



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO POSTGRADO DE EDAFOLOGÍA

CIANOBACTERIAS EN UN CULTIVO DE ARROZ

(*Oryza sativa* L.) EN CUAUTLA, MORELOS

ISAURA ESCALANTE VARGAS

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2014

La presente tesis titulada: "Cianobacterias en un cultivo de arroz (*Oriza sativa* L.) en Cuautla, Morelos." Realizada por la alumna: Isaura Escalante Vargas, bajo la dirección del Consejo particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS
EDAFOLOGÍA

CONSEJO PARTICULAR

Consejero



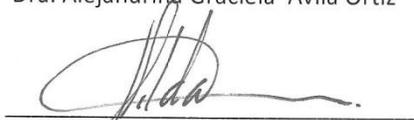
Dr. David Espinosa Victoria

Asesor



Dra. Alejandrina Graciela Ávila Ortiz

Asesor



Dra. Hilda Araceli Zavaleta Mancera

Asesor



Dr. Eberto Novelo Maldonado

Montecillos, Texcoco, Estado de México, abril 2014

RESUMEN

Las cianobacterias se presentan de manera natural en los arrozales y participan en los ciclos bioquímicos del nitrógeno y carbono. Sin embargo, estudios sobre su diversidad y función en arrozales de México son escasos. Con el objetivo de registrar la riqueza de cianobacterias durante un ciclo reproductivo del cultivo del arroz, se realizaron cuatro recolectas de suelo correspondientes a cada etapa del ciclo fenológico del arroz bajo condiciones de inundación en el ejido La Calavera, Cuautla, Morelos. Se hicieron cultivos en medio agua-suelo y medio BG11 en condiciones estándar. Las especies encontradas pertenecen a los Órdenes Chroococcales, Oscillatoriales y Nostocales, su presencia está asociada a las condiciones del manejo tradicional del cultivo. *Nostoc muscorum*, *N. linckia*, *Cylindrospermum majus*, *Pseudanabaena amphigranulata* y *Leptolyngbya fritschii* tienen una mayor capacidad de tolerar periodos de humectación-sequía. *Synechocystis pevalekii*, *Phormidium griseo-violaceum*, *Leptolyngbya granulifera*, *Pseudanabaena amphigranulata*, *Nostoc linckia*, toleran periodos de inundación y son especies de condiciones planctónicas. Las condiciones microambientales y la cobertura del cultivo parecen ser los factores que determinan la composición cianobacteriana en cada estadio fenológico. La presencia de especies del género *Nostoc* en todos los estadios fenológicos del cultivo y su alta capacidad para fijar nitrógeno, permite utilizar sus especies como biofertilizantes.

Palabras clave: cianobacterias, arroz, fertilización nitrogenada

ABSTRAC

The cyanoprokaryota are natural habitants in the rice culture on flood conditions, and they participate in the biogeochemical N and C cycles. However, the studies on their diversity and function in Mexican rice culture are scarcely. The subject of this study was to know the richness of cyanoprokaryota during the reproductive rice cycle. Four samplings, corresponding to the each rice phonologic stage, were carried out at the ejido La Calavera, Cuautla, Morelos. Plates of soil-water-BG11 culture medium were prepared. The species found belong to the Orders Chroococcales, Oscillatoriales and Nostocales. The presence of these species was associated with the traditional culture management. The species *Nostoc muscorum*, *N. linckia*, *Cylindrospermum majus*, *Pseudanabaena amphigranulata* and *Leptolyngbya fritschii* tolerated successfully moisture-drought periods. On the other hand, the species *Synechocystis pevalekii*, *Phormidium griseo-violaceum*, *Leptolyngbya granulifera*, *Pseudanabaena amphigranulata*, *Nostoc linckia*, resisted flooding conditions, and they are recognized as planktonic species. The micro-environmental conditions and the culture coverage seem to be the factors that determine the cyanoprokaryota composition in each phonological stage. The presence of *Nostoc* species in all phonological stages, which are N₂ fixers, could put them as promissory candidates to use them as biofertilizers.

Key words cianobacterias, rice, nitrogenous fertilization

AGRADECIMIENTOS

Mi gratitud al Colegio de Postgraduados, campus Montecillos por darme la oportunidad de seguir superándome. Al pueblo de México que gracias a sus impuestos el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología me otorgó una beca con número 251394 para hacer estudios de maestría.

Al Sr. Juan, hombre trabajador, comprometido y respetuoso con todos los organismos que interactúan con la tierra. Gracias por permitir tomar las muestras de suelo en su parcela.

Dr. David Espinosa, gracias por su apoyo y paciencia al realizar este trabajo, siempre aprendiendo una y mil cosas.

Dr. Eberto Novelo, quiero agradecer de manera especial el trato amable y sencillo que siempre ha tenido conmigo, sus aportaciones han sido fundamentales para llevar a cabo este trabajo.

Dra. Alejandrina Avila, Maestra Ale, siempre a mi lado, su apoyo incondicional y constante ánimo me ha llevado a concluir una etapa más en mi vida académica, mi reconocimiento siempre.

Dra. Hilda, gracias por su tiempo para la revisión, aportaciones al escrito y láminas.

M. en C. Jorge Alberto Gutiérrez, tu intervención en los diferentes momentos de la investigación desde la recolecta de material ficológico en campo, hasta la revisión del escrito han significado la lucha constante para concluir.

Lic. Inés Escalante, tu apoyo en la búsqueda de material bibliográfico siempre ha sido importante en los trabajos de investigación, gracias.

A los compañeros del posgrado por hacer de este tiempo algo grato, especialmente a Alejandra, gracias amiga por todo tu apoyo en los días difíciles y

por las risas en medio de tanta presión. De la misma manera a Luz y Diana por ser solidarias y acomodadas en los procesos de trámites.

Al personal del Herbario FEZA, UNAM por seguir influyendo en mí formación académica. A los chicos del laboratorio de Ficología por sus pláticas amenas y por compartir el gusto de estudiar organismos algales.

A cada uno de los colaboradores y estudiantes del Laboratorio de algas continentales de la Facultad de Ciencias, UNAM por tener siempre la mejor disposición de resolver mis dudas.

DEDICATORIA

A Jorge

Sigamos caminando de la mano con nuevos brillos.

A la pureza hecha realidad, mis hijas Paola y Valentina.

Los amo

A mis padres José Isaías Escalante y Fuentes y María Inés Vargas
López

A mis hermanos: Inés, Esperanza, Auris y Efraín

Por su amor e incalculable apoyo

A mis sobrinos: Lalo, Diana, Any, Isahi, Hugo, Noemí, Naomi, Ximena
y el pequeñín

Por su cariño y respeto

CONTENIDO

	Pág.
ÍNDICE DE CUADROS.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. ANTECEDENTES.....	3
Fijación de nitrógeno por cianobacterias.....	3
Biofertilización con cianobacterias en arrozales.....	4
Uso de las cianobacterias en los cultivos de arroz.....	5
El cultivo de arroz.....	7
IV. HIPOTESIS.....	10
V. OBJETIVOS.....	10
Objetivo general.....	10
Objetivos particulares.....	10
VI. MATERIALES Y MÉTODOS.....	11
VII. RESULTADOS.....	14
IX. DISCUSIÓN.....	34
X. CONCLUSIONES.....	39
XI. LITERATURA CITADA.....	40
XII. APÉNDICE.....	49

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Pág.
1	Propiedades físico químicas del agua de riego en el cultivo de arroz, ejido La Calavera.....	15
2	Riqueza de cianobacterias del cultivo de arroz en el ejido la Calavera, Cuautla, Morelos.....	16
3	Distribución temporal de cianobacterias en el cultivo de arroz inundado en Cuautla, Morelos.....	17

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Pág.
1	Cultivo de arroz. Etapa de trasplante tradicional en el ejido La Calavera, Cuautla, Morelos.....	8
2	Fenología del cultivo de arroz en el Estado de Morelos con base en su desarrollo vegetativo.....	11
3	Cultivo de cianobacterias en muestras de suelo.....	12
4	Preparación de medio, siembra, aislado y cultivo de cianobacterias.....	13
5	Especies del género <i>Synechocystis</i>	20
6	<i>Pseudanabaena amphigranulata</i> y <i>Leptolyngbya granulifera</i> en medio de cultivo BG11.....	25
7	<i>Leptolyngbya fritschii</i> y <i>Leptolyngbya notata</i>	26
8	<i>Phormidium griseo-violaceum</i> y <i>Leptolyngbya fritschii</i> en medio de cultivo BG11.....	28
9	<i>Cylindrospermum majus</i>	31
10	<i>Nostoc linckia</i>	32
11	Colonias de <i>Nostoc muscorum</i> y <i>Nostoc parmelioides</i>	33

I. INTRODUCCIÓN

Las cianobacterias son organismos procariotas fotosintéticos con morfología y fisiología diversa y presencia de clorofila a. La fotosíntesis es efectuada en tilacoides agrupados en múltiples capas. La clorofila captura la luz solar, energía empleada para romper moléculas de agua que donará los electrones como ocurre en las algas eucariotas y plantas. Otros pigmentos presentes son las ficobiliproteínas (ficocianina, ficoeritrina y aloficocianina), que reflejan los colores azul, rojo y verdeazulado, respectivamente (Hoek et al., 1995; Lee, 1999; Madigan et al., 2004; Novelo, 2011).

Las cianobacterias son unicelulares esféricas y multicelulares coloniales y filamentosas. Presentan pared celular de peptidoglucano, semejante a la de bacterias Gram negativas. Algunas cianobacterias desarrollan células especializadas en la reproducción (acinetos) y otras que fijan nitrógeno atmosférico (heterocitos). Existen carboxisomas que metabolizan el CO₂, glucosa y acetato. Además de sacos de gas llamados aerotopos que permiten su flotación. Las cianobacterias no requieren de vitaminas y utilizan al nitrato o amoníaco como fuente de nitrógeno. Viven en diferentes tipos de ambiente, temperatura, humedad, salinidad, radiación solar y pH. Las cianobacterias habitan en casi todos los ambientes, por ejemplo, en aguas marinas poco profundas, aguas blandas, aguas duras continentales, suelos desérticos y géiseres. Otra característica de las cianobacterias es que establecen relaciones simbióticas con hongos y plantas no vasculares y vasculares (Brahmaprakash y Sahu, 2012; Komárek, 2006; Lee, 1999; Madigan et al., 2004; Whitton y Potts 2000).

Desde el punto de vista agronómico, alimenticio y ecológico, las cianobacterias son importantes por fertilizar cultivos anegados, elaboración de suplementos alimenticios (*Arthrospira* spp.) y por fijar N₂ en ecosistemas naturales (Acosta, 1978; Brahma Prakash y Sahu, 2012; Canales, 1998; Espinosa et al., 1984; Sánchez et al., 2007; Vargas y Novelo, 2003; Vidal et al., 1982).

El desarrollo de cianobacterias en cultivos anegados es común. Su riqueza y diversidad es variable en diferentes regiones del mundo. Estos organismos se desarrollan de manera natural en arrozales y desde hace algunas décadas se incorporan como biofertilizantes de forma libre o asociados simbióticamente con helechos acuáticos del género *Azolla* spp. (Carrapico et al., 2000; Espinosa et al., 1985; Espinoza, 2004; Ghosh y Saha, 1997; Kannaiyan et al., 1997; Tiwari 1972; Upasana y Sunil, 2004; Venkataraman, 1972).

En México los estudios sobre la riqueza de cianobacterias en arrozales son escasos (Espinosa et al., 1984; Espinosa et al., 1985). Sin embargo, en otros países se ha valorado su importancia como fijadoras de N₂, disminuyen costos de producción por la incorporación de fertilizantes químicos y evitan la salinización del suelo (Espinoza, 2004; García y Martel, 1990; Sánchez et al., 2007 y 2011; Kannaiyan et al., 1997; Kannaiyan, 2002; Tiwari 1972). Estudios sobre la riqueza de cianobacterias son la base para conocer su diversidad y analizar otros aspectos biológicos que permitan su aprovechamiento.

II. ANTECEDENTES

Fijación de nitrógeno por cianobacterias

Las cianobacterias fijan nitrógeno atmosférico y lo reducen a iones amonio (NH_4^+) o nitrato (NO_3^-). La fijación del nitrógeno por las cianobacterias es mediada por el complejo nitrogenasa, que cataliza la conversión del N_2 a NH_4^+ . La reacción general de este proceso es: $\text{N}_2 + 10\text{H}^+ + 8\text{e}^- + 16\text{ATP} \rightarrow 2\text{NH}_4^+ + \text{H}_2 + 16\text{ADP} + 16\text{Pi}$. El nitrógeno metabolizado es absorbido por las plantas que formaran diversas moléculas orgánicas indispensables en sus procesos metabólicos (Lehninger et al., 2005; Thayumanavan y Parvathy, 2002).

Además, de la fijación de N_2 estos organismos realizan la fotosíntesis de manera simultánea mediante la especialización celular, presencia y cantidad de catalizadores (Herrero et al., 2001). Por ejemplo, los heterocitos que contienen nitrogenasa carecen del fotosistema II. Sin embargo, los procesos metabólicos que favorecen la fijación de nitrógeno y los que realizan fotosíntesis, son incompatibles en un principio, pero ambos procesos pueden ocurrir simultáneamente en células diferentes. Las células vegetativas se encargan de realizar fotosíntesis y producir metabolitos carbonados, que transfieren parcialmente al heterocito. Esta célula produce amonio que se incorpora a los productos carbonados para formar aminoácidos, que a su vez se transfieren a las células vegetativas (Soto-Urzúa y Baca, 2001). Giddings y Staehelin (1981), mencionan que la difusión de metabolitos entre las células vegetativas y el heterocito se produce a través de microplasmodesmos. Por el contrario, Vega

(1997) propone que los aminoácidos llevan a cabo el transporte intercelular de metabolitos.

Biofertilización con cianobacterias en arrozales

El efecto de agregar cianobacterias al suelo sobre cultivos de arroz primero fue estudiado en los años 1950 en Japón. (Upasana y Sunil, 2004) y el término “algalización” ahora es aplicado al empleo de una mezcla definida de especies cianobacterianas de vida libre para inocular el suelo agrícola (Venkataraman, 1972) por la capacidad que tienen éstas para fijar nitrógeno. Por décadas la fertilización con cianobacterias asimbióticas en suelos inundados ha cobrado relevancia. Actualmente el desarrollo tecnológico favorece la producción masiva de estos organismos (Banerjee et al., 1997; Sánchez et al., 2007 y 2011; Vidal et al., 1982). Además, favorecen una mayor producción del cultivo, mejorando la eficiencia en la nutrición, resistencia a cambios de temperatura, resistencia a enfermedades fungosas, ataque de insectos, prolonga la vida de los frutos almacenados y mejora la germinación de la semilla (Banerjee et al., 1997; Canales, 1998; Rao, 2002).

Acosta (1978), Espinoza (2004), Ghosh y Saha (1997) y Venkataraman (1972) mostraron que el aporte de cianobacterias a los cultivos de arroz puede incrementar su producción entre 26.6 a 30%. En la India y el sureste asiático, el arroz es una fuente importante en la alimentación. Sin embargo, el alto costo de insumos industriales ha favorecido la utilización de las cianobacterias como fertilizantes naturales. Por otra parte, el uso de estos organismos no se limita a

mejorar el rendimiento agrícola y reducir costos en su producción, también a mejorar suelos y cuerpos de agua contaminados por el exceso de agroquímicos (Prósperi, 1999).

Uso de las cianobacterias en los cultivos de arroz

Acosta (1978), señaló que los primeros registros que revelan la capacidad de las cianobacterias para fijar nitrógeno atmosférico son de finales del siglo XIX. Estos registros fueron la base para conocer su metabolismo y su aplicación en la agricultura. Roger y Kulasooriya (1980) nombraron al conjunto de bacterias fijadoras de nitrógeno y cianobacterias como abono verde por su alta capacidad de fijar y metabolizar el nitrógeno. Actualmente se conoce que todas las especies de cianobacterias en mayor o menor medida tienen la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico (Capone et al., 1997; Soto-Urzúa y Baca, 2001; Vargas y Novelo, 2003).

El empleo de biofertilizantes tiene su origen desde tiempos antiguos en Vietnam. La aplicación de los helechos acuáticos del género *Azolla* aún es frecuente en ese país. *Azolla* establece una relación simbiótica con la cianobacteria *Anabaena azollae*. Esta asociación permite que la cianobacteria viva en el tejido del helecho, en cambio ésta provee de nitrógeno a la planta para ser utilizado en su metabolismo (García y Martel, 1990).

El conocimiento de esta relación favoreció el empleo de cianobacterias de vida libre en cultivos de arroz, en donde se aumentó su calidad y cantidad en países como: China, India, Japón, Estados Unidos de América, y otros

latinoamericanos. Algunas especies filamentosas heterocíticas de cianobacterias se han registrado como mejores fijadoras de nitrógeno, por ejemplo: *Aulosira fertilissima*, *Anabaena flos-aquae*, *A. variabilis*, *Nostoc sphaericum*, *Tolypothrix tenuis*, *Scytonema* sp. (Banerjee et al., 1997). La producción de *Tolypothrix tenuis* en Japón es común para su incorporación en los arrozales como abono verde. Esta inoculación aumenta progresivamente los rendimientos de la cosecha de arroz, hasta en 20% en cuatro años (Ibrahim, 1972).

La presencia de *Anabaena azotica*, *A. azotica* f. *alpina*, *A. variabilis* aumentaron de 18 a 24% la producción de arroz en China (Ley et al., 1959). En Acosta (1978) cita diversos ensayos realizados por Rao, Goyal y Venkataraman (1963) donde al inocular cianobacterias de vida libre en la India se registraron un aumento del 26.6% en la producción del cereal. Singh (1961), reportó que *Aulosira fertilissima* es una buena fijadora de nitrógeno en cultivos de arroz. Por otro lado, Subrahmanyam et al., (1964a) observaron en cultivos de arroz de la India que la presencia en del inóculo constituido por: *Nostoc sphaericum*, *N. amplissium*, *Tolypothrix campylonemoide* y *Westiella* sp, favorecieron un rendimiento del 30%. Acosta (1978), reportó que *Anabaena flos-aquae*, *Gloetrichia* sp., *Scytonema myochrous*, *Cylindrospermum titicae* C. *majus* y *Nodularia spumigena*, también incrementaron el rendimiento de este cultivo. El rendimiento se debe a una mejora en la estructura del suelo como lo sugirió Shields (1957) y demostrado por Bailey et al. (1973). La presencia de cianobacterias en el suelo agrícola puede oscilar entre 200 kg a 16 ton en peso fresco/ha hasta los 30 cm de profundidad (Thomas et al., 1998; Stellmacher y Reissner, 1999).

El cultivo de arroz

Este cultivo se desarrolla principalmente en zonas tropicales y subtropicales del mundo, bajo condiciones de anegación. Para algunos países este cereal es la principal fuente de su alimento. Según la FAO (2012) los principales productores del mundo son países asiáticos con 500 millones de toneladas que representa el 85% en el nivel mundial. Por ejemplo, China, India, indonesia, Bangladesh, Vietnam, Myanmar y Tailandia, en conjunto producen el 80% del arroz. En el 2012 se cultivaron 165.1 millones de hectáreas en todo el mundo. En donde Tailandia, es el principal exportador seguido de Vietnam, India, los E.U.A y Pakistán.

En América latina los principales países productores son Argentina, Brasil, Guyana, República Dominicana, Ecuador, Paraguay, Perú y Uruguay. México tiene una pequeña participación representado el 0.05% de la producción mundial y solo el 0.00004% se su superficie está dedicada a este cultivo. Según la SAGARPA (2011) México obtuvo 4.5 ton/ha, que le permitió ubicarse en el lugar 25 en el nivel mundial.

México está dividido en tres zonas agroclimáticas para el cultivo de arroz, Trópico húmedo, Trópico subhúmedo y Trópico seco, cada una con diferentes características (Salcedo y Barrios, 2011). En esta última zona se encuentra el estado de Morelos. La producción de arroz en este estado se hace mediante trasplante o siembra directa, en condiciones de riego directo y temporal. Si la siembra es mediante trasplante el arroz se germina en almácigos, una vez que

alcanza el desarrollo de plántula es trasplantado en la parcela donde alcanzará su desarrollo final (Fig. 1).



Figura. 1 Cultivo de arroz. Etapa de trasplante tradicional en el ejido La Calavera, Cuautla, Morelos.

Durante el desarrollo del cultivo, el suelo es sujeto a periodos de inundación, provocando que la disponibilidad de nitrógeno sea deficiente. Para remplazar la fuente de nitrógeno el cultivo se abona con fertilizantes artificiales (observación personal).

Uno de los elementos químicos más demandados en la producción agrícola es el nitrógeno. Sin embargo, también es uno de los nutrimentos que más difícilmente se incorpora a los ciclos biogeoquímicos (Lehninger et al. 2005). La demanda de este nutrimento es solucionada por fertilizantes industrializados como la urea y el sulfato de amonio (Dobermann y Fairhurst, 2000). La aplicación de estos fertilizantes es una causa de salinización en los suelos agrícolas. Donde los cultivos absorben entre el 10 y 60% del fertilizante aplicado, el resto se acumula

en el suelo, limitando la producción agrícola en el corto y mediano plazo. Ciampi et al. (1995), Kannaiyan et al. (1997), Peña-Cabrales et al. (2001) y FAO (2012), señalan que en México durante los últimos 40 años, se ha incrementado el consumo de fertilizantes con alto contenido de nitrógeno, fósforo y potasio. El uso de estos insumos ha generado problemas de acidificación de suelos, eutrofización de cuerpos de agua, y la contribución al calentamiento global, alteración del ciclo del nitrógeno y desnitrificación (Aguirre-Gómez, 2001). Una alternativa para disminuir el deterioro de los campos agrícolas, contaminación de agua y vida silvestre es fertilizar los campos agrícolas con abonos orgánicos (Dobermann y Fairhurst, 2000 ; FAO, 2012).

IV. HIPOTESIS

Las cianobacterias son organismos procariotas capaces de fijar nitrógeno, presentes en cultivos de arroz sometidos a inundación. Su riqueza cambia durante el ciclo fenológico del cultivo y la composición algal depende de los periodos inundación.

V. OBJETIVO GENERAL

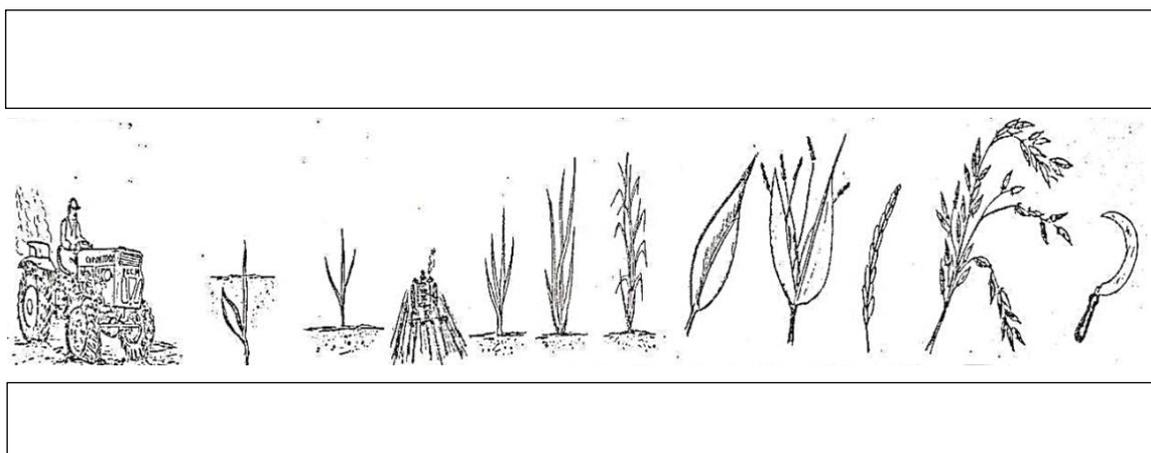
Evaluar la riqueza cianobacteriana en un cultivo de arroz en Cuautla, Morelos.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Inventariar las cianobacterias que se presentan en un cultivo de arroz.
- Comparar la riqueza de especies cianobacterianas en los estadios de desarrollo fenológico del cultivo de arroz.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

Se efectuaron cuatro recolectas en una parcela de 99,000 m², ubicada en el ejido La Calavera, Municipio de Cuautla, Morelos. Ubicada en las coordenadas geográficas 18° 49' 35'' N y 98° 58' 36'' O, a 1286 m de altitud. Con un clima tropical seco (Aw). (CONABIO Y UAEM, 2004). Con base en el ciclo fenológico del arroz se establecieron los momentos del muestreo durante los meses de abril (labranza), mayo (macollaje), julio (panoja) y agosto (madurez) del 2011. Fig. 2.



La parcela se dividió en dos áreas, con base en el aporte del agua para su riego. El área uno recibió el agua directa del río y la dos el agua que provenía del área uno. De cada área se recolectaron tres muestras de suelo que a simple vista se observan colonias de cianobacterias, a una profundidad de 1-2 cm con la ayuda de una espátula (2 cm³), excepto para el primer muestreo que sólo correspondió una muestra por cada área de la parcela. Se registró el pH del agua con la ayuda de un potenciómetro y la temperatura en °C con un termómetro de mercurio (-10 a

100) excepto en el primer muestreo. También, se tomaron muestras de 0.5 L de agua para determinar la conductividad eléctrica, P, K, Ca, Mg, Na, NH_4^+ , NO_3^- , CO_3^{2-} , HCO_3^- en el laboratorio de Nutrición Vegetal, del Colegio de Postgraduados. Las muestras de suelo fueron transportadas en bolsas con cierre hermético y el agua en frascos de boca ancha, a temperatura de 4°C en un termo de plástico.

El suelo de la primera recolecta (labranza) de cada área, se sembró en medio suelo-agua, (apéndice 1 **A**) (Andersen, 2005) para corroborar la presencia de cianobacterias y obtener cultivos puros que permitieran la determinación taxonómica (Fig.3).

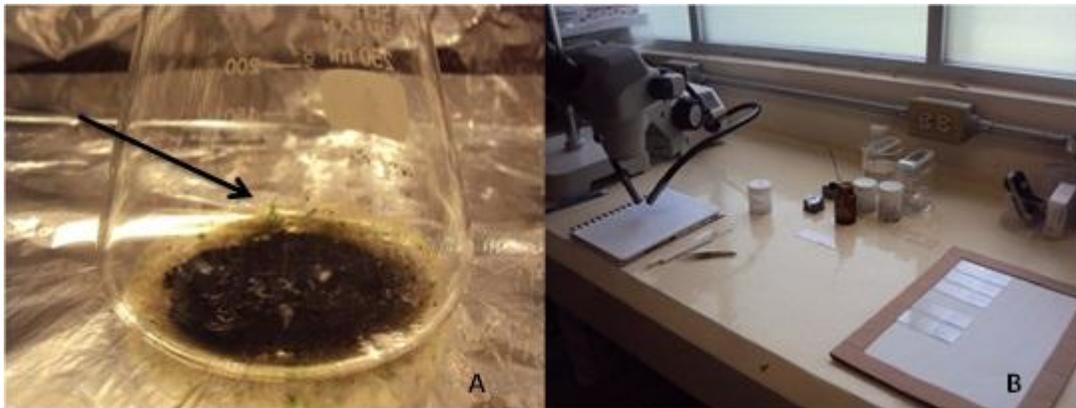


Figura 3. Cultivo de cianobacterias en muestras de suelo. A. Cultivo suelo-agua, crecimiento de cianobacterias en color verde. B. Preparaciones semipermanentes de cianobacterias obtenidas del medio suelo-agua.

Los muestreos restantes en los diferentes estadios del ciclo fenológico del arroz, se dividieron en dos submuestras. La submuestra uno se fijó con formaldehído al 3% para observar directamente al microscopio la presencia de cianobacterias y la submuestra dos se utilizó para la siembra y aislamiento en medio de cultivo BG11 en cajas Petri 60 ml

(<http://web.biosci.utexas.edu/utex/mediaDetail.aspx?mediaID=26>) (Apéndice 1 B) (Fig. 4).

Previamente se diseñó una cámara de crecimiento con luz blanca para incubar las cianobacterias. Los medios inoculados se incubaron en una cámara de crecimiento a temperatura ambiente durante 15 días (Fig. 4). Las colonias obtenidas se aislaron mediante dilución en gotas de medio BG11 líquido para hacer resiembras en medio BG11 solido en cajas Petri de 60 ml. hasta obtener crecimientos unialgales. Finalmente se realizaron de dos a tres muestras semipermanentes con gelatina glicerizada, para la identificación de especies.

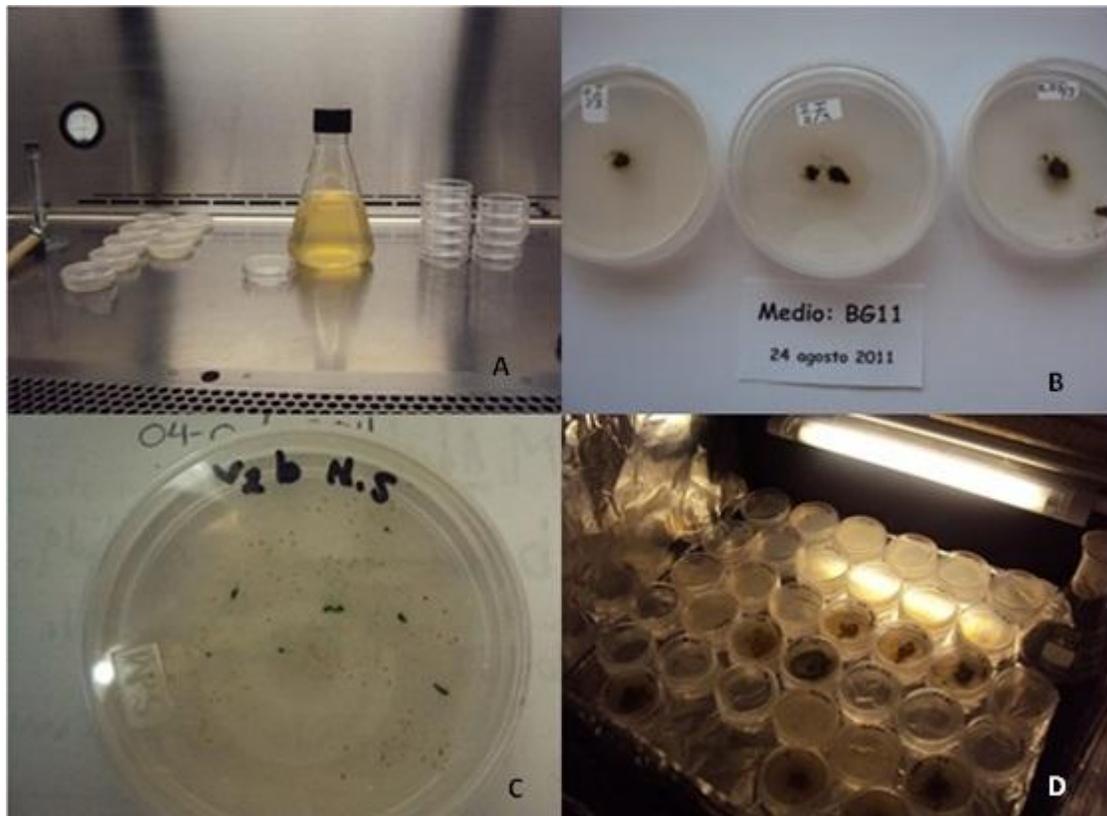


Figura. 4. Preparación de medio, siembra, aislado y cultivo de cianobacterias. A. Preparación de medio BG11. B. Siembra de Cianobacterias en medio BG11. C. Aislado y crecimiento en medio BG11. D. Cultivos de cianobacterias en cámara de luz blanca.

La determinación taxonómica de cianobacterias se efectuó con la ayuda de bibliografía especializada, Desikachary (1959), Frémy (1930), Gardner (1927) y Komárek & Anagnostidis (1999, 2005). El sistema de clasificación aquí adoptado se basó en Komárek & Anagnostidis (2005). Los organismos montados en preparaciones semipermanentes fueron observadas, dibujadas y fotografiadas con la ayuda de un microscopio de contraste de fases (NIKON Optiphot) y contraste diferencial, DIC (NikonIKON Optiphot, Japón) con cámara digital marca COOLPIX, (Nikon, Japón). Finalmente, se hizo una comparación de la riqueza cianobacteriana en los diferentes estadios de desarrollo fenológico del cultivo de arroz.

VII. RESULTADOS

El cultivo del arroz en Cuautla, Morelos se desarrolla en suelos tipo Vertisol. (CONABIO Y UAEM, 2004). El agua empleada en el sistema de inundación proviene de manantiales que originan al río Cuautla. Mismo que atraviesa la ciudad de Cuautla, su agua es utilizada para la recreación en balnearios y para riego de diversos cultivos.

La temperatura del agua utilizada en el cultivo de arroz fue semejante en las dos áreas muestreadas durante su ciclo fenológico. En el área I se registraron temperaturas que oscilan entre los 22 - 23°C, mientras que el área II, presentó una temperatura de 23 - 24°C y un pH básico durante el ciclo (Cuadro 1).

Cuadro 1. Propiedades físico-químicas del agua de riego en el cultivo de arroz, ejido La Calavera.

agua/parámetro	dS/m		Ppm						Meq/L		
	pH	C.E.	P-	K	Ca-	Mg	Na	NH ₄ ⁺	NO ₃ ⁻	CO ₃ ³⁻	HCO ₃ ⁻
Corriente	8.2	0.38	0.11	0.6	13.01	25.18	11.62	0.996	1.869	0.50	0.14
Estancada	7.9	0.47	1.41	1.9	18.37	30.85	16.48	5.233	2.865	nd	0.13

La riqueza de cianobacterias registrada en el cultivo de arroz estuvo conformada por cuatro familias, seis géneros y once especies (Cuadro 2). Las familias con mayor número de especies fueron Nostocaceae y Pseudanabaenaceae con cuatro especies cada una. Los géneros con mayor riqueza corresponden a *Nostoc* y *Leptolyngbya* con tres especies. *Phormidium* y *Cylindrospermum*, sólo presentaron una especie cada uno y su presencia fue registrada en momentos diferentes del ciclo. La mayor riqueza se presentó durante la etapa de labranza con siete especies de las once registradas durante todo el ciclo. En este sentido la composición cianobacteriana fue diferente en los distintos estadios fenológicos. Por ejemplo, en la etapa macollaje, el área I presentó mayor riqueza que el área dos con cinco y dos especies respectivamente. Otro aspecto interesante es la diferente composición entre las dos áreas de la parcela durante la misma etapa fenológica. Las únicas especies que se mantienen en tres de los cuatro estadios fenológicos del arroz son *Leptolyngbya fristchii*, *Nostoc linckia*, *N. muscorum* y *Pseudanabaena amphigranulata* (Cuadro 3).

Cuadro 2. Riqueza de Cianobacterias del cultivo de arroz en el ejido la Calavera, Cuautla, Morelos.

Familia	Subfamilia	género	Especie
Merismopediaceae Elenkin 1933	Merismopedioideae Elenkin 1933	<i>Synechocystis</i> Sauvageau 1892	<i>Synechocystis</i> <i>pevalekii</i> Ercegović 1925 <i>Synechocystis</i> sp.
Pseudanabaenaceae Anagnostidis & Komárek 1988	Pseudanabaenoideae Anagnostidis et Komárek 1988 Leptolyngbyoideae Anagnostidis et Komárek 1988	<i>Pseudanabaena</i> Lauterborn 1915 <i>Leptolyngbya</i> Anagnostidis et Komárek 1988 men cons	<i>Pseudanabaena</i> <i>amphigranulata</i> (Van Goor) Anagnostidis 2001 <i>Leptolyngbya</i> <i>granulifera</i> (Copeland) Anagnostidis 2001 <i>L.fritschii</i> Anagnostidis 2001. <i>L.</i> <i>notata</i> (Schmidle) Anagnostidis et Komárek 1988
Phormidiaceae Anagnostidis et Komárek 1998	Phormidioideae Anagnostidis et Komárek 1986	<i>Phormidium</i> Kützing ex Gomont 1892	<i>Phormidium</i> <i>griseo-</i> <i>violaceum</i> (Skuja) Anagnostidis 2001
Nostocaceae Kützing, Phyc. gen		<i>Cylindrospermun</i> Kützing ex Bornet et Flahault 1886	<i>Cylindrospermun</i> <i>majus</i> Kützing ex Born et. Flah
		<i>Nostoc</i> Vaucher ex Bornet et Flahault	<i>Nostoc</i> <i>linckia</i> (Roth) Bornet ex Born. et Flah. <i>N. muscorum</i> Ag. Ex Born. et Flah. <i>N. parmelioides</i> Kütz. ex Born. et Flah.

Cuadro 3. Distribución temporal de Cianobacterias en el cultivo de arroz inundado en Cuautla, Morelos.

Sitio de Colecta	Fenología del cultivo de arroz			
	Labranza	Macollaje	Panoja embuchada	Madurez fisiológica
Abril				
Área I	<i>Synechocystis pevalekii</i> Ercegovic <i>Nostoc parmelioides</i> Kutzing <i>N. linckia</i> (Roth) Bornet <i>N. muscorum</i> Agardh <i>Pseudanabaena amphigranulata</i> (Van Goor) Anagnostidis <i>Leptolynbya fritschii</i> Anagnostidis <i>L. notata</i> (Schmidle) Anagnostidis & Komárek	<i>Synechocystis pevalekii</i> Ercegovic <i>Leptolynbya granulifera</i> (Copeland) Anagnostidis <i>Nostoc linckia</i> (Roth) Bornet <i>Pseudanabaena amphigranulata</i> (Van Goor) Anagnostidis <i>Phormidium griceo-violaceum</i> (Skuja) Anagnostidis	<i>Cylindrospermum majus</i> Kützing <i>Nostoc sp.</i> Vaucher ex Bornet & Flahault	<i>Synechocystis</i> sp. <i>Nostoc muscorum</i> Agardh <i>Cylindrospermum majus</i> Kützing
Área II		<i>Pseudanabaena amphigranulata</i> (Van Goor) Anagnostidis <i>Nostoc linckia</i> (Roth) Bornet	<i>Nostoc sp.</i> Vaucher ex Bornet & Flahault	<i>Cylindrospermum majus</i> Kützing <i>Nostoc muscorum</i> Agardh <i>Leptolynbya fritschii</i> Anagnostidis

Se presentan las descripciones de cada uno de los organismos algales reportados en suelo del cultivo de arroz, Se consideran las descripciones propuestas por Komárek & Anagnostidis (1999, 2005) a nivel de familia, subfamilia y género. En cada una se destaca el nivel de organización, presencia de vaina, forma de las células tanto vegetativas como especializadas y la reproducción, con el fin de establecer las características propias a nivel de especie.

División. Cyanoprokariota

Orden. Chroococcales

Familia Merismopediaceae Elenkin 1933

Células del tipo cocoide, solitarias o en colonias irregulares o planas (una capa de células) o colonias esféricas mucilaginosas. Mucílago principalmente incoloro, sin estructura, en colonias esféricas a veces se desarrolla un sistema de eje central especial; vaina facultativa simple, fina o gelatinosa alrededor de las células o cubriéndolas. Célula esférica, ovoide. División celular por fisión binaria, siempre en dos planos perpendiculares (células alargadas diagonal y longitudinalmente) las células hijas alcanzan más o menos la forma y el tamaño original antes de la siguiente división, formación de nanocistos muy rara vez. Reproducción por desintegración de colonias, rara vez por células solitarias.

Subfamilia Merismopedioideae

Células solitarias o formadoras de colonias con arreglos irregulares o tabulares (en una capa).

***Synechocystis* Sauvageau 1892**

Células solitarias, esféricas, después de una división y por una temporada dos células juntas, sin formar colonias. Mucílago ausente o si presente, estrecho, fino, incoloro y por lo general difluente o creciendo sobre otro mucílago. Células esféricas o extensamente ovals. Proporción de pigmento variado, pero siempre el mismo para cada especie. División de células por fisión binaria que origina dos células que alcanzan la forma globular original antes de la siguiente división; esta última se presenta en dos hemisferios perpendiculares en generaciones sucesivas. Mucílago alrededor de las células, que se divide simultáneamente a las células.

***Synechocystis pevalekii* Ercegović 1925**

Células solitarias, esféricas, después de la división, vaina delgada, fina, incolora; contenido azul verde brillante homogéneo, 2.2-2.6 μm de diámetro. Presentes en mucílago de otras algas subaerofíticas de suelo inundado. Se registra en México para el lago cráter de Teremendo, Michoacán. Komárek y Anagnostidis. 1999.

(Fig. 5).

***Synechocystis* sp.**

Células solitarias agregadas aparentemente sin formar una colonia, arreglo irregular. Forma de la célula esférica, después de la división hemisférica y por una temporada dos células juntas, contenido celular granuloso homogéneo de color amarillo pardo. Células esféricas de 4.5-5 (-5.5) μm en diámetro. La división de células es por fisión binaria. Cabe mencionar que el material fue escaso y no se logró obtener un cultivo unialgal, para precisar las características que indicaran la especie. Presente en el mucílago de *Nostoc* sp. colonia muy viscosa sobre suelo húmedo. Komárek y Anagnostidis. 1999. (Fig. 5)

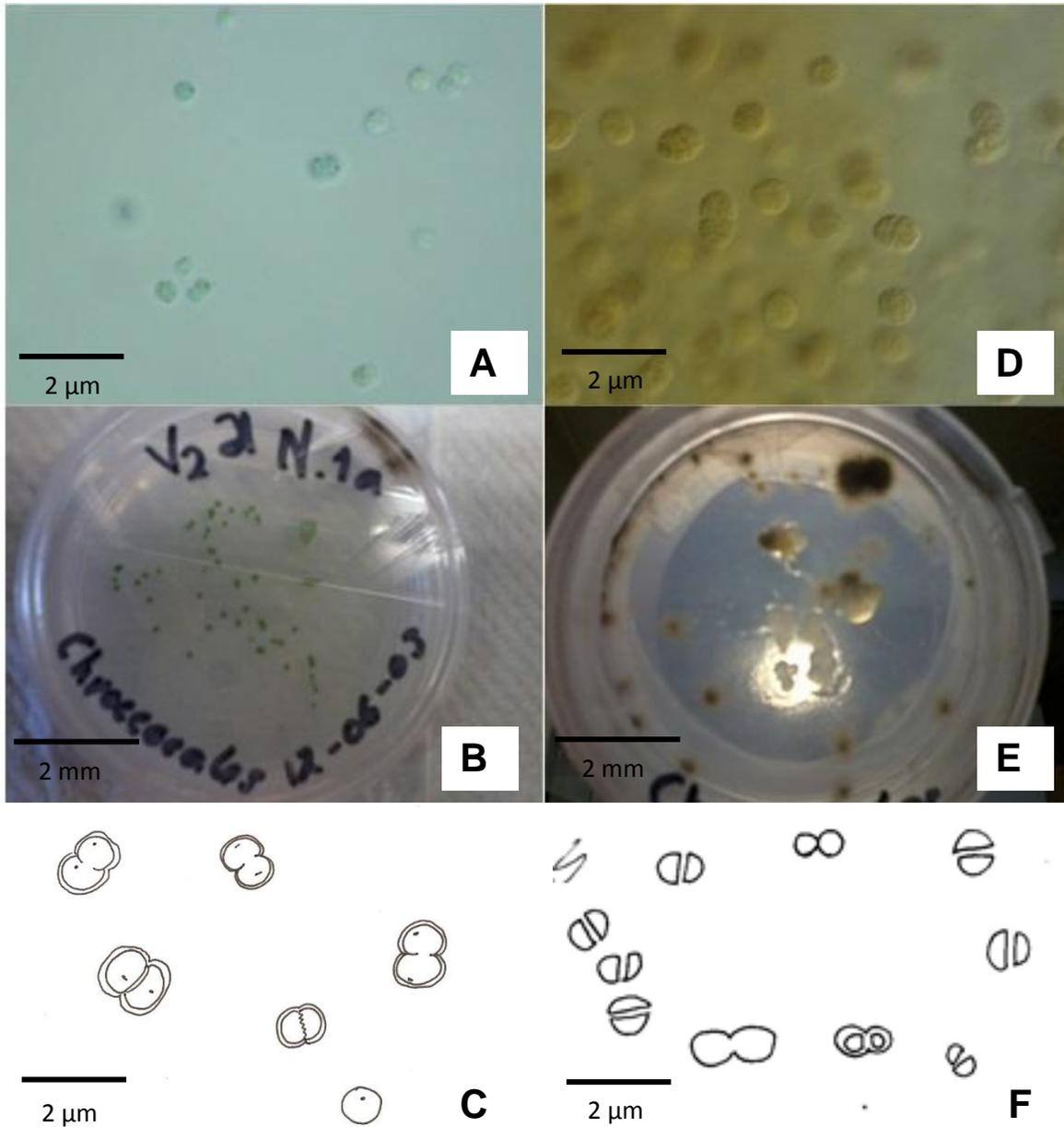


Figura 5. Especies del género *Synechocystis*. A. células de *S. pevalekii* B. crecimiento en medio de cultivo BG11, colonias verde-azulosas, difluente. C. Células dispersas, se observa la división en dos planos. D. *Synechocystis* sp. E. crecimiento en medio BG11, creciendo en mucílago de *Nostoc* sp. F. Células dispersas, división celular en dos planos.

Oscillatoriales

Familia: **Pseudanabaenaceae** Anagnostidis & Komárek 1988

Tricomas cilíndricos, uniseriados, inmóviles o móviles, algunos con rotación intensa, sin o con vaina incolora, homogénea y difluente. Filamentos rectos, ondulados o regularmente enrollados en forma de espiral, 3 μm (-6 μm) ancho, solitarios o ligeramente agrupados, colonias postradas e indefinidas (matas finas) a veces con formas hemisféricas presentes tipo burbuja o formas escamosas con tricomas enredados. Las vainas delgadas, finas o firmes, pueden desarrollarse de manera facultativa en varios géneros (por lo general en estadios de reposo y en cultivos viejos). En las subfamilias *Leptolyngbyoidae* (isopolar) y *Heteroleibleinioidae* (heteropolar) las vainas son obligadas; sin ramificación falsa, o presente en tricomas con vaina, por lo general del tipo *Tolypothrix*. Células más largas que anchas, raramente isodiamétricas o más cortas que anchas, todas con capacidad de dividirse; aerotopos generalmente ausentes, si presentes localizados en la parte terminal o central de la célula; tilacoides periféricos; se observan arreglos característicos de patrones de poros en la pared celular. Hay adaptación cromática y la movilidad facultativa en *Spirulina* y *Geitlerinema*. Las células se dividen perpendicularmente a lo largo del tricoma y las células hijas alcanzan el mismo tamaño antes de la siguiente división. Reproducción por fragmentación de tricomas en hormogonios móviles cortos más o menos largos, hormocitos inmóviles; necridios ausentes y fragmentación por células solitarias.

Subfamilia: **Pseudanabaenoideae** Anagnostidis et Komárek 1988

Filamentos solitarios o coloniales simples, sin vaina y ramificaciones, a veces se presenta una capa muy fina, incolora, homogénea y difluente, que se desintegra fácilmente. Inmóvil (con excepción de hormogonios jóvenes), móviles (facultativa, *Pseudanabaena*) y obligado (*Limnothrix* y *Geitlerinema*). Presencia ocasional de aerotopos, localizados en la parte terminal o central dentro de células. Reproducción por hormocitos, hormogonios o desintegración en células solitarias.

Pseudanabaena Lauterborn 1915

Tricomas solitarios formadores de plancton y metafiton, con forma ligeramente curva, cilíndrica, más o menos cortos, con pocas células y rara vez con muchas de éstas; ocasionalmente sin constricciones, si presentes entonces visibles en los septos. Tricomas sin vainas con frecuencia se presenta una capa fina difluente de mucílago. Célula apical no diferenciada, sin caliptra o engrosamiento. Tricoma inmóvil o con movimiento facultativo, probablemente sin rotación. Células por lo general cilíndricas ligeramente redondas, en ocasiones en forma de barril, más largo que ancho, rara vez con forma isodiamétrica, sin o con aerotopos polares; tilacoides con arreglo paralelo; Poro central en las paredes de los septos. División celular por fisión binaria en un plano perpendicular al eje principal o de manera asimétrica. Reproducción por hormogonios y fragmentación del tricoma.

Pseudanabaena amphigranulata (Van Goor) Anagnostidis 2001

Tricomas delgados, rectos, y menos frecuente ligeramente curvos; hasta 20 células de (1.5-) 2.0–3.0 μm ancho, ligeramente constreñidos en los septos, aerotopos cerca de estos. Células de color azul-verde pálido, algunas veces casi isodiamétricas, 3.0-4 (-5.5) μm de largo. Célula apical redonda y hormogonios, con aerotopos polares. Presente en suelos inundados como parte del metafiton. Se ha registrado en cuerpos de agua hacia en la época de primavera (Fig.6).

Subfamilia **Leptolyngbyoideae** Anagnostidis et Komárek 1988

Filamentos solitarios o agrupaciones simples con vainas facultativas excepto cuando hay ramas falsas. Tricomas isopolares, de vida libre, uniseriados, delgados, menores de 3 μm de ancho, cilíndricos, inmóviles. Contenido de la célula homogéneo, a veces con gránulos dispersos, sin aerotopos, si presentes, entonces cerca de paredes celulares. Reproducción por desintegración de tricomas en hormocitos u hormogonios.

Leptolyngbya Anagnostidis et Komárek 1988

Filamentos ocasionalmente solitarios, generalmente forman talos complejos de varios milímetros de grosor, entremezclados, arqueados, ondulados, flexuosos, o enrollados. Delgados 0.5-3.2 μm ancho, isopolares, con vaina delgada, simple, firme, hialina. Pseudo-bifurcaciones poco comunes, la frecuencia de vainas varía en las especies y dependen de factores ambientales. Tricomas 0.5-3.5 μm ancho, móvil (hormogonio, vibración) o inmóvil. Células cilíndricas o isodiamétricas, las apicales redondas o cónicas, constreñidas o no en los septos, tilacoides en arreglo periférico, células con contenido homogéneo, sin aerotopos, gránulos escasos y prominentes. Reproducción por fragmentación del tricoma, células necridiales presentes o ausentes; hormogonios móviles o inmóviles liberándose en la parte apical del filamento. Género diferenciado molecularmente de *Phormidium* y *Lyngbya*.

Leptolyngbya granulifera (Copeland) Anagnostidis 2001

Talo verde brillante, membranoso, amplio, con filamentos erectos. Filamentos flexuosos a torcidos no paralelos. Vainas delgadas de forma incompleta, confluentes, engrosadas tras un periodo de estrés, incoloras, con frecuencia casi invisibles. Tricomas (1.0-) 1.5-2.0 μm ancho, células translúcidas, ligeramente afiladas, más largas que anchas 2.5-5.0 (-7.2) x (2.0-) 2.5-4 μm ; contenido homogéneo, gránulos generalmente grandes, presentes en ambos lados de los septos. Células apicales largas cónicas, sin caliptra o tabique celular grueso. Se reporta para aguas de manantiales. Presentes en suelos inundados (Fig. 6).

Leptolyngbya fritschii Anagnostidis 2001.

Filamentos densos 4.8–5.5 (-6) μm ancho, vaina más o menos mucilaginososa en algunas partes del filamento. Tricomas de 2.0-2.5 (-3) μm ancho, incluidos en mucílago de *Nostoc*, constricciones ligeras en los septos celulares, con dos

gránulos. Células generalmente cilíndricas, 2-3 veces más largas que anchas. Célula apical truncada a redondeada. (Fig. 6 y 7)

Leptolyngbya notata (Schmidle) Anagnostidis et Komárek 1988

Filamentos de 1.5–2.5 μm ancho; ramas falsas no presentes en los individuos observados. Vaina firme, delgada, hialina. Tricomas pálido azul-verde, por lo general con uno o dos gránulos. Células cilíndricas, o más largas que anchas, la apical redondeada. Presentes en suelo junto a colonias de *Nostoc*. Se desarrollan en suelo y raramente en agua dulce. (Fig. 7) Se reporta para la República Checa, Alemania y Grecia.

Familia: **Phormidiaceae** Anagnostidis et Komárek 1998

Filamentos isopolares, solitarios o esteras, postrados sobre el sustrato, enrollados, juntos o fasciculados raramente entretejidos. Vainas presentes o no, si presentes, facultativas u obligadas. Firmes, finas, delgadas o densas, homogéneas o estratificadas, usualmente abiertas en un extremo, raramente cerradas o comprimidas, hialinas o algunas veces pigmentadas. Con uno o varios tricomas por vaina. Ramas falsas facultativas en algunos géneros. Tricomas (2) 4-14 (18) μm ancho, generalmente cilíndricos, rectos o variablemente enrollados, constricciones ausentes. Células isodiamétricas o ligeramente alargadas generalmente más cortas que anchas, ocasionalmente con caliptra apical. Aerotopos presentes en algunos géneros planctónicos. Tilacoides dispuestos radialmente, poco frecuente parietales. Pigmentos más o menos constantes, con frecuencia sin adaptaciones cromáticas. Heterocitos y acinetos ausentes. Tricomas móviles, facultativo en varios géneros. Poro especial en los tabiques celulares de diversos géneros. Células subapicales con capacidad de división. Reproducción por fragmentación de tricomas, hormogonios y hormocitos.

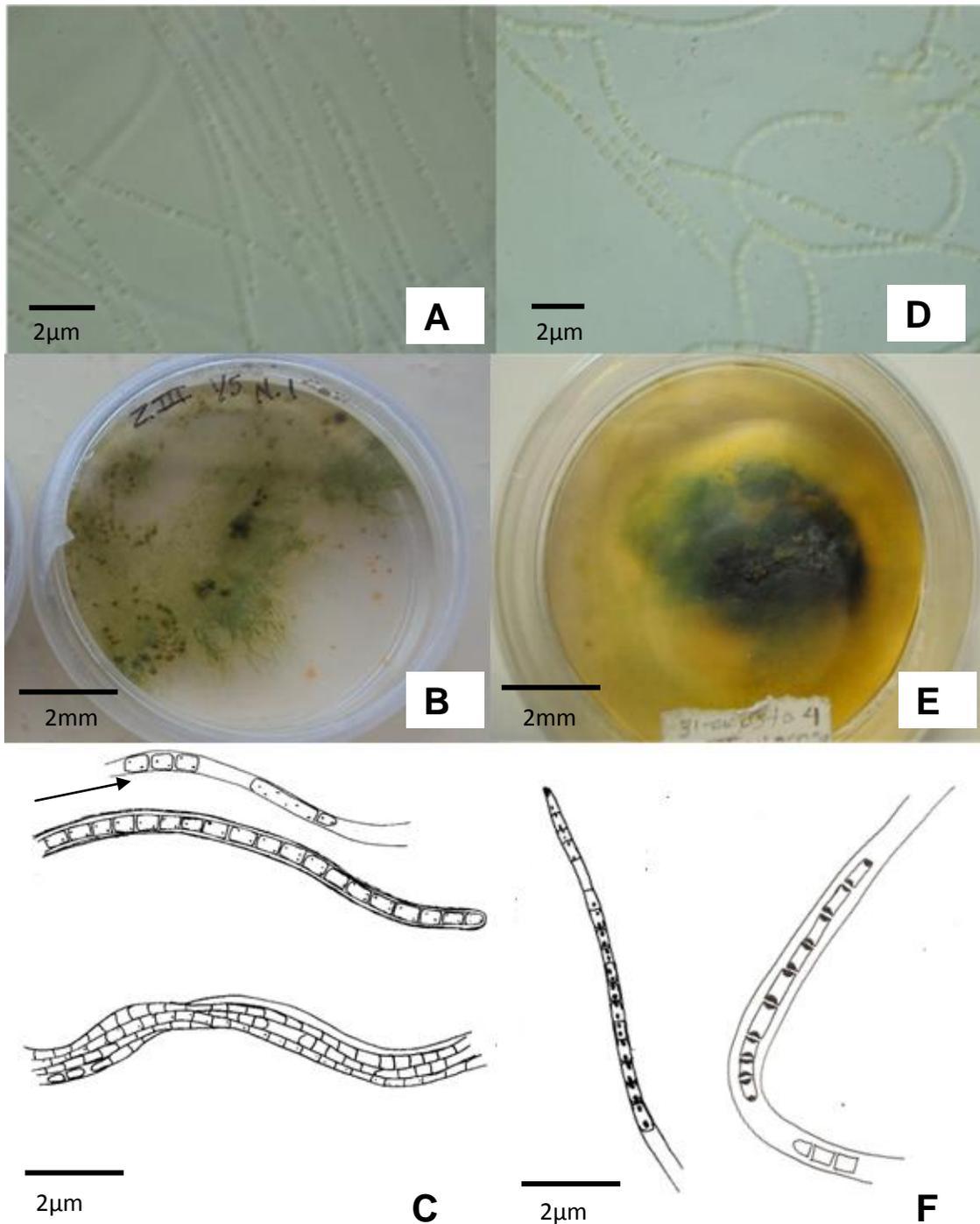


Figura. 6 *Pseudanabaena amphigranulata* y *Leptolyngbya granulifera* en medio de cultivo BG11. A. Filamentos de *Pseudanabaena amphigranulata* B. Crecimiento en medio BG11, forma y arreglo de los filamentos. C. Células de los filamentos con dos gránulos en los extremos opuestos. D. Filamentos de *Leptolyngbya granulifera* E. Colonia creciendo en medio BG11, se observan filamentos postrados, erectos hacia la parte central de colonia. F. Tricomas con vaina gruesa, célula apical cónica. Gránulos uno en cada lado del septo.

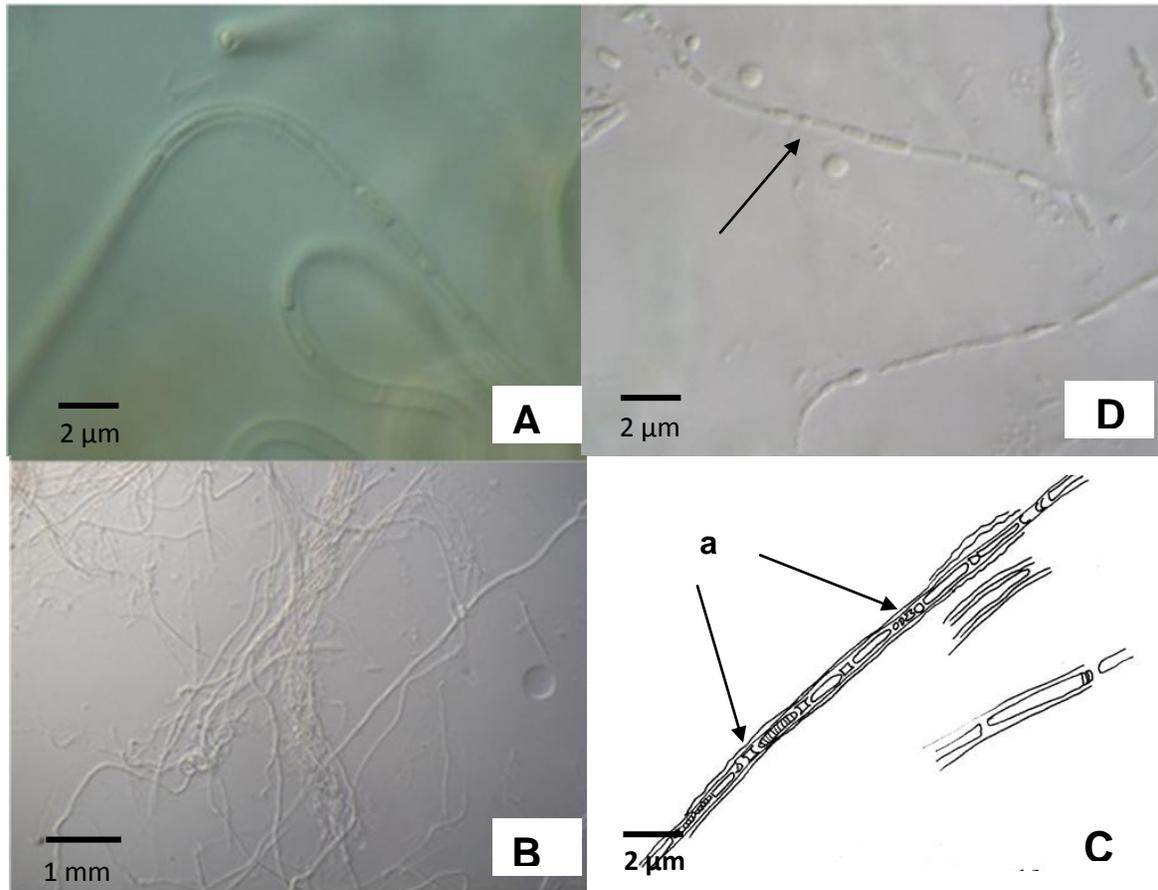


Figura. 7 *Leptolyngbya fritschii* y *Leptolyngbya notata*. A. Filamentos de *Leptolyngbya fritschii*. B. Arreglo de filamentos en medio BG11. C. Células redondeadas a cónicas, células necridiales. D. Filamentos de *Leptolyngbya notata*, se observa vaina delgada.

Subfamilia: **Phormidioideae** Anagnostidis et Komárek 1986

Filamentos isopolares, solitarios o coloniales, fascículos finos o en estratos. Tricomas isopolares con extremos idénticos. 3-14 (-18) µm ancho, enrollados o con regularidad parecido a un tornillo, generalmente móviles de forma facultativa. Vainas facultativas, frecuentemente un tricoma por vaina, ocasionalmente ramas falsas. Células con poro especial sobre tabiques celulares. Reproducción por fragmentación de tricomas y hormogonios (vibración, agitación y rotación).

Phormidium Kützing ex Gomont 1892

Talo por lo general extenso, delgado o cohesivo, gelatinoso, mucilaginoso, cartilaginoso y membranoso, conectado ampliamente al sustrato o parcialmente libre; masas raras a veces flotantes con racimos o penachos, excepcionalmente filamentos solitarios. Filamentos torcidos, sin ramas falsas, por lo general enredados. Vainas facultativas (en condiciones desfavorables) u obligadas (su frecuencia a menudo depende de condiciones ambientales), firmes o delgadas, generalmente incoloras, adheridas a los tricomas, no lameladas, a veces ligera o fuertemente difluentes o ausente (en ocasiones espesadas y lameladas). Tricomas cilíndricos, permanentes, retorcidos, algunas veces parecidos a un tornillo, (1.8-) 2.5-11 (-15) μm ancho. Células claramente apretadas en el filamento móvil (dentro de la vaina con o sin oscilación y rotación), más o menos isodiamétricas, longitud variable respecto al ancho, aerotopos ausentes. Célula apical estrecha a redondeada con caliptra facultativa. Tilacoides más o menos longitudinales y radiales dentro de célula (contenido celular ocasionalmente con reticulación irregular, longitudinal o estriada). División celular transversal, células hijas del mismo tamaño que la célula madre antes de la siguiente división. Reproducción por desintegración de tricomas, hormogonios largos o cortos, frecuentemente con células bicóncavas necridiales. Género apoyado por caracteres moleculares.

Phormidium griseo-violaceum (Skuja) Anagnostidis 2001

Filamentos solitarios, ligeramente enrollados. Vaina delgada, firme, observable, abierta de un extremo. Tricoma cilíndrico, 4.5-5 μm de ancho. Células isodiamétricas o ligeramente más anchas, 4.5-5 x 3.5 μm . Filamentos de color azul-verde gris violáceo, en ocasiones pálido, finamente granuloso hacia las paredes de las células. Gránulos hialinos de mayor tamaño en protoplasma. Célula apical cónica a redondeada. División celular intercalar hacia un extremo del tricoma. Esta especie crece junto con *Leptolyngbya fristchii*, en suelo inundado. (Fig. 8) Se ha registrado como picoplancton en lagos de Suecia y en Tierra de Fuego, Argentina. Komárek y Anagnostidis, 2005.

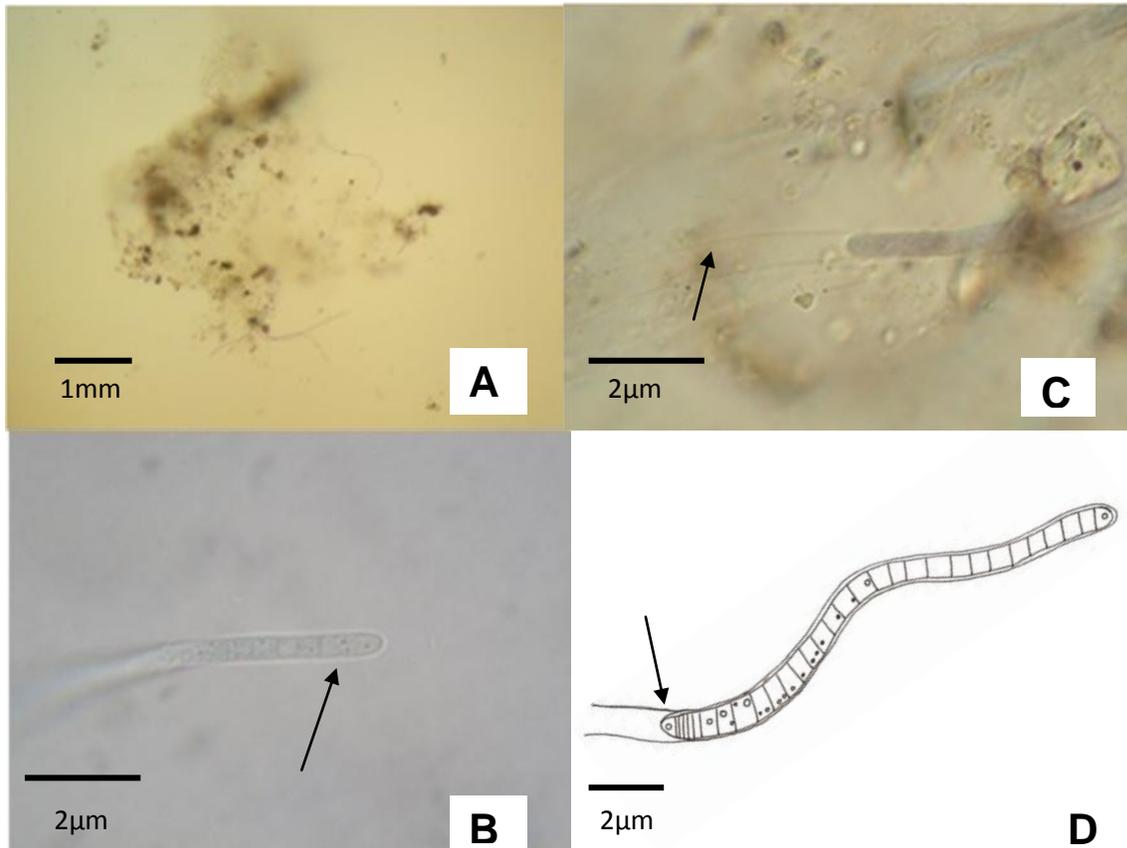


Figura. 8 *Phormidium griseo-violaceum* y *Leptolyngbya fristchii* en medio de cultivo BG11. A. Filamentos de *Phormidium griseo-violaceum* dispersos en mucílago de *Leptolyngbya fristchii* . B. Célula apical cónica a redondeada, se observa vaina cerrada . C. Extremo de filamento con vaina abierta. D. Filamento ligeramente curvo, se observa zona de división celular.

Familia **Nostocaceae** Kützing., Phyc. Gen.

Filamentos siempre simples, sin ramas; polos del tricoma no presentan diferencias, reproducción por hormogonios y ocasionalmente por esporas.

Cylindrospermun Kützing ex Bornet et Flahault 1886

Filamentos en grupos compactos o plánctonicos solitarios. Rectos, ligeramente curvados o irregularmente helicoidales a todo lo largo del filamento. Sin vaina evidente al microscopio de luz. Constreñido en los septos. Células cilíndricas, más o menos del mismo largo que ancho, sólo un poco más largas. Sin aerotopos, sólo

gránulos dispersos. Contenido celular verde azul pálido a verde brillante. Heterocitos terminales, ovoides, ovals o cónicos, en uno o ambos polos del tricoma; los acinetos se desarrollan junto a los heterocitos, esféricos, ovals o cilíndricos, solitarios o en series. La pared del acineto puede ser ornamentada. Las células alcanzan su tamaño original antes de dividirse, sin zonas de crecimiento en el tricoma. Reproducción por fragmentación del tricoma y por germinación de los acinetos (Novelo 1985).

Cylindrospermum majus Kützing ex Bornet et. Flahault.

Talo mucilaginoso, pardo-negruzco; tricomas 3-4 μm ancho, constreñido en paredes celulares, coloración azul-verde pálido; células cilíndricas, 5-7.5 (-9) μm largo; heterocito elipsoidal, 5.8-6.5 μm ancho, más amplio que el tricoma, hasta 10 μm largo; acinetos elipsoidales, 10.5-12.5 μm ancho, 25-28.8 (-35) μm largo con pared externa papilosa de color verde-pardo. (Fig. 9) Crece sobre suelo húmedo y en lagos (Britton 1952, Frémy 1929, Tilden 1910, Prescott 1962)

Nostoc Vaucher ex Bornet et Flahault

Talos micro y macroscópicos, mucilaginosos amorfos o esféricos, irregularmente esféricos o lobados. Colonias con superficie suave o verrugosa, filamentosa o formando mucílagos planos papiráceos, generalmente con un periderma distintivo. Filamentos coloniales internos enrollados irregularmente, laxos o densamente agrupados hacia la capa periférica, vainas individuales en cada filamento, sólo visibles en la periferia de la colonia o en colonias jóvenes de color parda amarillenta. Tricomas isopolares del mismo ancho a todo lo largo del filamento. Células apicales no diferenciadas, las cilíndricas abarriladas o casi esféricas (formando filamentos moniliformes); variables en tamaño y forma celular en la misma especie. Heterocitos solitarios, dispuestos terminal o intercaladamente; tricomas principalmente metaméricos. Acinetos apoheterocíticos, ovals, más grandes que las células vegetativas, casi todas las células entre los heterocitos cambian sucesivamente en acinetos. Células con división transversal,

multiplicación por hormogonios móviles. Los hormogonios se diferencian de los tricomas por desintegración de los heterocitos y por los acinetos. Ciclos de vida diversos y variables en sus fases; presencia de estadios aseriados, en paquetes y heterocitos extracoloniales frecuentes que dificultan su determinación taxonómica (Novelo 1985).

Nostoc linckia (Roth) Bornet ex Bornet et Flahault

Talo de varios tamaños, a veces punetiforme, al principio globoso cambiando a irregular, rasgado, gelatinoso, negruzco o marrón; filamentos densamente enredados, flexibles o sumamente enrollados; vaina difluente e incolora, distinto sólo en la parte periférica; tricomas 4.0-5.5 μm ancho, pálido azul amarillento; células cortas en forma de barril; heterocito subesférico a ovado de 5.2-6 μm diámetro; esporas subesféricas, 5.8-7.5 μm ancho, 8- largo, epispora lisa. (Fig. 10) Crece en suelos de arrozal cerca de Bombay (Gonzalves y Gangla, 1949, 53); sobre *Rhizoclonium profunda*, McPherson Lago, Allahabad (Gupta, 1956,77).

Nostoc muscorum Agardh ex Bornet et Flahault

Talo gelatinoso endurecido, disposición de filamentos irregular expandidos, color marrón; filamentos enredados o laxos; tricoma 2.2-3.4 μm ancho, con hasta 50 células de largo, forma de barril a cilíndricas; heterocito casi esférico, 6-7 μm de ancho; esporas oblongas, seriadas (4), 4-8 μm ancho, (7-) 8-10 largo, acinetos no observada. (Fig. 11) Crece sobre suelo húmedo de Panchgani (Schmidle, 1900b) y suelos de arrozal de Thana, Dahisar y Goregaon (Bombay) (Gonzalves y Gangla, 1949, 50); Lahore en Palistan (Ghose, 1924,3409; Rangoon en Birmania (Ghose, 1927a, 223; 1927, 81; Skuja, 1949,43).

Nostoc parmelioides Kütz. ex Born. et Flah.

Talo discoide, filamentos que irradian de un centro, densamente hacia la periferia; vaina distinta, en la periferia de la colonia, amarilla, hialina y difluente hacia el interior; tricoma 3-6 μm ancho, células esféricas a subesféricas; heterocito esférico, 4.5-5 μm diámetro; acinetos no observados. (Fig. 11) Se reporta en Shembaganur, Madrás (Frémy, 1942, 22).

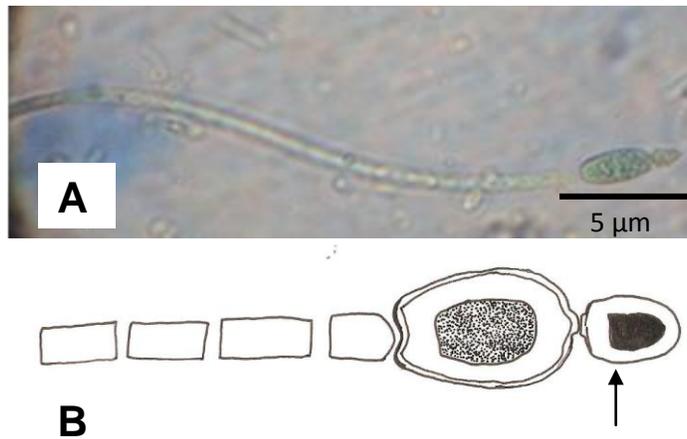


Figura. 9. *Cylindrospermum majus*. A. Filamento con heterocito apical seguido de una espora elipsoidal. B. Detalle de la epispora papilosa.

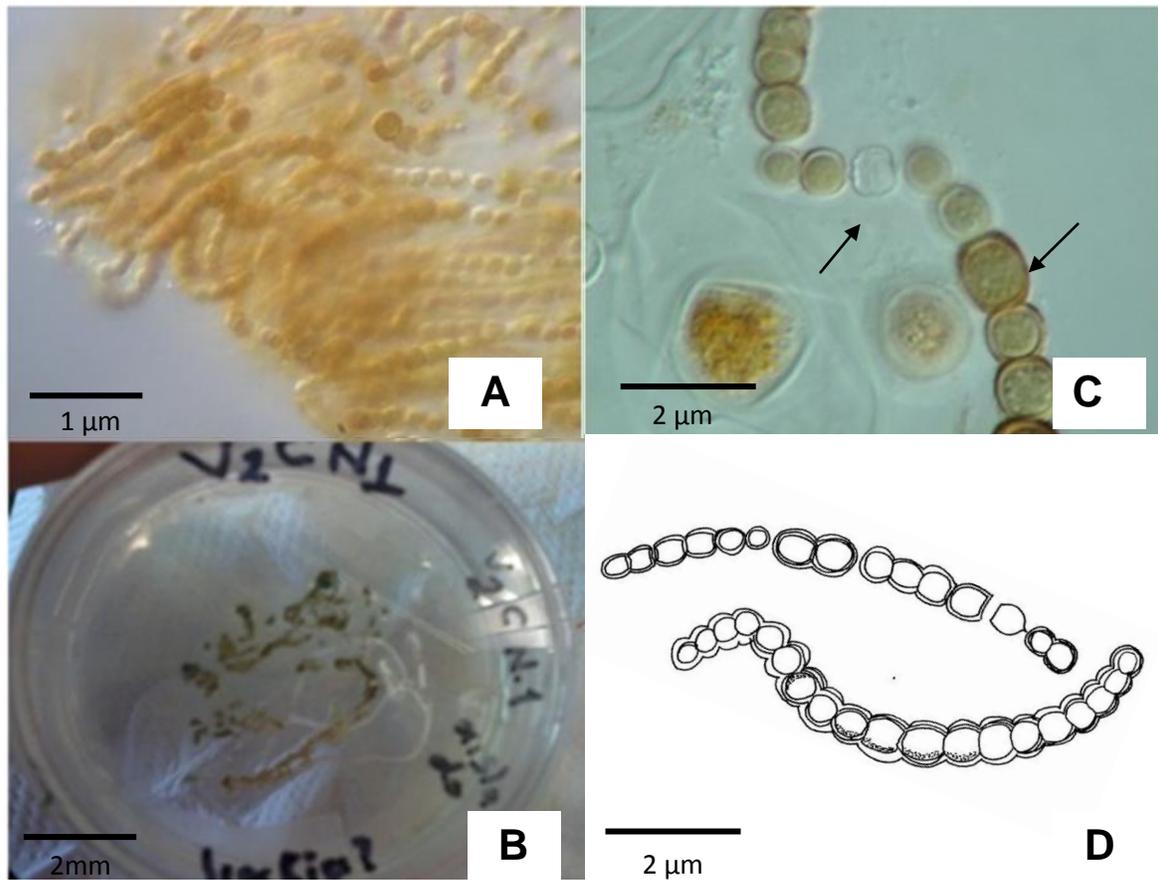


Figura. 10 *Nostoc linckia*. A. Disposición de los filamentos hacia el margen de la colonia; vaina difluente. B. Crecimiento de colonias en medio BG11. C. Filamento con heterocito y acineto. D. Dibujo ilustrando células globosas y células apicales subglobosas.

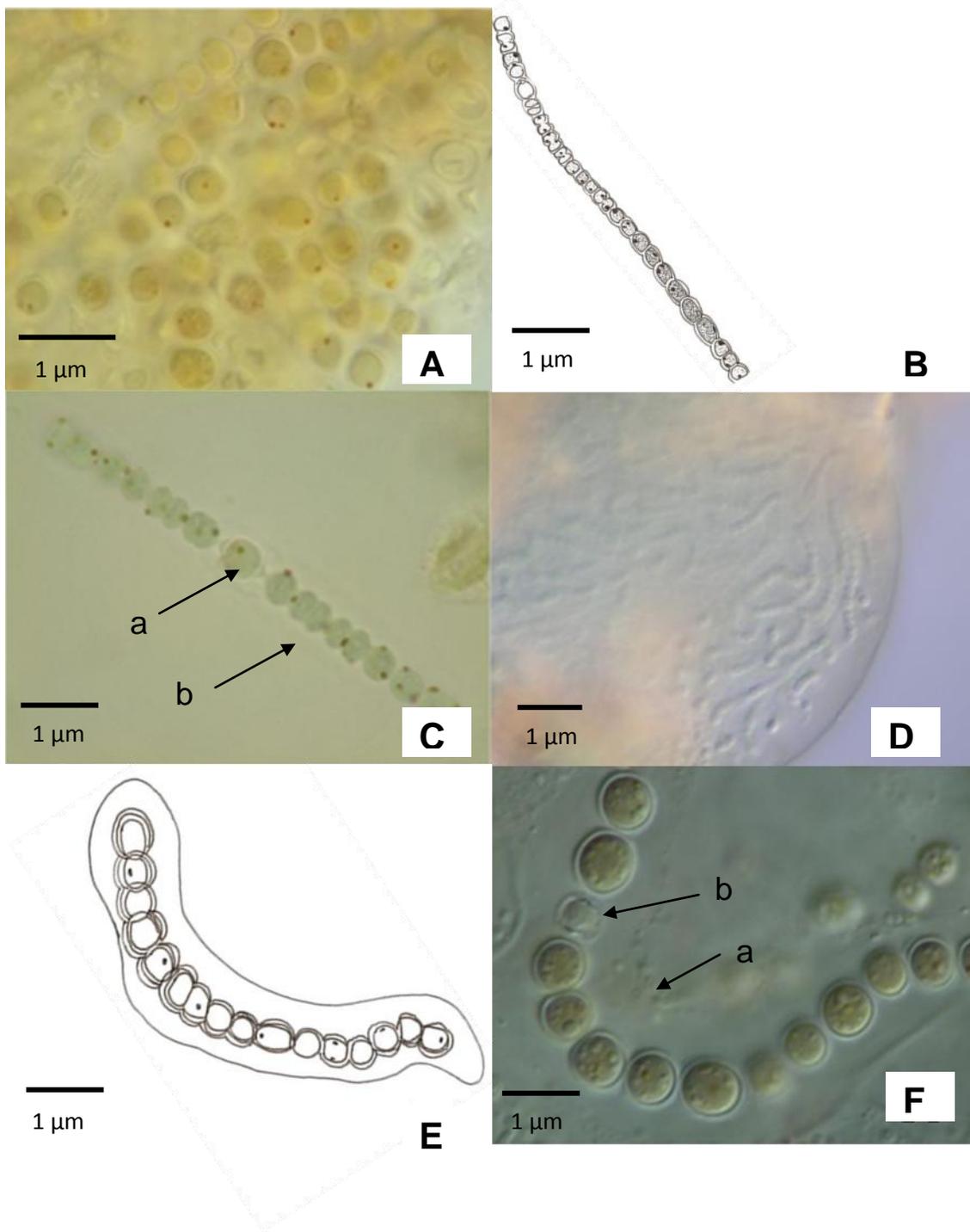


Figura. 11 Colonias de *Nostoc muscorum* y *Nostoc parmelioides*. A. Filamentos en arreglo irregular, vaina difluente. B. Células vegetativas granuladas. C. Filamento con a. heterocito globoso, b. vaina hialina y firme. D. Colonia de *Nostoc parmelioides*, filamentos en arreglo laxo hacia la periferia, vaina de la colonia lisa y firme. E. células con gránulos grandes. F. Filamento mostrando a. vaina amplia, b. heterocito globoso.

IX. DISCUSIÓN

Riqueza de cianobacterias y comparación con otras regiones

Las cianobacterias presentes en el cultivo de arroz del Ejido La Calavera, están representadas por organismos de formas filamentosas con y sin heterocitos y en menor proporción formas unicelulares. Todas tienen la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico aún sin la presencia de células heterocíticas como lo mencionan diversos autores (Capone et al., 1997; Soto-Urzúa y Baca, 2001; Vargas y Novelo, 2003). La mayor riqueza de especies está representada por organismos de forma filamentosa y corresponden a las familias Nostocaceae, Phormidiaceae y Pseudanabenaceae. Estas formas coinciden con las reportadas por Quezada y Fernandez-Valiente (1996) para arrozales de España y Chunleuchanon et al. (2003) en Tailandia. Estas familias tienen una amplia distribución en todos los continentes y habitan diversos ambientes terrestres y acuáticos. En los cultivos de arroz se han reportado para países de Asia, Europa y América (Acosta, 1978; Espinosa et al., 1984; Espinosa et al., 1985; Sánchez et al., 2007 y 2011; Tiwari, 1972). Por otro lado La familia Merismopediaceae está representada sólo por organismos unicelulares que habitan principalmente ambientes acuáticos.

Las familias que presentaron mayor riqueza en el nivel genérico son Nostocaceae y Pseudanabenaceae, ambas con dos géneros. Nostocaceae es común encontrarla en ambientes acuáticos y presenta alta diversidad en cultivos de arroz, donde los géneros más comunes son *Anabaena*, *Nostoc*, *Cylindrospermum* y *Aulosira*. En este estudio se registraron sólo *Nostoc* y

Cylindrospermum con tres y una especie respectivamente. Pseudanabenaceae está representada en estos ambientes principalmente por los géneros *Lyngbya*, *Leptolyngbya* y *Pseudanabaena*. Los dos últimos también fueron registrados para este estudio (Cuadro 2).

Las especies de cianobacterias más comunes en arrozales en el mundo son *Anabaena flos-aque*, *Aulosira fertilissima*, *Cylindrospermum majus*, *Nostoc communa*, *N. humifusum*, *N. muscorum*, *N. linckia*, *N. sphaericum*, *Tolypothrix tenuis*, *T. fertilissima* (Acosta, 1978; Chunleuchanon et al., 2003; Quezada y Fernandez-Valiente, 1996; Irisarri et al., 1999; Rincón et al., 2003; Sánchez et al., 2007 y 2011; Singh, 1989; Tiwari, 1972). En su gran mayoría se encuentran de manera natural y en muchos casos se cultivan para aplicarlas como biofertilizantes, es el caso de *Anabaena flos-aque*, *Aulosira fertilissima*, *Nostoc commune*, *N. muscorum*, *N. sphaericum*, *Tolypothrix tenuis*, *T. fertilissima*. En este estudio se registraron *Cylindrospermum majus*, *Nostoc muscorum*, *N. linckia*, frecuentes en regiones de Asia, donde se ha probado su alta capacidad para fijar nitrógeno y su adaptabilidad para ser cultivadas como ocurre con *Nostoc muscorum* (Ghosh y Saha, 1997; Ibrahim, 1972; Ley et al., 1959; Singh, 1989; Tiwari, 1972).

Los seis géneros y once especies registradas representan un primer esfuerzo para conocer la diversidad cianobacteriana en estos agroecosistemas de México. Con seguridad la riqueza de géneros y especies se aumentará cuando los esfuerzos se intensifiquen, como ha ocurrido en otras regiones del mundo donde con estudios intensivos intentan conocer la riqueza cianobacteriana presente en

los arrozales. Por ejemplo, Sánchez et al. (2007) en un cultivo de arroz de Entre Ríos, Argentina reportó ocho géneros, cuatro años después esta misma autora aumento el registro a 11. En la India, Prasanna y Nayak (2007) reportó 12 géneros para un cultivo de arroz. Posiblemente en los arrozales de México la riqueza en el nivel genérico aumente a cifras parecidas a las reportadas para los arrozales de Argentina y la India.

Comparación de la composición de cianobacterias en el cultivo de arroz

El cuadro 3 muestra el cambio en la composición cianobacteriana a lo largo del ciclo del cultivo de arroz. Los resultados muestran que la composición de estos organismos es diferente en las dos áreas de la parcela y en las diferentes etapas del ciclo. En primer término resulta interesante la presencia de siete especies de cianobacterias en la etapa de labranza, tres de estas corresponden al género *Nostoc*, dos a *Leptolygnbya*, *Synechocystis* y *Pseudanabaena* sólo presentaron una respectivamente. En la etapa de macollaje el número se redujo a cinco especies, *Synechocystis pevalelekii*, *Nostoc linckia* y *Pseudanabaena amphigranulata* son las únicas especies que se volvieron a encontrar para la zona I de la parcela. En contraste para la zona II sólo se registró la presencia de *Nostoc linckia* y *Pseudanabaena amphigranulata*. Con excepción de *Nostoc muscorum* que se encontró en la última etapa del ciclo del cultivo, las especies *N. parmelioides* y *Leptolygnbya notata* registradas en la etapa de labranza no volvieron a ser registradas durante los diferentes estadios del cultivo. La ausencia de estas dos especies puede ser causada por las condiciones microambientales

de cada fase del cultivo y cobertura, temperatura y aporte de fertilizantes químicos (Stewart, 1977; Rincón et al., 2003; Sánchez et al., 2011). Los resultados aquí encontrados son semejantes a los reportados por Rincón et al. (2003), quienes atribuyen el cambio en el número de especies al tipo de agua utilizada, temperatura, incidencia de luz solar y disponibilidad de nutrimentos. Otro aspecto relevante es la presencia *Leptolyngbya granulifera* y *Phormidium griceo-violaceum* en la etapa de macollaje, cabe destacar que estas especies han sido registradas en cuerpos de agua y que en esta etapa de macollaje el aporte de agua se incrementa y se mantiene circulando en el sistema por más días. Estas especies no fueron registradas durante la etapa de labranza, su presencia posterior puede deberse al aporte de agua ya que al final del ciclo el aporte de agua es nulo y las especies no se registraron. Devi et al. (2010), mencionan que las cianobacterias pueden estar presentes en la profundidad de los suelos agrícolas. Sin embargo, Sánchez et al. (2011) indican que estos microorganismos no son capaces de persistir en ausencia de luz por sus características autotróficas. En la etapa de panoja embuchada se presentó *Nostoc* sp., en ambas áreas de la parcela, esta taxón posiblemente es una forma del estadio de *Nostoc linckia* o *N. parmelioides* encontrados en macollaje y labranza respectivamente. Otra posibilidad es que sea una especie diferente, traída por el aporte de agua. Estudios sobre el ciclo biológico de estos organismos pueden ayudar a determinar su identidad taxonómica como lo menciona Montejano y González-González (1981).

Jha et al. (2001) mencionan a especies del género *Nostoc* como dominantes en arrozales sometidos a diferentes niveles de fertilización y rotación de cultivos.

Especies de este género se registraron en todo el ciclo fenológico del arroz. Lo anterior indica que son especies adaptadas a las condiciones del medio, tal como lo reportan Espinosa et al. (1984); además de competitivas y dominantes en campos arroceros, como ocurre en la India y Tailandia (Sánchez et al., 2011; Prasanna y Nayak, 2007 y Chunleuchanon et al., 2003).

La presencia de *Cylindrospermum majus* en panoja embuchada y madurez fisiológica sugiere que es una especie resistente a las etapas de sequía-humedad y a las aportaciones de fertilizantes al igual que *Nostoc* spp. Se ha registrado a *Cylindrospermum majus* como típica de otros campos arroceros (Ghosh y Saha, 1997; Sánchez et al., 2011; Tiwari, 1972).

Las especies que también se presentan en la etapa de madurez fisiológica de manera notable en la zona II son *Leptolygnbya fristchii* y *Pseudanabaena amphigraulata*. La primera se encuentra en mucílago de *Nostoc* y la segunda acompañando a las colonias de *Nostoc* en áreas con incidencia de luz en la parcela.

Es notoria una mayor riqueza de cianobacterias en las primeras etapas del cultivo y en la zona I en donde el aporte de agua es directo del río. La mayor riqueza en la zona de aporte directo de aguas del río permite suponer que las cianobacterias se desarrollan en los sistemas de manantiales que dan origen al río Cuautla y pueden permanecer como organismos subaerofíticas en las parcelas del cultivo.

X. CONCLUSIONES

- El presente estudio es el primer esfuerzo por identificar las especies de cianobacterias y registrarlas en el ciclo del cultivo del arroz para el estado de Morelos y en general para México.
- La presencia de estos organismos está determinada por las diferentes etapas del ciclo fenológico del arroz.
- Las condiciones microambientales y la cobertura del cultivo aparentemente son los factores que determinan la composición cianobacteriana en cada estadio fenológico.
- Especies del género *Nostoc* se presentaron en todos los estadios fenológicos, estas especies son una alternativa para ser utilizadas como biofertilizantes por su alta capacidad para fijar nitrógeno.

XI. LITERATURA CITADA

- Acosta, P.J. 1978. Algas fijadoras de Nitrógeno y su importancia en la agricultura. Separata del Boletín de la Colonia Suiza en el Perú.
- Aguirre-Gómez, A. 2001. Química de los suelos ácidos, templados y tropicales. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM. México.
- Andersen, R. 2005. Algal Culturing Techniques. Elsevier Academic Press-Phycological Society of America, Burlington.
- Banerjee, M., A. Sharma y T. Thomas. 1997. Potential use of lake cyanobacterial biomass as fertilizer for the cultivation of food crops. World Journal of Microbiology and Biotechnology 5: 595-596.
- Bailey, D., P. Mazurak y J. Rosowski. 1973. Aggregation of soil particles by algae. Journal Phycology 9: 99-101.
- Brahmaprakash, G.P. y P.K. Sahu. 2012. Biofertilizers for Sustainability. Journal of the Indian Institute of Science 1: 37-62
- Carrapico, F., G. Teixeira y M.A. Didiz. 2000. *Azolla* as a biofertiliser in Africa. A challenge for the future. Revista de Ciencias Agrarias 3-4: 120-138
- Canales, L.B. 1998. Las Algas en la agricultura Orgánica. Saltillo, México.
- Capone, D.G., J.P. Zehr, H.W. Paerl, B. Bergman y E.J. Carpenter. 1997. *Trichodesmium*, a globally significant marine Cyanobacterium. Science 5316: 1221-1229.

- Chunleuchanon, S., A. Sooksawang, N. Teaumroon y N. Boonkerd. 2003. Diversity of nitrogen-fixing Cyanobacteria under various ecosystems of Thailand: population dynamics as affected by environmental factors. *World Journal Microbiology Biotechnol* 19: 167-173.
- Ciampi, L., E. de García y J. Izquierdo. 1995. *Biotecnología Apropiable: racionalidad de su desarrollo y aplicación en América Latina y el Caribe*. REDBIO. Santiago de Chile
- CONABIO Y UAEM, 2004. *La diversidad Biológica en Morelos: Estudio del Estado*. Contreras-MacBeath, T., J.C. Boyás, F. Jaramillo (Ed.). Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad y Universidad Autónoma del Estado de Morelos, México
- Devi, D., G. Oinam, I. Devi, A. Singh, O.N. Tiwari y G.D. Sharma. 2010. Ecology and biodiversity analysis of cyanobacteria. *Assam University of Science & Technology: Biological and Environmental Sciences* 5: 6-13.
- Desikachary, T.V. 1959. *Cyanophyta*. Indian Council of Agricultural Research, Monographs on Algae, New Delhi.
- Dobermann, A. y T.H. Fairhurst. 2000. *Arroz: Desórdenes Nutricionales y Manejo de Nutrientes*. Colección de Manuales de Campo. International Plant Nutrition Institute.
- Espinosa, A.S., S. Palacios y M.M. Ortega. 1984. Fijación de nitrógeno por cepas de *Nostoc commune* Vaucher, aisladas de suelos de Edo. de Morelos, México,

comparada con dos cepas de *Anabaena*. Revista Latinoamericana de Microbiología 26: 323-330.

Espinosa, A.S., S. Palacios y M.M. Ortega. 1985. Estudio sobre el crecimiento de *Azolla filiculoides*, en medios de cultivo y en suelos de arrozal del estado de Morelos, México, bajo condiciones de invernadero. Revista Latinoamericana de Microbiología 27: 61-69.

Espinoza, Y. 2004. Potencialidad de *Azolla anabaena* como biofertilizante para cultivos de arroz. Revista digital Ceniap hoy.6, septiembre-diciembre, Maracay, Aragua, Venezuela. Visitado 13/12/2012

Frémy, P. 1930. Les Myxophycées de l'afrique equatoriale francaise. Archives de Botanique.

García, G. y A. Martel. 1990. Usos y aplicaciones de macroalgas, microalgas y cianobacterias en agricultura ecológica. Instituto de Algología Aplicada, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Visitado 10/10/2011.

Gardner, N. 1927. New Myxophyceae from Porto Rico. Memoirs of the New York Botanical Garden 7: 1-144.

Ghosh, T.K. y K.C. Saha. 1997. Effects of inoculation of cyanobacteria on nitrogen status and nutrition of rice (*Oryza sativa* L.) in an Entisol amended with chemical and organic sources of nitrogen. Biology and Fertility Soils. 24:123-128.

- Giddings, T.H. y L.A. Staehelin. 1981. Observation of microplasmodesmata in both heterocyst-forming and non-heterocyst forming filamentous cyanobacteria by freeze-fracture electron microscopy. *Arch Microbiology* 129: 295-298
- Herrero, A., Muro-Pastor, A.M. y Flores E. 2001. Nitrogen Control in Cyanobacteria. *Journal of Bacteriology* 2: 411-425
- Irisarri, P., S. Gonnet, E. Deambrosi y J. Monza. 1999. Diversidad de Cianobacterias con heterocistos en suelos cultivados con arroz. *Agrociencia* 1: 31-37.
- Ibrahim, A.N. 1972. Effect of certain herbicides on growth of nitrogen fixing algae and rice plants. *Symposium Biologica Hungarica* 11: 445.
- Jha, M.N., A.N. Prasad, S.G. Sharma y R.C. Bharati. 2001. Effects of fertilization rate and crop rotation on diazotrophic cyanobacteria in paddy field. *World Journal Microbiol Biotechnol* 17: 463-468.
- Kannaiyan, S., S.J. Aruna; S.M.P. Kumari; y D.O. Hall. 1997. Immobilized cyanobacteria as biofertilizer for rice crops. *Journal of Applied Phycology*. 9:167-174.
- Kannaiyan, S. 2002. Biofertilizers for sustainable crop production. *In: Biotechnology of A Biofertilizers*. Kannaiyan, S. Kluwer (ed.) Academic publishers y Narosa Publishing House. India. 9-39pp.
- Komárek, J. 2006. Cyanobacterial Taxonomy: Current problems and prospects for the Integration of Traditional and Molecular Approaches. *Algae* 4: 349-375.

- Komárek, J. y Anagnostidis, K. 1999. Cyanoprokaryota I. Teil: Chroococcales. *In*: Ettl H., G. Gärtner, H. Heyning y D., Mollenhauer. Süßwasserflora von Mitteleuropa, Gustav Fischer, Stuttgart-Jena.
- Komárek, J. y K. Anagnostidis. 2005. Cyanoprokaryota II. Teil/2nd. Oscillatoriales. *In*: Büdel, B., G. Gärtner, L. Krenitz, M. Schagerl (Ed.). Elsevier, München.
- Lee, R.E. 1999. Phycology. Cambridge University. USA.
- Lehninger, A.L.; D.L. Nelson, M.M. Cox. 2005. Principles of Biochemistry. 4th. Worth Publishers. N.Y.
- Ley, S.H., T. Veh, F. Liu, L. Wang y T.S. Sui. 1959. The effect of nitrogen fixing blue-green algae on the yield of rice plant. *Acta Hydrobiol Sinica* 4: 440-444.
- Madigan, M.T., J.M. Martinko, J. Parker. 2004. Brock. Biología de los microorganismos. 10th. Pearson Educación, Madrid.
- Montejano, Z.G.A. 1998. Taxonomía de Cyanoprokaryota (Cyanophyta/Cyanobacteria) epifitos del orden Chroococcales de la región central de México. Tesis de Doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Montejano, Z.G. y G.J. González-González. 1981. Notas sobre la variación de ciclos de vida en *Nostoc*. *Phycol. Latamer.* 1: 47-60.
- Novelo, E. 1985. Flora dinámica del suelo del valle de Tehuacán, Puebla. México. Tesis de Maestría en Ciencias. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México.

- Novelo, E. 2011. Cyanoprokaryota J. Komárek. Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Fascículo 90. Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Peña-Cabrales, J.J; O.A. Grageda-Cabrera y J.A. Vera-Nuñez. 2001. Manejo de los fertilizantes nitrogenados en México: uso de las técnica isotópicas (^{15}N) Terra 20: 51-56.
- Prasanna, R y S. Nayak. 2007. Influence of diverse rice soil ecologies on cyanobacterial diversity and abundance. Wetlands Ecol Manage 15: 127-134.
- Prosperi, C. 1999. Serie Verde (1) Las Algas Tóxicas y su efecto sobre el ambiente. Cuadernos de Divulgación de la Universidad Libre del Ambiente. 1: 8 Editorial ULA, Córdoba. www.funam.org.ar/algi.htm. Consultado octubre 2011
- Quesada, A. y E. Fernández-Valiente. 1996. Relationship between abundance of N_2 -fixing cyanobacteria and environmental features of Spanish rice fields. Microbial Ecology 1: 59-71.
- Rao, S. 2002. An appraisal of biofertilizers in India. *In*: Kannaiyan, S. (ed.) Biotechnology of Biofertilizers.
- Rincón, A; C. Prósperi y E. Fernández-Valiente. 2003. Fijación de nitrógeno en la cianobacteria *Chroococcus limneticus* y su relación con la actividad superóxido dismutasa. Revista de Ciencia y Tecnología 8:115-123.

- Roger, P.A. y S. Kulasooriya. 1980. Blue-green algae and Rice. International Rice Research Institute, Los Baños, Philippines.
- Salcedo, A.J. y E.J. Barrios. 2011. Problemas y desafíos del arroz en Morelos. Hypatia. 33
- Sánchez, C.I., S.M. Benintende y M.C. Benintende. 2007. Comunidad de Cianobacterias durante el ciclo de arroz (*Oriza sativa*, L.). CI Suelo. 1: 1-6.
- Sánchez, C.I., S.M. Benintende y M.C. Benintende. 2011. Cianobacterias en diferentes estadios fenológicos del cultivo de arroz en Entre Ríos (Argentina). CI Suelo 1: 1-6.
- Singh, R.N. 1961. Role of blue-green algae in nitrogen economy of Indian agriculture. Indian Council of Agricultural Research, New Delhi.
- Singh, R.N. 1989. Blue-green algae in rice fields. Pykos. 28: 181-195.
- Shields, L.M. 1957. Algal and lichen floras in relation to nitrogen content of certain volcanic and arid range soils. Ecology. 38: 661-663.
- Soto-Urzúa y B.E. Baca. 2001. Mecanismos de Protección de la Nitrogenasa a la inactivación por Oxígeno. Revista Latinoamericana de Microbiología 43: 37-49.
- Stellmacher, G. y W. Reissner. 1999. The quantitative isolation of algae from soils. A suggestion for standardization. Pedobiologia 43: 206-208.

Stewart, W.D.P. 1977. A botanical ramble among the blue green. *British Phycological Journal* 12: 89-115.

Subrahmanyam, R., L.L. Relwani y G.B. Manna. 1964^a. Observations on the role of blue-green algae on rice yield compared with of conventional fertilizers, *Current Science* 33 (16): 485-86.

Thayumanavan, B. y K. Parvathy. 2002. Biochemistry of nitrogen fixation and assimilation. pp.74-82. *In: Kannaiyan, S. Kluwer (ed.) Biotechnology of Biofertilizers. Academic publishers and Narosa Publishing House. India.*

Thomas, J.C, M. Desrosiers, R. Villemur, y S. Pierre. 1998. Quantitative flow cytometry of specific microorganisms in soil samples. *Purdue Cytometry Cd-Rom* 4.

Tiwari, G.L. 1972. A Study of the Blue-Green Algae from Paddy Field Soils of India. *Hydrobiologia* 39: 335-350.

Upasana, M. y P. Sunil. 2004. *Cyanobacteria. A Potential Biofertilizer for Rice. Resonance. New Delhi, India.*

Van der Hoek, C., D.G. Mann, y H.M. Jahns. 1995. *Algae. An Introduction to Phycology. Cambridge University Press. Cambridge.*

Vargas R., y E. Novelo. 2003. Fijación de nitrógeno por Cyanoprokaryota en la Reserva Ecológica El Edén, Quintana Roo., México. *University of California Press. 2: 277-285.*

Vega, P.J.M. 1997. Avances en el metabolismo del Nitrógeno: de la Fisiología a la biología molecular. IV Reunión Nacional, Marbella. pp.70-82.

Venkataraman, G.S. 1972. Algal biofertilizers and rice cultivation. Today and tomorrow's printers and publishers; Faridabab, India.

Vidal, V., M.J. Jara, M.A.C. Hernández, P. Martínez-Germes y E. Hernández. 1982. Fijación de Nitrógeno por las algas Cianofíceas en los arrozales de la albufera de Valencia. Collectanea Botanica. España. 2: 997-1008.

Whitton, B.A. y M. Potts, 2000. The Ecology of Cyanobacteria. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht.

FAO 2012. [http://www.fao.org/docrep/015/seguimiento del mercado del arroz](http://www.fao.org/docrep/015/seguimiento%20del%20mercado%20del%20arroz). Sep-2012.

FAO 2013. <http://www.fao.org/economic/est/publicaciones/publicaciones-sobre-el-arroz/seguimiento-del-mercado-del-arroz-sma/es/>. sep-2013

SAGARPA 2011. <http://www.sagarpa.gob.mx/agronegocios/Estadisticas/.../>

<http://web.biosci.utexas.edu/utex/mediaDetail.aspx?mediaID=26>

XII. APÉNDICE.

A.- Medio Agua - Suelo

1. Coloque una capa de 1-2 cm de suelo (secado y tamizado) en el inferior de un tubo de ensayo o matraz erlenmeyer.
2. Añada agua destilada o des ionizada hasta que el contenedor se llene a 3/4, cubra con algodón o gorro de tornillo.
3. caliente y permita que evapore por durante 1 hora durante, deje enfriar y refrigerar, repita este proceso por 3 días consecutivos.
4. Se mantiene en refrigeración hasta su empleo.
5. Se puede agregar un pellizco de CaCO_3 pulverizado (antes de agregar el suelo) para algas fototróficas de agua dulce.

B.- Medio de cultivo BG11.

Medio Agar:

1. A 400 ml de H_2O destilada añadir los primeros nueve componentes en el orden especificado en el cuadro de este apéndice, agitando continuamente.
2. Llevar a un volumen total de 500 ml con H_2O destilada.
3. En un recipiente separado añadir 15 g de agar a 500 ml de H_2O destilada.
4. Tapar y esterilizar en autoclave ambas soluciones.
5. En un baño de agua permitir que ambas soluciones se enfríen a 45-50 °C.
6. Añadir tiosulfato de sodio estéril para solución de agar y mezclar bien.
7. Mezcle bien ambas soluciones líquidas y agar. Tenga en cuenta que el agar se puede solidificar rápidamente.
8. Dejar enfriar y luego almacenar a la temperatura del refrigerador.

	Reactivo	Cantidad	Concentración solución Stock	Concentración Final	
1	NaNO ₃ (Fisher BP360-500)	10 mL/L	30 g/200 mL H ₂ O	17.6 mM	
2	K ₂ HPO ₄ (Sigma P 3786)	10 mL/L	0.8 g/200 mL H ₂ O	0.22 mM	
3	MgSO ₄ ·7H ₂ O (Sigma 230391)	10 mL/L	1.5 g/200 mL H ₂ O	0.3 mM	
4	CaCl ₂ ·2H ₂ O (Sigma C-3881)	10 mL/L	0.72 g/200 mL H ₂ O	0.2 mM	
5	Citric Acid·H ₂ O (Fisher A 104)	10 mL/L	0.12 g/200 mL H ₂ O	0.03 mM	
6	Ferric Ammonium Citrate	10 mL/L	0.12 g/200 mL H ₂ O	0.02 mM	
7	Na ₂ EDTA·2H ₂ O (Sigma ED255)	10 mL/L	0.02 g/200 mL H ₂ O	0.002 mM	
8	Na ₂ CO ₃ (Baker 3604)	10 mL/L	0.4 g/200 mL H ₂ O	0.18 mM	
9	BG-11 Trace Metals Solution	1 mL/L			
10	Sodium Thiosulfate Pentahydrate (agar media only,sterile) (Baker 3946)	24.8 g/100 mL		1 mM	