

## Evaluación de la tolerancia lumínica de cianobacterias aisladas desde biocostras de ecosistemas semidesérticos

Evaluation of light tolerance of cyanobacteria isolated from biocrusts present in semi-desert ecosystems

Sergio Gustavo García Sánchez<sup>1</sup>, David Gabriel Barabata Olan<sup>1</sup>, Emili Samaria Sandoval Magdaleno<sup>2</sup>, Humberto Negrete Meneses<sup>2</sup>, Jimena Medina Mendoza<sup>2</sup>, Glenda Edith Cea Barcia<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> Instituto Tecnológico Nacional de México Campus Villahermosa, México

<sup>2</sup> División de Ciencias de la Vida, Universidad de Guanajuato, México

glendacea@ugto.mx<sup>2\*</sup>

### Resumen

Actualmente, la degradación de suelos es uno de los grandes problemas que debe enfrentar la humanidad. Por el cambio climático, los suelos de ecosistemas de climas semidesérticos son vulnerables a la degradación. Una alternativa emergente para la recuperación de suelos degradados con estrés hídrico es la utilización de cianobacterias fijadoras de nitrógeno para la formación de tapetes o biocostras. Este tipo de cianobacterias actúan como primeras colonizadoras, creando el hábitat necesario para que los demás organismos puedan subsistir e iniciar el proceso de restauración. Sin embargo, aún se requiere de investigación científica para su implementación en ecosistemas naturales. Entre los principales retos a enfrentar para su implementación está el aislamiento de cianobacterias tolerantes a altas intensidades lumínicas y cultivables en fotobiorreactores para implementar una etapa posterior de propagación en campo. En el presente trabajo se lograron aislar dos consorcios de cianobacterias filamentosas heterocísticas desde muestras de suelos y biocostras provenientes de ecosistemas de clima semidesértico del estado de Guanajuato, México. Los consorcios aislados fueron capaces de crecer en medio líquido sin nitrógeno en fotobiorreactores de 1 L y a intensidades lumínicas de 370  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ . Los resultados obtenidos sientan las bases para el desarrollo de un proceso de producción de cianobacterias fijadoras de nitrógeno para su uso en procesos de recuperación de suelos.

**Palabras clave:** cianobacterias fijadoras de nitrógeno; biocostras; biofertilizantes.

### 1. Introducción

Las biocostras son comunidades biológicas complejas compuestas por cianobacterias, bacterias, líquenes, musgos y hongos microscópicos que se adhieren a la superficie del suelo. La diversidad de estas comunidades, es decir, la presencia y abundancia de distintos organismos cambia según el clima, conservación del ecosistema, y el tiempo desde que ocurrieron distintos disturbios, como los incendios. Por lo tanto, la diversidad y la distribución espacial de biocostras pueden indicarnos la recuperación de ecosistemas (Julieta Aribar, 2021).

La base de estas comunidades son las cianobacterias; algunas cianobacterias de las biocostras forman células especializadas para transformar el nitrógeno del aire en nitrógeno disponible (proceso denominado fijación biológica de nitrógeno), fertilizando el suelo y aumentando la calidad nutricional de pastos y arbustos. Esto les permite sobrevivir en suelos muy pobres, y aportar nitrógeno al ecosistema. Otras cianobacterias producen una vaina de mucílagos, exopolisacáridos, que les otorga protección contra la desecación, la radiación UV, y les permite desplazarse verticalmente en los primeros milímetros del suelo. Pueden deslizarse hacia la superficie en busca de humedad después de una lluvia, o hacia la profundidad, donde la radiación es menor, cuando el suelo se seca. Además, estos exopolisacáridos funcionan como un pegamento, que adhiere las partículas finas del suelo a las vainas, formando agregados estables (Ibáñez, J., 2023).

En cianobacterias, la fijación de nitrógeno la realiza una maquinaria celular llamada nitrogenasa muy sensible al oxígeno. Dado que durante la fotosíntesis se produce oxígeno, las cianobacterias han desarrollado estrategias para compatibilizar ambos procesos. Una de ellas consiste en realizar la fotosíntesis durante el día y fijar nitrógeno por la noche. La otra consiste en que algunas células del filamento sufran una transformación y se conviertan en heterocistos, que son células especializadas en la fijación de nitrógeno. Los heterocistos tienen una pared celular gruesa y carecen de la maquinaria fotosintética para evitar la presencia de oxígeno y contienen en su interior la maquinaria molecular necesaria para fijar nitrógeno.

Las cianobacterias que fijan nitrógeno son cruciales en el ciclo transformando el nitrógeno en formas utilizables para otros organismos haciendo fertilización natural, mejorando y equilibrando el ecosistema una consecuencia de esto es la sostenibilidad agrícola donde este tipo de bacterias reducen la utilización de fertilizantes sintéticos. Reduce costos y contaminación ambiental asociada a fertilizantes artificiales, teniendo usos biotecnológicos como la biorremediación y la biofertilización.

El presente estudio tiene como objetivo realizar una bioprospección de cianobacterias presentes en biocostras y en suelos de ecosistemas semidesérticos del estado de Guanajuato. Se evaluará su capacidad de crecimiento en medio líquido sin nitrógeno y su escalamiento a fotobiorreactores de 1 L operados a elevadas intensidades lumínicas.

## 2. Materiales y Métodos

Para el desarrollo de esta investigación se realizó un procedimiento estandarizado e inmerso en las etapas descritas en este artículo.

*Preparación de medios BG11, BG11-0 y Arnon.*

Para la elaboración de los medios BG11 y BG11-0 se utilizaron diferentes componentes partiendo de la preparación de 1 L (UTEX, 2024).

**Tabla 2.1.** Composición del medio BG11 y BG11-0.

Componente	Importe	Concentración de solución madre
NaNO <sub>3</sub> *	10 mL/L	30 g/200 mL de agua destilada
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	10 mL/L	0,8 g/200 mL dH <sub>2</sub> O
MgSO <sub>4</sub> •7H <sub>2</sub> O	10 mL/L	1,5 g/200 mL dH <sub>2</sub> O
CaCl <sub>2</sub> •2H <sub>2</sub> O	10 mL/L	0,72 g/200 mL dH <sub>2</sub> O
Ácido cítrico•H <sub>2</sub> O	10 mL/L	0,12 g/200 mL dH <sub>2</sub> O
Citrato de amonio férrico	10 mL/L	0,12 g/200 mL dH <sub>2</sub> O
Na <sub>2</sub> EDTA•2H <sub>2</sub> O	10 mL/L	0,02 g/200 mL dH <sub>2</sub> O
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	10 mL/L	0,4 g/200 mL dH <sub>2</sub> O
Metales traza	1 mL/L	
Tiosulfato de sodio pentahidratado* (solo medio agar) (Baker 3946)	1 mL/L	49.8 g/200 mL de dH <sub>2</sub> O

\*Los medios con este símbolo solo se añaden para el medio BG11.

Para los metales traza debe prepararse por separado partiendo de una preparación de 1 L y luego agregar el importe correspondiente para el medio (UTEX, 2024).

**Tabla 2.2.** Composición de metales traza para medio BG11 y BG11-0.

Componente	Importe
H <sub>2</sub> BO <sub>3</sub>	2,86 g/L
MnCl <sub>2</sub> •4H <sub>2</sub> O	1,81 g/L
ZnSO <sub>4</sub> •7H <sub>2</sub> O	0,22 g/L
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> •2H <sub>2</sub> O	0,39 g/L
CuSO <sub>4</sub> •5H <sub>2</sub> O	0,079 g/L
Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> •6H <sub>2</sub> O	49,4 mg/L

Posteriormente de pesar cada componente y agregar el importe correspondiente, en un matraz aforado con agua destilada aforar hasta llenar a 1 L, medir el pH y ajustar a 8.5 para inhibir el crecimiento de hongos en el medio. Por último, cubrir y esterilizar en autoclave.

Por su parte, para la elaboración del medio Arnon, se utilizaron diferentes componentes partiendo de la preparación de 1 L:

**Tabla 2.3.** Composición del medio Arnon.

Componente	Cantidad	
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.124g	a gb110 7.97
CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	0.015g	
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> · 3H <sub>2</sub> O	0.457g	
NaCl	0.117g	
Fe-EDTA	1ml	
D7, micronutrientes	1ml	

La solución Fe-EDTA se prepara por separado a partir de los siguientes componentes:

**Tabla 2.4,** Composición de solución Fe-EDTA para el medio Arnon

Componente	Cantidad
FeSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	3.7 g
EDTA	16 g
KOH	10.4 g

La solución D7 de micronutrientes debe ser preparada aparte a 1 L partiendo de los siguientes componentes:

**Tabla 2.5.** Composición de solución D7 de micronutrientes para medio Arnon.

Componente	Cantidad
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	2.86 g
MnCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O	1.81 g
ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.22 g
CuSO <sub>4</sub> · 5H <sub>2</sub> O	0.079 g
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> · 5H <sub>2</sub> O	1.26 g
CoCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	0.0403 g

Después de pesar cada componente y agregar la cantidad correspondiente en un matraz aforado, con agua destilada aforar hasta llenar a 1 L, medir el pH y ajustar a 8.5 para inhibir el crecimiento de hongos en el medio. Por último, cubrir y esterilizar en autoclave. (Arnon, 1974).

#### *Preparación de sistemas de biorreactores.*

Para iniciar con el cultivo de las cianobacterias en medios líquidos BG110 y Arnon se utilizará un pequeño sistema de biorreactores discontinuos por lote, Para asegurar una buena aireación del medio se coloca un difusor para asegurar la aireación desde el fondo de conectado con un sistema de mangueras a una bomba de aire y se coloca un pequeño filtro para después insertarlo a un conector tipo t a la salida de la bomba para alimentar a dos sistema de biorreactores, de igual forma junto a la manguera del difusor se coloca una manguera para permitir la salida de oxígeno; pues el oxígeno es un producto de la fotosíntesis que al quedar atrasado en el medio puede ser tóxico e inhibir el crecimiento (Ramirez,2013) este sistema se aseguran en un tapón de algodón con gasa quirúrgica.

#### *Esterilización de materiales y medios.*

Con el fin de eliminar todo microorganismo no deseado, se esteriliza en la autoclave a 121° C a 15 lb/plg<sup>2</sup> por 15 minutos todos los materiales a usar, tales como matraces Erlenmeyer, puntas para micropipetas, pipetas de 5 y 10 mL envueltos en papel craft, así como mangueras y filtros para el sistema de biorreactores dentro de un frasco de vidrio, así como los medios de cultivo previamente mencionados. Pasados los 15 minutos, se apaga la autoclave y se espera a que la presión baje hasta 0 para poder abrir y sacar los materiales completamente esterilizados

#### *Inoculación.*

Para desarrollar esta investigación, hay que hacer inoculación, tomar una muestra de inóculo o una concentración específica de microorganismos para realizar el cultivo bde cianobacterias. Este procedimiento se realiza bajo una campana de flujo laminar desinfectada con etanol a una concentración del 70 % y con un mechero de bunsen se buscó trabajar en un área esterilizada para realizar el procedimiento mencionado. Se toma la muestra inicial y con la ayuda de una pipeta de 10 mL y una perilla, se extrae el inóculo y se coloca en el matraz con el medio de cultivo. Este procedimiento se repetirá con diferentes muestras iniciales para cada matraz en específico.

#### *Determinación de sólidos suspendidos totales.*

Para medir la cantidad de biomasa generada durante el crecimiento de las cianobacterias se emplea la determinación de sólidos suspendidos totales según la NMX-AA-034-SCFI-2015 donde se les considera como el material constituido por los sólidos sedimentables, los sólidos suspendidos y coloidales que son retenidos por un filtro de fibra de vidrio con poro de 1,5 µm secado y llevado a masa constante a una temperatura de 105 °C ± 2 °C. La determinación de los sólidos suspendidos totales, se utiliza la fórmula  $SST = \frac{(m_6 - m_2)}{V} 1\ 000\ 000$

### *Frotis*

A fin de conocer y familiarizarse con la morfología de las cianobacterias trabajadas, se observan bajo un microscopio marca Zeiss una muestra del inóculo. Se busca dar un seguimiento semanal y observar su comportamiento, crecimiento o alguna anomalía. Para esto mediante el uso de la campana de flujo laminar, un mechero de bunsen, una micropipeta, además de porta y cubreobjetos, se toma con la micropipeta una pequeña muestra del inóculo y se coloca en un portaobjeto. Posterior a ello, con el cubreobjetos se arrastra para cubrir la muestra, se flamea tres veces para fijar y posteriormente observar al microscopio a un aumento de 40X y de 100X y mediante una cámara integrada al microscopio con un programa propio llamado AxioCam descargado en una Laptop, se observan y editan las imágenes.

### *Seguimiento del pH de los cultivos.*

Se determinó hacer un seguimiento continuo del pH de cada una de las muestras para llevar un control de estas y tomarlo como método indirecto para medir la biomasa conforme al pH, a mayor pH mayor será el crecimiento de las cianobacterias. Este procedimiento se realizará con un potenciómetro y con una frecuencia de cada dos días.

Una vez descrito el procedimiento estandarizado, la investigación consta de 4 etapas principales:

### **Etapla 1. Recolección y aislamiento de muestras en placas en medio sólido.**

#### *Recolección de muestras*

Se recolectaron muestras de biocostra en las localidades de interés natural (Rincón del Cano, Arroyo Seco y El Huizache) pertenecientes al municipio de Tierra Blanca, Guanajuato., haciendo un transecto de 100 m de largo conforme a la norma mexicana NOM-021-RECNAT-2000. Se colectaron muestras simples de biocostra de 1 cm de profundidad en cantidad suficiente para colectar directamente en placas Petri (90 mm x 15 mm). Así mismo, se tomaron muestras de suelo de un campo agrícola de la DICIVA (División de Ciencias de la Vida).

#### *Aislamiento de cianobacterias.*

Las muestras obtenidas en cada sitio se homogeneizaron y se tomó una muestra de 0.1 g de biocostra de cada sitio de colecta. Estas muestras se colocaron en tubos Eppendorf (2 mL), junto con 1.5 mL de medio BG11 y se llevaron a vórtex. Posteriormente, se tomaron 100  $\mu$ L de la mezcla y se sembraron por dispersión en placas con medio sólido agar BG11. Se incubaron bajo fotoperiodo de 12 horas de día por 12 horas de noche, a una intensidad lumínica de 50  $\mu$ mol/m<sup>2</sup>/s y temperatura de 23  $\pm$  2 °C por aproximadamente 4 semanas.

Una vez que se observó la aparición de colonias microbianas, cada cepa se aisló tomando una muestra con un asa metálica y resembrando por estría en placas agar BG11. Consecuentemente se realizó el mismo procedimiento mencionado. De esta manera se llevaron a cabo resiembras sucesivas, manteniendo las mismas condiciones de crecimiento para obtener los cultivos puros.

#### *Selección de cepas fijadoras de nitrógeno.*

Las cepas puras mantenidas en medio BG11, se resembraron en medio BG11-0 (carente de nitrógeno). Para esto, se tomó una asada con asa metálica y se resembró por estría sobre placas con medio BG11-0. Se incubaron mediante los mismos parámetros anteriormente mencionados.

**Tabla 2.6.** Procedencia de las muestras recolectadas, aisladas y seleccionadas como fijadoras de N.

Muestra	Procedencia
A	Tierra blanca, Gto.
B	DICIVA
C	DICIVA
D	DICIVA
E	Tierra blanca, Gto.
F	DICIVA

#### **Etapa 2. Cultivo en matraces Erlenmeyer de 250 mL.**

Una vez que se seleccionaron las cepas capaces de fijar nitrógeno, se tomó una colonia de cada cepa y se inoculó en un matraz Erlenmeyer (250 mL) con 100 mL de medio BG11-0 a una concentración del 10% (10 ml). Los matraces fueron mantenidos en fotoperiodo de 12h/12h, a 50  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  a  $23 \pm 2$  °C y agitación a 100 rpm durante 4 semanas. Se evaluó el pH semanalmente.

#### **Etapa 3. Resiembra en matraces Erlenmeyer de 500 mL.**

Con el objetivo de tener una mayor concentración del inóculo, así como de observar mejor su crecimiento, se realizó una resiembra de las muestras en ocho matraces Erlenmeyer siendo seis de estos ocupados a un volumen de 330 mL de medio BG11-0 a una concentración del 10% (33 mL) y dos de estos en medio Arnon al mismo volumen y concentración. Las cepas seleccionadas para la resiembra en este medio fueron la B y la E. Para conocer la biomasa inicial y final generada en esta etapa, se realizó la determinación de sólidos suspendidos totales presentados al inicio y final de esta etapa. Tomando una muestra de 30 mL y siguiendo el procedimiento previamente mencionado en la metodología. A su vez, para el correcto crecimiento de las cianobacterias, estas fueron instaladas en el sistema de biorreactores ya descrito a una intensidad lumínica de 37  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  con fotoperiodo de 12 horas de día por 12 horas de noche con el fin de simular un hábitat natural para las mismas. Se monitoreo el pH cada dos días, se ajustó de ser necesario y cada semana se hizo frotis de cada muestra.

#### **Etapa 4. Escalamiento de muestras seleccionadas en botellas Schott de 1 L.**

Para la última etapa de esta investigación, se seleccionaron únicamente las cepas que se desarrollaron y crecieron de manera adecuada en la etapa anterior. Se siguió el mismo mecanismo que la anterior, desde el sistema de biorreactores, la determinación de sólidos suspendidos, seguimiento de pH y realización de frotis. La diferencia más considerable en esta etapa es el escalamiento de matraces Erlenmeyer de 500 mL a unas botellas Schott con capacidad de 1 L y usando un volumen de 830 ml de medio de cultivo y una concentración del 10%, es decir, 83 mL de inóculo tomado de las muestras anteriores. De igual forma, para el correcto crecimiento de las cianobacterias, estas fueron instaladas en el sistema de biorreactores ya descrito a una intensidad lumínica de 370  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  con fotoperiodo de 12 horas de día por 12 horas de noche con el fin de simular un hábitat natural para las mismas. Se monitoreo el pH cada dos días, se ajustó de ser necesario y cada semana se hizo frotis de cada muestra.

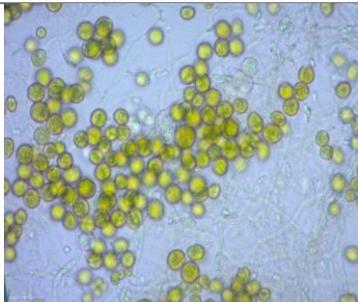
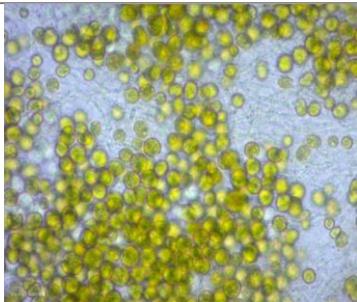
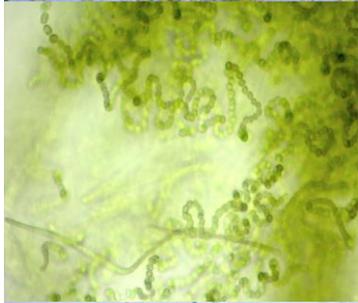
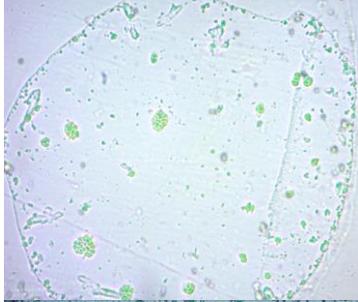
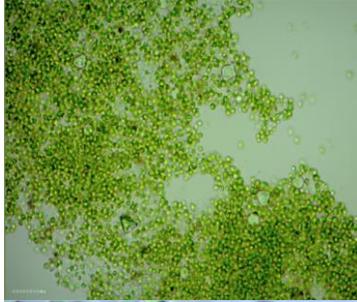
### **3. Resultados y Discusión**

Tras realizar la serie de procesos y etapas, analizando y observando los datos, podemos obtener lo siguiente:

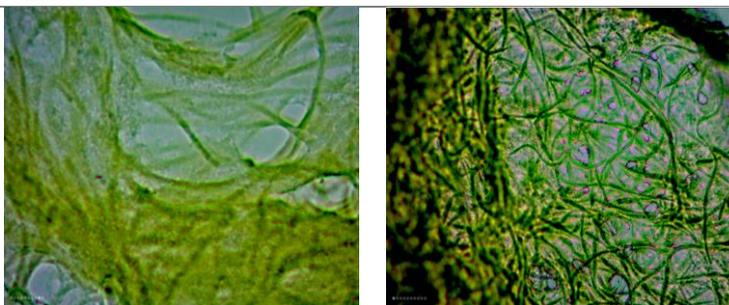
#### **3.1 Aislamiento de cepas y su cultivo en medio líquido**

Tras seguir el procedimiento anteriormente indicado en la metodología, seleccionar las cepas específicas fijadoras de nitrógeno y escalarlas a matraces Erlenmeyer de 500 mL y con el fin de conocer mejor su morfología y comportamiento, al realizar frotis y observar en el microscopio observamos:

*Tabla 3.1. Cepas vistas desde el microscopio en zoom 100X.*

Muestra	Inicio del reactor	Fin del reactor
A		
B		
C		
D		
E		

F



En el microscopio notamos que encontramos cianobacterias unicelulares y multicelulares o filamentosas y dentro de esta última por al menos tres estructuras diferentes, además de presentar heterocistos derivados de la necesidad de las cianobacterias por nitrógeno.

Por su parte, con la necesidad de conocer de manera indirecta el crecimiento de las cianobacterias dentro de los medios midiendo el pH y complementando esto con el método de determinación de sólidos suspendidos totales para conocer la biomasa inicial y final, obtenemos los siguientes resultados:

**Tabla 3.1.2.** Etapa 3. Seguimiento de pH y determinación de sólidos suspendidos totales.

Cepa	pH inicial	pH final	SST inicio (mg/L)	SST final (mg/L)
A	8.5	8.15	13.33	13.33
B	8.5	9.03	70	940
C	8.5	8.12	6.67	6.67
D	8.5	7.9	20	20
E	8.5	8.83	130	173.33
F	8.5	8.47	110	110

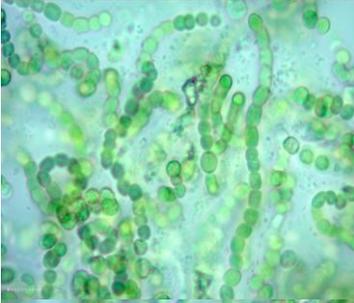
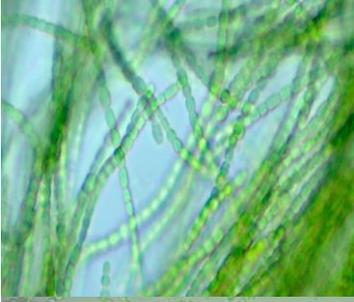
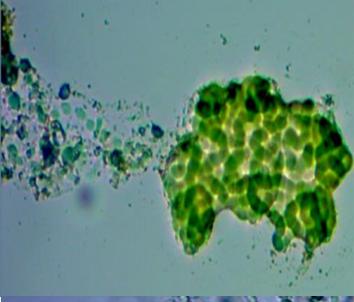
Como se puede observar las cepas A, C, D, y F al realizar su seguimiento de pH durante 16 días bajaron de forma considerable, manifestando de esta manera además de física o visualmente un decremento en su biomasa y siendo rectificado con la determinación de sólidos suspendidos totales pues en este no hubo cambio al no crecer.

Al realizar el cultivo en biorreactores de 500 ml al obtener la biomasa generada por cada cepa (tabla 3.1), se descartaron las cepas que no crecieron y se seleccionaron las 3 con mayor producción de biomasa para pasar a la siguiente etapa.

### 3.2 Escalamiento de cepas seleccionadas a 1 L.

Consecuentemente de seleccionar las muestras que estaban creciendo y estaban teniendo un mejor comportamiento, se decidió escalar 2 cepas, la B y la E en el mismo medio BG11-0 y consecuentemente en medio armon en botellas Schott con capacidad de 1 L y así poder analizar su comportamiento en este nuevo medio. Conforme al frotis realizado en cada una de ellas y vistas al microscopio, podemos observar:

*Tabla 3.2. Cepas vistas desde el microscopio en zoom 100X.*

Cepa escalada	Inicio del reactor	Fin del reactor
B		
E		
Ba		
Ea		

En la tabla anterior observamos el comportamiento de cada cepa y donde a simple vista podemos deducir que la cepa B escalada en medio Arnon no creció, cosa que, por lado contrario, la misma cepa escalada en medio BG11-0, además, el consorcio E muestra en ambos medios un crecimiento satisfactorio y que podemos comprobar con el seguimiento de pH durante 13 días y la determinación de SST.

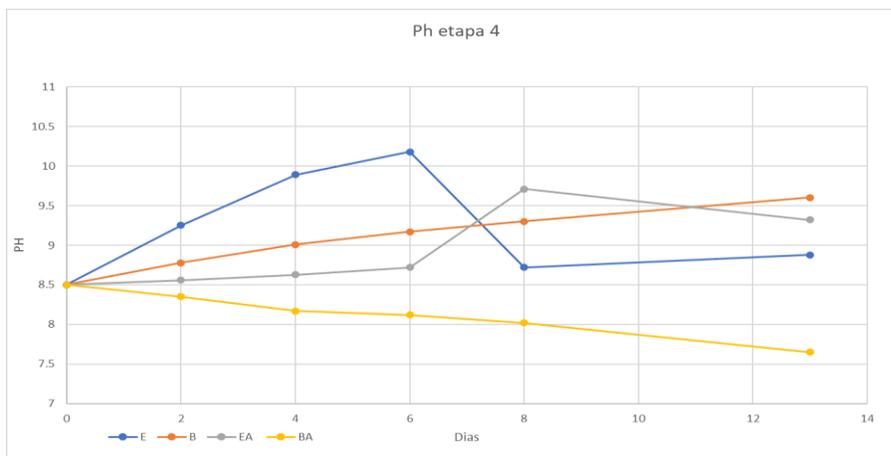
**Tabla 3.2.1.** Seguimiento de pH y determinación de sólidos suspendidos totales etapa 4.

Cepa	pH inicial	pH final	SST inicio (mg/L)	SST final (mg/L)
B	8.5	9.6	120.00	985.00
E	8.5	8.88	190	1155
Ba	8.5	7.65	113.33	113.33
E <sub>a</sub>	8.5	9.32	36.66	2640.00

Al pasar a la etapa 4 las cepas escaladas tuvieron un mejor crecimiento pues generaron mayor biomasa como se puede observar en la tabla 3.2.1, esto considerando que hubo un incremento en los lux a los que fueron cultivadas las cianobacterias pasando de los 37  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  en la etapa previa a 370  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{sy}$  se cambió el recipiente de un matraz Erlenmeyer a botellas Schott que permiten una mejor captación de luz en todo el biorreactor debido a su forma.

De la misma manera podemos representar el crecimiento de esta etapa mediante un gráfico donde se muestra el seguimiento del pH conforme a los días.

**Gráfico 3.2.** Cinética de crecimiento de pH con respecto a los días.



En base a la interpretación de este gráfico, observamos que la cepa B en medio Armon su crecimiento no fue satisfactorio siendo esta la única de las dos, no adaptada a este medio. Por su parte, las demás cepas lograron un crecimiento satisfactorio y un crecimiento exponencial, a excepción de la cepa E en medio BG11-0 donde presentó una fase de rebrote o recuperación, donde aparentemente estaba llegando a la fase de muerte, pero volvió a crecer. Este caso particular se debe a condiciones de estrés de la cianobacteria y, al tener condiciones más favorables y la eliminación de un inhibidor (microhongo), pudo volver a crecer en cierto grado.

## 4. Conclusión

En el presente trabajo se lograron aislar dos consorcios de cianobacterias desde muestras de suelos y biocostras provenientes de ecosistemas de clima semidesértico. Los consorcios aislados fueron capaces de crecer en medio líquido sin nitrógeno en fotobiorreactores de 1 L y a elevadas intensidades lumínicas ( $370 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ). En los dos medios líquidos evaluados (BG110 y Arnon), el consorcio identificado como “E” aislado desde biocostras ubicadas en Tierra Blanca, Gto., fue el que mostró el mejor desempeño en todas las condiciones evaluadas. De acuerdo con las imágenes tomadas al microscopio se puede observar que el consorcio “E” contiene principalmente cianobacterias filamentosas heterocísticas. Los resultados obtenidos sientan las bases para el desarrollo de un proceso de producción de cianobacterias fijadoras de nitrógeno para su uso en procesos de recuperación de suelos y de biofertilización.

## 5. Bibliografía/Referencias

- Arnon, D. I., McSwain, B. D., Tsujimoto, H. Y., & Wada, K. (1974). Photochemical activity and components of membrane preparations from blue-green algae. I. Coexistence of two photosystems in relation to chlorophyll and removal of phycocyanin. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 357(2), 231-245. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0005272874900632>
- CONICET Mendoza. (2021, 6 diciembre). Recuperado 7 de julio de 2024, de <https://www.mendoza.conicet.gov.ar/blog/biocostras-mendocinas-que-son-y-para-que-sirven/>
- Gunther, T. (2021, 23 septiembre). *Floraciones de Cianobacterias: causas, riesgos y tratamiento*. LG Sonic. Recuperado 21 de julio de 2024, de <https://www.lgsonic.com/es/cianobacterias/>
- Invitado, C. (2023, 15 noviembre). *Las cianobacterias: unos pequeños organismos con un gran potencial biotecnológico - Naukas*. Naukas. <https://naukas.com/2023/11/17/las-cianobacterias-unos-pequenos-organismos-con-un-gran-potencial-biotecnologico/>
- NORMA MEXICANA NMX-AA-034-SCFI-2015 ANÁLISIS DE AGUA -MEDICIÓN DE SÓLIDOS Y SALES DISUELTAS EN AGUAS NATURALES, RESIDUALES Y RESIDUALES TRATADAS -MÉTODO DE PRUEBA (CANCELA A LA NMX-AA-034-SCFI-2001). WATER ANALYSIS - MEASUREMENT OF SALTS AND SOLIDS DISSOLVED IN NATURAL WATER, WASTEWATERS AND TREATED WASTEWATERS -TEST METHOD. (n.d.). <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/166146/nmx-aa-034-scfi-2015.pdf>
- Ramirez,L. Queiroz,L. Jacob-Lopes, E. (2013) FOTOBIORREACTOR: HERRAMIENTA PARA CULTIVO DE CIANOBACTERIAS. *Ciencia y Tecnología*. UTEQ. Quevedo-Ecuador. <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/4749461.pdf>
- UTEX Culture Collection of Algae. (s/f). *BG-11 medium*. UTEX Culture Collection of Algae. Recuperado el 10 de julio de 2024, de <https://utex.org/products/bg-11-medium?variant=30991786868826>
- UTEX Culture Collection of Algae. (s/f-b). *BG-11 trace metals solution recipe*. UTEX Culture Collection of Algae. Recuperado el 11 de julio de 2024, de <https://utex.org/products/bg-11-trace-metals-solution>