



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

ESCUELA DE BIOLOGÍA

Microorganismos de Altitud Cultivables *in vitro*
Provenientes del Glaciar Norte del Volcán Citlaltepétl (Pico
de Orizaba), México

Tesis que para obtener el título de
MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

JOSÉ AARÓN RANCAÑO FLORES

DIRECTOR (A): Dra. Rocío Pérez y Terrón

Co director: Dr. Jorge Raúl Cerna Cortez

Tutor interno: Dra. Etelvina Gándara Zamorano

Tutor externo: Dra. Norma Elena Rojas Ruíz



Noviembre, 2025



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

H. Puebla de Z. a 16 de diciembre de 2025

Asunto: Voto Aprobatorio

**Comité Académico del Posgrado
PRESENTE**

Por medio de la presente se hace constar que se revisó y aprobó la tesis titulada:

“Microorganismos de altitud cultivables *in vitro* provenientes del glaciar norte del volcán Citlaltépetl (Pico de Orizaba), México”

Que presenta el estudiante **José Aarón Rancaño Flores** con número de matrícula **223470520**, aspirante al grado de **Maestro en Ciencias Biológicas**, de la Línea de Generación y Aplicación del Conocimiento: **“Estructura y función de los seres vivos”**, notificamos que la tesis reúne los requisitos y se aprueba para su réplica oral en el examen de grado.

Por lo tanto, emitimos los **VOTOS APROBATORIOS** como miembros del **Comité de Jurado de Examen de Grado** como a continuación se indica:

Tutor Interno: Dra. Etelvina Gándara Zamorano

Tutor Externo: Dra. Norma Elena Rojas Ruíz

Revisor: Mtra en S. P. María de la Cruz Meneses Sánchez

Agradecemos de antemano la atención que se sirva prestar a la presente.



Declaración de trabajo original

Puebla, Pue., a 11 de Noviembre de 2025

A quien corresponda:

Por medio del presente, yo, **José Aarón Rancaño Flores**, estudiante del programa de Maestría en Ciencias Biológicas en la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, con número de matrícula **223470520**, declaro bajo protesta de decir verdad que el trabajo titulado:

“Microorganismos de altitud cultivables *in vitro* provenientes del galciar norte del volcán Citlaltepētli (Pico de Orizaba), México”

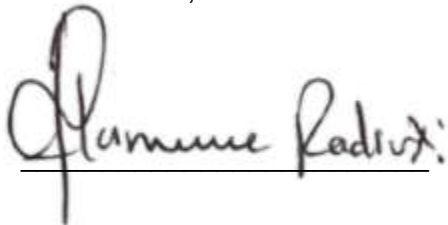
Es resultado de mi propio trabajo académico y de investigación, realizado de manera original e independiente, sin haber sido presentado previamente para obtener algún grado académico o reconocimiento en esta u otra institución.

Asimismo, manifiesto que todas las ideas, datos, resultados y citas de otros autores han sido debidamente referenciadas conforme a normas académicas establecidas, garantizando la integridad y honestidad del contenido.

Reconozco que cualquier incumplimiento a lo anterior constituye una falta grave conforme al reglamento institucional y puede llevar a la anulación de mi trabajo o retiro del grado académico, además de las sanciones correspondientes.

En cumplimiento con los lineamientos de Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, firmo la presente declaración de originalidad del trabajo de tesis.

Atentamente,

A handwritten signature in black ink, appearing to read "José Aarón Rancaño Flores", written over a horizontal line.

José Aarón Rancaño Flores

Matrícula: 223470520

Programa: Maestría en Ciencias Biológicas

Facultad de Ciencias Biológicas

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Correo electrónico: arancanof@gmail.com

Agradecimientos

En el presente trabajo, aunque solo yo lo firme, se refleja la culminación de un gran esfuerzo colectivo entre académicos y montañistas. En este proyecto, los montañistas fueron llevados al laboratorio y los académicos (así como los futuros lectores) fueron conducidos a la microbiota del glaciar del Citlaltépetl.

En la parte académica, expreso en primer lugar mi profundo reconocimiento a la Dra. Rocío Pérez y Terrón, directora de esta investigación, por su guía, experiencia y dedicación a lo largo de estos dos años de trabajo. Sus observaciones y su alto rigor académico no solo fueron fundamentales para esta tesis, sino que también han formado en mí una actitud autocrítica y un compromiso con un trabajo limpio, organizado y calendarizado. Extiendo igualmente mis agradecimientos a cada uno de los miembros del comité tutorial, quienes contribuyeron a hacer este estudio más sólido y robusto. Agradezco de manera especial a la Mtra. María de la Cruz Meneses Sánchez, quien me brindó su apoyo en la identificación de los hongos filamentosos.

Agradezco profundamente a mis compañeros del Laboratorio de Microbiología, Biología Molecular y Genética de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP): tesisistas de licenciatura, estudiantes de prácticas profesionales, de servicio social y voluntarios que me acompañaron durante estos dos años. En especial, a Sarita y Les, cuyo apoyo, compañía y comprensión fueron esenciales para avanzar y concluir este trabajo.

En la parte de montañismo, mi gratitud se extiende a mis amigos Melissa García y Ariel Oswaldo Fuentes Segovia, así como a mi padre Everardo Aarón Rancaño Arriola, por su compañía y apoyo durante el muestreo en el glaciar. Mi reconocimiento se dirige también a otros amigos de montaña, con la esperanza de que este trabajo los acerque a conocer a los organismos microscópicos que habitan en el hielo bajo sus botas. En este ámbito, estoy profundamente agradecido con el Dr. Sergio Gerardo Ortega y Rodríguez, amigo y maestro

fallecido, quien durante más de 43 años formó montañistas responsables y personas de gran calidad humana. Espero seguir sus huellas y transmitir aquello que él me enseñó.

Finalmente, agradezco a la Secretaría de Ciencia y Tecnología e Innovación (SECIHTI) por el apoyo financiero otorgado a través de la beca correspondiente al CVU SECIHTI No. 1318390, sin la cual no habría sido posible dedicarme de manera prioritaria a este proyecto, ni cubrir los gastos necesarios para el muestreo y la realización de esta investigación.

A todas las personas que, de manera directa o indirecta, contribuyeron con su tiempo, conocimiento o apoyo moral (como mi madre María Elena Flores Jiménez) expreso mi gratitud más sincera.

Tabla de contenido

Resumen	1
Introducción	2
Antecedentes	4
Diversidad de microorganismos de altitud	4
Microorganismos en Glaciares	7
Glaciares polares (Ártico y Antártica)	7
Glaciares de Roca (Glaciares de Altitud).....	7
Resistencia a condiciones adversas de los MOA	10
Resistencia a la radiación ultravioleta (UV)	11
Diversidad de MOA en México	12
Marco Teórico	13
Alta Montaña (área de estudio)	13
Condiciones Ambientales de la Alta Montaña	14
Radiación ultravioleta (UV)	15
Efectos de la radiación UV en los seres vivos	15
Glaciares	16
Cambio Climático	18
Organismos extremófilos	21
Adaptaciones fisiológicas de los MOA	22
Importancia de Microorganismos de Altitud	24
Planteamiento del problema	25
Justificación	27
Pregunta de investigación	28
Hipótesis	28
Objetivo General	28
Objetivos Particulares	28
Métodos	29
Sitio de Estudio y Recolección de Muestra	29
Preparación de Muestras y Aislamiento	30
Caracterización fenotípica y fisiológica de los aislados	31

Análisis de secuencias del gen ARNr 16S	32
Óptimo crecimiento y cinética de crecimiento de los aislados bacterianos.....	33
Pruebas de Resistencia a Radiación Ultravioleta Tipo C.....	33
Pruebas de resistencia a antibióticos	35
Análisis Estadísticos	35
Resultados y Discusión	36
Sitio de colecta y parámetros descripción del sitio	36
Carga bacteriana	37
Microorganismos aislados del hielo	38
Identificación de los aislados fúngicos.....	39
Identificación bacteriana por el gen 16S DNAr.....	42
Caracterización fenotípica y fisiológica bacteriana	44
Tiempo de Supervivencia Relativa bacteriana a UV-C.	50
Resistencia a antibióticos	56
Conclusiones	62
Referencias	63
Anexos	84

Resumen

La altitud impone condiciones extremas como bajas temperaturas, alta radiación ultravioleta, baja presión atmosférica y limitados nutrientes. A pesar de ello, comunidades microbianas especializadas, conocidas como microorganismos de altitud (MOA), han desarrollado adaptaciones que les permiten sobrevivir y desempeñar funciones ecológicas esenciales. En México, el glaciar norte del Citlaltépetl (Pico de Orizaba) constituye un ecosistema único y vulnerable. El presente trabajo se centró en el análisis de microorganismos cultivables *in vitro* procedentes de este glaciar, en un contexto de acelerada desaparición de glaciares por cambio climático. Las condiciones ambientales del sitio de muestreo fueron extremas: altitud de 5066 msnm, presión atmosférica de 1042 hPa, radiación UV-B acumulada de 4016 J/m² en 80 s y temperatura de -2.6 °C en el hielo. En contraste, en el Valle de Puebla, localizado a 2135 msnm en un día soleado y frío, se presenta una presión atmosférica de 1033 hPa, una radiación UV-B de 24 J/m² acumulada en 80 s y la temperatura mínima registrada de 7 °C. Se determinó una baja carga bacteriana de 2.1 X 10⁵ UFC/ml, lo que refleja la presión ambiental selectiva sobre las comunidades presentes. Se obtuvieron 15 aislados bacterianos y 18 fúngicos, los cuales presentaron una amplia diversidad en su morfología colonial y celular. En bacterias, se observaron colonias de crecimiento lento en medio de soya tripticaseína a 30 °C, mientras que en hongos se identificaron variaciones en coloración, borde y textura, sugiriendo la presencia de diferentes filos. Destaca la tolerancia de varios aislados bacterianos a la radiación UV-C, sobreviviendo más de 60 segundos bajo exposición directa, lo que evidencia mecanismos de resistencia asociados a su hábitat de alta montaña. Estos resultados muestran que, aun en condiciones extremas, persiste una comunidad microbiana diversa y funcional, cuya caracterización contribuye al conocimiento de la biodiversidad microbiana mexicana y ofrece potencial para aplicaciones biotecnológicas en ambientes adversos.

Palabras Clave: Microorganismos de altitud, glaciar de roca, Citlaltépetl, Biotecnología.

Introducción

La altitud es un factor geográfico que determina condiciones ambientales particulares, caracterizadas por una disminución progresiva de la presión atmosférica, reducción de la temperatura, incremento en la radiación ultravioleta tipo B (UVB) y limitación en la disponibilidad de nutrientes y agua (Hock et al., 2019; Smith M. y Smith L., 2007). Estos ambientes extremos para la mayoría de los organismos, se encuentran en las grandes cordilleras montañosas y volcanes del mundo, donde la vida enfrenta fuertes presiones de selección.

A pesar de estas condiciones adversas, se ha documentado la presencia de comunidades microbianas adaptadas a gran altitud, conocidas como microorganismos de altitud (MOA). Estos organismos han sido reportados en suelos, rocas, lagos de altitud, nieves perpetuas y glaciares ubicados entre los 2000 y 8000 metros sobre el nivel del mar (msnm), e incluso en el aire de la estratosférica a más de 20000 msnm (Griffin, 2004; Smith et al., 2010). Su diversidad está representada por los dominos Bacteria, Eukaria y Archea (Rasuk et al., 2016; Singh et al., 2019) comprende bacterias, archeas, hongos, algas y protozoos (Zhang X. et al., 2006; Ciccazzo et al., 2015; Hotlanding et al., 2017). Los MOA han desarrollado estrategias fisiológicas y moleculares que les permiten sobrevivir en condiciones de frío extremo, intensa radiación UVB y baja disponibilidad de oxígeno (Kumar V. et al., 2022); los MOA pueden sobrevivir a estas múltiples condiciones extremas, por lo que son poliextremófilos (Merino et al., 2019).

El estudio de los MOA resulta relevante por tres motivos principales. En primer lugar, por su importancia ecológica, ya que participan en la sucesión primaria, en la formación de suelos y en los ciclos biogeoquímicos de ambientes de altura (Hotlanding et al., 2017; Ficciola et al., 2021). En segundo lugar, por su interés biotecnológico, debido a la producción de extremoenzimas (Atif et al., 2024; Saini y Mishra., 2024) y metabolitos secundarios categorizados como moléculas bioactivas (Chandra et al., 2017; Mandal et al., 2022) que son un potencial para aplicaciones en la medicina, agricultura (Zenteno et al., 2023), industria textil (Kumar S. et al.,

2022), alimentación, bioremediación y para el desarrollo de nuevas técnicas de investigación. En tercer lugar, los MOA son de interés para la investigación sobre el origen de la vida, ya que pueden soportar entornos ambientales similares al origen de la vida e inclusive circunstancias de otros planetas, ya que están en el límite de los parámetros que permiten la vida (Merino et al., 2019). Sin embargo, la investigación de los organismos poliextremófilos como los MOA es siendo limitada, debido al difícil acceso a los sitios de muestreo y la complejidad de reproducir en el laboratorio las condiciones ambientales extremas en las que se desarrollan limitan el cultivo *in vitro* (Rainey y Oren, 2006; Schultz et al., 2023), por ello los investigadores inventan métodos para estudiar los microorganismos que habitan en los ambientes más inhóspitos del mundo (Dance, 2020).

Actualmente, el cambio climático con el calentamiento global representa una amenaza adicional para los MOA (Pandey et al., 2025). El aumento en la temperatura global ha provocado un retroceso acelerado de los glaciares en la alta montaña, así como la desaparición de ecosistemas de altura con la pérdida de hábitats únicos que podrían albergar comunidades microbianas aún desconocidas, así como el reemplazo de especies endémicas (Pandey et al., 2025).

En México, el cambio climático ha extinguido la mayoría de los glaciares en los volcanes superiores a 5000 msnm, solo el volcán Citlaltepetl presenta el último glaciar de México (Carrillo et al., 2024). Esto hace urgente la necesidad de documentar la diversidad de MOA de estos ambientes antes de que se pierdan de manera irreversible. En este contexto, el presente trabajo busca aportar información sobre los microorganismos de altitud (bacterias y hongos) asociados al último glaciar de México, contribuyendo al conocimiento de su cultivabilidad *in situ*, su diversidad y su resistencia a la radiación ultravioleta.

Antecedentes

Diversidad de microorganismos de altitud

Se ha reportado la presencia de diversos microorganismos de altitud (MOA); en términos de abundancia, están mayormente representados por bacterias, seguidas por los hongos, algas, protozoos y arqueas (Simon et al., 2009; Edwards et al., 2013). Se han reportado bacterias y hongos en la estratosfera (10,000 a 50,000 msnm); Griffin (2004) aisló 71 unidades formadoras de colonia de bacterias (UFC), siendo 70 colonias identificadas como *Bacillus luciferensis* y una *Bacillus shaericus*; y 4 hongos *Penicillium* sp. También Smith et al. (2010) aislaron *Bacillus* sp., *Bacillus subtilis*, *Bacillus endophyticus* y *Penicillium* sp. a 20 000 msnm sobre el océano Pacífico. Los MOA pueden llegar a la estratósfera por las tormentas (terrestres y marítimas), actividad volcánica, eventos de colisión de objetos astronómicos y actividad humana como lanzamiento de naves espaciales y armas balísticas (Griffin, 2004).

También se ha reportado MOA en la baja atmósfera (0 a 10.000 msnm), principalmente en el área de “alta montaña” de las montañas y volcanes del mundo (2.000 a 8.849 msnm). Al igual que los MOA de la estratósfera, los MOA que habitan en la “alta montaña” son transportados por eventos naturales, Chuvochina et al. (2011) reportaron que las partículas del desierto del Sahara son transportadas unos 3500 kilómetros, partiendo desde el norte de África, atravesando el mar mediterráneo y se depositadas en altitudes de más de 4000 msnm en el Monte Blanco en Francia, Europa.

Los trabajos de bacterias han sido los más documentados, reportando una gran diversidad en las diferentes cordilleras montañosas alrededor del mundo, como: en los Alpes europeos (Chuvochina et al., 2011; Margesin et al., 2009); en los Pirineos en la península Ibérica (Ortiz et al., 2020; Ruiz et al., 2023); en los Himalayas (Zhang S. et al., 2008; Liu et al., 2022; Kumar S. et al., 2022); en el Karakórum (Ali et al., 2021) y en los Andes de Sudamérica (Fernández et al., 2006; Ordoñez et al., 2009; Paulino et al., 2013; Aszálos et al., 2016; Bull et

al., 2017). Por otra parte, siendo más escasos, se han reportado hongos en diferentes cordilleras como en el Himalaya (Ma et al., 2021), el Karakum (Hassan et al., 2018); en los Andes (Margesin et al., 2009) o en la Patagonia (Duo et al., 2018). Existe variación en la diversidad y abundancia de bacterias y hongos de altitud dependiendo del tipo de muestra; encontrándose más diversidad y abundancia en el suelo que en el agua del deshielo y en el hielo (Hassan et al, 2018).

En la alta montaña, la altitud influye en la diversidad, abundancia y riqueza de los MOA. En el caso de las bacterias Margesin et al. (2009), Alpes muestran que la biomasa y la actividad microbiana decrecen con el incremento de la altura en un rango de 1500-2530 msnm; sin embargo, aumentan las bacterias psicrófilas heterótrofas. Kuma et al. (2019), encontraron que la abundancia de bacterias desciende conforme aumenta la altitud de 1532 a 3415 msnm en los Himalayas. Por otra parte, Aszalos et al. (2016), mostraron que en el volcán Ojos del Salado en los Andes, las comunidades más diversas se ubicaron en las alturas más bajas de 3770 msnm que en las más altas a 6500 msnm. Zhang S. et al. (2008) reportaron que las células viables que se encuentran en la superficie presentan una mayor viabilidad que aquellas a mayor profundidad en el glaciar. Por otra parte, Tolotti et al. (2020), mediante un análisis metagenómico del agua del derretimiento de los glaciares a 2027-2900 msnm, identificaron una mayor abundancia de bacterias en los sedimentos que en el agua, siendo representadas principalmente por los filos de Pseudomonadota (Protobacteria), Actinomycetota (Actinobacteria) y Bacteroidetes (Firmicutes).

A pesar de la altura, este no es un limitante para las bacterias de las montañas. Ali et al. (2021), hallaron en un rango variado de altura a filos representativos de diferentes suelos, hielo y agua en alturas de 2570 a 7795 msnm en la cordillera del Karakórum.

El patrón de diversidad y abundancia de hongos con respecto a la altitud, Ma et al. (2025) mencionan que en ecosistemas como los pastizales y bosques la diversidad y abundancia de hongos disminuye conforme a la altura; sin embargo Borzecka et al. (2022) reportaron que la diversidad y abundancia de hongos cultivables es mayor en la parte alta del glaciar Werenskiöld

en Spitbergen (archipiélago Svalbard, Ártico) en un rango de altitudes de 150 a 400 msnm; aunque si disminuye el número de esporas conforme aumenta la altitud. Este mismo efecto se reportó en altitudes con mayor altitud, Ma et al. (2025) realizaron un estudio metagenómico en altitudes de 5293 a 6476 msnm del glaciar Rongbuk del Everest (Himalaya), no encontraron una tendencia con respecto a la diversidad alfa de Shannon y Chao 1; aunque la diversidad β si se ve afectada por los factores geográficos de latitud, longitud y altitud. Asimismo, Schmidt et al. (2012) reportaron que el filo Chytridiomycota fue el más abundante en altitudes de 3660 a 5500 msnm (Montañas rocosas en EUA e Himalayas en Nepal); asimismo, los filios Ascomycota y Basidiomycota fueron los más abundantes en altitudes de 5200 a 6300 msnm (Volcanes Socopa y Lullailaco).

Existen otros factores que influyen en la diversidad y abundancia de hongos. Schmidt et al. (2012) encontraron que en las áreas periglaciares (Montañas Rocosas, EUA; Andes peruanos; Himalayas en Nepal) existe una baja diversidad de hongos en comparación con las comunidades árticas y de sistemas alpinos. También, Schmidt et al. (2012) reportaron que la humedad influye en la abundancia de filios, siendo el filo Chytridiomycota el más abundante en zonas y temporadas con mayores precipitaciones (Himalayas y Montañas Rocosas); mientras que los filios Ascomycota y Basidiomycota fueron los más abundantes en zonas y temporadas de secas (Socopa y Lullailaco, Andes chileno y argentino). También se ha reportado que la diversidad y abundancia de hongos es mayor en el suelo que en el agua del deshielo y en el hielo (Duo et al., 2018; Hassan et al., 2017; Hassan et al, 2018); incluso en microhábitats en el hielo como los crioconos hay mayor diversidad y abundancia de Ascomicetos en los sedimentos, mientras que los basidiomicetos predominan en el agua y hielo; Borzacka et al. (2022) lo reportaron en el glaciar Werenskiold en Spitbergen (archipiélago Svalbard, Ártico); y Dhume et al. (2022) lo reportaron en el glaciar Hamat en el valle Laha-Spiti de Himachal Pradesh, India.

Microorganismos en Glaciares

Glaciares polares (Ártico y Antártica)

Debido a las condiciones ambientales extremas resulta difícil estudiar el microbiota de los glaciares polares; Hirsch et al. (2004) aislaron e identificaron las especies de *Deinococcus saxicol* y *D. marmoris* provenientes de la Antártida; ya en estudios metagenómicos, Perini et al. (2019) estudiaron la diversidad de hongos y bacterias del glaciar Svalbard en el Ártico, reportaron que las bacterias más abundantes pertenecen a los filos Actinomycetota y Psuedomonadota; mientras que el filo Basidiomycota presentó a los hongos más abundantes. Asimismo, Borzacka et al. (2022) reportaron que los ascomicetos son los más abundantes en crioconos en el glaciar Werenkiold en Spitsbergen (Archipiélago Svalbard).

Por otra parte, Coppola et al. (2024) aislaron bacterias provenientes de la Antártida, siendo los filos de Pseudomonadoa, Actinomycetota y Bacillota los más abundantes; reportaron los siguientes géneros: *Brevundimonas* sp., *Qipengyuania* sp., *Sphingorhabdus* sp., *Sphingobium* sp., y *Psychrobacter* sp. (Gram negativas); *Staphylococcus* sp., *Bacillus* sp., *Mesobacillus* sp., *Kocuria* sp., *Gordonia* sp., *Rhodococcus* sp., *Micrococcus* sp., *Arthrobacter* sp., *Agrococcus* sp., y *Salinibacterium* sp. (Gram positivas). Estas áreas polares comparten condiciones climáticas y características con la alta montaña (frío extremo, alta exposición solar, glaciares, tundra, vientos fuertes), aunque se diferencian por la disponibilidad de oxígeno (disminuye por la altitud) y los períodos de congelación/descongelación.

Glaciares de Roca (Glaciares de Altitud)

Se ha reportado los MOA que habitan en los glaciares de altitud Simon et al. (2009) realizaron un estudio metagenómico de la diversidad de MOA en el glaciar norte Schneeferner en los Alpes Alemanes a 2500 msnm, reportaron que el dominio Bacteria fue el más abundante, (83 %), en segundo lugar, el dominio Eukaryota (9%), mientras que el dominio Archea (< 1%) fue

el menor abundante; también reportaron la presencia de virus (< 1%) en el glaciar. En un caso similar, Edwards et al. (2013) encontraron que la biodiversidad de MOA en el glaciar Rotmoosferner en el Tirol, en los Alpes austríacos, a 2450 msnm, el dominio Bacteria fue el más predominante (83 %), seguido del dominio Eucaria (0,6 %). Por otra parte, Zhang X. et al. (2002) obtuvieron 81 aislados viables en el glaciar Malan en los Himalayas chinos, siendo 75 bacterias y 6 actinomicetos.

En el caso de bacterias, Simon et al. (2009) reportaron que los filos más abundantes en el glaciar norte Schneeferner en los Alpes alemanes a 2500 msnm fueron en primer lugar Pseudomonadota (63.2 %), seguidos por Bacteroidetes (14.0 %), Actinomycetota (11.3 %), Bacillota (3.3 %) y Cianobacterias (2.5 %).

En cuanto a estudios de microorganismos de altura que habitan en los glaciares de roca o de altitud, Zhang X. et al. (2006) reportaron las bacterias en el glaciar de Puruogangri a 5970 msnm en la meseta tibetana, siendo el filo de Actinomycetota (*Cryobacterium* sp., *Frigoribacterium* sp., *Rhodococcus* sp., *Microbacteriaceae* sp., *Kocuria* sp. y *Arthrobacter* sp.) presentó mayor diversidad y abundancia seguido del filo Bacillota (*Sporosarcina* sp., *Bacillus* sp., *Planococcus* sp. y *Flectobacillus* sp.), Pseudomonadota (*Devosia* sp., *Brevundimonas* sp., *Psychrobacter* sp., *Stenotrophomonas* sp., *Acinetobacter* sp. y *Rhodoferax* sp.) y por último el filo Bacteroidetes (*Flavobacterium* sp.).

En el caso del glaciar Rongbuk (Everest, Himalayas), Zhang S. et al. (2008) realizaron un estudio metagenómico, identificaron que los filos más abundantes en una altitud de 6518 msnm fueron Psuedomonadota, Bacillota; siendo los más abundantes el grupo Gamma Pseudomonadota. En este mismo sitio a una altitud de 6350 Liu et al. (2009) observaron que el filo más dominante fue Actinomycetota (*Agrococcus* sp., *Arthrobacter* sp., *Cellulomonas* sp., *Clavibacter* sp., *Frigoribacterium* sp., *Microbacterium* sp., *Rhodococcus* sp. y *Sanguibacter* sp.); seguido de Pseudomonadota (*Afipia* sp., *Brevundimonas* sp., *Janthinobacterium* sp.,

Acinetobacter sp., *Aeromonas* sp., *Moraxella* sp y *Stenotrophomonas* sp.) y por último Bacillota (*Bacillus*). Por último, este glaciar tiene una altitud de 6518 msnm; Zhang S. et al. (2010) los filos Bacillota y Actinomycetota, seguidos de Pseudomonadota y Deinococcus-thermus, fueron cultivables. En los glaciares Gangotri y Kandakhal de los Himalayas, Kumar S. et al. (2019), en su estudio metagenómico, identificaron que los filos más abundantes en una mayor altitud de 3415 msnm fueron Pseudomonadota, Acidobacteria y Actinomycetota; mientras que en baja altitud de 1532 msnm dominan Bacteroidetes y Bacillota.

Ali P. et al. (2021) Glaciar Batura a 4000 msnm en el Karakorum en Pakistán, aislaron bacterias, siendo los filos más abundantes Actinomycetota 48 %, Bacteroidetes 26 % y Pseudomonadota 22 %, siendo los géneros dominantes *Flavobacterium* sp. 26%, *Arthrobacter* sp. 22 %, y *Pseudomonas* sp. 19 %. Ali B. et al. (2019) aislaron bacterias de crioconos del glaciar Laohugou en el monte Qilian a 5481 msnm, China, encontraron que los filos con mayor diversidad fueron Bacillota, seguido de Actinomycetota, Pseudomonadota, siendo la menor diversidad fue Euryarchaeota en muestras de roca, suelo, agua, criocono, hielo/nieve; siendo que la muestra de suelo dominó Bacillota y Actinomycetota, mientras que en los crioconos dominaron los filos Bacillota y Pseudomonadota. Por otro lado, Ball et al. (2014) aislaron bacterias a 4900 msnm del glaciar norte en el monte Humboldt en la Sierra Nevada, Venezuela; reportaron que los filos más diversos fueron Pseudomonadota (*Pseudomonas* sp.) seguidos de Actinomycetota y Flavobacteria. Lee et al. (2011) más abundantes Actinomycetota y Bacillota en zonas prístinas en los Alpes austríacos, altitudes de 2200 a 2900 msnm.

En el caso de hongos presentes en glaciares, Ma et al. (2025) a través de métodos metagenómicos reportaron que el filo Ascomycota fue el más abundante en altitudes de 6476 a 5293, mientras que el filo de Basidiomycota fue el segundo más abundante, y fue exclusivo en la altitud de 5610 msnm en el glaciar del Rongbuk en el Everest (Himalayas). Rafiq et al. (2019) aislaron del glaciar Trich Mir de la montaña Hindu Kush en Pakistán a una altitud de 3400 msnm

el filo Ascomycota fue el más diverso y abundante, seguido del filo Basidiomycota, siendo los géneros más abundantes *Penicillium* sp., seguido de *Alternaria* sp., *Cladosporium* sp., *Didymella* sp., *Epicoccum* sp., *Ulocladium* sp., *Onygenales* sp., *Phoma* sp., *Coprinopsis* sp., *Ascochyta* sp., *Aspergillus* sp., *Davidiella* sp., *Geomyces* sp., *Irpex* sp., *Pseudogymnoascus* sp., *Scopulariopsis* sp. y *Tomicus* sp. Duo et al. (2018), por estudio metagenómico, el filo más abundante en el glaciar Overa en el monte Tronador a 1800 msnm en los Andes argentinos fueron los ascomicetos provenientes del suelo, mientras que del hielo y del agua fueron los Basidiomycota. Hassan et al. (2018) identificaron mayormente a *Penicillium* sp. del filo Ascomycota en el glaciar Batura en el Karakorum a 3000 msnm; sin embargo, no hacen distinción de si fue de una muestra en específico (suelo, hielo o agua del glaciar) o de la suma de todas las muestras. Asimismo, Dhume et al. (2022) identificaron 10 ascomicetos y 2 basidiomicetos provenientes del criocono del glaciar Hamat en los Himalayas a 4020–5000 msnm. Igualmente, Hassan et al. (2017) reportaron una mayor cantidad de Ascomycota; sin embargo, en ambos estudios no hacen separación del tipo de muestra (sedimentos, del agua y del hielo). Por otra parte, Duo et al. (2018) reportaron una mayor dominancia en el hielo por el filo Basidiomycota y en el suelo por el filo Ascomycota en el glaciar Castaño Overa el cerro Tronador en la Patagonia; así mismo, Okello et al. (2024) reportaron en el glaciar Lewis en el monte Kenia una mayor abundancia de hongos pertenecientes al filo Basidiomycota.

Resistencia a condiciones adversas de los MOA

Se ha reportado que los microorganismos de altitud, en específico bacterias y hongos, presentan resistencia a múltiples condiciones ambientales y fisicoquímicas. En general, las bacterias y hongos de altitud presentan un amplio rango de temperatura de crecimiento, desde temperaturas propias de psicrófilos y psicotolerantes (Ball et al., 2014) hasta temperaturas más altas de 37 °C, inclusive a 47 °C (Ali et al., 2021; Dhume et al., 2022; Rafiq et al., 2021; Hassan et al., 2018; Hassan et al., 2017). También, los MOA crecen en un amplio rango de pH; en el

caso de las bacterias, pueden crecer en pH de 4 a 13 (Ali et al., 2021); mientras que los hongos pueden crecer a pH de 1 a 13 (Rafiq et al., 2021; Hassan et al., 2018; Hassan et al., 2017). También se ha reportado que los MOA presentan una tolerancia a la salinidad; en el caso de las bacterias, toleran de un 1-6% (Ali et al., 2021); mientras que los hongos presentan una mayor tolerancia del 2-26% de NaCl (Dhume et al., 2022; Rafiq et al., 2021; Hassan et al., 2018). También se ha observado que presentan tolerancia a metales pesados, tanto en bacterias (Ali et al., 2019) como en hongos (Calvillo et al., 2020A).

Resistencia a la radiación ultravioleta (UV)

Debido a la altitud, los MOA están expuestos a alta exposición de radiación ultravioleta (UV) tipo B (UV-B), por lo cual la UV-B no es un limitante para estos microorganismos. En la cordillera de los Andes en Sudamérica, Aszalos et al. (2016) reportaron una gran cantidad de bacterias en lagos de altura (3700-6500 msnm) en los volcanes del desierto de Atacama (Chile), siendo que en este desierto se presenta una elevada exposición solar y radiación UV-B. Igualmente en lagos de altura en los Andes, Albarracín et al. (2013) identificaron filos resistentes a la UV como Actinomycetota, Bacillota, Pseudomonadota y Bacteroides, siendo el género *Actinobacter* el más resistente. Además, Albarracín et al. (2012) determinaron que la resistencia y la reparación de ADN por daño en *Acinetobacter* son muy elevadas. También Rasuk et al. (2017) evaluaron la resistencia a rUV de bacterias del filo Actinomycetota provenientes de estos mismos lagos, siendo tolerantes a múltiples condiciones extremas, incluyendo rUV. Además, Bull et al. (2017) encontraron que la rUV es un factor que influye en la composición de las comunidades del filo Actinomycetota en estos mismos lagos andinos. Pérez et al. (2017) evaluaron la respuesta de la expresión proteica ante diferentes tipos de radiación en el ambiente natural a 3800 msnm y en laboratorio; con radiación UV-B artificial se activan proteínas osmoprotectoras, lo que proponen que los osmólitos tienen una función como eficientes captadores de oxígeno reactivo.

Se ha reportado que los filos Actinomycetota, Bacillota, Pseudomonadota, Bacteroidetes presentan una gran tolerancia a UV (Albarracín et al., 2013) al igual que Verrucomicrobia (Pérez et al., 2017). El filo Actinomycetota se ha reportado en sitios con elevada exposición solar (Bull et al., 2017), además de tener una mayor tolerancia a UV que otros filos (Albarracín et al., 2012). Se ha reportado una alta tolerancia a UV en especies del filo Psuedomonadota, en forma más específica, Albarracín et al. (2013) reportaron una mayor supervivencia relativa de *Acinetobacter* sp. proveniente de lagos de altura en la región de Puna en los Andes Argentinos; en esta misma región, Fernández et al. (2006) reportaron que *Acinetobacter johnsonii*, *Psudomona putida* y *Serratia marcescens* aisladas en humedales de altitud fueron las especies más resistentes a UV-B. Kumar V. et al. (2022) reportaron que *Iodobacter* sp., aislado de un lago de altitud en el área de Sach Pass en los Himalayas en la India, presenta una múltiple expresión de proteínas en respuesta a UV. En otras especies de otros filos, Pérez et al. (2017) reportaron en *Rhodobacter* del filo Verrucomicrobia aislado de lagos de altitud en los Andes chilenos una múltiple expresión de proteínas en respuesta a la UV natural y artificial; y Rasuk et al. (2017) reportaron a *Deinococcus radiodurans* o *Thermococcus gammatolerans* como altamente tolerantes a la UV.

Diversidad de MOA en México

Los estudios de MOA en las áreas de altitud en México son reducidos. Insam et al. (2017) realizaron la caracterización del suelo tras la retirada del glaciar de Ayoloco en el volcán Iztaccíhuatl y recalcaron que las condiciones fisicoquímicas han cambiado, lo cual permite la colonización de estas nuevas áreas por otras especies. En este mismo volcán, Calvillo et al. (2019) realizaron un estudio metagenómico de muestras del glaciar “El Pecho” a 5200 msnm. Reportaron que los filos de bacterias más abundantes fueron Pseudomonadota, Actinomycetota y Bacteroidetes; además, reportaron una gran cantidad de *Candidatus Saccharibacteria*. En cuanto a hongos cultivables, Calvillo et al. (2020A) aislaron del glaciar norte del Citlaltépetl y del hielo remanente de los glaciares del Iztaccíhuatl a 38 hongos filamentosos, siendo el filo

Ascomycota (35) el más abundante y solo 3 especies del filo Mucoromycota. Calvillo *et al.* (2020A) identificaron una menor diversidad y abundancia de especies en el Iztaccíhuatl, siendo los siguientes géneros: *Sordariomycetes* spp. (6), *Penicillium* spp. (2) *Arthrinium* sp. (1) y *Cladosporium* spp. (1); mientras que en el glaciar del Citlaltépetl identificaron a *Cladosporium* spp. (9), *Alternaria* spp. (7), *Curvularia* spp. (3), *Sordariomycetes* spp. (2), *Aureobasidium* sp. (1), *Penicillium* sp. (1) y *Stemphylium* (1). También Calvillo *et al.* (2020B) identificaron la nueva especie *Periconia citlaltepeltensis*, hongo psicrófilo endémico del Citlaltépetl.

De los hongos cultivables del Iztaccíhuatl y Citlaltépetl, Calvillo *et al.* (2020A) evaluaron su tolerancia a metales pesados, siendo *Cladosporium* y *Penicillium* los más resistentes a dosis elevadas de cromo (Cr III) y plomo (Pb II), mientras que ninguno de los aislados toleró las concentraciones de mercurio (Hg II).

Marco Teórico

Alta Montaña (área de estudio)

En lo más alto de las elevaciones geográficas (Figura 1), como las montañas o volcanes, existe el piso térmico gélido o glaciar (también llamado alta montaña). En este sitio, las condiciones ambientales son extremas a tal grado que impiden el crecimiento de la vida, como pinos, pastizales o el páramo de altura; por ello, se va reduciendo la cantidad de materia orgánica y del suelo (Montero, 2012). Este sitio presenta diferentes tipos de terreno como morrenas (zonas pedregosas extensas), roca madre expuesta, permafrost (suelo permanentemente congelado) y glaciares, estas características son compartidas por la tundra y zonas polares (Mekonnen *et al.*, 2021). Sin embargo, la altitud en la que se puede encontrar la zona de alta montaña se ve afectada por la latitud; al acercarse a los polos disminuye la altitud de esta área, en el volcán Cayambe en Ecuador se encuentra a 4800 msnm (Butcher *et al.*, 2021); mientras que en el centro de esquí “La Hoya” en la Patagonia Argentina se encuentra a 1700 msnm (Reato *et al.*, 2022).



Figura 1. Mapa mundial de las altitudes. El eje en el lado derecho de ejemplifica la altitud en metros (m).

Condiciones Ambientales de la Alta Montaña

En estos sitios, las condiciones ambientales se hacen más extremas cuanto la altitud es mayor, presentando una relación inversa con la temperatura, siendo las bajas temperaturas el principal factor ambiental limitante para el desarrollo de la vida (Hock et al., 2019). Otro factor atmosférico, como la presión atmosférica, disminuye con la altitud, lo que hace más difícil el intercambio gaseoso, como el del oxígeno (Peacock, 1998). Al igual que el frío y la presión atmosférica, la incidencia de radiación ultravioleta (UV) se ve afectada por la altura, en este caso a mayor altura aumenta la exposición de la UV, se estima que por cada 1000 m aumenta 11 % la incidencia UV (Blumthaler et al., 1997) debido a que no hay suficientes moléculas en la atmósfera que absorban la UV (Schmucki y Philipona, 2002; Diffey, 2002). Asimismo, el efecto

de albedo refleja la UV por el tipo de terreno en la montaña, la arena refleja del 15-30 % y la nieve el 90 % (Diffey, 2002).

Radiación ultravioleta (UV)

La radiación ultravioleta (UV) es un factor físico que forma parte de una pequeña parte del espectro de electromagnetismo, pertenece a longitudes de onda de alta energía dentro del rango de 400 a 100 nm (Diffey, 2002). La UV se clasifica en tres tipos según la intensidad de energía que contienen: 1) radiación UV tipo A (UV-A) de 400-320 nm de menor energía; 2) radiación UV tipo B (UV-B) de 320-290 nm con energía media; y radiación UV tipo C (UV-C) de 280-100 nm con alta energía (González et al., 2009; Albarracín et al., 2013).

La radiación UV natural proviene mayormente del sol, la cual contiene los tres tipos de UV; sin embargo, el ozono en la atmósfera terrestre absorbe la radiación UV-C y casi en su totalidad la radiación UV-B. De la totalidad de UV proveniente del sol, solo llega a la superficie terrestre 1,3 %, del cual un 95 % es la radiación UV-A y el 5% la radiación UV-B (Olarte et al., 2019). La incidencia de rUV en la Tierra varía principalmente por la altitud solar, la hora del día, el día del año, la locación geográfica en latitud-longitud, siendo una mayor exposición de UV en las regiones ecuatoriales, seguida de los trópicos (Diffey, 2002) y la altura (Blumthaler et al., 1997; Albarracín et al., 2013).

Efectos de la radiación UV en los seres vivos

La UV tiene efectos en moléculas biológicas que absorben directamente los fotones de alta energía (González et al., 2009). El ADN es una de estas moléculas que absorben estos fotones en sitios ricos de bases nitrogenadas de pirimidinas (tiamina y guanina), provocando dímeros de ciclobutano y pirimidina (CPD) como fotoproductos (González et al., 2009; Albarracín et al., 2013). La presencia de CPD en la doble hebra del ADN obstruye durante su replicación y transcripción, provocando mutaciones y alteraciones en la expresión génica (Mullenders, 2018). También está bien documentado el impacto de la UV en las proteínas, que produce alteraciones

en las estructuras secundarias, así como la dimerización de proteínas (Espinoza y Mercado, 2017; Bera et al., 2023).

Por otra parte, la exposición a UV-C produce estrés oxidativo al incrementar la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), lo que ocasiona daño adicional al ADN, así como carbonilación de proteínas, proteólisis y agregación de proteínas (Bera et al., 2023; Mullenders, 2018). A su vez, el estrés oxidativo induce peroxidación lipídica, lo que conlleva el debilitamiento y eventual ruptura de la membrana celular (Pan et al., 2021). Asimismo, la exposición prolongada a la UV se asocia con una disminución en la actividad de enzimas antioxidantes (superóxido dismutasa, peroxidasa, catalasa, etc.) y metabolitos antioxidantes (carotenoides, melatonina, glutatión reducido, etc.), lo que reduce la capacidad celular de contrarrestar el daño oxidativo (González et al., 2009).

Aunque es poca la incidencia de rUV que atraviesa la biosfera, en humanos y animales la exposición prolongada a rUV solar afecta la piel con eritemas hasta varios tipos de cánceres como melanomas benignos y malignos, carcinomas, cáncer de ojo, etc.; además, la rUV artificial es usada como germicida para matar microorganismos durante la esterilización de material (Diffey, 2002; Weihs et al., 2012). En específico, en humanos la exposición prolongada a radiación UV-A tiende a causar necrosis en células endoteliales; mientras que la exposición a radiación UV-B es capaz de penetrar en la epidermis dañando el genoma de los queratinocitos (González et al., 2009).

Glaciares

Los glaciares son grandes cuerpos de agua congelada formados por la deposición de nieve de cada temporada, que, con el tiempo, se compacta con el peso de una nueva deposición de los años siguientes y pierde oxígeno. Para su formación se requiere de la acumulación y compactación de nieve de milenios de años (Jones et al., 2019). Los glaciares presentan una dinámica por el peso: los glaciares se desplazan sobre el lecho rocoso (Figura 2), generando

sobre la superficie grietas de cientos de metros de profundidad (Cuffey y Paterson, 2010; Ben y Evans, 2010).

Existen dos tipos de glaciares: los polares y los no polares. Los glaciares polares se encuentran en los polos norte y sur del planeta (Fountain et al., 2012); sin embargo, los glaciares no polares o “glaciares de roca” se encuentran en altas alturas de las montañas alrededor del mundo (Jones et al., 2019). Por la gran cantidad de glaciares presentes en las montañas de la cordillera del Karakorum, se le considera como el tercer polo (Ganjoo, 2021). A los glaciares de roca se clasifican de acuerdo con el contenido de hielo y la dinámica de movimiento, en activos (contienen hielo y su movimiento), inactivos (aquellos glaciares que contienen hielo, pero no se puede observar movimiento) y relictos (glaciares fósiles sin hielo y no se observa su movimiento) (Jones et al., 2019). Son los glaciares de roca activos aquellos que presentan movimientos de centímetros o hasta metros por año (Jones et al., 2019).

En los glaciares de roca se identifican dos zonas, la zona de acumulación donde se deposita la nieve y una zona de ablación donde sucede el derretimiento (Figura 2). Para que un glaciar se considere “vivo”, debe existir un equilibrio en estas zonas (Casado y Melón, 2024). Por ello, las zonas más jóvenes del glaciar se encuentran las zonas de acumulación (en lo alto) y en la superficie del glaciar; mientras que, las partes más viejas de un glaciar se encuentran en la zona de ablación (partes bajas) y en las partes más profundas (Olivia et al., 2018; Thompson et al., 2010; Ortiz et al., 2020; Ruíz et al., 2023). Estos glaciares presentan una estructura interna compuesta por cuatro capas: 1) manto de escombros, con un grosor de metros; 2) una capa rica en hielo de grosos de decenas de metros, 3) una capa baja en hielo o libre de sedimentos; y 4) base de roca (Jones et al., 2019).

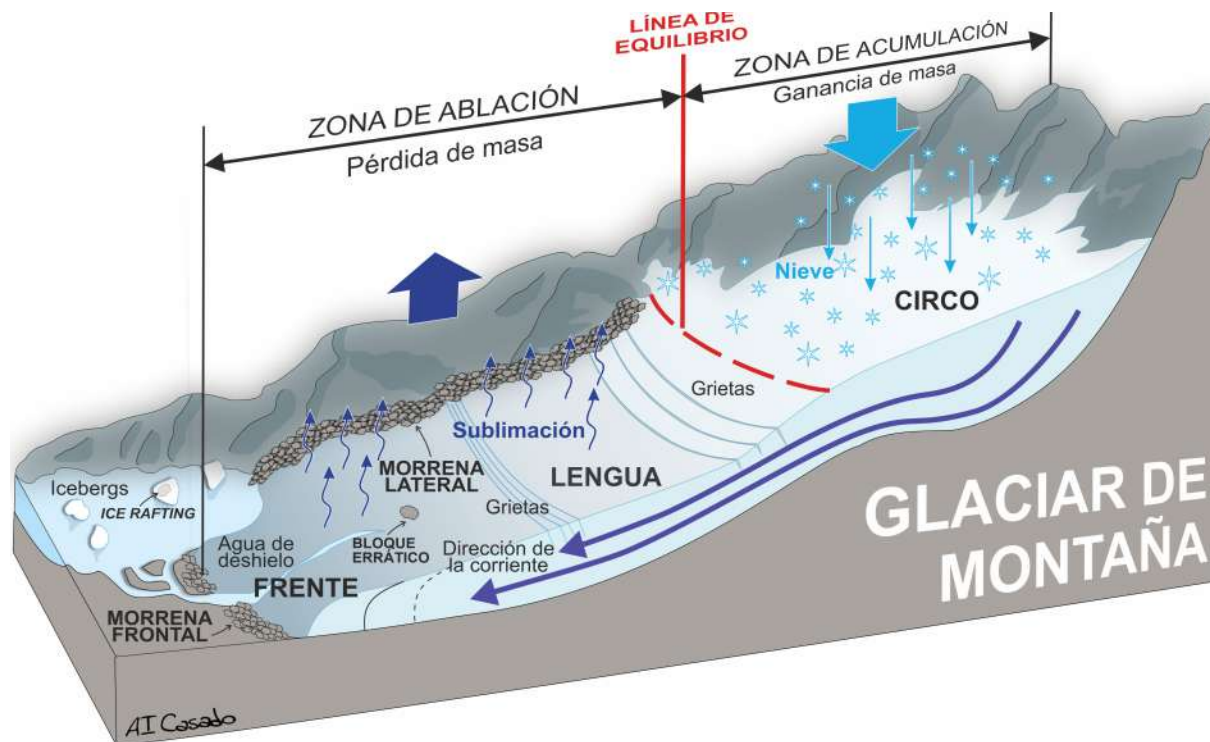


Figura 2. Partes de un glaciar de roca o glaciar de montaña Nota: Representación gráfica de un glaciar de roca o de montaña (Casado y Melón, 2024).

Los glaciares, al derretirse, dan origen a los principales ríos (Ganjoo, 2021) que suministran agua potable a los valles de sus alrededores (Herman et al., 2021). Por otra parte, el desplazamiento del glaciar contribuye a la erosión de rocas del área subglacial, permitiendo que el agua que llega a los valles sea rica en minerales (Herman et al., 2021). Por otra parte, los glaciares de roca son indicadores del cambio climático por lo cual se realizan modelos del pasado y futuro (Zekollari et al., 2022)

Cambio Climático

El cambio climático se refiere a las variaciones a largo plazo de las temperaturas y patrones climáticos (IPCC. 2021). Estos cambios pueden ser naturales, debido a las variaciones en la actividad solar o grandes erupciones volcánicas (Wignall, 2001; Bond y Wignall, 2014); o bien, provocados por la actividad humana (Exposito et al., 2022). Este fenómeno ya ha ocurrido

en diferentes períodos de la Tierra y está estrechamente relacionado con las grandes extinciones de las formas de vida que han habitado en el planeta. Estos cambios climáticos que contribuyeron a las extinciones tuvieron una duración corta e incluso de millones de años, llegando a eliminar hasta el 96 % de especies (Bond y Wignall, 2014; Exposito et al., 2022).

Las causas naturales del cambio climático que provocaron las diferentes extinciones están en discusión, aunque se tienen varias teorías. Las más comunes señalan la actividad volcánica y el impacto de meteoros; en ambos casos liberan a la atmósfera gases de efecto invernadero que condujeron a una baja en la temperatura global y limitaron el paso de luz solar (Bond y Grasby, 2017). Aun así, estos procesos de extinción permitieron la adaptación y diversificación de otros grupos y familias que existen en la actualidad (Benton, 2018).

El cambio climático se debe a las variaciones en la composición de gases en la atmósfera, las cuales permiten la entrada y retención de diferentes radiaciones emitidas por el sol (Exposito et al., 2022). Estos gases regulan la entrada y salida del calor producido por la radiación solar. Una mayor concentración de gases limita la salida de radiación que entra a la Tierra; por otra parte, una menor cantidad de gases no retiene la radiación que produce calor, además de permitir la entrada de otros rayos cósmicos (Exposito et al., 2022).

Los gases que retienen el calor producido por la radiación solar se conocen como “gases de efecto invernadero” (IPCC, 2021). Estas son moléculas simples compuestas por tres o más átomos. Dichos gases están mezclados en la atmósfera y no reaccionan a los cambios de temperatura y presión del aire, por lo que sus niveles no se ven afectados por procesos de condensación (Exposito et al., 2022). Los principales gases de efecto invernadero son: dióxido de carbono (CO_2), metano (CH_4), óxido nitroso (N_2O) y otros gases fluorados (IPCC, 2021). Los gases que contienen carbono, como el CO_2 y el CH_4 , presentan ciclos de absorción-emisión-absorción de calor; es decir, absorben energía de la radiación, vibran y transmiten dicha energía a otras moléculas de efecto invernadero (Stocker et al., 2013).

Los gases de efecto invernadero son liberados de forma natural por incendios forestales masivos, la actividad volcánica y los impactos de meteoros sobre la Tierra, procesos en los cuales se incrementan moléculas con carbono (Bond & Grasby, 2017). También pueden liberarse por la actividad humana, por ejemplo, las partículas de aerosol producidas por el tráfico aéreo, el tráfico vehicular, la industrialización de China e India, e incluso la Segunda Guerra Mundial generó partículas contaminantes (Herndon, 2018). Otras actividades que producen gases de efecto invernadero son el uso de combustibles fósiles, el desmonte de tierras y bosques, la agricultura y la ganadería (Friedlingstein et al., 2020).

Los efectos del cambio climático son diversos; el más marcado es el aumento de la temperatura global, que ha crecido 1,1 °C en el último siglo (IPCC, 2021). El planeta Tierra es un sistema caótico; por ello, una ligera variación en las condiciones iniciales influye en los resultados (Lorenz, 1963); por ejemplo, la urbanización aumenta el efecto de albedo que contribuye al calentamiento global (Ouyang et al., 2022).

En el caso del cambio climático, además de generar un aumento de temperaturas, también produce sequías intensas, escasez de agua, incendios graves, aumento en el nivel del mar, inundaciones, acelera el deshielo de los glaciares polares y de roca, provoca tormentas catastróficas y disminución en la biodiversidad (Exposito et al., 2022).

El cambio climático, además de disminuir la diversidad de especies, permite que nuevas especies habiten en estos nuevos sitios, generando competencia y permitiendo la selección de organismos que mejor se adapten. Sin embargo, eso no significa que sea para bien; se ha observado que cianobacterias pueden desarrollar características patógenas con la exposición UV (Ríos et al., 2021); inclusive existe la probabilidad de que el derretimiento excesivo de los glaciares libere microorganismos con potencial patogénico, tanto en bacterias (Zhang B. et al., 2024) como en hongos (Ma et al., 2025). Mostrando que los microorganismos tienen resiliencia ante el cambio climático (Pandey et al., 2025)

Existe una problemática con el cambio climático, Las montañas en general son islas biológicas o “islas de cielo” ya que están delimitadas por la topografía de los valles bajos y por las condiciones ambientales que son barreras de dispersión como desiertos (Love et al., 2023); por ello, las montañas soportan biotas únicas con una alta cantidad de endemismo de especies (Muellner et al., 2024).

Actualmente, diversos países tienen como objetivo mitigar los efectos del cambio climático, en concordancia con la Convención de las Naciones Unidas sobre el cambio climático y el Acuerdo de París, tienen el objetivo de promover el desarrollo sostenible y la transición a energías renovables (UNFCCC, 2015). Asimismo, estos países se han comprometido a alcanzar cero emisiones de gases de efecto invernadero para el 2050 y lograr para el 2030 la reducción de la mitad de dichas emisiones, con el fin de mantener el aumento de temperatura global por debajo de 1,5 °C (IPCC, 2021).

Organismos extremófilos

A las formas de vida que pueden existir bajo varias condiciones ambientales extremas se les ha llamado extremófilas (Rampelotto, 2013; Singh et al., 2019). Se han encontrado diversos microorganismos extremófilos (ME) en cada nicho este tipo de ambientes, como en las profundidades del océano, con alta presión atmosférica y bajas temperaturas; en la profundidad de la corteza terrestre, en pH ácidos (pH 0) a alcalinos (pH 12.8); inclusive en aguas congeladas de -20 °C hasta en bentos hidrotermales a 122 ° C (Krasimirova, 2020).

La diversidad de los ME es extensa y se encuentra representada por cada dominio de la vida, aunque la mayoría de los ME pertenecen al dominio Arquea; en la mayoría se han hallado cianobacterias pertenecientes al dominio Bacteria; así como organismos fúngicos y protozoos del dominio Eukaria (Rasuk et al., 2016; Singh et al., 2019; Krasimirova, 2020).

Los extremófilos se clasifican acorde a la condición ambiental en la cual pueden crecer: los termófilos e hipertermófilos requieren elevadas temperaturas; psicrófilos requieren bajas

temperaturas; acidófilos y alcalinófilos requieren condiciones de bajo pH y alto pH respectivamente; barófilos que crecen óptimamente en altas presiones; halófilos requieren de elevadas concentraciones de NaCl, solo por mencionar algunos (Singh et al., 2019; Krasimirova, 2020). Normalmente, estos organismos son poliextremófilos y están adaptados para sobrevivir bajo múltiples condiciones ambientales extremas (Rasuk et al., 2016). Otra forma de clasificar a los organismos extremófilos es: 1) organismos extremotolerantes, es decir, que pueden tolerar condiciones ambientales extremas, aunque pueden crecer normalmente bajo condiciones normales, y 2) extremófilos: estos requieren obligatoriamente la condición extrema para sobrevivir (Singh et al., 2019).

Adaptaciones fisiológicas de los MOA

Los organismos MOA son organismos extremófilos ya que pueden existir bajo una condición ambiental extrema; sin embargo, los MOA son poliextremófilos ya que pueden proliferar ante las múltiples condiciones extremas de la alta montaña (Singh et al., 2019; Krasimirova, 2020).

Adaptaciones al frío. El frío provoca la congelación del agua intracelular, lo cual conduce a la formación de cristales que dañan internamente; por otra parte, al congelarse el agua, esta aumenta su volumen, lo cual conduce al daño de la membrana celular. En bajas temperaturas que no congelan, disminuye la cinética enzimática, afectando el metabolismo celular (Brininger et al., 2018). Las adaptaciones al frío son similares a los extremófilos psicrófilos polares, estas involucradas a aumentar su energía cinética en un medio de baja energía al presentar menor superficie hidrofílica e interacciones estabilizadoras, con aminoácidos pequeños y bucles superficiales con carga positiva (Krasimirova, 2020), presentan enzimas de actividad a baja temperatura, proteínas de choque de congelación, proteínas anticongelantes y proteínas nucleadoras de hielo (Singh et al., 2023). además, presentan una reducción en el empaquetamiento de cadenas de grupos acilos en las membranas celulares que permite una

mejor regulación de la fluidez de la membrana (Brininger et al., 2018) lo cual es relevante, dado que, a diferencia de los psicrófilos polares, los MOA ese encuentran expuestos a ciclos frecuentes de congelación y descongelación determinados por la variabilidad ambiental (Ciccazzo et al., 2015).

Adaptaciones a la radiación ultravioleta tipo B (UV-B). Las estrategias presentes en los organismos biológicos para la protección contra rUV son variados, por ejemplo: pigmentos fotoprotectores (Weihs et al., 2012; Kumar S. et al., 2022); además, mantienen la integridad del genoma mediante la tolerancia al daño en el ADN y una respuesta eficiente contra las lesiones en el ADN por mecanismo de “Save our Soul” (SOS), activación de puntos de control y apoptosis (Weihs et al., 2012; Albarracín et al., 2013). Por otra parte, los organismos han desarrollado mecanismos específicos contra las especies reactivas de oxígeno (ROS), para evadir las lesiones en el ADN y en la reparación de CPD (Albarracín et al., 2013). También colocan los cambios estratégicos metabólicos. Estos mecanismos de reparación de fotoproductos en el ADN están altamente conservados (Zhang et al., 2017), siendo reparaciones por fotoreactivación, por escisión, por recombinación, por discordancia y por rompimiento de la doble hebra (Weihs et al., 2012; Albarracín et al., 2013; Mullenders, 2018).

Adaptaciones metabólicas. Debido a las condiciones extremas, los MOA requieren ser eficientes en energía; por ello, las adaptaciones en el metabolismo son necesarias para que puedan crecer con los pocos nutrientes disponibles. En general, los extremófilos utilizan las vías metabólicas centrales de Embden-Meyerhof-Parnas, Entner-Doudoroff, pentosas fosfato y ciclo de ácidos tricarbónicos (Tse y Ma, 2016), aunque para la supervivencia emplean vías modificadas como la vía de pentosas fosfato y Entner-Doudoroff (Rampelotto, 2016). Por la baja cantidad de materia orgánica, los MOA también pueden utilizar otras moléculas inorgánicas como últimos aceptores de electrones, tales como hidrógeno, hierro, sulfuro, nitrato, sulfato y zinc, entre otros compuestos provenientes del medio (Pikuta y Hoover, 2007). En el caso de la vía de

pentosas fosfato, el aceptor final de la fase oxidativa es la nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADP+); mientras que en la vía ED en la respiración aeróbica el último aceptor de electrones es el oxígeno (Pacheco et al., 2021).

Importancia de Microorganismos de Altitud

Ecológica. Los MOA son de importancia ecológica ya que durante el aprovechamiento de recursos contribuyen a la erosión de rocas y durante la formación de suelos (pedogénesis); además, con ello contribuyen a la liberación de minerales que son transportados a los valles, donde serán aprovechados por los ecosistemas (Cicczazzo et al., 2015). También la fijación de nutrientes atmosféricos; por ello están implicados en los procesos de sucesión primaria (Hotlanding et al., 2017; Ficettola et al., 2021). Las montañas en general son islas biológicas o “islas de cielo” ya que están delimitadas por la topografía de los valles bajos y por las condiciones ambientales que son barreras de dispersión como desiertos (Love et al., 2023); por ello, las montañas soportan biotas únicas con una alta cantidad de endemismo de especies (Muellner et al., 2024).

Biotechnológica. Al igual que otros extremófilos, los MOA soportan estos ambientes extremos por la presencia de proteínas conocidas como extremoenzimas que les ayudan a compensar estas condiciones (Krasimirova, 2020). Estas proteínas y enzimas son de interés biotecnológico para la biorremediación y producción de biocombustibles (Hassan et al., 2017; Singh et al., 2019; Rafiq et al., 2021; Dhume et al., 2022), el desarrollo de tecnologías para la investigación (Rasuk et al., 2016), para el desarrollo de la agricultura sostenible de agroecosistemas de altitud (Goel et al., 2020) y aplicaciones en los procesos médicos como generar terapias médicas (Babu et al., 2015; Krasimirova, 2020). Por ello, los MOA son productores de enzimas de interés biotecnológico (Rafiq et al., 2021; Dhume et al., 2022; Hassan et al., 2017). Asimismo, los MOA presentan actividad inhibitoria frente a microorganismos patógenos mediante la producción de moléculas como antibióticos, péptidos antimicrobianos,

metabolitos secundarios, ácidos orgánicos, sideróforos y enzimas líticas, las cuales representan un importante interés frente a la problemática de la resistencia a los antibióticos (Rafiq et al., 2021; Hassan et al., 2017). En los MOA tolerantes a la radiación UV, los mecanismos fisiológicos y genéticos responsables de su resistencia son diversos (Albarracín et al., 2016) y presentan un amplio potencial biotecnológico. Entre estos mecanismos, la producción de pigmentos destaca por sus múltiples aplicaciones industriales, ya que podrían emplearse como alternativas no tóxicas a los colorantes utilizados en la industria textil y alimentaria (Kumar S. et al., 2022). También, son potenciales para el desarrollo de medicamentos para prevenir el daño a la piel por UV, contra el cáncer, antibióticos, moléculas que prevengan el daño por el estrés oxidativo al ácido desoxirribonucleico (ADN) y agentes bloqueadores del ciclo celular (Singh y Gabani, 2011; Babu et al., 2015; Singh et al., 2011).

Investigación. Por aislamiento de las montañas, todos sus ecosistemas son laboratorios naturales para estudios de procesos evolutivos, dispersión, establecimiento y radiación (Love et al., 2023); asimismo, contribuyen a evaluar los efectos del cambio climático (Muellner et al., 2024). En forma específica, los MOA son de gran interés para la investigación sobre el origen de la vida en la Tierra y para la posible vida en otros planetas (Rampelotto, 2013).

Sin embargo, estudiar a los MOA como a otros organismos extremófilos presenta múltiples dificultades, ya que el acceso a los estos sitios que habitan suele ser remotos y las condiciones limitan la permanencia de los investigadores (Dance, 2020); así como el cultivo de los MOA *in vitro* en condiciones de laboratorio de áreas mesófilas limita la cantidad de MOA que se puedan obtener, así como su crecimiento adecuado (Rainey y Oren 2006; Schultz et al., 2023).

Planteamiento del problema

Las montañas son ecosistemas frágiles y altamente susceptibles a los cambios climáticos. Son consideradas islas biológicas y constituyen una importante fuente de organismos endémicos que crecen exclusivamente en sus laderas; en este contexto, los microorganismos de

ambientes de alta montaña (MOA) también se encuentran sujetos a estas condiciones. Debido al cambio climático y al calentamiento global, las áreas de alta montaña en todo el mundo están en riesgo, ya que se ha observado el ascenso de la línea del bosque (Jiménez et al., 2020) y de la vegetación hacia mayores altitudes, asociado a la disminución en la frecuencia de heladas anuales (Cazzola et al., 2019), así como la reducción y desaparición de glaciares (Aszalós et al., 2016; Farinotti et al., 2020).

La pérdida de glaciares contribuye a la desaparición de los microorganismos que los habitan, lo cual conduce al reemplazo de especies endémicas, así como a procesos de competencia e introducción de nuevas especies en estos ecosistemas (Isam et al., 2017). Se espera que muchos de estos sitios desaparezcan en los próximos años (Sandoval, 2020), lo que implicaría una extinción silenciosa de MOA aún desconocidos.

A pesar de que México se localiza en el trópico de Cáncer, históricamente presentó múltiples glaciares en los volcanes Iztaccíhuatl (5200 msnm), Popocatepetl (5300 msnm) y Citlaltépetl o Pico de Orizaba (5636 msnm), localizados en el Eje Neovolcánico Transversal (Arriola et al., 2014). Sin embargo, estos glaciares han desaparecido progresivamente. El volcán Iztaccíhuatl contaba en 1958 con 12 glaciares que cubrían una extensión de 1,4 km² y en 2020 se declaró extinto su último glaciar (López y Romero, 2021). El volcán Popocatepetl presentaba tres glaciares en 1964 con una extensión de 0,72 km² (Delgado, 1993); no obstante, estos comenzaron a desaparecer tras el incremento de la actividad volcánica en 1994 y se extinguieron por completo en el año 2000. Por su parte, el volcán Citlaltépetl o Pico de Orizaba presentaba en 1958 cuatro glaciares con una extensión total de 9,5 km²; para 2024 esta superficie se redujo a 0,46 km², estimándose su desaparición total para el año 2030 (Figueiras, 2024).

La desaparición de los glaciares conlleva la extinción de la microbiota asociada, ya que se ha observado un cambio en la composición microbiana, con el reemplazo de especies

endémicas. La extinción del último glaciar de México es inminente, y con ello, la pérdida irreversible de la microbiota que lo habita.

Justificación

La extinción del último glaciar de México es inminente y conlleva la pérdida irreversible de la microbiota que lo habita, incluyendo bacterias y hongos especializados en ambientes extremos. En este contexto, resulta fundamental preservar, caracterizar y evaluar la diversidad microbiana de estos ecosistemas, así como analizar la resistencia de los microorganismos de ambientes de alta montaña (MOA) asociados al glaciar frente a condiciones estresantes, como la radiación UV-C y los antibióticos.

Los MOA desempeñan un papel clave en los procesos de sucesión primaria, ya que participan como fijadores de nitrógeno, liberadores de minerales y contribuyen activamente a la pedogénesis, favoreciendo el establecimiento de comunidades biológicas posteriores. Asimismo, estos microorganismos representan un modelo de gran interés para el estudio del origen de la vida y para la investigación astrobiológica, al desarrollarse en condiciones análogas a las de ambientes extraterrestres.

Por otra parte, las múltiples adaptaciones fisiológicas y metabólicas que permiten a los MOA sobrevivir y mantener su actividad biológica bajo condiciones extremas de radiación, bajas temperaturas y limitación de nutrientes los convierten en una valiosa fuente de compuestos y mecanismos con alto potencial biotecnológico. El estudio de estos organismos es prioritario antes de que estos ecosistemas desaparezcan como consecuencia del calentamiento global, ya que albergan un importante reservorio de biodiversidad microbiana con aplicaciones potencialmente benéficas para la humanidad.

Pregunta de investigación

¿Existe microbiota en el glaciar norte del volcán Citlaltépetl que sea cultivable en condiciones *in vitro*?

Hipótesis

En el glaciar norte del volcán Citlaltépetl (Pico de Orizaba) existen microorganismos de altitud, principalmente bacterias y hongos, capaces de crecer bajo condiciones *in vitro* y que presentan adaptaciones fisiológicas y metabólicas que les permiten tolerar condiciones ambientales extremas.

Objetivo General

Analizar los microorganismos de altitud cultivables *in vitro* provenientes del glaciar norte del volcán Citlaltépetl (Pico de Orizaba), México.

Objetivos Particulares

1. Determinar las características ambientales y la carga bacteriana del sitio de muestreo en el glaciar norte del volcán Citlaltépetl (Pico de Orizaba) a 5000 msnm.
2. Aislar bacterias y hongos cultivados *in vitro* de las muestras del glaciar.
3. Caracterizar fenotípicamente y fisiológicamente a las bacterias y hongos aislados.
4. Identificar las bacterias aisladas mediante amplificación y secuenciación del gen 16S DNAr.
5. Identificar los hongos aislados mediante su morfología celular y colonial.
6. Estimar el tiempo de resistencia de las bacterias sometidas a radiación ultravioleta tipo C.
7. Evaluar el perfil de resistencia a antibióticos de los aislados bacterianos.

Métodos

La naturaleza de esta investigación es contribuir al conocimiento básico de los microorganismos de altitud del último glaciar de México; por ello, la profundidad de esta investigación es exploratoria, descriptiva y explicativa. Los datos fueron obtenidos tanto en campo como en laboratorio y son de carácter cualitativo y cuantitativo. En sí, todo este trabajo se rige por un método hipotético-deductivo, estadístico y en tiempo transversal. El trabajo siguió las normativas de trabajo en laboratorio NORM-087-ECOL-SSA-2002 para la protección ambiental, salud ambiental, residuos biológicos infecciosos, clasificación y especificaciones de manejo, y NOM-127-SSA1-2021 para agua para el uso y consumo humano.

Se incluyeron muestras de hielo a una profundidad de 20 cm; se excluyeron muestras de nieve superficial. Las variables dependientes de este trabajo fueron: las condiciones ambientales del sitio de muestreo, la carga bacteriana de la muestra, el número de aislados obtenidos (bacterias y hongos), las características fenotípicas y fisiológicas de los aislados y el tiempo de resistencia a UV-C.

Sitio de Estudio y Recolecta de Muestra

El sitio de muestreo fue en el volcán Citlaltépetl, que presenta una altitud de 5636 msnm y se localiza entre los estados de Puebla y Veracruz. El 4 de febrero de 2024 se realizó el muestreo en el glaciar de la cara norte. En este sitio se excavó en el hielo a una profundidad de 20 cm con un piolet ("*Black Diamond Raven*") aséptico con alcohol al 96°, del hielo del fondo se rellenaron tres tubos Falcon estériles de 50 ml (Calvillo et al., 2020A); también, se colocó hielo en tubos de ensayo con 10 ml de caldo lisogénico (LB) y medio de transporte Stuart (TS). Adicionalmente, en el sitio se expusieron una placa de Petri abierta con medio LB agar (LBA) y un tubo de ensayo con 5 ml de LB en dirección del viento. En el sitio se realizaron las mediciones: coordenadas, altitud y presión atmosférica con "Garmin Phenix Pro-6 solar®"; radiación ultravioleta con un medidor de radiación UV "UV340B"; y temperatura del hielo con un termómetro

digital de uso industrial, vástago de 30 cm de largo, "Agrotech Tp101", con rango de temperatura de -50 °C a +300 °C.

Las muestras se depositaron en un termo de acero inoxidable con doble pared de aislamiento térmico de 3.78L "HIKEO"; además, se colocaron en su interior 4 bolsas de gel refrigerante para mantenerlo a una temperatura de -2.0°C para su traslado al laboratorio de microbiología, biología molecular y genética de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP).

Preparación de Muestras y Aislamiento

Los tubos de ensayo con LB y medio de transporte de Stuart se incubaron a temperatura ambiente durante 4 días y posteriormente se sembraron en duplicado en placas Petri de 10 cm por estría cruzada en medios de agar LB (LBA) y agar soya tripticaseína (TSA). Luego, estos mismos tubos se colocaron en el refrigerador a 4 °C por 4 días; después, se sembraron nuevamente por duplicado en LBA y TSA. En ambas siembras, las placas se incubaron a temperatura ambiente hasta que se observaron las diferentes colonias.

Las muestras colectadas de hielo se almacenaron a - 23°C hasta su procesamiento; este consistió en descongelar las muestras a 4°C durante dos días (Calvillo et al., 2020A; Hassan et al., 2021; Liu et al., 2022). Ya descongeladas, se colocaron las tres réplicas en un matraz estéril; de esta muestra se procedió a llenar los tubos de ensayo y centrifugarlos durante 20 min a 3100 rpm en una centrífuga "Thermo Scientific Medlite". Luego, se retiró el sobrenadante de los tubos, al cual se midió el pH utilizando un potenciómetro "Conductronic pH120". Finalmente, los tubos se rellenaron con medios LB y caldo soya tripticaseína (CST), ya que estos medios facilitan el crecimiento de una amplia variedad de bacterias no exigentes y algunos no exigentes, y se incubaron a temperatura ambiente. Cuando los tubos presentaron turbidez, se sembraron en placas de Petri con medios LBA y TSA adicionados con 50 µg/ml de nistatina como antifúngico (Mandal et al., 2022). También de la muestra descongelada del hielo se determinó por duplicado

su carga bacteriana con una cámara de Neubauer “*Blaubrand*™”. Finalmente se analizaron los hongos presentes en la muestra de hielo, para ello se colocaron 100 µl de la muestra en placas de Agar Papa Dextrosa (PDA) y se sembraron por siembra masiva y se incubaron a temperatura ambiente, se separó a los hongos que crecieron en placas de individuales de PDA, se realizó la descripción macroscópica del el anverso y reverso que presentaron los hongos, así como una descripción microscópica.

De todas las placas con crecimiento se aislaron las UFCs sembrando en placas con medio del cual crecieron la primera vez. Se corroboró la pureza de cada aislado por microscopía por tinción de Gram y siembra en “*Chromagar Orientador*™” la cual sirvió solo para indicar la pureza de los aislados al presentar color homogéneo ya que no existe un medio orientador dirigido a bacterias extremófilas.

Caracterización fenotípica y fisiológica de los aislados

A todos los aislados bacterianos se caracterizaron por su morfología colonial y morfología celular microscópica (tinción de Gram y tinción negativa) así como su crecimiento en agar MacConkey. A los primeros siete aislados se les realizó conteo en placa por goteo, óptimo crecimiento bacteriano (medio de cultivo y temperatura), cinéticas de crecimiento, pruebas bioquímicas, pruebas de resistencia a radiación UV-C (20 s y curva de resistencia) y resistencia a antibióticos.

Para los aislados fúngicos se realizó la caracterización de la morfología colonial, tanto del anverso como del reverso. Asimismo, la morfología celular se determinó mediante tinción con azul de algodón, lo que permitió la observación de hifas y estructuras reproductivas. Con base en las características morfológicas coloniales y celulares, los aislados se identificaron hasta el nivel de género.

Análisis de secuencias del gen ARNr 16S

Para la identificación de los aislados primero se realizó la extracción del ADN total mediante el kit “*Wizard® Genomic DNA Purification Kit*” de Promega, las muestras de ADN fueron visualizadas en electroforesis de gel de agarosa al 1%, posteriormente se realizó la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para amplificar el gen que codifica el gen 16S ADNr de tamaño de 1500 pb. Se utilizó los Primers (Oligonucleótidos): TXBA1: 5’AGAGTTTGATCATGGCTCA3’ y TXBA 101: 5’AGGAGGTGATCCAACCGCA3’ (Pérez et al., 2014) proporcionados por la Dra. Norma Elena Rojas Ruíz. La reacción de PCR se llevó a cabo con: “Go Taq Green Master Mix, 2X” de promega (12.5 µl), el primer rioarriba 10 µM (0.5 µl), primer rioabajo 10 µM (0.5 µl), templado de ADN (1µl) y se ajustó a un volumen final de 25 µl con agua libre de nucleasas. El protocolo de amplificación fue: 94 °C por 1:30; 25 ciclos de: 94 °C por 30 s, 55 °C por 45 s, 72 °C por 2 min; y una extensión final a 72 °C por 4 min, la reacción se realizó con un termociclador “*BIO RAD T100™ Thermal Cycler*”. Para los aislados que no amplificaron con los primers TXBA1 y TXB101 se utilizó los primers universales para el gen 16S DNAr 27F: 5’AGGAGGTGATCCAACCGCA3’ y 1492R: 5’GGTTACCTTGTTACGACTT3’, para estos primers se utilizó el siguiente protocolo de amplificación: 95 °C por 3:00; 28 ciclos de: 94 °C por 30 s, 55 °C por 45 s, 72 °C por 2 min; y una extensión final a 72 °C por 10 min. Se purificó los amplicones con el “*Kit Wizard SV Gel and PCR Clean-Up System*” de Promega en agua de grado molecular libre de nucleasas. Todas las visualizaciones de ADN total y amplicones del gen 16S DNAr se realizaron en electroforesis de gel de agarosa al 1 %. Se mandó a secuenciar los amplicones al laboratorio LANGEBIO del CINESTAV-Irapuato. Para la identificación taxonómica de los aislados bacterianos se compararon las secuencias con la base de datos de nucleóticos del NCBI (GenBank) utilizando el algoritmo BLASTn.

Óptimo crecimiento y cinética de crecimiento de los aislados bacterianos

su óptimo crecimiento bacteriano por triplicado en medio líquido de LB y CST y a las temperaturas de 10°C, 20°C y 30°C (Soto y Delgado, 2020); se colocaron los aislados en incubadora con agitación “WIS-10R Witeg” a 120 revoluciones por minuto (rpm) y se midió periódicamente su densidad óptica a 600 nm ($DO_{600\text{ nm}}$) mediante un espectrofotómetro “DLAB SP-UV1000”. Los aislados se sembraron por triplicado en medio de cultivo CST y temperatura de óptimo crecimiento y se registró la $DO_{600\text{ nm}}$ durante cada hora hasta identificar la fase estacionaria (24 – 60 h). Finalmente, a los aislados se les realizaron pruebas bioquímicas de urea, proteasa, citrato, agar triple azúcar hierro (TSI), agar hierro lisina (LIA), motilidad-indol-orнитina (MIO), prueba de catalasa y oxidasa.

Pruebas de Resistencia a Radiación Ultravioleta Tipo C

Primero se determinó la Supervivencia Relativa (SR) a UV-C, para ello se estandarizaron el tiempo y condiciones de exposición de exposición UV-C con *Escherichia coli*; así mismo, esta cepa se utilizó esta cepa como control experimental. Para los experimentos se utilizó una lámpara UV-C (253.7 nm) marca “Sankyo Denki” de 20 W a 60 cm de distancia (Figura 3). Para todos los aislados incluyendo e incluyendo a la cepa control se utilizó una dosis de bacterias de 1×10^7 UFC/ml; para ello se realizó a los aislados sus conteos en placa por diluciones seriadas, cada una con tres replicas.

Para los experimentos de exposición UV-C se utilizó la metodología de prueba de resistencia a UV-B de Albarracín et al. (2014) la dosis inicial de bacterias se realizaron diluciones seriadas hasta 10^{-5} , de cada dilución se sembró 5 μ l dispensado en tres gotas sobre el agar, cada dilución se colocó de forma consiguiente hacia abajo, de forma lateral se colocaron 8 réplicas en placas de 20 cm de diámetro con TSA. Para cada cepa se realizó dos placas, una placa que sería el grupo experimental expuesta sin la tapa a la radiación UV y la otra placa sería

el grupo control la cual se expuso con la tapa de vidrio y colocada dentro de una caja de doble acetato (Figura 2). Posteriormente de la exposición UV-C las placas control y experimental se incubaron a temperatura óptima dependiendo del aislado (50C a 20°C; y los aislados 50A, 50B, 50D, 50H, 50I, 50J y la cepa *E.coli* a 30 °C) durante 1 a 3 días en oscuridad en incubadora “I - 105 Witeg”. Se determinó la supervivencia relativa (SR) mediante la relación de las UFC presentes en el grupo experimental con respecto al grupo control.

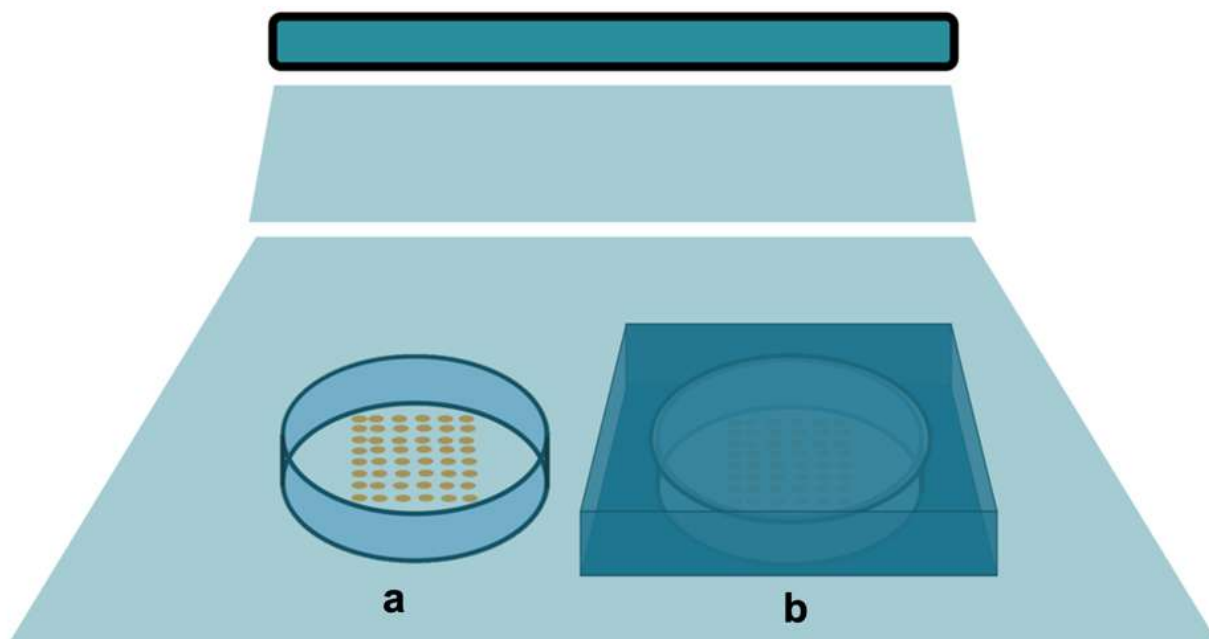


Figura 3. Representación del experimento con radiación UV-C. a) grupo experimental expuesto a radiación; b) grupo control sin exposición a radiación.

Nota: Los incisos indican lo siguiente: a) placa expuesta directamente a irradiación UV-C; b) placa recubierta con una caja de doble acetato como protección.

Se determinó el tiempo de resistencia UV-C a los siete aislados y a *E. coli* a 0, 15, 30, 45, 60, 75 y 90 segundos de exposición a UV-C (Albarracín et al., 2014). Para ello, se utilizó una dosis 1×10^7 UFC/ml para todas las cepas, y se realizaron diluciones seriadas hasta 10^{-5} , se

sembraron 5 μ l de cada dilución, desde 10^{-1} hasta 10^{-5} , en forma lateral, y las réplicas (3X) se colocaron de forma descendente. Después del tiempo de exposición a UV-C, las placas se incubaron en oscuridad a temperatura óptima durante 1 a 3 días. La supervivencia relativa (SR) de cada grupo expuesto a UV-C se determinó mediante la relación entre las UFC sobrevivientes de cada grupo expuesto y el grupo sin exposición a UV-C (0 segundos).

Pruebas de resistencia a antibióticos

Se evaluó la resistencia a los siguientes antibióticos mediante el uso de sensidiscos para bacterias Gram positivas: 30 μ l cefoxitina (FOX), 30 μ l Ceftriaxona (CRO), 30 μ l Cefaclor (CS), 5 μ l Cefixima (CFM), 30 μ l Cefuroxima (CXM), 30 μ l Cefepima (FEP), 30 μ l Cefatzidima (CAZ), 100 μ l Piperacilina (PIP), 10 μ l Ampicilina (AM), 30 μ l Aztreonam (ATM), 10 μ l Meropenem (MEM), 10 μ l Ertapenem (ETP), 10 μ l Imipenem (IPM), 2 μ l Clindamicina (CC), 10 μ l Tobramicina (NN), 30 μ l Neomicina (N), 15 μ l Eritromicina (E), 5 μ l Levofloxacina (LVX), 200 μ l Fosfomicina (FOS).

Se utilizó el método de Kirby-Bauer, se sembró en placa 100 μ l con una dosis de bacterias de 1×10^7 UFC/ml en placas de 20 cm con el medio Müller Hinton. La clasificación los halos de inhibición se efectuó con base en los valores de referencia establecidos para cada antibiótico considerando los estándares definidos para Enterobacterias, *Staphylococcus* sp., *S. aureus*, *Echerichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Haemophilus influenzae*.

Análisis Estadísticos

Para determinar si las cepas obtenidas difieren de la cepa control (*E. coli*), se utilizó el análisis de ANOVA One-Way on Ranks. Para identificar cuáles aislados fueron significativamente diferentes de la cepa control, se realizaron las pruebas de comparaciones múltiples de Dunn. Todos análisis estadísticos se realizaron utilizando el software estadístico NCSS, y se utilizó Python 3.13.0 para elaborar los gráficos.

Resultados y Discusión

Sitio de colecta y parámetros descripción del sitio

El 4 de febrero del 2024 se realizó el muestreo en la base del glaciar del volcán Citlaltépetl en las coordenadas 19° 02.40 Norte; 97° 16.29 Oeste a una altitud de 5066 msnm, ese día se reportaron condiciones extremas del viento de 90-100 km por hora. El sitio presentó una presión atmosférica de 1042 hPa, una radiación ultravioleta de 4016 Jm²; y a 20 cm de profundidad el hielo presentó una temperatura de - 2.6 °C (Figura 4)., y un pH de 7.8 medido en el laboratorio con un potenciómetro “*CONDUCTRONIC pH120*”

La radiación UV-B medida en el sitio de muestreo durante el invierno fue mayor a la radiación diaria acumulada en el verano, registrada por Castanedo et al. (2003) que fue de 7000 Jm². Mientras que Castanedo et al. (2012) registraron que el tiempo de exposición solar en México para causar quemaduras solares va de 22-60 min en una dosis de 35 a 92 mJ/cm³. Por otro lado, Fernández et al. (2006) registraron una radiación UV-B de 3,931 Jm² a 4500 msnm en el desierto de Atacama localizado en el trópico de Capricornio, estos fueron resultados aproximados a lo registrado en este estudio.

En el caso del pH de las muestras tiende a ser un neutro (pH = 7.8), se ha observado que el pH puede variar en los glaciares del Himalaya, Kumar V. et al. (2022) reportan un pH = 4.26 a 4200 msnm, mientras que Ali et al. (2019) reportaron un pH = 8.0 a 5049 msnm en los Himalayas. Esto parece indicar que la altitud puede modificar el pH del hielo; sin embargo, no concluyente ya que podría haber otras variables que influyen en el pH como la temporada, cercanía a las urbes, ubicación en el globo terráqueo o tipo de suelo y baja actividad biológica lo cual es disminuye con la altitud (Margesin et al., 2009; Aszalos et al., 2016; Kuma et al. 2019).



Figura 4. Sitio de muestreo en el glaciar de la cara norte del volcán Citlaltépetl 4 de febrero 2024. Los incisos indican: A) Localización del sitio de muestreo en la base del glaciar en rojo con símbolo de alto, en línea roja el trayecto con el número 1 que representa el kilómetro recorrido y en verde el inicio de trayecto; B) sitio de muestreo y medición de datos; C) medición de temperatura.

Carga bacteriana

La carga bacteriana del glaciar a una altitud de 5066 msnm fue de 2.1×10^5 UFC/ml, la carga bacteriana del suelo de montañas es mayor a lo registrado en este estudio con 4.0×10^6 UFC/g (Ali et al., 2019) y volcanes con 4.7×10^7 UFC/g (Margesin et al., 2009); mientras que otros glaciares la carga bacteriana fue menor a lo registrado en este estudio; sin embargo, las muestras de esos estudios las muestras del glaciar fueron tomadas a una mayor altitud: 0.71×10^3

UFC/ml a 6250 msnm (Zhang et al., 2008); 4.6×10^4 UFC/ml a 5970 msnm (Zhang et al., 2006); 2.0×10^3 UFC/ml a 6518 msnm (Zhang et al., 2010); 3.3×10^3 a 5,481 msnm (Ali et al., 2019). En caso contrario Ball et al. (2014) registraron una carga bacteriana $> 10^6$ UFC/ml a una altitud de 4900 msnm, por lo que parece que la altitud influye en la carga bacteriana. Esta baja carga bacteriana en el glaciar se ve reflejada por el pH alcalino registrado (pH=7.8), la baja actividad biológica implica una menor producción de ácidos orgánicos y menor acumulación CO_2 que se convierten en ácido carbónico.

Otro factor que puede influir en la carga bacteriana es la pendiente, siendo la mayor carga bacteriana en la pendiente con mayor exposición solar (Margesin et al., 2009); existe una variación en la carga bacteriana con respecto a la profundidad; sin embargo, se debe a procesos climáticos de cada época que reflejan los ambientes ecológicos en los glaciares durante épocas pasadas (Zhang et al., 2006; Zhang et al., 2008; Zhang et al., 2010). También el viento influye en la carga bacteriana, Chuvichina et al. (2011) encontraron que la arena del desierto del Sahara puede ser transportadas por el aire hasta el “El monte Blanco” en la cordillera de los Alpes.

Microorganismos asilados del hielo

Se obtuvieron 8 aislados de fúngicos y 14 aislados bacterianos, los cuales mostraron una amplia diversidad tanto en su morfología colonial y celular (Figura 5, 6, 7 y 8; Tabla 1; Anexo 1 y 2). Se ha registrado que existe pocas bacterias cultivables *in vitro*, Zhang et al. (2010) registraron el 1%; mientras que Zhang et al. (2008) proponen una viabilidad de celular del 31 %.

En cuanto a su morfología colonial, se observaron variaciones en la coloración, lo que indica la presencia de pigmentos en la mayoría de los aislados, tanto de las bacterias como de los fúngicos. Asimismo, se registraron diferencias en el tamaño, el borde y la textura de las colonias lo que evidencia la heterogeneidad de los microorganismos de altitud aislados del glaciar norte del volcán Citlaltépetl.

Identificación de los aislados fúngicos

Los ocho aislados fúngicos obtenidos pertenecen al filo Ascomycota (figura 5, 6, 7). Dentro de este filo, se identificaron tres clases principales: Euromycetes con tres aislados (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus* y *Penicillium* sp.); Sordariomycetes, también con tres aislados (*Acremonium* sp., *Scopulariopsis* sp. y *Neurospora* sp.); y Dothideomycetes con dos aislados (*Alternaria* sp. y *Cladosporium* sp). La dominancia el filo Ascomycota concuerda con lo reportado por Calvillo et al. (2020A) en los glaciares del Iztaccíhuatl y Pico de Orizaba, registraron la presencia de los géneros *Cladosporium* sp., *Alternaria* sp., *Penicillium* sp., *Curvolaria* sp., *Arthrium* sp y *Mucor* sp., siendo los primeros cinco pertenecientes al filo Ascomycota y *Mucor* sp. al filo Zygomycota.

En el glaciar de “la Panza” y “El Pecho” del Iztaccíhuatl (aproximadamente a los 5000 msnm), Calvillo et al. (2020A) reportaron hongos pertenecientes al filo Ascomycota, como *Cladosporium* sp. (Clase Dothideomycetes) y *Penicillium* sp. (Clase Euromycetes). En contraste, en el glaciar norte del Pico de Orizaba, Calvillo et al. (2020A) observaron que la mayor abundancia y dominancia de aislados pertenecientes al filo Ascomycota fue entre los 5000 y 5300 msnm; mientras que, a los 5636 msnm, correspondientes a la cumbre desprovista de hielo permanente, únicamente se obtuvo un aislado perteneciente al filo Zygomycota.

Este patrón coincide con los resultados del presente estudio, realizado a 5066 msnm, donde todos los aislados corresponden al filo Ascomycota. Se ha documentado la dominancia de Ascomycota en glaciares de los Himalayas (Dhume et al., 2022; Ma et al., 2025), Karakorum (Hassan et al., 2017; Rafiq et al., 2019), en la Patagonia (Duo et al., 2018), así como en el monte Kenia en África (Okello et al., 2024).

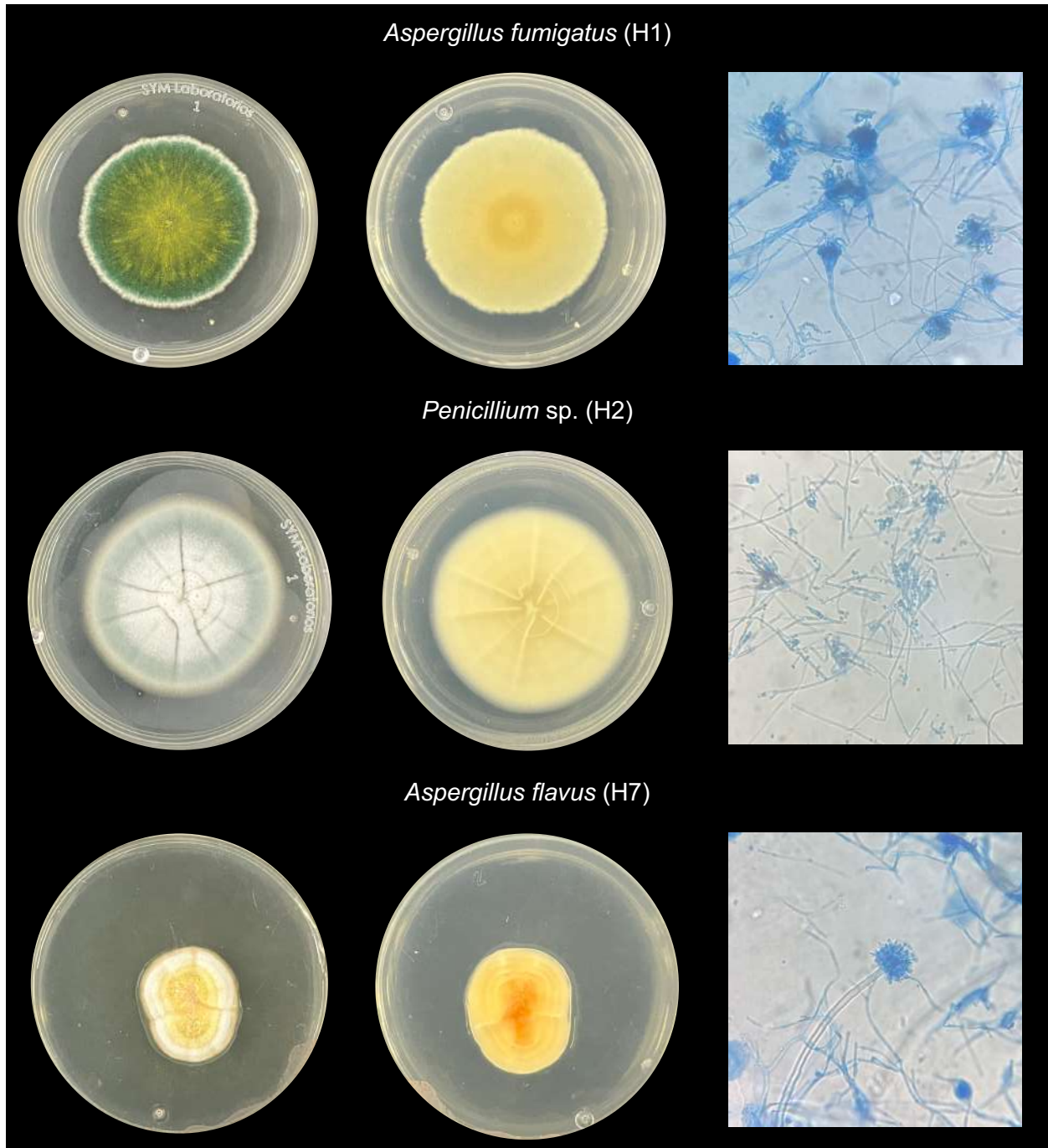


Figura 5. Fotografías del anverso, reverso y microscópica a 40X con azul de algodón de los aislados de la clase Euromycetes.

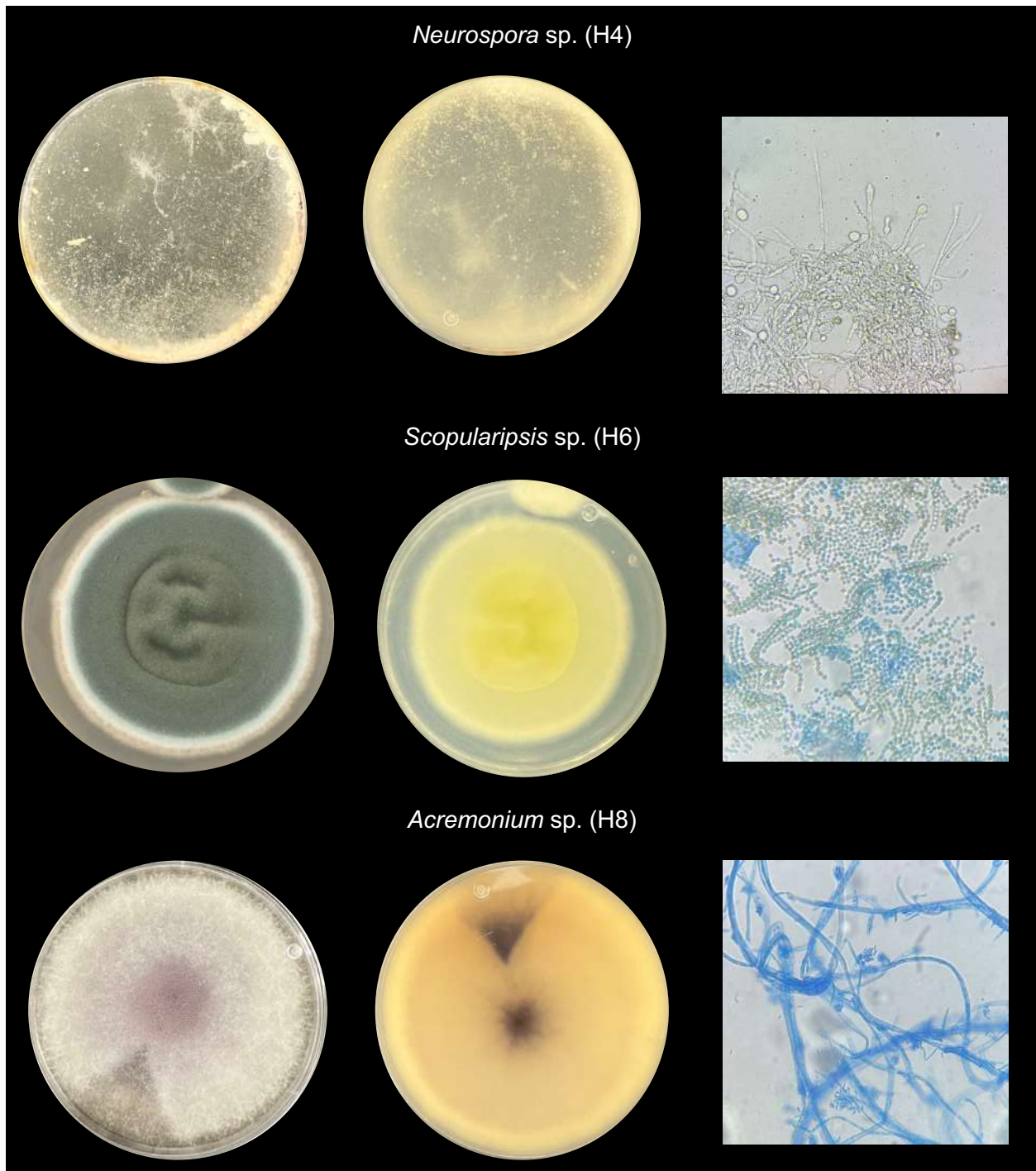


Figura 6. Fotografías del anverso, reverso y microscópica a 40X con azul de algodón de los aislados de la clase Sordariomycetes. *Neurospora sp.* se encuentra sin tinción.

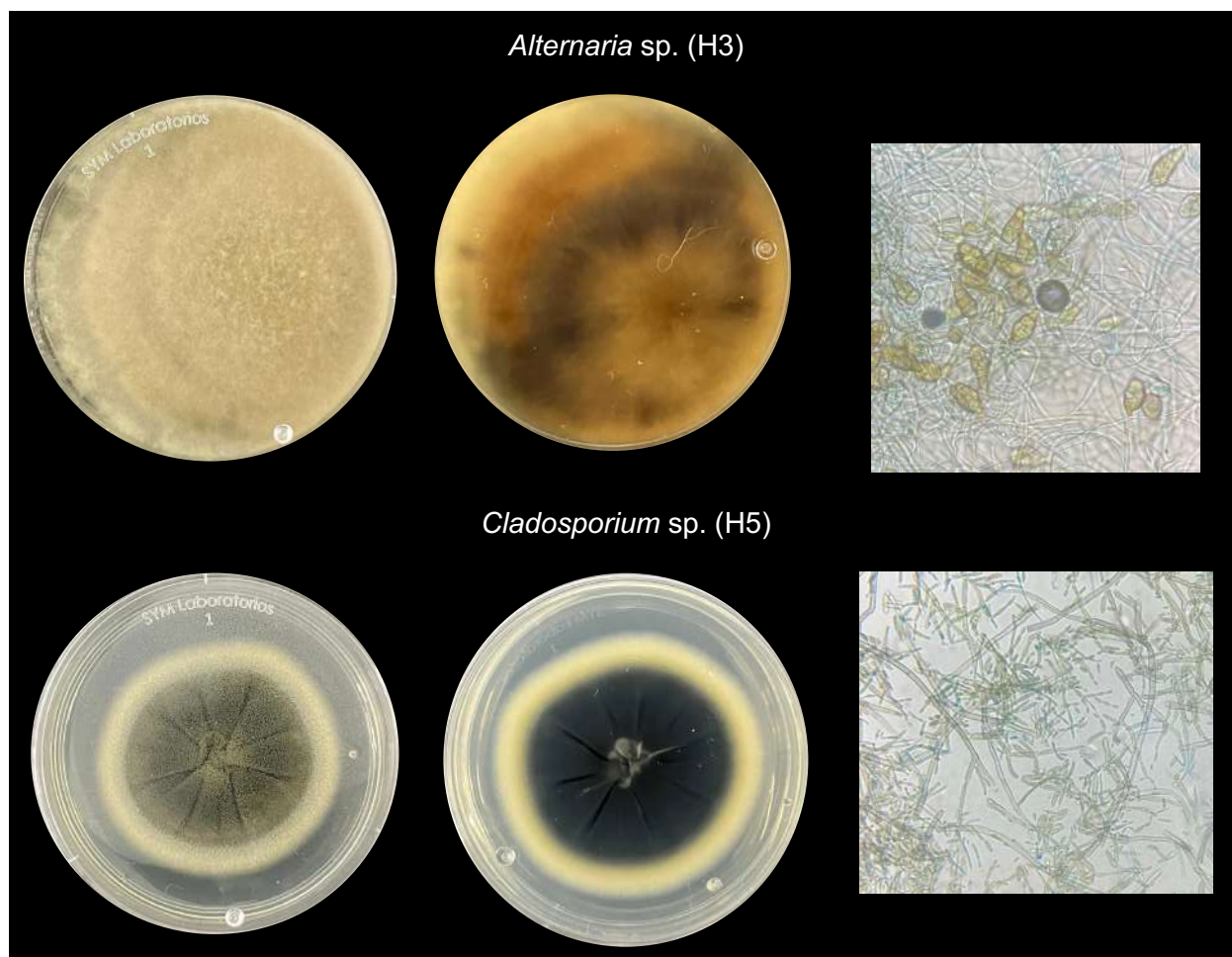


Figura 7. Fotografías del anverso, reverso y microscópica a 40X con azul de algodón de los aislados de la clase Dothideomycetes.

Identificación bacteriana por el gen 16S DNAr

Los aislados bacterianos cultivables se distribuyeron de la siguiente manera: 7 pertenecen al filo Bacillota (*Bacillus cereus/thuringensis*, *Bacillus subtilis*, *Paenibacillus polymoxya*, *Paenibacillus tundrae*, *Planococcus chinensis*, *Solibacillus silverentris*, *Staphylococcus epidermidis*), 6 al filo Actinomycetota (*Agrococcus citreus*, *Crystallibacter crystallopoites*, *Janibacter melonis*, *Microbacterium schleiferi*, *Micrococcus luteus*, y

Rhodococcus quinshengii/erythropolis, y solo una al filo Pseudomonadota (*Pseudomonas silesiensis*) (Figura 8 y Tabla 1).

Por el contrario, Calvillo et al. (2019) reportaron que, en tres zonas ubicadas a más de 5000 msnm (Monte de Venus, Glaciar de la Panza y Glaciar del Pecho) en el Iztaccíhuatl, los filos más abundantes fueron Pseudomonadota (31 – 93 %), Actinomycetota (6 – 15%) y Bacteroidetes (1 – 17 %); mientras que Bacillota representó solo el 2 % del glaciar del Pecho. Esto se ha observado también en glaciares, en los Alpes a 2500 msnm (Simon et al., 2009), en el glaciar de Rongbuk en los Himalayas a 6518 msnm (Zhang S. et al., 2008), en los glaciares de Gangotri y Kandakhal en ellos Himalayas a 3415 msnm (Kumar S. et al., 2019), y en el glaciar del Humbolt en los Andes (Ball et al., 2014). Sin embargo, en todos esto estudios reportaron la presencia de los filos Actinomycetota y Bacillota. Estos estudios reflejan variación en la composición de las comunidades bacteriana en los glaciares de altitud.

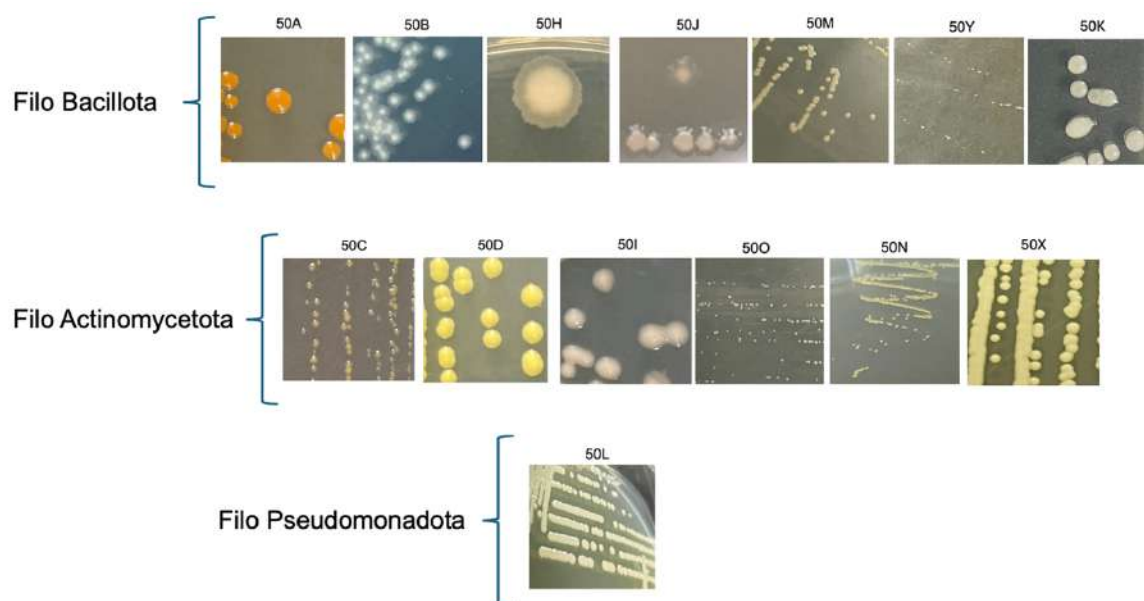


Figura 8. Aislados provenientes del glaciar en la cara norte del volcán Citlaltépetl, agrupados por filos.

Tabla 1. Identificación molecular de los aislados bacterianos a partir del gen 16S DNAr mediante el algoritmo BKASTn (NVBI)

Aislado	Identificación por 16S ADNr	Siguiente pariente según la alineación de GenBank	Homología de secuencia (%)	Morfología celular
Filo Bacillota (Firmicutes); Clase Bacilli (Gram positivas)				
50A	<i>Planococcus</i> sp.	<i>P. chinensis</i>	100.00	Cocos
50B	<i>Bacillus</i> sp.	<i>B. cereus/thuringensis</i>	100.00	Bacilos
50J	<i>Paenibacillus</i> sp.	<i>P. polymyxa</i>	100.00	Bacilos
50H	<i>Paenibacillus</i> sp.	<i>P. tundrae</i>	98.47	Bacilos
50K	<i>Bacillus</i> sp.	<i>B. subtilis</i>	99.18	Bacilos
50M	<i>Solibacillum</i> sp.	<i>S. silverentris</i>	99.02	Bacilos
50Y	<i>Staphylococcus</i> sp.	<i>S. epidermidis</i>	100.00	Cocos
Filo Actinomycetota (Actinobacteria); Clase Actinomycetia (Gram positivas)				
50X	<i>Janibacter</i> sp.	<i>J. melonis</i>	100.00	Bacilos/cocos
50N	<i>Microbacterium</i> sp.	<i>M. shleiferi</i>	100.00	Bacilos
50O	<i>Crystallibacter</i> sp.	<i>C. crystallopoites</i>	99.87	Bacilos/Cocos
50C	<i>Agrococcus</i> sp.	<i>A. citreus</i>	100.00	Cocos
50D	<i>Micrococcus</i> sp.	<i>M. luteus</i>	98.32	Cocos
50I	<i>Rhodococcus</i> sp.	<i>R. quingshengii</i>	96.29	Bacilos
Filo Pseudomonadota (Proteobacteria); Clase γ-Proteobacteria (Gram Negativas)				
50L	<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>P. silesiensis</i>	100.00	Bacilos

Caracterización fenotípica y fisiológica bacteriana

Se encontró que la mayoría de los aislados son grampositivos, ya que pertenecen a los filos Bacillota y Actinomycetota, mientras que solo un aislado fue gramnegativo, perteneciente al

filo Pseudomonadota (50L, el único que creció en medio MacConkey). Estos resultados son similares a lo reportado por Insam et al. (2017) en el Iztaccíhuatl, quienes, mediante el análisis de ácidos grasos fosfolipídicos (PLFA) observaron un predominio de bacterias Gram positivas (Bacillota y Actinomycetota), mientras que las bacterias Gram negativas (Pseudomonadota) representaron apenas un tercio de la comunidad microbiana a una altitud máxima de 4951 msnm en la lengua del glaciar Ayoloco. Estos resultados concuerdan con otros glaciares, donde los filos Actinomycetota y Bacillota fueron más abundantes en otros glaciares de roca en los Himalayas (Zhang X. et al., 2006; Lee et al., 2009; Zhang S. et al., 2010), en el Karakorum (Ali P. et al., 2021), en el Kunlun (Ali B. et al., 2019), y en los Alpes (Lee et al., 2011).

Asimismo, Dib et al. (2008) reportaron abundancia de bacterias grampositivas en humedales de altitud, sugiriendo que la estructura de su pared celular (particularmente la capa gruesa de peptidoglucano) podría conferirles una mayor resistencia frente a la radiación ultravioleta y otras condiciones extremas propias de estos ambientes.

Por otra parte, Calvillo et al. (2019) encontraron mayormente bacterias gramnegativas (Pseudomonadota) en el glaciar de “La Panza” y el glaciar de “El Pecho” en el Iztaccíhuatl. Ante estos cambios de poblaciones bacterianas, Insam et al. (2017) proponen que tras la pérdida o retracción de los glaciares se dejan nuevas áreas expuestas con propiedades fisicoquímicas muy distintas a las previas, lo que influye en la sucesión microbiana, como las bacterias pertenecientes al filo Pseudomonadota (gramnegativas). Además, Insam et al. (2017) reportaron que en zonas de menor altitud predomina la abundancia de bacterias gramnegativas, la cual disminuye progresivamente con el incremento altitudinal. En concordancia, Yang et al. (2023) indican que el filo *Pseudomonadota* se comporta como invasivo en estos ecosistemas, evidenciando un proceso de cambio en la microbiota. Este cambio en comunidades se refleja en los resultados de Insam et al. (2017), ya que tres años después se declaró extinto el glaciar de Ayoloco en el Iztaccíhuatl, en comparación el glaciar norte del Pico de Orizaba continua activo y

a pesar de estar en reducción aún persiste el equilibrio de la tasa de acumulación y descongelación (Carrillo et al., 2025; Soto et al., 2025)

Se obtuvieron 14 aislados con morfología colonial variada, pigmentados y no pigmentados (Figura 5 y 6), resaltando que todas las cepas presentaron consistencia mucoide (Anexo 2), 10 aislados se obtuvieron de las muestras del hielo (50H, 50I, 50J, 50K, 50L, 50M, 50N, 50O, 50X y 50Y) y 4 aislados de los medios de transporte en LB y ST (50A, 50B, 50C y 50D), siendo 4 aislados de medio ST (50A, 50B, 50C y 50D), y uno muy abundante del medio LB (50B). En cuanto a la temperatura de incubación de las muestras se obtuvieron 4 aislados por la temperatura ambiente (50B, 50C, 50H y 50I) y 4 aislados a 4°C (50A, 50B, 50D, 50J), siendo el aislado 50B presente en ambas. Los aislados 50G, 50K, 50L, 50M, 50N, 50O, 50Y y 50X fueron obtenidos después incubadas a temperatura ambiente.

La proporción de cepas pigmentadas ha sido similar en otros glaciares de montaña, como en el Karakórum (Kumar V. et al., 2022; Hassan et al., 2022), los Andes (Ordoñez et al., 2009), el Himalaya (Ali et al., 2019; Zhang et al., 2010) e incluso en regiones similares como la Antártida (Coppola et al., 2023; Hirsch et al., 2004).

Los pigmentos pueden funcionar como una estrategia de protección ante múltiples condiciones estresantes, estos pueden presentar actividades antioxidantes que contrarresten las especies reactivas de oxígeno (ROS) producidas por las condiciones adversas (Pan et al., 2021). En organismos termófilos, Mandelli et al. (2017) y Esteves et al. (2019) identificaron que hay cambios en la concentración de metabolitos antioxidantes cuando aumenta la temperatura. La consistencia mucoide es un indicativo de que estas cepas presentan exopolisacáridos en su cápsula que les contribuyen a sobrevivir a las condiciones adversas (Kumar et al., 2022; Li et al., 2022); además, les permite facilitar la adhesión a superficies y la formación de biofilm (Wilson et al., 2017; Gao et al., 2024). Estos exopolisacáridos brindan protección al permitirles retener

nutrientes y agua, además de funcionar como un reservorio de polímeros y una estrategia crioprotectora para la supervivencia (Nicolaus et al., 2011).

Cuando se sembraron los aislados en “*Chromagar Orientador*™” crecieron los aislados 50A y 50D, no presentaron un cambio de color. Por otra parte, los aislados 50B, 50D, 50H, 50I y 50J cambiaron de sus tonos (Anexo 3). Este cultivo fue indicador de que los aislados están puros, ya que no presentaron colonias con otros tonos diferentes.

Todos los aislados presentan la enzima catalasa (Anexo 3) que es una enzima eficiente ante la respuesta al estrés oxidativo producido por las condiciones adversas (Pan et al., 2021). Margesin et al. (2009) analizaron la actividad de la enzima deshidrogenasa en bacterias de diferentes altitudes; encontraron que su actividad disminuye con la altitud; sin embargo, están adaptadas a condiciones frías. Por lo que es probable que la enzima catalasa de estos aislados presente cualidades similares. Los aislados obtenidos (50A, 50C, 50D, 50H, 50I y 50J) no tienen la capacidad de hidrolizar la urea, degradar el triptófano en indol, desaminar y descarboxilar la lisina, producir sulfuro de hidrógeno, fermentar carbohidratos (glucosa, sacarosa o lactosa), producir sulfuro de hierro, producir ácido sulfhídrico, producir gas ni metabolizar el citrato (Anexo 3).

En el caso del aislado 50B, fue el único que dio prueba positiva para oxidasa, movilidad y proteasa de caseína. En el caso de la proteasa, Lee et al. (2011) identificaron una relación entre las bacterias proteasa positivas y los sitios con alta actividad humana en los glaciares alpinos, como *Arthrobacter* sp., *Rhodococcus qingshengii*, *Mucilaginibacter* sp., *Pedobacter cryoconitis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Carnobacterium maltaromaticum*, *Sphingomonas* sp., *Janthinobacterium lividum*, *Pseudomonas* sp., y las familias Oxalobacteraceae, Enterobacteriaceae. En este caso, este aislado podría ser introducido por la actividad humana, ya que el turismo que se realiza cerca del sitio de muestreo es frecuente.

Todos los aislados presentaron un mejor crecimiento en el medio caldo de soya tripticaseína (CST) que en Luria-Bertani (LB). Se han empleado diversos medios de cultivo para la obtención de microorganismos de los glaciares, siendo el medio LB uno de los más utilizados (Fernández et al., 2006; Albarracín et al., 2012; Albarracín et al., 2014; Paulino et al., 2012; Rasuk et al., 2017; Mandal et al., 2022). En contraste, el medio de caldo de soya tripticaseína (CST) ha sido menos frecuente en estos estudios (Marizcurrena et al., 2018). Ambos medios son similares en la concentración de NaCl y en la fuente de carbono (CST: peptona de soya; LB: peptona de caseína); sin embargo, la diferencia está en la fuente de nitrógeno: el extracto de levadura proporciona proteínas y aminoácidos, mientras que en el CST se utiliza caseína y triptona. El extracto de levadura contiene otras moléculas (factores de crecimiento o vitaminas) que pueden intervenir en el metabolismo bacteriano.

En cuanto a la óptima temperatura de crecimiento en los aislados 50A, 50B, 50D, 50H, 50I y 50J, fue a 30 °C. Se ha observado que los microorganismos en los glaciares de alta montaña crecen a diferentes temperaturas, desde 0 °C hasta 30 °C (Albarracín et al., 2012; Paulino et al., 2012; Kumar S. et al., 2022). Lee et al. (2011) encontraron una relación con bacterias que crecen a 37 °C en los sitios con alta actividad humana en los Alpes; aun así, también encontraron bacterias que crecen a esta temperatura en zonas prístinas, aunque en menor abundancia. Lee *et al.* (2011) definen como psicrófilas a las bacterias que no crecen a temperaturas superiores a 20 °C, lo que podría aplicarse a la cepa 50C, que presenta un rango de crecimiento estricto a esta temperatura. Sin embargo, sería necesario evaluar su capacidad de crecimiento a temperaturas aun más bajas.

Las cinéticas de crecimiento fueron variadas pero en general de lento crecimiento, la cinética de crecimiento de los aislados 50D, 50H y 50I (Figura 9) fue lento, alcanzaron su fase estacionaria después de la hora 20; para los aislados 50A y 50J (Figura 9) fueron similares llegando a su fase estacionaria después de la hora 10; en extremos el aislado 50B (Figura 9),

fue el que presentó una cinética rápida, alcanzando la fase estacionaria en la hora 10; mientras que, el aislado 50C (Figura 9) fue el más lento, alcanzando la fase estacionaria a la hora 55.

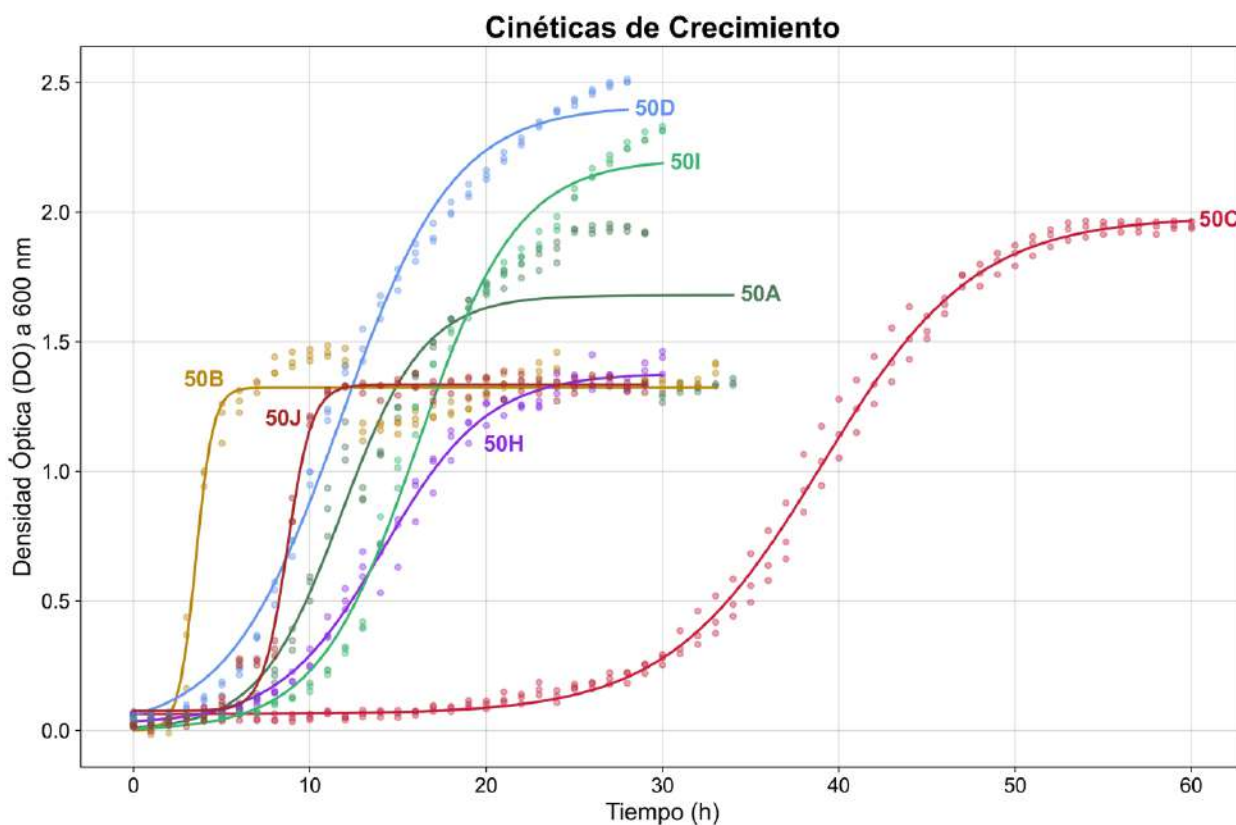


Figura 9. Cinéticas de crecimiento de los aislados 50A, 50B, 50C, 50D, 50H, 50I y 50J. Estos aislados presentan una cinética similar; los aislados 50D, 50H y 50I presentan una fase de latencia de 6 a 7 h; alcanzan su fase estacionaria después de las 20 h. Los aislados 50A y 50J presentan una fase de latencia de 4-5 h, fase exponencial de 7-9 h, alcanzando su fase estacionaria de las 10 a las 14 h. El aislado 50B fue el más rápido, alcanzando su fase estacionaria a la hora 7; mientras que el aislado 50C la alcanzó en la hora 55. En el eje y la densidad óptica (DO) a 600 nm y en eje x las horas, los puntos representan las tres réplicas y en línea representa el ajuste.

Tiempo de supervivencia relativa bacteriana a UV-C.

Todos los aislados provenientes del glaciar del Pico de Orizaba sobrevivieron a 20 segundos de exposición a la radiación UV-C. Los aislados con mayor supervivencia relativa (SR) fueron: 50B (0.61 ± 0.45 SR), 50C (0.88 ± 0.14 SR), 50D (0.76 ± 0.29 SR) y 50I (0.83 ± 0.15 SR); mientras que, los aislados 50A (0.32 ± 0.07 SR), 50H (0.24 ± 0.13 SR) y 50J (0.36 ± 0.25 SR) presentaron una menor SR, pero aún superior a la SR de la cepa control *Escherichia coli* (0.17 ± 0.02 SR). Los aislados 50B, 50C, 50D, 50I y 50J presentaron diferencias significativas en comparación con *E. coli* ($P > 0.001$), mientras que la SR de las cepas 50A, 50H y 50J ($P < 0.001$) no presentó diferencias significativas respecto a *E. coli* (Figura 10).

De los aislados con mayor supervivencia relativa, tres fueron pigmentados (50C: amarillo fluorescente; 50D: amarillo pálido; y 50I: crema claro) y uno no (50B: blanca). Las condiciones a alta radiación UV-B generadas por la altitud confiere a las bacterias características que les permiten tolerar a la radiación UV mediante mecanismos de reparación de ADN, presencia de pigmentos y exopolisacáridos (Kumar V. et al., 2022), se ha observado de manera similar en glaciares de roca de alta montaña (Zhang et al., 2010; Kumar S. et al., 2022) como lagos de altura (Fernández et al., 2006; Ordoñez et al., 2009; Albarracín et al., 2012; Rasuk et al., 2017; Zannier et al., 2022), desiertos de altitud (Paulino et al., 2012); humedales de altura (Pérez et al., 2017); también se ha observado resistencia a UV en sitios con alta exposición solar como la Antártida (Hirsch et al., 2004; Marizcurrena et al., 2018; Coppola et al., 2023) o en el Ártico (Mandal et al., 2022), aunque en estos últimos sitios la altitud no es elevada, el efecto de albedo y la larga exposición solar durante medio año han favorecido el desarrollo de organismos tolerantes a UV-B o UV-C.

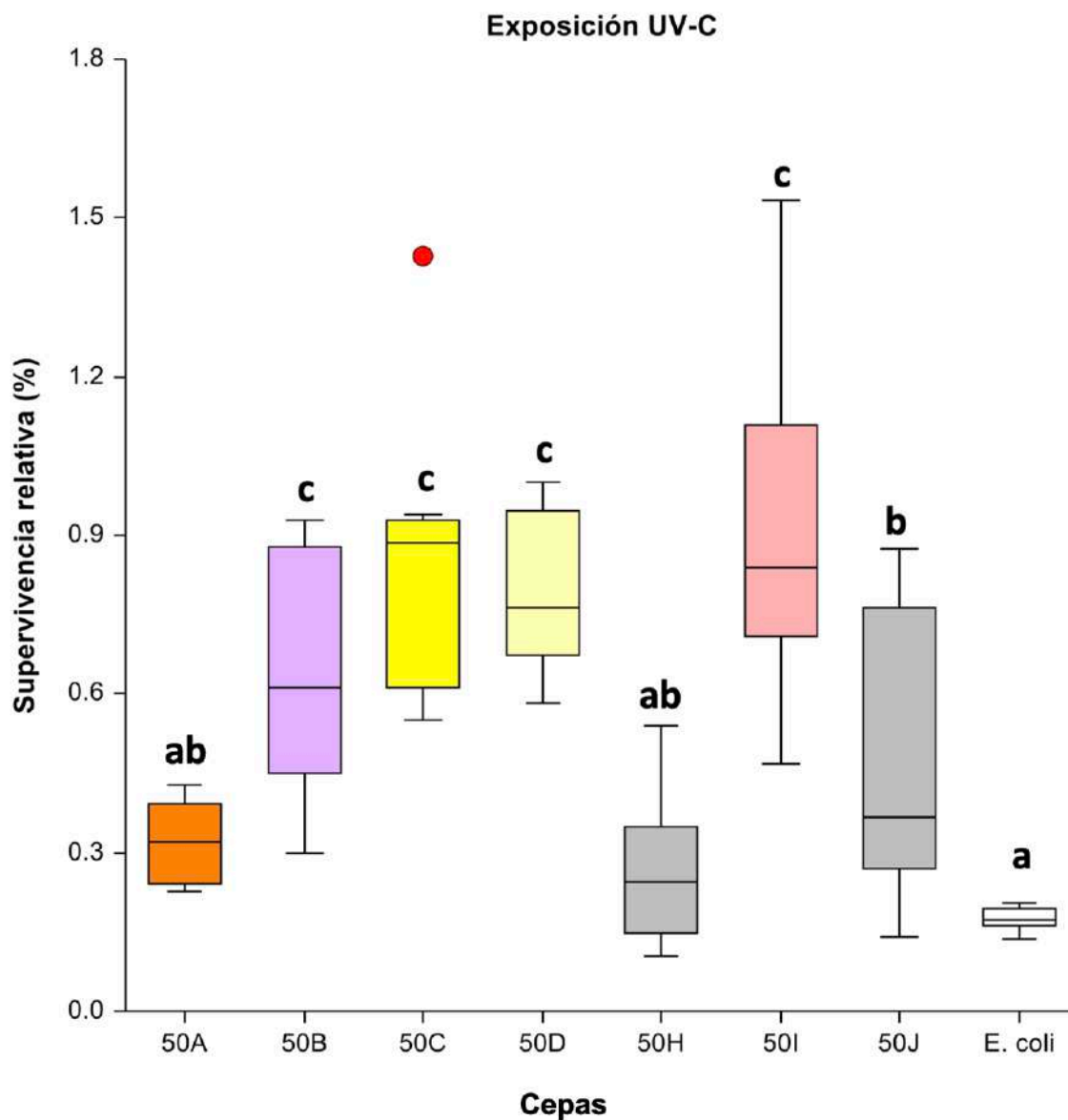


Figura 10. Supervivencia relativa de las cepas obtenidas a 20 s de radiación UV-C. En el eje y se muestra el porcentaje de supervivencia relativa (SR) a 20 s de exposición UV-C; y en el eje x se encuentran los aislados del glaciar (50A, 50B, 50C, 50D, 50H, 50I y 50J) y la cepa control (*Escherichia coli*) expuestos. Las letras diferentes indican diferencias significativas entre ellas. Las letras compartidas entre dos grupos indican similitud en su SR.

En el análisis se observó que la cepa de control *E. coli* no creció después de 60 s de irradiación UV-C; en contraste, los aislados provenientes del glaciar sobrevivieron más de 90 s de exposición a UV-C (Figuras 11 y 12). Se encontró que los aislados con mayor resistencia fueron los *Micrococcus* sp. (50D) y *Agrococcus* sp. (50C), ambos pigmentados de tonos amarillos y pertenecientes al filo Actinomycetota. El aislado *Paenibacillus tundrae* (50H), en tercer lugar, no es pigmentado, aunque decrece en los primeros 30 s; posteriormente se estabiliza y decae a los 75 s, manteniéndose así hasta los 90 s. Esto podría indicar que hay otros mecanismos de resistencia ocurriendo. El aislado *Planococcus* sp. (50A) con pigmento de color naranja muestra un decrecimiento de SR entre 30 y 60 s, pero después su SR se mantiene. En quinto lugar, el aislado *Bacillus* sp. (50B), y en sexta posición el aislado *Paenibacillus polymyxa* (50J), ambos no pigmentos. Finalmente, el aislado *Rhodococcus* sp. (50I), aunque presentó una mayor SR a 20 s de exposición, en las pruebas de resistencia decae a los 45 s (Figuras 11 y 12). En general, se puede observar que a mayor exposición a UV-C decrecen las UFC; sin embargo, es notorio que los aislados obtenidos del glaciar del Pico de Orizaba soportan más la radiación que *E. coli*.

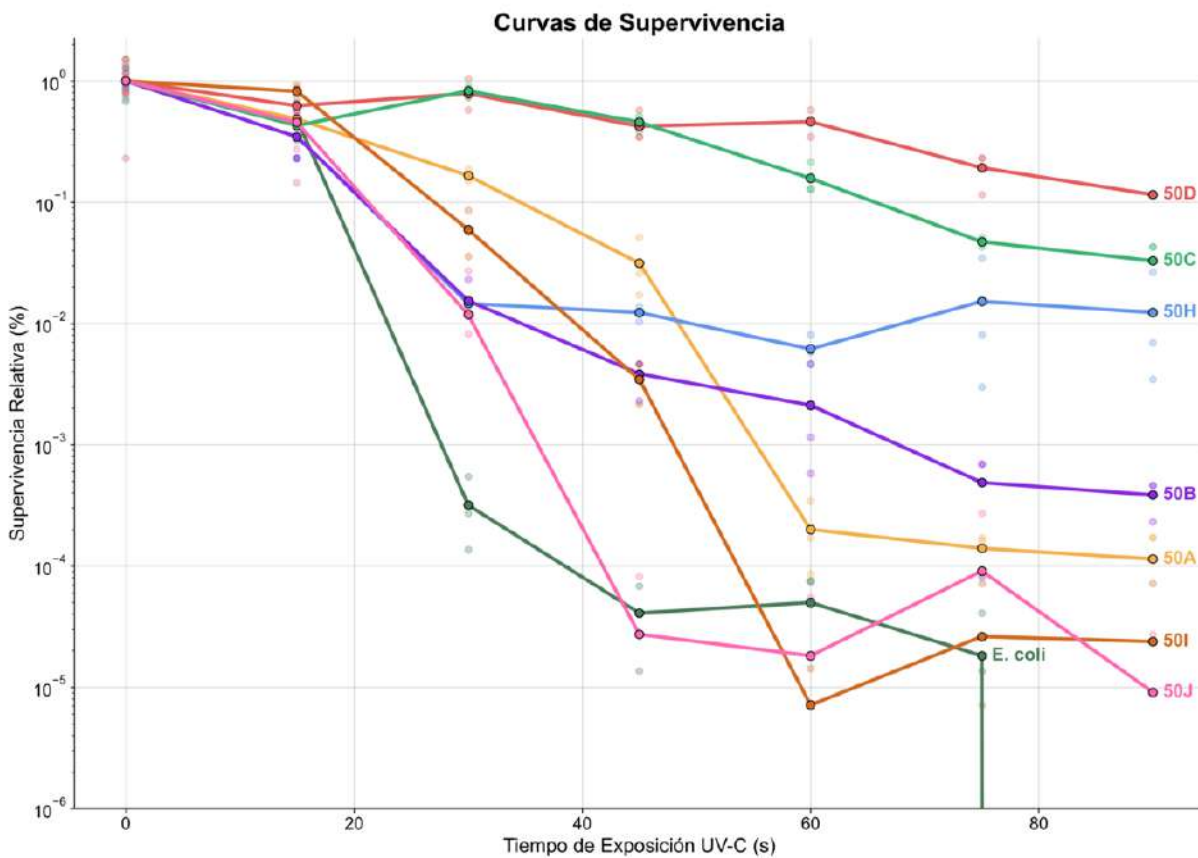


Figura 11. Pruebas de resistencia a UV-C de los aislados obtenidos del glaciar (50A, 50B, 50C, 50D, 50H, 50I y 50J) la cepa control (*E. coli*). En el eje y se representa el porcentaje de supervivencia relativa (SR) y en el eje x el tiempo de exposición a la radiación UV-C en segundos (0, 15, 30, 45, 60, 75 y 90 s). Cada punto representa el promedio, mientras que en tonos tenues los datos de las supervivencias relativas de las tres réplicas (3X). En rojo 50D, verde claro 50C, azul 50H, morado 50B, amarillos 50A, café 50I, rosa 50J y verde oscuro *E. coli*.

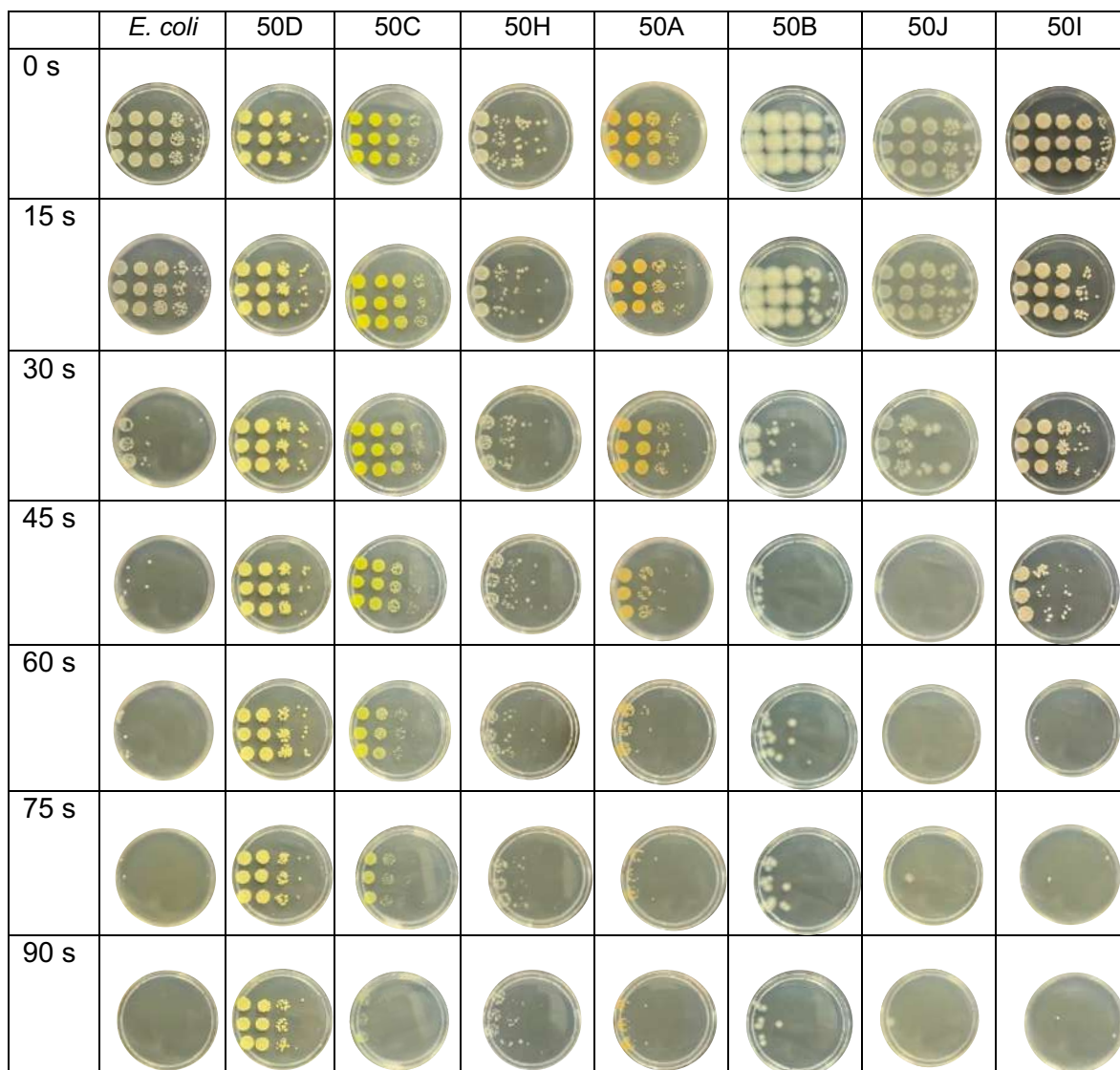


Figura 12. Tiempo de explosión a UV-C de los aislados. E en el eje X el tiempo de exposición y en el eje Y las cepas. En la primera columna (izquierda) se muestra el tiempo de exposición a la radiación UV-C en segundos (s) y en la primera fila (superior) se encuentran las cepas expuestas. Las imágenes empiezan con la cepa control (*Escherichia coli*), seguidas por las cepas del glaciar, las cuales están dispuestas de mayor a menor resistencia a la radiación UV-C (de izquierda a derecha).

El pigmento de las cepas es un factor involucrado en la supervivencia ante la radiación UV-B o UV-C (Hirsch et al., 2004; Ordóñez et al., 2009; Zhang et al., 2010; Paulino et al., 2012; Marizcurrena et al., 2018; Pérez et al., 2017; Mandal et al., 2022; Coppola et al., 2023; Zannier et al., 2022). Los pigmentos tienen la capacidad de absorber la radiación UV (Li et al., 2022). Existen muchos tipos de pigmentos en organismos; por ejemplo, Hassan et al. (2022) en bacterias provenientes de glaciares del Karakórum identificaron pigmentos como aloxantina, astaxantina, β -bacterioruberina, β -carotenoide, ϵ -caroteno, 19'-hexanoiloxo fucoxantina, peridinina, violaceína y zeaxantina, siendo los carotenoides los más abundantes, con tonos amarillos, naranjas y rojos. Asimismo, Kumar J. et al. (2021) reportaron que varía la expresión de diferentes proteínas en *Deinococcus radiodurans* cuando aumentan los ROS producidos por UV-B; mostraron que existe un límite de exposición para expresar. Kang et al. (2020) encontraron que la producción del carotenoide licopeno en *D. radiodurans* aumenta con la exposición a UV, asimismo, estos pigmentos forman parte de los exopolisacáridos, los cuales protegen a las células epiteliales. Xu et al. (2024) demostraron que los exopolisacáridos de *Peaenibacillus* provenientes de área mesófila protegen ante la radiación UV-B y mitigan la producción de ROS en queratinocitos. Asimismo, Li et al. (2022) demostraron que los exopolisacáridos de *Bacillus macorestinum* protegen a fibroblastos ante la radiación UV-B. Además de su función protectora contra la radiación UV, los pigmentos y los exopolisacáridos cumplen con otras funciones en respuesta a diversas condiciones ambientales; por ejemplo, Hassan et al. (2022) encontraron que los carotenoides modulan la fluidez de la membrana celular; mientras que Chambi et al. (2021) encontraron que la producción de exopolisacáridos aumentan en presencia de altas concentraciones de NaCl.

Por otra parte, se ha reportado que existen especies sin pigmentación, pero con alta resistencia a la radiación UV-B y UV-C (Hirsch et al., 2004; Ordoñez et al., 2009; Zhang et al., 2010; Paulino et al., 2012; Marizcurrena et al., 2018; Mandal et al., 2022; Coppola et al., 2023;

Pérez et al., 2017; Zannier et al., 2022); algo observado en este trabajo con los aislados 50H, 50B y 50B. Esto se puede deber a otros mecanismos involucrados en la resistencia a la radiación UV. Fernández et al. (2006) encontraron que bacterias de lagos de altura presentan eficientes mecanismos de reparación del ADN; mientras que Marizcurrena et al. (2018) encontraron una eficiencia en la reparación del daño al ADN por UV-B en bacterias de la Antártida. Además, Du et al. (2023) demostraron que la supresión de enzimas involucradas en el ciclo de Krebs incrementa la supervivencia de *Bacillus thuringiensis* ante la radiación UV-B, al mismo tiempo que disminuye la acumulación de ROS. Por otro lado, Pérez et al. (2017) identificaron el aumento en los osmólitos orgánicos, como sacarosa, trehalosa, glicina, betaína y L-prolina en respuesta a la radiación UV-B, tanto natural como artificial. Estos osmólitos tienen función antioxidante; por ejemplo, Ríos et al. (2021) también reportaron un aumento de las micosporinas ligadas a aminoácidos en bacterias expuestas a la radiación UV-B; estas moléculas cumplen roles como antioxidantes y absorbentes de la radiación UV-B. Asimismo, Kumar V. et al. (2022) y Pérez et al. (2017) reportaron múltiples proteínas en la respuesta a la radiación UV-B, implicadas en mecanismos de reparación del ADN, estrés osmótico, respiración anaerobia, síntesis de exopolisacáridos, producción de antioxidantes, biogénesis de la cápsula y producción de energía, entre otros.

Tanto la radiación UV como otras condiciones extremas inducen estrés oxidativo en las células, debido a la acumulación de especies reactivas de oxígeno (ROS), especies reactivas de nitrógeno (NOS) y especies reactivas de azufre (RSS) (Guilan y Alwasel, 2023). Las bacterias que habitan en ambientes de alta montaña están expuestas a múltiples factores estresantes, por lo que deben contar con respuestas eficientes frente al estrés oxidativo.

Resistencia a antibióticos

Los aislados evaluados *Planococcus* sp. (50A), *Bacillus* sp. (50B), *Agrococcus* sp. (50C), *Micrococcus* sp. (50D), *Paenibacillus tundrae* (50H), *Rhodococcus* sp. (50I) y *Paenibacillus*

polymyxa (50J) en las pruebas de resistencia a antibióticos presentaron resultados variables entre sí (Tabla 2 y Anexo X). En cuanto a multiresistencia, esta se considera cuando una cepa presenta resistencia a al menos un antibiótico en tres o más categorías farmacológicas distintas. Bajo este criterio, el aislado 50I (*Rhodococcus* sp., Actinomycetota) se clasifica como multiresistente, ya que muestra resistencia a cefalosporinas (cefixima), a carbapenémicos (ertapenem), aminoglucósidos (neomicina) y macrólidos (eritromicina). El resto de los aislados (50A, 50B, 50C, 50H, 50J y 50D), aunque presentan resistencia a uno o más antibióticos, no cumplen con el criterio para considerarse multiresistentes; sin embargo, los aislados 50A (*Planococcus* sp.) y 50B (*Bacillus* sp.) se encuentran en el límite de esta clasificación debido al número y tipo de antibióticos frente a los cuales mostraron resistencia.

Estos resultados difieren de lo reportado por otros autores, quienes han encontrado que los microorganismos de ambientes de gran altitud presentan resistencia a diversos antibióticos. La resistencia bacteriana en estos entornos se ha evaluado tanto *in vitro* (Dib et al., 2008, Zhang et al., 2008; Dib et al., 2009; Ball et al., 2014; Ali et al., 2021; Xu et al., 2024), como mediante la detección de genes de resistencia a antibióticos (Segawa et al., 2013; Yang Y. et al., 2019; Sherpa et al., 2020; Akulava et al., 2022; Wang et al., 2022; Lu Y. et al., 2023; Yang Y. et al., 2023; Ren y Gao, 2024).

Entre los mecanismos de resistencia más comunes y frecuentes se encuentra la resistencia a los antibióticos β -lactámicos. Ali et al. (2021) reportaron que las bacterias aisladas del Himalaya presentan resistencia a inapenem; de manera similar, Ball et al. (2014) demostraron que las bacterias provenientes del glaciar del Pico Humboldt (Venezuela) mostraron resistencia a la ampicilina, y Dib et al. (2008) reportaron que bacterias de lagos de altitud de los Andes presentan resistencia a la ampicilina.

En concordancia parcial con estos estudios, en el presente trabajo los aislados pertenecientes al filo Bacillota presentaron resistencia a antibióticos β -lactámicos, mientras que

los del filo Actinomycetota mostraron resistencia a cefixima. Por otra parte, Akilava et al. (2022) reportaron que las bacterias del filo Pseudomonadota aisladas en la Antártida presentan una mayor resistencia a los β -lactámicos que los filos Actinomycetota y Bacillota. En este estudio, sin embargo, por cuestión de tiempo no se evaluó la resistencia a los aislados 50L (*Pseudomonas sp.*), único representante del filo Pseudomonadota, lo que limita la comparación directa con dichos resultados.

Tabla 2. Resistencia a antibióticos de los aislados. Los símbolos representan lo siguiente: sensible al antibiótico (S), resistencia intermedia (I), resistente (R) y no evaluado (NE).

Antibióticos	Aislados bacterianos y diámetros de inhibición (mm)						
	Bacillota (Gram +)				Actinomycetota (Gram +)		
	50A	50B	50H	50J	50C	50I	50D
β-lactámicos (Cefalosporinas)							
Cefoxitina	2.5 (R)	1 (R)	0 (R)	29 (S)	48 (S)	23 (S)	67 (S)
Ceftriaxona	4.0 (R)	0 (R)	13 (R)	43 (S)	55 (S)	37 (S)	65 (S)
Cefaclor	38 (S)	29 (S)	22 (S)	34 (S)	44 (S)	23 (S)	63 (S)
Cefixima	0 (R)	0 (R)	0 (R)	25 (S)	0 (R)	0 (R)	16 (R)
Cefuroxima	26 (S)	0 (R)	18 (S)	39 (S)	38 (S)	35 (S)	55 (S)
Cefepima	19 (R)	0 (R)	0 (R)	33 (S)	55 (S)	35 (S)	58 (S)
β-lactámicos (Penicilinas)							
Piperacilina	54 (S)	22 (S)	24 (S)	51 (S)	62 (S)	25 (S)	60 (S)
Ampicilina	57 (S)	0 (R)	60 (S)	34 (S)	67 (S)	29 (S)	47 (S)
β-lactámicos (Carbapenémicos)							
Meropenem	34 (S)	29 (S)	39 (S)	32 (S)	59 (S)	44 (S)	27 (S)
Ertapenem	28 (S)	31 (S)	38 (S)	30 (S)	55 (S)	2 (R)	57 (S)
Imipenem	47 (S)	41 (S)	39 (S)	26 (S)	63 (S)	28.5 (S)	87 (S)
Licosamidas							
Clindamicina	19 (I)	19 (I)	NE	12.5 (R)	NE	16.5 (I)	38 (S)
Aminoglucósidos							
Tobramicina	25 (S)	17 (S)	22 (S)	24 (S)	0 (R)	25 (S)	25 (S)
Neomicina	24 (S)	24 (S)	24 (S)	20.5 (S)	18 (S)	3 (R)	27 (S)
Macrólidos							
Eritromicina	20 (I)	31 (S)	16 (I)	33.7 (S)	65 (S)	0 (R)	9 (R)
Fluoroquinilonas							
Levofloxacina	32 (S)	37 (S)	41 (S)	29 (S)	43 (S)	35 (S)	31 (S)
Otros							
Fosfomicina	40 (S)	34 (S)	0 (R)	19 (S)	57 (S)	0 (R)	53 (S)

La resistencia a los antibióticos β-lactámicos en bacterias provenientes de zonas prístinas no solo se ha observado en los aislados a nivel fenotípico, sino también genético. Diversos estudios han reportado genes de resistencia a β-lactámicos y aminoglucósidos en hielo, nieve y

agua de glaciares (Ren y Gao, 2024), así como en zonas de humedales, pastizales (Yang Y. et al., 2019) y lagos de altitud (Lu T. et al., 2023; Lu Y. et al., 2023).

En general, se ha observado que la abundancia y diversidad de genes de resistencia pueden ser incluso mayores en zonas de alta altitud que en regiones de baja altitud, lo que sugiere una compleja dinámica ecológica de dispersión y persistencia de estos elementos genéticos. Además, Rossi et al. (2023) y McEachran et al. (2025) encontraron que la mayoría de los genes de resistencia detectados en estos ambientes están asociados con antibióticos de uso veterinario, seguidos por aquellos empleados en la medicina humana. Este hallazgo resulta paradójico, dado que las áreas glaciares se localizan lejos de zonas de pastoreo o de actividad agropecuaria intensiva.

Se han reportado genes de resistencia a antibióticos en diversos glaciares alrededor del mundo (Sewaga et al., 2013); inicialmente, la cantidad de estos genes en áreas polares era baja. Sin embargo, estudios recientes han documentado un incremento significativo en su abundancia (Thajudeen et al., 2025). Se ha propuesto que los genes de resistencia a antibióticos pueden incorporarse a la atmósfera durante procesos de evaporación, ascender a las nubes y ser transportados a largas distancias, para posteriormente precipitar en áreas remotas (Rossi et al., 2023).

Diversos autores han propuesto varios mecanismos de transporte y dispersión que podrían explicar la presencia de bacterias y genes resistentes en estos ecosistemas remotos. Uno de ellos es la dispersión por aves migratorias, las cuales pueden actuar como vectores al transportar bacterias resistentes desde zonas habitadas hasta regiones glaciares a través de sus excretas. Otra hipótesis sugiere el transporte atmosférico de genes de resistencia, los cuales pueden depositarse en la superficie de los glaciares. En este sentido, Rossi et al. (2023) reportaron la presencia de genes de resistencia en nubes sobre áreas montañosas de Francia,

siendo los más comunes los asociados con sulfonamidas, tetraciclinas, glucopéptidos, β -lactámicos y macrólidos.

Por último, Dib et al. (2008) plantearon que la exposición a la radiación ultravioleta tipo B podría inducir mutaciones que confieren resistencia en bacterias de estos ambientes, considerando que en zonas prístinas no existe una presión selectiva directa ejercida por el uso de antibióticos. Esta hipótesis refuerza la idea de que los ambientes extremos de alta montaña pueden favorecer la aparición y el mantenimiento de mecanismos de resistencia incluso en ausencia de contaminación antropogénica directa.

Queda aún mucho por realizar; el presente trabajo constituye un primer acercamiento al estudio de los microorganismos de altitud cultivables *in vitro* obtenidos de muestras del glaciar norte del Pico de Orizaba. Los resultados obtenidos evidencian que estos microorganismos poseen un notable potencial biotecnológico, el cual debe ser explorado de forma integral y multidisciplinaria.

Es necesario ampliar los esfuerzos de muestreo en campo, incorporando otros puntos del glaciar y analizando tanto el hielo como los sedimentos asociados, con el fin de obtener una visión más completa de la diversidad microbiana presente. Asimismo, futuros estudios deberán enfocarse en la evaluación individual de la respuesta de los aislados bacterianos a distintos factores estresantes, así como en la caracterización funcional de las moléculas producidas, incluyendo proteínas y metabolitos secundarios.

El estudio de estos microorganismos antes de la desaparición total del glaciar es prioritario, ya que representa una oportunidad única para conservar, comprender y aprovechar un reservorio microbiano poco explorado, con posibles aplicaciones en biotecnología, medicina e industria.

Conclusiones

1. Las condiciones ambientales de altitud (5066 msnm), presión atmosférica (1042 hPa), radiación UV-B (4016 J m²) y temperatura (-2.6 °C) fueron extremas respecto a las áreas mesófilas del Valle de Puebla.
2. Las muestras de glaciar presentan una baja carga bacteriana, de 2.1×10^5 UFC/mL.
3. Se obtuvieron 8 aislados fúngicos, todos pertenecientes al filo Ascomycota.
4. Se obtuvieron 14 aislados bacterianos pertenecientes a los filos Bacillota, Actinomycetota y Pseudomonadota.
5. Las morfologías de los microorganismos de altitud de hongos y bacterias fueron variadas; en el caso de bacterias, aunque presentaron un óptimo crecimiento en medio de soya tripticaseína a una temperatura promedio de 30 °C, la mayoría de los aislados presentaron un crecimiento lento.
6. Las bacterias aisladas presentaron un tiempo de supervivencia mayor a 60 s de exposición UV-C.
7. En general, los aislados bacterianos fueron sensibles a los antibióticos evaluados; sin embargo, algunos podrían desarrollar resistencia, como se observó en los aislados 50A y 50B, posiblemente debido a la exposición a genes de resistencia transportados por animales, actividades humanas, el viento o las nubes. En contraste, el aislado 50I presentó un perfil de multirresistencia.

Referencias

1. Akulava V., Miamin U., Akhremchuk K., Valentovich L., Dolgikh A. y Shapaval V. (2022). Isolation, Physiological Characterization, and Antibiotic Susceptibility testing of Fast-Growing Bacteria from the Sea-Affected temporary Meltwater Pond in the Thala Hills Oasis (Enderby Land, East Antarctica). *Biology*, 11, 1143.
2. Albarracín, V., Pathak, G., Douki, T., Cadet, J., Borsarelli, D., Gärtner, W. y Fatias, M. (2012). Extremophilic *Acinetobacter* Strains from High-Altitude Lakes in Argentina Puna: Remarkable UV-B Resistance and Efficient DNA Damage Repair. *Orig Life Evol Biosh*, 42, 201-221.
3. Albarracín, V., Gärtner, W. y Farias, M. (2013). Uv resistance and photoreactivation of Extremophiles from High-Altitude Andean Lakes. *J Photochem Photobiol B, Biol*, 1-20.
4. Albarracín, V., Moreno, R., Gärtner, W. y Farias, M. (2014). Diseño experimental para la evaluación de perfiles de resistencia UV y habilidades de fotoreparación en extremófilos. *Reduca (Biología). Serie Microbiología*, 7 (1), 33-46.
5. Albarracín, V., Gärtner, W. y Farias, M. (2016). Forged Under the Sun: Life and Art of Extremophiles from Andean Lakes. *J Photochem Photobiol B, Biol*, 92, 14-28.
6. Ali, B., Sajjad, W., Sharma, G., Shenyun, W., and Kang, S. (2019). Cultured dependent diversity of bacteria from Laohugou glacier, Qilian Mts., China, and their resistance against metals. *Journal of Basic Microbiology*, 1-17.
7. Ali, P., Chen, F., Hassan, F., Sosa, A., Khan, S., Badshah, M y Ali-Shah, A. (2021). Bacterial community characterization of Batura glacier in the Karakorum range of Pakistan. *International Microbiology*, 24, 183-196. <https://doi.org/10.1007/s10123-020-00153-x>

8. Arriola, P., Estrada, M., Ortega-Rubio, R., Ramiro, P. y Gijón, H. (2014). Deterioro en áreas naturales protegidas del centro de México y del Eje Neovolcánico Transversal. *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*, 22(60), 37-49.
9. Aszalós, M., Krett, G., Anda, D., Márialigeti, K., Nagy, N. y Borsodi, A. (2016). Diversity of extremophilic bacteria in the sediment of high-altitude lakes located in the mountain desert Ojos del Salado volcano, Dry Andes. *Extremophiles*, DOI.10.1007/s00792-016-0849-3.
10. Aszalós, M., Szabó, A., Felföldi, T., Jurecska, L., Nagy, B. y Borsodi, A. (2020). Effects of Active Volcanism on Bacterial Communities in the Highest-Altitude Crater Lake of Ojos del Salado (Dry Andes, Alpino-Atacama Region). *Astrobiology*, 20 (6), 741-753. DOI: 10.1089/ast.2018.2011
11. Atif, F., Maqsood, N., Ali, M., Ali, W. y Irfan, M. (2024). Extremophiles and their enzymatic diversity and biotechnological potential. *Systems Microbiology and Biomanufacturing*, 4, 833-849. <https://doi.org/10.1007/s43393-024-00275-7>
12. Babu, P., Chandel, A. y Singh, O. (2015). Extremophiles and their applications in medical processes. *Springer*, New York.
13. Ball, M., Gómez, W., Magallanes, X., Rosales, R., Melfo, A. y Yarzálba, L. (2014). Bacteria recovered from a high-altitude, tropical glacier in the Venezuelan Andes. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30, 931-941. DOI 10.1007/s11274-013-1511-1.
14. Ben, D. y Evans, D. (2010). *Glaciers and glaciation* (2nd ed). Routledge.
15. Benton, M. (2018). Hyperthermal-driven mass extinctions: killing models during the Permian–Triassic mass extinction. *Frontiers in Earth Science*, 6, 199. <https://doi.org/10.3389/feart.2018.00199>

16. Bera, A., Singh, S., D'Souza, J., Hosur, R., and Mishra, P. (2023). Effect of UV Stress on the Structure and Function of Pro-apoptotic Bid and Anti-apoptotic Bcl-xl Proteins. *ChemBioChem*, 24, 5, e202200682. <https://doi.org/10.1002/cbic.202200682>
17. Blumthaler, M., Ambach, W., and Ellinger, R. (1997). Increase in solar UV radiation with altitude. *Journal of Photochemistry and Photobiology: Biology*, 39, 130-134.
18. Bond, D., y Wignall, P. B. (2014). Large igneous provinces and mass extinctions: An update. *Geological Society of America Special Papers*, 505, 29–55. [https://doi.org/10.1130/2014.2505\(02\)](https://doi.org/10.1130/2014.2505(02))
19. Bond, G., y Grasby, E. (2017). On the causes of mass extinctions. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 478, 3–29.
20. Borzecka, J., Suchodolski, J., Dudek, B., Matyaszczyk, L., Sychata, K. y Ogórek, R. (2022). The First Comprehensive Biodiversity Study of Cultivable Fungal Communities Inhabiting Cryoconite Holes in the Werenskiold Glacier on Spitsbergen (Svalbard Archipelago, Arctic). *Biology*, 11(1224). <https://doi.org/10.3390/biology11081224>
21. Bull, A., Idris, H., Sanderson, R., Asenjo, J., Andrews, B. and Goodfellow, M. (2017). High Altitude, hyper-arid soils of the central-Andes harbor megadiverse communities of actinobacteria. *Extremophiles*, DOI 10.1007/s00792-017-0976-5
22. Brininger, C., Spradlin, S., Cobani, L. y Evilia, C. (2018). The more adaptive to change, the more likely you are to survive: protein adaptations in extremophiles. *Seminaries in Cells & Developmental Biology*, 84 15-169. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2017.12.016>
23. Butcher, S., Bell, F., Hernández, S. y Ruiz, M. (2021). Evolution of Seismicity During a Stalled Episode of reawakening at Cayambe volcano, Ecuador. *Frontiers in Earth Science*, 9, 680865. doi: 10.3389/feart.2021.680865

24. Calvillo, M., Reyes, G., Moreno, A., Barba, E., Bautista, D., Jones, G. y Campos, G. (2019). Bacterial Diversity on a 16S rRNA Gene Amplicon Data set from a High-Altitude Crater Lake and Glacial Samples of the Iztaccihuatl Volcanic Complex (Mexico). *Microbiol Resour Announc*, 8 (12), <https://doi.org/10.1128/MRA.01636-18>.
25. Calvillo M., Gunde-Cimerman, N., Escudero-Leyva, E., Barba-Escoto, L., Fernández-Téllez, E., Medina-Téllez, A., Bautista-de Lucio, V., Ramos-López, M. y Campos-Guillén, J. (2020A). Richness and metallo-tolerance of cultivable fungi recovered from three high altitude glaciers from Citlaltepetl and Iztaccihuatl volcanoes (Mexico). *Extremophiles*, <https://doi.org/10.1007/s00792-020-01182-0>
26. Calvillo, M., Cobos, V. y Raymundo, T. (2020B). *Periconia citlaltepetlensis* sp. nov. (Periconiaceae, Pleosporales): a psycotolerant fungus from high elevation volcanic glacier (Mexico). *Phytotaxa*, 459 (3), 235-247.
27. Carrillo, C., Delgado, G., Vázquez, S., Ontiveros, G., Cortés, R., Soto, V., Muñoz, T. y Calvo, R. (2014). Glaciological studies in Mexico, 60 years of academic work: A summary. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas*, 4 (1) 53-65. DOI: <http://dx.doi.org/10.22201/cgeo.20072902e.2024.1.1706>
28. Carrillo, C., Soto, V., Carrasco, N., Vázquez, L., Rueda, G. y Calvo, R. (2025). Guía geológica de excursión de campo (ascenso) al volcán Citlaltépetl (Pico de Orizaba, ruta cara norte-glaciar de Jamapa). *Enseñanza y comunicación en geociencias*, 4 (1) 134-145. DOI: <https://doi.org/10.22201/cgeo.29928087e.2025.4.1.81>
29. Casado A. y Melón P. (2024, 3 de mayo). Geología 24. ¿Qué es un glaciar y cómo funciona? Los glaciares de montaña. *Geología desde Ávila*, recuperado de <https://geolodiaavila.com/2024/05/03/geolodia-24-que-es-un-glaciar-y-como-funciona-los-glaciares-de-montana/>

30. Castanedo, C., Lepe, V., Gordillo, M. y Moncada, B. (2003). Dosis de radiación ultravioleta en escolares mexicanos. *Salud Pública de México*, 45 (6). 439-444.
31. Castanedo, C., Torres, A., Sobrevilla, O., Ehniz, P. y Gordillo, M. (2012). Estimación del tiempo de exposición solar para la quemadura en población mexicana. *Gaceta Médica de México*, 148, 243-247.
32. Cazzola, G., Callaghan, T., Velichevskaya, A., Dudko, A., Fabbio, L., Battipaglia, G. y Liang, J. (2019). Accelerating upward treeline shift in the Altai Mountains under last-century climate change. *Scientific Reports*, 9: 7678, <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44188-1>
33. Ciccazzo, S., Esposito, A., Borruso, L. and Brusetti, L. (2015). Microbial communities and primary succession in high altitude mountain environments. *Annals of Microbiology*, DOI 10.1007/s13213-015-1130-1
34. Chambi, D., Romero-Soto, L., Villca, R., Orozco-Gutiérrez, F., Vega-Baudrit, J., Quillaguaman, J., Hatti-Kaul, R., Martin, C. y Carrascos, C. (2021). Exopolysaccharides production by cultivating a Bacterial Isolate from the Hypersaline Environment of Salar of Uyuni (Bolivia) in Pretreatment Liquids of steam-expelled Eploted Quinoa Stalks and enzymatic hydrolyses of Curupaú saudust. *Fermentation*, 7, 33.
35. Chandra, K., Shouche, Y., Purohit, H. y Rahi, P. (2017). Mining of Microbial Wealth and MetaGenomics. Springer. DOI 10.1007/978-981-10-5708-3
36. Chuvichina, M., Alekhina, I., Normand, P., Petit, J., y Bulat, S. (2011). The events of Sahara Dust Deposition on the Mont Blanc Glacier Associated with Different Snow-Colonizing Bacterial Phylotypes. *Microbiology*, 80 (1), 125-131.
37. Coppola, D., Lauritano, C., Zazo, G., Nuzzo, G., Fontana, A., Ianora, A., Costantini, M., Verde, C. y Giordano, D. (2023). Biodiversity of UV-Resistant Organisms in Antarctic

- Aquatic Environments. *Journal of Marine Science and Engineering*, 11, 968.
<https://doi.org/10.3390/jmse11050968>
38. Cuffey, K., y Paterson, W. (2010). *The physics of glaciers* (4th ed). Academic Press.
39. Dance, A. (2020). Studying Life at the Extremes. *Nature*, 587, 165- 166.
40. Delgado, H. (1993). The Glaciers of Popocatepetl Volcano (México): Changes and Causes, Programs and Abstracts, First International Conference on Climatic Change in México, Taxco, Gro., p. 27.
41. Dib J., Motok J., Fernández Z., Ordoñez O. y Farias F. (2008). Occurrence of Resistance to Antibiotics, UV-B, and Arsenic in Bacteria Isolated from Extreme Environment in High-Altitude (Above 4400 m) Andean Wetlands. *Current in Microbiology*, 56, 510-517
42. Dib J., Weiss A., Neumann A., Ordóñez O., Estévez M. y Farías M. (2009). Isolation of Bacteria from Remote High Andean Lake Able to Grow in the Presence of Antibiotics. *Recent Patent on Anti-Infective Drugs Discovery*, 4, 66-76.
43. Dhume, G., Tsuji, M., y Singh, M. (2022). Identification of Fungal Communities Isolated from Himalayan Glacier Cryoconites. *Sustainability*, 14, 14814.
<https://doi.org/10.3390/su142214814>
44. Diffey, B. (2002). Sources and measurements of ultraviolet radiation, *Methods*, 28, 4-13.
45. Du, X., Zhang, Y., Wu, H., Tan, W., Huang, E., Guan, X. y Zhang, L. (2023). ROS-mediated TCACycle is greatly related to the UV resistance of *Bacillus thuringiensis*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 193, 105429. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2023.105429>.
46. Duo, S., Connell, L., Rodríguez, R., Redman, R., Libkind, D. y García, V. (2018). Metabarcoding analysis of the Fungal biodiversity associated with Castaño Olivera Glacier-

- Mount Tronador, Patagonia, Argentina. *Fungal Ecology*, 36, 8-16.
<https://doi.org/10.1016/j.funeco.2018.07.006>
47. Edwards, A., Pachebat, J., Swain, M., Hegarty, M., Hodson, A., Irvine-Fynn, T., Rassner, M., y Sattler, B. (2013). A metagenomic snapshot of taxonomic and functional diversity in an alpine glacier cryoconite ecosystem. *Environmental Research Letters*, 8 (035003), 11 pp. doi:10.1088/1748-9326/8/3/035003
48. Espinoza, H., y Mercado, U. (2017). La luz visible neutraliza el efecto producido por la radiación ultravioleta en las proteínas. *Revista Fotoquímica y Fotobiología B: Biology*, 167, 15-19. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2016.11.023>
49. Esteves, A., Graca, G., Peyriga, L., Torcato, M., Borges, N., Portais, J. and Santos, H. (2019). Combined transcriptomics-metabolomics profiling of the heat shock response in the hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus furiosus*. *Extremophiles*, 23, 101-118.
<https://doi.org/10.1007/s00792-018-1065-0>
50. Farinotti, D., Immerzeel, W., Kok, R., Quincey, D., y Dehecq, A. (2020). Manifestations and mechanisms of the Karakorum glacier anomaly. *Natural Geoscience*, vol 13, 8-16.
<https://doi.org/10.1038/s41561-019-0513-5>
51. Fernández, Z., Siñeriz, F. y Farias, M. (2006). Diverse response to UV-B Radiation and repair Mechanisms of Bacteria Isolated from High Altitude Aquatic Environments. *Applied and Environmental Microbiology*, 72 (12), 7857-7863.
52. Ficetola, F., Marta, S., Guerrieri, A., Gobbi, M., Ambrosini, R., Fontaneto, D., Zerboni, A., Poulénard, J., Caccianiga, M. y Thuiller, W. (2021). Dynamics of Ecological Communities Following Currents Retreat of Glaciers. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 52, 405-426. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-010521-040017>

53. Figueiras, M. (11 de Abril de 2024). *Glaciar Jamapa en peligro de desaparecer: ONU*. El Sol de Orizaba. <https://oem.com.mx/elsoldeorizaba/ciencia-y-salud/glaciar-jamapa-del-pico-de-orizaba-destinado-a-desaparecer-estudios-de-la-onu-le-dan-siete-anos-de-vida-13215879>
54. Fountain, A., Nylen, T., Monaghan, A., Bassagic, H., y Bromwich, D. (2012). Snow in the McMurdo Dry Valleys, Antartica. *International Journal of Climatology*, 30 (5), 633-642. <https://doi.org/10.1002/joc.1933>
55. Friedlingstein, P., O'Sullivan, M., Jones, M. W., Andrew, R. M., Hauck, J., Olsen, A., ... y Peters, G. P. (2020). Global carbon budget 2020. *Earth System Science Data*, 12(4), 3269–3340. <https://doi.org/10.5194/essd-12-3269-2020>
56. Gao, S., Jin, W., Quan, Y., Li, Y., Shen, Y., Yuan, S., Yi, L., Wang, Y. y Wang, Y. (2024). Bacterial capsule: Occurrence, mechanism, and function. *Npj.biofilms and microbiomes* 10, 21, <https://doi.org/10.1038/s41522-024-00497-6>
57. Ganjoo, P. K. (2021). Glacier-fed Himalayan rivers of India. *Current Science*, 121, (2). Doi: 10.18520/cs/v121/i2/210-213
58. Goel, R., Soni, R., Chandra, D. (2020). *Microbiological Advancements for High Altitude, Agro-Ecosystems & Sustainability*. Springer.
59. González, P., Vernhes, T. y Sánchez, L. (2009). La radiación ultravioleta, su efecto dañino y consecuencias para la salud humana. *Theoria*, 18 (2), 69-80.
60. Griffin, D. (2004). Terrestrial microorganisms at 20,000 meters in Earth's atmosphere. *Aerobiología*, 20, 135-140.
61. Gulcin, I. y Alwasel, S. (2023). Ensayo de Eliminación de radicales DPPH. *Procesos*, 11 (8), 2248. <https://doi.org/10.3390/pr11082248>

62. Hassan, N., Rafiq, M., Hayat, M., Nadeem, S., Shah, A. and Hassan, F. (2017). Potential of Psycrotrophic Fungi isolated from Siachen Glacier, Pakistan, to Produce Antimicrobial metabolites. *Applied Ecology and Environmental Research*, 15 (3), 1157-1171. DOI: http://dx.doi.org/10.15666/aeer/1503_11571171
63. Hassan, N., Hasan, F., Nadeem, S., Ali, P., Khan, M., Sajjad, W., Zadas, S. y Rafiq, M. (2018). Community Analysis and Characterization of Fungi from Batura Glacier, Karakorum Mountain range, Pakistan. *Applied Ecology and Environmental Research*, 16(5), 5323-5341.
64. Hassan, N., Rafiq, M., Haleem, A., Iqbal, N., Khan, M., Ali, S. y Hassan, F. (2021). Glaciochemistry and pigment pigment-producing ability of Bacteria from the Roof of the World, the Glaciers of Karakoram. *Pakistan Geomicrobiology Journal*, 40 (2) 143-151.
65. Herman, F., Doncker, F., Delaney, I., Prasicek, G., and Koppe, M. (2021). The impact of glaciers on mountains erosion. *Nature Review, Earth & Environment*, vol 2, 422-435. <https://doi.org/10.1038/s43017-021-00165-9>
66. Hirsch, P., Gallikowski, C., Siebert, J., Peissl, K., Kroppenstedt, T., Schumann, P., Stackebrandt, E. y Anderson, R. (2004). *Deinococcus frigens* sp. nov., *Deinococcus Saxicola* sp nov., and *Deinococcus marmoris* sp. nov., Low Temperature and Draught-tolerant, UV-resistant Bacteria from Continental Antarctica. *Systematic and applied microbiology*, 27, 636-645.
67. Hock, R., Rasul, C., Adler, B., Gruber, Y., Hirabayashi, M., Jackson, A., Kääh, S., Kang, S., Kutuzov, A., Milner, U., Molau, S., Morin, B., Orlove, B., and Steltzer, H. (2019): High Mountain Areas. In: IPCC Special Report on the Ocean and Cryosphere in a Changing Climate [H.-O. Pörtner, D.C. Roberts, V. Masson-Delmotte, P. Zhai, M. Tignor, E.

- Poloczanska, K. Mintenbeck, A. Alegría, M. Nicolai, A. Okem, J. Petzold, B. Rama, N.M. Weyer (eds.). In press.
68. Hotlanding, S., Hood, E. and Hamilton, T. (2017). Microbial Ecology of mountain glacier ecosystems: biodiversity, ecological connections and implications of a warming climate. *Environmental Microbiology*, 19(8), 2935-2948. doi:10.1111/1462-2920.13766
69. Insam, H., Delgado, G., Nagler, M., Waldhuber, S., Podmirseg, M. y Quideau, S. (2017). Soil microbiota along the Ayoloco glacier retreat area of Iztaccíhuatl. *Catena*, 153, 83-88.
70. IPCC. (2021). *Climate Change 2021: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/9781009157896>
71. Jiménez, G., Li, X., Lira-Noriega, A. y Townsend, P. (2020). Upward Shifts in elevation limits of forest and grassland for Mexican volcanoes over three decades. *Biotropica*, 00, 1-10.
72. Jones, D., Harrison, S., Anderson, K. y Whalley, B. (2019). Rock glaciers and mountain hydrology: A review. *Earth Science Reviews*, 193, 66-90. <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2019.04.001>
73. Kang, C., Yang, J., Park, H. y Choi, Y. (2020). Enhanced Lycopene Production by UV-C Irradiation in Radiation-Resistant *Deinococcus radiodurans* R1. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, pISSN 1017-7825.
74. Krasimirova, M. (2020). Los microorganismos extremófilos y sus aplicaciones biotecnológicas. Tesis de grado en biología. Universidad de Salamanca.
75. Kumar, J., Ghosh, P., y Kumar, A. (2021). Ultraviolet-B Radiation Stress-Induced Toxicity and Alterations in Proteome of *Deinococcus radiodurans*. *Microbial Physiology*, 31, 1- 15. Doi: 10.1159/000512018

76. Kumar, S., Chandra, S., Yadav, A., Shouche, Y. y Goel, R. (2019). Microbial diversity and soil physicochemical carasteristic of high altitude. *PLoS ONE*, 14 (3), <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0213844>
77. Kumar, S., Kumar, V., Ambika, N., D., Kumar, V., Darnal, S., Thakur, V., Patial, V., y Singh, D. (2022). Microbial pigments: learning from the Himalayan perspective to industrial applications. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 49 (5), <https://doi.org/10.1093/jimb/kuac017>
78. Kumar, V., Kashyap, P., Kumar, S., Thakur, V., Kumar, S. and Singh, D. (2022). Multiple Adaptive Strategies of Himalayan *Iodobacter* sp. PCH194 to High-Altitude Stresses. *Frontiers in Microbiology*, 13, 881873. Doi:10.3389/fmicb.2022.881873
79. Lee, M., Kim, S., Juang, J., Hye, E., Hee, K., Schinner, F., Margesin, R., Gyu, H., y Kum, L. (2011). Cultured Bacterial Diversity and Human Impact on Alpine Glacier Cryoconite. *The Journal of Microbiology Society of Korea*, 49 (3) 355-362.
80. Li, F., Hu, X., Qin, L., Li, H., Yang, Y., Zhang, X., Lu, J., Li, Y. y Bao, M. (2022). Characterization and protective effect against Ultraviolet radiation of a novel exopolissacharide from *Bacillus marcorestinctum* QDR3-1. *International Journal of Biological Macromolecules*, 221, 1373-1383.
81. Liu, Y., Yao, T., Jiao, N., Kang, S., Huang, S., Li, Q., Wang, K. y Liu, X. (2009). Culturable bacteria in glacial meltwater at 6,350 m on the East Rongbuk Glacier, Mount Everest. *Extremophiles*, 13, 89-99. DOI 10.1007/s00792-008-0200-8
82. Liu, Y., Ji, M., Yu, T., Zaugg, J., Anesio, A., Zhang, Z., Hu, S., Hugenholtz, P., Liu, K., Chen, Y., Luo, Y. y Yao, T. (2022). A genome and gene catalog of Glacier microbiomes. *Nature Biotechnology*, DOI: 10.1038/s41587-022-01367-2

83. Lu Y., Wang M., Yu C., Wu Q., Zhendu M., Li H., Ren L., Zeng J., Xing P., Zhou L. J., Wan S. y Wu Q. (2023). Unexpected enrichment of antibiotics resistance genes and organic remediation genes in high altitude lakes at Eastern Tibetan Plateau. *Science of the total Environment*. 874, 162554.
84. López, P. y Romero, L. (2021). Coloca la UNAM placa en memoria del Ayoloco. *Gaceta UNAM*, 5, 4-5.
85. Lorenz, E. N. (1963). Deterministic nonperiodic flow. *Journal of the Atmospheric Sciences*, 20(2), 130–141. [https://doi.org/10.1175/15200469\(1963\)020<0130:DNF>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1175/15200469(1963)020<0130:DNF>2.0.CO;2)
86. Love, S., Schweitzer, A., Woolbright, S. y Bailey, J. (2023). Sky Islands are a Global Tool for Predicting the Ecological and Evolutionary Consequences of Climate Change. *Annual Review of Ecology*, 54, 219-236. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-102221-050029>
87. Ma, T., Wang, X., Chen, Z., Xu, Y., Zhang, W., Chen, T., Liu, G., Guo, J., Li, S. y Zhang, B. (2025). Diversity and Pathogenic Potential of Fungal Communities Along Elevational Gradients in the Everest Glacier. *Research in Cold and Arid Regions*. ISSN 2097-1583. <https://doi.org/10.1016/j.rcar.2025.05.003>.
88. Mandal, S., Kundu, S., Raihan, U., Das, P., Paul, P., Roy, P., Tribedi, P. and Sahoo, P. (2022). Identification of a novel quinoline-based UV-protective pigment from a psychrotrophic Arctic bacterium, *Journal of Applied Microbiology*, 133 (5) 3059–3068, <https://doi.org/10.1111/jam.15760>
89. Mandelli, F., Couger, M., Paixao, D., Machado, C., Carnielli, C., Aricetti, J., Polikarpov, I., Caldana, C., Paes, L., Mercadante, A., Riaño-Pachon, D. y Marcio, S. (2017). Thermal adaptation strategies of the extremophile bacterium *Thermus filiformis* based on multi-omics analyses. *Extremophiles*, 21, 775- 778. DOI 10.1007/s00792-017-0942-2

90. Marizcurrena, J., Martínez, L., Ma, H., Lamparter, T. y Castro, S. (2018). A high efficient and cost-effective recombinant production of bacterial photolyase from the Antarctic isolate *Hymenobacter* sp. UV11. *Extremophiles*, <https://doi.org/10.1007/s00792-018-1059-y>
91. Margesin, R., Jud, M., Tschierko, D. y Schinner, F. (2009). Microbial communities and activities in alpine and subalpine soils. *FEMS Microbiol Ecol*, 67, 208-218.
92. McEachran A., Blackwell B., Hanson D., Wooten K., Mayer G., Cox S. y Smith P. (2025). Antibiotic, bacteria, and antibiotic resistance genes: Aerial transport from Cattle feed yards via Particulate Matter. *Environmental health perspectives*. 123 (4), 337-343.
93. Mekonnen, Z., Riley, W., Berner, L., Bouskill, N., Torn, M., Iwahana, G., Breen, A., Myers-Smith, I., García, C., Liu, Y., Euskirchen, E., Goetz, S., Mack, M. y Grant, R. (2021). Arctic Tundra shrubification: review of mechanisms and impacts on ecosystems carbon balance. *Environmental Research Letters*, 16 (053001). <https://doi.org/10.1088/1748-9326/abf28b>
94. Merino, N., Aronson, H., Bojanova, D., Feyhl-Buska, J., Wong, M., Zhang, S. y Giovannelli, D. (2019). Living at the Extremes: Extremophiles and the Limits of Life in a Planetary Context. *Frontiers in Microbiology*, 10 (780). doi:10.3389/fmicb.2019.00780
95. Montero, García I. A. (2012). Matlalcueye, el volcán del alma tlaxcalteca. PorrúaPrint.
96. Mullenders, L. (2018). Solar UV damage to cellular DNA: from mechanisms to biological effects. *Photochem. Photobiol. Sci*, 17 (1842).
97. Muellner, R., Anthelme, F. e Ibanez, T. (2024). Past, Present, and Future of mountain and island systems. *Journal of Systematics and Evolution*, 62 (2), 195-200. Doi:10.1111/jse.13073
98. Nicolaus, B., Kambourova, M., y Toksoy, O. (2011). Exopolysaccharides from extremophiles: from fundamentals to biotechnology. *Environmental Technnology*, 31 (10), 1145-1158.

99. Okello, I., Mbogo, K. y Kuja, J. (2024). Phylogenetic analysis and abundance of culturable Fungi from Tropical glaciers: Lewis Glacier, Mt. Kenya. *Journal of Agriculture Science & Technology*, 23 (3), 29-44. doi: 10.4314/jagst.v23i3.3
100. Olarte, S., Sánchez, R., Aréchiga, F., Bañuelos, V. y López, L. (2019). Efecto de la radiación ultravioleta (UV) en animales domésticos. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 10 (2), 416-432. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v10i2.4648>
101. Olivia, M., Gómez-Ortiz, A., Salvador-Franch, F., Palacios, D. y Schulte, L. (2018). Environmental and climatic controls of past and modern debris-covered glaciers in the Iberian Peninsula. *Quaternary Science Reviews*, 177, 140-157. <https://doi.org/10.1016/j.quascirev.2017.10.032>
102. Ortiz, A., Cáliz, J., Camarero, L. y Casamayor, E. (2020). Regional Community assembly drivers and microbial environmental Sources shaping bacterioplankton in the alpine lacustrine district (Pyrenees, Spain). *Environmental microbiology*, 22 (1), 297-309.
103. Ordoñez, O., Flores, M., Dib, J., Paz, A. y Farias, M. (2009). Extremophilic Culture Collection from Andean Lakes: Extreme Pristine Environments that Host a Wide Diversity of Microorganisms with Tolerance to UV Radiation. *Microb Ecol*, DOI 10.1007/s00248-009-9527-7
104. Ouyang Z., Sciusco P., Jiago T., Feron S., Lei C., Li F., John R., Fan P., Li X., Williams C., Chen G., Wang C., and Chen J. (2022). Albedo changes caused by future urbanization contribute to global warming. *Nature Communications*, 13:3800. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-31558-z>
105. Pacheco, G., Caballero, Z., Martínez, G., Prado, E. y García, C. (2021). Bioquímica y vías metabólicas de polisacáridos, lípidos y proteínas. *Abanico veterinario*, 11, ISSN 2448-6132. <https://doi.org/10.21929/abavet2021.47>

106. Pan, Y., Cheng, J. y Sun, D. (2021). Metabolic Analyses on Microbial primary and secondary Oxidative Stress responses. *Comprehensive reviews in food Science and food Safety*, 20, 5675-5697. Doi:10.1111/1541-4337.12835.
107. Pandey, P., Dheeram, S. and Mahesgwari, D. (2025). Microorganisms' Resilience to Climate Change. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-981-96-3748-5>
108. Pathak, J., Haseen, A., and Rajeshwar, S. (2017). Metabolomic profiling of cyanobacterial UV-protective compounds. *Current Metabolomics*, 5 (2), 138-163. <https://doi.org/10.2174/2213235X04666160829162640>
109. Paulino, L., Azua, B., Vicuña, R., González, S., Salas, L., Teixeira, L., Rosado, A., da Costa, L. y Lage, C. (2013). Isolation of UVC-Tolerant Bacteria from the hyperarid Atacama Desert, Chile. *Microb Ecol*, 65, 325-335.
110. Peacock, A. (1998). Oxygen at high altitude. *BMJ*, 317. doi: <https://doi.org/10.1136/bmj.317.7165.1063>
111. Pérez, V., López, J., Vázquez, C., Sánchez, P., Olmedo, G., Vaca, S., & Negrete, E. (2014). Isolation of *Actinobacillus pleuropneumoniae* from Layer Hens Showing Clinical Signs of Infectious Coryza. *American Association of Avian Pathologists*, 58(4), 638-641. doi: 10.1637/10798-021314-Case.1
112. Pérez, V., Hengst, M., Kurte, L., Dorado, C., Jeffrey, W., Watteiez, R., Molina, V. y Matallana-Surget, S. (2017). Bacterial Survival Under Extreme UV Radiation: A Comparative Proteomics Study of *Rhodobacter* sp. Isolated from High Altitude Wetlands in Chile. *Frontiers in Microbiology*, 8 (1173). Doi:10.3389/fmicb.2017.01173.
113. Perini, L., Gosticar, C. y Cimerman, G. (2019). Fungal and bacterial diversity of Svalbard subglacial ice. *Scientific Reports*, 9, 20230. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56290-5>

114. Pikuta, H. y Hoover, R. (2007). Microbial Extremophiles at the Limits of Life. *Critical Reviews in Microbiology*, 33, 183-209.
115. Rafiq, M., Nadeem, S., Hassan, N., Hayat, M., Sajjad, W., Zada, S., Sajjad, W. y Hasan, F. (2019). Fungal recovery and characterization from the Hindu Kush mountain range, Tirich Mir glacier, and their potential for biotechnological applications. *Journal of Basic Microbiology*, 60(5), 444-457. DOI: 10.1002/jobm.201900608
116. Rampelotto, H. (2013). Extremophiles and Extreme Environments. *Life*, 3, 482-485.
117. Rainey, F., y Oren, A. (2006). Extremophile Microorganisms and the Methods to Handle Them. *Methods in Microbiology*. 35, 1-25. DOI:10.1016/S0580-9517(05)35001-X
118. Rasuk, M., Ferrer, G., Moreno, J., Farias, M. y Albarracín, H. (2016). The diversity of Microbial Extremophiles. En Rodiges T. y Trindade A. (Eds.) *Molecular Diversity of Environmental Prokaryotes* (pp 87-126). Taylor & Francis Grup.
119. Rasuk, M., Ferrer, G., Kurth, D., Portero, L., Farias, M. y Albarracín, V. (2017). UV-resistant Actinobacteria from High-Altitude Andean Lakes: Isolation, Characterization and Antagonistic Activities. *Photochemistry and Photobiology*, 93, 865-880.
120. Reato, A., Borzi, G., Martínez, O. y Carol, E. (2022). Role of rock glacier and the other high-altitude depositional in the hydrology of the mountain watersheds of the Northern Patagonia Andes. *Science of the Total Environment*, 824, 153968. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153968>
121. Ren Z. y Gao H. (2024). Antibiotic resistance genes integrated into Surface ice, cryoconite, and glacier-fed stream in a mountain glacier in Central Asia. *Environment International*. 184, 108482.

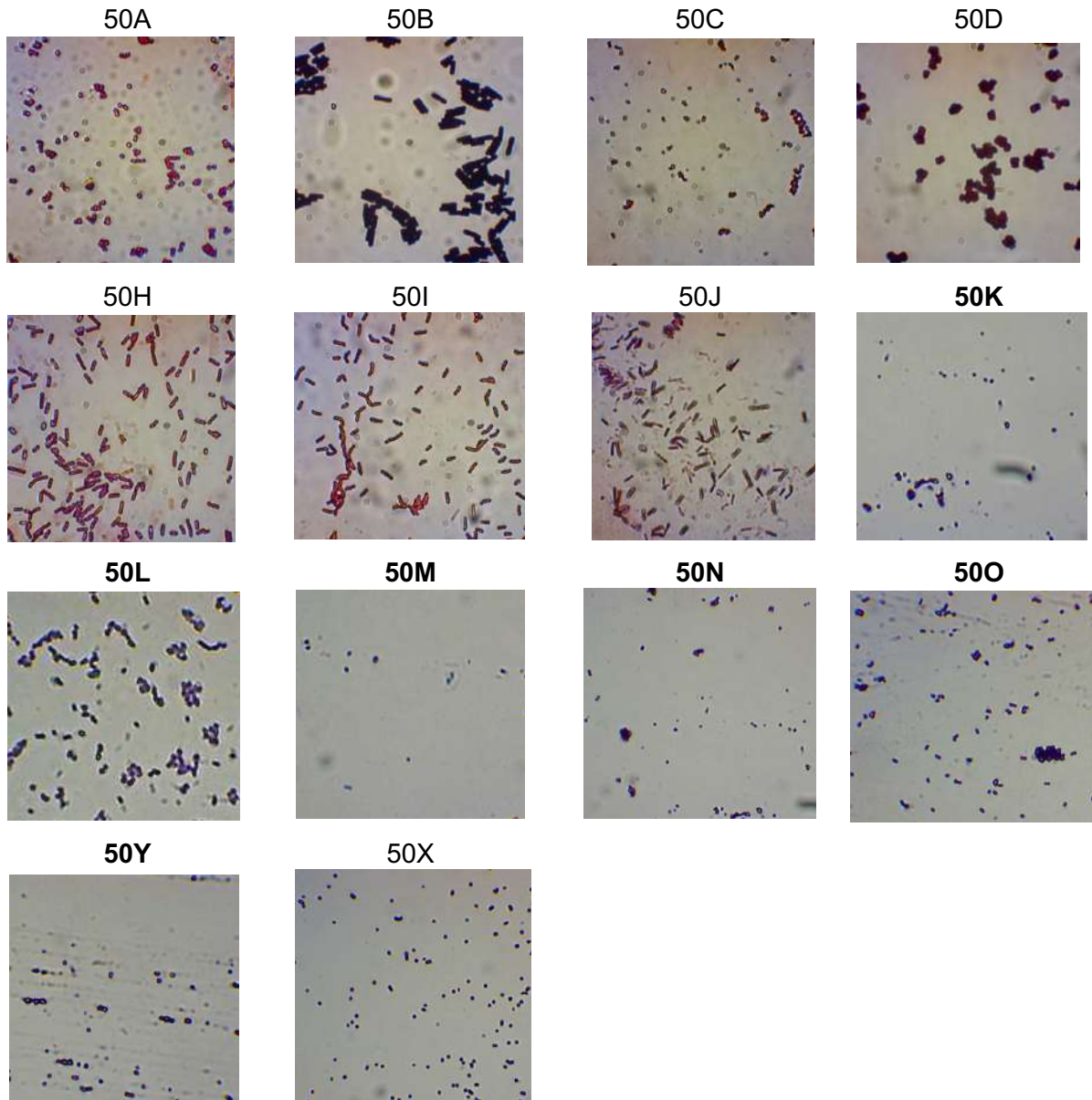
122. Ríos, J., Geraldés, V., Crnkovic, C., Delbaje, E., Fiore, M. y Pinto, E. (2021). Effect of ultraviolet radiation on the metabolic profiles of potentially toxic cyanobacteria. *FEMS Microbiology Ecology*, 97. doi: 10.1093/femsec/fiaa243
123. Ruiz, B., Muñoz, H., García, L., Moreno, A., Bartolomé, M., Leunda, M., Martínez, A., Alcázar, A. y Cid, C. (2023). The hidden microbial ecosystems in the perennial ice from the Pyrenean ice cave. *Front Microbiol*, 14, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1110091>
124. Rossi F., Péguilhan R., Turgeon N., Veillette M., Baray J., Deguillaume L., Amato P. y Duchaine C. (2023). Quantification of antibiotic resistance genes (ARGs) in clouds at a mountain site (puy de Dome, central France). *Science of the total environment*. 865, 161264.
125. Sandoval, S. (2022). Multitemporal analysis of a glacier in central Mexico: Iztaccihuatl-Popocatepetl National Park during the last 36 years. IGARSS 2022-2022 IEEE International Geoscience and Remote Sensing Symposium, Kuala Lumpur, Malaysia, 3947-3950.
126. Saini, P. y Mishra, P. (2024). Bioprospecting of Microbial Resources for Agriculture, Environment, and Bio-Chemical Industry. *Springer Nature*. <https://doi.org/10.1007/978-3-031-63844-2>
127. Segawa T., Takeuchi N., Rivera A., Yamada A., Yoshimura Y., Barcaza G., Shinbori K., Motoyama H., Kohshima S. y Ushida. (2013). Distribution of antibiotics resistance genes in glacier environments. *Environmental Microbiology*, 5 (1), 127-134.
128. Sherpa M., Najar N., Das S. y Thakur N. (2020). Distribution of antibiotic and metal resistance genes in two glaciers of North Sikkim, India. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 203, 111037.

129. Schmucki, D. y Philipona, R. (2002). Ultraviolet radiation in the Alps: the altitude effect. *Opt. Eng*, 12, 3090-3095.
130. Schultz, J., Modolon, F., Peixoto, S. y Soares, R. (2023). Shedding light on the composition of extrem microbial dark matter: alternative approaches for culturing extremophiles. *Frontiers in Microbiology*, 14 (1167718). doi:10.3389/fmicb.2023.1167718
131. Simon, C., Wiezer, A., Strittmatter, A. y Daniel, R. (2009). Phylogenetic Diversity and Metabolomic Potential Revealed in a Glacier Ice Metagenome. *Applied and Environmental Microbiology*. 75(23), 7519-7526. doi:10.1128/AEM.00946-09
132. Singh, O. V. y Gabani, P. (2011). Extremophiles: radiation resistance microbial reserves and therapeutics implications. *Journal of Applied Microbiology*, 110, 851-861.
133. Singh, M., Jayant, K., Singh, D., Chandra, S., Mitra, A. y Bhutani, S. (2023). Microbial adaptations at high altitude for sustainable development: A review. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 13 (6), 001-009. DOI: 10.7324/JAPS.19-1646044973
134. Singh, S., Jain, K., Desai, C., Tiwari, O. y Madamwar, D. (2019). Microbial Community Dynamics of Extremophiles/Extreme environment. En Das S. y Dash H. (Eds.), *Microbial Diversity in the Genomic Era* (pp. 323-332). Academic Press, Elsevier.
135. Schmidt, S., Naff, C. y Lynch, R. (2012). Fungal communities at the edge: Ecological lessons from high alpine fungi. *Fungal Ecology*, 5, 443-452. doi:10.1016/j.funeco.2011.10.005
136. Smith, D., Griffittin, A. y Schuerger, A. (2010). Stratospheric microbiology at 20 km over the Pacific Ocean. *Aerobiologia*, 26, 35-46. DOI 10.1007/s10453-009-9141-7
137. Smith, T. y Smith, R. (2007). *Ecología*. Sexta edición. España, Pearson.

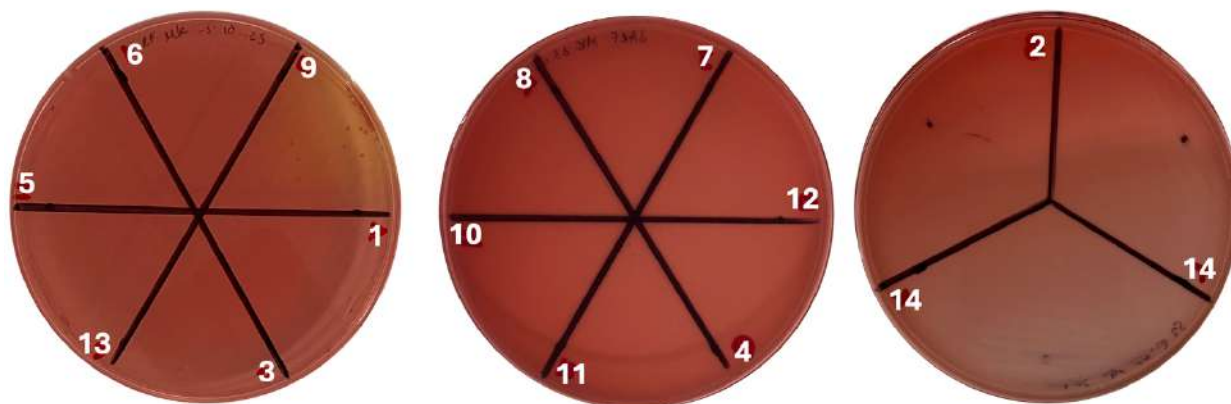
138. Soto, V., Delgado, H. (2020). Dos años de observaciones de temperatura superficial del aire y del suelo en la vertiente norte del volcán Pico de Orizaba, México. *Acta Universitaria*, 30 (e2427). Doi:<http://doi.org/10.15174.au.2020.2427>
139. Soto, V., Welsh, R., Torres, O., Cordoba, M., Delgado, G. (2025). Retraction status of “Glaciar Norte” of Pico de Orizaba, México: Update to 2024. *Journal of South American Earth Sciences*, 151, 105267, ISSN 0895-9811. <https://doi.org/10.1016/j.jsames.2024.105267>.
140. Stocker, T. F., Qin, D., Plattner, G. K., Tignor, M., Allen, S. K., Boschung, J., Nauels A., Xia A., Bex V., Allen S., Qin D. y Midgley, P. M. (2013). *Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press.
141. Tse, C. y Ma, K. (2016). Growth and Metabolism of Extremophiles Microorganisms. En: Rampelotto P. (eds) *Biotechnology of Extremophiles: Grand Challenges in Biology and Biotechnology*, 1. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-13521-2_1
142. Tolotti, M., Cerasino, L., Donati, C., Pindo, M., Rogara, M., Seppi, R., Albanese, D. (2020). Alpine headwaters emerging from glaciers and rock glaciers host different bacterial communities: Ecological implications for the future. *Science of the Total Environment*. 717 (137101). <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137101>
143. Thajudeen, J., Venkatachalam, S. y Veetil, V. (2025). Antibiotic resistome in the glacier forelands of polar regions. *Environmental Microbiology*, 91:e00762-25. <https://doi.org/10.1128/aem.00762-25>
144. Thompson, M., Kaser, G. y Cullen, N. (2010). Glacier loss on Kilimanjaro is an exceptional case. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107 (17), 69-70. DOI:[10.1073/pnas.0913780107](https://doi.org/10.1073/pnas.0913780107)

145. UNFCCC. (2015). *Paris Agreement*. United Nations Framework Convention on Climate Change
146. Xu, X., Ding, Z., Pu, C., Kong, C., Chen, S. Lu, W. y Zhang, J. (2024). The Structural characterization and UV-Protective properties of an Exopolysaccharide from a *Peaenibacillus* Isolate. *Frontiers in Pharmacology*, 15 (1434136).
147. Yang Y., Liu G., Ye C., Li W. y Liu W. (2019). Bacterial community and climate change implications affected the diversity and abundance og antibiotic resistance genes in wetlands on the Qinghai-Tibetan Plateau. *Journal of Hazardous Materials*, 361, 283-293.
148. Yang Y., Zhou J., Shi D., Yang Z., Zhou S., Yang D., Chen T., Li J., Li H. y Jin M. (2023). Landscape of antibiotic resistance genes and bacterial communities in groundwater on the Tibetan Plateau and distinguishing their difference from low altitude counterparts. *Journal of Hazardous Materials*, 459, 132300.
149. Wang X. Han C., Lan B., Wang C. y Zhu G. (2022). Antibiotic resistance genes on the Qinghai-Tibet Plateau above an elevation of 5,000m. *Environmental Science and Pollution Research*, 29, 4508-4518.
150. Weihs, P., Schmalwieser, A. y Schaubberger, G. (2012). UV Effects on Living Organisms. En Meyers (Ed.) *Encyclopedia of Sustainability Science and Technology* (pp 609-687). *Springer Science Business*.
151. Wilson, C., Lukowicz, R., Merchant, S., Valquier-Flynn, H., Caballero, J., Sandoval, J., Okuom, M., Huber, C., Durham, B., Wilson, E., Clement, B., Wentworth, C., y Holmes, A. (2017). Quantitative and Qualitative Assessment Methods for Biofilm Growth. *A mini-Review Res Rev J Technol*, 61 (4).
152. Wignall, P. B. (2001). Large igneous provinces and mass extinctions. *Earth-Science Reviews*, 53(1-2), 1–33. [https://doi.org/10.1016/S0012-8252\(00\)00037-4](https://doi.org/10.1016/S0012-8252(00)00037-4)

153. Zannier, F., Portero, L., Douki, T., Gärtner, W., Farias, E. y Albarracín, V. (2022). Proteomic Signatures of Microbial Adaptation to the Highest Ultraviolet Irradiation on Earth: Lessons from a Soil Actinobacterium. *Frontiers in Microbiology*, 13 (791714).
154. Zenteno, A., Yarzabal, R., Ciancas, J., Álvarez, G., Gunde, C. y Bastista, G. (2023). Fungi beyond limits: The agricultural promise of extremophiles. *Microbial Biotechnology*, 17 (e14439). DOI: 10.1111/1751-7915.14439
155. Zhang, S., Hou, S., Wu, Y. y Qin, D. (2008). Bacteria in Himalayan glacial ice and their relationships to dust. *Biogeosciences*, 5, 1741-1750.
156. Zhang, S., Hou, S., Yang, G., and Wang, J. (2010). Bacterial Community in the East Rongbuk Glacier, Mt Qomolangma (Everest) by culture and culture-independent methods. *Microbiological Research*, 165, 336-345.
157. Zhang, X., Yao, T., Ma, X., y Wang, N. (2002). Microorganisms in a High Altitude Glacier in Tibet. *Folia Microbiologica*, 47 (3), 241-245.
158. Zhang, X., Yao, T., Tian, L., Xu, S. y An, L. (2006). Phylogenetic and Physiological Diversity of Bacteria Isolated from Puruogangri Ice Core. *Microbial Ecology*, 55, 476-488. DOI 10.1007/s00248-007-9293-3

Anexos

Anexo1. Microscopía de los aislados del glaciar en la cara norte del volcán Citlaltépetl, con tinción de Gram a 100×.



Anexo 2. Aislados bacterianos sembrados en agar MacConkey. 1) *Planococcus chinensis*, 50A; 2) *Bacillus cereus/thuringensis*, 50B; 3) *Agrococcus citreus*, 50C; 4) *Micrococcus luteus*, 50D; 5) *Paenibacillus tundrae*, 50H; 6) *Rhodococcus qingshegii/erythropolis*, 50I; 7) *Paenibacillus polymyxa*, 50J; 8), 50K; 9) *Pseudomonas silesiensis*, 50L; 10) *Solibacillus silvestris*, 50M; 11) *Microbacterium oleivorans*, 50N; 12) *Crystalibacter cristallopoytes*, 50O; 13) *Janibacter melonis*, 50X; 14) *Streptococcus epidermidis*, 50Y. Solo creció *P. silesiensis* (50L).

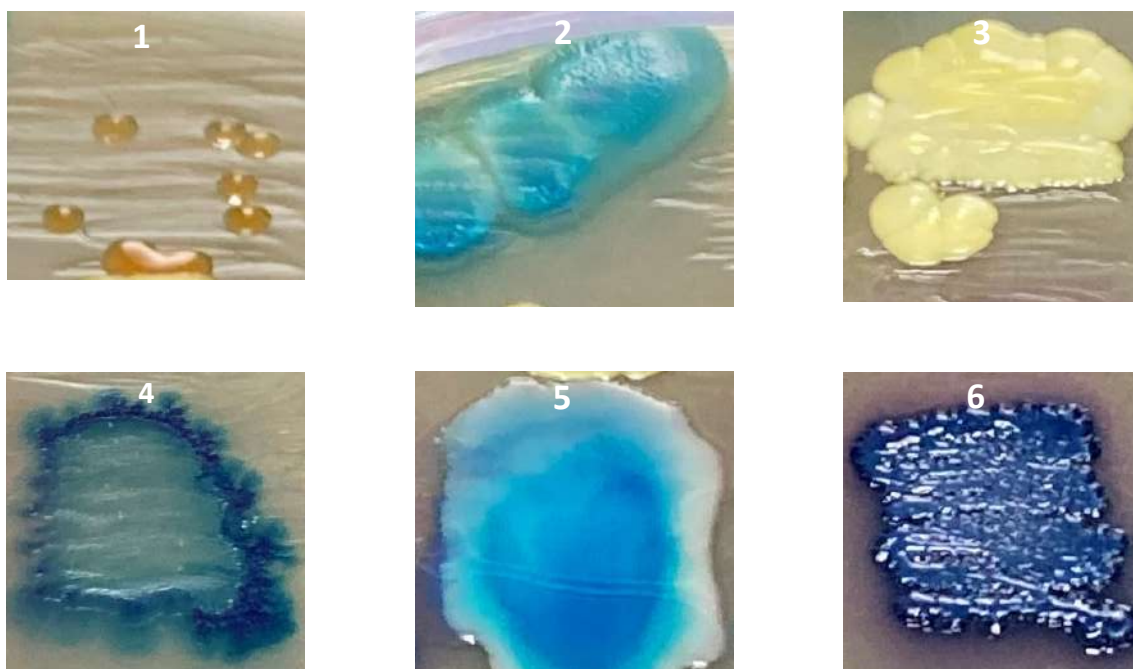
Anexo 3. Morfología colonial de los aislados obtenidos

Aislado	Tamaño mm	Forma	Margen	Densidad	Superficie	Color	Textura	Elevación	Consistencia
50A	2	Circular	Entero	Opaca	Brillante	Naranja	Lisa	Pulvinanda	Mucoide
50B	3	Rizoide	Rizado	Opaca	Mate	Crema	Rugosa	Plana	Mucoide
50C	1	Circular	Entero	Semitrasparente	Brillante	Amarilla	Lisa	Pulvinanda	Mucoide
50D	2	Circular	Entero	Opaca	Brillante	Amarilla	Lisa	Pulvinanda	Mucoide
50H	5	Irregular	Lobulado	Semitrasparente	Mate	Crema	Lisa	Plana	Mucoide
50I	2	Circular	Entero	Opaca	Brillante	Crema	Lisa	Pulvinanda	Mucoide
50J	1	Irregular	Ondulado	Semitrasparente	Mate	Crema	Lisa	Plana	Mucoide
50K	2	Circular	Entero	Opaca	Mate	Grisacea	Lisa	Pulvinanda	Mucoide
50L	1	Circular	Entero	Semitrasparente	Brillante	Amarillo	Lisa	Pulvinanda	Mucoide
50M	2	Circular	Entero	Semitrasparente	Brillante	Amarillo	Lisa	Pulvinanda	Mucoide
50N	2	Circular	Entero	Semitrasparente	Brillante	Amarillo	Lisa	Pulvinanda	Mucoide
50O	2	Circular	Entero	Semitrasparente	Brillante	Amarillo	Lisa	Elevada	Mucoide
50Y	4	Circular	Entero	Semitrasparente	Brillante	Naranja	Lisa	Pulvinanda	Mucoide
50X	< 1	Puntiforme	Entero	Semitrasparente	Opaca	Grisacea	Lisa	Pulvinanda	Mucoide

Anexo 4. Pruebas bioquímicas utilizadas comúnmente para la diferenciación de enterobacterias (Urea, citrato, LIA, MIO, TSI, catalasa y oxidasa) y prueba de proteasa.

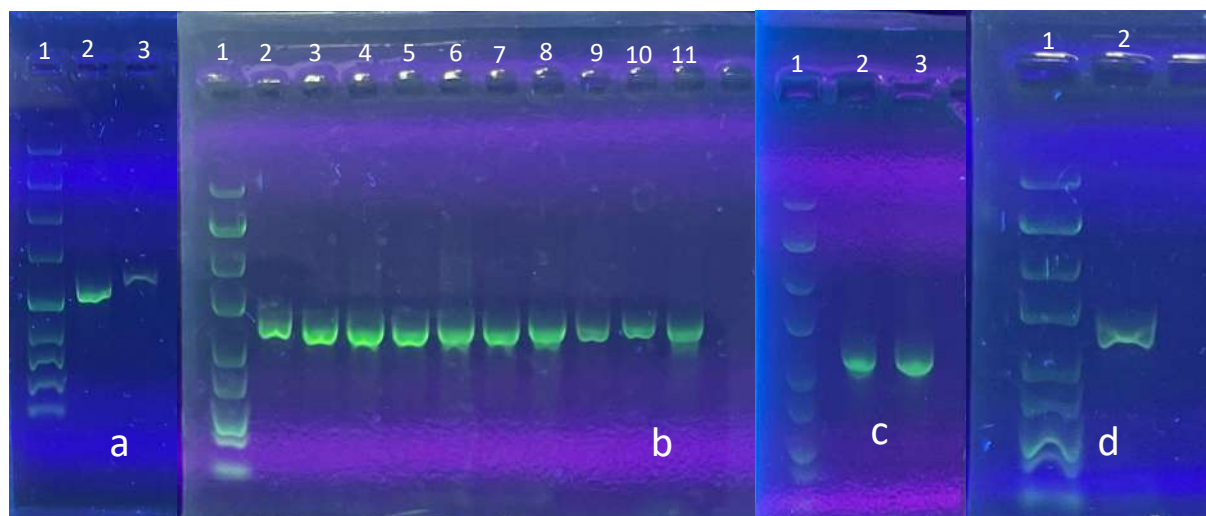
Aislado	Proteasa	Urea	Citrato	Movilidad	Indol	Ornitina	TSI	Catalasa	Oxidasa
50A	—	—	—	—	—	—	—	+	—
50B	+	—	—	+	—	+	—	+	+
50C	—	—	—	—	—	—	—	+	—
50D	—	—	—	—	—	—	—	+	—
50H	—	—	—	—	—	—	—	+	—
50I	—	—	—	—	—	—	—	+	—
50J	—	—	—	—	—	—	—	+	—
50K	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	+	—
50L	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	+	+
50M	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	+	+
50N	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	+	—
50O	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	+	—
50Y	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	+	—
50X	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	+	—

Nota: El significado de los símbolos es el siguiente: positivo (+), negativo (—) y no evaluado (NE).



Anexo 5. Aislados del glaciar en la cara norte del volcán Citlaltépetl sembrados en “*Chromagar Orientador™*”. 1) 50A, de un naranja fuerte a un naranja pálido; 2) 50B de un tono claro crema a un azul turquesa; 3) 50D de un amarillo a un amarillo pálido; 4) 50H de tono cremoso a un

tono azul transparente; 5) 50I de un tono crema a un azul celeste; 6) 50J. Nota: los colores no pudieron identificar a los aislados según la referencia del proveedor. (anexos)



Anexo 6. Visualización de amplificaciones del gen 16S ADNr (1500 pb) en electroforesis de agarosa al 1%. Se utilizó el marcador molecular (MM) ZipRuler Express DNA Ladder 1 con las bandas de 10000, 5000, 3000, 2000, 1200, 850, 500, 300, y 100 pb. Imagen a: 1) MM, 2) 50A y 3) 50B; Imagen b: 1) MM, 2) 50C, 3) 50D, 4) 50H, 5) 50I, 6) 50J, 7) 50M, 8) 50K, 9) 50Y, 10) 50N, y 11) 50O; Imagen c: 1) MM, 2) 50L y 3) 50X; e imagen d: 1) MM y 2) 50G.

Anexo 7. Descripción microscópica del anverso y reverso de los hongos

Cepa Características macroscópicas (anverso y reverso)

- H1** Colonia circular irregular con anillos de color blanco y líneas amarillas que salen de un centro amarillo en un tono verdoso, en el reverso de tono amarillo, de textura pulverulenta.
- H2** Colonia circular con borde blanco con anillo verde, de centro blanquecino, presenta pliegues, textura pulverulenta. Reverso de tono cremoso con observación de pliegues.
- H4** Colonia irregular de textura algodonosa que se extiende en toda la placa, de color blanquecino; además, presenta grumos naranjas. En el reverso se tiene un tono amarillo.
- H3** Colonia circular globosa irregular de color café con grumos, de textura algodonosa. En el reverso de tono café oscuro, textura pulverulenta.
- H5** Colonia verde oscuro pálido con un borde blanco, presenta pliegues, de textura polvosa. En el reverso presenta un patrón similar pero más oscuro, textura pulverulenta.
- H6** Colonia verde oscura con un borde blanco presenta pliegues de textura polvosa. En el reverso presenta un patrón similar pero más oscuro, de textura pulverulenta.
- H7** Colonia irregular con pliegues como anillos blancos, presenta un centro amarillo, textura pulverulenta. De reverso amarillo con un centro rojizo.
- H8** Colonia circular de textura algodonosa de tono blanco con borde rizado, el centro presenta un tono morado.
-

50A *Planococcus chinensis*



50B *Bacillus cereus/thuringensis*



50C *Agrococcus citrus*



50D *Micrococcus luteus*



50H *Paenibacillus tundrae*



50I *Rhodococcus quingshengii/erythropolis*



50J *Paenibacillus polymyxa*



Anexo 8. Antibiogramas. Los números corresponden a los siguientes antibióticos: 1) Cefoxitina; 2) Ceftriaxona; 3) Cefaclor; 4) Cefixima; 5) Cefuroxima; 6) Cefepima; 7) Cefatzidima; 8) Piperacilina; 9) Ampicilina; 10) Aztreonam; 11) Meropenem; 12) Ertapenem; 13) Imipenem; 14) Clindamicina; 15) Tobramicina; 16) Neomicina; 17) Eritromicina; 18) Levofloxacina; y 19) Fosfomicina.

Anexo 9. Secuencias del gen DNAr 16S.

50A *Planococcus* sp.

```
>GTCGAGCGGAMGTTGRAGAGCTTGCTCTTCAACTTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGG
CAACCTGCCCTGCAGATCGGGATAACTCCGGGAAACCGGTGCTAATACCGAATAGTTTTCGCCACCT
CCTGGTGGCGTACGGAAAGACGGTTTTCGGCTGTCACTGCAGGATGGGCCCGCGGCGCATTAGCTA
GTTGGTGGGGTAACGGCCCACCAAGGCRACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACA
CTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACG
AAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGACGAAGGTTTTCGGATCGTAAACTCTGTTGTGAGG
GAAGAACAAGTACCAMYTA ACTACTGGTACCTTGACGGTACCTCACCAGAAAGCCACGGCTAACTAC
GTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGC
```

GCAGGCGGTCCCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGG
 GGGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGA
 GGAACACCAGTGGCGAAAGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGA
 GCAAACAGGATTAGA

50B *Bacillus* sp.

>CGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCATAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAAT
 ACCGGATAACATTTTGAAGTGCATGGTTCGAAATTGAAAGGCGGCTTCGGCTGTCATTATGGATGG
 ACCCGCGTCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTG
 AGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGG
 AATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTCGGGTCCG
 TAAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACC
 AGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAA
 TTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGTGGTTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGT
 GGAGGGTCATTGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGAATTCCATGTGTAGCGGT
 GAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACACTG
 AGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGT
 GCTAAGTGTTAGAGGGTTTTCCGCCCTTTAGTGCTGAAGTTAACGCATTAAG

50C *Agrococcus* sp.

>AGTCGAACGATGAGGGAGGAGCTTGCTCCTCCTGATTAGTGGCGAACGGGTGAGTAATA
 CGTGAGCAATGTGCCCTTGACTCTGGGATAAGCGCTGGAAACGGCGTCTAATACCGGATA
 CGACGACCGGAGGCATCTCCTGGTCGTGGAAAGAACTTCGGTCAAGGATCAGCTCACGGC
 CTATCAGTTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGACGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGA
 GGGTGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTG
 GGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCAACGCCGCGTGAGGGACGAAGGC
 CTTCCGGTTGTAAACCTCTTTTAGCAGGGAAGAAGCGAAAGTGACGGTACCTGCAGAAAAA

GCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAAGCGTTGTCCGG
AATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGGCGGTTTGTACGTCTGCTGTGAAAACCCGAGGC
TCAACCTCGGGCTTGCAGTGGGTACGGGCAGACTAGAGTGCGGTAGGGGGAGATTGGAA
TTCCTGGTGTAGCGGTGGAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGATGGCGAAAGGCAGA
TCTCTGGGCCGTA ACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCATGGGGAGCAAACAGGCTTAGATAC
CCTGGTAGTCCATGCCGTAACGTTGGGAACTA

50D *Micrococcus* sp.

>CGGCTTCCCCCACAAGGGTTAAGGCCACCGGCTTCCGGGTGTTACCAACTTTTCGTGA
CTTTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAAGTATTCACCGCAGCGTTGCTGATCTGCG
ATTAGTAGCGACTCCGAGTTCATGGGGTCGAGTTGCAGACCCCAATCCGAACTGAGACCG
GCTTTTTGGGATTAGCTCCACCTCACAGTATCGCAACCCATTGTACCGGCCATTGTAGCAT
GCGTGAAGCCCAAGACATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCGTCCTCACCTTCCTCCGAG
TTGACCCCGGCAGTCTCCCATGAGTCCCCACCATTACGTGCTGGCAACATGGAACGAGGG
TTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCA
CCACCTGTGAACCCGCCCAAAGGGGAAACCGTATCTCTACGGCGATCGAGAACATGTCA
AGCCTTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCATCGAATTAATCCGCATGCTCCGCCGCTTGTGCGG
GCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTTAGCCTTGCGGCCGTA CTCCCAGGCGGGGCACTTA
ATGCGTTAGCTGCGGCGCGGAAACCGTGAAATGGTCCCCACACCTAGTGCCCAACGTTT
ACGGCATGGA

50G *Janibacter* sp.

>ATGCAGTCGAACGGTGAACCTTGGAGCTTGCTCTAAGGGGATCAGTGCGAACGGGTGA
GTAACACGTGAGTAACCTGCCCGGACTCTGGAATAAGCGCTGGAAACGGCGTCTAATAC
CGGATACGAGACGCAACCGCATGGTTAGCGTCTGGAAAGTTTTTCGGTCTGGGATGGACT
CGCGGCCTATCAGCTTGTGGTGGTGAAGTAATGGCTCACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGG
CCTGAGAGGGCGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGC

AGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAGGGA
TGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCAGCAGGGAAGAAGCGAAAGTGACGGTACCTG
CAGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACG

50H *Paenibacillus tundrae*

>GCAGCCTGCAATCCGAACTGAGACCGGCTTTGTTGGGATTGGCTCCATCTCGCGATTTCCG
CAGCCC GTTGTACCGGCCATTGTAGTACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGA
TTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTACCGGCAGTCTATCTAGAGTGCCCCACCC
GAAGTGCTGGCAACTAAATATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCAC
GACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCTCCTCTGTCCCGAAGGAAAGATACAT
CTCTGTATCGATCAGAGGGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAA
ACCACATACTCCACTGCTTGTGCGGGTCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAGTCTTGCGAC
CGTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGTGTTAACTTCGGCACCAAGGGTATCGAAACCCC
TAACACCTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGACTACCAGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCCC
ACGCTTTCGCGCCTCAGCGTCAGTTACAGCCCAGA

50I *Rhodococcus* sp.

>TAACACGTGGGTGATCTGCCCTGCACTTCGGGATAAGCCTGGGAAACTGGGTCTAATACC
GGATATGACCTCCTATCGCATGGTGGGTGGTGGAAAGATTTATCGGTGCAGGATGGGCCC
GCGGCCTATCAGCTTGTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGAC
CTGAGAGGGTGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCA
GCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAGGGAT
GACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCAGCAGGGACGAAGCGCAAGTGACGGTACCTGC
AGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAAGCGTT
GTCCGGAATACTGGGCGTAAAGAGTTCGTAGGCGGTTTGTGCGGTCGTTTGTGAAAACC
AGCAGCTCAACTGCTGGCTTGCAGGCGATACGGGCAGACTTGAGTACTGCAGGGGAGACT
GGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGG

CGGGTCTCTGGGCAGTAACTGACGCTGAGGAACGAAAGCGTGGGTAGCGAACAGGATTA
GATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGGTGGGCGCTAGGTGTGGGTTCCCTTCCACGGAA
TCCGTGCCGTAGCTAACGCATTAAGCGCCCCG

50J *Paenibacillus polymyxa*

>TTTAACCTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTAGGCAACCTGCCACAAGACAGGGAT
AACTACCGGAAACGGTAGCTAATACCCGATACATCCTTTACCTGCATGGGCGAAGGAGGA
AAGACGGAGCAATCTGTCACTTGTGGATGGGCCTGCGGCGCATTAGCTAGTTGGTGGGGT
AAAGGCCTACCAAGGCGACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGG
ACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGC
GAAAGCCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAGCTCTGT
TGCCAGGGAAGAACGTCTTGTAGAGTAACTGCTACAAGAGTGACGGTACCTGAGAAGAAA
GCCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGGGCAAGCGTTGTCCGG
AATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGCTCTTTAAGTCTGGTGTTTAATCCCGAGGC
TCAACTTCGGGTGCGCACTGGAACTGGGGAGCTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAATTC
CACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAAGCGACTCTC
TGGGCTGTAACCTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCT
GGT

50K *Bacillus subtilis*

>AAGGTTACCTCACCGACTTCGGGTGTTACAACTCTCGTGGTGTGACGGGCGGTGTGTA
CAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCAGCT
TCACGCAGTCGAGTTGCAGACTGCGATCCGAACTGAGAACAGATTTGTGGGATTGGCTTAA
CCTCGCGGTTTTCGCTGCCCTTTGTTCTGTCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAA
GGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTTGTCACCGGCAGTCACCTTA
GAGTGCCCAACTGAATGCTGGCAACTAAGATCAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAAC
CCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCACTCTGCCCCCGAA

GGGACGTCCTATCTCTAGGATTGTCAGAGGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTT
GCTTCGAATTAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTT
CAGTCTTGCGACCGTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTAAGGG
GCGGAAACCCCTAACACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGCACTACCAGGGTATCTAAT
CCTGTTTCGCTCCCCACGCTTTCGCTCCTCAGCGTCAGTTACAGACCAGAGAGTCGCCTTC
GCCCACTGGTGCGTCCTCCACATCTCTACGCATTTACCGCTACACGTGGAAATTCCACTC
TCCTCTCTGCACTCAAGTTCCCAGTTTCCAATGACCCTCCCCGGTTGAGCCGGGGGG
CTTTCACATC

50L *Pseudomonas* sp.

>CGAGCGGCAGCACGGGTACTTGTACCTGGTGGCGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCC
TAGGAATCTGCCTGGTAGTGGGGGATAACGCTCGGAAACGGACGCTAATACCGCATACTG
CCTACGGGAGAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGCCTATCAGATGAGCCTAGGTCGGA
TTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCCGTAACCTGGTCTGAGAGGA
TGATCAGTCACACTGGAAGTGAAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGG
AATATTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGTCTTC
GGATTGTAAAGCACTTTAAGTTGGGAGGAAGGGCATTACCTAATACGTAAGTGTTTTGAC
GTTACCGACAGAATAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACAGAGGGT
GCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCTAGGTGGTTTGTAAAGTTGGAT
GTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAAGTGCATTCAAACTGACAAGCTAGAGTATGGTA
GAGGGGTGGTGGAATTTCTGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATAGGAAGGAACACCAG
TGCGAAGGCGACCACCTGGACTGATACTGACACTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAA
ACAGGATTAGATACCCT

50M *Solibacillus* sp.

>AGTCGAGCGGAATTTTATTGGTGCTTGCACCTTTAAATTTTAGCGGCGGACGGGTGAGT
AACACGTGGGTAACCTACCTTATAGATTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCG

AATAATACTTTTTAACACATGTTTGAAAGTTGAAAGACGGTTTTCGGCTGTCACTATAAGATG
GACCCGCGGGCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTAG
CCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGG
AGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGAAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAG
TGAAGAAGGATTTTCGGTTCGTAAACTCTGTTGCAAGGGAAGAACAAGTAGCGTAGTAACT
GGCGCTACCTTGACGGTACCTTGTTAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCG
GTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGTGGT
TCCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAAAAGTGGGG
AACTTGAGTGCAGAAGAGGATAGTGGAATTCCAAGTGTAGCGGTGAA

50N *Microbacterium* sp.

>AAGTCGAACGGTGAAGCAGAGCTTGCTCTGTGGATCAGTGGCGAACGGGTGAGTAACAC
GTGAGCAACCTGCCCGGACTCTGGGATAAGCGCTGGAAACGGCGTCTAATACTGGATAC
GAGCTGCGACCGCATGGTCAGCAGTTGGAAAGATTTTTTCGGTCTGGGATGGGCTCACGGC
CTATCAGCTTGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCGTCGACGGGTAGCCGGCCTGAGA
GGGTGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTG
GGGAATATTGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAGCAACGCCGCGTGAGGGATGACGGC
CTTCGGGTTGTAAACCTCTTTTAGCAGGGAAGAAGCGAGAGTGACGGTACCTGCAGAAAA
AGCGCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGCGCAAGCGTTATCCG
GAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAGGCGGTTTGTGCGTCTGCTGTGAAATCCCGAGG
CTCAACCTCGGGCCTGCAGTGGGTACGGGCAGACTAGAGTGCGGTAGGGGAGATTGGAA
TTCCTGGTGTAGCGGTGGAATGCGCAGATATCAGAGGAACACCGATGGCGAAAGGCAGAT
CTCTGGGCCGTAACCTGACGCTGAGGAGCGAAAGGGTGGGGAGCAAACAGGCTTAGATAC
CCTGGTAGTCCACCCCGTAAACGTTGGGAACTAGTT

50O *Crystallibacter* sp.

>CCGGTGCTTGCACCGGGGATTAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGAGTAACCTGCC
TTGACTCTGGGATAAGCCTGGGAAACCGGGTCTAATACCGGATACGACCTTTCACCGCAT
GGTGGTTGGTGGAAGATTTTTGGTTTTGGATGGACTCGCGGCCTATCAGCTTGTTGGTG
AGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGTGACCGGCCACAC
TGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAAT
GGGCGAAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTGTAAACC
TCTTTCAGCAGGGAAGAAGCGAAAGTGACGGTACCTGCAGAAGAAGCGCCGGCTAACTAC
GTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGCGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAA
GAGCTCGTAGGCGGTTTTGTCGCGTCTGCTGTGAAAGCCCGGGGCTCAACCCCGGGTCTG
CAGTGGGTACGGGCAGACTAGAGTGCAGTAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGT
GAAATGCGCAGATATCAGAGGAACACCGATGGCGAAGGCAGGTCTCTGGGCTGTAAGTGA
CGCTGAGGAGCGAAAGCATGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGCCGT
AAACGTTGGGCACTAGGTGTGGGGG

50X *Staphylococcus epidermidis*

>GGCTAGCTCCAAATGGTTACTCCACCGGCTTCGGGTGTTACAACTCTCGTGGTGTGACG
GGCGGTGTGTACAAGACCCGGGAACGTATTCACCGTAGCATGCTGATCTACGATTACTAG
CGATTCCAGCTTCATATAGTCGAGTTGCAGACTACAATCCGAACTGAGAACAACCTTTATGG
GATTTGCTTGACCTCGCGGTTTCGCTACCCTTTGTATTGTCCATTGTAGCACGTGTGTAGC
CAAATCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTACCCGG
CAGTCAACTTAGAGTGCCCAACTTAATGATGGCAACTAAGCTTAAGGGTTGCGCTCGTTGC
GGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCACTCT
GTCCCCGAAGGGGAAAACCTCTATCTCTAGAGGGATCAGAGGATGTCAAGATTTGGTAAG
GTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGTCCCCGTCAAT
TCCTTTGAGTTTCAACCTTGCGGTCGTACTCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTGC
AGCACTAAGGGGCGGAAACCCCTAACACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACC

AGGGTATCTAATCCTGTTTGATCCCCACGCTTTCGCACATCAGCGTCAGTTACAGACCAGA
AAGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCCATATCTCTGCGCATTTCACC