

Accepted Manuscript / Manuscrito Aceptado

Titlle Paper/Título del artículo:

Extracción optimizada de ADN en muestras de agua de mar y dulce para la detección de cianobacterias, el género *Microcystis* y el gen *mcyA* mediante PCR punto final

Optimized DNA extraction from sea and lagoon water samples to detect cyanobacteria, the genus *Microcystis* and the *mcyA* gene by endpointPCR

Authors/Autores: Aguilera-Ibarra, J., Ortega-Urquieta, M. E., Morales-Sandoval, P.H., Parra-Cota, F. I., de los Santos-Villalobos, S.

ID: e2052

DOI: <https://doi.org/10.15741/revbio.13.e2052>

Received/Fecha de recepción: August 29th 2025

Accepted /Fecha de aceptación: April 17th 2026

Available online/Fecha de publicación: April 30th 2026

Please cite this article as/Como citar este artículo: Aguilera-Ibarra, J., Ortega-Urquieta, M. E., Morales-Sandoval, P.H., Parra-Cota, F. I., de los Santos-Villalobos, S. (2026). Optimized DNA extraction from sea and lagoon water samples to detect cyanobacteria, the genus *Microcystis* and the *mcyA* gene by endpointPCR. *Revista Bio Ciencias*, 13, e2052. <https://doi.org/10.15741/revbio.13.e2052>

This is a PDF file of an unedited manuscript that has been accepted for publication. As a service to our customers we are providing this early version of the manuscript. The manuscript will undergo copyediting, typesetting, and review of the resulting proof before it is published in its final form. Please note that during the production process errors may be discovered which could affect the content, and all legal disclaimers that apply to the journal pertain.

Este archivo PDF es un manuscrito no editado que ha sido aceptado para publicación. Esto es parte de un servicio de Revista Bio Ciencias para proveer a los autores de una versión rápida del manuscrito. Sin embargo, el manuscrito ingresará a proceso de edición y corrección de estilo antes de publicar la versión final. Por favor note que la versión actual puede contener errores de forma.

Artículo original

Extracción optimizada de ADN en muestras de agua de mar y dulce para la detección de cianobacterias, el género *Microcystis* y el gen *mcyA* mediante PCR punto final

Optimized DNA extraction from sea and lagoon water samples to detect cyanobacteria, the genus *Microcystis* and the *mcyA* gene by endpoint PCR

Extracción de ADN ambiental de cianobacterias/ Environmental cyanobacteria DNA extraction.

Aguilera-Ibarra, J.¹ (ORCID), Ortega-Urquieta, M. E.¹ (ORCID), Morales-Sandoval, P.H.¹ (ORCID), Parra-Cota, F. I.² (ORCID), de los Santos-Villalobos, S.^{1*} (ORCID)

¹Departamento de Ciencias Agronómicas y Veterinarias, Instituto Tecnológico de Sonora. 5 de febrero, 818 sur, Cajeme. C. P. 85000, Ciudad Obregón, Sonora, México.

²Campo Experimental Norman E. Borlaug, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Dr. Norman E. Borlaug, SN, Cajeme. C.P 85000, Ciudad Obregón, Sonora, México.

*Corresponding Author:

Sergio de los Santos-Villalobos. Departamento de Ciencias Agronómicas y Veterinarias. Instituto Tecnológico de Sonora. Calle 5 de febrero, 818 sur, Cajeme. C.P. 85000, Ciudad Obregón, Sonora, México. Teléfono_ (644) 410 0900 Ext. 2124. E-mail: sergio.delossantos@itson.edu.mx

RESUMEN

El monitoreo de cianobacterias en ecosistemas acuáticos es esencial para evaluar el riesgo de floraciones y la producción de cianotoxinas, debido a sus impactos negativos sobre la salud pública y el ambiente. El objetivo del estudio fue optimizar un protocolo de extracción de ADN para detección molecular de cianobacterias y genes de cianotoxinas en muestras ambientales marinas y de agua dulce, mediante PCR. Se recolectaron muestras en dos cuerpos de agua de Sonora (La Bahía del Tóbari y la Laguna del Nainari), México, y se utilizó un protocolo modificado de extracción, seguido de purificación con un kit comercial. Posterior a la extracción exitosa de ADN ambiental, con el uso de oligonucleótidos específicos, se realizó la detección molecular de cianobacterias, del género *Microcystis* y del gen *mcyA* mediante PCR punto final. Los resultados mostraron la presencia de cianobacterias en ambas muestras; sin embargo, no se detectó la presencia de *Microcystis* en agua marina, ni al gen *mcyA* en ambas muestras. Estos hallazgos destacan la importancia de optimizar los protocolos de extracción de ácidos nucleicos para obtener ADN de calidad a partir de matrices ambientales complejas, lo cual es fundamental para fortalecer la vigilancia molecular de cianobacterias y sus toxinas en ecosistemas acuáticos.

PALABRAS CLAVE:

Extracción de ADN, Detección molecular, Muestra ambiental, Cianobacterias, *Microcystis*, Gen *mcyA*.

ABSTRACT

Monitoring cyanobacteria in aquatic ecosystems is essential for assessing the risk of blooms and cyanotoxin production, given their negative impacts on public health and the environment. The objective of this study was to optimize a DNA extraction protocol for molecular detection of cyanobacteria and cyanotoxin genes in marine and freshwater environmental samples using PCR. Samples were collected from two bodies of water in Sonora (Tóbari Bay and Nainari Lagoon), Mexico, and a modified extraction protocol was used, followed by purification with a commercial kit. This led to the successful extraction of environmental DNA; subsequently, molecular detection of cyanobacteria of the genus *Microcystis* and the *mcyA* gene was carried out using PCR using specific oligonucleotides. The results showed the presence of cyanobacteria in both samples; however, neither *Microcystis* nor the *mcyA* gene was detected in marine water. These findings highlight the importance of optimizing nucleic acid extraction protocols to obtain quality DNA from complex environmental matrices, which is critical for strengthening molecular surveillance strategies for cyanobacteria and their toxins in aquatic ecosystems.

KEY WORDS:

DNA extraction, Molecular detection, Environmental sample, Cyanobacteria, *Microcystis*, *mcyA* gene.

Introducción

El océano es el hábitat de una amplia variedad de microorganismos, los cuales constituyen un capital natural que alberga una inmensa diversidad genética y fisiológica, aún en gran parte inexplorada. Antes de la década de 1990, el conocimiento sobre la diversidad bacteriana se limitaba a pruebas fenotípicas y taxonomía numérica de bacterias cultivadas en medios de cultivos, logrando el aislamiento del 0.001 % al 0.1 % de las bacterias marinas (Lee *et al.*, 2009). Lo anterior condujo a que la mayoría de la comunidad microbiana no se haya estudiado; sin embargo, con el surgimiento de técnicas de biología molecular independientes del cultivo, como la identificación basada en el gen 16S ARNr y la metagenómica, se ha revolucionado la comprensión de las bacterias no cultivables (Morales-Sandoval *et al.*, 2021). Estas herramientas han permitido avanzar en el conocimiento de la fisiología y diversidad microbiana, revelando la complejidad y adaptabilidad de los microorganismos en el medio marino (Laakmann *et al.*, 2020).

Las cianobacterias tienen un papel significativo en el ciclo del oxígeno, carbono y nitrógeno, y se caracterizan por poseer una amplia diversidad de adaptaciones (fotosíntesis, acinetos, heterocitos o aerótopos), lo que les permite adaptarse y habitar en ambientes de agua dulce, marinos, terrestres, así como hábitats extremos (Kaštovský, 2024). Sin embargo, al considerarse las condiciones naturales en conjunto con las actividades antropocéntricas, puede surgir un fenómeno llamado floración de cianobacterias, el cual se caracteriza por un aumento de la biomasa de cianobacterias en periodos de pocos días hasta 2 semanas (Moreira *et al.*, 2022). Entre los géneros más comunes se encuentran: i) *Microcystis*, caracterizada por sus células coloniales y esféricas que habitan tanto en agua en movimiento, como ríos y arroyos, así como en ambientes lénticos, como estanques y lagos; ii) *Anabaena*, con tricomas celulares filamentosas, y la presencia de heterocistos que actúan como sitios centrales para la fijación del nitrógeno; iii) *Nostoc*, descrito como género con filamentos isopolares, uniseriados y no ramificados, que poseen cadenas diferenciadas de acinetos y heterocitos terminales e intercalares, incrustados en material mucilaginoso para formar colonias; iv) *Cylindrospermopsis*, de morfología filamentosa y móvil, que suele estar en sistemas de agua dulce como lagos y ríos, así como embalses artificiales como estanques y canales; y v) *Planktothrix*,

compuesto por células filamentosas y móviles que se encuentran presentes en lagos eutróficos (Singh *et al.*, 2020; Massey *et al.*, 2022; Thawabteh *et al.*, 2023).

Las floraciones de cianobacterias han generado preocupación ambiental debido a sus efectos negativos, como la emisión de olores desagradables, las alteraciones en el color del agua, y de manera más alarmante, la liberación de compuestos tóxicos conocidos como cianotoxinas, que representan un riesgo para la salud humana y animal (Moreira *et al.*, 2014). Dichas toxinas, se pueden clasificar en función de su estructura química, como péptidos cíclicos, alcaloides y policétidos; o en base a los principales órganos o funciones que afectan en los mamíferos, como hepatotoxinas, neurotoxinas, dermatoxinas y citotoxinas, siendo las microcistinas, nodularinas, anatoxinas, entre otras, algunas de las presentes en las cianobacterias (Nugumanova *et al.*, 2023). Entre los efectos agudos sobre la salud humana causados por toxinas comunes de cianobacterias, la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA) señala la aparición de dolor abdominal, cefalea, náuseas, vómito, diarrea, dificultad respiratoria, entre otros síntomas (EPA, 2025). Sin embargo, cuando las toxinas se encuentran acumuladas, su ingesta o exposición (usualmente por el consumo de mariscos) conlleva a una intoxicación y el síndrome que resulte dependerá de la toxina que lo cause, por ejemplo, el síndrome de intoxicación paralizante por mariscos es provocada por la saxitoxina (EPA, 2025). Por ello, es imprescindible comprender el peligro que implica la presencia de floraciones de cianobacterias y evaluar el riesgo de la misma llevando a cabo el monitoreo los ecosistemas acuáticos mediante métodos que permitan una respuesta ágil, tanto para identificar las especies responsables de las floraciones como para detectar las cianotoxinas que se producen o liberan.

En este sentido, los métodos moleculares son fundamentales para la detección y monitoreo de cianobacterias en ecosistemas marinos (Moreira *et al.*, 2022; Saleem *et al.*, 2023), entre ellos la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La PCR punto final surge como una estrategia basada en la amplificación de secuencias específicas del ADN genómico del organismo en estudio, lo que permite realizar análisis cualitativos, como determinar la presencia o ausencia de cianobacterias en la muestra analizada. Sin embargo, trabajar con estos métodos moleculares y sobre todo con muestras ambientales plantea desafíos significativos. La posible cianotoxicidad de las muestras detectada por estos métodos es una de las limitantes para determinar el peligro de su presencia, debido a que la detección de genes relacionados con la producción de dichas toxinas no indica la producción de las mismas, como lo es la presencia indicada de una inactivación genética (Moreira *et al.*, 2022). Aunado a lo anterior, la extracción de ácidos nucleicos a partir de muestras ambientales para la PCR representa un reto, por ejemplo, la salinidad, la materia orgánica y la coexistencia de diversas comunidades microbianas, que pueden afectar tanto la eficiencia de la extracción y la calidad del material genético recuperado, como de la realización de la PCR, ya que estas matrices suelen introducir inhibidores que comprometen la lisis de las células, la sensibilidad y especificidad de la PCR (Klein *et al.*, 1997; Wilson, 1997; van der Loos & Nijland, 2021). Es por ello que deben establecerse protocolos estandarizados de biología molecular para la obtención de muestras eficientes que permitan la detección de cianobacterias y genes relacionados con la producción de cianotoxinas. En este artículo se presenta una estrategia para abordar los problemas de extracción de ácidos nucleicos de muestras ambientales para PCR, con la finalidad de contribuir al desarrollo de estrategias robustas para el monitoreo de cianobacterias en cuerpos de agua dulce y salina.

Material y Métodos

Obtención de muestras ambientales

La muestra de agua de mar se recolectó el 9 de agosto de 2024 en la Bahía del Tóbari, Sonora, México (coordenadas: 27.097598, -109.997521), mientras que la muestra de agua dulce se recolectó el 11 de noviembre de 2024 en la Laguna del Nainari, Ciudad Obregón, Sonora, México (coordenadas: 27.4989886, -109.9706528). Primeramente, se midió la zona fótica con un disco

Secchi y posteriormente se recolectó la muestra con un tubo rígido de PVC con válvula *check* de 2 pulgadas, se depositó un litro de la muestra de agua en un frasco estéril transparente de polipropileno de 1 L de boca ancha. Los parámetros fisicoquímicos se midieron a la mitad de la zona fótica, tales como el oxígeno disuelto y la temperatura con un medidor portátil de oxígeno disuelto YSI Pro20, la salinidad se determinó con un refractómetro Aquafauna BIO-MARINE modelo *ABMTC*, y el potencial de hidrógeno (pH) se midió con un potenciómetro HANNA modelo HI98108 (pHep+) (Furtado *et al.*, 2009; García, 2009; Samanez *et al.*, 2014). Ambas muestras fueron preservadas con hielo durante su traslado hasta el Laboratorio de Biotecnología del Recurso Microbiano (LBRM) del Instituto Tecnológico de Sonora, donde se procesaron para la extracción de ADN y para su observación en el microscopio.

Extracción de ADN de las muestras ambientales

La extracción de ADN de las muestras ambientales se realizó siguiendo protocolo descrito por Raeder & Broda (1985) con modificaciones. A un microtubo de 2 mL con biomasa obtenida de 50 mL de cultivo centrifugado se adicionaron 500 μ L de buffer de extracción (Tris HCl a pH 8.5, 200 mM; NaCl, 200 mM; EDTA, 25 mM; SDS, 0.5 %), se resuspendió, se transfirió a un microtubo Eppendorf de 2 mL y se mezcló vigorosamente con ayuda de un agitador vórtex a máxima velocidad por 30 s. Se añadieron 350 μ L de fenol y se homogeneizó vigorosamente con vórtex a máxima velocidad durante 30 s. Posteriormente, se adicionaron 150 μ L de cloroformo y se homogenizó vigorosamente con vórtex por 30 segundos. La suspensión obtenida se centrifugó a 13,000 rpm durante 30 min. La fase acuosa (superior) se transfirió a un nuevo microtubo de 2 mL, se agregaron 4 μ L de RNAasa A (20 mg/mL) con base a las especificaciones del proveedor (RNAase A RB0743 de BIO BASICS INC.) y se incubó a 60 °C durante 10 minutos. Posteriormente, se adicionó 1 volumen de cloroformo y se mezcló vigorosamente con vórtex a máxima velocidad por 30 s. La suspensión obtenida se centrifugó a 13,000 rpm (15890 rcf) durante 10 min, y se transfirió la fase acuosa a un nuevo microtubo de 2 mL. Posteriormente, se complementó el proceso de purificación de ADN adicionando 210 μ L de etanol absoluto, se agitó vigorosamente con vórtex durante 30 segundos. Para cada muestra se colocó una columna de centrifugación en un tubo de recolección, ambos proporcionados por el ISOLATE II Genomic DNA Kit de Bioline, se añadió toda la muestra a la columna y se centrifugó a 11,000 rfc durante 1 min. Se descartó el filtrado y se procedió a lavar la membrana de sílice de la columna de centrifugación añadiendo 500 μ L de Wash Buffer GW1, se centrifugó a 11,000 rfc durante 1 min, se descartó el líquido obtenido y se reutilizó el tubo de recolección. Posteriormente, se añadió 600 μ L de Wash Buffer GW2 a la columna de centrifugación, se centrifugó a 11,000 rfc durante 1 min, y se descartó el filtrado obtenido. Para secar la membrana de sílice de la columna de centrifugación se eliminó el etanol residual centrifugando la misma a 11,000 rfc durante un minuto. Una vez seca, se colocó la columna de centrifugación en un microtubo de 1.5, se añadió 50 μ L de Elution Buffer G precalentado a 70° C directamente sobre la membrana de sílice, se incubó a temperatura ambiente durante 1 min y se centrifugó a 11,000 rfc. Una vez obtenido el ADN con Elution Buffer G en el microtubo de 1.5 mL se descartó la columna de centrifugación y se almacenó a -80° C para su posterior uso. La integridad del ADN extraído se evaluó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1 % (MCD LAB) a 100 V durante 1 h. La calidad y concentración de ADN se determinó utilizando un espectrofotómetro de microvolumen (Thermo Scientific NanoDrop 2000C).

Detección de cianobacterias, *Microcystis* y gen *mcyA* por PCR punto final

Se realizó la PCR punto final utilizando el kit PCR Master Mix 9PIM750 de Promega, con los oligonucleótidos mencionados en la Tabla 1, y con 5 ng de ADN en un volumen final de 25 μ L. La amplificación se realizó con la siguiente programación: desnaturalización inicial a 95 °C durante 5 minutos, seguido de 30 ciclos de desnaturalización a 95 °C durante 30 segundos, alineamiento a 57 °C para el gen 16S ARNr de cianobacterias y *mcyA*, y 54 °C para el gen 16S ARNr de *Microcystis* durante 40 segundos, y elongación a 72 °C durante 30 segundos, y se realizó un paso final de

elongación a 72 °C durante 5 minutos. La presencia e integridad de los productos de PCR fue analizada mediante electroforesis en gel de agarosa al 1 %.

Tabla 1. Cebadores utilizados para la amplificación del gen ARNr 16S de cianobacterias, el gen ARNr 16S de *Microcystis* y el gen *mcyA*.

Gen	Cebador	Secuencia	Fuente
Cianobacteria ARNr 16S	CYAN738F	ATACCCWGTAGTCCTAGC	(Valério <i>et al.</i> , 2009)
	CYAN1281R	GCAATTACTAGCGATTCTCC	
<i>Microcystis</i> ARNr 16S	MICR 184F	GCCGCRAGGTGAAAMCTAA	(Martins & Vasconcelos, 2011)
	MICR 431R	AATCCAAARACCTTCCTCCC	
<i>mcyA</i>	<i>mcyA</i> -Cd-1F	AAAATTTAAAGCCGTATCAAA	(Sabart <i>et al.</i> , 2015)
	<i>mcyA</i> -Cd-1R	AAAAGTGTTTTATTAGCGGCT CAT	

Fuente: Elaboración propia basada en Chávez-Luzanía *et al.* (2024).

Secuenciación de amplicones

Los amplicones obtenidos fueron purificados mediante el kit comercial EZ-10 Spin Column DNA Gel Extraction Minipreps Kit (BIO BASIC) y secuenciados mediante la tecnología Sanger en Laboratorio de Servicios genómicos del Cinvestav, Irapuato, Guanajuato. Las secuencias obtenidas fueron procesadas mediante FinchTV V1.4.0., alineadas en CLC Sequence Viewer 8 y comparadas en EZBioCloud (<https://www.ezbiocloud.net/>).

Resultados y Discusión

Extracción de ADN

La fluorescencia observada en el gel de agarosa reveló una buena integridad del ADN extraído de las muestras ambientales (Figura 1). El ADN extraído se evaluó en espectrofotómetro, obteniendo para la muestra de mar una concentración de 31.3 ng de ADN/ μ L y los valores para las relaciones de absorbancia 260/280 y 260/230 fueron de 1.86 y 1.74, respectivamente. La muestra de agua dulce mostró una concentración de 8.76 ng de ADN/ μ L y los valores para las relaciones de absorbancia 260/280 y 260/230 fueron de 2.26 y 1.16, respectivamente, los cuales son valores aceptables para ADN extraído de muestras ambientales ($A_{260}/A_{280} \geq 1.8$) (Lucena-Aguilar *et al.*, 2016). De esta manera, la combinación de ambos métodos permitió obtener la concentración requerida mediante la extracción con fenol-cloroformo y, a su vez, la pureza necesaria a través del uso de la columna del kit, esto resulta fundamental dada la presencia de contaminantes e inhibidores propios de la matriz ambiental.

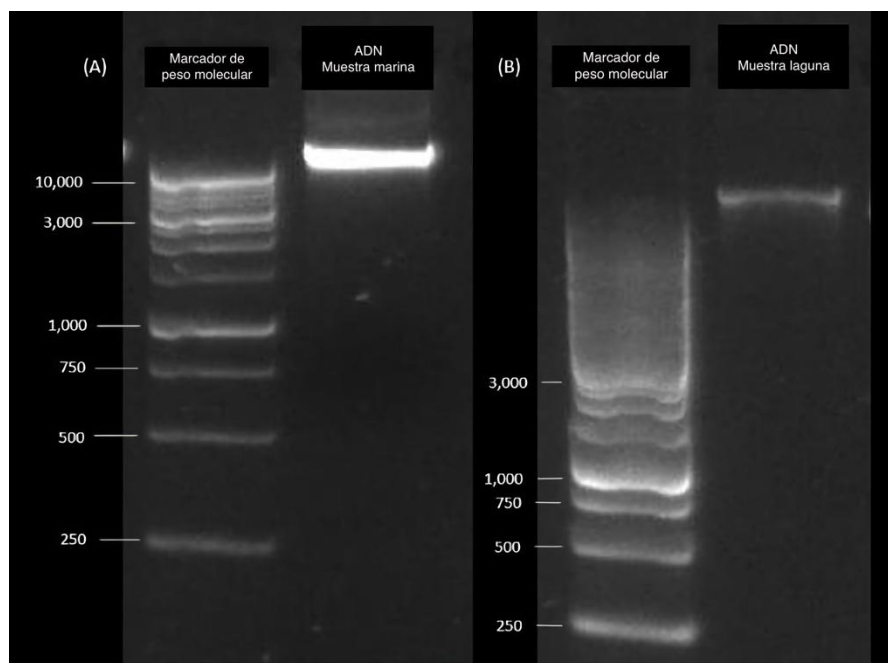


Figura 1. Extracción de ADN de una muestra ambiental: (A) extracción de ADN de una muestra marina y (B) extracción de ADN de una muestra de laguna. Fuente: Elaboración propia.

Detección de cianobacterias, *Microcystis* y gen *mcyA* por PCR punto final

La electroforesis de los productos de la PCR de la muestra de agua de mar mostró amplificación con los oligonucleótidos para el gen ARNr 16S de cianobacterias (~550 pb), indicando la presencia de cianobacterias en la muestra ambiental; sin embargo, no hubo amplificación con los oligonucleótidos para el gen ARNr 16S de *Microcystis* (~220 pb) y el gen *mcyA* (~290 pb), por lo que se descarta la presencia del género *Microcystis* y la potencial producción de microcistinas (Figura 2A). La electroforesis de los productos de la PCR de la muestra de agua de la Laguna del Nainari mostró amplificación con los oligonucleótidos para el gen ARNr 16S de cianobacterias y el gen ARNr 16S de *Microcystis*, indicando la presencia de cianobacterias y el género *Microcystis* en dicha muestra ambiental; sin embargo, no se observó la amplificación del gen *mcyA*, por lo que se descarta la potencial producción de microcistinas (Figura 2B). Chávez-Luzanía *et al.* (2024) reportó que el uso de estos oligonucleótidos amplifican a partir de 1 ng de ADN por reacción para el gen ARNr 16S de cianobacterias y el gen ARNr 16S de *Microcystis*, y a partir de 10 ng de ADN para el gen *mcyA*. Sin embargo, la amplificación observada en el control positivo con 5 ng de ADN confirma un límite de detección menor al previamente reportado. En este contexto, la no detección del gen *mcyA* en las muestras ambientales se asocia con la mínima presencia de cianobacterias productoras de dicho gen o, en su defecto, con su ausencia.

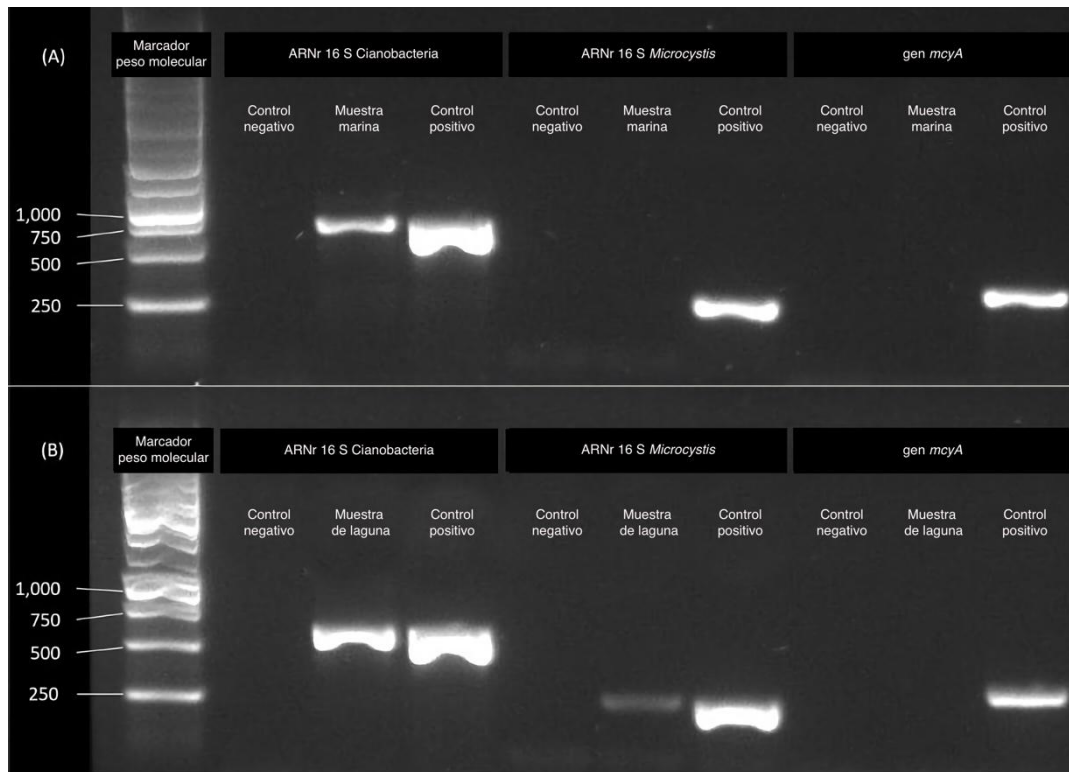


Figura 2. Amplificación por PCR punto final de genes 16S ARNr de cianobacterias, 16S ARNr específico de *Microcystis* y *mcyA*. (A) Muestra marina; (B) Muestra de laguna. Control positivo: *Microcystis aeruginosa* productora de microcistina. Concentración de ADN molde: 5 ng

Las secuencias obtenidas de los productos de PCR mostraron, en el caso del gen 16S ARNr de cianobacterias para la muestra de mar, un 97.60 % de similitud con el género *Prochlorothrix*. Este valor se encuentra por debajo de los umbrales aceptados para la asignación taxonómica a nivel de género (>98.65–99 % para el gen 16S ARNr) (Kim *et al.*, 2014). Sin embargo, la secuencia puede considerarse filogenéticamente relacionada con *Prochlorothrix*, debido a la observación microscópica, la cual reveló la presencia de tricomas rectos, no ramificados e inmóviles (Velichko *et al.*, 2016); por otra parte, la secuencia de la muestra de agua dulce obtuvo un 98.75% de similitud con el género *Cylindrospermopsis*. La secuencia obtenida del gen 16S ARNr de *Microcystis* mostró un 99.13 % de similitud con *Microcystis aeruginosa*, caracterizada por su morfología colonial de células esféricas (Krstic & Aleksovski, 2016). La afiliación taxonómica basada en la secuenciación de los amplicones de las cianobacterias presentes se confirmó con la observación de dichos géneros mediante microscopía (Figura 3).

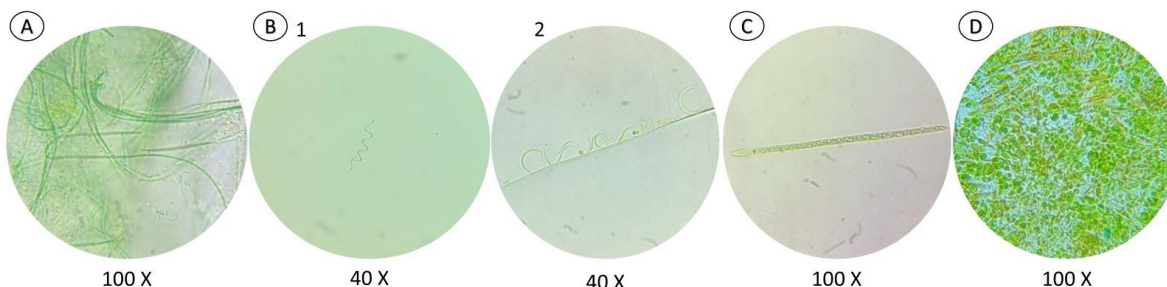


Figura 3. Observación microscópica de cianobacterias aisladas de muestras ambientales.

(A) Filamentos de *Prochlorothrix* observados en agua de mar a 100x, mostrando su morfología característica sin ramificaciones. (B) *Cylindrospermopsis* aislada de agua dulce, mostrada a 40x (1-2), destacando los heterocitos terminales y los filamentos alargados; y filamentos de *Raphidiopsis* a 100x. (C). Colonias de *Microcystis aeruginosa* a 100x, reconocibles por sus células esféricas dispuestas en agregados mucilaginosos.

Conclusiones

El protocolo optimizado permitió la extracción de ADN para la detección de cianobacterias en muestras ambientales de agua marina y dulce, mediante PCR punto final y secuenciación en la plataforma Sanger. A través de la amplificación y secuenciación de amplicones, complementadas con la observación microscópica, se identificó la presencia del género *Prochlorothrix* en agua marina, así como de *Cylindrospermopsis* (empleando oligonucleótidos dirigidos al gen 16S ARNr de cianobacterias) y *Microcystis aeruginosa* (empleando oligonucleótidos específicos para el gen 16S ARNr de *Microcystis*) en la muestra de agua dulce. Finalmente, no se detectó el gen *mcyA* en las muestras analizadas, lo que sugiere que las cianobacterias presentes carecen de la capacidad de producir microcistinas.

Contribución de los autores

Conceptualización del trabajo, SdISV, FIPC; desarrollo de la metodología, SdISV, JAI, PHMS.; manejo de software, JAI, PHMS.; validación experimental, JAI, PHMS.; análisis de resultados, JAI, MEOU; Manejo de datos, JAI, MEOU, PHMS.; escritura y preparación del manuscrito, JAI, MEOU, PHMS, SdISV.; redacción, revisión y edición, JAI, PHMS, FIPC, SdISV; administrador de proyectos, SdISV; adquisición de fondos, SdISV. Todos los autores de este manuscrito han leído y aceptado la versión publicada del mismo.

Financiamiento

Esta investigación fue financiada por el Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA) a través del proyecto RLA 7026, Evaluación de la contaminación ambiental orgánica e inorgánica en ambientes acuáticos y su impacto en el riesgo de cianobacterias productoras de cianotoxinas (ARCAL CLXXVIII). J.A.I., M.E.O.U y P.H.M.S fueron financiadas por la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECHITI) para maestría (becas número: 1308466, 2146545, 2042241 respectivamente)

Agradecimientos

Los autores desean agradecer a todos los miembros del Laboratorio de Biotecnología del Recurso Microbiano por su dedicación y compromiso con el desarrollo de todos los proyectos de investigación, así como al OIEA y al CONAHCYT por los recursos financieros otorgados.

Conflicto de interés

Los autores declaran no tener conflicto de interés.

Referencias

- Chávez-Luzanía, R. A., Olea-Félix, J., Alonso-Rodríguez, R., Hernando, M., & De los Santos Villalobos, S. (2024). Detección de *Microcystis* y microcistina mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa. *Revista Bio Ciencias*. <https://doi.org/10.15741/revbio.11.e1758>
- Environmental Protection Agency [EPA]. (2025, Abril 23). *Harmful Algal Blooms (HABs) in Water Bodies. What Are the Effects of HABs*. United States Environmental Protection Agency. <https://www.epa.gov/habs/what-are-effects-habs>
- Furtado, A. L. F. F., Calijuri, M.d.C., Lorenzi, A.S., Honda, R.Y., Genuário, D.B., & Fiore, M.F. (2009). Morphological and molecular characterization of cyanobacteria from a Brazilian facultative wastewater stabilization pond and evaluation of microcystin production. *Hydrobiologia*, 627(1), 195–209. <https://doi.org/10.1007/s10750-009-9728-6>
- García, J. (2009). Análisis espacio temporal de la comunidad de cianobacterias de manantiales hidrotermales intermareales [Tesis de Maestría, Centro De Investigaciones Biológicas Del Noroeste, S.C]. <http://dspace.cibnor.mx:8080/handle/123456789/2530>
- Kaštovský, J. (2024). Welcome to the jungle!: An overview of modern taxonomy of cyanobacteria. *Hydrobiologia*, 851(4), 1063–1077. <https://doi.org/10.1007/s10750-023-05356-7>
- Kim, M., Oh, H. S., Park, S. C., & Chun, J. (2014). Towards a taxonomic coherence between average nucleotide identity and 16S rRNA gene sequence similarity for species demarcation of prokaryotes. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64(Pt 2), 346–351. <https://doi.org/10.1099/IJS.0.059774-0>
- Klein, A., Barsuk, R., Dagan, S., Nusbaum, O., Shouval, D., & Galun, E. (1997). Comparison of methods for extraction of nucleic acid from hemolytic serum for PCR

- amplification of hepatitis B virus DNA sequences. *Journal of Clinical Microbiology*, 35(7), 1897–1899. <https://doi.org/10.1128/jcm.35.7.1897-1899.1997>
- Krstic, S., & Aleksovski, B. (2016). Dominance of *Microcystis* spp. in Lake Dojran – a consequence of 30 years of accelerated eutrophication. *Botanica Serbica*, 40, 119–128. <https://doi.org/10.5281/zenodo.162208>
- Laakmann, S., Blanco-Bercial, L., & Cornils, A. (2020). The crossover from microscopy to genes in marine diversity: from species to assemblages in marine pelagic copepods. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 375(1814), 20190446. <https://doi.org/10.1098/rstb.2019.0446>
- Lee, C.-W., Ng, A. Y., Narayanan, K., Sim, E. U., & Ng, C. (2009). Isolation and characterization of culturable bacteria from tropical coastal waters. *Ciencias Marinas*, 35. <https://doi.org/10.7773/cm.v35i2.1525>
- Lucena-Aguilar, G., Sánchez-López, A. M., Barberán-Aceituno, C., Carrillo-Ávila, J. A., López-Guerrero, J. A., & Aguilar-Quesada, R. (2016). DNA Source Selection for Downstream Applications Based on DNA Quality Indicators Analysis. *Biopreservation and Biobanking*, 14(4), 264–270. <https://doi.org/10.1089/bio.2015.0064>
- Martins, A., & Vasconcelos, V. (2011). Use of qPCR for the study of hepatotoxic cyanobacteria population dynamics. *Archives of Microbiology*, 193(9), 615–627. <https://doi.org/10.1007/s00203-011-0724-7>
- Massey, I. Y., Al osman, M., & Yang, F. (2022). An overview on cyanobacterial blooms and toxins production: their occurrence and influencing factors. *Toxin Reviews*, 41(1), 326–346. <https://doi.org/10.1080/15569543.2020.1843060>
- Morales-Sandoval, P. H., Valenzuela-Ruiz, V., Ortega-Urquieta, M. E., Martínez-Vidales, A. D., Félix-Pablos, C. M., Chávez-Luzania, R. A., Parra-Cota, F. I., & de los Santos-Villalobos, S. (2021). Taxonomía bacteriana basada en índices relacionados al genoma completo. *La Sociedad Académica*, 39–50. https://www.researchgate.net/publication/357097321_Taxonomia_bacteriana_basada_en_indices_relacionados_al_genoma_completo
- Moreira, C., Ramos, V., Azevedo, J., & Vasconcelos, V. (2014). Methods to detect cyanobacteria and their toxins in the environment. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(19), 8073–8082. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-5951-9>
- Moreira, C., Vasconcelos, V., & Antunes, A. (2022). Cyanobacterial Blooms: Current Knowledge and New Perspectives. *Earth*, 3(1), 127–135. <https://doi.org/10.3390/earth3010010>
- Nugumanova, G., Ponomarev, E. D., Askarova, S., Fasler-Kan, E., & Barteneva, N. S. (2023). Freshwater Cyanobacterial Toxins, Cyanopeptides and Neurodegenerative Diseases. *Toxins*, 15(3), 233. <https://doi.org/10.3390/toxins15030233>
- Raeder, U., & Broda, P. (1985). Rapid preparation of DNA from filamentous fungi. *Letters in Applied Microbiology*, 1(1), 17–20. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.1985.tb01479.x>

- Sabart, M., Crenn, K., Perrière, F., Abila, A., Lereboure, M., Colombet, J., Jousse, C., & Latour, D. (2015). Co-occurrence of microcystin and anatoxin-a in the freshwater lake Aydat (France): Analytical and molecular approaches during a three-year survey. *Harmful Algae*, 48, 12–20. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2015.06.007>
- Saleem, F., Jiang, J. L., Atrache, R., Paschos, A., Edge, T. A., & Schellhorn, H. E. (2023). Cyanobacterial Algal Bloom Monitoring: Molecular Methods and Technologies for Freshwater Ecosystems. *Microorganisms*, 11(4), 851. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11040851>
- Samanez, I., Rimarachin-Ching, V., Palma, C., Jerry, M., Ortega, H., Correa, V., & Hidalgo, M. (2014). *Métodos de colecta, identificación y análisis de comunidades biológicas: Plancton*. Lima, Perú: Ministerio del Ambiente. <https://www.minam.gob.pe/diversidadbiologica/wp-content/uploads/sites/21/2014/02/Métodos-de-Colecta-identificación-y-análisis-de-comunidades-biológicas.compressed.pdf>
- Singh, P., Šnokhousová, J., Saraf, A., Suradkar, A., & Elster, J. (2020). Phylogenetic evaluation of the genus *Nostoc* and description of *Nostoc neudorfense* sp. nov., from the Czech Republic. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(4), 2740–2749. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004102>
- Thawabteh, A. M., Naseef, H. A., Karaman, D., Bufo, S. A., Scrano, L., & Karaman, R. (2023). Understanding the Risks of Diffusion of Cyanobacteria Toxins in Rivers, Lakes, and Potable Water. *Toxins*, 15(9), 582. <https://doi.org/10.3390/toxins15090582>
- Valério, E., Chambel, L., Paulino, S., Faria, N., Pereira, P., & Tenreiro, R. (2009). Molecular identification, typing and traceability of cyanobacteria from freshwater reservoirs. *Microbiology*, 155(2), 642–656. <https://doi.org/10.1099/mic.0.022848-0>
- van der Loos, L. M., & Nijland, R. (2021). Biases in bulk: DNA metabarcoding of marine communities and the methodology involved. *Molecular Ecology*, 30(13), 3270–3288. <https://doi.org/10.1111/mec.15592>
- Velichko, N., Rayko, M., Chernyaeva, E., Lapidus, A., & Pinevich, A. (2016). Draft genome of *Prochlorothrix hollandica* CCAP 1490/1T (CALU1027), the chlorophyll a/b-containing filamentous cyanobacterium. *Standards in Genomic Sciences*, 11(1), 82. <https://doi.org/10.1186/s40793-016-0204-4>
- Wilson, I. (1997). Inhibition and Facilitation of Nucleic Acid Amplification. In *Applied And Environmental Microbiology* (Vol. 63). American Society for Microbiology. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/instance/168683/pdf/633741.pdf>