



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA
CARRERA DE BIOLOGÍA**

**EFFECTO DEL ÓXIDO DE NITRÓGENO CONTENIDO
EN LA LLUVIA ÁCIDA SOBRE LOS ECOSISTEMAS
ACUÁTICOS DE LA CIUDAD DE MÉXICO: UNA
EVALUACIÓN DE MICROALGAS Y
CIANOBACTERIAS**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G A

P R E S E N T A:

ZAVALA TORRES NORMA GABRIELA



**DIRECTOR DE TESIS
DR. DIEGO DE JESÚS CHAPARRO HERRERA**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

La mayoría de la gente dice que el intelecto es lo que hace a un gran científico, están equivocados: es el carácter
Albert Einstein

Dedicatorias:

Quiero dedicarle esta tesis a mi familia por que sin su amor y su apoyo no hubiera podido llegar tan lejos

Agradecimientos:

A la Universidad Nacional Autónoma de México y sobre todo a la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, en la cual tuve la oportunidad de conocer grandes profesores, compañeros y desarrollarme como profesionista

A la UIICSE, y al laboratorio de Bacteriología donde se me dieron todas las facilidades para realizar este trabajo

A mi comité tutor por dedicarle tiempo a mi trabajo, y ser atentos conmigo a pesar de sus demás actividades

A Rocío Fernández por estar en cada una de las etapas de la tesis con la paciencia necesaria para no regañarme más de lo necesario

Al Doctor Diego Chaparro por ser más un amigo que un asesor de tesis, por creer y hacerme ver que mi trabajo es importante y sobre todo por dar la motivación de que esto solo es una parte de mi formación, no el final de la misma

A mis padres por amarme mucho y enseñarme a no ser conformista, a darme cuenta que siempre puedo mejorar y por su apoyo durante toda mi carrera y en todos mis proyectos personales y sobre todo a mi mamá por darme el ejemplo de que nunca es demasiado tarde para seguir estudiando

A mis hermanos Pablo y Gustavo por ser tan protectores conmigo y porque son los mejores

A mis primos Nati, Marce, Héctor y Rodrigo por ser los primos más geniales del mundo y a mis tías Marce, Gaby y Flor

A mis abuelos Adgine y Jesús que siempre están orgullosos de mí sin importar nada

A mi mejor amiga Karen Hernández que siempre está en los buenos y malos momentos

A mis amigos de la Cruz Roja; Fernanda, Manuel, Diego, Marcos y Guillaume

A todos mis compañeros del laboratorio sobre todo a Frida, Miguel, Paola y David

Especialmente a Randy Llanas por ayudarme a cambiar mi perspectiva

Índice

1. Resumen	1
2. Introducción	2
2.1 Contaminación	2
2.2 Lluvia ácida	3
2.3 Lagos urbanos	4
2.4 Cianobacterias y clorofíceas	5
2.5 Cianotoxinas	5
4. Antecedentes	7
4. Justificación	8
5. Hipótesis	10
6. Objetivos	11
6.1 Objetivo general	11
6.2 Objetivo particular	11
7. Materiales y Métodos	12
7.1 Zonas de muestreo	12
7.2 Toma de muestra	14
7.3 Identificación de la muestra	14
7.4 Fase de estandarización	14
7.5 Fase experimental	15
7.6 Análisis cuantitativo	16
7.7 Determinación clorofila <i>a</i>	16
7.8 Determinación de cianotoxinas	17
8. Diagrama de flujo del diseño experimental	17
9. Resultados	20
9.1 Densidad celular de <i>Microcystis panniformis</i> y <i>Scenedesmus</i> sp.	20
9.2 Comparación de la densidad celular por organismo	21
9.3 Comparación de densidad celular por temporadas	22
9.4 Cantidad de microcistinas	23
9.5 Relación <i>M. panniformis</i> y microcistina	24
9.6 Relación de <i>M. panniformis</i> de acuerdo con la temporada	25
	27

9.7 Análisis de varianza	26
9.8 Cuantificación de clorofila <i>a</i>	28

10. Discusión	30
---------------	----

11. Conclusiones	36
------------------	----

12. Bibliografía consultada	37
-----------------------------	----

13. Anexo	45
-----------	----

1. Resumen:

La lluvia ácida es uno de los problemas ambientales más severos debido al incremento de la contaminación atmosférica, conteniendo entre otros muchos elementos a los óxidos de nitrógeno y azufre (NO_x y SO_x), compuestos que juegan un papel importante en la química atmosférica. Su presencia se ve disminuida cuando las precipitaciones son mayores, debido a que la lluvia realiza un lavado atmosférico que de acuerdo a la intensidad y duración, termina con el arrastre de los elementos contaminantes hacia los ecosistemas terrestres y acuáticos. Aunado a lo anterior, la creciente urbanización provoca que los ecosistemas acuáticos como los lagos, presenten cambios intrínsecos como es el proceso denominado eutrofización, que se traduce en una alta y fluctuante densidad de fitoplancton y favorece el crecimiento en particular de cianobacterias. Dentro de los organismos fitoplanctónicos regularmente presentes en cuerpos de agua urbanos se encuentra *Scenedesmus*, que puede tolerar una amplia gama de condiciones ambientales. Asimismo, otros organismos que componen el fitoplancton en los sistemas acuáticos urbanos son las cianobacterias, organismos fotoautótrofos que en cuerpos de agua eutróficos forman los denominados florecimientos, que se refiere al desarrollo en masa de las mismas, muchas especies tienen la capacidad de producir sustancias tóxicas llamadas cianotoxinas como *Microcystis*, género que se relaciona frecuentemente con florecimientos algales que generan daño hepatotóxico en, lo que las hace cobrar importancia en salud pública, además el crecimiento excesivo de cianobacterias en los lagos puede afectar la calidad de agua. Por esto, en este trabajo se analizó el efecto del ácido nítrico como componente de la lluvia ácida sobre el crecimiento de la cianobacteria *Microcystis panniformis* y la clorofícea *Scenedesmus* sp. en dos lagos de la Ciudad de México, y si ésta se ve favorecida en presencia del ácido sulfúrico (otro componente común de la lluvia ácida), se midió la clorofila-a para calcular su biomasa, y finalmente se realizó una prueba de ELISA para determinar la cantidad de microcistinas presentes en los embalses. Las pruebas se realizaron en las temporadas de lluvias y secas, donde el valor más representativo fue el de la época de lluvias con un 86% más de microcistinas. En el caso de *Scenedesmus* hubo una mayor densidad celular con alta concentración de ácido nítrico, con un valor hasta de un 100% más con respecto al control y en el caso de *Microcystis panniformis* la combinación de ambos ácidos fue la que más favoreció su presencia con respecto a la densidad. En el lago de Tezozómoc se determinaron más de un millón de células/mL de cianobacterianas en época de lluvias y 4.94 $\mu\text{g/L}$ de microcistinas, y en el lago de Chapultepec en la misma temporada hay presencia de *Microcystis panniformis*, con $\sim 6,000$ cél/ml de densidad celular y 2.79 $\mu\text{g/L}$ de microcistina.

2. Introducción:

2.1 Contaminación

Desde los inicios de la vida en la tierra las plantas han obtenido una parte esencial de sus nutrientes de la atmósfera. Ocasionalmente las plantas y animales se ven perjudicados por sustancias tóxicas dispersas en la misma. Con el inicio de la revolución industrial, el hombre comenzó a ejercer cada vez más influencia sobre la circulación biogeoquímica de la Tierra (Cowling, 1982) y en paralelo el aprovechamiento de varios recursos del ambiente para generar recursos energéticos (Singh & Agrawal, 2007). Como resultado de esas actividades, en la atmósfera se han acumulado desechos, formando contaminantes atmosféricos que a su vez se convierten en contaminantes hídricos (Mishra, 2008).

El impacto de la contaminación generada por las actividades humanas ha alcanzado un efecto global sin precedentes donde el rápido incremento del tamaño poblacional, el consumo intensivo de energía, (McMichael, 2003) la quema de combustibles fósiles en las industrias, el aumento en la cantidad de vehículos y la urbanización han dejado un incremento en la concentración de fluidos y partículas contaminantes en la atmósfera (Orozco *et al.*, 2002). Uno de estos gases son los óxidos de nitrógeno, importantes en la química ambiental, debido a su participación directa en los procesos de formación de contaminantes secundarios, como el ozono, ácido nítrico y nitrato de amonio, entre otros (Galán & Fernández, 2006). Existen fuentes potenciales que pueden incrementar las emisiones de NO_x , tanto de forma antropogénica con el incremento de la quema de combustibles fósiles y el aumento en la aplicación de fertilizantes de nitrógeno (Galloway & Likens, 1981), como no antropogénica, el producido por los relámpagos, erupciones volcánicas y procesos biológicos (especialmente actividad microbiana) (Singh & Agrawal, 2007). Por otra parte, hay otro contaminante ambiental que tiene particular interés; los óxidos de azufre (SO_x); éstos son producidos por el hombre a partir de la quema de carbón, petróleo y otros procesos industriales, otras fuentes incluyen la fundición de hierro y otros minerales metálicos (Zn y Cu) (Rosas, 2001). Sin embargo, a partir de los años 90's se disminuyó la emisión de SO_x por las medidas para el control de la contaminación debido a que la fuente principal de las emisiones de SO_2 es la materia prima (como el azufre), la medida inicial ideal es trabajar con materia prima de bajo contenido de azufre, al reducir la volatilización del azufre y mantener una atmósfera oxidante se reducen las emisiones de SO_2 (Hoyos *et al.*, 2008); por el contrario las emisiones de NO_x se han aumentado debido al rápido incremento en el número de automóviles (Zhao *et al.*, 2009) que utilizan diesel como combustible (SEDEMA, 2017), ya que en la ignición de los automóviles y los gases de escape tienen diferentes productos de combustión, algunos de los cuales están considerados como

sustancias nocivas, este es el caso de los NO_x (Bosch, 2005). Los lugares donde se han presentado altos niveles de NO_x en el aire son: Río de Janeiro, Tokio, Moscú y México por mencionar algunos (Rosales, 2001). En este último, para el 2012, según la Secretaría del Medio Ambiente, el rápido incremento de la población en la Zona Metropolitana del Valle de México, ha provocado una expansión no sustentable de la mancha urbana. Hay un aumento acelerado y sin control del número de vehículos automotores en la ciudad y, por lo tanto, más emisiones de óxidos de nitrógeno (NO_x), por lo que se espera que las emisiones pasen de 1.3g/km a 1.9 g/km por año por día.

Con respecto a la cuenca de México, ésta se encuentra a 2240 metros sobre el nivel del mar, se distingue por haber sido una zona lacustre, rodeada de forma natural por grandes cadenas montañosas. Estas montañas dificultan la circulación del viento, impiden el desalojo del aire hacia afuera de la cuenca y propician la acumulación de contaminantes, situación que se ve agravada por las inversiones térmicas en los meses fríos del año (Leal & Chávez, 1996).

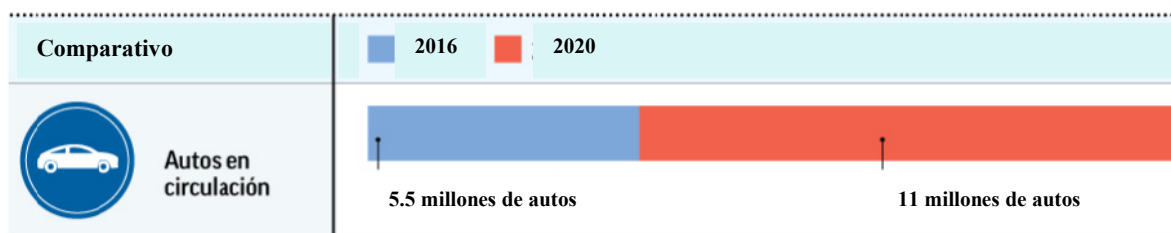


Imagen 1. Especulación de la cantidad de autos en la Ciudad de México por *El Financiero*

Además, los óxidos de nitrógeno son parte de lo que se conoce como lluvia ácida (Penner *et al.*, 1991) y que es uno de los problemas ambientales más serios relacionados con la contaminación del aire (Cowling, 1982; Norton & Veselña, 2003). Estas partículas no tienen carácter ácido mientras están en la atmósfera, pero cuando entran en contacto con la neblina, el rocío o el agua superficial, se convierten en ácidos y modifican la composición de la lluvia (Giraldo & Ángel, 2004).

2.2 Lluvia ácida

La primera persona en mencionar el término lluvia ácida fue un químico inglés en el siglo XIX, llamado Robert Angus Smith en su libro "Aire y Lluvia. Los inicios de la climatología química". A Smith le llamó la atención el cambio en la química de la lluvia, cómo los contaminantes atmosféricos son

transportados por el aire desde el centro de una zona contaminada a los alrededores de la misma (Cowling, 1982). La lluvia ácida engloba cualquier forma de precipitación que presente elevadas concentraciones de ácido nítrico y sulfúrico (Kang et al., 2017), ésta afecta los ecosistemas como los cuerpos de agua (Granados *et al.*, 2010). O'Neil y colaboradores en 2012, mencionan que el cambio climático aunado a la eutrofización influye en el aumento y proliferación de los florecimientos de cianobacterias. Aunque la precipitación es un proceso natural que limpia varios gases atmosféricos y los deposita en los ambientes terrestres y acuáticos, el exceso de estos contaminantes causa un incremento de la acidez que se observa en un nivel bajo de pH ($\text{pH} < 6$) (Babich *et al.*, 1980).

2.3 Lagos urbanos

Actualmente los seres humanos están más en contacto con los cuerpos de agua que están ubicados dentro de las ciudades, se utilizan para recreación, suministro de agua para riego u otro uso directo (Schueler & Simpson, 2001). Estos lagos son los más afectados por el fitoplancton y las cianobacterias ya que son llenados con aguas residuales sin ningún tipo de tratamiento o bien con aguas residuales tratadas, que contienen altos niveles de nutrientes como nitratos y fosfatos (Birch & McCaskie, 1999; Echarri, 2007). Estos compuestos fomentan el proceso conocido como “eutrofización cultural”, que está considerada uno de los problemas más grandes de contaminación a nivel global (Blackburn, 2013) y la severidad de ésta eutrofización (Schueler & Simpson, 2003) se traduce en una alta y fluctuante densidad del fitoplancton y otras microalgas con frecuentes cambios en su composición (Oliva *et al.*, 2008).

En la Ciudad de México como en otras ciudades del mundo, existen diferentes tamaños de lagos naturales o artificiales que son utilizados para diferentes actividades humanas. En los cuerpos de agua de la Ciudad de México los florecimientos de fitoplancton son permanentes, representando un riesgo no solo para los organismos acuáticos que habitan ahí, sino también para los visitantes y la biota de las áreas aledañas (Arzate *et al.*, 2010). Sustentado por Schjetnan y colaboradores (2003), la problemática de los cuerpos de agua en algunos lagos de México se basa en la concentración de sólidos suspendidos, además de que el agua se encuentra turbia y tiene un muy mal olor, el oxígeno disuelto es bajo (dependiendo de la especie de cianobacteria), y existe una predominancia de las cianobacterias.

Organismos como las cianobacterias y algunas clorofíceas son comunes en estos florecimientos, como lo menciona Pizzolon (1996), “las cianobacterias pueden aprovechar dichas condiciones en su beneficio formando los denominados blooms”. La UNESCO en el 2009, refiere que los blooms son el crecimiento

brusco de cianobacterias bajo determinadas condiciones ambientales como la eutrofización, aumentando su densidad celular en valores significativos.

2.4 Cianobacterias y clorofíceas

Un organismo fitoplanctónico común en los cuerpos de agua es *Scenedesmus* sp el cual tiene una amplia gama de condiciones ambientales que puede tolerar (Lürling 2003). Asimismo, otros organismos fitoplanctónicos presentes en sistemas acuáticos urbanos son las cianobacterias, ampliamente clasificadas como fotoautótrofas, contienen clorofila-*a* (pigmento universal para realizar la fotosíntesis aeróbica), y una serie de pigmentos accesorios y protectores. Algunas especies pueden tener también clorofila *b* y *c*. Estos organismos están entre las formas de vida más antiguas en la tierra (3,600 millones de años), algunas son capaces de producir una variedad de compuestos bioactivos; alcaloides, péptidos y polisacáridos (cianotoxinas); varios de estos químicos son dañinos para otros organismos (Kaebernick, 2001). Las cianobacterias pueden crecer en condiciones no óptimas para el fitoplancton, gracias a su adaptabilidad a intensidades de luz bajas o extremadamente altas, algunas cianobacterias como *Microcystis* pueden tolerar la radiación solar, crecer y se acumularse en regiones próximas a la superficie del agua (UNESCO, 2009).

2.5 Cianotoxinas

De manera general, conforme a su forma provocar daño a animales o humanos las cianotoxinas se clasifican en cuatro grupos: neurotoxinas, hepatotoxinas, citotoxinas y toxinas gastrointestinales (Codd, 1995). Muchas cianobacterias contienen las cianotoxinas, las cuales generalmente son liberadas hasta su muerte. La exposición de las células a concentraciones estresantes de factores físicos o químicos, sirve como desencadenante de apoptosis celular (Karjalainen *et al.*, 2007). Las cianotoxinas son importantes causales de impacto ecológico sobre la red trófica, por ejemplo, los peces pueden mostrar daños en su factor de supervivencia y éxito reproductivo (Singh & Agrawal, 2007).

Las cianobacterias del género *Microcystis* son uno de los formadores de florecimientos más comunes en los sistemas de agua (Downing *et al.*, 2001), también conocida por la producción de cianotoxinas, que, en exposiciones a largo plazo (dosis crónicas), han sido asociadas con afectaciones a la salud del humano como promover la formación de tumores (Davis *et al.*, 2009). La Organización Mundial de la Salud (OMS) estableció un valor guía provisional para microcistinas en agua potable de 1µg/L; sin embargo, para los lagos recreacionales los valores de microcistinas varían como se muestra a continuación.

Niveles guía de la OMS	Células cianobacteriales y niveles de clorofila	Riesgo para la salud	Acciones recomendadas
Bajo	<20.000 cél/ml células cianobacteriales totales ó <10µg/L clorofila- <i>a</i> con dominancia de cianobacterias ó <2.5 mm ³ /L de biomasa Cianobacterial	Efectos adversos para la salud a corto plazo, poco probables	Monitoreo continuo Nivel de Alerta BAJO
Moderado	20.000 a 100.000 cél/ml de células cianobacteriales totales ó 10-50µg/L de clorofila <i>a</i> con dominancia de cianobacterias ó 2.5-12.5 mm ³ /L de biomasa cianobacterial	Efectos de adversos para la salud a corto plazo Ej. Irritaciones de la piel, enfermedades gastrointestinales, probablemente de baja frecuencia	Agregar señales para indicar: Nivel de Alerta MODERADO Incremento de riesgo para la salud por natación y otras actividades
Alto	Formación de espuma/nata cianobacterial en área de contacto recreacional ó >100.000 cél/ml de células cianobacteriales totales ó >50 µg/ de clorofila <i>a</i> con dominancia de cianobacterias ó 12 mm ³ /L de biomasa cianobacterial	Efectos adversos para la salud a corto plazo tales como irritaciones de la piel o enfermedades gastrointestinales después de contacto o ingesta accidental. Intoxicación aguda severa, es posible en los peores casos de ingestión	Inmediatas acciones para prevenir el contacto con la espuma/nata Agregar señales para indicar Nivel de Alerta ALTO Aviso de peligro para natación y otras actividades de contacto con el agua

Imagen 2. Valores guía de la OMS para aguas de uso recreacional (Sangolkar et al. 2009)

En el presente estudio se planteó estudiar el efecto del ácido nítrico como componente de la lluvia ácida sobre la densidad celular de *Microcystis panniformis* y la clorofíceas *Scenedesmus* sp y la cantidad de microcistinas generadas en sistemas eutróficos como son los lagos urbanos; así como precisar si el efecto de ácido nítrico en la densidad y producción de cianotoxinas se ve modificado en presencia de ácido sulfúrico.

3. Antecedentes

Sedmark & Kosi (1998) enfatizan la ventaja que presenta *Scenedesmus* sp ante el declive de un florecimiento de cianobacterias, después de ser dominantes en un intervalo de tiempo reducido, para confirmar la teoría, en un experimento en laboratorio, se cultivó *Scenedesmus* sp. y posteriormente fue añadida el agua filtrada de un florecimiento, el resultado fue un aumento de la densidad de la clorofícea en la presencia de la microcistina, de lo se infiere que las toxinas actúan como estimulador, debido a que ambas especies suelen interactuar en el mismo medio.

En 2002 Huang y colaboradores trabajaron con la cianobacteria *Synechocystis* sp la cual fue utilizada en una investigación en relación a los cambios en la expresión de los genes, la cianobacteria fue expuesta a radiación de luz UV de longitud de onda intermedia o luz blanca de alta intensidad, encontraron que *Synechocystis* sp es ácido-tolerante manteniendo el pH del citoplasma neutral.

En 2009 Gustafsson *et al.* investigaron el efecto del alguicida en un biosurfactante producido por la bacteria *Pseudonoma aeruginosa* y otras cianobacterias como *Microcystis aeruginosa*, encontrando que, aunque en altas concentraciones tiene un efecto letal, en concentraciones menores no tienen el mismo efecto, debido a que la célula mantiene la estabilidad de la membrana.

Maske *et al.* en 2010 trabajó con lagos urbanos importantes en relación a actividades recreacionales realizadas ahí, se analizó el papel alelopático que presentan los florecimientos de *Microcystis* con respecto al fitoplancton (clorofíceas) presentes en el mismo lago, además del incremento de la densidad celular de la cianobacteria en época de monzón y veranos.

Jensen en el 2011 realizó un monitoreo de los valores de pH presentes en un cuerpo de agua, observando que a diferentes horas del día los valores de pH variaban empezando por un valor aproximado de 7 durante la noche y de 9.2 a 9.8 al mediodía, este fenómeno indica presencia de largos periodos de actividad fotosintética.

4. Justificación

Las ciudades que están altamente industrializadas, suelen presentarse problemas mayores de contaminación ambiental, los niveles de contaminantes dependen del grado de emisiones atmosféricas provenientes de diversas fuentes, que aumentan la concentración de éstos en la atmósfera y su presencia se ve disminuida a medida que las precipitaciones son mayores, y dependiendo de la intensidad y duración de la lluvia será la cantidad de elementos contaminantes que se transporten hacia los diversos ecosistemas, como resultado, la frecuencia de la lluvia ácida de origen antropogénico aumenta (Garcés, 2004). La lluvia ácida puede dañar todo lo que entra en contacto con ella, afecta bosques, cuerpos de agua, el suelo y la salud de los seres vivos (Bhargava & Bhargava, 2013). Es uno de los problemas ambientales más severos cuyo origen o formación se debe al incremento en la contaminación del aire (Metha, 2015). Es importante por el hecho de que los contaminantes atmosféricos pueden convertirse en contaminantes del agua (Mishra, 2008). Por otra parte, debido a que los florecimientos de cianobacterias se han convertido en un problema grave, esto debido a que algunas cianobacterias han sido reportadas como capaces de producir metabolitos secundarios tóxicos para muchos organismos, incluidos los humanos (De Figueiredo *et al.*, 2004); es importante abordar el tema considerando que se ha prestado una atención mínima a las cianobacterias en los cuerpos de agua urbanos. Una de las cianobacterias que tiene mayor interés a nivel mundial es *Microcystis*, la cual es un género que se relaciona frecuentemente con florecimientos algales hepatotóxicos, estos pueden afectar al humano si quedan bajo una exposición crónica a bajas concentraciones de microcistinas en el agua para consumo; lo anterior es importante para la salud pública entre otras cosas. Asimismo, también representan un riesgo ecológico debido a que estas se bioacumulan en vertebrados e invertebrados acuáticos comunes (García, 2009), además de que el crecimiento de cianobacterias productoras de toxinas en los lagos puede reducir la calidad de agua (Quin *et al.*, 2000). La falta de estudios acerca de las cianobacterias y su estrecha relación con efectos del cambio climático tales como la lluvia ácida y sus efectos ecológicos, inspiran a una investigación más profunda. En este contexto, el aumento de temperatura y los cambios de los patrones de precipitación pueden tener efectos sinérgicos significativos sobre los procesos de eutrofización en los ecosistemas acuáticos. Sin embargo, las evidencias no son definitivas (UNESCO, 2009). Por tales razones, el motivo de la realización de este trabajo fue determinar si la presencia del ácido nítrico, por ser uno de los contaminantes más importantes en el proceso de la lluvia ácida, afecta positiva o negativamente la densidad de las cianobacterias y las clorofíceas, desde una perspectiva del estrés producido por los ácidos. Además, se

buscó analizar si la presencia de ácido sulfúrico, otro componente de la lluvia ácida, modifica el efecto del ácido nítrico.

5. Hipótesis

Si los óxidos de nitrógeno están presentes en las ciudades por la elevada cantidad de autos, y estos a su vez provocan el incremento de los óxidos de nitrógeno en la atmósfera, la lluvia tomará estos elementos depositándolos en los cuerpos de agua en forma ácidos.

Si los cuerpos de agua de las ciudades son eutróficos, y la lluvia se presenta de manera constante es así que el ácido nítrico presente en la lluvia ácida favorecerá la densidad de las cianobacterias y clorofíceas. En el mismo sentido la suma de ácidos comunes (ácido nítrico y ácido sulfúrico) de la lluvia ácida incrementará la densidad celular. A lo largo del día el pH del agua subirá favoreciendo el aumento de la densidad celular. Finalmente, si la densidad celular de las cianobacterias aumenta, las cianotoxinas lo harán de igual manera.

6. Objetivos

6.1 Objetivo general

- ✚ Analizar el efecto del ácido nítrico (como componente de la lluvia ácida) sobre la cianobacteria (*Microcystis panniformis*) y la clorofícea (*Scenedesmus* sp) presentes en 2 lagos urbanos de la Ciudad de México (Lago de Tezozómoc y Lago de Chapultepec).

6.2 Objetivos particulares

- ✚ Evaluar el efecto sobre la densidad celular de *Microcystis panniformis* y de *Scenedesmus* sp expuestas a ácido nítrico.
- ✚ Determinar la concentración de microcistinas presente en ambos cuerpos de agua y en las células, expuestas al ácido nítrico
- ✚ Determinar si existe una correlación entre la densidad celular y la cantidad de microcistinas
- ✚ Determinar si el efecto del ácido nítrico en la densidad y producción de cianotoxinas se ve modificado en presencia de ácido sulfúrico.

7. Materiales y Métodos

7.1 Zonas de muestreo

Lago Tezozómoc

La muestra fue recolectada en el lago de Tezozómoc en la delegación Azcapotzalco, Ciudad de México, que se encuentra en las coordenadas 19° 29' 05" N y 99° 12' 38" W, con una altitud de 2250 msnm. La superficie del lago es de aproximadamente 17,000 m², con una profundidad mínima de 0.5 m y una máxima de 2.10 m, con capacidad de 33,000 m³. El agua que lo abastece proviene de la planta de tratamiento "El Rosario" (Contreras *et al.*, 2007).

El único pez que habita en el lago es *Poecilia reticulata* y existe un número importante de tortugas (*Trachemys* sp). Se encuentran diferentes especies de aves acuáticas, como el zambullidor pico pinto (*Podilymbus podiceps*), el pato de Pekín o blanco (*Anas platyrhynchos* Linnaeus), el pato golondrino (*Anas acuta*) y el pato tepalcate (*Oxyura jamaicensis* Gmelin), entre otros (Oliva *et al.*, 2008).



Figura 1. Ubicación del Lago Tezozómoc, Ciudad de México por Google Earth. El rectángulo rojo indica la ubicación de donde fue tomada la muestra. Imágenes de la zona de muestreo y la red de 20 μ m con la que fue filtrada

Lago de Chapultepec

En Chapultepec hay tres lagos, el Lago Viejo, el Lago Mayor y el Lago Menor. Se ubican en la Ciudad de México a 2,240 msnm.

De los tres lagos existentes en Chapultepec, se trabajó con el lago Viejo el cual se ubica a los 19° 25' 18"norte y los 99°11'09" oeste. Los tres lagos mantienen su nivel con el efluente de la planta de tratamiento secundario; en el caso del Lago Viejo se reciben aguas del Río Hondo. Pertenecen a la Cuenca del Valle de México. El clima de la zona es templado con lluvias en verano (Navarrete *et al.*, 2003).



Figura 2. Ubicación Lago de Chapultepec, Ciudad de México por Google Earth. Rectángulo rojo indica la zona exacta de donde fue tomada la muestra. Imágenes del lugar de muestreo.

7.2 Toma de la muestra

Para la realización de este trabajo, se tomaron 2 muestras seleccionadas para el aislamiento de cianobacterias y clorofíceas. Estas fueron colectadas en el lago de Tezozómoc en donde predomina la abundancia en cianobacterias y en lago Chapultepec específicamente en el lago Viejo, debido a la presencia de un crecimiento desmedido de fitoplancton (Alcocer *et al.*, 1988). Las muestras fueron colectadas con la ayuda de una red de abertura de malla de 20 μ m que permite una mejor recolección de los organismos (Figs. 3 y 4), en el caso del lago de Tezozómoc se utilizaron guantes de látex para evitar el contacto directo con las cianobacterias. En ambos lagos se tomó el pH in situ con el medidor de pH marca HANNA siguiendo los pasos marcados por el fabricante.

Para almacenar las muestras fueron utilizadas botellas de plástico con tapa de rosca, para su transporte hasta el laboratorio.



Figuras 3 y 4. Toma de muestra de Tezozómoc con una red de 20 μ m de apertura de malla.

7.3 Identificación de la muestra

La muestra fue dividida en 2 porciones, la primera parte fue observada e identificada en el microscopio con base en el manual para la identificación y medidas de gestión de Bonilla, 2009.

La segunda fracción de la muestra fue preservada en solución lugol (10%) lo que permitió su conservación para un conteo celular en fechas subsiguientes.

7.4 Fase de estandarización

Elección de las muestras: Se seleccionaron 2 lagos de la Ciudad de México, Tezozómoc y , Chapultepec el lago de Tezozómoc por tener predominancia en *Microcystis* y el lago de Chapultepec por tener predominancia de *Scenedesmus* permitiendo una comparación entre ambos organismos que habitan sistemas hipereutróficos.

Elección de la forma del contaminante: ácido nítrico en vez de óxido de nitrógeno porque en lluvia ácida, el óxido de nitrógeno se convierte en ácido nítrico; además, es más sencillo de manejar el contaminante en forma líquida.

Tamaño y material del recipiente para el diseño de la unidad experimental: En un recipiente de vidrio para evitar que reaccione con los ácidos, en un frasco vial con tapón de rosca que permite actuar como sistema cerrado, mediante pruebas preliminares se seleccionaron viales de 8 ml porque no se observó diferencia con respecto al frasco vial de 20 ml. Durante la fase de estandarización debido al exceso de producción de oxígeno se llegaron a destapar, durante la fase experimental estos fueron sellados con cinta. En un experimento anterior se pusieron agujas en los viales para ver como reaccionaban al intercambio gaseoso, pero al hacer esto, solo sobrevivían 2 días y morían las cianobacterias

Cultivo en Z8: Se realizaron pruebas en el crecimiento de *Scenedesmus* sp y se observó que su crecimiento era constante al ser cultivado en medio Z8.

Cantidad de ácido: se utilizaron 2 μ L porque esto permite que el pH no baje de 7 además de que coincide con la Dirección de Monitoreo Atmosférico que es un mecanismo para informar a la población acerca de los niveles que alcanzan los principales contaminantes en la ciudad, donde se usó el promedio de los mínimos (\sim 2 ppm de óxidos de nitrógeno).

Para observar con mayor detalle la fase de estandarización ver el anexo 1

7.5 Fase experimental

Los experimentos se realizaron en frascos viales de 8 ml, la cantidad de ácido añadida a cada vial fue con base en el pH, cuidando que no bajara de un valor de 7 debido a que a un valor menor las cianobacterias y clorofíceas no pueden sobrevivir, obteniendo, 2 μ L de ácido sulfúrico y 2 μ L de ácido nítrico (basado en la dirección de monitoreo atmosférico), una vez establecida se puso la cantidad completa asignada en microlitros, la mitad de esa cantidad, la muestra directa con solo bicarbonato (referido como grupo control 0), la muestra directa con 4ml de muestra directa del lago y 4 ml de Z8 (control) y la muestra sola del lago (muestra inicial) cada uno con 3 repeticiones.

H ₂ SO ₄ (μL)	pH	HNO ₃ (μL)	pH	H ₂ SO ₄ + HNO ₃ (μL)	pH
0	8.74	0	8.74	0	8.74
+1	8.8	+1	8.60	+1	7.69
+1	7.42	+1	7.4	+1	7.00

Tabla 1. Descripción de la cantidad de μL usados para mantener un pH en promedio de 7

Los frascos viales se colocaron aleatoriamente en una bandeja, cercana a una fuente de luz con una intensidad lumínica de $\sim 26.92 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de fotones y que fue medida con el dispositivo Quantum flux -Meter, modelo MQ-200. Las lámparas se mantuvieron con 12 horas de luz y 12 de obscuridad. Durante el proyecto, cada uno de los experimentos fue supervisado cada 24 horas. Esto hasta que las cianobacterias y clorofíceas mostraron un ligero cambio de color (amarillo) que indicaba muerte celular.

7.6 Análisis cuantitativo densidad celular

Para la determinar la densidad inicial de la muestra de Chapultepec, ésta se tomó directa del lago y su posterior uso en los tratamientos. Para las muestras del lago de Tezozómoc se llevó a cabo un tratamiento diferente que se describe a continuación: para excluir colonias de *Microcystis* se filtró la muestra en una red con apertura de malla de 50μm; a pesar de esto las colonias contenían más de 100 células así que se separaron con el sonicador (Ultrasonic LC 30 H a base de agua), la muestra fue sonicada durante 1, 2, 5, 10 y 15 minutos. El mayor periodo de sonicación fue el de 15 minutos, en el cual las cianobacterias quedaban agrupadas en grupos de 10 células por colonia. Se hizo el conteo de todas las celdas de la cámara con un factor de multiplicación de 10^4 para *Scenedesmus* y 10^5 para *Microcystis* por la diferencia de densidad celular en cada uno de los lagos.

6.7 Determinación de la concentración de Clo-*a*.

Se procesaron las muestras con base en el método indicado por Chorus (1999). Al finalizar el experimento las muestras fueron filtradas, aplicando vacío, con filtros Whatman de 47 mm de apertura. Una vez que la filtración se completó, se les adicionó a las muestras 5ml de acetona posteriormente se mantuvieron envueltas con papel aluminio para protegerlas en la obscuridad y a temperaturas de congelación a -4° por 24 horas, finalmente se midió la absorbancia por medio del fluorómetro (Turner Designs Instrument modelo 720-000).

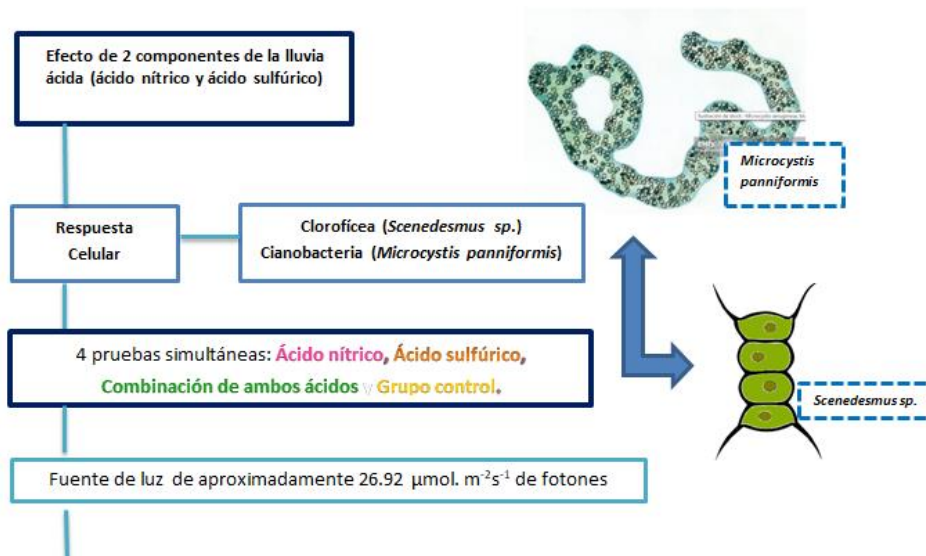


Figura 7. Preparación de las muestras para análisis de Clorofila-*a*

7.8 Determinación de cianotoxinas

Se procesaron las muestras mediante el método de congelación- descongelación-sonicación (UNESCO, 2009). La congelación de las muestras fue a 0° C, después se descongelaron y se sonicaron durante una hora en un equipo Ultra Sonic LC 30 H a 50 hzt. Este procedimiento se repitió 3 veces. Finalmente se hizo la prueba de ELISA para determinar la cantidad de microcistina presente en los dos diferentes lagos. Para llevar a cabo esta prueba se siguieron los pasos marcados por EnviroLogix, QualiTube™ Kit For Microcystin.

8. Diagrama de flujo del diseño experimental



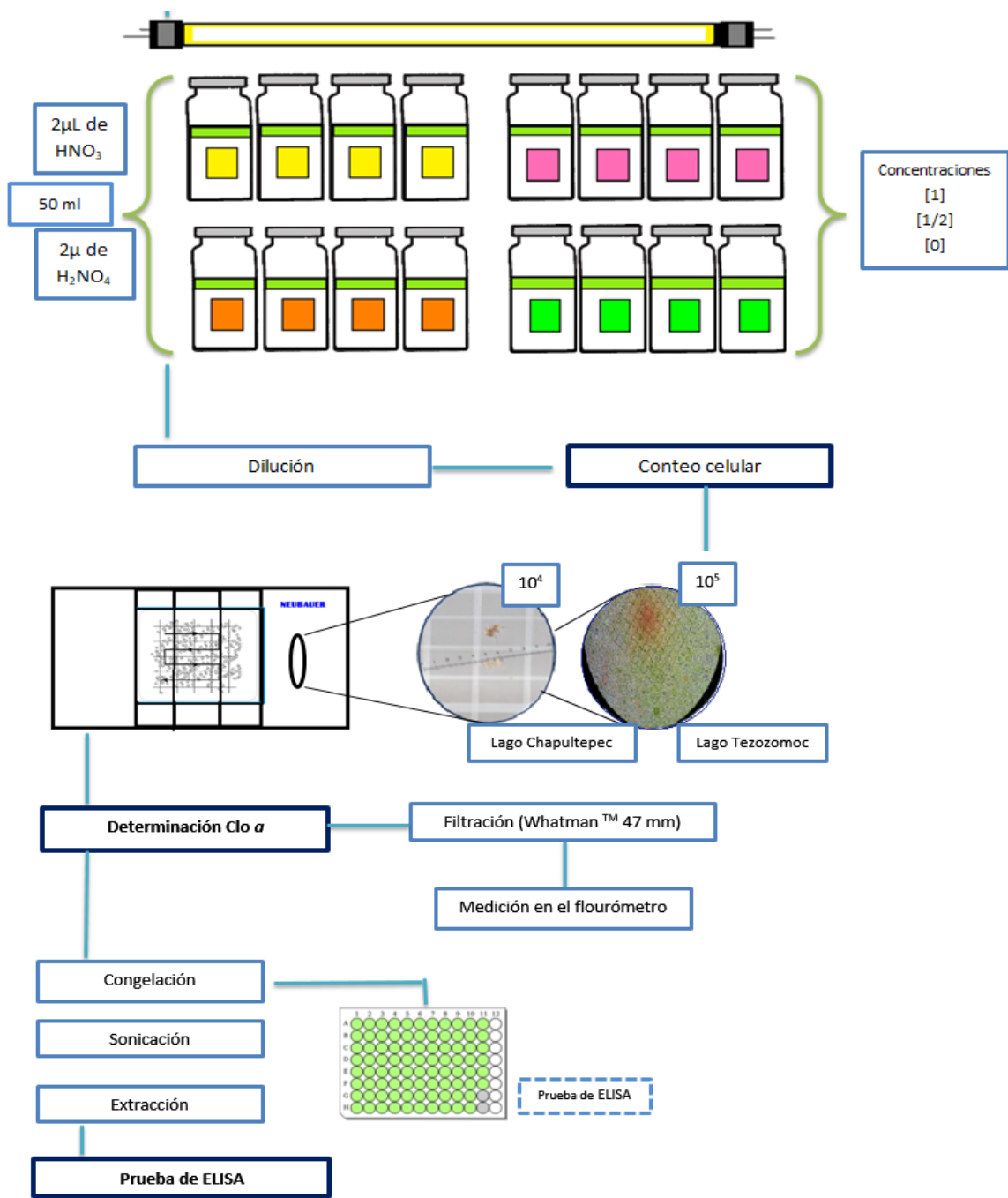


Figura 8. Diagrama de flujo del diseño experimental

Análisis estadístico

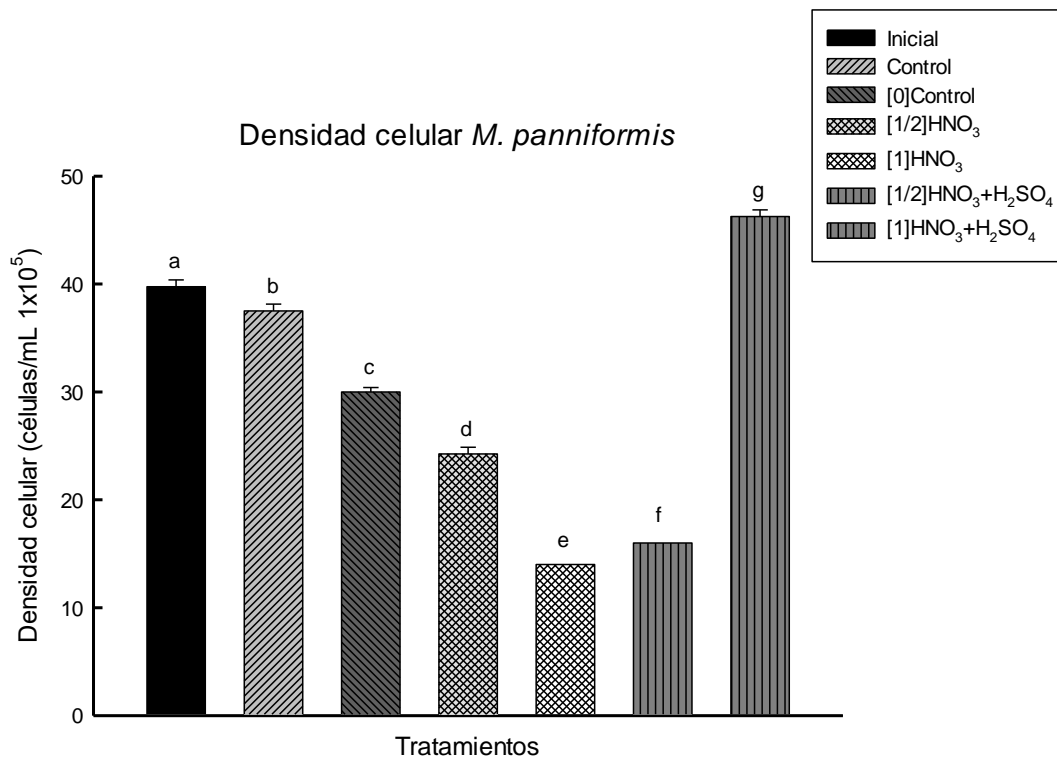
Se realizó un análisis de varianza (por sus siglas en inglés ANOVA) para ver si existía diferencias significativas entre cada uno de los tratamientos; ácido nítrico, [½] de ácido nítrico, ácido sulfúrico, [½] de ácido sulfúrico, ácido nítrico y sulfúrico y el grupo control. Se hizo el análisis estadístico con el programa de Sigma Plot 11.

9. Resultados

9.1 Densidad celular

Se realizó un conteo de la densidad celular de *M. panniformis* y se comparó con los demás tratamientos, su efecto en temporada de lluvias y secas, así como su relación con la cantidad de microcistinas en cada uno de las temporadas y tratamientos.

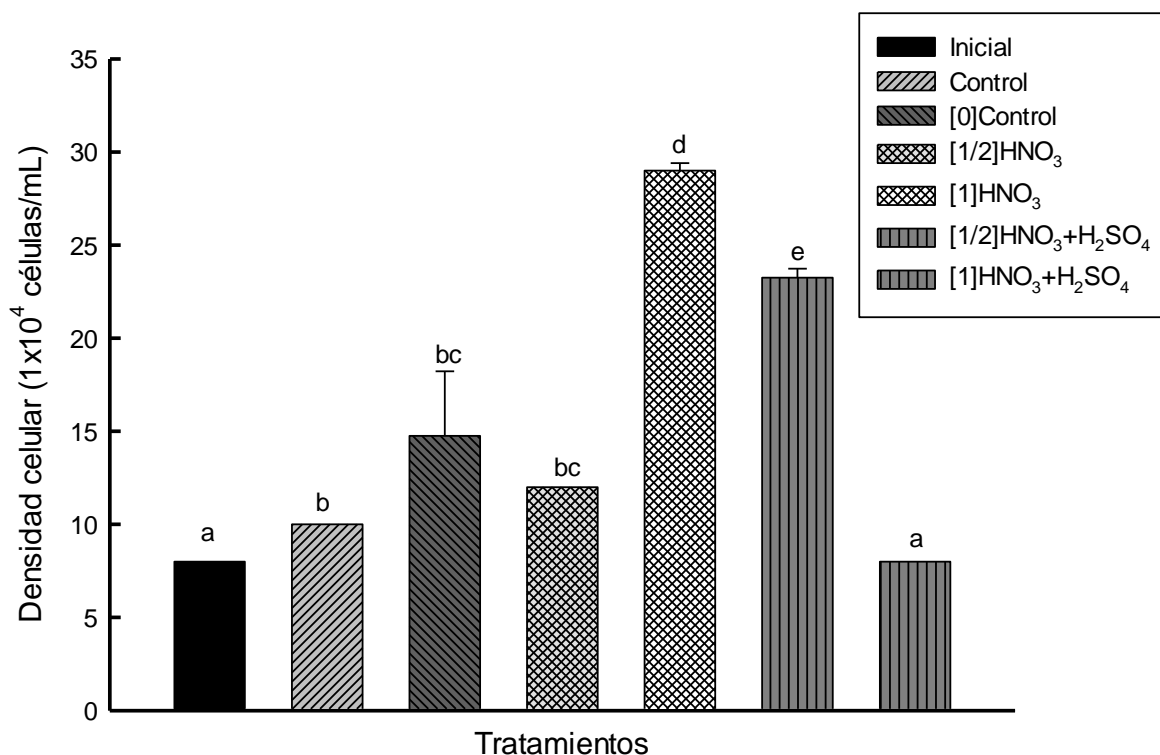
En la representación gráfica (Gráfica 1) del conteo celular de *M. panniformis* hubo valores diferentes entre todos los tratamientos (diferencias significativas), se observó que el tratamiento que tuvo mas variación entre todos, fue el de la combinación de ambos ácidos que aumenta en un 50% las células con respecto al control. Simultáneamente los procesos que tuvieron un comportamiento diferente al grupo control fueron el de [1] HNO₃ y el de [½] HNO₃ + H₂NO₄ con 45% menos células. Entre el grupo inicial y el control hubo una diferencia aunque menor a la de los demás tratamientos.



Gráfica 1. Conteo celular de *Microcystis panniformis* con respecto a los tratamientos en el lago de Tezozómoc. Las letras del alfabeto localizadas arriba de las gráficas representan las diferencias o semejanzas entre cada tratamiento.

De acuerdo al conteo celular de *Scenedesmus* sp. (Gráfica 2) las muestras varían entre sí. El tratamiento donde hubo un aumento importante de células fue el de la concentración mayor de ácido nítrico, con un valor hasta de un 100% con respecto al control. A la mitad de la concentración de ambos ácidos se tuvo un incremento en el número de células de aproximadamente el 80% con respecto al control. Por otra parte el tratamiento que tuvo un efecto desfavorable fue el de la concentración media de ácido nítrico con un decremento del 15% con respecto al control. Los tratamientos restantes no tuvieron una diferencia considerable con respecto al grupo control.

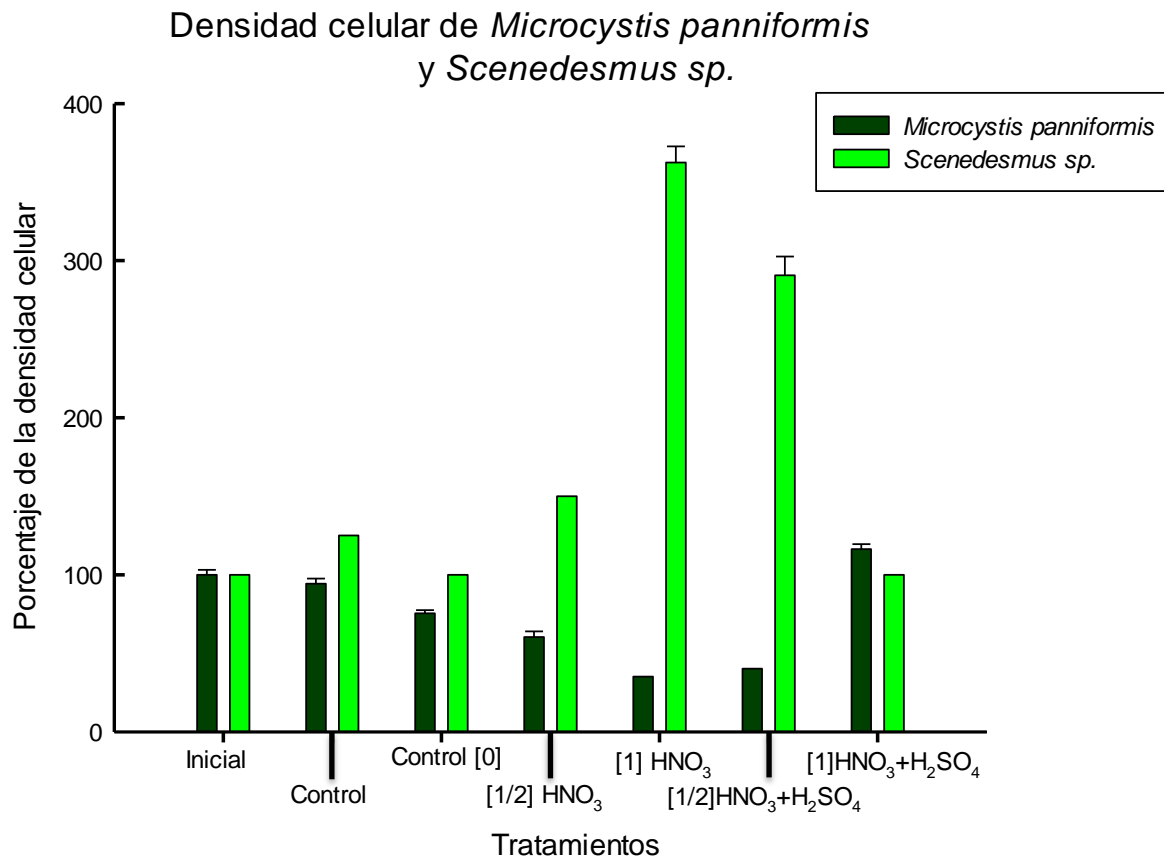
Densidad celular *Scenedesmus* sp.



Gráfica 2. Conteo celular de *Scenedesmus* sp. con respecto a los tratamientos en el lago de Chapultepec, valores mostrados con promedios (\pm). Las letras arriba de las gráficas corresponden a las similitudes o diferencias entre cada tratamiento.

9.2 Comparación entre la densidad celular

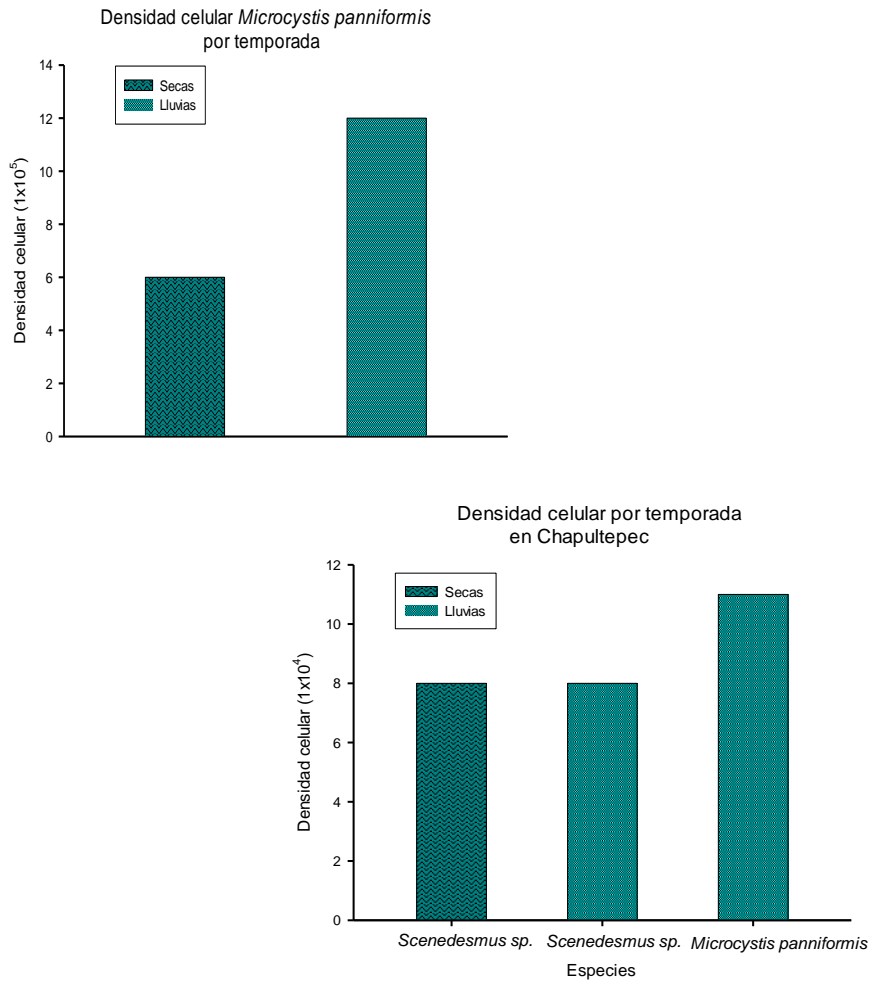
En la gráfica 3, los grupos iniciales en los dos organismos empiezan con un valor semejante; sin embargo, en presencia de los diferentes tratamientos, el ácido nítrico afectó positivamente el aumento del número de células en el lago de Chapultepec, seguido de la concentración media de la combinación entre HNO_3 y H_2NO_4 . *Scenedesmus sp.* comparado con *M. panniformis* muestra una respuesta positiva en el aumento de número de células en cada uno de los tratamientos.



Gráfica 3. Comparación entre el número de células de los dos lagos a estudiar y los tratamientos, los valores se muestran con desviación estándar.

9.3 Comparación densidad celular por temporadas (secas/lluvias)

En la gráfica 4 se observa la comparación entre dos temporadas del año enfocados en la diferencia entre secas y lluvias; y también comparándolas entre los dos lagos con diferentes características; *Microcystis panniformis* para Tezozómoc y *Scenedesmus* sp. para Chapultepec.



Grafica 4. Densidad celular en las época de lluvias y secas, en los lagos de Tezozómoc y Chapultepec

El crecimiento celular fue considerablemente mayor (100%) en época de lluvias (junio) que en la época de secas (abril) en Tezozómoc donde la cantidad de *Microcystis panniformis* fue de hasta 600,000 células más; sin embargo, en el lago de Chapultepec solo se encuentra en la temporada de lluvias y en una cantidad considerablemente menor a la del lago de Tezozómoc, esto es 109,200 células menos. En contraste, los valores asignados para determinar el número de células cambia de acuerdo al lago, quedando 10^4 para el lago de Chapultepec y 10^5 para el lago de Tezozómoc.

9.4 Concentración de microcistina

En la tabla 1 se muestra la concentración de microcistina, atribuida a *Microcystis panniformis*, con los tratamientos. En ésta no se muestran valores de microcistina ya que sólo se registró la presencia de clorofíceas, las cuales no contienen esta cianotoxina, además se hizo el análisis en época de lluvias y secas, la primera temporada muestra valores de microcistina porque en esa temporada si estaba presente *Microcystis panniformis*.

En la tabla 2, con respecto al control, el valor más significativo fue el de la concentración alta de ácido nítrico, con un incremento del 3%; sin embargo, donde se encontró una menor cantidad de microcistina fue en el tratamiento de la combinación de ácidos, con un 37 % menos de microcistina. Finalmente se realizó la prueba sobre temporadas, donde el valor más representativo fue el de la época de lluvias con un 86% más de microcistina.

Tratamientos	Concentración de microcistina µg/L	Desviación estándar (±)
Inicial	0	0
[0] Control	0	0
[1/2] HNO ₃	0	0
[1] HNO ₃	0	0
[1/2] HNO ₃ +H ₂ SO ₄	0	0
[1] HNO ₃ +H ₂ SO ₄	0	0
Secas	0	0
Lluvias	2.79	0.06

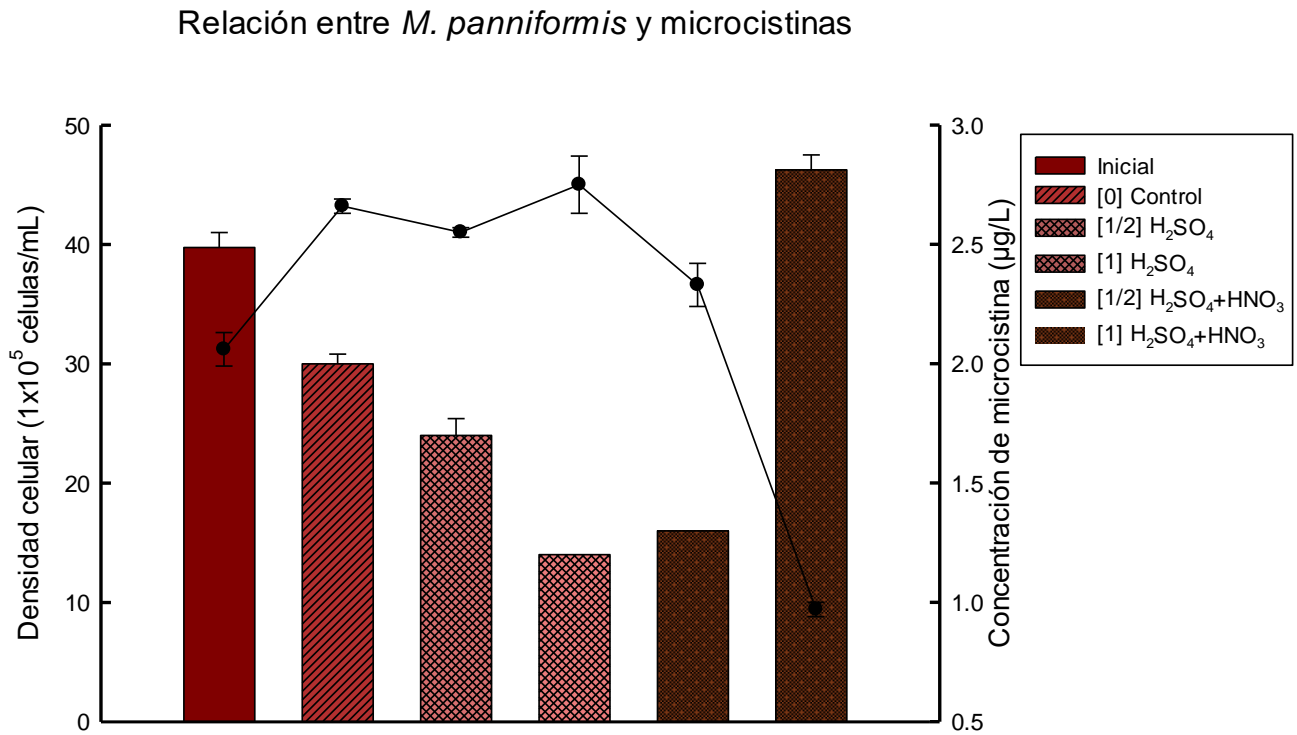
Tabla 1. Concentración de equivalentes microcistina presente de *Microcystis panniformis* en el lago de Chapultepec

Tratamientos	Concentración de microcistina µg/L	Desviación estándar (±)
Inicial	2.06	0.07
[0] Control	2.66	0.03
[1/2] HNO ₃	2.55	0.02
[1] HNO ₃	2.75	0.12
[1/2] HNO ₃ +H ₂ SO ₄	2.33	0.09
[1] HNO ₃ +H ₂ SO ₄	0.97	0.03
Secas	2.29	0.06
Lluvias	4.94	0.03

Tabla 2. Concentración de equivalentes de microcistina, atribuida a *Microcystis panniformis* en el lago de Tezozómoc.

9.5 Relación entre *Microcystis panniformis* y microcistinas

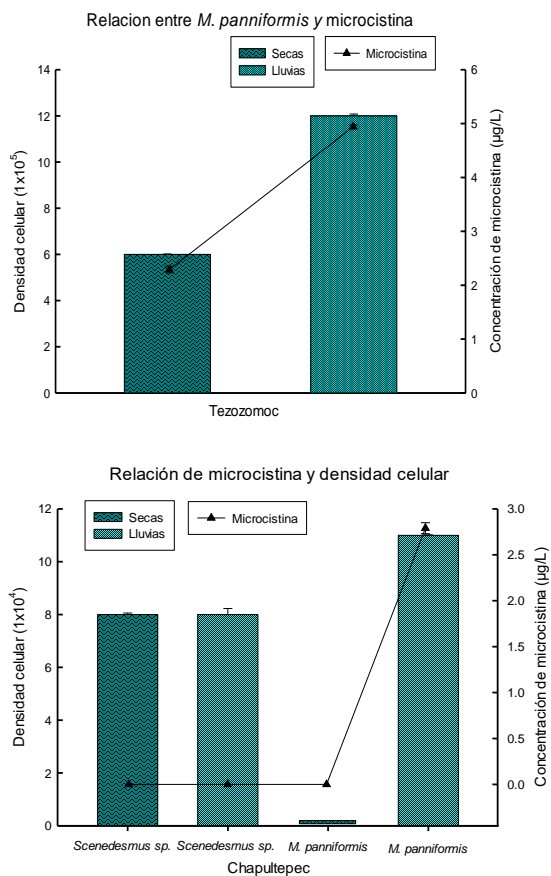
La gráfica 4 sirve para ilustrar la correlación entre la microcistina y los tratamientos, cabe resaltar que donde se encuentra mayor cantidad de número de células (48×10^5) es con el tratamiento [1] $\text{H}_2\text{NO}_4 + \text{HNO}_3$ pero la cantidad de microcistina decrece ($1.0 \mu\text{g/L}$) y donde la cantidad de células es menor (13×10^5) con el tratamiento [1] HNO_3 la cantidad de microcistina aumenta ($2.7 \mu\text{g/L}$).



Gráfica 4. Relación entre el número de células y microcistinas presentes de acuerdo a los tratamientos en Tezozómoc.

9.6 Relación entre *M. panniformis* y microcistina de acuerdo con la temporada

Al igual que la gráfica anterior, la gráfica 5 muestra la correlación entre el número de células y la cantidad de microcistina presente en el lago de Tezozómoc y Chapultepec, adicionalmente la gráfica muestra las diferencias entre las temporadas de lluvias y secas. En ambos lagos la cantidad de células presentes aumenta en época de lluvias, por otra parte es importante el hecho de que la cantidad de microcistina presente en el lago de Chapultepec es considerablemente menor al del lago de Tezozómoc, esto se debe a los diferentes organismos presentes en cada lago, predominando en Chapultepec *Scenedesmus* sp. a excepción de la temporada de lluvias donde estuvo presente *Microcystis panniformis* con su consecuente aporte de microcistina.



Gráfica 5. Comparación entre la densidad celular y la cantidad de microcistina en la época de lluvias y secas

9.7 Análisis de varianza

Para el análisis de varianza se registro la densidad celular de *Scenedesmus* sp. y *Microcystis panniformis*. Se detectó una diferencia significativa de la densidad celular en los dos lagos.

Fuente de variación	GL	SC	CM	F	P
Entre tratamientos Chapultepec	6	1803.429	300.571	870.621	<0.001
Residual	21	7.250	0.345		
Total	27	1810.679			

Tabla 3. ANOVA una vía de los tratamientos observados en densidad celular de *Scenedesmus* sp. de Chapultepec. Gl=Grados de libertad, Sc=Suma de cuadrados, Cm=cuadrado medio, F=F-ratio

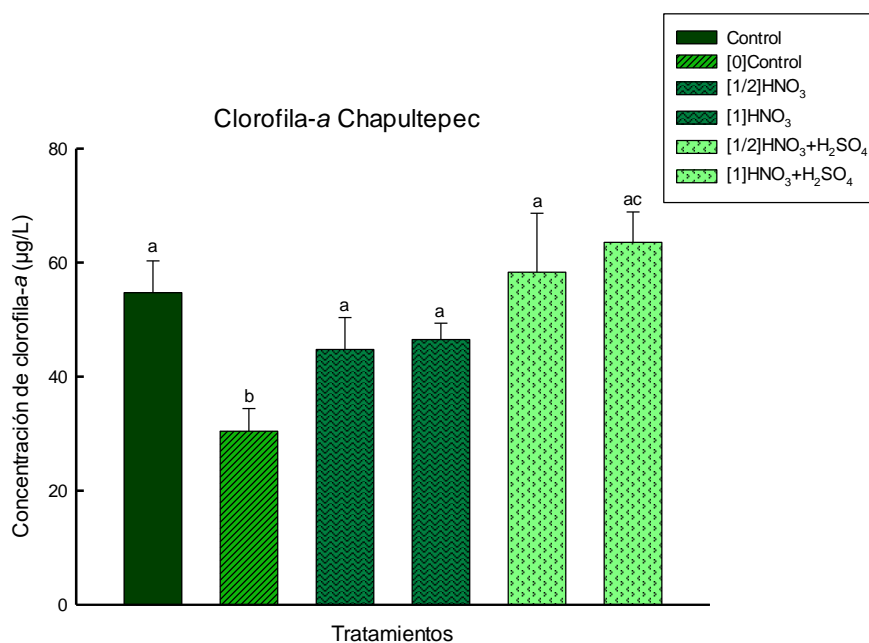
Fuente de variación	GL	SC	CM	F	P
Entre tratamientos	6	3609.929	601.655	561.44	<0.001
Tezozómoc					
Residual	21	22.500	1.071		
Total	27	3632.429			

Tabla 4. ANOVA una vía de los tratamientos observados en densidad celular de *Microcystis panniformis* de Tezozómoc. Gl=Grados de libertad, Sc=Suma de cuadrados, Cm=cuadrado medio, F=F-ratio

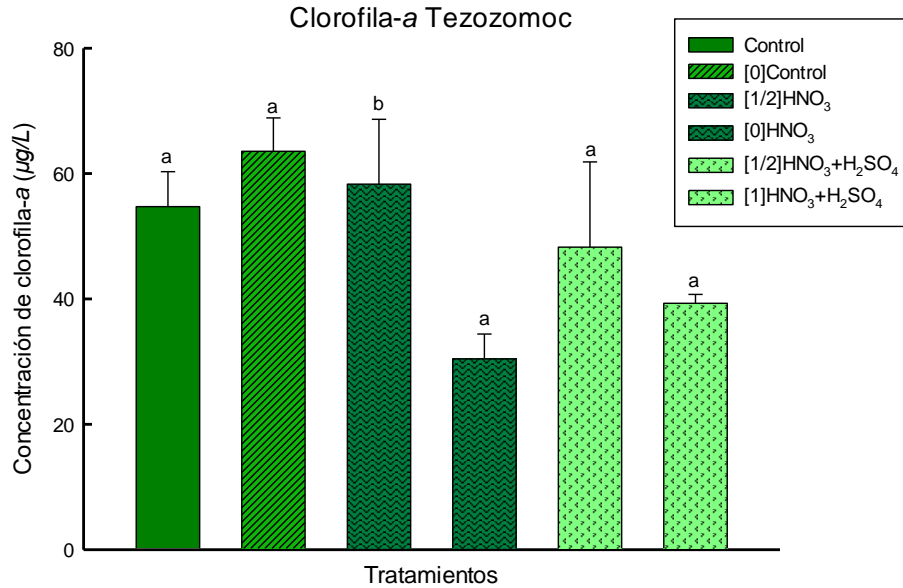
En el análisis de varianza (Tabla 4) el valor de F es significativamente distinto de 1 por lo tanto se rechaza la hipótesis nula de igualdad de medias y queda confirmada que hay diferencias significativas.

9.8 Cuantificación de clorofila- α

Los resultados mostrados en la gráfica 8, se refieren a la concentración de clorofila- α , presente en el lago de Chapultepec, donde no hay diferencias significativas en ningún tratamiento. En cuanto a la clorofila- α del lago de Tezozómoc, el tratamiento que tuvo diferencias significativas fue el de la concentración media de ácido nítrico. Los valores se muestran con desviación estándar (\pm)



Gráfica 7. Cuantificación de clorofila- α en lago de Chapultepec. Las letras del alfabeto encima de las barras representan las diferencias y semejanzas entre cada tratamiento.



Gráfica 8. Cuantificación de clorofila-a con respecto a los tratamientos en lago de Tezozómoc. Las barras con letras del alfabeto representan la semejanza o diferencias entre cada tratamiento.

9.9 Análisis de varianza clorofila-a

En el análisis de varianza para los tratamientos de clorofila, el contraste entre los valores de las medias es $P=0.011$, la cual no entra dentro del intervalo de confianza del 95% siendo que el valor es mayor a 0.05.

Fuente de variación	GL	SC	CM	R	P
Entre tratamientos	5	2091.145	418.229	3.765	<0.001
Residual	12	1332.919	111.077		
Total	17	3424.063			

Tabla 5. ANOVA de una vía, de los tratamientos de clorofila en *Scenedesmus* sp. de Chapultepec
GL=Grados de libertad, Sc= Suma de cuadrados, Cm=Cuadrado medio, F=F-ratio.

<i>Fuente de variación</i>	<i>GL</i>	<i>SC</i>	<i>CM</i>	<i>R</i>	<i>P</i>
<i>Entre tratamientos</i>	5	6426.232	1285.246	4.925	0.011
<i>Residual</i>	12	3131.431	260.953		
<i>Total</i>	17	9557.663			

Tabla 6. ANOVA de los tratamientos de clorofila-a celular (*Microcystis panniformis*) en Tezozómoc
GL=Grados de libertad, Sc= Suma de cuadrados, Cm=Cuadrado medio, F=F-ratio.

10. Discusión

El presente trabajo se cuestionaba si el óxido de nitrógeno, componente de la lluvia ácida (como ácido nítrico en contacto con el agua), favorecería la densidad de cianobacterias (*Microcystis panniformis*) y de clorofíceas (*Scenedesmus* sp.) y a su vez aumentara la cantidad de cianotoxinas. Ambos organismos son un problema en los lagos urbanos, considerado estos como oportunidades recreacionales en la ciudad. Además de que ambos organismos son considerados cosmopolitas y capaces de ser cultivados exitosamente en el mismo medio (Lürling, 2006).

Existen diversas hipótesis de la dominancia de las cianobacterias en los lagos eutróficos, destacando la elevada temperatura del agua, la estabilidad de la columna del agua, dióxido de carbono, el pH donde en condiciones de pH alto o bajo se ha observado una hidrólisis lenta, siendo necesarias aproximadamente 10 semanas a pH de 1, y más de 12 semanas a un pH de 9, para la degradación de cerca del 90 % de la concentración total de microcistinas. (Lucena 2008), reserva de fósforo, fuentes de nitrógeno etc., todos estos mecanismos han demostrado que afectan la dominancia de las cianobacterias (Kardinaal & Visser, 2005; Nakamura *et al.*, 2008) así como la concentración de microcistina que está correlacionada a los cambios de biomasa en la cianobacteria (Tonk *et al.*, 2005). La presencia de blooms tóxicos en lagos de la Ciudad de México se han reportado en años pasados como inusuales pero las condiciones en los lagos urbanos permiten su establecimiento durante todo el año (Arzate *et al.*, 2010) tal es el caso de *Microcystis panniformis*, productora de cianotoxinas y de *Scenedesmus* sp., ambos considerados organismos cosmopolitas capaces de sobrevivir por medio de mecanismos de adaptación (López *et al.*, 2011, Wang *et al.* 2013; Velschoor *et al.*, 2009). Sin embargo, puede haber otros factores que benefician la presencia del fitoplancton, como la lluvia y su composición en la Ciudad de México (CDMX). Aun así, es necesario determinar si la presencia de las cianobacterias se relaciona con la composición de las lluvias en la CDMX, observando el cambio en los patrones de lluvia y su efecto en el fitoplancton.

Por otro parte la combinación de otros factores fisicoquímicos influye en la sobrevivencia del fitoplancton, como lo menciona Lane & Burris (1981) donde el pH es un factor que los organismos acuáticos como el fitoplancton son capaces de tolerar sus variaciones, por ejemplo, *Scenedesmus quadrata* puede regular el pH interno sin importar el pH exterior, manteniendo un valor neutro. Huang & colaboradores (2002) observó que las cianobacterias *Synechocystis* sp. son ácido-tolerantes manteniendo el pH del citoplasma neutral. Por lo tanto, el valor de los ácidos añadidos en este trabajo no fue nocivo, observando que en los conteos celulares se demostró un aumento

del 30 % con el tratamiento de 0.16 μL de ambos ácidos, y una disminución del 40 % con el tratamiento de 0.16 μL ácido nítrico. Los lagos donde se colectó el fitoplancton mantenían un pH básico, por ejemplo, en el lago de Chapultepec donde se colectó *Scenedesmus* sp., el pH oscilaba en 8.74 y en el lago de Tezozómoc el pH fue de 9, donde se recolectó *M. panniformis*. En el laboratorio se observó que al ser añadidos los ácidos nítrico y sulfúrico, el pH bajó manteniéndolo neutral (7.0), sin embargo posteriormente el pH se volvería alcalino (entre 8 y 10 dependiendo del tratamiento) ya que al aumentar la actividad fotosintética de las cianobacterias el pH se eleva generando condiciones alcalinas óptimas donde las cianobacterias crecen mejor (López *et al.*, 2004), el aumento del pH a lo largo del experimento pudo favorecer el aumento en la densidad celular de las clorofíceas y cianobacterias. Jensen en el 2011 refiere que el pH varía dependiendo de la hora del día, empezando por un valor aproximado de 7 durante la noche y de 9.2 a 9.8 al medio día, este fenómeno indica la presencia de largos periodos de actividad fotosintética. Lo antes mencionado, Menéndez y colaboradores en el 2001 lo corroboran en la laguna de Toncada en el mediterráneo, ahí el pH del agua fue de 8.3 a las 09:00 am y de 9 a las 17:00 durante el periodo estudiado.

Las emisiones de contaminantes en México no han podido ser regularizados (Mollinedo, 2006) pero en otros países como Hungría, Bélgica, Dinamarca, Suiza, Francia y Austria entre otros. A partir de 1970 ha sido un gran problema mundial y aun cuando, han disminuido hasta en un 79% las emisiones de SO_x (Seager, 2000) a partir de este mismo año las emisiones de NO_x han aumentado gracias al aumento de la cantidad de automóviles (Benkovitz *et al.*, 1996). El presente trabajo cuestiona si el ácido nítrico favorecería la densidad de cianobacterias y clorofíceas, así como la cantidad de microcistina. Se encontró que al ser agregado el ácido nítrico la cepa de *Scenedesmus* sp. se favorecía en la concentración media de 0.08 μL de ácido nítrico, registrando un valor mayor a 1.5×10^4 cel/ml, un 80% más que el grupo control. Aunque estas concentraciones de ácido nítrico varían en la naturaleza, hay estudios donde en presencia de una concentración de un agente estresante, alguicida, la densidad disminuye, pero a una concentración media se mantiene la densidad (Wang *et al.*, 2005). En el 2009 Gustafsson realizó un estudio con alguicidas en cianobacterias (*M. aeruginosa*) encontrando que su exposición a concentraciones mayores tenía un efecto negativo, pero en concentraciones menores no lo tenía en ninguna forma, pues la membrana juega un papel importante en mantener la integridad de la célula. Wu *et al.* 2006 plantea las células al ser expuestas a un ácido graso es cuando las toxinas actúan directamente en las membranas expuestas, causando un cambio en la estructura de las membranas, causando esto una alteración en la permeabilidad de la membrana que, aunque puede causar daño no es letal.

Al ser expuestas las clorofíceas al ácido nítrico, a una concentración mayor ($0.16\mu\text{l}$), la densidad celular de las algas verdes se incrementó en más de un 200%, en comparación con las cianobacterias, esto puede deberse a una dinámica compensatoria a la variación de pH. Klug *et al.* (2000).

Además, se quería determinar si al combinarse los ácidos (sulfúrico y nítrico) se favorecían aún más su densidad. En el laboratorio al ser mezclados ambos componentes de la lluvia ácida, el valor de la densidad celular aumentó a $\approx 4.5 \times 10^6$ que es un valor diferente y mucho mayor al de la cantidad de células encontradas en campo (mayor a 1×10^6 de células) en época de lluvias ya que en campo existen otras variantes que en el laboratorio se encuentran controladas.

En el lago de Tezozómoc se determinaron más de un millón de células de cianobacterias por mL en época de lluvia, esto representa un nivel de alerta ALTO según la guía de la OMS (Kay *et al.* 2004), con efectos adversos para la salud a corto plazo como irritaciones de la piel y enfermedades gastrointestinales con incluso intoxicación aguda severa. Sangolkar *et al.* (2009) utilizan la misma tabla de la OMS para analizar aguas recreacionales, donde observaron 20,000 células de cianobacterias por mililitro. Aunque ésta tabla no mide densidad celular, está relacionada a la cantidad de cianotoxinas. El lago de Chapultepec es utilizado como lugar de recreación, lo que es alarmante es que en la temporada de lluvias hay presencia de *Microcystis panniformis*, con $\sim 6,000$ cél/ml de densidad celular y $2.79 \mu\text{g/L}$ de microcistina. Estos valores reportados de densidad celular no corresponden al de la tabla de la Organización Mundial de la Salud como un nivel de alerta alto (Lozano *et al.* 2008). Sin embargo los valores de microcistina son mucho mayores ($2.79 \mu\text{g/L}$) que los encontrados en el lago de Tezozómoc, lo que nos indica que al haber más cantidad de microcistina en menor densidad celular, podría ser más tóxico, cabe destacar que la muestra fue tomada a inicios de la época de lluvia, y de acuerdo a la curva de crecimiento en las cianobacterias, aun habiendo un factor favorable, los organismos no aumentan su densidad instantáneamente (Rivera *et al.*, 2017), si se toman muestreos durante toda esta temporada se esperaría que los valores aumentaran, ya que las células de *Microcystis* son más tóxicas a una cierta tasa de crecimiento, independientemente del factor que influye en el mismo (van der Westhuizen & Eloff, 1985).

En el lago de Chapultepec la ausencia de *Scenedesmus* sp. en época de lluvias puede ser atribuido a la dominancia de cianobacterias que encuentran en esta temporada condiciones favorables, esto es corroborado por Kotak *et al.* que en el 2000 mencionan que los cambios en la abundancia del

fitoplancton son atribuidos a los cambios en la abundancia de *Microcystis*. La biomasa de *Microcystis* y la producción de toxinas, como las microcistinas, pueden reducir la abundancia de otros grupos de fitoplancton como las algas verdes (Kearns & Hunter, 2001). Aunque en estudios anteriores la microcistina ha sido reportada por tener efectos adversos en algas verdes Mohamed en 2008 demostró que *Scenedesmus quadricuada* induce la producción de un polisacárido que las protege a sí mismas del estrés oxidativo producido por la toxina y que este polisacárido incrementa con el aumento en la concentración de microcistina en el medio, lo que no fue el caso de *Scenedesmus* en el lago de Chapultepec en temporada de lluvias, la densidad celular de *M. panniformis* fue mayor, comparado con un estudio en años anteriores (2010) en el que Vasconcelos y colaboradores realizaron un análisis en cuerpos de agua eutróficos (lago de Chapultepec) encontró de igual manera *M. panniformis* con una densidad celular de $\sim 4,000$ cel/ ml, siendo mucho mayor la densidad celular encontrada en los datos de este trabajo.

Podría estar relacionada la precipitación como un posible factor en el incremento del número de células en este tipo de lagos, que en época de lluvias aumentan su densidad celular y la cantidad de microcistina, pero no siempre existe una relación entre ambas. Como en los organismos utilizados en este estudio que se esperaba que se vieran favorecidos tanto en la densidad celular como en la cantidad de microcistina, pero no hubo una relación de proporción. En los resultados del lago de Tezozómoc la cantidad de microcistina fue de $4.94 \mu\text{g/L}$ y una densidad celular $\sim 12 \times 10^5$ cel/ ml en época de lluvias. Un patrón similar se observó en Toledo, Ohio en la temporada de lluvias (2017 US Climate data) donde en esa temporada aumenta el número de células, pero la cantidad de microcistina es menor. Rinta-Kanto *et al* (2009) refuta esta observación en el lago Rotorua, Nueva Zelanda que en el evento más extremo de lluvia coincide con la rápida disminución de la biomasa de las cianobacterias (Wood *et al*, 2017). En Arabia Saudi se demostró la extensa ocurrencia de microcistina a partir de blooms de *Microcystis aeruginosa* en temporada de lluvias (Al-Sherhi, 2010), así mismo en el lago Müggelsee en Alemania se señala una relación negativa entre la microcistina contenida por unidad de volumen de *Microcystis* (Welker *et al.*, 2003); en un trabajo similar en el lago Furnas, Archipiélago de Anzores, se observó que en época de lluvias existe una mayor cantidad de microcistina en comparación con la densidad celular, atribuido a la acumulación de cianobacterias muertas en los sedimentos después de un bloom significativo, ya que la biomasa de estas cianobacterias podría seguir liberando toxinas en el agua hasta después de 4 meses después de que los blooms que alcanzaran su máxima densidad (Santos & Pacheco, 2012). En el lago Krugersdrift en África se obtuvo que mientras menor fue el crecimiento celular mayor era la

toxicidad, y se veía afectada positivamente con el incremento del pH (Oberholster *et al.*, 2010). La lluvia nos permite ver su influencia en la biomasa de las cianobacterias y la concentración de microcistinas.

En el lago de Tezozómoc, la mayor cantidad de microcistina (2.75 µg/L) se relaciona con la densidad celular de 19,000 cel/ml, esto se observó con la concentración completa de ácido nítrico; por otro lado, se observó que en la mezcla de ácidos existe una mayor cantidad de células (1×10^6) y la cantidad de microcistina es menor (1 µg/L). De igual manera Song *et al.* (1998) muestra una relación no clara entre el crecimiento y la producción de microcistina. Un comportamiento opuesto se reporta en Dianchi en China, en donde la concentración de microcistina en el lago incrementó proporcionalmente con la cantidad de *Microcystis* (Zhu, 2014). Vézie *et. al* en el 2002 encontró que las microcistinas no son esenciales para el crecimiento de *Microcystis*, pero algunas diferencias han sido observadas con respecto a la relación de microcistina y densidad celular en las que se encuentra una mayor cantidad de microcistina en condiciones favorables para el crecimiento (Watanabe *et al*, 1989).

En el lago de Chapultepec hay dominancia de la clorofícea *Scenedesmus* sp. y no hubo registro de microcistina con excepción de la temporada de lluvias. Es conocido que después del declive de las floraciones de cianobacterias, las algas verdes se vuelven dominantes (Sedmak & Kosi, 1998). En un experimento se añadió agua extraída de un florecimiento anterior de cianobacterias a un cultivo de *Scenedesmus* donde se duplicó la densidad en la presencia de microcistina, las toxinas actúan como estimulador del crecimiento para especies como *Scenedesmus* comúnmente presente en los blooms de cianobacterias (Sedmak & Kosi, 1998). En un lago artificial de Florida en un monitoreo de un año, el número de cianobacterias y algas verdes a la par superaban 10,000 células, pero los niveles de microcistina se mantenían ~0.05 µg/L (Szlag *et al.*, 2015). Maske *et al.* en el 2010 en Nagpur India, trabajaron en lagos urbanos con constantes actividades humanas, analizaron la densidad de clorofíceas y cianobacterias, observando que *Microcystis* podría jugar un rol alelopático responsable de su dominancia afectando la diversidad del fitoplancton. El incremento de la densidad de *Microcystis* fue durante el verano que resulto en un bloom durante el post-monsón.

Con respecto a la clorofila-*a*, en este trabajo no se encontró relación entre la densidad celular de *Microcystis panniformis* y los valores de clorofila, correspondiendo a estudios previos donde no existe una correlación entre la clorofila-*a* y los valores medios de densidad cianobacterianas (Zimba & Thomson, 2002). En los lagos considerados hipertróficos, los promedios de clorofila-*a* exceden los

100 mg/m³ anualmente, además de exceder los 700 mg/m³ durante los blooms (Zimba & Gitelson, 2006). Estos sistemas son muy diferentes de los mesotróficos-eutróficos, donde la clorofila-*a* y la materia orgánica suspendida son mucho menores.

La importancia de la lluvia en los blooms de cianobacterias en México se observa en los registros de CONAGUA donde la cantidad de lluvia representada en milímetros (mm) ha disminuido al paso de los años, desde su registro en junio del 2014 con 180 mm, a junio de 2017 con 100 mm, esto significa que mientras haya menos lluvias, habrá una mayor concentración de óxidos de nitrógeno en la atmósfera, que guiado con la dirección de monitoreo atmosférico en el año presente, los valores han aumentado con registros máximos por arriba de 150 ppm, de suma relevancia pues la lluvia barre con los contaminantes en el aire que se precipitaran a los cuerpos de agua de la ciudad y si la lluvia favorece la densidad celular, con el paso del tiempo la cantidad de cianobacterias será mucho mayor al igual que la cantidad de cianotoxinas.

11. Conclusiones

- De acuerdo a los resultados obtenidos la concentración completa de ácido nítrico (0.16 μL) favorece el crecimiento de *Scenedesmus* sp.
- Al combinarse los ácido nítrico y sulfúrico, en la concentración mayor (0.16 μL), se afecta de manera positiva la cantidad de células.
- La densidad celular varió de acuerdo al tratamiento de ambos ácidos, aplicados en el laboratorio (4.5×10^6) y la muestra tomada en las zonas de muestreo en época de lluvias (1×10^6), siendo mayor la muestra del laboratorio por lo que otras variables pueden interactuar en la temporada de lluvias.
- No se observó una relación proporcional entre la densidad celular y la cantidad de microcistina.
- En el lago de Tezozómoc se determinó una cantidad mayor de 1×10^6 células en temporada de lluvias que representa un nivel alto de acuerdo a la escala establecida por la OMS, además de que, aunque en la misma tabla no se menciona la presencia de microcistina, en el lago de Chapultepec aunque existe una menor densidad celular ($.006 \times 10^6$ cels) la cantidad de microcistina fue mayor (2.79 $\mu\text{g/L}$)
- Se recomienda analizar más componentes de la lluvia ácida que puedan afectar la cantidad de microcistina además de tomar medidas precautorias en la ciudad, el daño que provocan las cianobacterias y microalgas en los lagos recreacionales pueden no ser no tan relevantes por ahora, pero si sigue aumentando la contaminación atmosférica y la de los cuerpos de agua, el daño pasará a ser en las aguas de consumo humano, generando un riesgo para la población.
- Se recomiendan trabajos posteriores con otros componentes de la lluvia ácida para determinar su influencia en los cuerpos de agua.

12. Bibliografía consultada

Alcocer J., Kato E., Robles E., Vilaclara G. (1988). Estudio preliminar del efecto del dragado sobre el estado trófico del Lago Viejo de Chapultepec. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 43-56

Al-Shehri, A. (2010). Toxin-producing blooms of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* in rainwater ponds in Saudi Arabia. *Oceanological and Hydrobiological Studies*, 39(4), 171-187.

Arzate M., Olvera R., & Martínez F. (2010) *Microcystis* toxigenic strains in urban lakes: a case of study in Mexico City. *Ecotoxicology*, 1157–1165

Babich H., Lee Davis & D. Stotzky, G. (1980). Acid precipitation: causes and consequences. *Environment: Science and Policy for Sustainable Development*, 22(4), 6-41.

Benkovitz, C. M., Scholtz, M. T., Pacyna, J., Tarrasón, L., Dignon, J., Voldner, E. C. & Graedel, T. E. (1996). Global gridded inventories of anthropogenic emissions of sulfur and nitrogen. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*, 101(D22), 29239-29253.

Birch, S., & McCaskie, J. (1999). Shallow urban lakes: A challenge for lake management. *Hydrobiologia*, 395–396, 365–377

Bhargava, S., & Bhargava, S. Ecological consequences of The Acid rain.

Blackburn, S. (2013) Eutrophication and Water Poisons. *Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology*, Second Edition, 579-594.

Boch R. (2005) *Manual de la técnica del automóvil*. Alemania

Bonilla S. *et al.* (2015) Cianobacterias y cianotoxinas en ecosistemas límnicos de Uruguay. *INNOTECH*, 1688-6593

Codd, G. A. (1995). Cyanobacterial toxins: occurrence, properties and biological significance. *Water Science and Technology*, 32(4), 149-156.

Contreras-Rivero, G.; Camarillo-de la Rosa, G.; Navarrete-Salgado, N. A.; Elías-Fernández, G.; (2005). Corixidae (Hemiptera, Heteroptera) en el lago urbano del parque Tezozómoc, Azcapotzalco, México, D. F. *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 93-97.

Cowling, E. B. (1982). Acid precipitation in historical perspective. *Environmental science & technology*, 16(2), 110A-123^a

Chorus I, Bartram J, ed. (1999) *Toxic cyanobacteria in water. A guide to their public health consequences, monitoring and management*. Published by E & FN Spon on behalf of the WorldHealth Organization.

Davis, T. W., Berry, D. L., Boyer, G. L., & Gobler, C. J. (2009). The effects of temperature and nutrients on the growth and dynamics of toxic and non-toxic strains of *Microcystis* during cyanobacteria blooms. *Harmful algae*, 8(5), 715-725.

de Figueiredo, D. R., Azeiteiro, U. M., Esteves, S. M., Gonçalves, F. J., & Pereira, M. J. (2004). Microcystin-producing blooms—a serious global public health issue. *Ecotoxicology and environmental safety*, 59(2), 151-163.

de Magalhães, V. F., Soares, R. M., Azevedo, S. M. (2001). Microcystin contamination in fish from the Jacarepaguá Lagoon (Rio de Janeiro, Brazil): ecological implication and human health risk. *Toxicon*, 39(7), 1077-1085.

Downing J., A Watson, S. B., & McCauley, E. (2001). Predicting cyanobacteria dominance in lakes. *Canadian journal of fisheries and aquatic sciences*, 58(10), 1905-1908.

Echarri L. (2007). Población, ecología y ambiente

Fortúrbel F., Molina C., Richard E. (2006) Evaluación rápida de la diversidad de fitoplancton en aguas eutróficas del lago Titikaka (Bolivia) y su uso como indicador del grado de contaminación. *Ciencia abierta internacional*. Vol. 29

Galloway, J. N., & Likens, G. E. (1981). Acid precipitation: the importance of nitric acid. *Atmospheric Environment* (1967), 15(6), 1081-1085.

Galán M. D. & Fernández P.R., (2006) Implicación de los NO_x en la química atmosférica. Centro Nacional de Sanidad Ambiental.

García, S. I. (2009). Cianobacterias y cianotoxinas, impactos sobre la salud humana. Obtenido de www.ataonline.org: http://www.ataonline.org.ar/bibliotecavirtual/documentos_utilies/Cianobacterias_y_Cianotoxinas.

Garcés G.L (2004) La lluvia ácida: un fenómeno fisicoquímico de ocurrencia local. *Revista Lasallista de Investigación*, vol. 1, núm. 2, pp. 67-72

Gene E. Linkens, F. H. (2016). Acid rain: a serious regional environmental problem. *American Granados Sánchez, D.; López Ríos, G. F.; Hernández García, M. Á.; (2010). La lluvia ácida y los ecosistemas forestales. Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente, Julio-Diciembre, 187-206 Association for the Advancement of Science, 5.*

Giraldo, L. F. G., & Ángel, M. L. H. (2004). La lluvia ácida: un fenómeno fisicoquímico de ocurrencia local. *Revista (s.f.)*.

Gustafsson, S., Hultberg, M., Figueroa, R. I., & Rengefors, K. (2009). On the control of HAB species using low biosurfactant concentrations. *Harmful Algae*, 8(6), 857-863.

Granados Sánchez, D., López Ríos, G. F., & Hernández García, M. Á. (2010). La lluvia ácida y los ecosistemas forestales. *Revista Chapingo serie ciencias forestales y del ambiente*, 16(2), 187-206.

Gray N.F (1996)Calidad de agua potable: problemas y soluciones.Tecnology and Engineering,365

Huang, L., McCluskey, M. P., Ni, H., & LaRossa, R. A. (2002). Global gene expression profiles of the cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC 6803 in response to irradiation with UV-B and white light. *Journal of Bacteriology*, 184(24), 6845-6858.

Hoyos A.,Jímenez M., Ortiz A. & Montes C. (2008) Tecnología para la reducción de emisiones de gases contaminantes en plantas cementeras. Revista ingeniería e investigación

Jang, M. H., Jung, J. M., & Takamura, N. (2007). Changes in microcystin production in cyanobacteria exposed to zooplankton at different population densities and infochemical concentrations. *Limnology and Oceanography*, 52(4), 1454-1466.

J, M. M. (2003). Climate change and human health : risks and responses. *World Health Organization*, 322 p.

Jensen, S. I., Steunou, A. S., Bhaya, D., Köhl, M., & Grossman, A. R. (2011). In situ dynamics of O₂, pH and cyanobacterial transcripts associated with CCM, photosynthesis and detoxification of ROS. *The ISME journal*, 5(2), 317-328.

J Knapp, A. K., Beier, C., Briske, D. D., Classen, A. T., Luo, Y., Reichstein, M., & Heisler, J. L. (2008). Consequences of more extreme precipitation regimes for terrestrial ecosystems. *AIBS Bulletin*, 58(9), 811-821.*ournal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 57(8), 1584-1593

Kang, J., Chen, C., Sun, W., Tang, H., Yin, Z., Liu, R., & Nguyen, A. V. (2017). A significant improvement of scheelite recovery using recycled flotation wastewater treated by hydrometallurgical waste acid. *Journal of Cleaner Production*, 151, 419-426.

Karjalainen, M., Engström-Öst, J., Korpinen, S., Peltonen, H., Pääkkönen, J. P., Rönkkönen, S., & Viitasalo, M. (2007). Ecosystem consequences of cyanobacteria in the northern Baltic Sea. *AMBIO: A Journal of the Human Environment*, 36(2), 195-202.

Kay, D., Bartram, J., Prüss, A., Ashbolt, N., Wyer, M. D., Fleisher, J. M., & Rees, G. (2004). Derivation of numerical values for the World Health Organization guidelines for recreational waters. *Water Research*, 38(5), 1296-1304.

Kaebnick, M., & Neilan, B. A. (2001). Ecological and molecular investigations of cyanotoxin production. *FEMS microbiology ecology*, 35(1), 1-9.

Kearns, K. D., & Hunter, M. D. (2001). Toxin-producing *Anabaena flos-aquae* induces settling of *Chlamydomonas reinhardtii*, a competing motile alga. *Microbial ecology*, 42(1), 80-86.

- Kardinaal, W. E. A., & Visser, P. M. (2005). Dynamics of cyanobacterial toxins. *Harmful Cyanobacteria Aquatic Ecology Series*, Springer, Dordrecht, the Netherlands, 41-64.
- Klimont, Z., Smith, S. J., & Cofala, J. (2013). The last decade of global anthropogenic sulfur dioxide: 2000–2011 emissions. *Environmental Research Letters*, 8(1), 014003.
- Klug, J. L., Fischer, J. M., Ives, A. R., & Dennis, B. (2000). Compensatory dynamics in planktonic community responses to pH perturbations. *Ecology*, 81(2), 387-398.
- Kotak, B. G., Lam, A. K., Prepas, E. E., & Hrudehy, S. E. (2000). Role of chemical and physical variables in regulating microcystin-LR concentration in phytoplankton of eutrophic lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 57(12), 2315-2324.
- Lane, A. E., & Burris, J. E. (1981). Effects of environmental pH on the internal pH of *Chlorella pyrenoidosa*, *Scenedesmus quadricauda*, and *Euglena mutabilis*. *Plant physiology*, 68(2), 439-442.
- Leal, M., & Chávez, V. L. (1996). *Temas ambientales zona Metropolitana de la ciudad de México* (No. 304.28 L4).
- Lüring, M. F. L. L. W. (2003). Phenotypic plasticity in the green algae *Desmodesmus* and *Scenedesmus* with special reference to the induction of defensive morphology. In *Annales de Limnologie-International Journal of Limnology* (Vol. 39, No. 2, pp. 85-101). EDP Sciences.
- Lüring, M., & Roessink, I. (2006). On the way to cyanobacterial blooms: impact of the herbicide metribuzin on the competition between a green alga (*Scenedesmus*) and a cyanobacterium (*Microcystis*). *Chemosphere*, 65(4), 618-626.
- Lopez-Archilla, A. I., Moreira, D., López-García, P., & Guerrero, C. (2004). Phytoplankton diversity and cyanobacterial dominance in a hypereutrophic shallow lake with biologically produced alkaline pH. *Extremophiles*, 8(2), 109-115.
- López-Rodas, V., Rouco, M., Sánchez-Fortún, S., Flores-Moya, A., & Costas, E. (2011). Genetic adaptation and acclimation of phytoplankton along a stress gradient in the extreme waters of the Agrio river–Caviahue lake (Argentina). *Journal of phycology*, 47(5), 1036-1043.
- Lozano, E. F., Vargas, M. D., Lobato, C. V., Miguel, R., Costa, C., & Reis, M. P. (2008). Cianoalerta: estrategia para predecir el desarrollo de cianobacterias tóxicas en embalses. *Revista Ecosistemas*, 17(1).
- McMichael, A. J. (2003). Global climate change and health: an old story writ large. *Climate change and human health: Risks and responses*. Geneva, Switzerland: World Health Organization.
- Maske, S. S., Sangolkar, L. N., & Chakrabarti, T. (2010). Temporal variation in density and diversity of cyanobacteria and cyanotoxins in lakes at Nagpur (Maharashtra State), India. *Environmental monitoring and assessment*, 169(1), 299-308.
- Menéndez, M., Martínez, M., & Comín, F. A. (2001). A comparative study of the effect of pH and inorganic carbon resources on the photosynthesis of three floating macroalgae species of a

Mediterranean coastal lagoon. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 256(1), 123-136.

Metha P. (2015) A Conceptual understanding of scientific and legal perspective of acid precipitation and its impacts: A Review. *Scientia Research Library Journal of Applied Science and Research*, 2015, 3 (2):54-75

Mishra P. C (2008) Fundamentals of air and water pollution. APH Publishing. New Delhi

Mohamed, Z. A. (2008). Polysaccharides as a protective response against microcystin-induced oxidative stress in *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus quadricauda* and their possible significance in the aquatic ecosystem. *Ecotoxicology*, 17(6), 504.

Molina, M. R. (2011). *Mecanismos genéticos y estrategias adaptativas de productores primarios (microalgas y cianobacterias) en un escenario de cambio global* (Doctoral dissertation, Universidad Complutense de Madrid).

Mollinedo, C. L. (2006). Movilidad urbana sostenible: un reto para las ciudades del siglo XXI. *Economía Sociedad y Territorio*.

Nakamura, Y., Yamamoto, H., Sekizawa, J., Kondo, T., Hirai, N., & Tatarazako, N. (2008). The effects of pH on fluoxetine in Japanese medaka (*Oryzias latipes*): acute toxicity in fish larvae and bioaccumulation in juvenile fish. *Chemosphere*, 70(5), 865-873.

Navarrete-Salgado, N. A., Contreras-Rivero, G. & Elías-Fernández, G. (2003). Abundancia y estado sanitario del mexclapique (*Girardinichthys viviparus* Bustamante) en cuerpos de agua del centro de México. *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, Julio-Diciembre, 143-146

Norton, S. A., & Veselá½, J. (2003). Acidification and acid rain. *Treatise on geochemistry*, 9, 612. Oberholster, P. J., Botha, A. M., & Ashton, P. J. (2009). The influence of a toxic cyanobacterial bloom and water hydrology on algal populations and macroinvertebrate abundance in the upper littoral zone of Lake Krugersdrift, South Africa. *Ecotoxicology*, 18(1), 34-46.

Oliva M., Rodríguez M., Armando; Lugo A., & Sánchez M. (2008). Composición y dinámica del fitoplancton en un lago urbano hipertrófico. *Hidrobiológica*, 1-13

O'neil, J. M., Davis, T. W., Burford, M. A., & Gobler, C. J. (2012). The rise of harmful cyanobacteria blooms: the potential roles of eutrophication and climate change. *Harmful algae*, 14, 313-334.

Orozco, C., Pérez, A., González, M. N., Rodríguez, F. J., & Alfayate, J. M. (2002). Contaminación ambiental: Una visión desde la química.

Oberholster, P. J., Myburgh, J. G., Ashton, P. J., & Botha, A. M. (2010). Responses of phytoplankton upon exposure to a mixture of acid mine drainage and high levels of nutrient pollution in Lake Loskop, South Africa. *Ecotoxicology and environmental safety*, 73(3), 326-335.

- Pizzolon, L. I. N. O. (1996). Importancia de las cianobacterias como factor de toxicidad en las aguas continentales. *Interciencia*, 21(6), 239-245.
- Penner, J. E., Atherton, C. S., Dignon, J., Ghan, S. J., Walton, J. J., & Hameed, S. (1991). Tropospheric nitrogen: A three-dimensional study of sources, distributions, and deposition. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*, 96(D1), 959-990.
- Qin, B., Zhu, G., Gao, G., Zhang, Y., Li, W., Paerl, H. W., & Carmichael, W. W. (2010). A drinking water crisis in Lake Taihu, China: linkage to climatic variability and lake management. *Environmental management*, 45(1), 105-112.
- Rivera-González, M. V., Gómez-Gómez, L., & Cubillos-Hinojosa, J. G. (2017). Effect of humic acids on the growth and the biochemical composition of *Arthrospira platensis*. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 19(1), 71-81.
- Rinta-Kanto, J. M., Konopko, E. A., DeBruyn, J. M., Bourbonniere, R. A., Boyer, G. L., & Wilhelm, S. W. (2009). Lake Erie Microcystis: relationship between microcystin production, dynamics of genotypes and environmental parameters in a large lake. *Harmful Algae*, 8(5), 665-673.
- Rosales-Castillo J., Torres-Meza V., Olaiz-Fernández G., & Borja Aburto V. (2001). Los efectos agudos de la contaminación del aire en la salud de la población: evidencias de estudios epidemiológicos. *Salud Pública de México*, 43(6), 544-555
- Rosas Rodríguez, H. (2001). *Estudio de la contaminación por metales pesados en la cuenca del Llobregat*. Universitat Politècnica de Catalunya.
- Sangolkar, L. N., Maske, S. S., Muthal, P. L., Kashyap, S. M., & Chakrabarti, T. (2009). Isolation and characterization of microcystin producing *Microcystis* from a Central Indian water bloom. *Harmful Algae*, 8(5), 674-684.
- Santos, M. C., Muelle, H., & Pacheco, D. (2012). Cyanobacteria and microcystins in lake Furnas (S. Miguel island-Azores). *Limnetica*, 31(1), 0107-118.
- Seager, J. (2000). *Atlas del estado Medioambiental* (Vol. 5). Ediciones Akal.
- Sedmak, B., & Kosi, G. (1998). The role of microcystins in heavy cyanobacterial bloom formation. *Journal of Plankton Research*, 20(4), 691-708.
- Singh, A., & Agrawal, M. (2007). Acid rain and its ecological consequences. *Journal of Environmental Biology*, 29(1), 15.
- Smith, S. J., Aardenne, J. V., Klimont, Z., Andres, R. J., Volke, A., & Delgado Arias, S. (2011). Anthropogenic sulfur dioxide emissions: 1850–2005. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 11(3), 1101-1116.

Schjetnan M., Pérez J., Peniche M., Paredes J., Yumbe A (2003) Plan maestro Bosque de Chapultepec. Gobierno del Distrito Federal, México. Secretaría del medio ambiente

Schueler, T. & J. Simpson. (2001). Why urban lakes are different. *Urban lake management* 747-750

Song, L., Sano, T., Li, R., Watanabe, M. M., Liu, Y., & Kaya, K. (1998). Microcystin production of *Microcystis viridis* (cyanobacteria) under different culture conditions. *Phycological research*, 46(2), 19-23

Timothy W. Davis, D. L. (2009). The effects of temperature and nutrients on the growth and dynamics of toxic and non-toxic strains of *Microcystis* during cyanobacteria blooms. *Harmful Algae*.

Tonk, L., Visser, P. M., Christiansen, G., Dittmann, E., Snelder, E. O., Wiedner, C., & Huisman, J. (2005). The microcystin composition of the cyanobacterium *Planktothrix agardhii* changes toward a more toxic variant with increasing light intensity. *Applied and environmental microbiology*, 71(9), 5177-5181.

UNESCO. 2009. Cianobacterias Planctónicas del Uruguay. Manual para la identificación y medidas de gestión. Sylvia Bonilla (editora). Documento Técnico PHI-LAC, N° 16

Szlag, D. C., Sinclair, J. L., Southwell, B., & Westrick, J. A. (2015). Cyanobacteria and cyanotoxins occurrence and removal from five high-risk conventional treatment drinking water plants. *Toxins*, 7(6), 2198-2220.

Van der Westhuizen, A. J., & Eloff, J. N. (1985). Effect of temperature and light on the toxicity and growth of the blue-green alga *Microcystis aeruginosa* (UV-006). *Planta*, 163(1), 55-59.

Vasconcelos, V., Martins, A., Vale, M., Antunes, A., Azevedo, J., Welker, M., ... & Montejano, G. (2010). First report on the occurrence of microcystins in planktonic cyanobacteria from Central Mexico. *Toxicon*, 56(3), 425-431.

Verschoor, A. M., Bekmezci, O. K., Donk, E. V., & Vijverberg, J. (2009). The ghost of herbivory past: slow defence relaxation in the chlorophyte *Scenedesmus obliquus*.

Vézic, C., Rapala, J., Vaitomaa, J., Seitsonen, J., & Sivonen, K. (2002). Effect of nitrogen and phosphorus on growth of toxic and nontoxic *Microcystis* strains and on intracellular microcystin concentrations. *Microbial ecology*, 43(4), 443-454.

Visser, P. M., Ibelings, B. W., Mur, L. R., & Walsby, A. E. (2005). The ecophysiology of the harmful cyanobacterium *Microcystis*. In *Harmful cyanobacteria* (pp. 109-142). Springer Netherlands.

Wang, X., Gong, L., Liang, S., Han, X., Zhu, C., & Li, Y. (2005). Algicidal activity of rhamnolipid biosurfactants produced by *Pseudomonas aeruginosa*. *Harmful algae*, 4(2), 433-443.

Wang, L., Li, Y., Sommerfeld, M., & Hu, Q. (2013). A flexible culture process for production of the green microalga *Scenedesmus dimorphus* rich in protein, carbohydrate or lipid. *Bioresource technology*, 129, 289-295.

Watanabe, M. F., Harada, K. I., Matsuura, K., Watanabe, M., & Suzuki, M. (1989). Heptapeptide toxin production during the batch culture of two *Microcystis* species (Cyanobacteria). *Journal of applied phycology*, 1(2), 161-165.

Welker, M., von Döhren, H., Tauscher, H., Steinberg, C.E.W. & Erhard, M. (2003) Toxic *Microcystis* in shallow lake Müggelsee (Germany): dynamics, distribution, diversity, *Archiv für Hydrobiologie* 157, 227-248.

Wood, S. A., Borges, H., Puddick, J., Biessy, L., Atalah, J., Hawes, I. & Hamilton, D. P. (2017). Contrasting cyanobacterial communities and microcystin concentrations in summers with extreme weather events: Insights into potential effects of climate change. *Hydrobiologia*, 785(1), 71-89.

Wu, J. T., Chiang, Y. R., Huang, W. Y., & Jane, W. N. (2006). Cytotoxic effects of free fatty acids on phytoplankton algae and cyanobacteria. *Aquatic Toxicology*, 80(4), 338-345.

Zimba, P. V., & Thomson, S. J. (2002). Detection of toxin-producing algae by low-altitude remote sensing methods. In *Proc. 7th International Conference on Remote Sensing for Marine and Coastal Environments*.

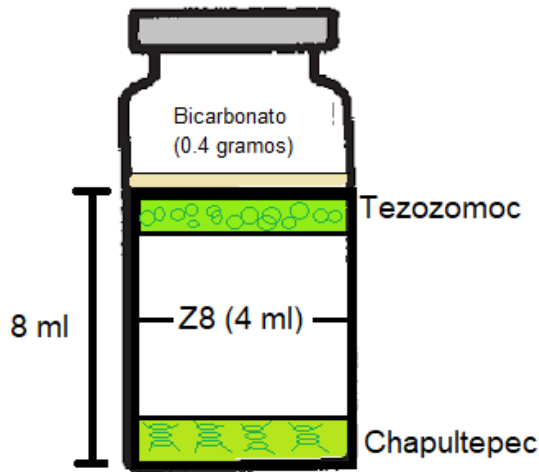
Zimba, P. V., & Gitelson, A. (2006). Remote estimation of chlorophyll concentration in hypertrophic aquatic systems: Model tuning and accuracy optimization. *Aquaculture*, 256(1), 272-286

Zhao, Y., Duan, L., Xing, J., Larssen, T., Nielsen, C.P., & Hao, J., (2009). Soil acidification in China: is controlling SO₂ emissions enough? *Environ. Sci. Technol.* 43, 8021–8026

Zhu, L., Wu, Y., Song, L., & Gan, N. (2014). Ecological dynamics of toxic *Microcystis* spp. and microcystin-degrading bacteria in Dianchi Lake, China. *Applied and environmental microbiology*, 80(6), 1874-1881

13. Anexo 1

Unidad experimental



Elección de las muestras

- Recolección de muestras de agua en 5 lagos de la Ciudad de México (Madín, Tláhuac, Xochimilco, Tezozómoc, Chapultepec)
- Al final solo se conservaron las muestras de los lagos de Tezozómoc y Chapultepec porque el primero tiene cianobacterias y el segundo clorofíceas lo que permitiría la comparación entre ambos lagos.
- Se identificaron colonias de *Microcystis panniformis* en el lago de Tezozómoc y *Scenedesmus* sp. en el lago de Chapultepec, se mantuvieron en medio Z8 de manera líquida en donde *Scenedesmus* sp. no se vio afectado.

Elección de la forma del contaminante

- Primero se pensó que la mejor forma de correr el experimento era con óxido de nitrógeno de forma gaseosa, se hicieron pruebas con ácido nítrico y cobre que al reaccionar generan óxido de nitrógeno. Sin embargo, el segundo contaminante (óxido de azufre) requería ser comprado pero el precio era elevado, así como las cantidades que se tenían que comprar, por lo que fue descartado.

Imagen 3. Pruebas de estandarización con ácido nítrico (reacción de cobre y ácido nítrico)



Figura 5. Pruebas de estandarización con ácido nítrico para determinar si estaría presente de forma gaseosa en los grupos experimentales

- b. A pesar de las pruebas de estandarización surgió una incógnita, el cómo se mantendría el óxido de nitrógeno y azufre contenidos en un recipiente, de manera constante y que todas las muestras tuvieran una cantidad similar de este contaminante. Se pensó poner en un toper (18x22 cm) recipientes con las muestras e inyectar el contaminante de forma gaseosa por un orificio ubicado en una parte central del toper. La idea fue descartada ya que el plástico de los mismos podrían causar una reacción con los ácidos y así modificar los resultados, además de que no se podía medir la cantidad de ácido presente en cada muestra.

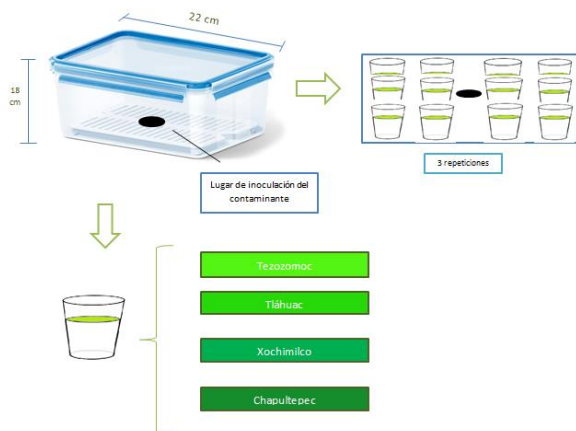


Figura 6. Diagrama prueba de estandarización con ácido nítrico gaseoso y el toper de plástico

Tamaño y material del recipiente para el diseño de la unidad experimental

- c. Primero se optó por vasos pequeños de plástico, pero podrían reaccionar los ácidos y con la microcistinas de las cianobacterias por lo que fue descartado el plástico
- d. Se pasó a usar unos vasos de vidrio que su capacidad de almacenamiento es de 50 ml por vaso, para evitar que se hicieran conglomeraciones de cianobacterias en los vasos además de ver su comportamiento en diferentes concentraciones, se hicieron pruebas con la muestra sin ninguna modificación, al 50% y al 10% (50% de muestra/50% de Z8 y 10% de muestra y 90% de Z8) pero sin importar su concentración la muestra se evaporaba en 3 días aun estando tapadas con aluminio.
- e. Se hizo una última prueba para determinar el recipiente con frascos viales de 8 y 20 ml, la tapa de estos frascos permitía que actuaran como sistema cerrado. Se observaron por una semana, tiempo que permanecieron las muestras vivas; obteniendo resultados similares, se decidió que se utilizarían los frascos viales más pequeños debido a que es de fácil manipulación. Por otro lado, se sonicaron para ver como reaccionaban las cianobacterias, pero cambiaba su fisiología desfavorablemente, las muestras a las que les sería aplicado el tratamiento en la fase experimental no serían sonicadas con anterioridad.

Cantidad de ácido por recipiente

- f. La cantidad de ácido fue basado en el pH donde no bajara de 7 obteniendo 2 μ L de ácido sulfúrico y 2 μ L de ácido nítrico, (debido a que si se ponía más ácido las cianobacterias y

clorofíceas no sobrevivían más de 3 días). Una vez establecida la cantidad del ácido se puso la cantidad completa asignada en microlitros (2 μ l), la mitad de esa cantidad (1 μ L), la muestra directa del lago con solo bicarbonato (0.4 g) y la muestra directa del lago, cada uno con 3 repeticiones. Esto en ambos lagos

- g. Para determinar la cantidad de ácido que sería agregado a cada tratamiento, se basó en la Dirección de Monitoreo Atmosférico que es un mecanismo para informar a la población acerca de los niveles que alcanzan los principales contaminantes en la ciudad, esta información funcionó como base para los grupos experimentales, donde se usó el promedio de los mínimos (aproximadamente 20 ppm) registrado en la Ciudad de México, según la delegación pertinente, además de tener en consideración que la cantidad de pH no baje de 7.
- h. Fue adicionado bicarbonato de sodio como fuente de carbono para la fotosíntesis.

Cantidad de bicarbonato

Se realizaron 3 pruebas en una semana para determinar la cantidad de bicarbonato que sería añadida, en las cantidades de 0.1 y 0.2 gramos no se observó diferencia entre la muestra sin bicarbonato. La cantidad de bicarbonato se duplico a 0.4 g suficiente para observar crecimiento en la fase experimental.