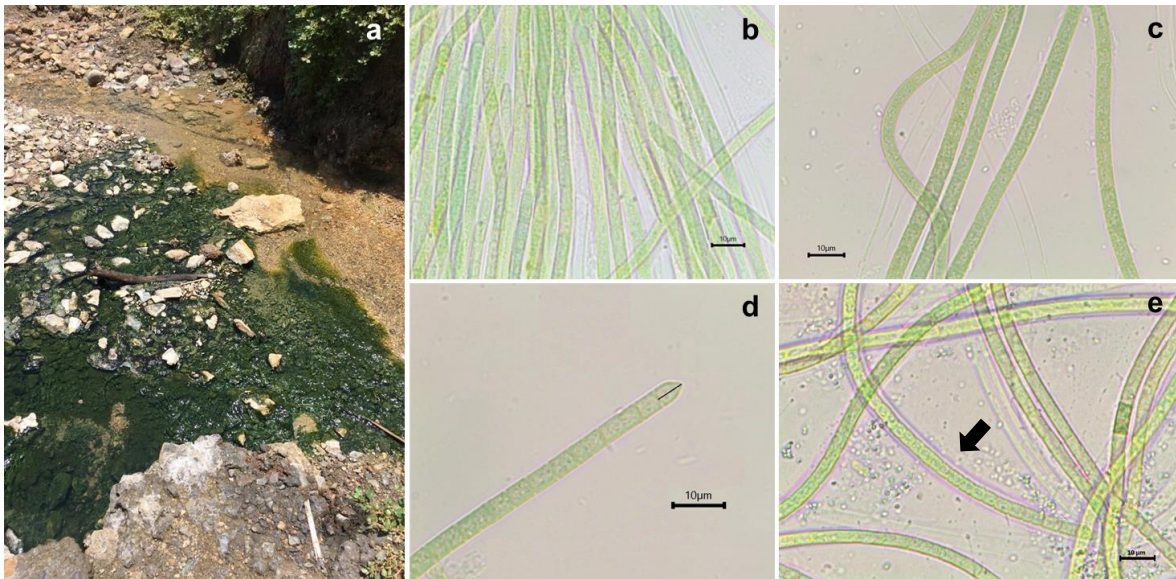


Figura 11. *Ramsaria avicennae*. a) Aspecto general de la zona de colecta, los Hervores, Jalisco; b) Filamentos rectos y entrelazados; c) Filamentos curvos, células más largas que anchas, pared transversal constreñido; d) célula apical en forma de cono; e) Vaina homogénea e incolora.

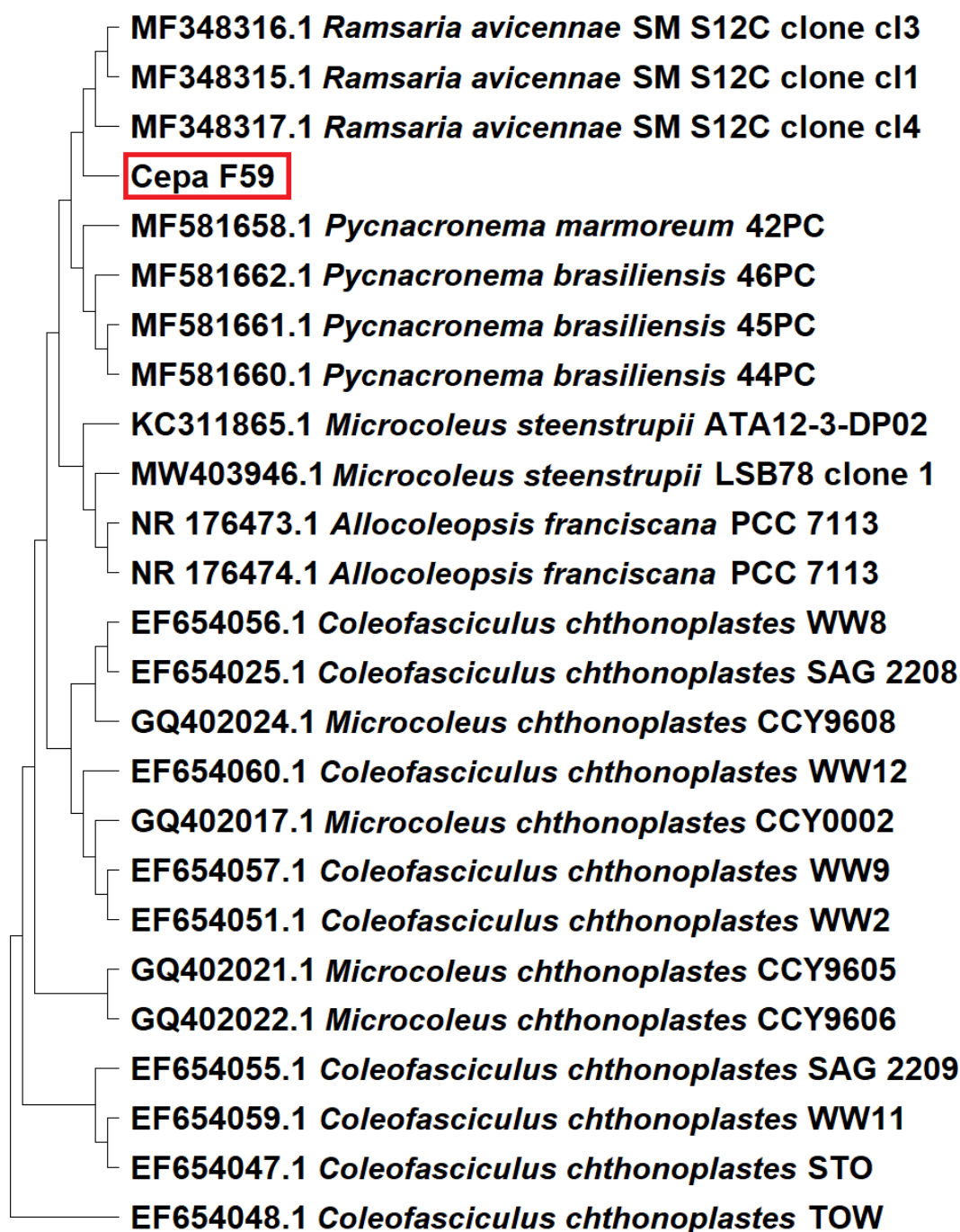


Figura 12. Árbol filogenético compuesto por secuencias parciales de la región 16S rRNA identificadas por el programa BLAST, que incluye cepas del género *Ramsaria*. Se alinearon las secuencias mediante ClustalW y se construyó árbol, usando el análisis de Máxima Verosimilitud, con 100 réplicas bootstrap y el modelo Tamura-Nei. Los análisis evolutivos se realizaron con el programa MEGA11 (Tamura & Nei, 1993; Tamura *et al.*, 2021). En el cuadro rojo se indica la cepa F59, perteneciente a la localidad de Los Hervores, Jalisco, formando un cluster con *Ramsaria avicennae* con una homología del 99.69%.

**Aspectos taxonómicos de *Ramsaria avicennae*:** La cepa perteneciente al cepario de la FES Iztacala, recolectada en Hervores, Jalisco, estuvo registrada inicialmente dentro del género *Geitlerinema* sp. A partir del análisis del árbol filogenético (Fig. 12), la cepa F59 formó un cluster directo con *Ramsaria avicennae*, con homología de 99.69%. Comparada con la secuencia del material de Irán (Heidari *et al.*, 2018), la cepa de este estudio presentó una vaina delgada, así como movimiento de los tricomas, en contraste con la cepa de Irán que presenta una vaina gruesa de 4-6 µm y sin movilidad. Por tanto, podría tratarse de una ecofeno o variedad distinta.

Al igual que Heidari (2018), *R. avicennae* (cepa F59) tiene una similitud con el género *Coleofasciculus* y *Microcoleus*, sin embargo, *Ramsaria* difiere al presentar siempre un tricoma por vaina, tanto en ambiente natural, como *in-vitro*. Se descartó *Pycnacronema marmoreum* y *P. brasiliensis* debido a las diferencias en el tamaño de la célula, ambas siendo más grandes que la cepa F59. Además, *P. marmoreum* presenta un cromatoplasma queritomizado pardo-rojizo en la célula, característico de esta especie. Ambos *taxa* crecen sobre la corteza de árboles (Martins *et al.*, 2018). De otros géneros similares, *Ramsaria* se diferencia de *Allocoleopsis*, por poseer tricomas más delgados, así como una vaina por tricoma cerrada en los extremos. Además, Moreira-Fernandes *et al.* (2021), registraron *A. franciscana* para suelos fríos de desierto.

**Árboles filogenéticos:** Los árboles filogenéticos de las (Figs. 6, 8, 10 y 12) basados en el modelo de Tamaru & Nei (1993) fueron obtenidos a partir de las secuencias parciales de la región 16S rRNA. Para cada uno fueron construidos utilizando el software Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11 -MEGA 11- (Tamura *et al.*, 2021). Inicialmente este modelo consideró máxima parsimonia y análisis filogenético molecular, después unió la máxima verosimilitud. Ahora incluye en su lógica modelos de sustitución que mejor se ajusten en la relación evolutiva entre las secuencias de los organismos que se comparan por ejemplo las distancias evolutivas y tiempos de divergencia, así como predecir secuencias ancestrales, entre otras.

**Potencial biotecnológico:** De las especies identificadas en este trabajo, solamente *Laspinema thermale* ha sido evaluada con fines aplicativos. Tomer & Dadheech (2020) realizaron una bioprospección de antioxidantes evaluando la capacidad de producción de biomasa, análisis de pigmentos, contenido fenólico y actividad antioxidantes en ocho cepas de cianobacterias, entre ellas, *Laspinema*, donde mencionan que *Laspinema* sp. exhibió una actividad depuradora poco efectiva en el extracto de agua en comparación con las otras cepas. Si bien sus resultados en *Laspinema* no fueron prometedores, se estima que las diferencias, entre las cepas, se debe a las condiciones en las que fueron colectadas y cultivadas antes del estudio, por lo que identificar el medio de cultivo adecuado es necesario para determinar el potencial del género *Laspinema* para la extracción de moléculas antioxidantes.

Duval *et al.* (2021) identificaron nueve géneros de cianobacterias en los baños termales de Balaruc-Les Bains (Francia) en el lodo utilizado para el tratamiento para enfermedades artro-reumáticas, entre ellos el género *Laspinema*, por lo que se infiere, tiene participación en dicho tratamiento. A partir de la ultraestructura de *Laspinema*, identificaron la disposición radial de los tilacoides, así como numerosas aerótopos, gránulos de cianoficina, gránulos de lípidos y glicógeno; además de la presencia de poli- $\beta$ -hidroxibutirato (PHB) usado en la industria farmacéutica, médica, de alimentos y en la agronómica debido a sus propiedades similares a los plásticos sintéticos pero con características biodegradables y biocompatibles; y presencia de gránulos de ácido  $\beta$  hidroxibutirico ( $\beta$ HB), un cuerpo cetónico que ha mostrado mejorar el rendimiento físico en función mitocondrial del músculo esquelético (Panda *et al.*, 2006; Monsalves-Alvarez, 2020).

## CONCLUSIONES

Con base en la taxonomía tradicional es muy fácil confundir taxones cianoprocariontes homocitadas, por lo que es fundamental cultivarlas y sumar los datos de los diferentes marcadores moleculares.

- Los *taxa* determinados en este trabajo fueron: *Leptolyngbya laminosa*, *Microcoleus amoenum*, *Laspinema thermale* y *Ramsaria avicennae*; donde las últimas dos especies corresponden a nuevos registros para el país.
- Las condiciones ambientales de estos nuevos registros implican ambientes hipertermófilos con temperatura del agua que oscilan de 55 a 70 °C.
- Los cianoprocariontes homocitados presentan muchas ecoformas por lo que es importante aislarlas y cultivarlas para su determinación taxonómica y utilizar en conjunto las herramientas taxonómicas posibles; este caso la región 16S resultó de utilidad para complementar su identificación.
- A partir de la obtención de las cepas unialgales, se pueden desarrollar protocolos para conocer la producción de metabolitos alelopáticos como será la segunda fase del proyecto donde se incluye esta participación.

# ANEXO 1

## Protocolo Extracción de ADN

### Kit GenElute Plant Genomic DNA Miniprep

1. *Mezclar bien los reactivos:* Examinar los reactivos para detectar precipitación. Si algún reactivo forma un precipitado, calentar a 55-65 °C hasta que el precipitado se disuelva y dejar que se enfríe a temperatura ambiente antes de usar.
2. Precalentar el Baño María a 65°C.
3. *Solución de lavado:* Diluya la solución de lavado concentrada (W3011) con 9.5 ml (paquete de 10 preparaciones), 72 ml (paquete de 70 preparaciones) o 330 ml (paquete de 350 preparaciones) de etanol al 95-100%. Después de cada uso, tape herméticamente la solución de lavado diluida para evitar su evaporación.

#### Procedimiento:

1) *Romper célula:* Moler el material biológico en un mortero, hasta obtener un polvo fino usando nitrógeno líquido. Transferir 100 mg del polvo a un tubo de microcentrífuga. Mantener la muestra en hielo para uso inmediato o congelarla a -70°C.

2.- *Lisar la célula:* Agregar 350 µl de solución de lisis [parte A] (L7910) Y 50 µl de solución de lisis [parte B] (L8035) al tubo; mezclar completamente agitando en vortex e invertirlo un par de veces. Se formará un precipitado blanco al agregar la solución de lisis [parte B]. Incube la mezcla a 65 °C durante 10 minutos con inversión ocasional para disolver el precipitado.

3.- *Deshechos precipitados:* Agregar 130 µl de solución de precipitación (P9727) a la mezcla; mezclar completamente por inversión y colocar la muestra en hielo durante 5 minutos. Centrifugar la muestra a velocidad máxima (12,000-16,000 x g) durante 5 minutos para sedimentar los restos celulares, proteínas y polisacáridos.

4.- *Filtrar deshechos:* ensamble una columna de filtración (CP9346) con un tubo de recolección de 2 ml (T5449). Pipetee con cuidado el sobrenadante del paso 3 en la columna de filtración. Esto eliminara cualquier desecho celular que no se eliminó en el paso 3. Deseche la columna de filtración, pero conserve el tubo de recolección.

5.- *Preparación para unión:* Agregue 700 µl de solución de unión (B2177) directamente al sobrenadante del paso 4. Mezcle completamente por inversión.

6.- *Preparación columna de unión:* Monte una columna de unión (CP9471) con un tubo de recolección de 2 ml (T5449). Agregue 500 µl de la solución de preparación de columna (C2112) a la columna de unión y centrifugue a 12,000 x g durante 1 minuto. Deseche el sobrenadante.

7.- *Cargar lisado:* Pipetear con cuidado 700 µl de la mezcla del paso 5 en la columna preparada en el paso 6 y centrifugar a máxima velocidad durante 1 minuto. Deseche el líquido que fluye; conservar el tubo de recolección. Regrese la columna al tubo de recolección. Aplique el lisado restante del paso 5 en la columna. Repita la centrifugación como se indicó anteriormente y deseche el sobrenadante y el tubo de recolección.

8.- *Lavado de primera columna:* Antes del primer uso, asegúrese de agregar etanol a la solución de lavado concentrado (W3011). Coloque la columna de unión en un tubo de recolección nuevo de 2 ml y aplique 500 µl de la solución de lavado diluida a la columna. Centrifugar a máxima velocidad durante 1 minuto. Desechar el sobrenadante, pero conserve el tubo de recolección.

9.- *Lavado de segunda columna:* Aplique otros 500 µl de solución de lavado diluida a la columna y centrifugue a velocidad máxima durante 3 minutos para secar la columna. La columna debe estar libre de etanol antes de extraer el ADN. Centrifugar la columna durante 1 minuto más a máxima velocidad si se observa etanol residual. Puede vaciar y reutilizar el tubo de recolección si necesita un centrifugado adicional. Finalmente, deseche el tubo de recolección que contiene el sobrenadante y coloque un tubo nuevo de recolección de 2 ml.

10.- *Extraer ADN:* Pipetear 100 µl de solución de extracción precalentada (65 °C) (T7688) directamente en el centro de la columna y centrifugar a velocidad máxima durante 1 minuto. Repita la extracción. La extracción se puede recoger en el mismo tubo de recolección. Como alternativa, se puede usar un segundo tubo de recolección.



## ANEXO 2

### Protocolo de Purificación

#### GenElute™ Gel Extraction Kit

1. **Solución de Solubilización:** La solución de solubilización en gel se precipitará fuera de la solución si se almacena a temperaturas inferiores a 18-25 °C. Verificar que la solución esté completamente disuelta y que no haya cristales presentes. Si hay cristales presentes, incubar a 37-50 °C con agitación periódica hasta que los cristales se disuelvan (aproximadamente 5 minutos).
2. **Solución de lavado:** Diluir los 12 ml completos de la solución de lavado concentrado G con 48 ml de etanol al 95-100 % antes del uso inicial. Después de cada uso, tape herméticamente la solución de lavado diluido para evitar la evaporación del etanol.

#### Procedimiento

Todas las centrifugaciones serán realizadas a 10,000 a 12,000 rpm.

1. **Cortar la banda.** Cortar el fragmento de ADN de interés desde el gel de agarosa con un bisturí o hoja de afeitar limpio.
2. **Pesar el gel.**
3. **Disolver el gel.** Añadir 100 µl de solución de solubilización por cada 100mg de gel de agarosa. Incubar la mezcla a 50-60 °C durante 10 minutos o hasta que el gel sea completamente disuelto.
4. **Preparación Columna de Unión.** Preparar la columna de unión mientras el gel de agarosa se disuelve. Colocar la columna de unión en un tubo de colecta de 2 ml y añadir 500 µl de la solución de Preparación de Columna a cada columna. Centrifugar por 1 minuto. Descartar el sobrenadante.
5. **Checar el color de la mezcla.** Una vez que el gel esté disuelto completamente, asegurarse que el color de la mezcla sea amarillo antes de seguir con el siguiente paso. Si el color de la mezcla es rojo, añadir 10 µl de Buffer de acetato sódico 3M, pH 5.2 y mezclar. El color deberá ser amarillo, si no, añadir nuevamente la misma cantidad hasta conseguir el color amarillo en la mezcla.
6. **Añadir isopropanol.** Añadir 100 µl de isopropanol y mezclar.
7. **Unir ADN.** Cargar la mezcla del paso 6 a la columna de unión que esté unida a un tubo de colecta de 2 ml. Es normal ver un ocasional cambio de color, de amarillo a rojo. Si el volumen de la mezcla del gel es >700 µl, cargar la muestra a la columna en porciones de 700 µl. Centrifugar por 1 minuto por cada carga en la columna. Descartar el sobrenadante.
8. **Columna de lavado.** Añadir 700 µl de solución de lavado a la columna de unión. Centrifugar durante 1 minuto, descartar el sobrenadante y repetir el centrifugado durante 1 minuto sin solución de lavado adicional para remover el exceso de etanol.
9. **Elución ADN.** Transferir la columna de unión a un tubo nuevo. Añadir 50 µl de solución de elución al centro de la membrana e incubar durante 1 minuto. Centrifugar durante 1 minuto. Para la recuperación eficiente del ADN, precalentar la solución de elución a 65 °C antes de añadir a la membrana.

### ANEXO 3 Secuencias ADN

Secuencias de ADN editadas con el programa BioEdit.

1. Cepa POIzta 4.1 – *Leptolyngbya laminosa*.

27F	809R
<p>TGCAGTCGAACGGAAGTCTTCGGACTTTAGTGGCC GACGGGTGAGTAACGCGTGAGAACCTACCCCTTAG GATGGGGATAACAGTTGGAAACGGCTGCTAATACC CGATGTGCCGAGAGGTGAAAGATTTATTGCCTGAG GAAGGGCTCGCGTCCGATTAGCTAGTTGGAGTGG TAATGGCACCCCAAGGCGACGATCGGTAGCTGGT CTGAGAGGATGATCAGCCACACTGGGACTGAGAC ACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGG AATTTCCGCAATGGGCGCAAGCCTGACGGAGCAA TACCGGTGCGGGAGGACGGCCTTTGGGTTGTAA ACCGCTTTTCTCAGGGAAGAAGTTCTGACGGTACC TGAGGAATCAGCATCGGCTAACTCCGTGCCAGCAG CCGCGGTAATACGGGGGATGCAAGCGTTATCCGG AATTATTGGGCGTAAAGCGTCCGCAGGTGGTTTGT CAAGTCTGCTGTAAAGCGTGGAGCTTAACTCCAT ATCGGCGGTGAAACTGATGAACTAGAGGGTGGT AGGGGTCACGGGAATTTCCAGTGTAGCGGTGAAA TGCGTAGATATTGGGAAGAACCAGCGGGCGAAA GCGCGTACTGGGCCATTAAGTACTGACACTCATGGAC GAAAGCTAGGGGAGCGAAAAGGGATTAGATACCCC TGAGTCTAGCCGTAACGATGGACACTAGGTGT TGCCCGTATCGACCCGAGCG</p>	<p>TCGTTTACGGCTAGGACTACAGGGGTATCTAATCC CTTTCGCTCCCCTAGCTTTTCGTCCATGAGTGTCCAG TAATGGCCCAGTCACGCGCTTTTCGCCGCTGGTGT CTTCCCAATATCTACGCATTTACCGCTACACTGG GAATTCCCGTGACCCCTACCACCCTCTAGTTCATC AGTTTCCACCGCCGATATGGAGTTAAGCTCCACGC TTAACAGCAGACTTGACAAACCACCTGCGGACGC TTTACGCCCAATAATTCCGGATAACGCTTGCATCCC CCGTATTACCGCGGCTGCTGGCAGGGAGTTAGCC GATGCTGATTCTCAGGTACCGTCAGAACTTCTTC CCTGAGAAAAGCGGTTTACAACCCAAAGGCCGTCC TCCCGCACGCGGTATTGCTCCGTGACGGCTTGC CCATTGCGGAAAATTTCCCACTGCTGCCTCCCGTA GGAGTCTGGGCGGTGTCTCAGTCCCAGTGTGGCT GATCATCCTCTCAGACCAGCTACCGATCGTGCCT TGGGGTGCCATTACCACTCCAAGTACTAATCGGA CGCGAGCCCTTCTCAGGCAATAAATCTTTCACT CTCGGCACATCGGGTATTAGCAGCCGTTTCCA GTTATCCCCATCCTAAGGGTAGGTTCTCAGCGGT ACTCACCCGTCCGCCACTAAAGTCCGAAGACTTCC GTTCCACTTGCATGTGTTAAGCATACCGCCAGCGT TCATCCTGAGCAG</p>

2. Cepa OsR-01-Te – *Microcoleus amoenum*.

27F	809R
<p>TGCAAGTCGAACGGAGTAGAAATACTTAGTGGCGG ACGGGTGAGTAACGCGTGAGAATCTGCCTTCAGGA CGGAGACAACAGTTGGAAACGACTGCTAAGCCCC GATGTACCGAAAGGGAAAATTTATAGCCTGAAG ATGAGCTCGCGTCCGATTAGCTAGTTGGGGGGGT AAAGGCCACCAAGGCGACGATCGGTAGCTGGTC TGAGAGGACGATCAGCCACACTGGGACTGAGACA CGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGA ATTTCCGCAATGGGCGAAAAGCCTGACGGAGCAAG ACCGCGTGGGGGAAGAAGGCTCTTGGGTTGTAAA CCCCTTTTCTCTGGGAAGAAAGTTGTAAAGCAAC CTGACCGTACCAGAGGAATCAGCATCGGCTAACTC CGTGCCAGCAGCCGCGTAAGACGGAGGATGCAA GCGTTATCCGGAATGATTGGGCGTAAAGCGTCCGC AGGTGGCAGTTCAAGTCTGCTGTCAAAGACCGGG GCTTAACTTCGAAAGGCAGTGGAACTGAACAGC TAGAGTATGGTAGGGGACAGAGGAATTCTGGTGT AGCGGTGAAATGCGTAGAGATCAGGAAGAATCG GTGGCGAAGGCGCTCTGCTGGACCATAACTGACA CTCAGGGACGAAAGCTAGGGGAGCGAATGGGATT AGATACCCAGTAGTCTAGCCGTAACGATGGAT ACTAGGTGTTGTCTGTATCGACCCGAGC</p>	<p>TCGTTTACGGCTAGGACTACTGGGGTATCTAATCC CATTCGCTCCCCTAGCTTTTCGTCCCTGAGTGTCCAG TTATGGTCCAGCAGAGCGCCTTCGCCACCGATGTT CTTCCTGATCTCTACGCATTTACCGCTACACCAG GAATTCCCTCTGCCCTACCATACTAGCTGTTCA GTTTCCACTGCCTTTCCGAAGTTAAGCCCCGGTCT TTGACAGCAGACTTGAAGTGCACCTGCGGACGCT TTACGCCAATCATTCCGGATAACGCTTGCATCCT CCGTCTTACCGCGGCTGCTGGCAGGGAGTTAGCC GATGCTGATTCTCTGGTACCGTCAGGTTGCTTTC ACAACCTTCTCCAGAGAAAAGGGGTTTACAACC CAAGAGCCTTCTCCCCACGCGGCTTGGTCCGT CAGGCTTTCCGCCATTGCGGAAAATTTCCCACTGC TGCCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCGGTGTCTCAGTC CCAGTGTGGCTGATCGTCTCTCAGACCAGCTACC GACTCGCCTTGGTGGGCTTTACCCCCCACT AGCTAATCGGACGCGAGCTCATCTTCAGGCTATAA ATATTTTCCCTTTCGGTACATCGGGGCTTAGCAGTC GTTTCCAAGTGTGTCTCCGTCTGAAGGCAGATT CTCAGCGTACTCACCCGTCCGCCACTAAGTATT TCTACTCCGTTCCGACTTGCATGTGTTAAGCAGACC GCCAGCGTTTCATCCTGAG</p>

3. Cepa F59 – *Ramsaria avicennae*.

27F	809R
<p>TGCAGTCGAACGGGGGTAGAAATACCCTAGTGGC  GGACGGGTGAGTAACGCGTGAGAATCTGCCTTCA  GGTTCCGGGACAACCACTGGAAACGGTGGCTAATAC  CGGATAGGCTTACGGGTGAAAGATTTATCGCCTGA  AGAGGAGCTCGCGTCTGATTAGCTAGTTGGTAGGG  TAAAGCCTACCAAGGCGACGATCAGTAGCTGGTC  TGAGAGGATGATCAGCCACACTGGGACTGAGACA  CGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGA  ATTTCCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGGAGCAAG  ACCGCGTGAGGGAGGAAGGCTCTTGGGTTGTAA  CCTCTTTTCTCAGGGAAGAAGAAAGTGACGGTACC  TGAGGAATCAGCCTCGGCTAACTCCGTGCCAGCA  GCCGCGTAATACGGAGGAGGCAAGCGTTATCCG  GAATTATTGGGCGTAAAGCGTCCGCAGGTGGCTG  GCTCAAGTCTGCTGTCAAAGACCGGGGCTTAACTC  CGGAAAGGCAGTGGAAACTGACAAGCTAGAGGGC  TCTAGGGGTAGAGGGAATTCCCGGTGTAGCGGTG  AAATGCGTAGAGATCGGGAAGAACATCGGTGGCG  AAAGCGCTCTACTGGAGAGCAACTGACACTCA</p>	<p>CTAGGACTACTGGGGTATCTAATCCCATTGCTCC  CCTAGCTTTTCGTCGCCGAATGGCAGTTGGTCTCCC  GTAAAACGCTTTCCCAACGATGTTCTTCCCGAACT  CTACCCATTTACCGCTACCCCGGAATTCCCTCC  ACCCCTAAAGCCCTCTAGCTTGGCAGTTTCCACTG  GCTTTCCCGAATTAAACCCCGGTCTTTGACAGCAG  AATTGAACCCGCCACCTGGGGAAGCTTTACCCCA  ATAATTTCCCGAAAACGCTTGGCTCCCCCGGATTAC  CGCGGCTGGTGGGCCGGAATTAGCCGAAGGTGAA  TCCTCAAGGACCGGCCCTTTCTTCCCTGAAA  AAGAAGTTACCACCCAAGAACCCTCCTCCCTAC  GCGGTCTTGGTCCCTCCGGGTTTCCGCCATTGGC  GAAAATTCCCACTGGTGCCTCCCGGAAGAATCTG  GGGCGGGGCTCAGGCCCATGGGGGTGAACCTC  CTCTCAGAACAGGTAAGTGGTCCGCCGCTGGTTG  GGCTTTACCCTACCAACTAAGTTATCCGAAGCGAG  CCCCCCTCCAGCCATAAATCTTTCAACGTGAAGC  CTATTCGGGAATAGGCACCGTTTCCCATGGTTGTC  CCGGACCTGAAGGGAGAATCCCACGGCTACTCA  CCCGGTCCGCAATAAGGTATTTCCACCCCGTCC  GACTGGATGTGGTAAGCAGAACGCCGCGTCACT  GACGATACAATTTTCTTTA</p>

4. Cepa F23 – *Laspinema thermale*.

27F	809R
<p>TGCAAGTCGACGGTGAACCTTTAGGGTTCATAGTG  CGGACGGGTGAGTAACACGTGAGAATCTGCCTCC  AGGTCCGGGACAACAGCGGGAAACTGCTGCTAAT  ACCCGATGTGCCTAAGGGTGAAGATTAATTGCCT  GGAGATGAGCTCGCGTCCGATTAGCTAGTTGGTAG  AGTAAAAGCCTACCAAGGCTCCGATCGGTAGCTGG  TCTGAGAGGATGAGCAGCCACACTGGGACTGAGA  CACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGG  GAATTTCCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGGAGCA  AGACCGCGTGGGGGATGAAGGCTCTTGGGTTGTA  AACCCCTTTTCTCAGGGAAGAAGTTCTGACGGTAC  CTGAGGAATCAGCATCGGCTAACTCCGTGCCAGCA  GCCGCGTAAGACGGAGGATGCAAGCGTTATCCG  GAATTATTGGGCGTAAAGCGTTCGTAGGTGGCTGT  TCAAGTCTGCCGTTAAAGACCGGGGCTTAACTCCG  GAAAACTGTGGAACTGAACAGCTAGAGTATGGT  AGGGGTAAGGGGAATTCCCGGTGTAGCGGTGAAA  TGCGTAGATATCGGGAAGAACACCGGTGGCGAAG  GCGCCTTACTGGGCCATAACTGACACTGAGGGAC  GAAAGCTAGGGGAGCGAAAGGGATTAGATACCC  TGTAGTCTAGCTGTAACGATGGATACTAGGTGT  TGCCCGTATCGACCCGACG</p>	<p>TCGTTTACAGCTAGGACTACAGGGTATCTAATCC  CTTTCGCTCCCCTAGCTTTTCGTCCTCAGTGTCAG  TTATGGCCAGTAAGGCGCTTCGCCACCGGTGTT  CTTCCCGATATCTACGCATTTACCGCTACACCGG  GAATTCCCCTTACCCTACCATACTAGCTGTTCA  GTTTCCACAGTTTTTCCGGAGTTAAGCCCCGGTCT  TTAACGGCAGACTTGAACAGCCACCTACGAACGCT  TTACGCCAATAATTCCGGATAACGCTTGCATCCTC  CGTCTTACCGCGGTGCTGGCACGGAGTTAGCCG  ATGCTGATTCCTCAGGTACCGTCAGAACTTCTTCC  CTGAGAAAAGGGGTTTACAACCCAAGAGCCTTCAT  CCCCACGCGGTCTTGTCCGTGAGGCTTTCCGCC  CATTGCGGAAAATTCCCCACTGCTGCCTCCCGTAG  GAGTCTGGGCCGTGCTCAGTCCCAGTGTGGCTG  CTCATCCTCTCAGACCAGCTACCGATCGGAGCCTT  GGTAGGCTTTTACTCTACCAACTAGCTAATCCGAC  GCGAGTCACTCCAGGCAATTAATCTTTCACCCCTT  AGGCACATCGGGTATTAGCAGCAGTTTCCCGCTGT  TGTCGCCGACCTGGAGGCAGATTCTCACGTGTTAC  TCACCCGTCCGCCACTATGAACCCTAAAGTTCACC  GTTCCGACTTGCATGTGTTAAGCAGACCCGACGCT  TCATCCTGAGCAG</p>

# ANEXO 4

## Alineamiento Secuencias

### 1. Ceba POIzta 4.1 – *Leptolyngbya laminosa*.

M11: Alignment Explorer

Data Edit Search Alignment Web Sequencer Display Help

DNA Sequences Translated Protein Sequences

Species/Abbrev

1. KY283069.1 Stenomitosis frigidus ACSS1 171
2. ON803467.1 Stenomitosis frigidus BEA 12538
3. MG641933.1 Leptolyngbya frigida CAU11 clone 2
4. MG641935.1 Leptolyngbya frigida CANT11 clone 1
5. JQ070063.1 Leptolyngbya nostocorum UAM 387
6. MF685891.1 Chrookolemma pellicuda 718 clone 1
7. FM210757.1 Leptolyngbya laminosa ETS-08
8. AY493576.1 Leptolyngbya frigida ANT\_L53B.2
9. ON032979.1 Stenomitosis frigidus BEA 09668
10. MF685885.1 Chrookolemma opaca 701 clone 2
11. NR\_176475.1 Thermoleptolyngbya sichuanensis strain PKUAC-SCTA18
12. EU057151.1 Leptolyngbya laminosa 0414
13. AY493611.1 Leptolyngbya frigida ANT\_REIDJ.1
14. NR\_176603.1 Stenomitosis pantisii strain TAU-MAC 4318
15. KP685888.1 Soytoleptolyngbya timoleontis XSP1
16. MH742928.1 Leptolyngbya frigida AR3-EB-1A
17. KM982555.1 Leptolyngbya nostocorum SERB 6
18. NR\_176592.1 Kovackia minuta strain CCNU001
19. ON803471.1 Leptolyngbya valderiana BEA 12158
20. NR\_176479.1 Stenomitosis tremulus strain CPCC 471
21. MN544285.1 Kovackia minuta CCNUW1
22. KR697756.1 Limnolyngbya circumcreta CHAB567 clone 1
23. Ceba POIzta 4.1
24. Sequence 1

Site # 759 with w/o gaps Selected genetic code: Standard

### 2. Ceba OsR-01-Te – *Microcoleus amoenum*.

M11: Alignment Explorer (Final.mas)

Data Edit Search Alignment Web Sequencer Display Help

DNA Sequences Translated Protein Sequences

Species/Abbrev

1. HF678512.1 Oscillatoria amoena CCAP 1459/39
2. LC486302.1 Microcoleus pseudautumnalis Ak1609 TNS:AL61748
3. MK211228.1 Microcoleus vaginatus KZ-23-1
4. KM019962.1 Oscillatoria amoena SAG 1459-7
5. EF654079.1 Microcoleus vaginatus UBI-KK2
6. EF654074.1 Microcoleus vaginatus SAG 2211
7. EF654072.1 Microcoleus vaginatus PBP-D-KK1
8. AF24803.1 Microcoleus vaginatus PCC 9802
9. MT887222.1 Microcoleus vaginatus Prim-3-1
10. FN813344.1 Phormidium autumnale CCALA 143
11. KR261932.1 Phormidium autumnale BYO2
12. AB075993.1 Oscillatoria prolifera gene for 16S rRNA
13. KT343916.1 Phormidium autumnale BB-1
14. DQ493873.2 Phormidium autumnale Arct-Ph5
15. MT013209.1 Microcoleus anatoxicus PTRS53
16. MT013208.1 Microcoleus anatoxicus PTRS52
17. DQ493874.1 Phormidium autumnale Ant-Ph68
18. EF654084.1 Phormidium autumnale SAG 78.79
19. MT153248.1 Phormidium autumnale ATFG6
20. MK167370.1 Phormidium autumnale BSC-6
21. EF654081.1 Phormidium autumnale SAG 35.90
22. KF770970.1 Phormidium uncinatum PACC 8693
23. KF550446.1 Phormidium inundatum M013-0002
24. LT546478.1 Tychonema bourreilyi FEM\_MTI130
25. LT546464.1 Tychonema bourreilyi FEM\_IT0608
26. Ceba OsR-01-Te
27. Sequence 1

Site # 759 with w/o gaps Selected genetic code: Standard

### 3. Ceba F59 – *Ramsaria avicennae*.

M1: Alignment Explorer (Ultimo.mas)

Data Edit Search Alignment Web Sequencer Display Help

DNA Sequences Translated Protein Sequences

Species/Abbrv	Sequence
1. MF348317.1 <i>Ramsaria avicennae</i> SM S12C clone c4	TGC AAGTC GAAC GGGGGT A GAAATACCCTAGTGGCGGACGGGTGAGTAAACCGGTGA AATCTGCCCTCAGGTTCCGGGACAAACACTGG
2. MF348316.1 <i>Ramsaria avicennae</i> SM S12C clone c3	TGC AAGTC GAAC GGGGGT A GAAATACCCTAGTGGCGGACGGGTGAGTAAACCGGTGA AATCTGCCCTCAGGTTCCGGGACAAACACTGG
3. MF348315.1 <i>Ramsaria avicennae</i> SM S12C clone c1	TGC AAGTC GAAC GGGGGT A GAAATACCCTAGTGGCGGACGGGTGAGTAAACCGGTGA AATCTGCCCTCAGGTTCCGGGACAAACACTGG
4. MW403946.1 <i>Microcoleus steenstrupii</i> LSB78 clone 1	TGC AAGTC GAAC GGGGAC TCTTCGGAGTTCA GTGGCGGACGGGTGAGTAAACCGGTGA AATCTGCCCTCAGGTTCCGGGACAAACACTGG
5. EF654056.1 <i>Coleofasciculus chthonoplastes</i> WW8	-----CCTTTCGG--GTTGAGTGGCGGACGGGTGAGTAAACCGGTGA AATCTGCCCTCAGGTTCCGGGACAAACACTGG
6. EF654025.1 <i>Coleofasciculus chthonoplastes</i> SAG 2208	TGC AAGTC GAAC GCGAACCTTTCGG--GTTGAGTGGCGGACGGGTGAGTAAACCGGTGA AATCTGCCCTCAGGTTCCGGGACAAACACTGG
7. EF654060.1 <i>Coleofasciculus chthonoplastes</i> WW12	-----GTCGAACGCAACCTTTCGG--GTTGAGTGGCGGACGGGTGAGTAAACCGGTGA AATCTGCCCTCAGGTTCCGGGACAAACACTGG
8. NR_176473.1 <i>Allocoleopsis franciscana</i> strain PCC 7113	TGC AAGTC GAAC GGGGAC TCTTCGGAGTTCA GTGGCGGACGGGTGAGTAAACCGGTGA AATCTGCCCTCAGGTTCCGGGACAAACACTGG
9. GQ402017.1 <i>Microcoleus chthonoplastes</i> CCY0002	-----TGCGAACGCAACCTTTCGG--GTTGAGTGGCGGACGGGTGAGTAAACCGGTGA AATCTGCCCTCAGGTTCCGGGACAAACACTGG
10. EF654057.1 <i>Coleofasciculus chthonoplastes</i> WW9	-----TGCGAACGCAACCTTTCGG--GTTGAGTGGCGGACGGGTGAGTAAACCGGTGA AATCTGCCCTCAGGTTCCGGGACAAACACTGG
11. EF654051.1 <i>Coleofasciculus chthonoplastes</i> WW2	TGC AAGTC GAAC GCGAACCTTTCGG--GTTGAGTGGCGGACGGGTGAGTAAACCGGTGA AATCTGCCCTCAGGTTCCGGGACAAACACTGG
12. NR_176474.1 <i>Allocoleopsis franciscana</i> strain PCC 7111	TGC AAGTC GAAC GGGGAC TCTTCGGAGTTCA GTGGCGGACGGGTGAGTAAACCGGTGA AATCTGCCCTCAGGTTCCGGGACAAACACTGG
13. GQ402024.1 <i>Microcoleus chthonoplastes</i> CCY9608	-----TGCGAACGCAACCTTTCGG--GTTGAGTGGCGGACGGGTGAGTAAACCGGTGA AATCTGCCCTCAGGTTCCGGGACAAACACTGG
14. MF581661.1 <i>Pycnacronema brasiliensis</i> 45PC	TGC AAGTC GAAC GCGAAGTAAATACTTGA GTGGCGGACGGGTGAGTAAACCGGTGA AATCTGCCCTCAGGTTCCGGGACAAACACTGG
15. MF581660.1 <i>Pycnacronema brasiliensis</i> 44PC	TGC AAGTC GAAC GCGAAGTAAATACTTGA GTGGCGGACGGGTGAGTAAACCGGTGA AATCTGCCCTCAGGTTCCGGGACAAACACTGG
16. KC311865.1 <i>Microcoleus steenstrupii</i> ATAI2-3-DP02	-----TGCGAACGCAACCTTTCGG--GTTGAGTGGCGGACGGGTGAGTAAACCGGTGA AATCTGCCCTCAGGTTCCGGGACAAACACTGG
17. GQ402021.1 <i>Microcoleus chthonoplastes</i> CCY9605	-----TGCGAACGCAACCTTTCGG--GTTGAGTGGCGGACGGGTGAGTAAACCGGTGA AATCTGCCCTCAGGTTCCGGGACAAACACTGG
18. MF581662.1 <i>Pycnacronema brasiliensis</i> 46PC	TGC AAGTC GAAC GCGAAGTAAATACTTGA GTGGCGGACGGGTGAGTAAACCGGTGA AATCTGCCCTCAGGTTCCGGGACAAACACTGG
19. MF581658.1 <i>Pycnacronema marmorum</i> 42PC	TGC AAGTC GAAC GGGGAGTAAATACTTCA GTGGCGGACGGGTGAGTAAACCGGTGA AATCTGCCCTCAGGTTCCGGGACAAACACTGG
20. GQ402022.1 <i>Microcoleus chthonoplastes</i> CCY9606	-----TGCGAACGCAACCTTTCGG--GTTGAGTGGCGGACGGGTGAGTAAACCGGTGA AATCTGCCCTCAGGTTCCGGGACAAACACTGG
21. EF654059.1 <i>Coleofasciculus chthonoplastes</i> WW11	-----GTCGAACGCAACCTTTCGG--GTTGAGTGGCGGACGGGTGAGTAAACCGGTGA AATCTGCCCTCAGGTTCCGGGACAAACACTGG
22. EF654055.1 <i>Coleofasciculus chthonoplastes</i> SAG 2209	TGC AAGTC GAAC GCGAACCTTTCGG--GTTGAGTGGCGGACGGGTGAGTAAACCGGTGA AATCTGCCCTCAGGTTCCGGGACAAACACTGG
23. EF654048.1 <i>Coleofasciculus chthonoplastes</i> TOW	TGC AAGTC GAAC GCGAACCTTTCGG--GTTGAGTGGCGGACGGGTGAGTAAACCGGTGA AATCTGCCCTCAGGTTCCGGGACAAACACTGG
24. EF654047.1 <i>Coleofasciculus chthonoplastes</i> STO	TGC AAGTC GAAC GCGAACCTTTCGG--GTTGAGTGGCGGACGGGTGAGTAAACCGGTGA AATCTGCCCTCAGGTTCCGGGACAAACACTGG
25. Ceba F59	TGC AAGTC GAAC GGGGGT A GAAATACCCTAGTGGCGGACGGGTGAGTAAACCGGTGA AATCTGCCCTCAGGTTCCGGGACAAACACTGG
26. Sequence 1	TGC AAGTC GAAC GGGGGT A GAAATACCCTAGTGGCGGACGGGTGAGTAAACCGGTGA AATCTGCCCTCAGGTTCCGGGACAAACACTGG

Site # 1 with w/o gaps Selected genetic code: Standard

### 4. Ceba F23 – *Laspinema thermale*.

M1: Alignment Explorer (*Laspinema thermale* 05 V1.mas)

Data Edit Search Alignment Web Sequencer Display Help

DNA Sequences Translated Protein Sequences

Species/Abbrv	Sequence
1. MF360991.1:39-780 <i>Laspinema thermale</i> HK S5	TGC AAGTC GAAC GGGTGAACCTTTCAGGGTTCATAGTGGCGGACGGGTGAGTAAACCGGTGA AATCTGCCCTCAGGTTCCGGGACAAACA
2. JN382221.1:1-742 <i>Phormidium terebriforme</i> UAM 409	TGC AAGTC GAAC GGGTGAACCTTTCAGGGTTCATAGTGGCGGACGGGTGAGTAAACCGGTGA AATCTGCCCTCAGGTTCCGGGACAAACA
3. MN953009.1:40-781 <i>Lyngbya lagerheimii</i> SAG 24.99	TGC AAGTC GAAC GGGTGAACCTTTCAGGGTTCATAGTGGCGGACGGGTGAGTAAACCGGTGA AATCTGCCCTCAGGTTCCGGGACAAACA
4. MF360981.1:1-719 <i>Laspinema thermale</i> HK S3 clone c1	-----GGGTTTCATAGTGGCGGACGGGTGAGTAAACCGGTGA AATCTGCCCTCAGGTTCCGGGACAAACA
5. NR_102463.1:47-788 <i>Oscillatoria acuminata</i> PCC 6304	TGC AAGTC GAAC GGGTGAACCTTTCAGGGTTCATAGTGGCGGACGGGTGAGTAAACCGGTGA AATCTGCCCTCAGGTTCCGGGACAAACA
6. AY493600.1:29-770 <i>Phormidium pseudopriestleyi</i> ANT.LACV5.3	TGC AAGTC GAAC GGGTGAACCTTTCAGGGTTCATAGTGGCGGACGGGTGAGTAAACCGGTGA AATCTGCCCTCAGGTTCCGGGACAAACA
7. NR_125647.1:1-705 <i>Phormidium etoshii</i> strain KR2008/49	-----GGAACGGGTGAGTAAACCGGTGA AATCTGCCCTCAGGTTCCGGGACAAACA
8. MW364270.1:29-765 <i>Oscillatoria acuminata</i> VMRHK2020 165	TGC AAGTC GAAC GGGTGAACCTTTCAGGGTTCATAGTGGCGGACGGGTGAGTAAACCGGTGA AATCTGCCCTCAGGTTCCGGGACAAACA
9. NR_112111.1:29-765 <i>Oscillatoria acuminata</i> PCC 6304	TGC AAGTC GAAC GGGTGAACCTTTCAGGGTTCATAGTGGCGGACGGGTGAGTAAACCGGTGA AATCTGCCCTCAGGTTCCGGGACAAACA
10. MF360990.1:1-690 <i>Laspinema thermale</i> HK S5 clone c3	-----ACGTGA AATCTGCCCTCAGGTTCCGGGACAAACA
11. HQ287188.1:1-688 <i>Uncultured bacterium</i> clone JW41-B009 16	-----GTGA AATCTGCCCTCAGGTTCCGGGACAAACA
12. AF218375.1:1-706 <i>Phormidium lumbricale</i> UTCC 476	-----CGGACGGGTGAGTAAACCGGTGA AATCTGCCCTCAGGTTCCGGGACAAACA
13. KT347094.1:1-668 <i>Phormidium pseudopriestleyi</i> FRX01	-----CGGACGGGTGAGTAAACCGGTGA AATCTGCCCTCAGGTTCCGGGACAAACA
14. MF360989.1:1-657 <i>Laspinema thermale</i> HK S5 clone c2	-----
15. MF360988.1:1-641 <i>Laspinema thermale</i> HK S5 clone c1	-----
16. JN790960.1:28-769 <i>Phormidium tenue</i> Simbu2	TGC AAGTC GAAC GGGTGAACCTTTCAGGGTTCATAGTGGGGGACGGGTGAGTAAACCGGTGA AATCTGCCCTCAGGTTCCGGGACAAACA
17. MF360982.1:1-625 <i>Laspinema thermale</i> HK S3 clone c2	-----
18. KP890764.1:29-765 <i>Oscillatoria acuminata</i> SERB 42	TGC AAAATCGAACGGTGAACCTTTCAGGGTTCATAGTGGGGGACGGGTGAGTAAACCGGTGA AATCTGCCCTCAGGTTCCGGGACAAACA
19. MF360983.1:1-613 <i>Laspinema thermale</i> HK S3 clone c4	-----
20. JN166653.1:1-615 <i>Phormidium janthiphorum</i> GSP204-3	-----ATCTGCCCTCAGGTTCCGGGACAAACA
21. KM982571.1:28-769 <i>Phormidium tenue</i> SERB 22	TGC AAGTC GAAC GGGTGAACCTTTCAGGGTTCATAGTGGGGGACGGGTGAGTAAACCGGTGA AATCTGCCCTCAGGTTCCGGGACAAACA
22. <i>Laspinema</i> this study	TGC AAGTC GAAC GGGTGAACCTTTCAGGGTTCATAGTGGCGGACGGGTGAGTAAACCGGTGA AATCTGCCCTCAGGTTCCGGGACAAACA
23. Sequence 1	TGC AAGTC GAAC GGGTGAACCTTTCAGGGTTCATAGTGGCGGACGGGTGAGTAAACCGGTGA AATCTGCCCTCAGGTTCCGGGACAAACA

Site # 1 with w/o gaps Selected genetic code: Standard

## REFERENCIAS

- Adetunji, C. O., Oloke, J. K., Bello, O. M., Pradeep, M. & Jolly, R. S. (2019). Isolation, structural elucidation and bioherbicidal activity of an eco-friendly bioactive 2-(hydroxymethyl) phenol, from *Pseudomonas aeruginosa* (C1501) and its ecotoxicological evaluation on soil. *Environmental Technology & Innovation*, 13: 304-317.
- Anagnostidis, K. (1989). *Geitlerinema*, a new genus of oscillatoriacean cyanophytes. *Plant systematics and evolution*, 164(1), 33-46.
- Anagnostidis, K. & Komárek, J. (1985). Modern Approach to the Classification System of Cyanophytes. 1-Introduction. *Algological Studies/Archiv für Hydrobiologie, Supplement Volumes*, 38-39: 291-302.
- Anagnostidis, K. & Komárek, J. (1988). Modern approach to the classification system of Cyanophytes 3- Oscillatoriales. *Algological Studies/Archiv für Hydrobiologie, Supplement Volumes*, 80 (50–53): 327–472.
- Anagnostidis, K. & Komárek, J. (1990). Modern approach to the classification system of Cyanophytes 5-Stigonematales. *Archiv für Hydrobiologie. Supplementband. Monographische Beiträge*, 86: 1-73.
- Berry, J. P., Gantar, M., Perez, M. H., Berry, G. & Noriega, F. G. (2008). Cyanobacterial toxins as allelochemicals with potential applications as algacides, herbicides and insecticides. *Marine Drugs*, 6(2): 117-146.
- Berthold, D. E., Leffler, F. W. & Laughinghouse, H. D. (2020). Untangling filamentous marine cyanobacterial diversity from the coast of South Florida with the description of Vermifilaceae fam. nov. and three new genera: *Leptochromothrix* gen. nov., *Ophiophycus* gen. nov., and *Vermifilum* gen. nov. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 106(107101): 1-18.
- Berthold, D.E., Lefler, F.W. & Laughinghouse, H.D. (2022). Recognizing novel cyanobacterial diversity in marine benthic mats, with the description of Sirenicapillariaceae fam. nov. and *Tigrinifilum* gen. nov., and seven new species. *Phycologia*, 61(1): 146-165.
- Bižić, M., Klintzsch, T., Ionescu, D., Hindiyeh, M. Y., Günthel, M., Muro-Pastor, A. M., Eckert, W., Urich, T., Keppler, F. & Grossart, H. P. (2020). Aquatic and terrestrial cyanobacteria produce methane. *Science advances*, 6(3): 1-9.
- Brenes-Guillen, L., Fuentes-Schweizer, P., García-Piñeres, A., & Uribe-Lorío, L. (2019). Tolerance and sorption of Bromacil and Paraquat by thermophilic cyanobacteria *Leptolyngbya* 7M from Costa Rican thermal springs. *Journal of Contaminant Hydrology*, 226: 103539.
- Brilisauer, K., Rapp, J., Rath, P., Schöllhorn, A., Bleul, L., Weiß, E., Stahl, M., Grond, S. & Forchhammer, K. (2019). Cyanobacterial antimetabolite 7-deoxy-sedoheptulose blocks the shikimate pathway to inhibit the growth of prototrophic organisms. *Nature communications*, 10(1): 1-11.
- Caires, T. A., Lyra, G. D. M., Hentschke, G. S., Da Silva, A. M. S., De Araujo, V. L., Sant'Anna, C. L., & Nunes, J. M. (2018). Polyphasic delimitation of a filamentous marine genus, *Capillus* gen. nov. (Cyanobacteria, Oscillatoriaceae) with the description of two Brazilian species. *Algae*, 33(4): 291-304.
- Castenholz, R. W., Wilmotte, A., Herdman, M., Rippka, R., Waterbury, J. B., Itean, I. & Hoffmann, L. (2001). Phylum BX. Cyanobacteria. En: Boone, D. R., Castenholz, R. W. & Garrity, G. M. (eds.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. (pp. 473-599). New York: Springer Science & Business Media.

- Cronberg, G., Carpenter, E. J. & Carmichael, W. W. (2003). Taxonomy of Harmful Cyanobacteria. En: Hallegraeff, G. M., Anderson, D. M & Cembella, A. D. (eds.), *Manual on Harmful marine microalgae*. (pp. 523-562). Francia: UNESCO publishing.
- Cronberg, G. & Dotter, A. H. (2006). *Manual on aquatic cyanobacteria: A photo guide and a synopsis of their toxicology*. Copenhagen: Intergovernmental Oceanographic Commission, Unesco.
- Daniel, J. J., Zabot, G. L., Tres, M. V., Harakava, R., Kuhn, R. C. & Mazutti, M. A. (2018). Fusarium fujikuroi: A novel source of metabolites with herbicidal activity. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 14: 314-320.
- Demay, J., Bernard, C., Reinhardt, A. & Marie, B. (2019). Natural products from cyanobacteria: focus on beneficial activities. *Marine Drugs*, 17(6): 1-49.
- Demay, J., Halary, S., Knittel-Obrecht, A., Villa, P., Duval, C., Hamlaoui, S., Roussel, T., Yéprémian, C., Reinhardt, A., Bernard, C. & Marie B. (2021). Anti-Inflammatory, Antioxidant, and Wound Healing Properties of Cyanobacteria from Thermal Mud of Balaruc-Les-Bains, France: A Multi-Approach Study. *Biomolecules*, 11(1): 1-21.
- Duval, C., Hamlaoui, S., Piquet, B., Toutirais, G., Yéprémian, C., Reinhardt, A., Duperron, S., Marie, B., Demay, J. & Bernard, C. (2021). Diversity of cyanobacteria from thermal muds (Balaruc-Les-Bains, France) with the description of *Pseudochroococcus coutei* gen. nov., sp. nov. *FEMS Microbes*, 2: 1-19.
- Dvořák, P., Poulíčková, A., Hašler, P., Belli, M., Casamatta, D. A. & Papini, A. (2015). Species concepts and speciation factors in cyanobacteria, with connection to the problems of diversity and classification. *Biodiversity and Conservation*, 24(4): 739-757.
- Entzeroth, M., Mead, D. J., Patterson, G. M. & Moore, R. E. (1985). A herbicidal fatty acid produced by *Lyngbya aestuarii*. *Phytochemistry*, 24(12): 2875-2876.
- Fernández-Carrera, A. (2013). *Trichodesmium* spp y fijación de N<sub>2</sub> en el océano Atlántico tropical y subtropical (Tesis Doctoral). Universidad de Vigo, Pontevedra, España.
- Ferrusquía-Villafranca, I. (2007). Ensayo sobre la caracterización y significación biológica. En I. Luna, J. J. Morrone y D. Espinosa (eds.), *Biodiversidad de la Faja Volcánica Transmexicana*, (pp 7-24). Ciudad de México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Flores, E. & Wolk, C. P. (1986). Production, by filamentous, nitrogen-fixing cyanobacteria, of a bacteriocin and of other antibiotics that kill related strains. *Archives of microbiology*, 145(3): 215-219.
- Gámez, N., Escalante, T., Rodríguez, G., Linaje, M. & Morrone, J. J. (2012). Caracterización biogeográfica de la Faja Volcánica Transmexicana y análisis de los patrones de distribución de su mastofauna. *Revista mexicana de biodiversidad*, 83(1): 258-272.
- Gara-Ali, M., Zili, F., Hosni, K., Ouada, H. B. & Ben-Mahrez, K. (2021). Lipophilic extracts of the thermophilic cyanobacterium *Leptolyngbya* sp. and chlorophyte *Graesiella* sp. and their potential use as food and anticancer agents. *Algal Research*, 60: 102511.
- Gleason, F. K. & Paulson, J. L. (1984). Site of action of the natural algicide, cyanobacterin, in the blue-green alga, *Synechococcus* sp. *Archives of Microbiology*, 138(3): 273-277.
- Gleason, F. K. & Case, D. E. (1986). Activity of the natural algicide, cyanobacterin, on angiosperms. *Plant Physiology*, 80(4): 834-837.
- Gomont, M. (1892'). Monographie des Oscillariées (Nostocacées Homocystées). Deuxième partie. - Lyngbyées. *Annales des Sciences Naturelles, Botanique, Série 7* 16: 91-264.

- Gromov, B. V., Vepritskiy, A. A., Titova, N. N., Mamkayeva, K. A. & Alexandrova, O. V. (1991). Production of the antibiotic cyanobacterin LU-1 by *Nostoc linckia* CALU 892 (cyanobacterium). *Journal of Applied Phycology*, 3(1): 55-59.
- Guihéneuf, F., Khan, A., Tran L. P. (2016). Genetic engineering: a promising tool to engender physiological, biochemical, and molecular stress resilience in green microalgae. *Frontiers in Plant Science*, 7(400): 1-8.
- Guiry, M.D. & Guiry, G.M. (2022). AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <https://www.algaebase.org>; searched on 20 de mayo de 2022.
- Hagmann, L. & Jüttner, F. (1996). Fischerellin A, a novel photosystem-II-inhibiting allelochemical of the cyanobacterium *Fischerella muscicola* with antifungal and herbicidal activity. *Tetrahedron letters*, 37(36): 6539-6542.
- Hasler, P., Casametta, D., Dvorák, P. & Poulíková, A. (2017). *Jacksonvillea apiculata* (Oscillatoriales, Cyanobacteria) gen. & sp. nov.: a new genus of filamentous, epipsamic cyanobacteria from North Florida. *Phycologia*, 56(3): 284–295.
- Hauer, T. & Komárek, J. (2022). CyanoDB 2.0 - On-line database of cyanobacterial genera. - World-wide electronic publication, University of South Bohemia & Institute of Botany AS CR, <http://www.cyanodb.cz>.
- Heidari, F., Zima J. J., Riahi, H. & Hauer, T. (2018). New simple trichal cyanobacterial taxa isolated from radioactive thermal springs. *Fottea* 18(2): 137-149.
- Hirata, K., Yoshitomi, S., Dwi, S., Iwabe, O., Mahakhant, A., Polchai, J. & Miyamoto, K. (2003). Bioactivities of nostocine A produced by a freshwater cyanobacterium *Nostoc spongiaeforme* TISTR 8169. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 95(5): 512-517.
- Hoffmann, L., Komárek, J. & Kaštovský, J. (2005). System of cyanoprokaryotes (cyanobacteria) – state in 2004. *Algological Studies*, 117(1): 95–115.
- Hrouzek, P., Lukešová, A., Mareš, J. & Ventura, S. (2013). Description of the cyanobacterial genus *Desmonostoc* gen. nov. including *D. muscorum* comb. nov. as a distinct, phylogenetically coherent taxon related to the genus *Nostoc*. *Fottea*, 13: 201-213.
- Iqbal, N., Khaliq, A. & Cheema, Z. A. (2020). Weed control through allelopathic crop water extracts and S-metolachlor in cotton. *Information Processing in Agriculture*, 7(1): 165-172.
- Knoll, A. H. (2003). The geological consequences of evolution. *Geobiology*, 1: 3–14.
- Komárek, J. (2002). Problems in cyanobacterial taxonomy: implication for most common toxin producing species. *Rapporti Istisan*, (9), 6-43.
- Komárek, J. (2006). Cyanobacterial taxonomy: current problems and prospects for the integration of traditional and molecular approaches. *Algae*, 21(4): 349-375.
- Komárek, J. (2010). Recent changes (2008) in cyanobacteria taxonomy based on a combination of molecular background with phenotype and ecological consequences (genus and species concept). *Hydrobiologia*, 639(1): 245-259.
- Komárek, J. (2016). A polyphasic approach for the taxonomy of cyanobacteria: principles and applications. *European Journal of Phycology*, 51(3): 346-353.
- Komárek, J. (2018). Delimitation of the family Oscillatoriaceae (Cyanobacteria) according to the modern polyphasic approach (introductory review). *Brazilian Journal of Botany*, 41: 449-456.
- Komárek, J. (2020). Quo vadis, taxonomy of cyanobacteria (2019). *Fottea*, 20(1): 104-110.
- Komárek, J. & Kaštovsky, J. (2003). Coincidences of structural and molecular characters in evolutionary lines of cyanobacteria. *Algological Studies (Cyanobacterial Reserch 4)*, 109: 305-325.



- Komárek, J. & Anagnostidis, K. (2005). *Cyanoprokaryota 2. Teil/2nd Part: Oscillatoriales. lin: Süßwasserflora von Mitteleuropa 19/2*. Germany: Elsevier Spektrum Akademischer Verlag.
- Komárek, J., Kaštovský, J., Mareš, J. & Johansen, J. R. (2014). Taxonomic classification of cyanoprokaryotes (cyanobacterial genera) 2014, using a polyphasic approach. *Preslia*, 86(4): 295-335.
- Kondrateva, N. V. (1968). Sin'o-zeleni vodorosti-Cyanophyta.[Blue-green algae-Cyanophyta.]. *Vizn. prishov. vodorost. Ukr. RSR*, 1(2), 524.
- Kumar, H. D. & Sing, H. N. (1979). *A textbook on algae*. Hong Kong: The MacMillan Press LTD.
- Kützing, F. T. (1843). *Phycologia generalis oder Anatomie, Physiologie und Systemkunde der Tange. Mit 80 farbig gedruckten Tafeln, gezeichnet und gravirt vom Verfasser*. Leipzig: F.A. Brockhaus.
- Lee, S. M., Radhakrishnan R., Kang, S. M., Kim, J. H., Lee, I. Y., Moon, B. K., Yoon, B. W. & Lee, I. J. (2015). Phytotoxic mechanisms of bur cucumber seed extracts on lettuce with special reference to analysis of chloroplast proteins, phytohormones, and nutritional elements. *Ecotoxicology Environmental Safety*, 122: 230–237.
- León-Tejera, H. P., González-Reséndiz, L., Johansen, J. R., Segal-Kischinevsky, C., Escobar, V. & Lous, L. A. (2016). Phylogenetic position reevaluation of *Kyrtuthrix* and description of a new species *K. huatulcensis* from Mexico's Pacific coast. *Phytotaxa*, 278(1): 1-18.
- López-Obrador, A. M. (2021). *A Mitad del Camino*. México: Planeta.
- Mareš, J. (2018). Multilocus and SSU rRNA gene phylogenetic analyses of available cyanobacterial genomes, and their relation to the current taxonomic system. *Hydrobiologia*, 811(1): 19-34.
- Martins, M. D., Machado de Lima, N. M. & Branco, L. H. Z. (2018). Polyphasic approach using multilocus analyses supports the establishment of the new aerophytic cyanobacterial genus *Pycnacronema* (Coleofasciculaceae, Oscillatoriales). *Journal of Phycology*, 55: 146-159.
- Mazard, S., Penesyan, A., Ostrowski, M., Paulsen, I. T. & Egan, S. (2016). Tiny Microbes with a Big Impact: The Role of Cyanobacteria and Their Metabolites in Shaping Our Future. *Marine Drugs*, 14(5): 1-19.
- Mishra, A. K., Tiwari, D. N. & Rai, A. N. (2019). *Cyanobacteria: From Basic Science to Applications*. London: Academic Press.
- Monsalves-Alvarez, M., Morales, P. E., Castro-Sepulveda, M., Sepulveda, C., Rodriguez, J. M., Chiong, M., Eisner, V., Lavandero, S. & Troncoso, R. (2020).  $\beta$ -Hydroxybutyrate Increases Exercise Capacity Associated with Changes in Mitochondrial Function in Skeletal Muscle. *Nutrients*, 12(7): 1930.
- Moreira-Fernandes, V., Giraldo-Silva, A., Roush, D & Garcia-Pichel, F. (2021). Coleofasciculaceae, a monophyletic home for the *Microcoleus steenstrupii* complex and other desiccation-tolerant filamentous cyanobacteria. *Journal of Phycology*, 57(5): 1563-1579.
- Nabout, J. C., Da Silva-Rocha, B., Carneiro, F. M. & Sant'Anna, C. L. (2013). How many species of Cyanobacteria are there? Using a discovery curve to predict the species number. *Biodiversity and conservation*, 22(12): 2907-2918.
- Neilan, B. A., Jacobs, D. & Goodman, A. E. (1995). Genetic diversity and phylogeny of toxic cyanobacteria determined by DNA polymorphisms within the phycocyanin locus. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(11): 3875-3883.
- Novelo, E. & Tavera, R. (2011). Un panorama gráfico de las algas de agua dulce de México. *Hidrobiológica*, 21(3): 333-341.

- Novelo, E. & Tavera, R. (2022). bdLACET Base de datos de algas continentales. Facultad de Ciencias, UNAM. México. Disponible en: <https://bdlacet.mx>.
- Oliva, M. M. & Garduño, S. G. (2017). *Cianobacterias. Cyanobacteria, Cyanoprokaryota*. México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Oren, A. (2011). Cyanobacterial systematics and nomenclature as featured in the international bulletin of bacteriological nomenclature and taxonomy/international journal of systematic bacteriology/international journal of systematic and evolutionary microbiology. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 61(1): 10-15.
- Oren, A. & Ventura, S. (2017). The current status of cyanobacterial nomenclature under the “prokaryotic” and the “botanical” code. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 110:1257-1269.
- Pagels, F., Guedes, A. C., Amaro, H. M., Kijjoa, A. & Vasconcelos, V. (2019). Phycobiliproteins from cyanobacteria: Chemistry and biotechnological applications. *Biotechnology advances*, 37(3): 422-443.
- Panda, B., Jain, P., Sharma, L. & Mallick, N. (2006). Optimization of cultural and nutritional conditions for accumulation of poly- $\beta$ -hydroxybutyrate in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Bioresource Technology*, 97(11): 1296-1301.
- Parker, C. T., Tindall, B. J. & Garrity, G. M. (2019). International Code of Nomenclature of Prokaryotes. Prokaryotic Code. 2008. Revision. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 69(1A): S1-S111.
- Pflugmacher, S. (2002). Possible allelopathic effects of cyanotoxins, with reference to microcystin-LR, in aquatic ecosystems. *Environmental Toxicology: An International Journal*, 17(4): 407-413.
- Rippka, R., Deruelles J., Waterbury J. B., Herdmant M. & Stanier R. Y. (1979). Generic Assignments, Strain Histories and Properties of Pure Cultures of Cyanobacteria. *Journal of General Microbiology*, 111: 1-61.
- Rout, N. P. Khandual, S., Gutierrez-Mora, A., Gallardo-Valdez, J., Rodríguez-Garay, G., Ibarra-Montoya, J. L. & Vega-Valero, G. (2013). Isolation, identification and germplasm preservation of different native *Spirulina* species from Western Mexico. *American Journal of Plant Sciences*, 4(12): 65-71.
- Rout, N. P., Khandual, S., Gutierrez-Mora, A., Ibarra-Montoya, J. L. & Vega-Valero, G. (2015). Divergence in three newly identified *Arthrospira* species from Mexico. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 31(7): 1157-1165.
- Rzedowski, J. (2020). *Catálogo preliminar de especies de plantas vasculares de distribución restringida al Eje Volcánico Transversal. Flora del Bajío y de Regiones Adyacentes, Fascículo Complementario XXXIV*. Pátzcuaro, Michoacán: Instituto de Ecología AC.
- Saker, M. L., Jungblut, A. D., Neilan, B. A., Rawn, D. F. & Vasconcelos, V. M. (2005). Detection of microcystin synthetase genes in health food supplements containing the freshwater cyanobacterium *Aphanizomenon flos-aquae*. *Toxicon*, 46(5): 555-562.
- Sandh, G., Xu., L. & Berman, B. (2012). Diazocyte development in the marine diazotrophic cyanobacterium *Trichodesmium*. *Microbiology*, 158(2): 345-352.
- Sant'Anna, C. L., Zanini, B. L. H., De Paiva, A. M. T., Werner V. R. & Da Silva, M. C. F. (2017). 4 Cyanobacteria. In Bicudo, C. & Menezes, M. (eds). *Gêneros de Algas de Águas Continentais do Brasil: chave para identificação e descrições* (3rd ed.) (pp.33-108). São Paulo: Rima.
- Schlegel, I., Doan, N. T., De Chazal, N. & Smith, G. D. (1998). Antibiotic activity of new cyanobacterial isolates from Australia and Asia against green algae and cyanobacteria. *Journal of Applied Phycology*, 10(5): 471-479.

- Singh, R., Parihar, P., Singh, M., Bajguz, A., Kumar, J., Singh, S., Singh, V.P. & Prasad, S.M. (2017). Uncovering potential applications of cyanobacteria and algal metabolites in biology, agriculture and medicine: Current status and future prospects. *Frontiers in Microbiology*, 8 (515): 1-37.
- Singh, S. P., Rastogi, R. P., Häder, D. P. & Sinha, R. P. (2011). An improved method for genomic DNA extraction from cyanobacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(5): 1225-1230.
- Soltys, D., Krasuska, U., Bogatek, R. & Gniazdowska, A. (2013). Allelochemicals as bioherbicides—Present and perspectives. In: Price, A. J. & Kelton, J. A. (eds.), *Herbicides-Current Research and Case Studies in Use* (pp. 517-542). Croatia: Intech Open.
- Stadnichuk, I. N., Krasilnikov, P. M. & Zlenko, D. V. (2015). Cyanobacterial phycobilisomes and phycobiliproteins. *Microbiology*, 84(2): 101-111.
- Strunecky, O., Komárek, J., Johansen, J., Lukesová, A. & Elster, J. (2013). Molecular and morphological criteria for revision of the genus *Microcoleus* (Oscillatoriales, cyanobacteria). *Journal of Phycology*, 49(6): 1167-1180.
- Suárez-Mota, M. E., Téllez-Valdés, O., Lira-Saade, R., & Villaseñor, J. L. (2013). Una regionalización de la Faja Volcánica Transmexicana con base en su riqueza florística. *Botanical Sciences*, 91(1): 93-105.
- Tamura, K. & Nei, M. (1993). Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolutions*, 10: 512-526.
- Tamura, K., Stecher, G. & Kumar, S. (2021). MEGA 11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution*, 38(7): 3022-3027.
- Tomer, A. K. & Dadheech, P. K. (2020). Bioprospecting antioxidants in some non-heterocystous filamentous cyanobacteria inhabit water bodies of semi-arid Rajasthan in India. *Vegetos*, 33(3): 601-609.
- Tomitani, A., Knoll, A. H., Cavanaugh, C. M. & Ohno, T. (2006). The evolutionary diversification of cyanobacteria: Molecular-phylogenetic and paleontological perspectives. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 3(4): 5442-5447.
- Tsolcha, O. N., Tekerlekopoulou, A. G., Akratos, C. S., Aggelis, G., Genitsaris, S., Moustaka-Gouni, M. & Vayenas, D. V. (2017). Biotreatment of raisin and winery wastewaters and simultaneous biodiesel production using a *Leptolyngbya*-based microbial consortium. *Journal of Cleaner Production*, 148: 185-193.
- Turland, N. J., Wiersema, J. H., Barrie, F. R., Greuter, W., Hawksworth, D. L., Herendeen, P. S., Knapp, S., Kusber, W. H., Li, D. Z., Marhold, K., May, T. W., McNeill, J., Monro, A. M., Prado, J., Price, M. J. & Smith, G. F. (eds.) (2018). *International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (Shenzhen Code) adopted by the Nineteenth International Botanical Congress Shenzhen, China, July 2017*. Regnum Vegetabile 159. Glashütten: Koeltz Botanical Books.
- Van Apeldoorn, M. E., Van Egmond, H. P., Speijers, G. J. & Bakker, G. J. (2007). Toxins of cyanobacteria. *Molecular nutrition & Food research*, 51(1): 7-60.
- Van Bruggen, A. H., He, M. M., Shin, K., Mai, V., Jeong, K. C., Finckh, M. R. & Morris Jr, J. G. (2018). Environmental and health effects of the herbicide glyphosate. *Science of the Total Environment*, 616: 255-268.
- Vepritskiĭ, A. A., Gromov, B. V., Titova, N. N. & Mamkaeva, K. A. (1991). Production of the antibiotic-algicide cyanobacterin LU-2 by a filamentous cyanobacterium *Nostoc* sp. *Mikrobiologiya*, 60(6): 21-25.
- Willis, A. & Woodhouse, J. N. (2020). Defining cyanobacterial species: Diversity and description through genomics. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 39(2): 101-124.

- Zada, S., Ahmad, A., Khan, S., Yu, X., Chang, K., Iqbal, A., Ahmad, A., Ullah, S., Raza, M., Khan, A., Ahmad, S. & Fu, P. (2018). Biogenic synthesis of silver nanoparticles using extracts of *Leptolyngbya* JSC-1 that induce apoptosis in HeLa cell line and exterminate pathogenic bacteria. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 46(S3): S471-S480.
- Zaragoza-Rotstein, M. A. (2002). Cyanophyta del Río Caliente del Bosque La Primavera. Tesis de Licenciatura, Universidad de Guadalajara.
- Zimba, P. V., Shalygin, S., Huang, I. S., Momcilovic, M. & Abdulla, H. (2020). A new boring toxin producer—*Perforafilum tunnelli* gen. & sp. nov. (Oscillatoriales, Cyanobacteria) isolated from Laguna Madre, Texas, USA. *Phycologia*, 60(1): 10-24.