



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**El género *Pteromonas* (Chlorophyta, Volvocales)
en cuerpos de agua urbanos de la
Ciudad de México**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A:

ELEONOR CORTÉS LÓPEZ



**DIRECTORA DE TESIS:
DRA. ROSA LUZ TAVERA SIERRA
2011**



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.

Hojas de datos del jurado

1. Datos del alumno

Cortés
López
Eleonor
56042903
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
405043976

2. Datos del tutor

Dra.
Tavera
Sierra
Rosa Luz

3. Datos del sinodal 1

Dr.
Novelo
Maldonado
Eberto

4. Datos del sinodal 2

Dra.
Meave
Del Castillo
María Esther Angélica

5. Datos del sinodal 3

M. en C.
Vidal
Gaona
Guadalupe

6. Datos del sinodal 4

M. en C.
Garduño
Solórzano
Gloria

7. Datos del trabajo escrito

El género *Pteromonas* (Chlorophyta, Volvocales)
en cuerpos de agua urbanos de la Ciudad de México
84p
2011

El pensamiento no me es propio más que desde el momento en que no me formo nunca ningún escrúpulo de ponerlo en peligro de muerte y que no tengo que temer su pérdida como una pérdida para mí, una caducidad. El pensamiento no es mío sino desde el momento en que soy quien lo sujeta y en que nunca puede encorvarme bajo su yugo, fanatizarme y hacer de mí el instrumento de su realización.

Max Stirner

Agradecimientos

Estoy muy contenta de los pasos que he dado durante la realización de esta tesis. Al iniciar el proyecto, nunca imaginé encontrarme con todas las enseñanzas que ritmaron el trabajo. No me refiero únicamente a enseñanzas enfocadas a la biología, sino también a otros aspectos que forman (ahora) parte de mí.

Evidentemente la mayoría de las enseñanzas provinieron de muchas personas a quienes quiero agradecer. Así, agradezco de todo corazón a todas aquellas que decidieron compartir conmigo momentos, sorpresas, sonrisas, consejos, críticas, cuestionamientos, risas, ideas, bailongos y formas de ver el mundo.

... Dejo aquí plasmado un fuerte abrazo
a los que me han dado vida,
a los que me permitieron nacer,
a los que me han acompañado
y a los que siguen haciéndolo...

En mi búsqueda por no mencionar nombres, me es imposible no mencionar a Rosaluz, a Eberto y a Lupita quienes además de abrirme las puertas del laboratorio y de guiarme a través de las rutas de la práctica y del cuestionamiento, me han mostrado la importancia de no perder de vista un punto importantísimo: el investigador, antes de cualquier cosa, es persona.

Indudablemente sin todo el apoyo, paciencia y concentración de Rosi, este trabajo no hubiera podido *cuajar* ¡gracias!

Quiero agradecer también a Eberto, Lupita, Gloria y María Esther, los revisores de este trabajo, que con sus correcciones y observaciones lo enriquecieron.

Paralelamente a esto, debo señalar la belleza del laboratorio de Ecología y Taxonomía de Algas Continentales lograda gracias a las personas que lo conforman y lo conformaron (los docs, Lupita, Eva, Erika, Jorge, Martita, Raquel, Ale, Jimena, Claudia, Zitla, Mari, Diego, Halina, Monx y Eunice). Es por ellas que es posible crear un ambiente de cotorreo sin perder de vista el trabajo... compartiendo y discutiendo...

Ahora, los agradecimientos técnicos... Señalo el apoyo en las recolecciones de Xochimilco por parte de la delegación y por parte de Felipe, así como la apertura de las puertas de la Cantera Oriente por parte de Antonio Lot y de Francisco Martínez, a quien siempre he visto con una cálida sonrisa en la cara. De igual manera quiero agradecer el apoyo de Silvia Espinoza del Laboratorio de Microscopía Electrónica de Barrido de la Facultad de Ciencias de la U.N.A.M. en la obtención de las microfotografías.

Pienso que éste es un buen espacio para registrar cómo otros profesores, durante la carrera, me enriquecieron... Iván Espínola, Sara Frías, Bertha Molina, Miguel Ángel Palomino y Alfonso Torreblanco me permitieron apasionarme y despertar mi curiosidad por las interacciones a niveles moleculares y celulares; Zenón Cano, Iván Castellanos, Martha Juana Martínez, Adriana Muñoz, Fernando Camacho, Cecilia Robles, Rodolfo Salas y Cecilia Vanegas propusieron unas formas de trabajo en los cursos que me apasionaron mientras me guiaron a través de varios cuestionamientos.

...Ya para terminar ¡gracias! Compañeros de vida...

Contenido

Resumen.....	9
Introducción	11
Antecedentes	13
Objetivo general.....	19
Objetivos particulares	19
Materiales y métodos	21
Sitios de recolección.....	21
Recolecciones.....	22
Evaluación de las variables fisicoquímicas	25
Preparación de las muestras	25
Revisión de las preparaciones	25
Identificación de las especies.....	26
Descripción de las especies, de los conjuntos de caracteres y su registro	26
Procesamiento de datos.....	26
Cultivo de <i>Pteromonas aculeata</i>	27
Microscopía electrónica de barrido (MEB)	27
Resultados	29
Variables hidrológicas	29
Especies recolectadas.....	29
Variaciones morfológicas	29
Variaciones de las poblaciones silvestres de <i>Pteromonas aculeata</i> agrupadas en conjuntos de caracteres.....	31
Variaciones de <i>Pteromonas aculeata</i> en cultivo, agrupadas en conjuntos de caracteres.....	39
Variaciones de las poblaciones de <i>Pteromonas angulosa</i> agrupadas en conjuntos de caracteres.....	41

Microscopía Electrónica de Barrido	46
Presencia y distribución de las especies y de los conjuntos de caracteres.....	47
Delimitación de morfotipos de <i>Pteromonas aculeata</i> y <i>P. angulosa</i>	50
Descripción de las especies	50
<i>Pteromonas aculeata</i> Lemmermann.....	50
<i>Pteromonas angulosa</i> Lemmermann	51
<i>Pteromonas pseudoangulosa</i> Péterfi	52
Discusión	53
Conclusiones y perspectivas.....	59
Referencias.....	61
Anexos.....	69
1. Las comunidades acuáticas	69
2. Factores que afectan ficoflora planctónica.....	71
3. Chlorophyta.....	73
4. Ciclo de vida de <i>Chlamydomonas</i>	74
5. Método de aislamiento de microalgas por micropipeta.....	77
6. Medio Bourrelly.....	78
7. Medio de enriquecimiento: agua-suelo y chícharo	80
8. Medio Bourrelly sólido al 1.5% de agar.....	80
9. Soluciones para la Microscopía Electrónica de Barrido	81
10. Representación diagramática de la clave taxonómica para la identificación de especies de <i>Pteromonas</i> a partir de Ettl (1983).....	82
Dibujos y descripciones de <i>Pteromonas limnetica</i> y <i>P. spinosa</i>	84

Resumen

Las especies *Pteromonas aculeata* Lemmermann, *P. angulosa* Lemmermann y *P. pseudoangulosa* Péterfi fueron observadas entre 2005 y 2009 en las épocas húmeda y seca en varios cuerpos de agua de la Ciudad de México: el Vaso Regulador de la Cantera Oriente de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel, en la Ciudad Universitaria; el Lago Mayor del bosque de Chapultepec; tres canales de Xochimilco y el lago Acitlalín del Parque Ecológico de Xochimilco. Éste es el primer registro de *P. pseudoangulosa* para México y el segundo para regiones tropicales.

Los cuerpos de agua urbanos mencionados son someros y de eutróficos a hipereutróficos. Las variables hidrológicas evaluadas indican que las localidades en las que las especies de *Pteromonas* fueron observadas fueron ligeramente alcalinas, su temperatura estuvo comprendida entre 16.9 y 27.7°C y las concentraciones de fósforo total fueron, en la mayoría de los casos, superiores a las del nitrógeno inorgánico total.

Pteromonas pseudoangulosa presentó la variación típica registrada en la literatura. Sin embargo, ciertos ejemplares de *P. aculeata* y de *P. angulosa* mostraron una variación más amplia, incluyendo caracteres nunca antes registrados en la literatura. Tal es el caso de la forma circular de la pared en la vista frontal en ejemplares de *P. aculeata* y la presencia de uno o dos engrosamientos longitudinales de la pared sobre el protoplasto en ejemplares de ambas especies. Con base en observaciones de material del cultivo unialgal obtenido, *P. aculeata* mostró además de la variación morfológica antes mencionada, individuos no nadadores.

Se estudió la variación de *Pteromonas aculeata* y *P. angulosa* con observaciones de microscopía fotónica de ejemplares tanto silvestres como de cultivo (para *P. aculeata*). Se establecieron y caracterizaron diez conjuntos de caracteres para *P. aculeata* (dos exclusivos de cultivo) y cuatro para *P. angulosa*. Se complementó la información con observaciones de microscopía electrónica de barrido de ejemplares de *P. aculeata* silvestres.

Los resultados obtenidos se utilizaron para delimitar dos morfotipos de *Pteromonas aculeata* y uno de *P. angulosa*. La presencia de uno o dos engrosamientos de la pared en ambas especies y la forma de rectangular a elíptica o bien circular de la pared en la vista frontal en *P. aculeata* fueron utilizados como caracteres diacríticos.

Se discute la variabilidad observada con respecto a su presencia en los cuerpos de agua de la Ciudad de México, a su pertinencia taxonómica y a la variabilidad registrada en la literatura, resaltando su importancia en un contexto ecológico.

Introducción

La ciudad de México ha mantenido desde su fundación como Tenochtitlán en 1325 una íntima relación con el agua: fue construida sobre un islote rodeado de aguas dulces (el lago de Xochimilco) y salobres (el lago de Texcoco). Sus primeros pobladores obtenían protección y recursos de estos cuerpos de agua y poco a poco fueron ganando espacio sobre ellos mediante el uso de chinampas, las cuales les permitieron desarrollar la agricultura (Rosas, 1998). Después de la conquista, lograda por el sitio de la ciudad en 1521 por Hernán Cortés, empezó una lucha contra el agua¹ causando una dramática reducción de los lagos de la región. En nuestros días, del lago de Texcoco quedan sólo dos lagos pequeños cubriendo una superficie poco mayor a los 10 km² (Google Inc., 2010), el Lago de Chalco está reducido a un humedal y del Lago de Xochimilco sólo persisten los canales (Rosas, 1998).

Los actuales y contados cuerpos de agua de la ciudad reciben poca atención a pesar de su historia, de su estrecha relación con las actividades humanas² y con el ambiente de toda la ciudad (Jazcilevich *et al.*, 2000; Martínez-Arroyo y Jáuregui, 2000), y a pesar de que se ha propuesto una recuperación de la zona lacustre (Kalach, 1998). Se han recopilado documentos sobre la fauna, la flora y la microbiota de ciertos cuerpos de agua como son *El agua en la Cuenca de México: sus problemas históricos y perspectivas de solución de la Asociación Internacional de Investigadores de Xochimilco* (Otto, 2003) y la *Guía Ilustrada de la Cantera Oriente. Caracterización ambiental e inventario biológico* editada por la Secretaria ejecutiva de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel. U.N.A.M (Lot, 2007). Existen también publicaciones y tesis enfocadas en comunidades o especies particulares como son los casos de especies amenazadas (Salgado *et al.*, 2004; Zambrano *et al.*, 2010) y comunidades con posibles efectos nocivos en la salud de los habitantes (Juárez-Figueroa *et al.*, 2003; Pedroza, 2007). Sin embargo, menor atención han recibido las comunidades encargadas de la producción primaria de estos ecosistemas como lo es la fototrófica microbiana (Tavera *et al.*, 2000; Diaz-Almeyda, 2005; Novelo *et al.*, 2007; Figueroa *et al.*, 2008; Oliva *et al.*, 2008; Tavera y Díez, 2009; para más detalles sobre las comunidades acuáticas ver el Anexo 1).

Varios de los trabajos enfocados en esta comunidad reportan la presencia de especies del género *Pteromonas* Seglio 1887 (Novelo *et al.*, 2007; Figueroa *et al.*, 2008; Oliva *et al.*, 2008; Tavera y Díez, 2009). Estas especies llamaron nuestra atención porque la mayoría de sus descripciones (Huber-Pestalozzi, 1961; Williams, 1965; Haughey, 1969; Ettl, 1983; Ortega-Mayagoitia y Rojo, 2000; Pentecost, 2002) y registros han sido realizados a partir de organismos de zonas templadas (Tabla 1). Paralelamente, aunque al género se le ha atribuido una amplia distribución espacial y ecológica (Huber-Pestalozzi, 1961; Ettl, 1983; Pentecost, 2002; Guiry y Guiry, 2009), a nuestro conocimiento existen únicamente seis registros en regiones tropicales (Alfasane y Khondker, 2008;

¹ Los colonos contemplaban la ciudad desecada lo que permitía aumentar la superficie terrestre, mucho más importante para la cultura española al poder repartirla (Rosas, 1998).

² Los cuerpos de agua urbanos, que pueden ser de origen natural o antropogénico, se caracterizan por estar situados en ciudades, ser pequeños en superficie, someros, eutróficos o hipereutróficos, con grandes aportes de agua, así como ser principalmente utilizados para actividades humanas (Birch y McCaskie, 1999; Schueler y Simpson, 2001).

Novelo *et al.*, 2007; Figueroa *et al.*, 2008; Menezes y de Mattos Bicudo, 2008; Oliva *et al.*, 2008; Tavera y Díez, 2009) y dos subtropicales (Haughey, 1969; Fathi *et al.*, 2001).

Estudios previos en los canales del lago de Xochimilco reportaron que las especies de este género están presentes espacial y temporalmente de manera heterogénea, lo que podría ser indicativo de una sensibilidad ambiental particular (Cortés *et al.* 2007). Lo que llamó especialmente nuestra atención fue que, en esas observaciones, se mostró la existencia de una variabilidad morfológica de las especies más amplia que la que usualmente se documenta, así como ciertas características de la forma de la pared y del protoplasto que no habían sido reportadas previamente. Nos hemos preguntado si esta variabilidad se relaciona con los cuerpos de agua urbanos de la ciudad y si ésta es el resultado de una expresión fenotípica particular que no ocurre en otras latitudes. En esta línea de pensamiento, nos hemos cuestionado si las diferencias latitudinales y propiamente de los ambientes acuáticos en los que habitan las especies de *Pteromonas* favorecen que cierta variabilidad morfológica quede críptica (Gibson y Dworkin, 2004), es decir si conducen o no a una canalización ambiental (Wagner *et al.*, 1997; Debat y David, 2001; Dworkin, 2005).

En el presente trabajo se realizó la documentación, por medio de microscopía fotónica, de la morfología de las especies de *Pteromonas* en cuerpos de agua de la Ciudad de México, utilizando ejemplares silvestres y cultivados, y se apoyaron las observaciones con microscopía electrónica de barrido, la cual no había sido utilizada antes para las especies del género.

Antecedentes

El género *Pteromonas*, que forma parte de las Phacotaceae *sensu stricto* (Hepperle *et al.*, 1998) dentro de las Volvocales³ de la división Chlorophyta (Anexo 3), incluye a organismos unicelulares, biflagelados e isocontos que se caracterizan por tener una pared o lórica hialina compuesta de glucoproteínas, hidroxiprolina, galactosa, arabinosa, manosa y glucosa (Hoek *et al.*, 1995), conformada de tres capas (Hepperle *et al.*, 1998) y dos partes asemejando dos vidrios de reloj uno frente al otro en cuya unión se extiende un manto de forma variable en función de la especie. En la región apical de la célula, el manto está truncado y presenta dos canales finos por los cuales emergen los flagelos. En el plano ecuatorial de la vista apical, la célula es hexagonal con dos alas curvas (Figura 1).

Su protoplasto es del tipo de *Chlamydomonas*, es decir por lo general ovoide, piriforme o globoso con dos vacuolas contráctiles en la base del aparato flagelar, un cloroplasto en forma de urna o de copa que presenta un estigma y al menos un pirenoide atravesado por tilacoides y rodeado por sáculos de almidón (Hepperle *et al.*, 1998).

Su multiplicación asexual es por medio de dos o cuatro zoosporas que son liberadas por la separación de las dos valvas maternas. La reproducción sexual es por isogamia y la meiosis es cigótica (Guiry y Guiry, 2009). El estado palmela ha sido reportado para algunas especies (Ettl, 1983). En el ciclo de vida modelo de las volvocales unicelulares (Anexo 4) este estado resulta en una serie de protoplastos embebidos en varias paredes celulares gelatinizadas (Iwasa y Murakami, 1968; Nakamura *et al.*, 1975; Ettl, 1983; Sharma, 1986; Rajan, 2002). De acuerdo con Ettl (1983), éste difiere de la formación de aplanosporas que son esporas sin flagelos con pared celular engrosada.

Se estudiaron tres especies del género en el presente trabajo: *Pteromonas angulosa* Lemmermann, *P. pseudoangulosa* Péterfi y *P. aculeata* Lemmermann. De acuerdo con la descripción realizada por Ettl (1983), *P. angulosa* (Figura 1. A1-3), presenta una pared de redondeada a oblonga y lisa en la vista frontal (Figura 1. A1) y en la vista lateral y apical es elíptica con una constricción en la zona media (Figura 1. A2, A3). Las prolongaciones de la pared, o alas, presentan en vista apical una curvatura formando una S (Figura 1. A2). Su protoplasto es ancho y ovoide con un cloroplasto en forma de urna que presenta un engrosamiento basal en el que se encuentra un solo pirenoide (Figura 1. A1, A3). Sus medidas, incluyendo la pared, son: 12-18 µm de largo, 9-20 µm de ancho y 7 µm de grosor.

³ El orden incluye flageladas unicelulares y coloniales que tienen una mitosis cerrada (la membrana nuclear se mantiene prácticamente íntegra en la metafase) y el huso acromático no persiste durante la telofase. Su citocinesis es precedida por la formación de un ficoplasto (compuesto por microtúbulos y situado en el plano de división de la célula) y es realizada por medio de la constricción de la célula a manera de un diafragma (Hoek *et al.*, 1995 y Lee, 1999). Está conformado por alrededor de 110 géneros y mil especies cuya mayoría son de agua dulce, aunque las hay también terrestres, marinas y de nieve. Los cuerpos de agua ricos en nutrientes son ambientes en los que se pueden encontrar abundantes especies de este orden.

Pteromonas pseudoangulosa (Figura 1. B1-3) se diferencia de la anterior principalmente por su pared en forma de campana invertida (Figura 1. B1) en la vista frontal, que es también lisa, y por la ausencia de constricción en la zona media en la vista lateral y apical (Figura 1. B2, B3). Su protoplasto igualmente ovoide presenta un cloroplasto en urna con un pirenoide esférico en posición basal a central (Figura 1. B1). Sus medidas, incluyendo la pared, son: 11-13 μm de largo y 9-11 μm de ancho.

Pteromonas aculeata (Figura 1. C1-5), presenta una pared cuadrada o rectangular, granulada o en forma de panal de abeja, con los lados rectos o ligeramente abombados (Figura 1. C1, C2, C3). Sus vértices son agudos y en ocasiones presentan pequeñas ramificaciones (Figura 1. C3). En la vista lateral y apical el organismo es rectangular alargado y curvo formando una S y presenta también, en el plano ecuatorial, una constricción en la zona media (Figura 1. C4, C5). Su protoplasto es grande y elíptico (Figura 1. C1), en ocasiones con una constricción a la mitad (Figura 1. C3) y con la edad se vuelve grande y rectangular o bien anguloso (Figura 1. C2). Su cloroplasto grande y masivo tiene forma de urna con cuatro pirenoides, aunque este número no es constante debido a que las células jóvenes sólo presentan uno. Sus medidas, incluyendo la pared, son: 24-35 μm de largo, 19-37 μm de ancho y 8.5-15 μm de grosor.

Al género *Pteromonas* se le ha atribuido una amplia distribución espacial y ecológica (Huber-Pestalozzi, 1961; Ettl, 1983; Pentecost, 2002; Guiry y Guiry, 2009), sin embargo la mayoría de las descripciones han sido realizadas a partir de organismos de zonas templadas (Huber-Pestalozzi, 1961; Williams, 1965; Haughey, 1969; Ettl, 1983; Ortega-Mayagoitia y Rojo, 2000; Pentecost, 2002). Toda vez que prácticamente todos los registros de especies del género son de países de latitudes templadas (Tabla 1).

Existen seis registros en regiones tropicales y dos subtropicales (Tabla 1) y corresponden a *Pteromonas cordiformis* en Nueva Zelanda (Haughey, 1969), *P. angulosa* en Egipto (Fathi *et al.*, 2001), en Bangladesh (Alfasane y Khondker, 2008) y en México (Oliva *et al.*, 2008; Tavera y Díez, 2009), *P. pseudoangulosa* en Brasil (Menezes y de Mattos Bicudo, 2008) y *P. aculeata* en la ciudad de México en la Cantera Oriente de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel (Novelo *et al.*, 2007) y en el lago de Xochimilco (Figueroa *et al.*, 2008). Además sabemos que desde la segunda mitad de la década de 1990 ha sido observada *P. aculeata* en una fuente de agua de la primera sección del Bosque de Chapultepec (Novelo, E. com. pers.). Los trabajos de Haughey, (1969), Alfasane y Khondker (2008), Figueroa *et al.* (2008) y Menezes y de Mattos Bicudo (2008) incluyen una descripción más o menos completa de los organismos observados. Aunque han sido realizadas observaciones de microscopía electrónica de transmisión en especies de *Pteromonas* (Belcher y Swale, 1967; Hepperle *et al.*, 1998), es notable que en ninguna descripción previa se han incorporado observaciones en microscopía electrónica de barrido, en este trabajo se demuestra su importancia para obtener descripciones bien documentadas.

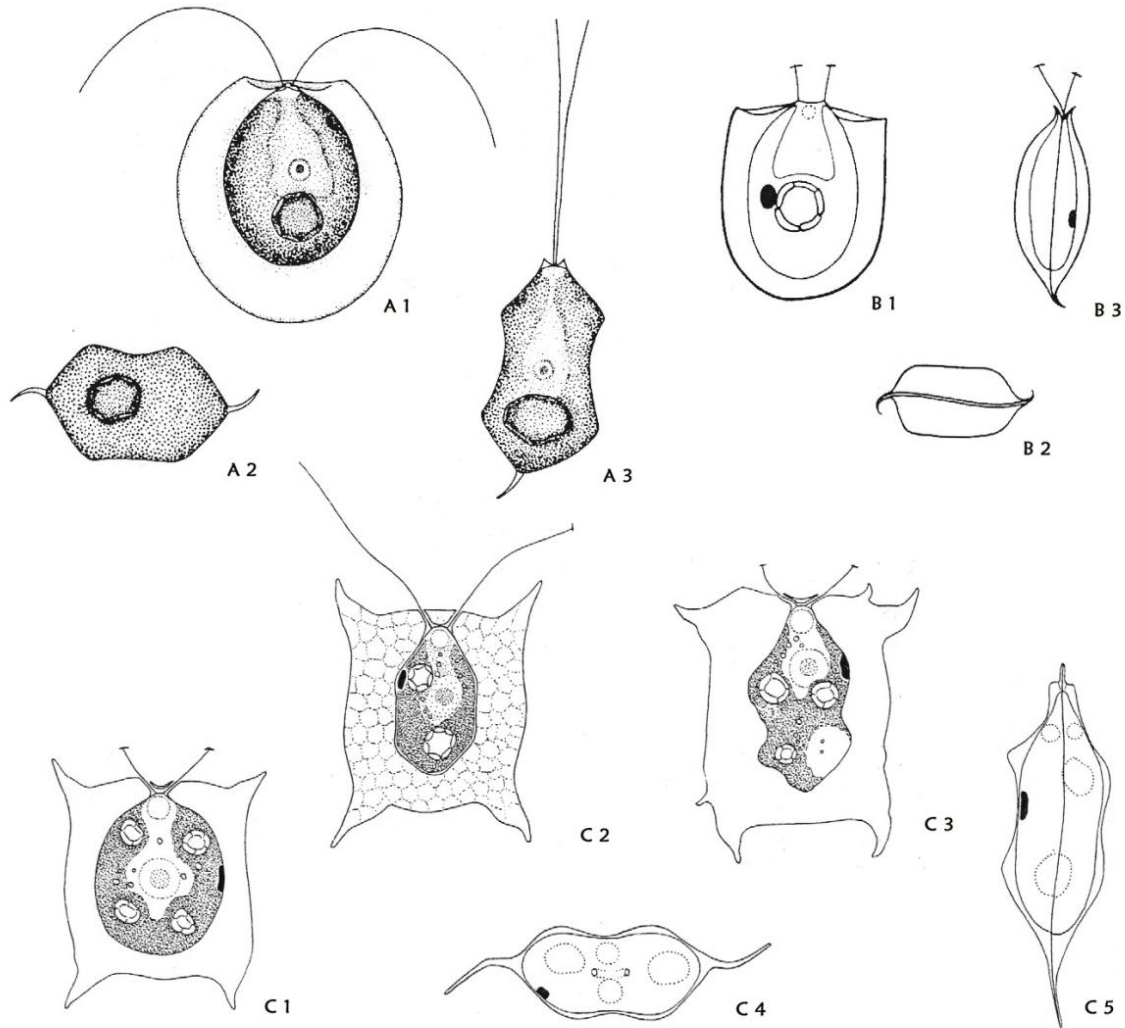


Figura 1. Ilustraciones de tres especies de *Pteromonas*, obtenidas de Ettl 1983. *P. angulosa*. **A1.** Vista frontal. **A2.** Corte en el plano ecuatorial de la vista apical **A3.** Corte en el plano ecuatorial de la vista lateral. *P. pseudoangulosa* **B1.** Vista frontal **B2.** Vista antapical. **B3.** Vista lateral. *P. aculeata*. **C1, C2 y C3.** Vistas frontales de diferentes células. **C4.** Corte en el plano ecuatorial de la vista apical. **5.** Corte en el plano ecuatorial de la vista lateral.

Las observaciones realizadas en este estudio evidenciaron una amplia variación morfológica en dos de las tres especies. La delimitación de grupos taxonómicos es tarea difícil al estudiar poblaciones que presentan variación en sus caracteres (Komárek, 1989). Una herramienta utilizada en estas situaciones es la representación diagramática de los caracteres considerados diacríticos y de sus respectivos estados de carácter para cada población (Komárek, 1989; Chávez *et al.*, 2005). De esta manera, queda incluida en el análisis taxonómico la variación de los caracteres de las poblaciones en su conjunto y de manera aislada.

Tabla 1. Registros de las especies de *Pteromonas* por país.

País	Especie	Referencia
Templados		
Inglaterra	<i>P. aculeata</i>	Williams, 1965; Pentecost, 2002
	<i>P. aequiciliata</i>	
	<i>P. angulosa</i>	
	<i>P. spinosa</i>	
	<i>P. tenuis</i>	
España	<i>Pteromonas</i> sp.	Felip <i>et al.</i> , 1999
	<i>P. limnética</i>	Álvarez-Cobelas <i>et al.</i> , 1987; Dasí <i>et al.</i> , 1998; Ortega-Mayagoitia y Rojo, 2000
	<i>P. angulosa</i>	
Francia	<i>Pteromonas</i> sp.	Leitão <i>et al.</i> , 2003
República Checa	<i>P. angulosa</i>	Kopp, 2006
	<i>P. aculeata</i>	
	<i>P. cordiformis</i>	
	<i>P. golenkiniana</i>	
Polonia	<i>P. angulosa</i>	Messyasz y Krysiuk, 2006
Bulgaria	<i>P. aculeata</i>	Stoyneva, 2000
Japón	<i>P. aculeata</i>	Montien-Art <i>et al.</i> , 1999
Estados Unidos de América	<i>P. aculeata</i>	Phillips y Fawley, 2002
	<i>P. angulosa</i>	Meyer, 1969
Argentina	<i>Pteromonas</i> sp.	Zalocar de Domitrovic, 2005
Subtropicales		
Nueva Zelanda	<i>P. cordiformis</i>	Haughey, 1969
Egipto	<i>P. angulosa</i>	Fathi <i>et al.</i> , 2001
Tropicales		
Bangladesh	<i>P. angulosa</i>	Alfasane y Khondker, 2008
México	<i>P. angulosa</i>	Oliva <i>et al.</i> , 2008; Tavera y Díez, 2009
	<i>P. aculeata</i>	Novelo <i>et al.</i> , 2007; Figueroa <i>et al.</i> , 2008
Brasil	<i>P. pseudoangulosa</i>	Menezes y de Mattos Bicudo, 2008

Chávez *et al.* (2005) utilizaron este recurso para analizar el grado de variación de las poblaciones de *Ophiocytum* en unos cuerpos de agua en el Estado de México. Como resultado, circunscribieron las nueve especies de *Ophiocytum* inicialmente identificadas (considerando los caracteres de manera aislada) en morfotipos⁴ incluidos en cinco especies. Los autores entonces discutieron la pertinencia de la utilización de ciertos caracteres como diacríticos en el género. En el presente trabajo se realizaron diagramas de radar similares a los utilizados por Chávez *et al.* (2005) para representar la variación observada en *Pteromonas aculeata* y *P. angulosa* y así poder evidenciar tanto discrepancias con las descripciones previas en la literatura, como posibles caracteres diacríticos que permitan delimitar grupos subespecíficos.

⁴ Un morfotipo se refiere a cualquier estado morfológico con determinados caracteres formales en las especies que presentan formas variadas (Font Quer, 1977)

Al discutir la variabilidad de estas especies en regiones tropicales se cuestionó la existencia de plasticidad fenotípica y de canalización ambiental. La plasticidad fenotípica se refiere a la expresión de diversos fenotipos a partir de un mismo genotipo en condiciones ambientales diferentes (Debat y David, 2001; DeWitt y Scheiner, 2004). Refleja, por lo tanto, la flexibilidad o bien la sensibilidad que tienen los organismos de las poblaciones frente a cambios ambientales (DeWitt y Scheiner, 2004). DeWitt y Scheiner (eds.) (2004) realizan un acercamiento funcional y conceptual de la plasticidad fenotípica que vale la pena revisar para mayores detalles.

Con lo que se refiere a la canalización, ésta es la supresión de la variación fenotípica (Wagner *et al.*, 1997). Dos tipos de canalización pueden ser distinguidas: la ambiental y la genética. En la primera, las causas de la variación son ambientales y por lo tanto a pesar de la existencia de cierta variación genética en la población, ésta no se ve reflejada en los fenotipos. La canalización genética, por su parte, refleja la insensibilidad de un carácter a variaciones genéticas (Wagner *et al.*, 1997). Cierta variación genética queda por lo tanto críptica y puede ser evidente después de un cambio ambiental o después de la introducción de nuevos alelos a la población (Gibson y Dworkin, 2004; Dworkin, 2005). La variación genética críptica es por lo tanto un fenómeno y la canalización es su consecuencia (Gibson y Dworkin, 2004).

Una discusión sobre la definición e historia de los conceptos de canalización y de plasticidad puede ser revisada en Debat y David (2001) y Salazar-Ciudad (2007).

Objetivo general

Realizar una caracterización morfológica y ambiental de las especies del género *Pteromonas* en cuerpos de agua urbanos de la Ciudad de México.

Objetivos particulares

- 1) Analizar la presencia estacional de las especies del género *Pteromonas* en lagos urbanos de la Ciudad de México.
- 2) Describir las especies de este género incluyendo su variación morfológica en las localidades estudiadas.
- 3) Complementar la descripción de las especies con base en las observaciones de MEB.
- 4) Estudiar la relación entre la presencia de las especies con las variables fisicoquímicas evaluadas.

Materiales y métodos

Sitios de recolección

La Ciudad de México ($19^{\circ}36'-19^{\circ}03'N$, $98^{\circ}57'-99^{\circ}22'O$) está situada en una cuenca a una altitud media de 2240 m y sobre un basamento mayoritariamente de roca ígnea extrusiva. Su clima es principalmente templado subhúmedo y presenta una estacionalidad marcada con una temporada de lluvias que va de mayo a octubre y una temporada seca de noviembre a abril (CNA, 2009). Sus temperaturas medias mensuales están comprendidas entre 12.7 y 17.6°C (SMN, 2010).

Las recolecciones se realizaron en cuatro lagos urbanos de esta ciudad (Figura 2), tres al sur: el lago de Xochimilco (canales Bordo y Japón, y la laguna La Virgen), el Parque Ecológico de Xochimilco (Huetzalín y Acitlalín) y la Cantera Oriente (Vaso Regulador); y uno al noroeste: el Lago Mayor de la segunda sección del Bosque de Chapultepec.

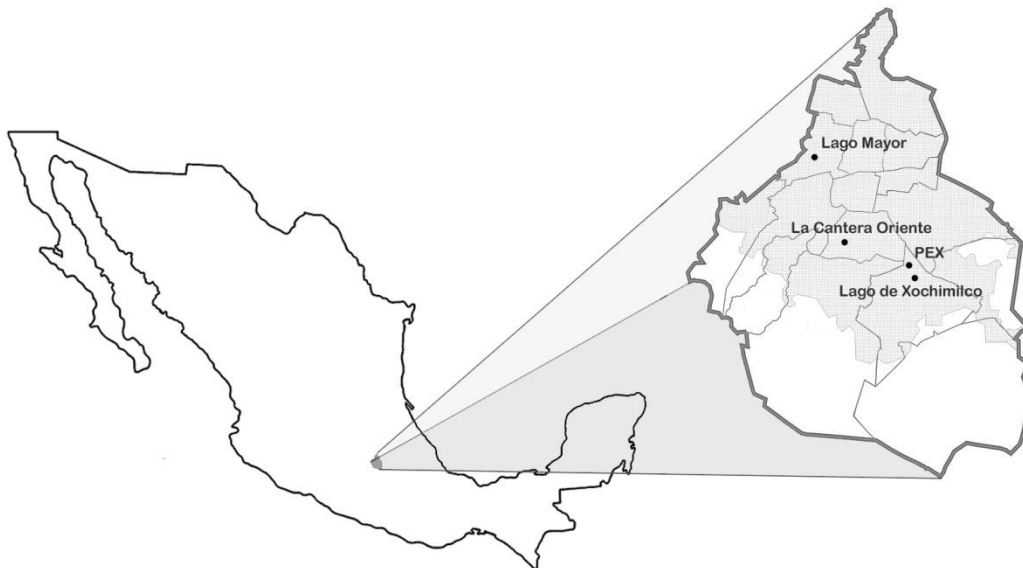


Figura 2. Cuerpos de agua urbanos muestreados (PEX: Parque Ecológico de Xochimilco). La zona sombreada indica el área urbana aproximada en el Distrito Federal.

El lago de Xochimilco ($19^{\circ}17'14'' - 19^{\circ}15'01'' N$, $99^{\circ} 06'10.14'' - 99^{\circ}04'0.348''O$), Patrimonio Cultural de la Humanidad (UNESCO, 1987), Zona Sujeta a Conservación Ecológica (DOF 7/mayo/1992) y enlistado en 2004 en la Convención Internacional de Humedales (RAMSAR, 2010), es un lago urbano compuesto por un sistema de canales y de lagunas que sobrepasan rara vez los dos metros de profundidad (Ortiz y Ruvalcaba, 2005; Zambrano *et al.*, 2009). En torno a este sistema de canales se desarrollan actividades agrícolas, ganaderas y recreativas: la laguna La Virgen se encuentra rodeada por chinampas; en las riberas del canal Japón hay pastizales que son destinados a la ganadería y a lo largo del canal Bordo se encuentran trajineras turísticas (Figura 3). Sus aguas son alcalinas con un pH comprendido entre 8.1 y 11.2, tienen una temperatura de 16.5 a 21.5°C y provienen de las plantas de tratamiento Cerro de la Estrella y San Luis Tlaxialtemalco las

cuales le dan un tratamiento a nivel secundario (Tavera y Díez, 2009). Sin embargo, éstas han sido caracterizadas como hipereutróficas (Ortiz y Ruvalcaba, 2005; Zambrano *et al.*, 2009), con fuertes aportes locales de nutrientes provenientes de actividades agrícolas y urbanas (Zambrano *et al.*, 2009) y con importantes descargas de aguas residuales domésticas evidenciadas por la presencia de detergentes (Pineda-Flores *et al.*, 1999) y por la abundancia de coliformes fecales (Pineda-Flores *et al.*, 1999, Zambrano *et al.*, 2009) así como de bacterias patógenas para el humano (Mazari-Hiriart *et al.*, 2001).

El Parque Ecológico de Xochimilco (PEX), que abrió sus puertas al turismo en 1993, forma parte de la Zona Sujeta a Conservación Ecológica de Xochimilco y tiene como objetivo realizar un rescate hidráulico, agrícola, arqueológico y cultural de la zona (Otto, 1999). El 26% de su superficie está ocupada por cuerpos de agua – lagos o canales – (Otto, 1999) siendo los lagos Huetzalín (19°17'11.31"-19°17'49.37"N, 99°05'40.51"-99°06'05.59"O) y Acitlalín (19°17'40.48"-19°17'50.23"N, 99°05'32.30"-99°05'34.44"O) los más importantes (Figura 4). De igual manera que el Lago de Xochimilco, éstos son alimentados con agua proveniente de la planta de tratamiento del Cerro de la Estrella (Otto, 1999).

La Cantera Oriente (19°19'15.89"-19°19'07.95"N, 99°10'25.16"- 99°10'20.43"O) que está comprendida dentro de la Zona de Amortiguamiento (A3) de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel de la Ciudad Universitaria (Figura 5), corresponde al espacio resultante de la extracción de cerca de cinco millones de metros cúbicos de material basáltico y su posterior restauración (Lot, 2007). El agua que alimenta los cuerpos de agua, caracterizada por Novelo *et al.* (2007) como mesotrófica, proviene de manantiales que afloraron a causa de la excavación de la roca, así como de la escorrentía urbana de la zona aledaña (colonia Santo Domingo y el Club Universidad).

El Lago Mayor del Bosque de Chapultepec (19°24'57.72"-19°25'07.41"N, 99°11'53.50"-99°12'02.78"O) es un tanque de almacenamiento que fue construido sobre una zona minera destinada a la extracción de arena en las décadas de 1940 y 1950 que posteriormente fue rellenada (Gobierno del Distrito Federal, 2006). Sus aguas provienen de la planta de tratamiento Chapultepec que le dan un tratamiento a nivel terciario (Gobierno del Distrito Federal, 2006), sin embargo en estudios recientes (Segura, M. com. pers.) se observa la riqueza en nutrientes de las aguas, pudiéndolas caracterizar de eutróficas a hipereutróficas. Las actividades que involucran a este cuerpo de agua, son principalmente recreativas de tipo turísticas (Figura 6).

Recolecciones

Siete localidades en los cuatro lagos urbanos fueron consideradas para el estudio: la laguna La Virgen, los canales Japón y Bordo, en el lago de Xochimilco (Figura 3), los lagos Huetzalín y Acitlalín en el Parque Ecológico de Xochimilco (Figura 4), el Vaso Regulador situado en la Cantera Oriente (Figura 5) y el Lago Mayor del Bosque de Chapultepec (Figura 6).

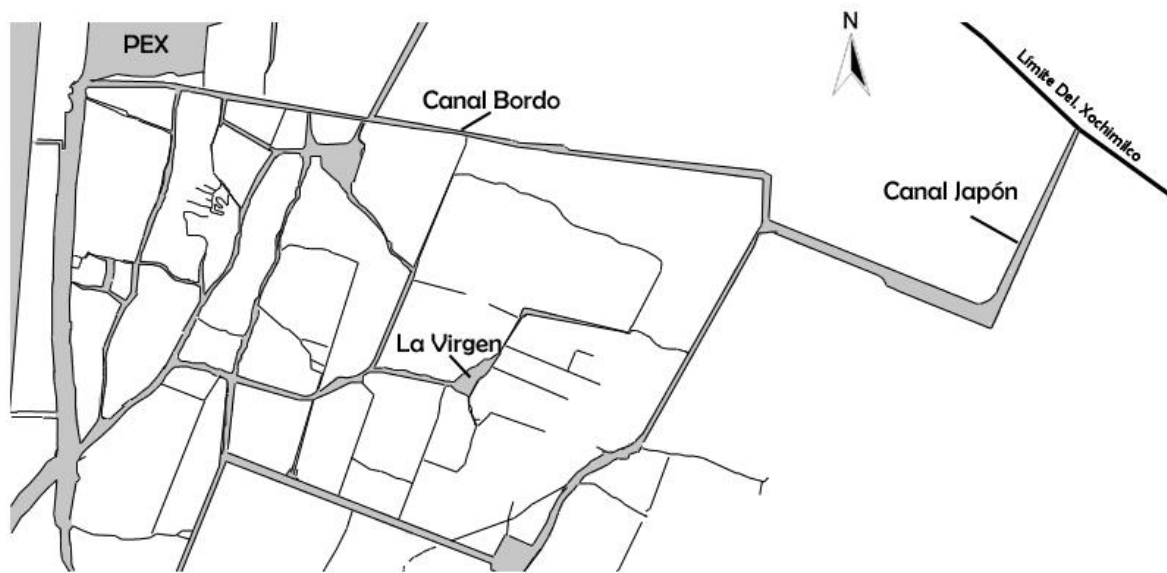


Figura 3. Zona de recolecciones en el Lago de Xochimilco.

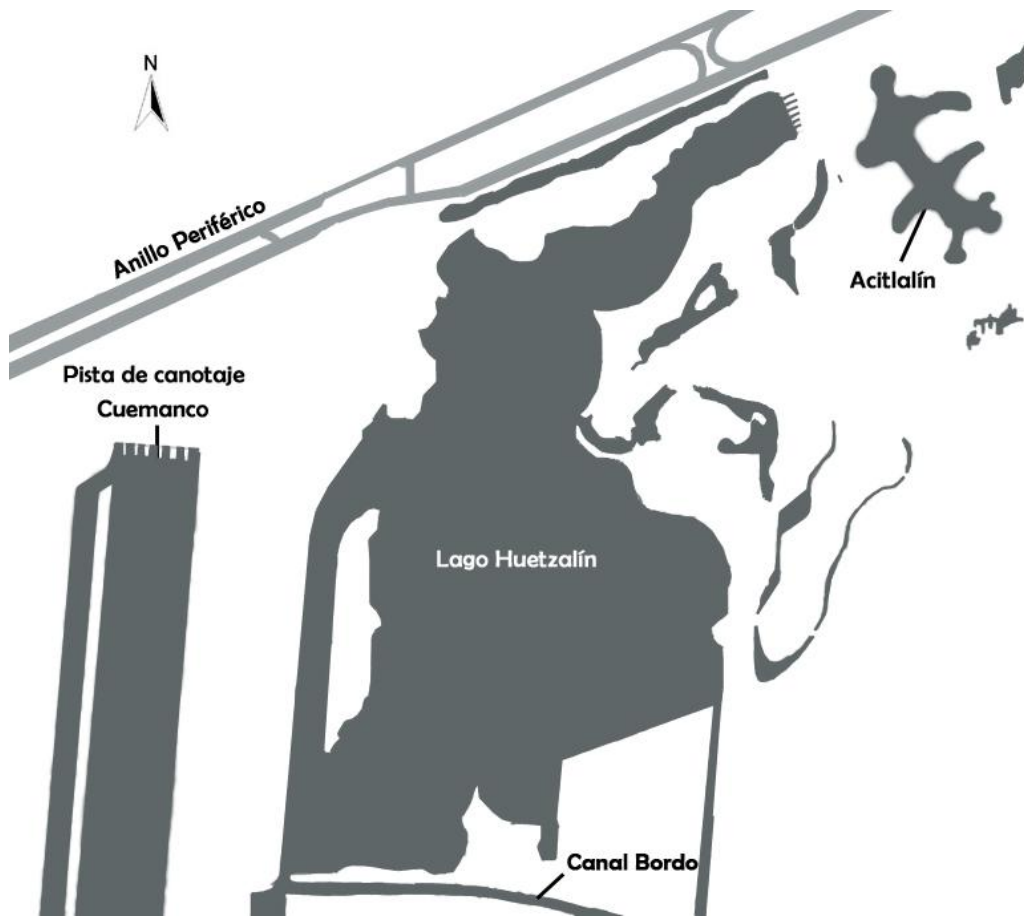


Figura 4. Zona de recolecciones en el Parque Ecológico de Xochimilco.

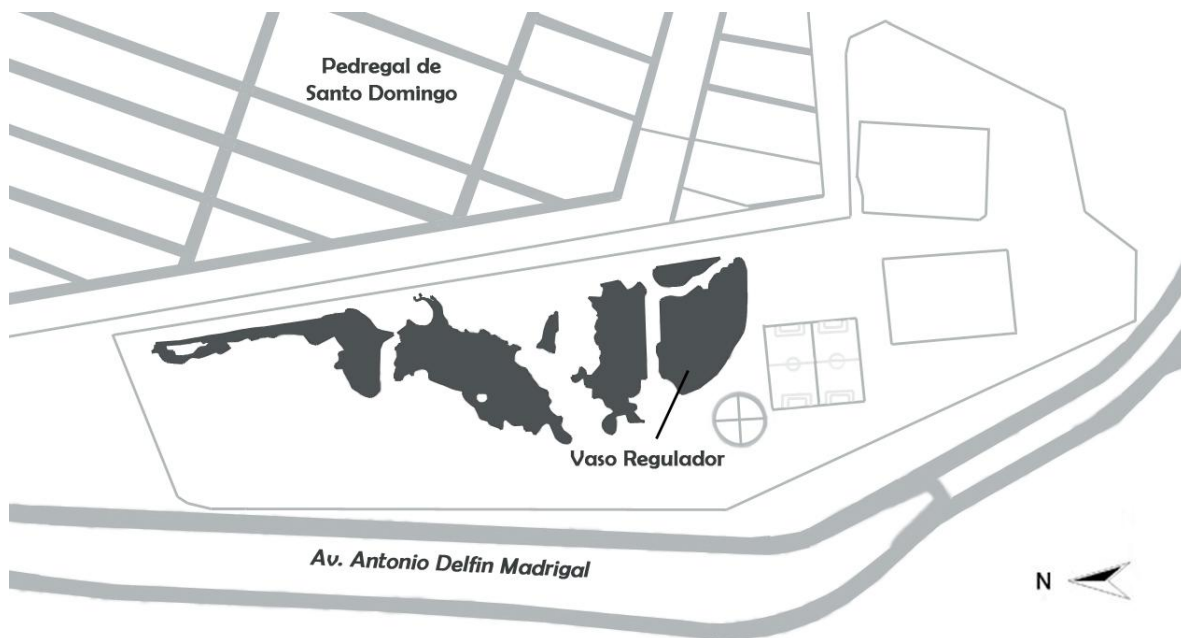


Figura 5. Zona de recolección en la Cantera Oriente de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel.

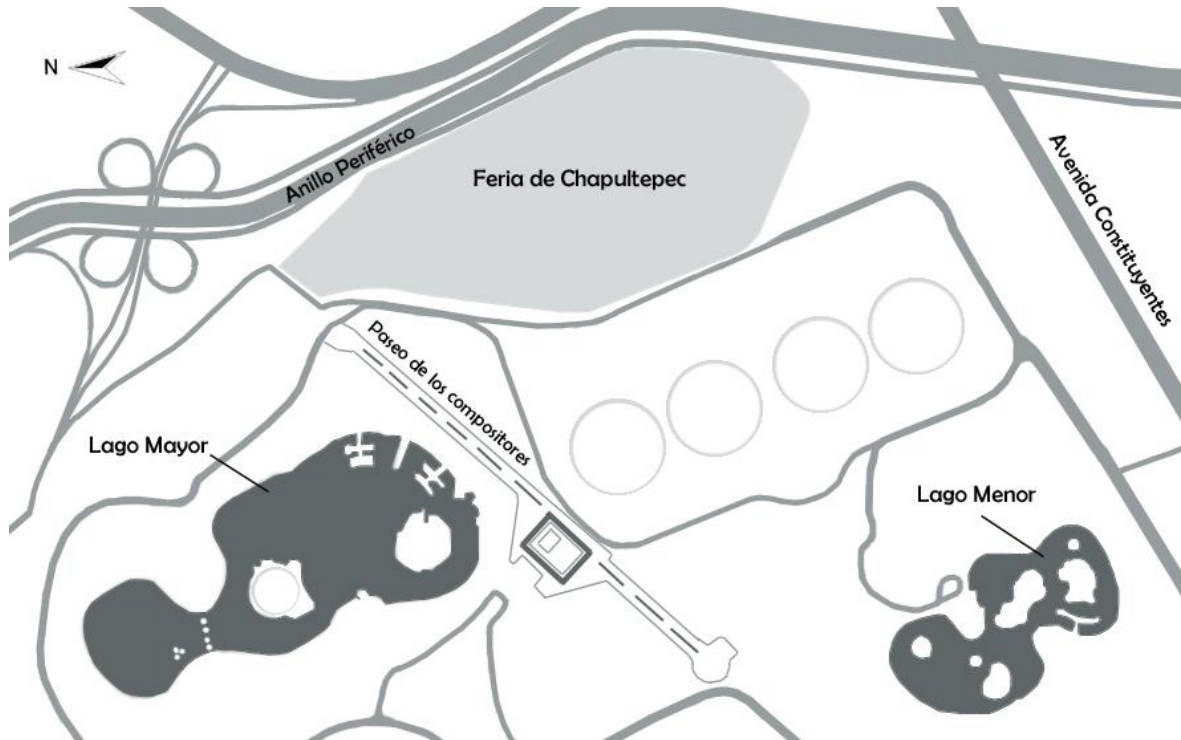


Figura 6. Zona de recolección en la segunda sección del bosque de Chapultepec.

Los muestreos fueron realizados en la época seca en el Parque Ecológico de Xochimilco (2005), la laguna La Virgen (2007), el canal Japón (2007), el canal Bordo (2007 y 2009), el Vaso Regulador de la Cantera Oriente (2009) y el Lago Mayor del Bosque de Chapultepec (2009); y en la época de lluvias en la laguna La Virgen (2007 y 2008), el canal Japón (2007 y 2008), el canal Bordo (2007 y 2008) y el Vaso Regulador de la Cantera Oriente (2006 y 2009).

Las recolecciones fueron hechas concentrando un volumen indeterminado de agua de la localidad con una red de fitoplancton con poro de 10 μm de diámetro. Debido a la accesibilidad de los cuerpos de agua, las muestras del lago de Xochimilco y del Lago Mayor de Chapultepec corresponden a muestras de fitoplancton, mientras que las obtenidas del PEX y del Vaso Regulador de la Cantera Oriente son muestras de metafiton (Gaviño *et al.*, 1972; Sigee, 2005).

Evaluación de las variables fisicoquímicas

Se realizó la medición de variables ambientales fisicoquímicas de las diferentes localidades del Lago de Xochimilco, del PEX y del Vaso Regulador de la Cantera Oriente. Se evaluaron la temperatura, el pH y la conductividad con un equipo Conductronic portátil, la transparencia con un disco de Secchi y la irradianza superficial con un dispositivo Hobo Temperature/Light Pendant Data Logger (#UA-002-64K). El fósforo total fue evaluado por el método de digestión ácida siguiendo las especificaciones de Hach (1997), de la misma manera que para el nitrato y el amonio utilizando el método de la reducción de cadmio y el del reactivo de salicato respectivamente. El nitrógeno inorgánico total fue evaluado realizando la suma del nitrato, del amonio y de los nitritos (este último fue considerado como cero; Sigee, 2005).

Estas variables fueron obtenidas de manera simultánea a las recolecciones a excepción de los del canal Bordo en la época de lluvias y del lago Acitlalín en la época seca, los cuales corresponden a evaluaciones de lluvias 2008 y secas 2006 respectivamente.

Preparación de las muestras

Las muestras fueron preservadas con formaldehído al 3% (González-González y Novelo-Maldonado, 1986) y se incorporaron al Herbario de la Facultad de Ciencias (FCME) en la colección particular de Biodeterioro Algal (BA). Posteriormente fueron montadas en preparaciones semipermanentes con gelatina glicerinada (González-González y Novelo-Maldonado, 1986) y rojo congo como colorante contrastante (Gaviño *et al.*, 1972).

Revisión de las preparaciones

Los registros y descripciones de las especies y de los conjuntos de caracteres de *Pteromonas* fueron realizados a partir de observaciones con microscopía fotónica (microscopio Nikon Optiphot-2 equipado con contraste de interferencia diferencial), revisando un total de tres preparaciones semipermanentes por recolección. Los organismos fueron fotografiados con una cámara Nikon coolpix S10.

Identificación de las especies

Se revisaron los trabajos de Bourrely (1966), Ettl (1983), Pentecost (2002), Nozaki (2003) y Guiry y Guiry (2009) para la identificación del género y de las especies. El trabajo de Ettl (1983) incluye la descripción de 18 de ellas, dentro de las cuales se encuentran *Pteromonas angulosa* Lemmermann, *P. pseudoangulosa* Péterfi y *P. aculeata* Lemmermann. Este trabajo se utilizó como referencia para el estudio de la variación de las especies observadas.

Descripción de las especies, de los conjuntos de caracteres y su registro

Se realizó la observación, el registro fotográfico y la descripción de los principales caracteres (forma de la pared celular, presencia de engrosamientos de la pared, presencia de constricción en la vista lateral, forma del protoplasto, número de pirenoides y medidas de la célula incluyendo la pared y sólo del protoplasto) de 250 organismos del género en las diferentes localidades. Con esta información de la variabilidad morfológica, se establecieron y describieron diferentes conjuntos de caracteres de *Pteromonas angulosa* y de *P. aculeata*. La especie *P. pseudoangulosa* no presentó una amplia variabilidad morfológica, por lo que no se realizaron conjuntos de caracteres para la especie.

La presencia de las especies del género y de los respectivos conjuntos de caracteres fue registrada para cada recolección.

Con el fin de evidenciar las diferencias entre los conjuntos de caracteres de cada especie, los caracteres diagnósticos de cada uno de ellos fueron representado en diagramas de radar (Chávez *et al.*, 2005) utilizando 68 organismos para *Pteromonas aculeata* y 99 para *P. angulosa*. Los caracteres de presencia y ausencia fueron indicados con valores de 1 y 0 respectivamente; y tanto los caracteres que involucran valores continuos (medidas de las células) como los discretos (número de pirenoides), fueron convertidos a porcentaje dónde el cero corresponde al valor más pequeño del intervalo correspondiente y el cien por ciento corresponde al valor más grande (Chávez *et al.* 2005). Así, cada diagrama representa a un determinado conjunto de caracteres y está compuesto por una serie de ejes que indican los caracteres (diagnósticos) variables considerados. Los estados de carácter se encuentran referenciados en estos ejes. Así, al unir sus respectivos estados de carácter con líneas, cada diagrama muestra de forma clara las similitudes y diferencias entre los distintos conjuntos, incluso para un ojo no entrenado.

En las descripciones realizadas, se indican las sinónimas de las especies con base en Ettl (1983) y Pentecost (2002).

Procesamiento de datos

Se realizaron análisis de regresión lineal múltiple utilizando el programa estadístico SPSS v17 (SPSS Statistics, 2008) con el fin de determinar si las variables ambientales explican la presencia de los diferentes conjuntos de caracteres de *P. angulosa*. Se consideraron para el análisis las localidades en las que la especie fue registrada y cuya descripción ambiental está disponible: la laguna La Virgen, los canales Japón y Bordo y el lago Acitlalín, con un total de 11 casos. Debido a la ausencia de la transparencia de Secchi para el lago Acitlalín, no se tomó en cuenta esta variable ambiental

en el análisis. Se valoró la presencia o la ausencia de cada conjunto con números naturales consecutivos exceptuando el cero con el fin de evitar la supresión de los casos.

Cultivo de *Pteromonas aculeata*

Un cultivo unialgal de *Pteromonas aculeata* se obtuvo realizando un aislamiento por micropipeta (Guillard, 1973; Hoshaw y Rosowski, 1973; Andersen y Kawachi, 2005; Anexo 5). El alga provino de la laguna La Virgen en Xochimilco y fue aislada en diciembre 2007 en medio de cultivo Bourrelly (Anexo 6) enriquecido con agua-suelo y chícharo (Anexo 7) y cultivada bajo un fotoperiodo de 12/12 h a $42.8 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (PAR) y a una temperatura de 20°C. Estas condiciones fueron escogidas en función de las mediciones de irradianza realizadas en algunas localidades a 30 cm de profundidad así como de experiencias anteriores de cultivo que mostraron un mejor crecimiento bajo estas condiciones. Se probaron dos condiciones de cultivo (medio de cultivo líquido en tubos de 10 y 20 ml; y sólido al 1.5% de agar en cajas petri plásticas) (Anexo 8), en ambas se mantuvo el crecimiento de la especie siempre y cuando el cultivo sólido se mantuviera hidratado (Andersen y Kawachi, 2005).

Se realizaron preparaciones semi-permanentes siguiendo el mismo procedimiento que el utilizado para las muestras de campo. El material fue también observado con microscopía fotónica (microscopio Nikon Optiphot-2 equipado con contraste de interferencia diferencial) y se realizaron fotografías con la cámara Nikon coolpix S10.

Microscopía electrónica de barrido (MEB)

Se realizaron observaciones de microscopía electrónica de barrido de ejemplares de *Pteromonas aculeata* recolectados en el Vaso Regulador de la Cantera Oriente en abril del 2010. *P. angulosa* y *P. pseudoangulosa* se encontraron en densidades muy bajas en las localidades y no se ha logrado su cultivo por lo que no se observaron en microscopía electrónica de barrido.

El material fue recolectado como se describió previamente, posteriormente se filtró la muestra a través de un filtro de membrana de policarbonato⁵ de 0.22 μm de tamaño de poro. Sin que el filtro se desecara, el borde abierto del filtro se unió con hilo de nylon.

Posteriormente se realizó una fijación primaria de 15 minutos sumergiendo el filtro doblado en glutaraldehído al 2% en medio de cultivo Bourrelly con agua-suelo y chícharo (Anexo 9), seguida de una fijación de dos horas a temperatura ambiente con glutaraldehído al 2% en 0.1M buffer de cacodilato de sodio (NaCac)⁶ pH 7.2 (Anexo 9). Se lavó el filtro cuatro veces por 10 minutos cada vez en una solución nueva de buffer a 0.1M de NaCac pH 7.2 (Anexo 9).

⁵ Se utilizan filtros de membrana de policarbonato debido a la forma cilíndrica uniforme de sus poros que permiten una distribución uniforme de las células en un plano a lo largo de la superficie de la membrana (Paerl y Shimp, 1973).

⁶ Este buffer es esencial pues no precipita al trabajar con agua dulce como ocurre con los buffers de fosfatos, de acetato y los Tris (Paerl y Shimp, 1973).

Se inició el proceso de deshidratación gradual sumergiendo el filtro por 15 minutos en concentraciones crecientes de alcohol etílico: 25%, 50%, 75% y tres veces 100% (Paerl y Shimp, 1973; Anexo 9).

Posteriormente a la deshidratación con alcohol absoluto, en el Laboratorio de Microscopía Electrónica de Barrido de la Facultad de Ciencias de la U.N.A.M., se realizó la deshidratación a punto crítico, se montó el material procesado cortando un fragmento del filtro y adhiriéndolo sobre cilindros de aluminio utilizando cinta conductora de doble cara. Se cubrió el material con oro y se realizaron las observaciones del material en un microscopio Jeol JSM-5310LV.

Resultados

Variables hidrológicas

Las variables fisicoquímicas evaluadas entre 2005 y 2009 para la laguna La Virgen, los canales Japón y Bordo, en el lago de Xochimilco, los lagos Huetzalín y Acitlalín en el Parque Ecológico de Xochimilco y el Vaso Regulador situado en la Cantera Oriente están indicadas en la Tabla 2.

Especies recolectadas

Se identificaron tres especies del género *Pteromonas* en las recolecciones realizadas: *Pteromonas aculeata* (Figuras 7, 8, 9 y 11), *P. angulosa* (Figuras 14 y 15) y *P. pseudoangulosa* (Figuras 14 y 16). Éste es el primer registro en México para *P. pseudoangulosa* y el segundo en regiones tropicales (Menezes y de Mattos Bicudo, 2008).

Pteromonas aculeata fue recolectada en la laguna La Virgen del Lago de Xochimilco así como en el Vaso Regulador de la Cantera Oriente (Tabla 5). *P. angulosa* se encontró en los tres puntos recolectados del lago de Xochimilco, en uno de los dos principales cuerpos de agua del Parque Ecológico de Xochimilco y en el Lago Mayor de Chapultepec (Tabla 5). *P. pseudoangulosa* se encontró exclusivamente en el Lago Mayor de Chapultepec (Tabla 5), lugar en el que la mayoría de los individuos estaban infectados por quitridiomicetes⁷.

En la Cantera Oriente (2006) se observó la formación de esporas de *Pteromonas aculeata* (Figura 10, Figura 11. c), donde cada célula hija presenta un cloroplasto en urna con dos o más pirenoides, parietales, esféricos y pequeños, recubiertos por gránulos de almidón. El núcleo se encuentra en el centro de las células. El tetrasporangio (Figura 11. c) mide entre 24 y 26 μm y las esporas 10 μm de grosor por 12 μm de ancho, incluyendo la pared.

Variaciones morfológicas

Pteromonas aculeata y *P. angulosa* presentaron variaciones morfológicas intraespecíficas en la forma y amplitud de la pared en la vista frontal, en la presencia de engrosamientos de la pared, en la forma del protoplasto, en el número de pirenoides y en las medidas de las células. La combinación de los caracteres (la forma de la célula en la vista frontal, la presencia de engrosamientos longitudinales de la pared, la forma del protoplasto, el número de pirenoides y las medidas de la célula con y sin pared en *P. aculeata* y la presencia o ausencia de engrosamientos longitudinales de la pared, la forma del protoplasto y las medidas de la célula con y sin pared en *P. angulosa*) en los organismos de las poblaciones estudiadas no fue azarosa, lo que permitió delimitar diez conjuntos de caracteres para *P. aculeata* y cuatro para *P. angulosa*.

⁷ Algunas células algales (diatomeas) infectadas por quitridiomicetos han sido observadas también en algunas recolecciones del canal Japón (Tavera, R., com. pers.). Este grupo de hongos se caracteriza por presentar zoosporas. La mayoría de ellos son saprobios sin embargo el orden Chytridiales incluye especies parásitas de algas, otros hongos y pequeños animales acuáticos (Carlile *et al.*, 2001).

Tabla 2. Variables fisicoquímicas evaluadas para las diferentes localidades y épocas estudiadas.

				pH	Temperatura (°C)	Conductividad ($\mu\text{S. cm}^{-1}$)	Irradianza Superficial PAR ($\mu\text{E.m}^{-2}\text{s}^{-2}$)	Nitrógeno inorgánico total (mg.l^{-1})	PO_4^{3-} Fósforo total (mg.l^{-1})	
Xochimilco	La Virgen	Seca	2007	8.0	18.8	667.7	1837.05	6.02	8.07	
		Lluviosa	2007	8.5	20.0	777.0	799.12	1.31	9.43	
			2008	8.0	20.0	1080.0	854.43	0.90	1.71	
	Canal Japón	Seca	2007	8.0	20.1	842.0	1781.94	6.47	5.39	
		Lluviosa	2007	8.8	20.4	871.0	1322.68	2.33	10.00	
			2008	8.4	21.0	1049.7	1137.82	1.96	0.38	
	Canal el Bordo	Seca	2007	9.4	16.9	654.7	1377.82	0.92	4.67	
			2009	9.6	17.9	644.7	1621.93	1.80	15.23	
		Lluviosa	2008	10.8	19.9	561.7	1047.12	1.21	2.94	
			2008	8.7	21.4	809.0	1451.27	2.13	0.18	
	PEX	Acitlalín	Seca	2006	7.2	20.7	1088.0	427.11	7.89	1.64
		Huetzalin	Seca	2005	10.0	16.4	706.0	150.89	2.26	9.20
La Cantera Oriente	Vaso	Seca	2006	7.1	14.5	410.0	1377.79	5.70	0.99	
	Regulador	Lluviosa	2006	8.7	27.7	504.0	1270.80	4.65	1.80	
			2009	9.4	17.8	382.0	992.01	4.80	8.74	

Variaciones de las poblaciones silvestres de *Pteromonas aculeata* agrupadas en conjuntos de caracteres

Se establecieron ocho conjuntos de caracteres (A, B, C, D, E, F, G y H), a partir de las observaciones de los ejemplares silvestres de *Pteromonas aculeata* (Figuras 7, 8, 9, H, 11 y 12; Tabla 3) considerando la forma de la célula en la vista frontal, la presencia de engrosamientos longitudinales de la pared, la forma del protoplasto, el número de pirenoides y las medidas de la célula con y sin pared.

Dos de los conjuntos (A y B), al compararlos con la descripción de Ettl (1983) (Figura 12 A, B) difieren únicamente en las medidas de la célula con y sin pared; el conjunto C difiere además de en las medidas, en el número de pirenoides (Figura 12 C):

- (A) El conjunto A incluye a células que tienen una pared amplia, en la vista frontal son de cuadradas a rectangulares con vértices agudos. Su protoplasto es ovoide, con de dos a cuatro pirenoides. Sus medidas, incluyendo la pared, son: 21.5-25 μm de largo, 18-20 μm de ancho y las del protoplasto son: 16.5 μm de largo y 10-12 μm de ancho (Figuras 7 A, 11 A y 12 A; Tabla 3).
- (B) El conjunto B incluye a células que tienen una pared amplia, en la vista frontal son rectangulares con vértices agudos. Su protoplasto es oblongo con la región apical cónica, presenta de dos a cuatro pirenoides. Sus medidas, incluyendo la pared, son: 25 μm de largo, 21.5 μm de ancho y las del protoplasto son: 15 μm de largo y 8 μm de ancho (Figuras 7 B, 11 B y 12 B; Tabla 3).
- (C) El conjunto C incluye a células que tienen una pared poco amplia, en la vista frontal son de cuadradas a rectangulares, con vértices agudos. Su protoplasto es rectangular, con cuatro a ocho pirenoides. Sus medidas, incluyendo la pared, son: 18-25 μm de largo, 20-21.5 μm de ancho y las del protoplasto son: 13-20 μm de largo y 15 μm de ancho (Figuras 7 C, 11 C y 12 C; Tabla 3).

Los conjuntos D, E, F y G, al compararlos con la descripción de Ettl (1983) (Figura 12), incluyen a ejemplares que se destacan por tener uno o dos engrosamientos longitudinales de la pared sobre el protoplasto (Figuras 8, 11 y 12; Tabla 3):

- (D) El conjunto D incluye a células que tienen una pared amplia, en la vista frontal son de cuadradas a rectangulares con vértices agudos, presentan dos engrosamientos longitudinales de la pared cuyos puntos de inicio y de término corresponden a las zonas central apical y posterior sobre el protoplasto, sin afectar las alas. Su protoplasto es ovoide, con dos a cuatro pirenoides. Sus medidas, incluyendo la pared, son: 25-26.5 μm de largo, 20-21.5 μm de ancho y las del protoplasto son: 16.5-18 μm de largo y 11.5-13 μm de ancho (Figuras 8 D, 11 D y 12 D; Tabla 3).

- (E) El conjunto E incluye a células que tienen una pared amplia, en la vista frontal son rectangulares con vértices agudos, presentan dos engrosamientos longitudinales de la pared cuyos puntos de inicio y de término corresponden a la zona central apical y posterior sobre el protoplasto, sin afectar las alas. El protoplasto es oblongo con la región apical cónica, presenta de tres a seis pirenoides. Sus medidas, incluyendo la pared, son: 23.5-29 μm de largo, 20-28 μm de ancho y las del protoplasto son: 17-20 μm de largo y 10-13.5 μm de ancho (Figuras 8 E, 11 E y 12 E; Tabla 3).
- (F) El conjunto F incluye a células que tienen una pared poco amplia, en la vista frontal son de cuadradas a rectangulares, con vértices agudos, presentan dos engrosamientos longitudinales de la pared cuyos puntos de inicio y de término corresponden a la zona central apical y posterior sobre el protoplasto, sin afectar las alas. Su protoplasto es rectangular, con cuatro a ocho pirenoides. Sus medidas, incluyendo la pared, son: 25-26 μm de largo, 19.5-25 μm de ancho y de las del protoplasto son: 18-19.5 μm de largo y 13-14 μm de ancho (Figuras 8 E, 11 E y 12 E; Tabla 3).
- (G) El conjunto G incluye a células que tienen una pared poco amplia, en la vista frontal son de rectangulares a elípticas con vértices agudos, presentan dos engrosamientos longitudinales de la pared cuyos puntos de inicio y de término corresponden a la zona central apical y posterior sobre el protoplasto, sin afectar las alas. Su protoplasto es elipsoidal con cuatro pirenoides. Sus medidas, incluyendo la pared son: 29 μm de largo, 26 μm de ancho y las del protoplasto: 19.5 μm de largo y 15.5 μm de ancho (Figuras 8 G, 11 G y 12 G; Tabla 3).

El conjunto H incluye a células que tienen una forma de la célula en la vista frontal de rectangular a elíptica con vértices agudos (Figuras 9 H, 11 H; Tabla 3), carácter no presente en la descripción de Ettl (1983) (Figura 12 H):

- (H) El conjunto H incluye a células que tienen una pared poco amplia, en la vista frontal son de rectangulares a elípticas con vértices agudos. Su protoplasto es elipsoidal con cuatro pirenoides. Sus medidas, incluyendo la pared, son: 21.5 μm de largo, 18-19.5 μm de ancho y las del protoplasto son: 16.5 μm de largo y 11.5-13 μm de ancho (Figuras 9 H, 11 H y 12 H; Tabla 3).

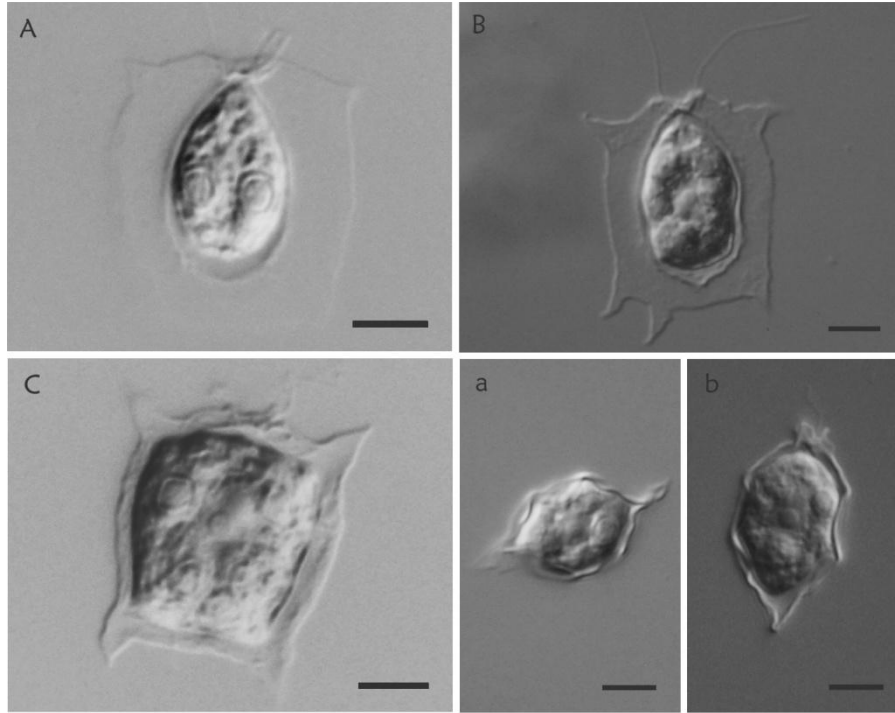


Figura 7. Fotografías en vista frontal de *Pteromonas aculeata* de ejemplares representativos de los conjuntos de caracteres **A**, **B** y **C**. **a**. Vista apical y **b**. vista lateral en el corte óptico. La barra indica 5 μm .

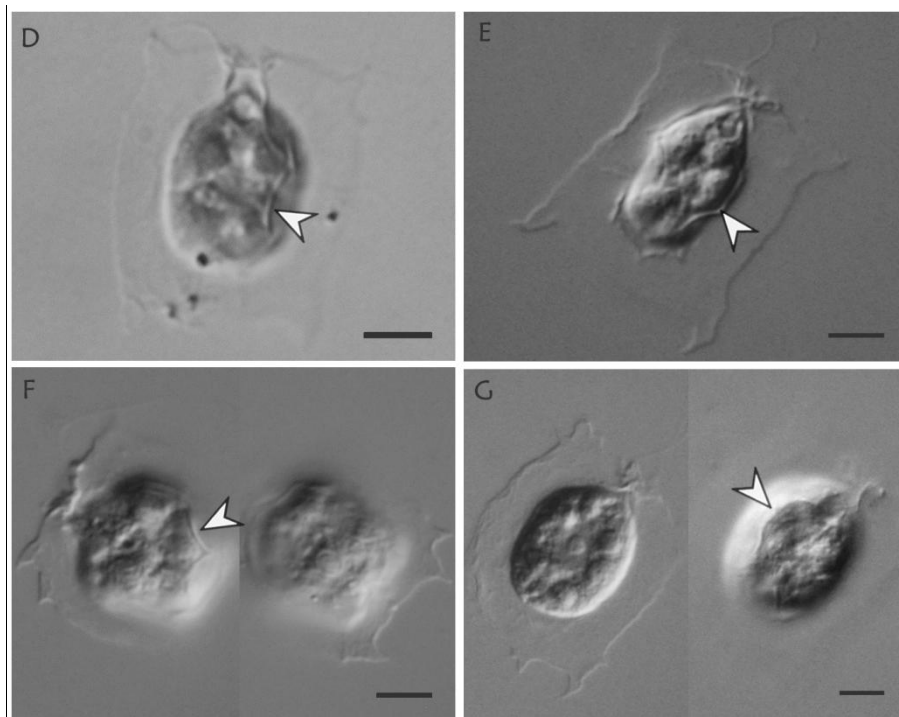


Figura 8. Fotografías en vista frontal de *Pteromonas aculeata* de ejemplares representativos de los conjuntos de caracteres **D**, **E**, **F** y **G**. Todos presentan uno o dos engrosamientos longitudinales de la pared sobre el protoplasto (señalados por las flechas) y están incluidos en el morfotipo 1 de la especie. La barra indica 5 μm .

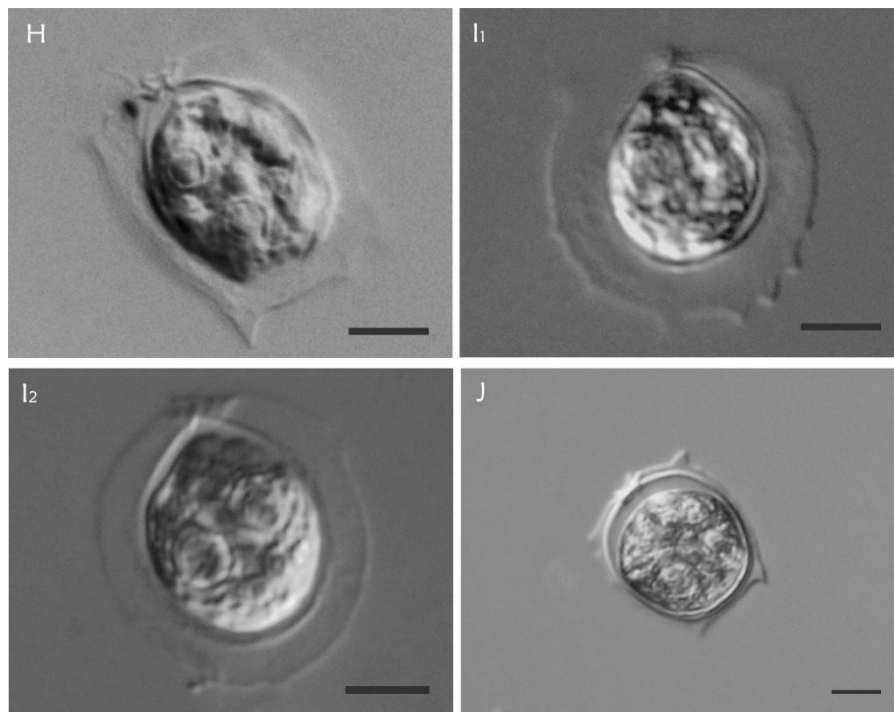


Figura 9. Fotografías de *Pteromonas aculeata* en vista frontal de ejemplares representativos de los conjuntos de caracteres H, I_{1,2} y J. I y J fueron observados únicamente en cultivo y todos presentan células con una forma de circular a elíptica en la vista frontal. Estos conjuntos están circunscritos en el morfotipo 2 de la especie. La barra indica 5 μ m.

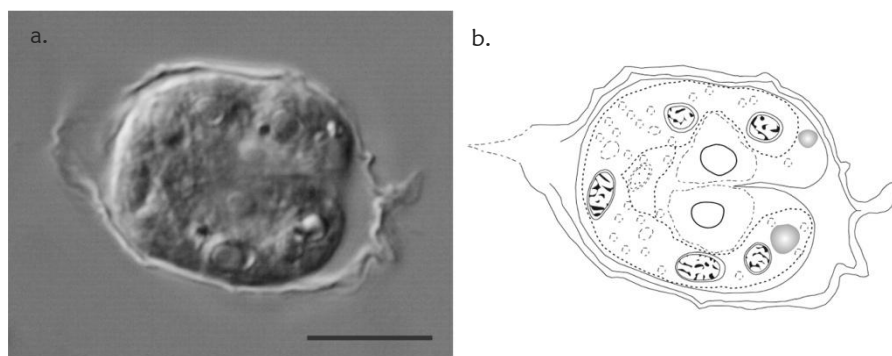


Figura 10. a. Fotografía y b. esquema equivalente de una célula de *Pteromonas aculeata* del Vaso Regulador de la Cantera Oriente en una división celular previa a la formación de esporas. La barra indica 10 μ m.

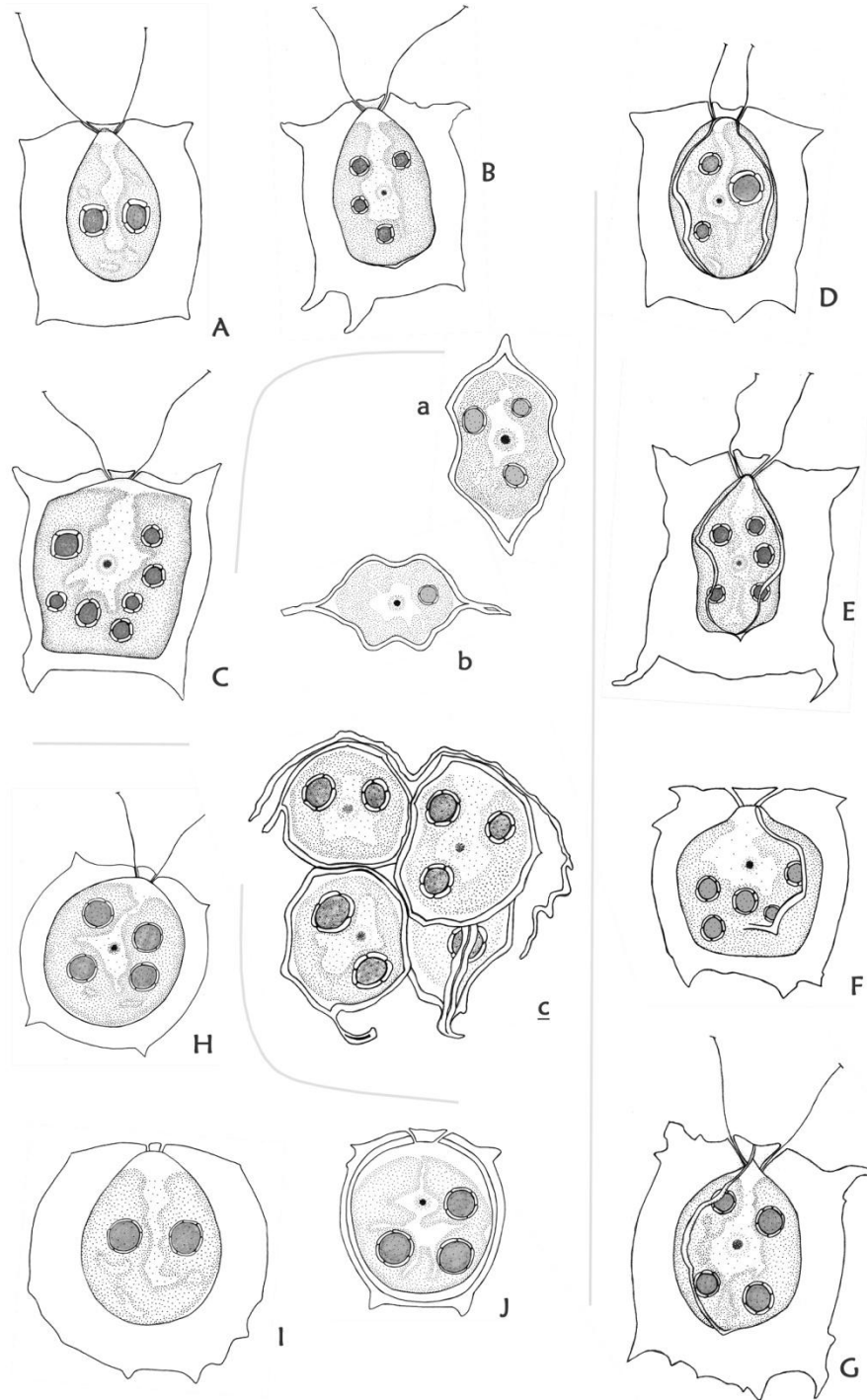


Figura 11. Esquemas de *Pteromonas aculeata* en vista frontal. **A, B, C, D, E, F, G, H, I y J** muestran los diferentes conjuntos de caracteres observados (indicados respectivamente). **I y J** fueron observados únicamente en cultivo. **a.** Esquema en el corte del plano ecuatorial de *P. aculeata* en vista lateral. **b.** Esquema en el corte del plano ecuatorial de *P. aculeata* en vista apical. **c.** Esquema de un esporangio con cuatro células hijas.

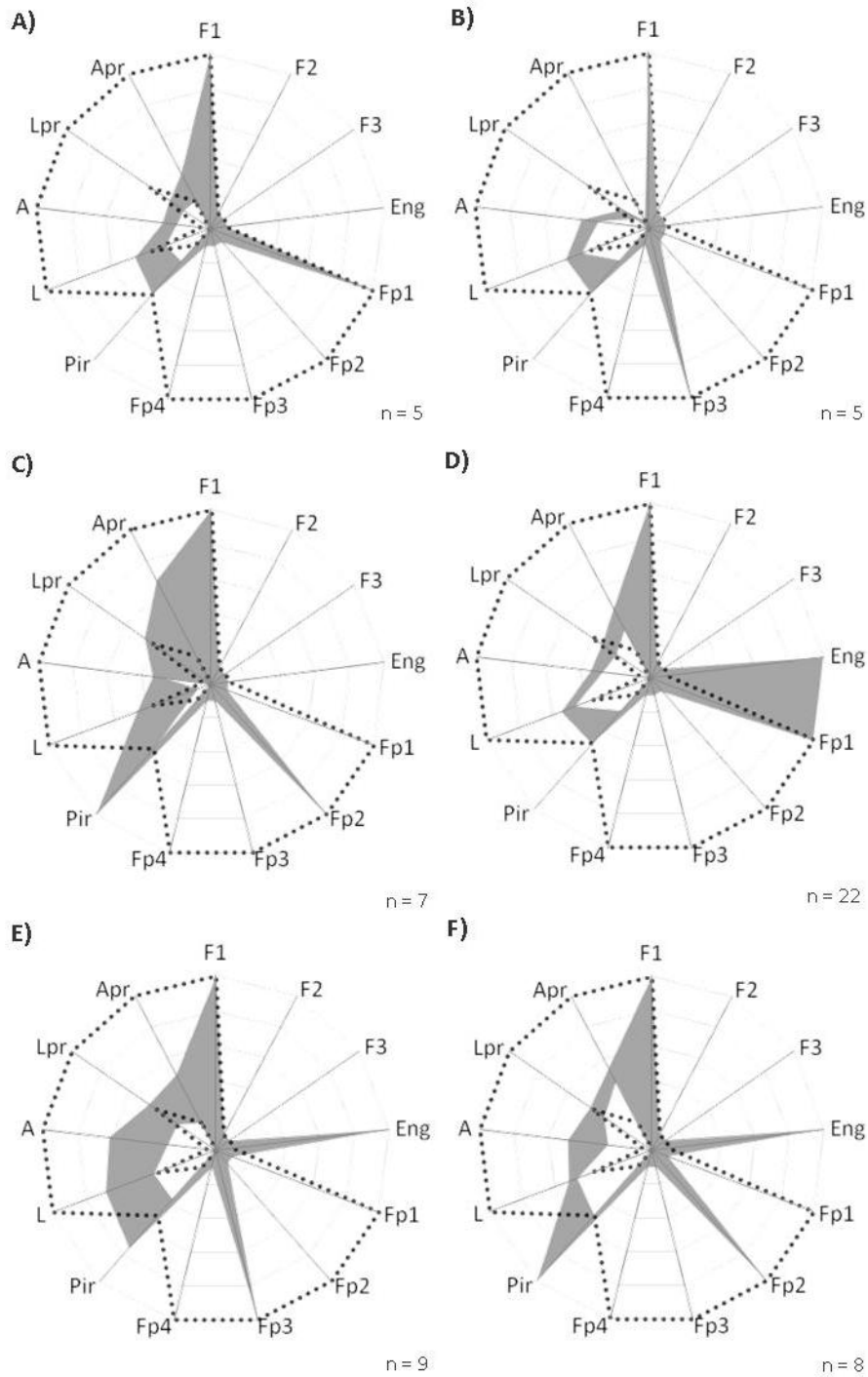
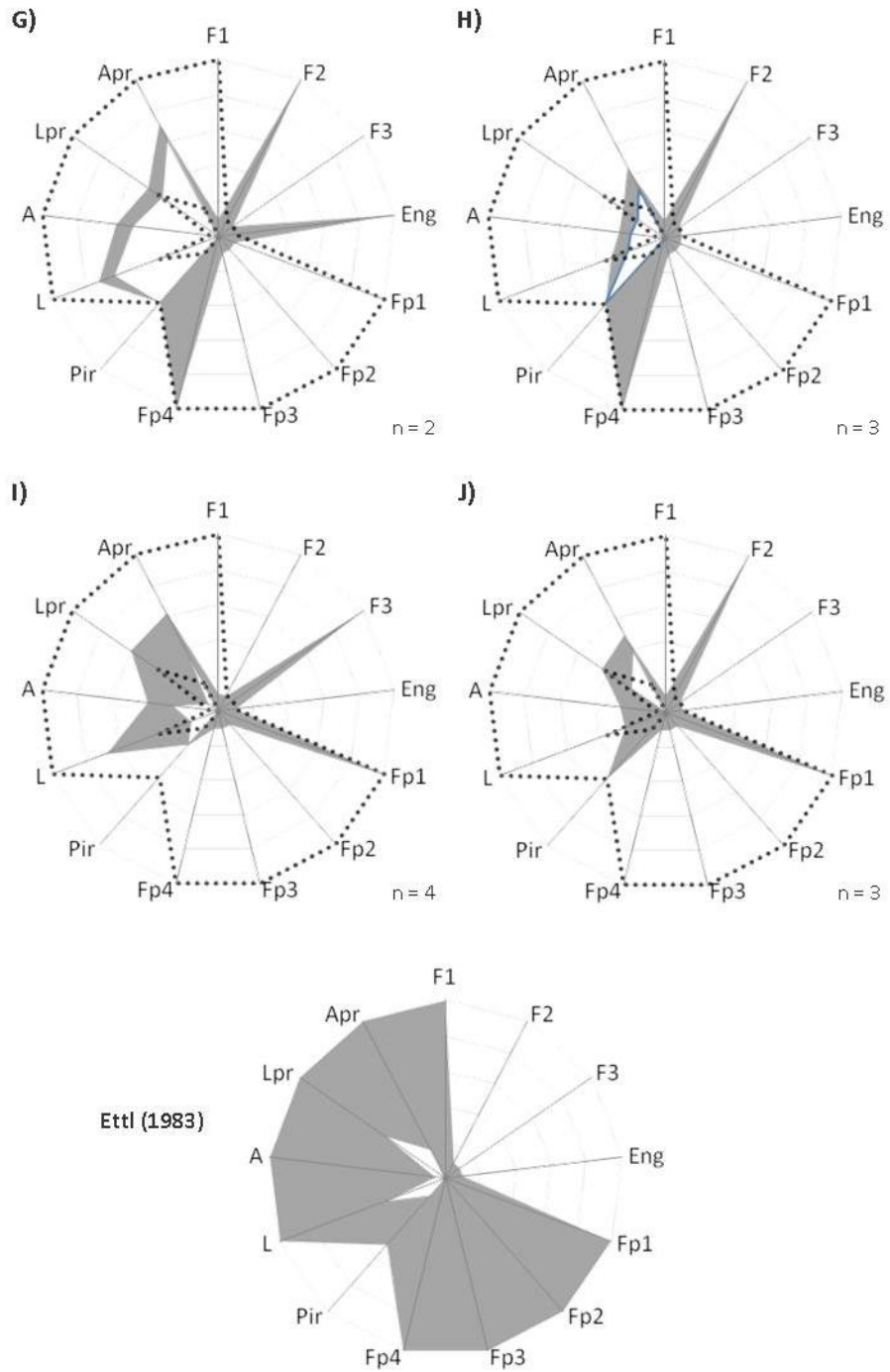


Figura 12. Diagramas de radar en los que se comparan caracteres de los ocho conjuntos de *Pteromonas aculeata* encontrados en ambiente natural (A, B, C, D, E, F, G y H), de los dos conjuntos exclusivos de cultivo (I y J) y de los de la descripción de la especie de Ettl (1983). Leyendas de los ejes: **F1**= célula cuadrada a rectangular con vértices agudos en la vista frontal, **F2**= célula rectangular a elípticas con vértices agudos en la vista frontal, **F3**= célula circular en la vista frontal, **Eng**= presencia de engrosamientos longitudinales de la pared, **Fp1**= forma ovoide del protoplasto, **Fp2**= forma rectangular del protoplasto, **Fp3**= forma oblonga del protoplasto con el ápice cónico, **Fp4**= forma elipsoidal del protoplasto, **Pir**= número de pirenoides, **L**= largo de la célula incluyendo la pared, **A**= ancho de la célula incluyendo la pared, **Lpr**= largo del protoplasto, **Apr**= ancho del protoplasto. (Continúa en la siguiente página)



> Los caracteres con valores continuos fueron convertidos a porcentaje donde el cero corresponde al valor más pequeño del intervalo correspondiente y el cien por ciento corresponde al valor más grande; los caracteres discretos fueron convertidos en porcentaje y los estados de caracter no cuantitativos de presencia/ausencia fueron convertidos a valores numéricos 1/0. La línea punteada delimita los caracteres de la especie descrita por Ettl (1983).

Tabla 3. Conjuntos de caracteres que agrupan la variación morfológica de de *Pteromonas aculeata*.

	<i>P. aculeata</i> Lemmermann			<i>P. aculeata</i> morfotipo 1				<i>P. aculeata</i> morfotipo 2		
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
Presencia de engrosamientos longitudinales de la pared	No	No	No	Sí	Sí	Sí	Sí	No	No	No
Forma en la vista frontal	Cuadrada a rectangular con vértices agudos	Rectangular con vértices agudos	Cuadradas a rectangulares con vértices agudos	Cuadrada a rectangular con vértices agudos	Rectangular con vértices agudos	Cuadradas a rectangulares con vértices agudos	Rectangular a elíptica con vértices agudos	Rectangular a elíptica con vértices agudos	Circular	Rectangular a elíptica con vértices agudos
Forma del protoplasto	Ovoide	Oblongo con ápice cónico	Rectangular	Ovoide	Oblongo con ápice cónico	Rectangular	Elipsoidal	Elipsoidal	Ovoide	Lenticular u ovoide
Número de pirenoides	2 - 4	2 - 4	4 - 8	2 - 4	3 - 6	4 - 8	4	4	2	3 - 4
Largo incluyendo pared (µm)	21.5-25	25	18-25	25-26.5	23.5-29	25-26	29	21.5	19.5-29	16.5-21
Ancho incluyendo pared (µm)	18-20	21.5	20-21.5	20-21.5	20-28	19.5-25	26	18-19.5	19.5-23	13.5-19.5
Largo del protoplasto (µm)	16.5	15	13-20	16.5-18	17-20	18-19.5	19.5	16.5	14-22	16.5-19.5
Ancho del protoplasto (µm)	10-12	8	15	11.5-13	10-13.5	13-14	15.5	11.5-13	12-15	13

Variaciones de *Pteromonas aculeata* en cultivo, agrupadas en conjuntos de caracteres

A partir del cultivo unicelular de *Pteromonas aculeata* obtenido de la laguna La Virgen, se observaron ejemplares de los conjuntos de caracteres A, B, C, E y H registrados en condiciones silvestres, así como ejemplares de dos conjuntos más, denominados I y J (Figuras 7, 8, 9, 11 y 12; Tabla 3).

Al comparar estos dos conjuntos con la descripción de Ettl (1983) (Figura 12 I y J), destaca que éstos incluyen a células cuya forma en la vista frontal son circulares o bien de rectangulares a elípticas con vértices agudos:

- (I) El conjunto I incluye a células que tienen una pared amplia, en la vista frontal son circulares, con pequeños picos en zona antapical. El protoplasto es ovoide con dos pirenoides. Sus medidas, incluyendo la pared, son: 19.5-29 μm de largo, 19.5-23 μm de ancho y las del protoplasto son: 14-22 μm de largo y 12-15 μm de ancho (Figuras 9 I₁, 9 I₂, 11 I y 12 I; Tabla 3).
- (J) El conjunto J incluye a células que tienen una pared muy reducida, en la vista frontal son de rectangulares a elípticas con vértices agudos. El protoplasto es lenticular u ovoide y se encuentra separado del margen de la pared, tiene de tres a cuatro pirenoides. Sus medidas, incluyendo la pared, son: 16.5-21 μm de largo, 13.5-19.5 μm de ancho, y las del protoplasto son: 16.5-19.5 μm de largo y 13 μm de ancho (Figuras 9 J, 11 J y 12 J; Tabla 3).

Se observaron también en el cultivo organismos que no son nadadores (Figura 13). Dichas células presentan un protoplasto esférico con un cloroplasto en urna con varios pirenoides y la pared globosa. La amplitud de la pared varía: algunos organismos presentan una pared engrosada (Figura 13. a y c, flechas oscuras) y otros una más amplia que no aparenta estarlo (Figura 13. b). En ciertos casos, la pared presenta picos característicos de los organismos flagelados (Figura 13. c y d, flechas blancas). Se observaron dos o cuatro células embebidas en una misma pared así como células en proceso de división (Figura 13. b). El tamaño de las células con su pared es de 13-26.5 μm y el de los protoplastos es de 10.5-20 μm .

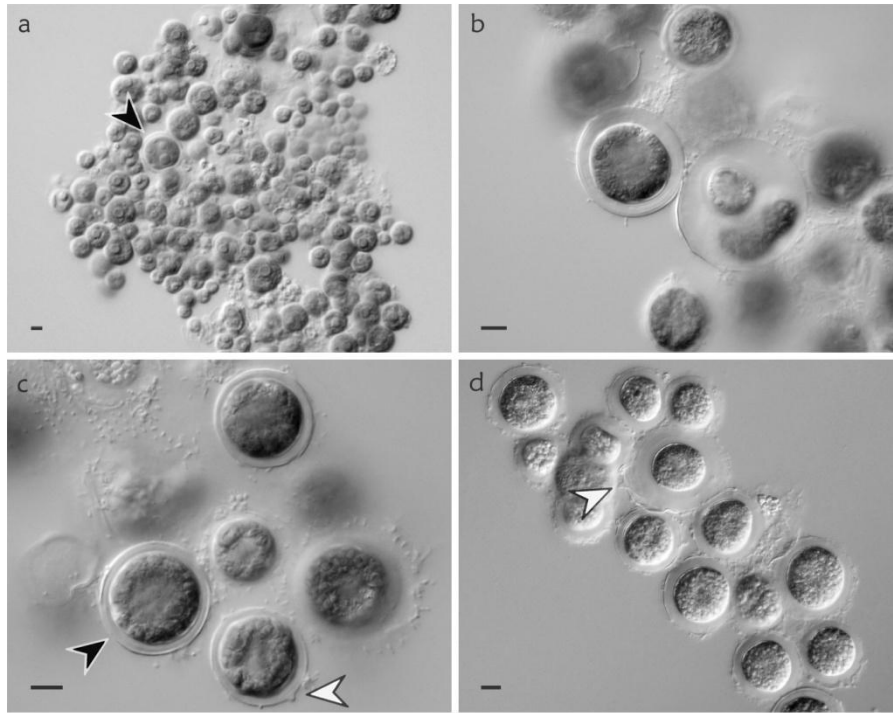


Figura 13. Estado no flagelado de *Pteromonas aculeata* en cultivo. Las flechas oscuras indican células con pared aparentemente engrosada. Las flechas blancas indican picos característicos de organismos flagelados **a.** Vista general del crecimiento no flagelado. **b.** Acercamiento de células no flageladas y de células en proceso de división vegetativa. **c.** Acercamiento de células no flageladas. **d.** Grupo de células no flageladas. La barra indica 5 μm .

Variaciones de las poblaciones de *Pteromonas angulosa* agrupadas en conjuntos de caracteres

Se establecieron cuatro conjuntos de caracteres de *Pteromonas angulosa* considerando la presencia o ausencia de engrosamientos longitudinales de la pared, la forma del protoplasto y las medidas de la célula con y sin pared (Figuras 14, 15 y 17; Tabla 4):

- (K) El conjunto K incluye a células que presentan una pared poco amplia, lisa, de forma circular en la vista frontal, su protoplasto es lenticular y sus medidas son 15-16 μm de largo, 15-16 μm de ancho y 8-10 μm de grosor incluyendo la pared y 11-13 μm de largo y 10-13 μm de ancho considerando únicamente el protoplasto (Figuras 14 K, 15 K y 17 K; Tabla 4).
- (L) El conjunto L incluye a células que presentan una pared amplia, lisa, de forma circular en la vista frontal, su protoplasto es ovoide y las medidas de las células, incluyendo la pared, son: 16-18 μm de largo, 15-18 μm de ancho y 8-10 μm de grosor y de 11.5-13 μm de largo y 8-10 μm de ancho considerando únicamente el protoplasto (Figuras 14 L, 15 L y 17 L; Tabla 4).
- (M) El conjunto M incluye a células que presentan una pared poco amplia, lisa, de forma circular en la vista frontal, tienen uno o dos engrosamientos longitudinales de la pared, cuyos puntos de inicio y de término corresponden a la zona central apical y posterior sobre el protoplasto, sin afectar las alas, su protoplasto es lenticular y sus medidas con pared son: 15-16 μm de largo, 15-18 μm de ancho y 8-10 μm de grosor y únicamente del protoplasto: 11.5-15 μm de largo y 11.5-13 μm de ancho (Figuras 14 M, 15 M y 17 M; Tabla 4).
- (N) El conjunto N incluye a células que presentan una pared amplia lisa de forma circular en la vista frontal, tienen uno o dos engrosamientos longitudinales de la pared, cuyos puntos de inicio y de término corresponden a la zona central apical y posterior sobre el protoplasto, sin afectar las alas. Su protoplasto es ovoide y sus medidas, incluyendo la pared, son 16-18 μm de largo, 15-18 μm de ancho y 8-10 μm de grosor y de 10-15 μm de largo y 8-11.5 μm de ancho, considerando únicamente el protoplasto (Figuras 14 N, 15 N y 17 N; Tabla 4).

Los diagramas de radar (Figura 17) evidencian las desemejanzas de tres conjuntos de caracteres (K, M y N) con respecto a la descripción de Ettl (1983). Los conjuntos K y M presentan formas del protoplasto lenticular, el K presenta un intervalo de medidas del ancho del protoplasto mayor y los conjuntos M y N presentan además de diferencias en las medidas, uno o dos engrosamientos longitudinales de la pared.

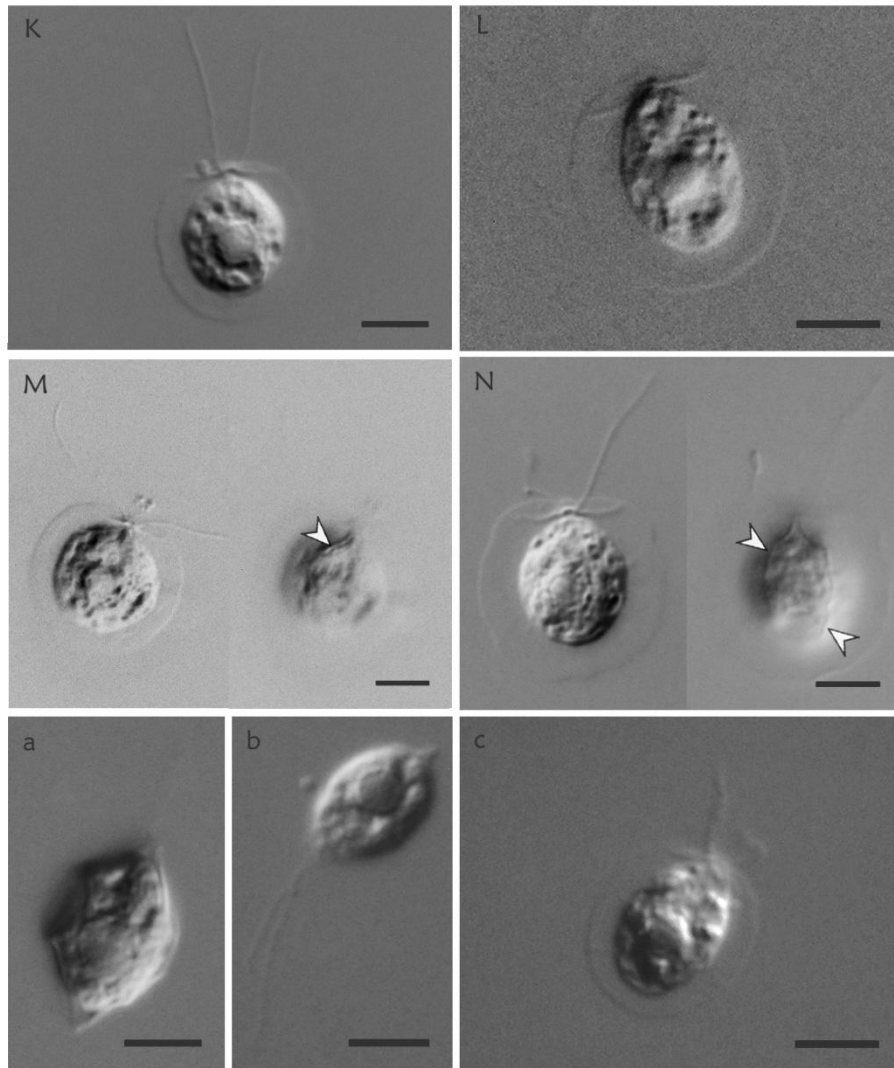


Figura 14. K, L, M y N Fotografías de las vistas frontales de ejemplares representativos de los conjuntos de caracteres de *Pteromonas angulosa*. Los conjuntos M y N presentan uno o dos engrosamientos longitudinales de la pared sobre el protoplasto (señalados por las flechas) y están incluidos en el morfotipo 1 de la especie. a. Vista lateral de *P. angulosa*. b. Vista lateral de un ejemplar de *Pteromonas* del Lago Mayor del Bosque de Chapultepec. c. Vista frontal de *P. pseudoangulosa*. La barra indica 5 μ m.

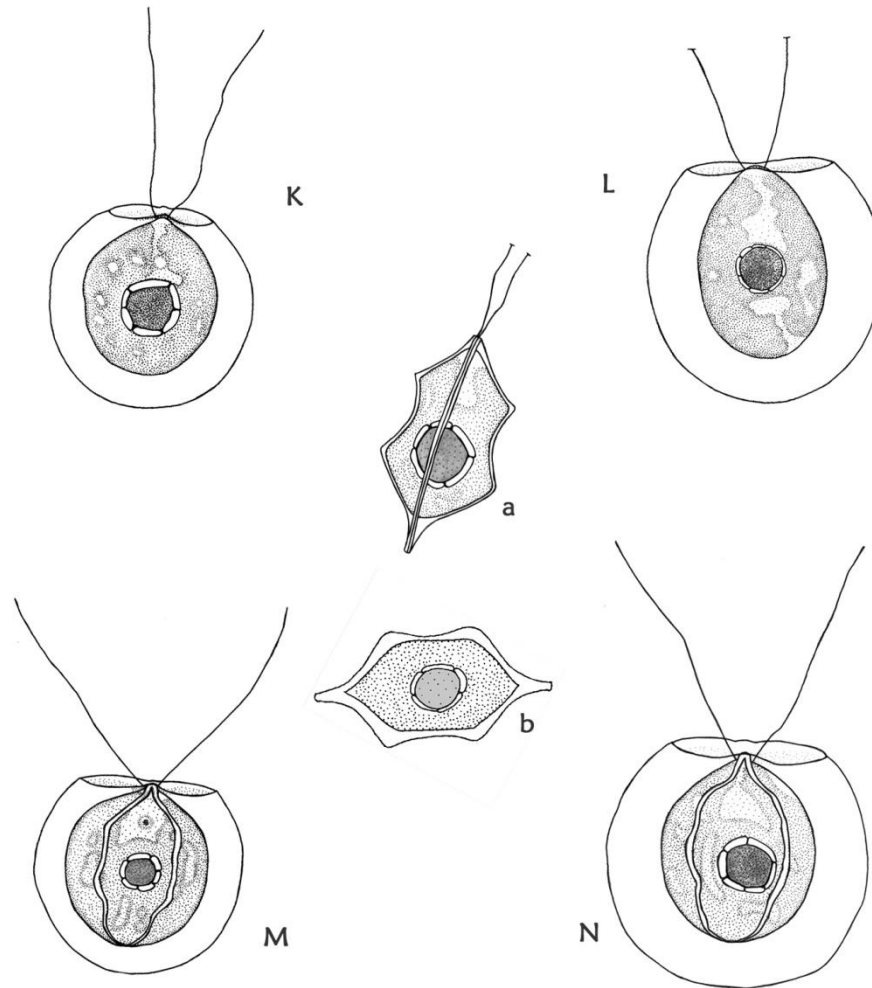


Figura 15. Esquemas de *Pteromonas angulosa*: conjuntos de caracteres **K**, **L**, **M** y **N**, **a**. vista lateral y **b**. vista apical en el plano ecuatorial. M y N presentan uno o dos engrosamientos longitudinales de la pared sobre el protoplasto que los circunscribe en el morfotipo 1 de la especie.

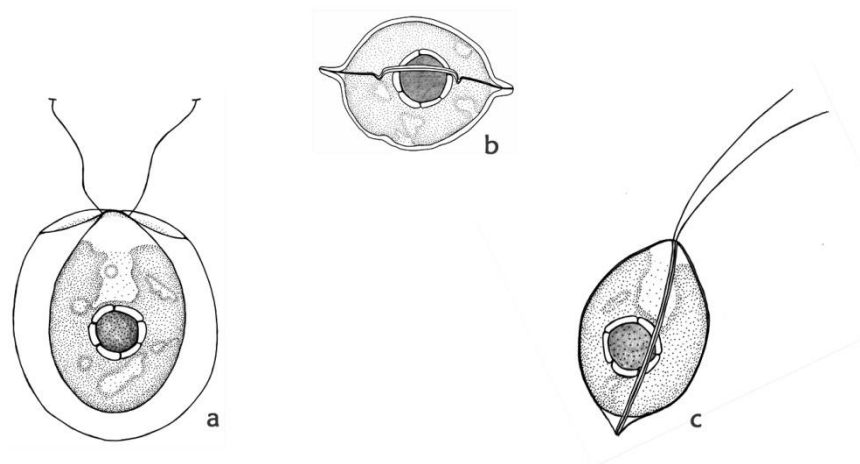


Figura 16. Esquemas de *Pteromonas pseudoangulosa*: **a**. vista frontal, **b**. vista apical y **c**. vista lateral.

Tabla 4. Conjuntos de caracteres que agrupan la variación morfológica de las poblaciones de *Pteromonas angulosa*.

	<i>P. angulosa</i> Lemmermann		<i>P. angulosa</i> morfotipo 1	
	K	L	M	N
Presencia de engrosamientos longitudinales de la pared	No	No	Sí	Sí
Forma del protoplasto	Lenticular	Ovoide	Lenticular	Ovoide
Largo incluyendo pared (µm)	15-16	16-18	15-16	16-18
Ancho incluyendo pared (µm)	15-16	15-18	15-18	15-18
Largo del protoplasto (µm)	11-13	11.5-13	11.5-15	10-15
Ancho del protoplasto (µm)	10-13	8-10	11.5-13	8-11.5

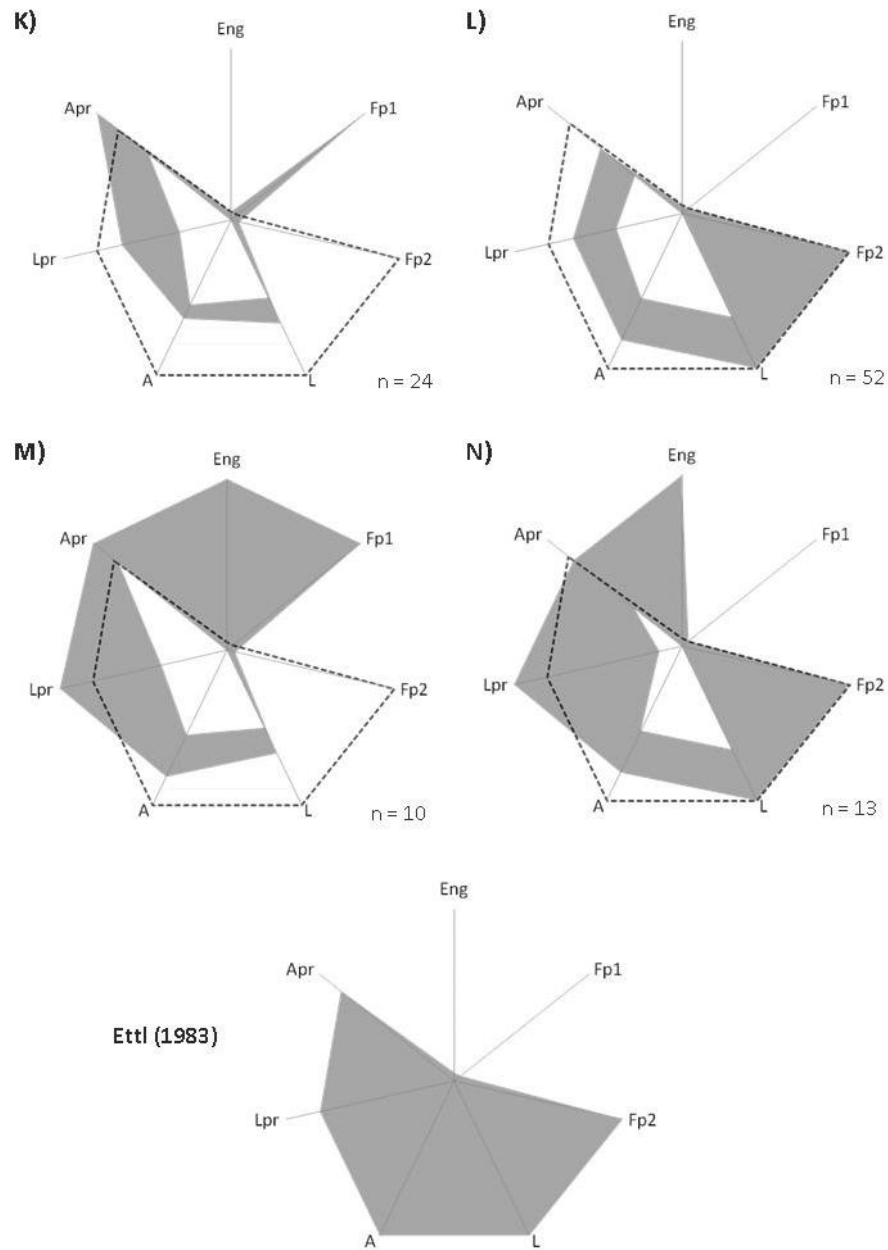


Figura 17. Diagramas de radar en los que se comparan los cuatro conjuntos de caracteres que agrupan la variación de las poblaciones de *Pteromonas angulosa* (**K**, **L**, **M** y **N**) y de la descripción de la especie de Ettl (1983). Leyendas de los ejes: **Eng**= presencia de engrosamientos longitudinales de la pared, **Fp1**= forma lenticular del protoplasto, **Fp2**= forma ovoide del protoplasto, **L**= largo de la célula incluyendo la pared, **A**= ancho de la célula incluyendo la pared, **Lpr**= largo del protoplasto, **Apr**= ancho del protoplasto. Los caracteres con valores continuos fueron convertidos a porcentaje donde el cero corresponde al valor más pequeño del intervalo correspondiente y el cien por ciento corresponde al valor más grande y los estados de caracter no cuantitativos de presencia/ausencia fueron convertidos a valores numéricos 1/0. La línea punteada delimita los caracteres de la especie descrita por Ettl (1983).

Microscopía Electrónica de Barrido

Las microfotografías de barrido de ejemplares de *Pteromonas aculeata* recolectados en el Vaso Regulador de la Cantera Oriente muestran la estructura faveolada⁸ en la superficie de la pared celular (Figura 18. a), así como engrosamientos longitudinales (Figura 18. b, c y d) que pueden ser el resultado del enrollamiento mismo de la pared (Figura 18. c). Algunos ejemplares mostraron cuatro depresiones sobre la zona correspondiente al protoplasto (Figura 18. e), mucho más evidentes en vista lateral (Figura 18. f).

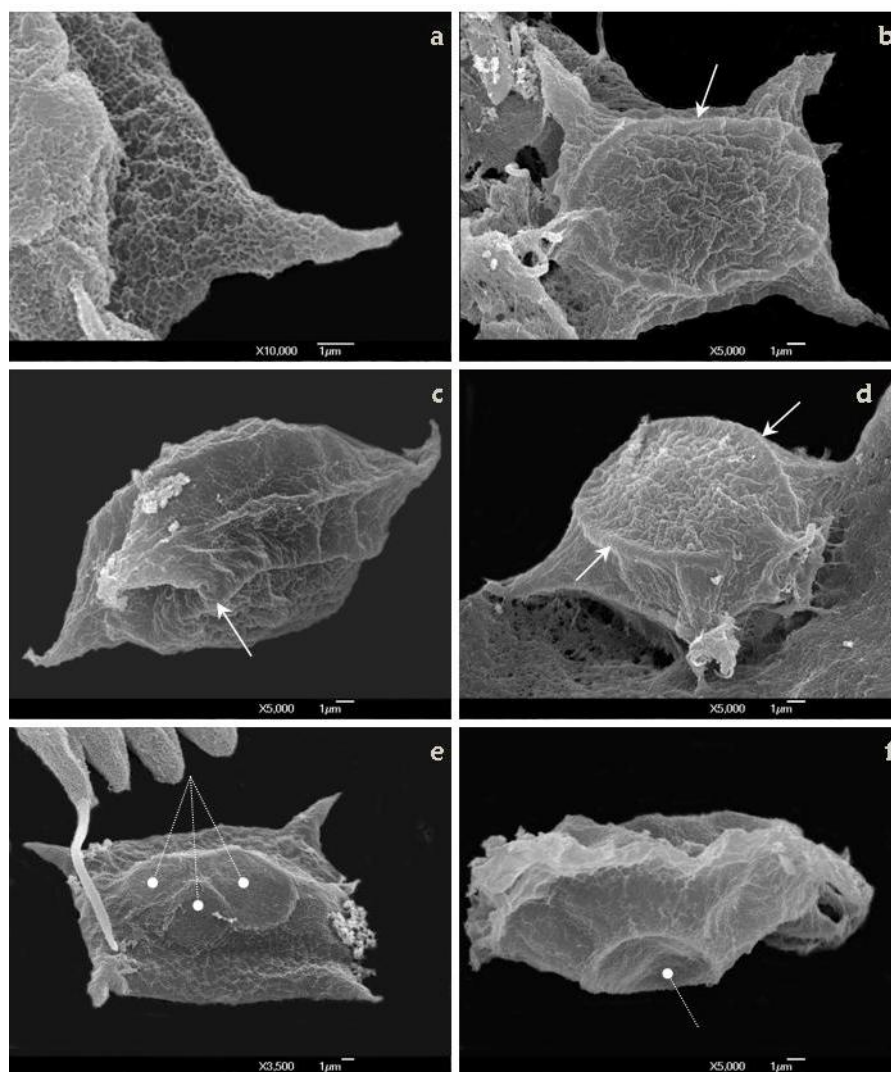


Figura 18. Microfotografías electrónicas de barrido de ejemplares de *Pteromonas aculeata* recolectados en el Vaso Regulador de la Cantera Oriente. Las flechas señalan los enrollamientos de la pared y los puntos blancos, las depresiones sobre el protoplasto. **a)** Acercamiento de la estructura faveolada de la superficie de la pared celular. **b)** Vista frontal de un ejemplar que presenta un enrollamiento de la pared. **c)** Vista lateral de un ejemplar que presenta un enrollamiento en la pared. **d)** Vista adapical de un ejemplar que presenta uno o dos enrollamientos en la pared. **e)** Vista frontal-oblicua de un ejemplar que presenta cuatro depresiones sobre la zona correspondiente al protoplasto. **f)** Vista lateral en la que se observa una de las cuatro depresiones sobre el protoplasto.

⁸ **Faveolado:** con oquedades o celdillas que recuerdan las de un panal (Font Quer, 1977).

Presencia y distribución de las especies y de los conjuntos de caracteres

En la tabla 5 se indica la presencia de las especies de *Pteromonas* estudiadas en las recolecciones realizadas. La presencia de *P. aculeata* no resultó continua: fue registrada sólo en el periodo de lluvias en el Vaso Regulador de la Cantera Oriente (2006 y 2009) y en la laguna La Virgen en Xochimilco (2007 y 2008). *P. angulosa* estuvo presente en ambas temporadas de manera discontinua, sin embargo presentó una presencia más constante en la época seca. En la época seca se observó en las tres localidades de Xochimilco (2007), en el lago Acitlalín (PEX, 2005) y en el Lago Mayor de Chapultepec (2009). En la época de lluvias sólo se presentó en canal del Bordo y canal Japón (2008). *P. pseudoangulosa* fue observada únicamente en una de las siete localidades en la temporada seca (Lago Mayor de Chapultepec, 2009).

Tabla 5. Presencia o ausencia (+/-) de las especies del género en las diferentes recolecciones.

Cuerpo de agua	Localidad	Temporada	Año	<i>P. aculeata</i>	<i>P. angulosa</i>	<i>P. pseudoangulosa</i>	
Xochimilco	La Virgen	Seca	2007	-	+	-	
		Lluviosa	2007	+	-	-	
			2008	+	-	-	
	Canal Japón	Seca	2007	-	+	-	
		Lluviosa	2007	-	-	-	
			2008	-	+	-	
	Canal el Bordo	Seca	2007	-	+	-	
			2009	-	+	-	
		Lluviosa	2007	-	-	-	
			2008	-	+	-	
	PEX	Acitlalín	Seca	2005	-	+	-
		Huetzalin	Seca	2005	-	-	-
La Cantera Oriente	Vaso Regulador	Lluviosa	2006	+	-	-	
			2009	+	-	-	
		Seca	2009	-	-	-	
Chapultepec	Lago Mayor	Seca	2009	-	+	+	

Se observaron ejemplares de los ocho conjuntos de caracteres que agrupan la variación silvestre de *Pteromonas aculeata* de manera simultánea en el Vaso Regulador de la Cantera Oriente (2009). En cambio, en la laguna La Virgen, únicamente se observaron ejemplares de tres de ellos sin una presencia temporal continua A (2008), B y D (ambos en 2007) (Tabla 6).

La distribución espacial de los diferentes conjuntos de caracteres de *Pteromonas angulosa*, no es la misma: los cuatro conjuntos fueron registrados en el canal Bordo y en el lago Acitlalín, los conjuntos L y N se encontraron en el canal Japón, los conjuntos K, L y N en la laguna La Virgen, y

los conjuntos K y L en el Lago Mayor del Bosque de Chapultepec (Tabla 7). Los resultados de las regresiones lineales múltiples, indicaron que la presencia de ejemplares del conjunto K está explicada por la temperatura, la conductividad y el nitrógeno inorgánico total ($N=10$, $R^2_{aj}=0.751$, $p=0.030$) y que la presencia de ejemplares del conjunto L está explicada por el pH, la temperatura, el nitrógeno inorgánico total, el fósforo total y la conductividad ($N=10$, $R^2_{aj}=0.815$, $p=0.027$). No se obtuvieron resultados significativos que expliquen la presencia de ejemplares de los conjuntos M y N en función de las variables ambientales.

Tabla 6. Distribución espacio-temporal de los conjuntos de caracteres que agrupan la variación silvestre de *Pteromonas aculeata* registrada por presencia o ausencia (+/-).

Cuerpo de agua	Localidad	Temporada	Año	A	B	C	D	E	F	G	H
Xochimilco	La Virgen	Seca	2007	-	-	-	-	-	-	-	-
		Lluviosa	2007	-	+	-	+	-	-	-	-
			2008	+	-	-	-	-	-	-	-
	Canal Japón	Seca	2007	-	-	-	-	-	-	-	-
		Lluviosa	2007	-	-	-	-	-	-	-	-
			2008	-	-	-	-	-	-	-	-
	Canal el Bordo	Seca	2007	-	-	-	-	-	-	-	-
			2009	-	-	-	-	-	-	-	-
		Lluviosa	2007	-	-	-	-	-	-	-	-
2008			-	-	-	-	-	-	-	-	
PEX	Acitlalín	Seca	2005	-	-	-	-	-	-	-	
	Huetzalín	Seca	2005	-	-	-	-	-	-	-	
La Cantera Oriente	Vaso Regulador	Lluviosa	2006	+	-	+	+	-	+	-	+
			2009	+	+	+	+	+	+	+	+
		Seca	2009	-	-	-	-	-	-	-	-
Chapultepec	Lago Mayor	Seca	2009	-	-	-	-	-	-	-	

Tabla 7. Distribución espacio-temporal de los conjuntos de caracteres que agrupan la variación silvestres de *Pteromonas angulosa* registrada por presencia o ausencia (+/-).

Cuerpo de agua	Localidad	Temporada	Año	K	L	M	N
Xochimilco	La Virgen	Seca	2007	+	+	-	+
		Lluviosa	2007	-	-	-	-
			2008	-	-	-	-
	Canal Japón	Seca	2007	-	+	-	-
		Lluviosa	2007	-	-	-	-
			2008	-	+	-	+
	Canal el Bordo	Seca	2007	+	+	+	+
			2009	+	+	+	+
		Lluviosa	2007	-	-	-	-
			2008	+	+	+	+
PEX	Acitlalín	Seca	2005	+	+	+	+
	Huetzalin	Seca	2005	-	-	-	-
La Cantera Oriente	Vaso Regulador	Lluviosa	2006	-	-	-	-
		2009	-	-	-	-	
	Seca	2009	-	-	-	-	
Chapultepec	Lago Mayor	Seca	2009	+	+	-	-

Delimitación de morfotipos de *Pteromonas aculeata* y *P. angulosa*

Los conjuntos de caracteres de *Pteromonas aculeata* y *P. angulosa* que difieren de lo descrito por Ettl (1983) en algo más que en las medidas (Figura 12 D, E, F, G, H, I y J y Figura 17 M y N) comparten ciertos caracteres: en ambas especies, ciertos conjuntos presentan uno o dos engrosamientos longitudinales de la pared sobre el protoplasto (D, E, F, G, M y N) y, únicamente en *P. aculeata*, algunos conjuntos incluyen a células cuya pared en vista frontal es de rectangular a elíptica o bien circular (H, I y J).

Se delimitaron dos morfotipos de *Pteromonas aculeata* considerando estos caracteres como diacríticos. El morfotipo 1 circunscribe a los conjuntos de caracteres D, E, F y G (Figuras 8, 11 y 12; Tabla 3), es decir a los que presentan uno o dos engrosamientos longitudinales de la pared. El morfotipo 2 incluye a los conjuntos H, I y J (Figuras 9, 11 y 12; Tabla 3) cuyas células tienen una pared de rectangular a elíptica o bien circular en la vista frontal.

En el caso de *Pteromonas angulosa*, la presencia de uno o dos engrosamientos longitudinales de la pared se consideró como diacrítico para delimitar el morfotipo 1 en el que quedan agrupados los conjuntos M y N (Figuras 14, 15, 17; Tabla 4).

Descripción de las especies

Pteromonas aculeata Lemmermann

Sinónimo: *Pteromonas danubialis* Hortobágyi 1979

Las células de esta especie tienen la pared lisa o ligeramente rugosa, en la vista frontal son cuadradas a rectangulares, con vértices agudos y en la vista lateral son hexagonales alargadas con una constricción en la parte media. El protoplasto es ovoide, oblongo con la región apical cónica o rectangular; presenta un cloroplasto en urna en el que se encuentran pirenoides esféricos pequeños recubiertos por gránulos de almidón, su número varía de uno a ocho. Cuando existen múltiples pirenoides su disposición es parietal y cuando sólo se encuentra uno, éste es basal. El núcleo se encuentra en posición central. Las medidas de las células, incluyendo la pared, son: 18-25 μm de largo, 18-21.5 μm de ancho y 8-13 μm de grosor. Las medidas del protoplasto son: 13-20 μm de largo y 8-15 μm de ancho (Figuras 7 y 11 A, B, C).

Pteromonas aculeata morfotipo 1

Las células de este morfotipo presentan dos engrosamientos longitudinales de la pared, cuyos puntos de inicio y de término corresponden a la zona central apical y posterior sobre el protoplasto, sin afectar las alas. Su protoplasto es ovoide, elipsoidal, oblongo con la región apical cónica, o rectangular. Sus medidas, incluyendo la pared, son: 23.5-29 μm de largo y 19.5-28 μm de ancho. Las del protoplasto son: 16.5-20 μm de largo y 10-15.5 μm de ancho (Figura 8; Figura 11 D, E, F, G).

***Pteromonas aculeata* morfotipo 2**

Las células de este morfotipo tienen la pared en la vista frontal de rectangular a elíptica o bien circular, con vértices agudos. El protoplasto es elipsoidal, ovoide o lenticular con un cloroplasto en urna en el que se encuentran de dos a cuatro pirenoides. Las medidas de las células, incluyendo la pared, son: 16.5-21.5 μm de largo y 13-23 μm de ancho. Las medidas del protoplasto son: 14-22 μm de largo y 11.5-15 μm de ancho (Figuras 9 y 11 H).

DISTRIBUCIÓN EN LAGOS URBANOS DE LA CIUDAD DE MÉXICO. Lago de Xochimilco (Figuroa *et al.*, 2008) y particularmente en la Laguna La Virgen (en el presente trabajo), Lagos y Vaso regulador de la Cantera Oriente de la Reserva Ecológica del Pedregal (Novelo *et al.*, 2007; en el presente trabajo). *P. aculeata* morfotipo 1: Laguna La Virgen en el Lago de Xochimilco (en el presente trabajo) y Vaso regulador de la Cantera Oriente de la Reserva Ecológica del Pedregal (en el presente trabajo). *P. aculeata* morfotipo 2: Vaso regulador de la Cantera Oriente de la Reserva Ecológica del Pedregal (en el presente trabajo).

***Pteromonas angulosa* Lemmermann**

Sinónimos: *Pteromonas alata* (Cohn) Seligo 1887, *Phacotus angulosus* (Carter) Stein 1878, *Pteromonas takedana* G.S. West

Las células de esta especie presentan una pared lisa de forma circular con la parte delantera truncada en la vista frontal y elíptica con una constricción central en la vista lateral. Su protoplasto es ovoide o lenticular con un cloroplasto masivo o en urna y rara vez en H, con un gran pirenoide esférico, en posición de central a basal recubierto de gránulos de almidón. Sus flagelos tienen la misma longitud que la célula. Las medidas de las células, incluyendo la pared, son: 15-18 μm de largo, 15-18 μm de ancho y 8-10 μm de grosor. Las medidas del protoplasto son: 11-13 μm de largo y 8-13 μm de ancho (Figuras 14 K, L; Figura 15 K, L).

***Pteromonas angulosa* morfotipo 1**

Las células de este morfotipo tienen uno o dos engrosamientos longitudinales de la pared, cuyos puntos de inicio y de término corresponden a la zona central apical y posterior sobre el protoplasto, sin afectar las alas. Las medidas de las células, incluyendo la pared, son: 15-18 μm de largo y 15-18 μm de ancho. Las medidas del protoplasto son: 10-15 μm de largo y 8-13 μm de ancho (Figura 14 M, N; Figura 15 M, N).

DISTRIBUCIÓN EN LAGOS URBANOS DE LA CIUDAD DE MÉXICO. Laguna La Virgen, canal Japón, canal El Bordo, en el Lago de Xochimilco (Tavera y Díez, 2009; en el presente trabajo); Lago Acitlalín en el Parque Ecológico de Xochimilco (en el presente trabajo); Lago Mayor de la segunda sección del Bosque de Chapultepec (en el presente trabajo); Lago Tezozomoc (Oliva *et al.*, 2008). *P. angulosa* morfotipo 1: Laguna La Virgen, canal Japón, canal El Bordo en el Lago de Xochimilco (en el presente trabajo); Lago Acitlalín en el Parque Ecológico de Xochimilco (en el presente trabajo).

***Pteromonas pseudoangulosa* Péterfi**

Las células presentan una pared lisa con forma de campana invertida o circular en la vista frontal y elíptica alargada sin constricción en la vista lateral. Su protoplasto es ovoide o piriforme con un cloroplasto en urna que presenta en posición de central a basal, un pirenoide de mediano a grande recubierto de gránulos de almidón. Sus flagelos tienen la misma longitud que la célula. Las medidas de las células, incluyendo la pared, son: 13-15 μm de largo, 11.5-13 μm de ancho y 8-10 μm de grosor. Las medidas del protoplasto son: 11.5-13 μm de largo y 8-10 μm de ancho (Figuras 14 y 16).

DISTRIBUCIÓN EN LAGOS URBANOS DE LA CIUDAD DE MÉXICO. Lago Mayor del Bosque de Chapultepec (nuevo registro para México).

Discusión

El acercarse a la caracterización morfológica y ambiental de las especies del género *Pteromonas* en cuerpos de agua de la Ciudad de México, permitió aportar mayores precisiones sobre la composición florística de la comunidad fitoplanctónica de estos lagos urbanos y mayor información, acompañada de nuevos cuestionamientos, sobre la biología de las especies estudiadas. Este trabajo evidencia, una vez más, la complejidad de las poblaciones que forman parte de este tipo de ecosistemas acuáticos. Barica (1992) menciona que la calidad del agua de los lagos urbanos es indicadora de un manejo adecuado o inadecuado de los ecosistemas de las ciudades y por ende de la calidad de vida de sus habitantes. No queda entonces de más, decir que el realizar estudios que se aproximen a estos ecosistemas aporta, además de una visión más acertada de la riqueza biológica de la ciudad y del país, herramientas adecuadas y necesarias para la gestión de estos cuerpos de agua, que aunque son tan diferentes entre ellos, tienen una estrecha e histórica relación con las actividades humanas (Rosas, 1998; Perló, 1999; Izazola, 2001).

Se registraron tres especies de *Pteromonas* en los lagos urbanos de la Ciudad de México: *P. aculeata*, *P. angulosa* y *P. pseudoangulosa* (Figuras 7, 8, 9, H, 11, 14, 15 y 16). Éste es el primer registro en México para *P. pseudoangulosa* y el segundo en regiones de latitudes tropicales (Menezes y de Mattos Bicudo, 2008) indicando una distribución de las especies más amplia a nivel mundial que lo registrado. La falta de registros en regiones tropicales llama la atención y sugiere vacíos en el conocimiento de la biodiversidad.

Las características ambientales de las diferentes localidades estudiadas del lago de Xochimilco, del Parque Ecológico de Xochimilco y del Vaso Regulador de la Cantera Oriente (Tabla 2) corresponden a las de la mayoría de los cuerpos de agua en los que se han registrado especies del género: generalmente someros y urbanos, ligeramente alcalinos, de eutróficos a hipereutróficos y cuya temperatura está comprendida entre 11 y 31°C (Williams, 1965; Haughey, 1969; Meyer, 1969; Álvarez *et al.*, 1987; Montien-Art *et al.*, 1999; Ortega-Mayagoitia y Rojo, 2000; Stoyneva, 2000; Fathi *et al.*, 2001; Leitão *et al.*, 2003; Kopp, 2006; Messyasz y Krysiuk, 2006; Alfasane y Khondker, 2008; Oliva *et al.*, 2008; Menezes y de Mattos Bicudo, 2008 y Tavera y Díez, 2009). En contraste, las condiciones ambientales de los puntos estudiados por Phillips y Fawley (2002) y Felip *et al.* (1999) discrepan de las anteriores al ser aguas frías cubiertas por una capa de hielo.

Las concentraciones de fósforo total de los cuerpos de agua en los que se han registrado especies de *Pteromonas* están comprendidas entre 0.05 y 8.70 mg.l⁻¹ y las de nitrógeno inorgánico total entre 0.81 y 7.79 mg.l⁻¹ (Ortega-Mayagoitia y Rojo, 2000; Stoyneva, 2000; Leitão *et al.*, 2003; Kopp, 2006; Oliva *et al.*, 2008; Tavera y Díez, 2009). Exceptuando una evaluación en la época seca en la Laguna La Virgen en Xochimilco por Tavera y Díez (2009), estos cuerpos de agua tuvieron una concentración de nitrógeno mayor que la de fósforo. Esto no corresponde a lo evaluado en más de la mitad de los puntos de muestreo del presente estudio donde la concentración de nitrógeno fue menor a la de fósforo (Tabla 2). Dada la abundancia de nutrientes en estas localidades, no es posible hablar de una limitación de nutrimentos para el fitoplancton, sin embargo es posible que, en las localidades, las variaciones espaciales y temporales en las proporciones principalmente de

fósforo y nitrógeno pudieran afectar a las especies (Novelo *et al.*, 2007; Tavera y Díez, 2009; Xolalpa, 2009; Zambrano *et al.*, 2009).

La presencia de *Pteromonas aculeata* y de *P. angulosa* en los lagos urbanos estudiados no fue continua: *P. aculeata* fue registrada únicamente en lluvias y *P. angulosa* tuvo una presencia más común en la época seca (Tabla 5) sugiriendo la posible existencia de especies de temporada de lluvias y especies de temporada seca dentro del género. Esto cumple una de las metas establecidas para este trabajo, sin embargo, mayor número de muestreos periódicos junto con la evaluación de variables ambientales podría aportar mayores elementos sobre este punto.

Así mismo, la presencia y la ausencia de las especies indica que podría haber una tendencia de *Pteromonas aculeata* (presente en la laguna La Virgen y en el Vaso Regulador de la Cantera Oriente), pero sobretodo de *P. pseudoangulosa* (únicamente presente en el Lago Mayor de la segunda sección del Bosque de Chapultepec), de presentar una mayor sensibilidad ambiental en contraste con *P. angulosa*, que fue registrada en cinco de las siete localidades estudiadas (Tabla 5). Esta mayor sensibilidad queda particularmente evidenciada en el lago de Xochimilco en el que, a pesar de la comunicación de las diferentes localidades estudiadas a través de los canales, *P. aculeata* fue encontrada únicamente en la laguna La Virgen, mientras que *P. angulosa* lo fue en las tres. Los individuos de las poblaciones dependen de la satisfacción de sus requerimientos y tienen intervalos de tolerancia para todos los factores ambientales (Lampert y Sommer, 1997; Reynolds, 2006), por lo tanto al presentarse una limitante ecológica (un factor ambiental por fuera de los intervalos de tolerancia) es de esperarse que se les observe con menor frecuencia o no se les observe en lo absoluto (Tabla 5). Al revisar la proporción de registros de especies del género en el mundo, es evidente que *P. angulosa* es observada con mayor frecuencia que *P. aculeata* y *P. pseudoangulosa*, lo que podría corroborar la mayor sensibilidad de *P. aculeata* y sobretodo de *P. pseudoangulosa* sugerida.

El cultivo unialgal de *Pteromonas aculeata* permitió corroborar la identificación de la especie y reconocer parte de su variación morfológica potencial que no había sido observada. La realización de revisiones frecuentes del cultivo aseguró el descartar su posible contaminación por otro grupo algal y así asegurar la atribución de las observaciones realizadas a la especie. Tal es el caso de la observación de algunos individuos que no son nadadores y que no habían sido registrados previamente en la literatura para *P. aculeata*. Debido a que esto ocurrió durante la división vegetativa, éste podría ser el primer registro del *estado palmela* (Fritsch, 1935; Sharma, 1986; Hagen *et al.*, 2002) para esta especie. Sin embargo, dado que no se observaron más de cuatro protoplastos globosos embebidos en un mucílago común y que ciertas células presentaron paredes más o menos engrosadas (Figura 13), el estado no móvil observado podría corresponder a aplanosporas (esporas no flageladas) o bien hipnosporas (esporas no flageladas y con pared engrosada). Esto muestra el valor y la utilidad que tiene el invertir tiempo, espacio y recursos en esta labor para la descripción y caracterización de las especies.

El registro del *estado palmela* para ciertas especies del género (Ettl, 1983) aunado con su posible observación en cultivo para *Pteromonas aculeata* deben ser tomados en cuenta al querer explicar

la ausencia de observaciones de la especie del género en ciertas temporadas del año. En efecto, los organismos no nadadores sedimentan más rápido que los nadadores, lo que podría provocar el paso de las poblaciones silvestres, de la comunidad planctónica a la bentónica. La realización de estudios fisiológicos experimentales *in vitro* aportaría herramientas para la comprensión de las condiciones que inducen este estado no móvil.

La correcta identificación de las especies es necesaria para comprender sus interacciones, lo cual involucra tener al alcance sus descripciones completas. Un carácter frecuentemente omitido en las descripciones de las especies de *Pteromonas* es la forma de la célula en vista apical y en vista lateral (Ortega-Mayagoitia y Rojo, 2000; Alfasane y Khondker, 2008 y Figueroa *et al.*, 2008) a pesar de que es indispensable para su correcta determinación (Bourrelly, 1966). En efecto, la presencia o la ausencia de una constricción en estas vistas son caracteres diacríticos para distinguir, por ejemplo, a *P. angulosa* de *P. pseudoangulosa* (Anexo 10).

De igual manera, la amplitud de las alas en la vista frontal es un carácter poco considerado en la descripción de las especies del género; sin embargo, la variación en las medidas de las células, registrada en el presente trabajo, indica la necesidad de tomar en cuenta este carácter en futuras descripciones de las especies. Esta evaluación puede realizarse mediante la diferencia entre las medidas de la célula con la pared y las medidas únicamente del protoplasto, con métodos morfométricos digitales.

A pesar de que la forma de la pared sea posiblemente lo más conspicuo de la célula de *Pteromonas*, las características del protoplasto varían de una especie a otra dentro del género. La descripción precisa del protoplasto permite no sólo una mejor determinación de las especies, sino que puede aportar información fisiológica de los organismos. Varios ejemplos en otros grupos de algas evidencian esta relación entre caracteres morfológicos y aspectos fisiológicos, como son la variación de tamaño del protoplasto y del número de pirenoides en ciertas especies de *Chlorogonium* al estar en condiciones fotoheterótrofas (Nozaki *et al.*, 1998), la acumulación de lípidos o de pigmentos en *Haematococcus pluvialis* cuando el nitrógeno es limitante (Borowitzka *et al.*, 1991), la disminución en el tamaño de los cloroplastos de las aplanosporas y el aumento en el volumen de las vacuolas de *Chlamydomonas acidophila*, al estar expuestas a altas concentraciones de iones hidrógeno (Visviki y Palladino, 2001) o bien el aumento del número de cloroplastos tras la exposición a UVB de *Cyclotella* (Hessen *et al.*, 1997). Esta consideración aunada a los resultados de variación morfológica obtenidos, indican la necesidad de incluir en las descripciones de *Pteromonas* la caracterización del protoplasto.

Al observar los protoplastos de los ejemplares de *Pteromonas* se hizo énfasis en su forma general, el tipo de cloroplasto y el número de pirenoides. La posición del núcleo pudo ser claramente observada únicamente en *P. aculeata* y no fue registrada para las otras especies; la forma y posición del estigma no fue tomada en cuenta en las descripciones debido a la degradación de los pigmentos en ejemplares fijados con formaldehído (Gaviño *et al.*, 1972); ocurrió lo mismo con las vacuolas contráctiles que se colapsan durante la fijación. Sin embargo estos caracteres no debieran ser omitidos en las descripciones, recalando la necesidad de complementar las

observaciones de material fijado con observaciones de organismos vivos, teniendo en mente que las poblaciones, en las muestras frescas, son efímeras.

Así, para integrar el conocimiento acerca de las especies de este género, se debe incorporar la descripción de todas las vistas de la célula, tanto apicales como laterales; sus mediciones y la amplitud de la pared en la vista frontal, junto con los caracteres citológicos señalados.

Como se esperaba en las metas del trabajo, la observación por microscopía electrónica de barrido aportó mayor precisión acerca de la forma y la ornamentación de la pared celular de *Pteromonas aculeata* que es faveolada y que puede presentar cuatro depresiones sobre la zona correspondiente al protoplasto (Figura 18). Esto enriqueció la descripción de la especie cuyos dibujos sólo insinúan una ondulación de la pared, mientras que ahora es posible referirse a estas ondulaciones como producto de depresiones de la pared. Aún así, son necesarias mayores observaciones tanto de campo como de cultivo. Estas observaciones serían enriquecidas complementándolas con las de ejemplares de *P. angulosa*, especie que también presentó engrosamientos longitudinales de la pared sobre el protoplasto y que no fue observada en microscopía electrónica de barrido, al no haberse obtenido su crecimiento en cultivo y no encontrarse de manera abundante en las localidades.

La variación morfológica observada para *Pteromonas aculeata* y *P. angulosa* no implica una asociación azarosa de los caracteres ya que no se observaron todas las combinaciones posibles. Esto indica que los estados de carácter presentes en un organismo no son independientes entre ellos. Se optó entonces, por organizar esta variación en conjuntos de caracteres para ambas especies.

A partir del cultivo unialgal obtenido de *Pteromonas aculeata* de la laguna La Virgen en Xochimilco, se observaron ejemplares de siete conjuntos de caracteres (A, B, C, E, H, I y J). En cambio en las recolecciones realizadas en esta localidad se observaron ejemplares de tres conjuntos (A, B y D). La población de *P. aculeata* de la laguna La Virgen tiene entonces la potencialidad de generar una variabilidad fenotípica más amplia (A, B, C, D, E, H, I y J) que la manifestada en condiciones silvestres (Tabla 6), debido, quizá, a que existen presiones ambientales que impidan su manifestación. Cierta variación genética es, por lo tanto, mantenida críptica en esta localidad (ver discusión sobre la canalización ambiental en *Pteromonas* más adelante).

A diferencia de la población de laguna La Virgen en Xochimilco, la del Vaso Regulador de la Cantera Oriente incluye a la mayoría de los conjuntos observados de *Pteromonas aculeata* (exceptuando I y J que son exclusivos de cultivo) (Tabla 6) mostrando una variabilidad morfológica silvestre más grande. Aunado con esto, los ocho conjuntos observados (A, B, C, D, E, F, G y H) fueron registrados en una misma recolección (Tabla 6), indicando que en esas condiciones ambientales, estas variaciones fenotípicas son expresadas.

Las diferentes poblaciones de *Pteromonas angulosa* reportadas aquí, no están compuestas por los mismos conjuntos de caracteres (Tabla 7): las del canal el Bordo en Xochimilco y del lago Acitlalín

en el PEX incluyen a organismos de los cuatro conjuntos (K, L, M y N), la laguna La Virgen a tres de ellos (K, L y N) y dos componen las poblaciones del canal Japón en Xochimilco (L y N) y del Lago Mayor de Chapultepec (K y L). El único conjunto de caracteres común a cada población es el L.

Resultó así evidente que las poblaciones de *Pteromonas* aquí estudiadas difieren de lo descrito por Ettl (1983) (Figuras 7, 8, 9, 11, 12, 14, 15 y 17). En efecto, la forma lenticular del protoplasto de *P. angulosa* así como la piriforme del de *P. pseudoangulosa*, el cloroplasto en forma de H para *P. angulosa* y las medidas más grandes de las células incluyendo la pared de *P. pseudoangulosa* son estados de carácter considerados, en este trabajo, como nuevos para estas especies. Aunado con esto, algunos organismos de *P. aculeata* y *P. angulosa* mostraron en observaciones de microscopía fotónica uno o dos engrosamientos longitudinales de la pared cuyos puntos de inicio y de término corresponden a la zona central apical y posterior sobre el protoplasto. Este carácter no había sido atribuido a ninguna de las dos especies y fue observado en una gran proporción de organismos (Figuras 12 y 17). La relevancia de estos caracteres y estados de carácter debe ser evaluada en un contexto ecológico y taxonómico para así determinar si forman parte de la variabilidad de las especies (caracteres diagnósticos⁹) o bien si definen a grupos taxonómicos subespecíficos (caracteres diacríticos¹⁰). En el presente trabajo, se utilizó la presencia de uno o dos engrosamientos longitudinales de la pared para distinguir morfotipos de *P. aculeata* (morfotipo 1) y de *P. angulosa* (morfotipo 1). Las observaciones preliminares en microscopía electrónica de barrido sugieren que estos engrosamientos corresponden a un enrollamiento de la pared (Figura 18 c.). De la misma manera, la forma de la célula de rectangular a elíptica o bien circular en la vista frontal de *P. aculeata* fue utilizada como carácter diacrítico para delimitar el morfotipo 2 de la especie. Se decidió establecer morfotipos y no variedades debido a la necesidad de:

- a) caracterizar de manera precisa, por microscopía electrónica de transmisión, los engrosamientos longitudinales de la pared y así robustecer su establecimiento como un carácter diacrítico (Figura 18),
- b) ampliar el número de observaciones (en condiciones silvestres y de cultivo) de células de forma circular a elíptica en la vista frontal,
- c) obtener un cultivo de *P. angulosa* para resolver tanto la presencia de los engrosamientos longitudinales de la pared como el traslape de la forma de la célula en vista frontal y del protoplasto en ambas especies.

Los organismos de los morfotipos que presentan uno o dos engrosamientos longitudinales de la pared se asemejan a *Pteromonas limnetica* o a *P. spinosa* (Ettl, 1983; Anexo 10). Sin embargo, las células observadas en las localidades de estudio no pueden ser confundidas con ellas por su forma general en las vistas frontal y lateral, así como por la textura y coloración de su pared, por sus medidas y, en el caso particular de los organismos observados en el Vaso Regulador de la Cantera Oriente, por su número de pirenoides (Tabla 3 y Tabla 4).

⁹ Los caracteres diagnósticos son todos los caracteres que forman parte de la descripción de un taxón.

¹⁰ Los caracteres diacríticos son los que presentan un valor distintivo para un taxón.

La posible presencia de las líneas longitudinales de *Pteromonas limnetica* así como los resultados obtenidos en el presente trabajo sobre la existencia engrosamientos longitudinales de la pared sobre el protoplasto de *P. aculeata* y *P. angulosa* sugieren la necesidad de revisar las descripciones de Ettl (1983) con el fin de evitar errores de identificación. En efecto, la primera dicotomía de su clave diferencia a las especies que presentan una pared reducida y con proyecciones de las que tienen una pared amplia y sin proyecciones, lo que deja a *P. aculeata*, *P. angulosa* y *P. limnetica* agrupadas entre las especies que tienen una pared amplia y sin proyecciones (Anexo 10).

Los resultados obtenidos en este trabajo no nos permiten dilucidar si la composición diferencial de morfologías en las localidades es el resultado de un acervo genético distinto para cada población, de la expresión diferencial de este acervo genético en cada localidad o bien de presiones ambientales distintas en cada localidad sobre los organismos. Sin embargo la posible explicación de la presencia de los conjuntos K y L por factores ambientales sugiere que *Pteromonas angulosa* presenta plasticidad fenotípica (DeWitt y Scheiner, 2004). Son necesarias mayores recolecciones y mediciones de variables ambientales para poder robustecer la explicación de la presencia de estos conjuntos considerando las direcciones posibles planteadas.

Al contrastar la variabilidad de *Pteromonas aculeata* y la de *P. angulosa* observada en el presente trabajo con los límites de variación morfológica registrados en la literatura (Figuras 12 y 17) se evidencia una posible canalización ambiental (Wagner *et al.* 1997; Debat y David, 2001; Dworkin, 2005) por parte de las poblaciones de estas especies en la zona templada. Las observaciones de Menezes y de Mattos Bicudo (2008) en Río de Janeiro corroboran esta afirmación porque en ellas describen una variación morfológica para la especie identificada como *P. pseudoangulosa* mucho mayor que la registrada en las descripciones hechas a partir de organismos de la zona templada (Ettl, 1983). La radiación luminosa constante y la temperatura continuamente elevada, como también ocurre en nuestro cultivo, pudieran ser factores importantes a considerar para explicar el que no se presente esta canalización en poblaciones tropicales, permitiendo la expresión de la variación genética críptica de estas especies (Gibson y Dworkin, 2004). Esta idea es relevante en un contexto fisiológico y evolutivo con el fin de encaminar futuros estudios sobre las causas de esta discrepancia en la cantidad de variación morfológica (Salazar-Ciudad, 2007).

El origen de las variaciones fenotípicas si bien es genético, no tiene una relación de uno a uno con el genotipo: el fenotipo es resultado de la expresión de un genotipo que es regulado por procesos de epistasia, de epigenética, de factores ambientales y es influido por factores estocásticos (Wagner *et al.* 1997; Sholtis y Weiss, 2005). La variación de los organismos a nivel fenotípico involucra respuestas diferenciales al ambiente y, por lo tanto, el estudio de las poblaciones biológicas debe evitar caer en un reduccionismo genético e investigar su variación permitiendo integrar conocimientos morfológicos, fisiológicos, ontogénicos, genéticos y evolutivos de las especies. Como lo mencionan Trainor y Egan (1990), resulta importante reconocer la variación fenotípica y por ende la morfológica en la descripción de las especies.

Conclusiones y perspectivas

Las especies de *Pteromonas* son más frecuentemente encontradas en cuerpos de agua urbanos y someros, ligeramente alcalinos, de eutróficos a hipereutróficos y cuya temperatura está comprendida entre 11 y 31°C. Sin embargo, la presencia y distribución temporal y espacialmente discontinuas de las especies del género indican la necesidad de realizar un estudio fisiológico experimental de *Pteromonas* para relacionar su presencia o ausencia con cambios ambientales y esclarecer su sensibilidad ambiental. Un muestreo periódico acompañado de la evaluación de variables ambientales podría aportar mayores elementos sobre este punto.

El registro posible del estado *palmela* para *Pteromonas aculeata*, así como la variabilidad morfológica observada para *P. aculeata* y *P. angulosa* indican que será necesario desarrollar condiciones de cultivo en las que la división celular se mantenga activa para lograr la producción de más etapas del ciclo de vida. Por lo que se propone hacer un seguimiento del ciclo para robustecer las conclusiones, considerando que posiblemente el ciclo de *Pteromonas* presente discrepancias con el ciclo modelo de *Chlamydomonas*. Complementar también este seguimiento con microscopía electrónica de transmisión aportaría mayores elementos sobre la estructura de la pared en los diferentes estadios.

Las variaciones morfológicas de dos de las tres especies de *Pteromonas* observadas en cuerpos de agua de la Ciudad de México sugieren que en regiones de latitudes tropicales *P. aculeata* y *P. angulosa* expresan una variación genética que es críptica en zonas de latitudes templadas.

Los engrosamientos longitudinales de la pared sobre el protoplasto para *Pteromonas aculeata* y *P. angulosa*, así como la forma de circular a elíptica de la célula en la vista frontal en *P. aculeata* son caracteres nunca antes citados en la literatura. En este trabajo son utilizados como diacríticos para proponer dos morfotipos para *P. aculeata* y uno para *P. angulosa*. Tales caracteres necesitan mayor atención en futuros estudios.

Será necesario obtener micrografías de transmisión sobre el plano medio de las células para estudiar en detalle la estructura de los enrollamientos de la pared de *Pteromonas aculeata* y *P. angulosa*.

La posible canalización ambiental mencionada para *Pteromonas aculeata* y *P. angulosa* amerita el continuar este trabajo tomando las líneas de investigación señaladas (ampliación de las recolecciones, desarrollo de cultivos, observación por microscopía electrónica de barrido y de transmisión).

Asimismo, se debe considerar la perspectiva de que el morfotipo 2 de *Pteromonas aculeata* manifieste un continuo de variabilidad entre especies, en este caso con *P. angulosa*, cuyas células se distinguen por la forma circular en vista frontal. De ser así, estas dos especies habrían sido delimitadas previamente sin considerar las diferencias de la variación que ahora suponemos críptica en algunas condiciones.

Referencias

ALFASANE M. & KHONDKER M., 2008 – New records of phytoplankton for Bangladesh: *Phacus*, *Lepocinclis* and *Pteromonas*. *Bangladesh Journal of Plant Taxonomy*, 14 (2): 167-169.

ALLEN M. M., 1968 – Simple condition for growth of unicellular blue-green algae on plates. *Journal of Phycology* 4 (1): 1-4.

ALVAREZ COBELAS M., ALARCON P. & ROJO K., 1987 – Observaciones de laboratorio sobre la sedimentación de algunas especies del fitoplancton. *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 44 (1): 3-9.

ANDERSEN R. & KAWACHI M., 2005 – Traditional microalgae isolation techniques. En: Andersen, R. A. (ed.), *Algal Culturing Techniques*. Elsevier Academic Press. China, pp. 83-100.

BARICA J., 1992 – Sustainable management of urban lakes: A new environmental challenge. *Water Quality Research Journal of Canada*, 27(2): 211–219.

BELCHER J. & SWALE E., 1968 – Observations on *Pteromonas tenuis* sp. nov. and *P. angulosa* (Carter) Lemmermann (Chlorophyceae, Volvocales) by light and electron microscopy. *Nova Hedwigia* 13: 353–359.

BIRCH S. & MCCASKIE J., 1999 – Shallow urban lakes: a challenge for lake management. *Hydrobiologia* 395 (3): 365–378.

BOROWITZKA M.A., HUISMAN J.M. & OSBORN A., 1991 – Culture of the astaxanthin-producing green alga *Haematococcus pluvialis* 1. Effects of nutrients on growth and cell type. *Journal of Applied Phycology* 3(4): 295-304.

BOURRELLY P. 1966 – *Les algues d'eau douce*. Tome I: Les algues vertes. Paris, N. Boubée & Cie.

CARLILE M., GOODAY G. & WATKINSON S., 2001 – *The Fungi, Second Edition*. Gran Bretaña, Academic Press.

CHÁVEZ V., ZARIÑANA L., NOVELO E. & TAVERA R., 2005 – Variación morfológica de algunas especies de *Ophiocytium* Nägeli (Xantophyceae) de cuerpos de agua temporales del Estado de México. *Hidrobiológica* 15 (3): 311-320.

COMISIÓN NACIONAL DEL AGUA (CNA), 2009 – Lámina de lluvia normal mensual. Precipitación media (mm). Periodo (1941-1996). [Revisado: 19 de octubre 2009]. Disponible en <http://smn.cna.gob.mx/>

CORTÉS E., ROJO DE LA VEGA M., TAVERA R. & NOVELO E., 2007 – *El género Pteromonas en cuencas lacustres de la Ciudad de México*. Cartel en el XVII Congreso Mexicano de Botánica, Zacatecas, México.

DASÍ M.J., MIRACLE M.R., CAMACHO A., SORIA J.M & VICENTE E., 1998 – Summer phytoplankton assemblages across trophic gradients in hard-water reservoirs. *Hydrobiologia* 369 : 27–43.

DEBAT V. & DAVID P., 2001 – Mapping phenotypes: canalization, plasticity and developmental stability. *Trends in Ecology & Evolution* 16 (10): 555-561.

DEWITT T. J. & SCHEINER S. M., 2004 – Phenotypic variation from single genotypes: a primer. En: DeWitt T. J. & Scheiner S. M. (eds), *Phenotypic plasticity: Functional and conceptual approaches*. Nueva York, Oxford University Press, pp. 1–9.

DEWITT T. J. & SCHEINER S.M. (eds), 2004 – *Phenotypic plasticity: Functional and conceptual approaches*. Nueva York, Oxford University Press, 247p.

DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN, 11 de mayo de 1992 – Declaratoria que establece como Zona Prioritaria de Preservación y Conservación del Equilibrio Ecológico y se declara como Área Natural Protegida, bajo la categoría de Zona Sujeta a Conservación Ecológica, la superficie que se indica de los ejidos de Xochimilco y San Gregorio Atlapulco, DF Segunda publicación.

DÍAZ-ALMEYDA E. M, 2005 – Estudio morfológico y genético de la población de *Nitzschia frustulum* (Bacillariophyta) del Parque Ecológico de Xochimilco, México. Tesis profesional, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, 89p.

DWORKIN I., 2005 – Canalization, cryptic variation, and developmental buffering: A critical examination and analytical perspective. En: Hallgrímsson B. & Hall B. K. (eds.), *Variation: A central concept in biology*. Burlington, Academic Press, pp. 131-158.

ETTL H., 1983 – *Süßwasserflora von Mitteleuropa. Vol 9. Chlorophyta I: Phytomonadina*. Stuttgart, Gustav Fisher Verlag, 807p.

FATHI A., ABDELZAHER H.M.A., FLOWER R.J., RAMDANI M. & KRAÏEM M.M., 2001 – Phytoplankton communities of North African wetland lakes: the CASSARINA Project. *Aquatic Ecology* 35 (3): 303-318.

FELIP M., CAMARERO L. & CATALAN J., 1999 – Temporal changes of microbial assemblages in the ice and snow cover of a high mountain lake. *Limnology and Oceanography* 44 (4): 973-987.

FIGUEROA TORRES M.G., SANTOS ZAFRA D., & VELASCO GONZÁLEZ A.A., 2008 – *Ficoflora de Xochimilco, Parte 1: Diatomeas y clorofitas*. México, Universidad Autónoma Metropolitana, Xochimilco, 122 p.

FONT QUER P., 1977 – *Diccionario de botánica*. Barcelona, Ed. Labor.

FRITSCH F. E., 1935 – The structure and reproduction of the algae Vol.1. Cambridge University Press, Cambridge.

GAVIÑO DE LA TORRE G., JUÁREZ LÓPEZ C. & FIGUEROA TAPIA H. H., 1972 – *Técnicas biológicas selectas de laboratorio y de campo*. México, Limusa, 251p.

GIBSON G. & DWORKIN I., 2004 – Uncovering cryptic genetic variation. *Nature Reviews Genetics* 5 (9): 681-690.

GOBIERNO DEL DISTRITO FEDERAL, 2006 – Reapertura del Lago Mayor de la Segunda Sección del Bosque de Chapultepec. Información de sistemas de aguas. [Consultado en abril 2009]. Disponible en <http://www.sma.df.gob.mx/sma/index.php?opcion=26&id=368>.

GONZÁLEZ-GONZÁLEZ J., NOVELO-MALDONADO E., 1986 – Técnicas especiales de recolección y preparación de ejemplares de grupos selectos de plantas: Algas. En: Lot A. y Chiang F. (comp.), *Manual de herbario*, México, Consejo nacional de la Flora de México, A.C., pp. 47-54.

GOOGLE INC., 2010 – Google Earth (Version 5.1.3535.3218) [Software]. Disponible en <http://www.google.com/earth/index.html>

GUILLARD R. 1973 – Methods for microflagellates and nanoplankton En: Stein J. R. (ed.), *Handbook of phycological methods, culture methods and growth measurements*. Londres, Cambridge University Press, pp. 69-85.

GUIRY M.D. & GUIRY G.M., 2009 – *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. [Consultado en febrero 2009]. Disponible en: <http://www.algaebase.org>.

HACH, 1997 – DR/2010 Spectrophotometer. Loveland, Procedures Manual.

HAGEN C., SIEGMUND S. & BRAUNE W., 2002 – Ultrastructural and chemical changes in the cell wall of *Haematococcus Pluvialis* (Volvocales, Chlorophyta) during aplanospore formation. *European Journal of Phycology* 37(2): 217-226.

HAUGHEY A., 1969 – Further planktonic algae of Auckland sewage treatment ponds and other waters. *NZJ Mar. Freshwater Res.* 3: 245-261.

HEGEWALD E., KRIENITZ L. & SCHNEPF E., 1994 – Studies on *Scenedesmus costato-granulatus* SKUJA. *Nova Hedwigia* 59 (1-2): 97-127

HEPPERLE D., NOZAKI H., HOHENBERGER S., HUSS V. A. R., MORITA E., & KRIENITZ L., 1998 – Phylogenetic position of the Phacotaceae within the Chlamydomonadales as revealed by analysis of 18S rDNA and rbcL sequences. *Journal of molecular evolution* 47(4): 420-430.

HESSEN D., DE LANGE H. J & VAN DONK E., 1997 – UV-induced changes in phytoplankton cells and its effects on grazers. *Freshwater Biology* 38 (3): 513-524.

HOEK C, MANN D. & JAHNS H., 1995 – *Algae*. Nueva York, Cambridge University Press, 623p.

HOEK C., STAM W. & OLSEN J., 1988 – The emergence of a new chlorophyтан system, and Dr. Kornmann's contribution thereto. *Helgoländer Meeresuntersuchungen* 42 (3): 339-383

HOSHAW, R. & ROSOWSKI J., 1973 – Methods for microscopic algae En: Stein J. R. (ed.), *Handbook of phycological methods, culture methods and growth measurements*. Londres, Cambridge University Press, pp. 53-68.

HUBER-PESTALOZZI G., 1961 – *Das Phytoplankton des Süßwassers. Systematik und Biologie. Die Binnengewässer*. Stuttgart, Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung.

IWASA K. & MURAKAMI S., 1968 – Palmelloid Formation of *Chlamydomonas*. *Physiologia Plantarum* 21(6): 1224-1233.

IWASA K. & MURAKAMI S., 1969 – Palmelloid formation of *Chlamydomonas* II. Mechanism of palmelloid formation by organic acids. *Physiologia Plantarum* 22(1): 43-50.

IZAZOLA H., 2001 – Agua y sustentabilidad en la Ciudad de México. *Estudios demográficos y urbanos* 2 (16): 285–320.

JAZCILEVICH A., FUENTES V., JAUREGUI E. & LUNA E., 2000 – Simulated urban climate response to historical land use modification in the Basin of Mexico. *Climatic Change* 44 (4): 515-536.

JUÁREZ-FIGUEROA L. A., SILVA-SÁNCHEZ J., URIBE-SALAS F. J. & CIFUENTES-GARCÍA E., 2003 – Microbiological indicators of water quality in the Xochimilco canals, Mexico City. *Salud Pública de México* 45 (5): 389-395.

KALACH A., 1998 – Vuelta a la ciudad lacustre. *La Ciudad y sus lagos*, Clío, pp. 43 -59.

KOMÁREK J., 1989 – Studies on the cyanophytes of Cuba 4–6. *Folia Geobotanica* 24(1): 57–97.

KOPP R., 2006 – Phytoplankton of the Zámecký Pond. *Czech Phycology, Olomouc* 6: 111-125.

LAMPERT W. & SOMMER U., 1997 – *Limnoecology: The Ecology of Lakes and Streams*. Nueva York, Oxford University Press, 400 p.

LAMPERT W., & SOMMER U., 2007 – *Limnoecology*. Nueva York, Oxford University Press , 336 p.

LEE R. E., 1999 – *Phycology*. Nueva York, Cambridge University Press, 624 p.

LEITÃO M., MORATA S., RODRIGUEZ S. & VERGON J., 2003 – The effect of perturbations on phytoplankton assemblages in a deep reservoir (Vouglans, France). *Hydrobiologia*, 502(1): 73–83.

LOT A., 2007 – La Cantera Oriente: a manera de introducción. En: Lot A. (ed.), *Guía Ilustrada de la Cantera Oriente. Caracterización ambiental e inventario biológico*. México, Secretaria ejecutiva de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel. U.N.A.M., pp. 7-11.

MARTÍNEZ-ARROYO A. & JÁUREGUI E., 2000 – On the environmental role of urban lakes in Mexico City. *Urban Ecosystems* 4 (2): 145-166.

MAZARI-HIRIART M., LÓPEZ-VIDAL Y., CASTILLO-ROJAS G., PONCE DE LEÓN S. & CRAVIOTO A., 2001 – *Helicobacter pylori* and other enteric bacteria in freshwater environments in Mexico City. *Archives of Medical Research* 32 (5): 458-467.

MENEZES M. & DE MATTOS BICUDO C.E., 2008 – Flagellate green algae from four water bodies in the state of Río de Janeiro, southeast Brazil. *Hoehnea* 35(3): 435-468.

MESSYASZ B. & KRYSIUK A., 2006 – Phycoflora composition in an artificial pond subject to ecological succession. *Teka Kom. Ochr. Kszt. Środ. Przyr.* 3: 129-135.

MEYER R.L., 1969 – The freshwater algae of Arkansas. En *Proc. Ark. Acad. Sci.* 23: 145–155.

MONTIEN-ART B., OSUMI K., NAKAZONO T., ODAHARA T., OKAMOTO C., KIKUCHI M. & KABATA K., 1999 – Identification of phytoplankton and the relationship between phytoplankton biomass and water quality in Kumamoto Zoo Basin. *Proceedings of Faculty of Agriculture, Kyushu Tokai University* 18: 23-33.

MORITA E., ABE T., TSUZUKI M., FUJIWARA S., SATO N., HIRATA A., SONOIKE K. & NOZAKI H., 1999 – Role of pyrenoids in the CO₂-concentrating mechanism: comparative morphology, physiology and molecular phylogenetic analysis of closely related strains of *Chlamydomonas* and *Chloromonas* (Volvocales). *Planta* 208 (3): 365-372.

NAKAMURA K., BRAY D.F. & WAGENAAR E.B., 1975 – Ultrastructure of *Chlamydomonas eugametos* palmelloids induced by chloroplatinic acid treatment. *J. Bacteriol.* 121(1): 338-343.

NOVELO E., PONCE E., RAMÍREZ R. & RAMÍREZ M., 2007 – Algas. En: Lot A. (ed.), *Guía Ilustrada de la Cantera Oriente. Caracterización ambiental e inventario biológico*. México, Secretaria ejecutiva de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel. U.N.A.M., pp. 63-95.

NOZAKI H., 2003 – Flagellated green algae. En: Wehr J., & Sheath R., *Freshwater algae of North America*. Academic Press, pp. 225-252.

NOZAKI H., OHTA N., MORITA E. & WATANABE M., 1998 – Toward a natural system of species in *Chlorogonium* (Volvocales, Chlorophyta): A combined analysis of morphological and *rbcl* gene sequence data. *Journal of Phycology* 34 (6): 1024-1037.

OLIVA MARTÍNEZ M.G., RODRÍGUEZ ROCHA A., LUGO VÁZQUEZ A. & SÁNCHEZ RODRÍGUEZ M., 2008 – Composición y dinámica del fitoplancton en un lago urbano hipertrófico. *Hidrobiológica* 18 (1): 1 - 13.

ORTEGA-MAYAGOITIA E. & ROJO C., 2000 – Fitoplancton del Parque Nacional Las Tablas de Daimiel. III. Diatomeas y clorofitas. *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 58 (1): 17-37.

ORTIZ RAMOS J.B. & RUVALCABA GARCÍA A., 2005 – *Evaluación del estado trófico del Lago de Xochimilco, Méx.* Tesis Profesional, Biología, FES Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México, 106p.

OTTO E.S. (coord.), 2003 – *El agua en la Cuenca de México: sus problemas históricos y perspectivas de solución.* México, Patronato del Parque Ecológico de Xochimilco, 341 p.

OTTO PARRODI E. S., 1999 – Conservación del ajolote (*Ambistoma mexicanum*) mediante su cultivo y siembra en el Parque Ecológico de Xochimilco. Patronato del Parque Ecológico de Xochimilco AC. Informe final SNIB-CONABIO proyecto No. L087. México D. F.

PAERL H. W. & SHIMP S.L., 1973 – Preparation of filtered plankton and detritus for study with Scanning Electron Microscopy. *Limnology and Oceanography* 18 (5): 802-805.

PAN J. & SNELL W.J., 2000 – Signal transduction during fertilization in the unicellular green alga, *Chlamydomonas*. *Current Opinion in Microbiology* 3 (6): 596-602.

PEDROZA R., 2007 – *Productividad primaria y diversidad microbiana fotolitoautotrófica en los canales de Xochimilco.* Tesis Profesional, Químico bacteriólogo parasitólogo, México, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional.

PENTECOST A., 2002 – Order Volvocales. En: John D.M., Whitton B.A. & Brook A.J. (eds), *The Freshwater Algal Flora of the British Isles. An identification guide to freshwater and terrestrial algae.* Cambridge, Cambridge University Press, pp. 303-327.

PERLÓ COHEN M., 1999 – *El paradigma porfiriano: historia del desagüe del Valle de México.* México, UNAM, Instituto de Investigaciones Sociales, Programa Universitario de Estudios sobre la Ciudad y Miguel Ángel Porrúa, 314 p.

PHILLIPS K.A. & FAWLEY M.W., 2002 – Winter phytoplankton community structure in three shallow temperate lakes during ice cover. *Hydrobiologia* 470 (1): 97-113.

PINEDA-FLORES G., HERNÁNDEZ T., CRUZ M & GUTIÉRREZ-CASTREJON T., 1999 – Aplicación de dos microbioensayos para evaluar la contaminación presente en las cuencas Xochimilco y Lerma-Santiago. *Revista latinoamericana de microbiología* 41 (4): 251-258.

RAJAN S.S., 2002 – *Introduction to Algae.* Nueva Delhi, Anmol Publications Pvt. Ltd, 288p.

RAMSAR, 2010 – The List of Wetlands of International Importance, 22 december 2010. Disponible en: <http://www.ramsar.org/pdf/sitelist.pdf>

REYNOLDS C.S., 2006 – *Ecology of phytoplankton.* Nueva York, Cambridge University Press, 552 p.

ROSAS ROBLES A., 1998 – La ciudad en el islote. *La Ciudad y sus lagos*, Clío, pp. 13-41.

SALAZAR-CIUDAD I., 2007 – On the origins of morphological variation, canalization, robustness, and evolvability. *Integrative and Comparative Biology* 47 (3): 390 -400.

SALGADO N. N., RIVERO G. C. & ELIAS G., 2004 – Situación de *Girardinichthys viviparus* (especie amenazada) en los Lagos de Chapultepec, Zumpango y Requena. *Revista de zoología* 15: 1-16.

SCHUELER T. & SIMPSON J., 2001 – Why Urban Lakes Are Different. *Watershed Protection Techniques* 3 (4): 747-750.

SHARMA O.P., 1986 – *Textbook of Algae*. Nueva Delhi, Tata McGraw-Hill Publishing Company, 396p.

SHOLTIS S. & WEISS K. M., 2005 – Phenogenetics: genotypes, phenotypes, and variation. En: Hallgrimsson B. & Hall B. K. (eds.), *Variation*. Burlington, Elsevier, pp. 499–523.

SIEBURTH J. MCN., SMETACEK V. & LENZ J., 1978 – Pelagic ecosystem structure: Heterotrophic compartments of the plankton and their relationship to plankton size fractions. *Limnology and Oceanography* 23 (6): 1256-1263.

SIGEE D. C., 2005 – *Freshwater microbiology: biodiversity and dynamic interactions of microorganisms in the aquatic environment*. John Wiley and Sons, 524p.

SISTEMA METEOROLÓGICO NACIONAL (SMN), 2010 – Temperatura media estatal mensual, promedio 1980-2004 [Revisado en diciembre 2010]. Disponible en: <http://smn.cna.gob.mx/climatologia/temperaturas/tem-med.gif>

SPSS STATISTICS, 2008 – Para Windows Rel. 17.0.0. Chicago: SPSS Inc.

STOYNEVA M.P., 2000 – Planktic green algae of Bulgarian coastal wetlands. *Hydrobiologia* 438(1): 25-41.

TAVERA R. & DÍEZ B., 2009 – Multifaceted approach for the analysis of the phototrophic microbial community in a freshwater recreational area of Xochimilco, México. *Hydrobiologia* 636 (1): 353-368.

TAVERA R., NOVELO E. & COMAS A, 2000 – Chlorococcalean algae (s.l.) from the Ecological Park of Xochimilco, Mexico. *Arch.Hydrobiol.suppl./Algal.Stud.*100:65-94.

TRAINOR F. R. & EGAN P. F., 1990 – The implications of polymorphism for the systematics of *Scenedesmus*. *British Phycological Journal* 25 (3): 275-279.

TRAINOR F., 1970 – Algal morphogenesis: nutritional factors. *Annals of the New York Academy of Sciences* 175: 749-756.

UNESCO, 1987 – Convention concerning the protection of the World cultural and natural heritage, report of the world heritage committee. Eleventh session. Paris, SC-87/CONF.005/9. Disponible <http://whc.unesco.org/archive/repcom87.htm#412>

VISVIKI I. & PALLADINO J., 2001 – Growth and cytology of *Chlamydomonas acidophila* under acidic stress. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 66(5): 623-630.

VISVIKI I. & SANTIKUL D., 2000 – The pH Tolerance of *Chlamydomonas applanata* (Volvocales, Chlorophyta). *Archives of Environmental Contamination & Toxicology* 38(2): 147-151.

WAGNER G., GINGER B. & BAGHERI-CHAICHIAN H. – A Population Genetic Theory of Canalization. *Evolution* 51 (2): 329-347.

WAYNE NICHOLS H., 1973 – Growth media - freshwater *En*: Stein J. R. (ed.), *Handbook of phycological methods, culture methods and growth measurements*. Londres, Cambridge University Press, pp. 7-24.

WILLIAMS E.G., 1965 – Plankton algae from the Serpentine in Eaton Park, Chester. *European Journal of Phycology* 2(6): 429–450.

XOLALPA F., 2009 – *Monitoreo quincenal de clorofila a y parámetros fisicoquímicos en tres localidades de los canales de Xochimilco (el Bordo, La Virgen y el Japón), periodo 11 de agosto al 3 de noviembre 2008*. Reporte de Investigación (Biól.). Tutora: TAVERA R. Facultad de Ciencias UNAM.

ZALOCAR DE DOMITROVIC Y., 2005 – Biodiversidad del fitoplancton en el eje fluvial Paraguay-Paraná. *Temas de la Biodiversidad del Litoral Fluvial Argentino II. INSUGEO. Miscelánea* 14: 229-242.

ZAMBRANO L., CONTRERAS V., MAZARI-HIRIART M. & ZARCO-ARISTA A., 2009 – Spatial heterogeneity of water quality in a highly degraded tropical freshwater ecosystem. *Environmental Management* 43 (2): 249-263.

ZAMBRANO L., VALIENTE E. & VANDER ZANDEN M., 2010 – Food web overlap among native axolotl (*Ambystoma mexicanum*) and two exotic fishes: carp (*Cyprinus carpio*) and tilapia (*Oreochromis niloticus*) in Xochimilco, Mexico City. *Biological Invasions*. <http://dx.doi.org/10.1007/s10530-010-9697-8>.

Anexos

1. Las comunidades acuáticas

Los cuerpos de agua albergan diversos organismos que incluyen productores primarios (autótrofos), consumidores primarios y secundarios así como descomponedores. Las poblaciones pueden ser agrupadas en comunidades en función de las interacciones entre ellas (como en el caso anterior) o bien en función de características particulares que comparten, como son sus formas de vida que varían según la zona del lago ocupada.

De esta forma, de manera general en el fondo de los lagos se encuentra el bentos, que incluye a organismos que viven dentro (*endo-*) o sobre (*epi-*) el sustrato (o bien muy cercano a él), y pueden ser clasificados en función de él (lodo *-pelico*, arena *-samico*, roca *-lítico*) (Lampert y Sommer, 1997).

En la zona litoral, se encuentran por lo general plantas y entre ellas se crean micro-hábitats. Ahí, se encuentra el metafiton. Ciertos organismos crecen sobre las plantas o cualquier otro sustrato, sin que haya distinción de la profundidad, formando la comunidad perifítica (Sigeo, 2005).

En la zona pelágica, es decir en la zona de agua abierta de los lagos, están el plancton y el necton. El primero incluye a organismos que viven en cuasi suspensión en el agua y cuya capacidad motriz no excede el desplazamiento debido a la turbulencia (microorganismos fotosintéticos – fitoplancton-, protozoarios, rotíferos, crustáceos, algunas larvas de insectos, y larvas de peces – zooplancton-, bacterias –bacterioplancton, hongos –micoplancton- y virus). Los organismos del necton se encuentran también en cuasi suspensión en el agua, pero a diferencia de aquellos del plancton, son capaces de tener un movimiento independiente de la turbulencia (peces adultos, grandes cefalópodos, reptiles acuáticos, aves y mamíferos) (Lampert y Sommer, 1997; Reynolds, 2006).

Finalmente, ciertos organismos viven en la interfase entre el aire y el agua de los lagos, utilizando a su favor la tensión superficial; éstos forman el neuston (Lampert y Sommer, 1997).

La comunidad planctónica, antes mencionada, está compuesta por poblaciones con características particulares que permiten distinguir otras comunidades: el bacterioplancton, el micoplancton, el zooplancton y el fitoplancton. Este último incluye a la mayoría de los microorganismos fotosintéticos del plancton, es decir a los productores primarios de la comunidad que por medio de la fotosíntesis son capaces de reducir dióxido de carbono para formar hexosas (Lampert y Sommer, 1997; Reynolds, 2006). Esta comunidad puede estar compuesta de cianoprocariontes y de algas eucariotas como son especies de las divisiones Bacillariophyta, Chlorophyta, Cryptophyta, Dinophyta, Euglenophyta, Eustigmatophyta, Glaucophyta, Haptophyta, Heterokontophyta, Prasinophyta y Raphidophyta (Reynolds, 2006). Sieburth *et al.* (1978) presentan, en un acercamiento ecológico, una distinción del plancton en función de sus medidas, obteniendo para el caso particular del fitoplancton, el picofitoplancton (0.2-2µm), nanofitoplancton (2-20µm), microfitoplancton (20-200µm), mesofitoplancton (200µm – 2mm) y el macrofitoplancton (>2mm).

Evidentemente estas agrupaciones, dependen de las preferencias y sensibilidades autoecológicas de cada una de las poblaciones. Así, por ejemplo la disminución de nitrógeno en estos cuerpos de agua puede desencadenar el aumento en las poblaciones de cianoprocariontes fijadoras de nitrógeno (para mayores detalles sobre los factores que afectan la ficoflora planctónica referirse al Anexo 2).

2. Factores que afectan ficoflora planctónica

La sobrevivencia, desarrollo y reproducción de los individuos de las poblaciones de las diferentes comunidades, dependen de la satisfacción de sus requerimientos. Frente a un medio circundante altamente cambiante como lo es la zona pelágica de los cuerpos de agua someros, los organismos tienen intervalos de tolerancia para todos los factores ambientales (incluyendo las interacciones) acompañados de estrategias, mecanismos y adaptaciones que permiten mantener su medio interno estable (homeostásis) (Lampert y Sommer, 1997; Reynolds, 2006).

La actividad metabólica de los organismos es sensible a la temperatura; por otro lado, la eficiencia de la actividad fotosintética de los organismos fotoautótrofos depende de la intensidad lumínica que reciben (Lampert y Sommer, 1997; Reynolds, 2006). En un cuerpo de agua, la columna de agua se estratifica en función de la temperatura¹¹ y presenta un gradiente lumínico¹². Considerando que los organismos son, por lo general, más densos que el agua y que tienden a hundirse, el cambio en la posición del fitoplancton en la columna de agua se vuelve por lo tanto una gran presión de sobrevivencia (Reynolds, 2006).

Además del cambio de posición de los organismos debido a flujos del agua (turbulencia o la mezcla al perder la estratificación del cuerpo de agua), posibles adaptaciones contra el hundimiento han sido evidenciadas. Unos ejemplos son ciertas formas celulares que crean mayor resistencia al hundimiento, la presencia de proyecciones y la formación de colonias. La modificación de la densidad celular es otro recurso utilizado por ciertos grupos de algas y es realizada mediante una regulación iónica, el uso de aerotopos, o bien mediante la síntesis y posible secreción de compuestos menos densos que el agua como son lípidos y polisacáridos (mucílago) (Lampert y Sommer, 1997; Reynolds, 2006). El movimiento activo en los organismos flagelados evita también el hundimiento de los individuos; por ejemplo en el caso de ciertas clorofitas ha sido estudiado el movimiento fototáctico que permite regular el movimiento de los flagelos en función de la intensidad lumínica que recibe un fotoreceptor (Lee, 1999).

Al interior de los cuerpos de agua, las actividades biológicas del conjunto de organismos que habitan en él influyen en la química del agua, como es el caso del pH que es alterado por la fotosíntesis, la respiración y la asimilación de nitrógeno (Lampert y Sommer, 1997). Las modificaciones en el pH del agua tienen implicaciones directas en las actividades enzimáticas de los organismos inmersos en él, un ejemplo es la RuBP que cuando actúa como carboxilasa (fijación del CO₂) necesita un intervalo de pH entre 7.5 y 7.8. Los cambios en el pH tienen también efectos indirectos en los organismos, por ejemplo en la biodisponibilidad de nutrientes y en la liberación de compuestos tóxicos. En efecto, el pH que es una medida referente a la concentración de iones hidronio (H₃O⁺) y está relacionado con el equilibrio de carbonato-bicarbonato-dióxido de

¹¹ Esto ocurre por la densidad cambiante del fluido en función de la temperatura que está a su vez relacionada con la intensidad de la radiación solar (Lampert y Sommer, 1997).

¹² Debido a su absorción por su paso por el agua- estableciendo en ciertos casos una zona fótica (con luz) y una afótica (sin luz) (Lampert y Sommer, 1997)

carbono¹³ y establece la disponibilidad de dióxido de carbono en solución en el agua (Figura 19), así como la disociación de iones amonio (NH_4^+) al extremadamente tóxico amoníaco (NH_3) (Figura 20) (Lampert y Sommer, 1997) y la solubilidad de iones metálicos tóxicos como el aluminio Al^{3+} , liberado en aguas ácidas (Lampert y Sommer, 1997).

Frente a este medio acuático químicamente cambiante y a la disponibilidad de recursos variante, algunos organismos son capaces de almacenar nutrientes como el fósforo y el nitrógeno (Reynolds, 2006) así como de obtener los nutrientes de fuentes diversas (Lampert y Sommer, 1997; Reynolds, 2006): el dióxido de carbono (CO_2) y el bicarbonato (HCO_3^-) para el carbono; el nitrato (NO_3^+), el amonio (NH_4^+) y el nitrógeno atmosférico (N_2) – en el caso particular de algunas cianoprocariotas –, para el nitrógeno y diferentes formas de fosfatos (PO_4^{3-} , HPO_4^{2-} y H_2PO_4^- - *ortofosfato*) para el fósforo. Bajo condiciones extremas de una baja biodisponibilidad de recursos, las algas fitoplanctónicas tienden a disminuir su metabolismo y entrar en estados latentes, que les permiten sobrevivir hasta que las condiciones ambientales sean favorables para su florecimiento (Reynolds, 2006).

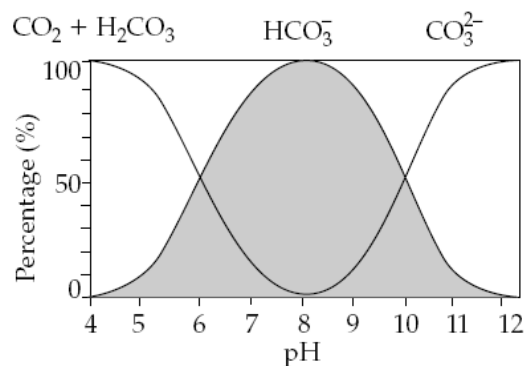


Figura 19. Proporciones relativas de distintas formas de dióxido de carbono a diferentes pH. Tomado de: Lampert y Sommer, 2007.

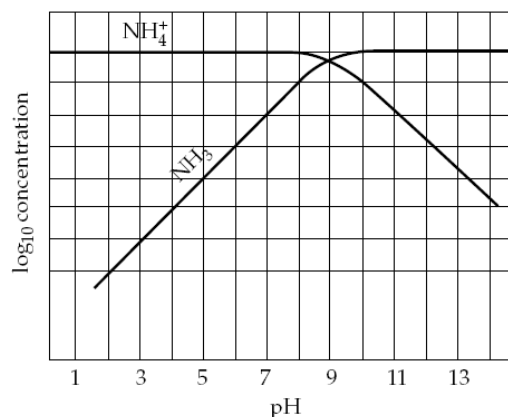


Figura 20. El efecto del pH en la proporción del ion amonio (NH_4^+) y de amoníaco (NH_3) a una concentración de amonio constante. Por debajo de un pH de 8 se encuentra casi exclusivamente amonio (NH_4^+), por arriba de 10.5 el amoníaco (NH_3) predomina. La escala de la concentración es relativa (Fuente: Lampert y Sommer, 2007; tomado de Morel 1983).

¹³ En agua dulce el ion calcio es muy importante para el equilibrio de carbonato-bicarbonato-dióxido de carbono: $\text{Ca}(\text{HCO}_3)_2 \rightleftharpoons \text{CaCO}_3 + \text{H}_2\text{CO}_3$

3. Chlorophyta

Las algas verdes (división Chlorophyta) son principalmente de agua dulce aunque las hay marinas y terrestres. Algunas son planctónicas, unicelulares o bien coloniales, otras son multicelulares bentónicas, epilíticas o epifíticas y algunas son el fotobionte de líquenes. Existen aproximadamente 500 géneros y 8000 especies (Hoek *et al.*, 1995).

Este grupo de algas tiene clorofila a y b y puede presentar otros pigmentos accesorios como son ciertas xantofilas: luteína, zeaxantina, violaxantina, anterazantina y neozantina (Hoek *et al.*, 1995). Su principal carotenoide es el β -caroteno y su acumulación es fuera del cloroplasto cuando las células están expuestas a condiciones limitantes en nitrógeno. El cloroplasto o los cloroplastos están envueltos únicamente por una doble membrana sin que exista una envoltura extra del retículo endoplásmico¹⁴. Dentro de cada cloroplasto los tilacoides están agrupados en grupos de dos a seis formando lamelas. El polisacárido de reserva en este grupo es el almidón y se acumula en gránulos o sáculos dentro del cloroplasto y su síntesis está frecuentemente asociada con pirenoides¹⁵ (si presentes). El ADN del cloroplasto está organizado en varios cromosomas.

Las paredes celulares de los organismos de esta división están compuestas por celulosa con excepción del orden Volvocales que lo están de glucoproteínas.

Las células flageladas tienen por lo general dos flagelos, aunque las hay de cuatro o más y se caracterizan por ser isocontos, es decir que tienen el mismo tamaño y estructura. A diferencia de los organismos de la división Heterokontophyta estos flagelos no presentan pelos microtubulares, pero pueden tener pequeños pelos fibrilares (Hoek *et al.*, 1995; Lee, 1999).

Las relaciones evolutivas dentro de esta división han sido replanteadas a partir de estudios de microscopía electrónica proponiendo la formación de grupos en función de la arquitectura de las células flageladas y de la división nuclear (mitosis) y celular (citocinesis) (Hoek *et al.*, 1988).

¹⁴ Ocurre lo mismo en las divisiones Rhodophyta, Glaucophyta, Bryophyta y Tracheophyta. Este carácter compartido es uno de los que muestran la estrecha relación evolutiva entre las algas verdes, las briofitas y las plantas vasculares (Hoek *et al.* 1995).

¹⁵ El pirenoide es un cuerpo denso a los electrones que se encuentra en el estroma de los cloroplastos y está principalmente compuesto de ribulosa 1,5-bisfosfato carboxilasa oxigenasa (RuBisCO), la enzima fijadora de CO₂ (Morita *et al.*, 1999).

4. Ciclo de vida de *Chlamydomonas*

El ciclo de vida de las volvocales unicelulares es representado por el ciclo conocido de *Chlamydomonas*. Los organismos de este género son por lo general haplobiontes (donde la fase dominante es la haploide), el cigoto es el único estadio diploide del ciclo de vida. Cuatro subciclos componen el ciclo de los cuales uno es el sexual (Ettl, 1983).

La fase asexual (Figura 21₁) parte de una célula haploide que pasa por un proceso de división celular formando zoosporas (Figura 21_{1b} y 21_{1c}). Las zoosporas, dentro de la pared materna, forman su propia pared celular, sintetizan sus flagelos y son posteriormente liberadas, este proceso es llamado eleuterosquisis (Figura 21_{1d}). Las células hijas pasan entonces por un proceso de crecimiento (Figura 21_{1f}) y se desarrollan como células vegetativas cerrando el ciclo.

La fase sexual inicia con la gametogénesis (Figura 21₂) a partir de una célula vegetativa (Figura 21_{2b}). Por lo general es desencadenada por algún cambio ambiental o por un estímulo hormonal (Lee, 1999). Los gametos son liberados por la acción de una enzima más o menos específica, la autolisina, que es liberada por las células hijas poco después de la citocinesis (Hoek *et al.*, 1995). La diferencia entre las células vegetativas y los gametos en microscopía fotónica es nula, sin embargo en microscopía electrónica de transmisión los gametos (por lo menos los de *Chlamydomonas reinhardtii*) presentan estructuras reproductivas en la membrana citoplasmática que permiten la conjugación y aglutinas sobre los pelos flagelares que permiten la adhesión de los flagelos de tipos opuestos (cuando la especie es heterotálica).

Al encontrarse los gametos compatibles, estos se adhieren entre ellos por medio de las aglutininas lo que desencadena su activación. Entonces la cantidad de aglutininas activas en los flagelos aumenta, incrementando su capacidad de adhesión. Esta activación desencadena una serie de cambios celulares (para mayores detalles referirse a Pan y Snell, 2000) que involucran la degradación parcial de la pared celular permitiendo la plasmogamia en la zona apical de cada gameto (Figura 21_{2e}). Un cigoto con cuatro flagelos (planocigoto) es formado (Figura 21_{2f}), las aglutininas son desactivadas y los flagelos reabsorbidos. Ocurre la cariogamia obteniendo el único estado diploide del ciclo. El cigoto forma una pared gruesa y entra en un periodo de latencia, formando el hipnocigoto (Figura 21_{2h1} y 21_{2h2}).

Tras un periodo de latencia, el cigoto germina, pasa por un proceso de división meiótica formando cuatro células hijas haploides dentro de una pared materna. Éstas, tras formar su pared celular y sus flagelos, son liberadas (Figura 21_{2i}) y maduran volviéndose células vegetativas (Figura 21_{2j}), cerrando el ciclo sexual.

Dos otros subciclos asexuales particulares existen. Uno de ellos consiste en la formación de aplanosporas (esporas no flageladas) con pared celular engrosada (Figura 21_{4b}) las cuales pueden mantenerse por periodos indefinidos antes de germinar formando células vegetativas flageladas por división celular (Figura 21_{4c} y 21_{4d}). El segundo es el subciclo que lleva a la formación del estado palmela (Figura 21_{3b}). Éste se caracteriza por ser un estado en el que las células hijas resultantes de una división celular no son liberadas y se mantienen en la pared materna que se

gelatiniza. Esto provoca la propia gelatinización de la pared de las células hijas quienes pueden a su vez dividirse sin liberar sus células hijas. El resultado es la formación de muchos protoplastos cada uno con su pared celular gelatinizada y envuelta por una serie de paredes correspondientes a las de las células madres (Iwasa y Murakami, 1968; Nakamura *et al.*, 1975; Ettl, 1983; Sharma, 1986; Rajan, 2002). El estado palmela es ocasionado por condiciones desfavorables (Iwasa y Murakami, 1968; Iwasa y Murakami, 1969; Trainor, 1970; Sharma, 1986; Visviki y Santikul, 2000; Rajan, 2002) y puede dar origen también a zoosporas cuando las condiciones favorables son reestablecidas (Ettl, 1983; Sharma, 1986). En este subciclo las células pueden dividirse vegetativamente manteniendo el estado no flagelado.

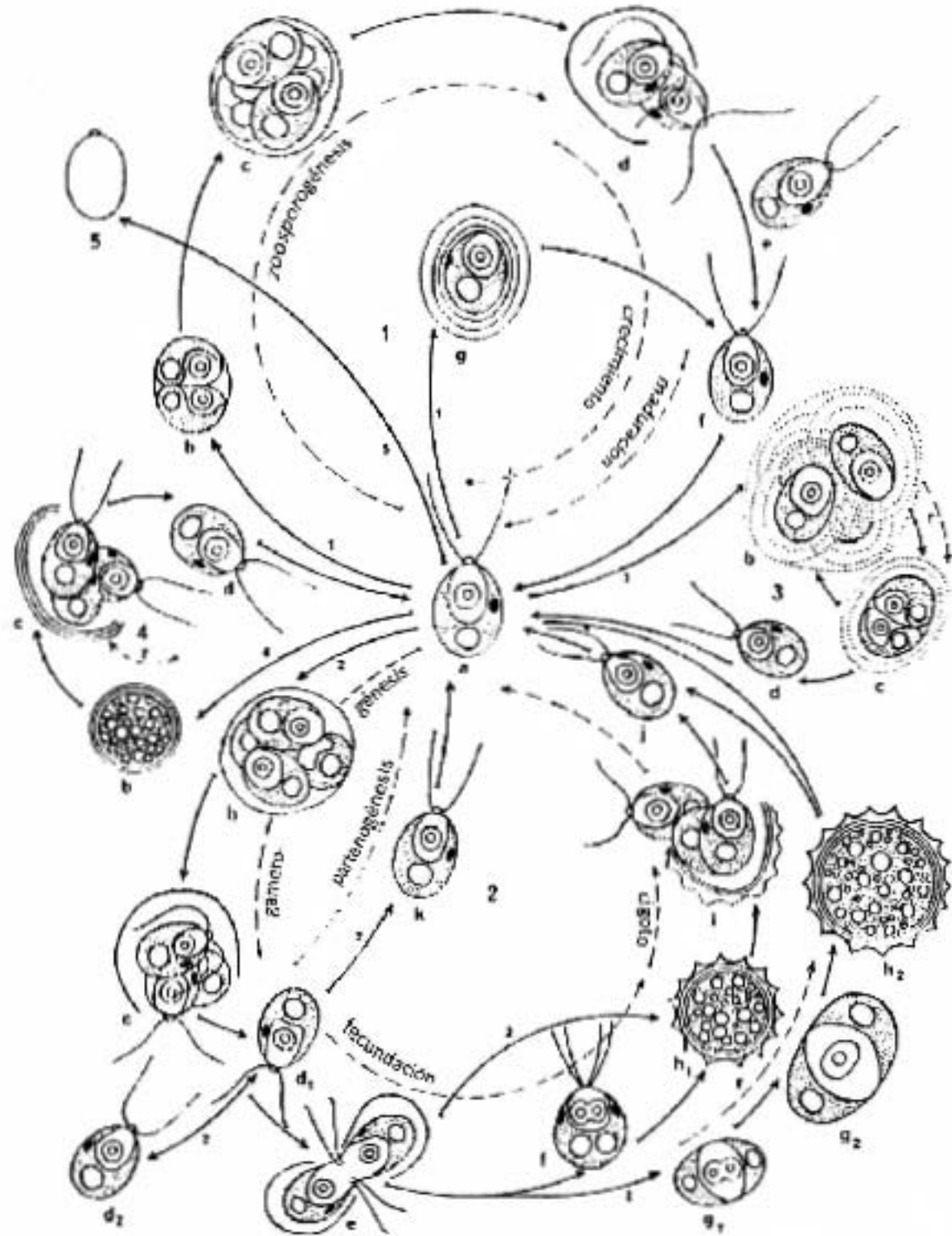


Figura 21. Ciclo de vida de *Chlamydomonas*, 1 Multiplicación asexual, 2 Reproducción sexual, 3 Formación de células hijas en el estado palmela, 4 Formación de células hijas a partir de aplanosporas, 5 Muerte de una célula vegetativa. Las etapas de los subciclos (letras minúsculas) quedan referenciadas en el texto como subíndices. Tomado de Ettl, 1983.

5. Método de aislamiento de microalgas por micropipeta

Uno de los métodos más comunes para la obtención de cultivos clonales de algas es realizando aislamientos unialgales utilizando micropipetas. Éste consiste en separar una sola célula del resto de los organismos de una muestra por medio de una secuencia de gotas de medio de cultivo estéril utilizando una micropipeta (Andersen y Kawachi, 2005).

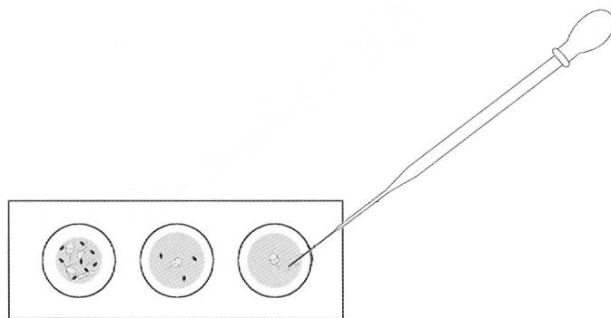
La micropipeta es obtenida a partir de una pipeta Pasteur – o de un capilar de vidrio – que es calentada con la flama de un mechero o de una lámpara de alcohol hasta que el vidrio se ablande. En ese momento se estira el vidrio con unas pinzas al mismo tiempo que es retirado de la flama (de lo contrario la micropipeta se colapsa y no tiene luz). Si se realiza la micropipeta a partir de una pipeta Pasteur se obtienen dos micropipetas, una que puede ser utilizada como una pipeta Pasteur con un bulbo, y otra que puede ser utilizada con un tubo de silicón (\varnothing 2 mm) que se adapte al extremo grueso de la micropipeta y cuya presión interna es regulada con la boca de quien aísla. En el caso de que la micropipeta sea obtenida a partir de un capilar, se obtiene únicamente un tipo de capilar que es utilizado con el tubo de silicón (\varnothing 2 mm).

El aislamiento es realizado seleccionando con el microscopio (Nikon Eclipse E400, en el caso de este trabajo) en un aumento de 10x o de 20x¹⁶, una sola célula¹⁷ de una gota de muestra y depositándola en una gota de medio de cultivo estéril. Se realiza el mismo procedimiento de la primera gota de medio de cultivo a una nueva, hasta que la célula deseada se encuentre en la gota de medio de cultivo libre de otros organismos (Figura 22). Entonces se atrapa la célula en la micropipeta y se inocula un tubo de cultivo estéril, o una caja de petri con medio de cultivo sólido.

Es importante ser cuidadoso en la manipulación de las células evitando su rompimiento o su exposición a shocks térmicos o de pH los cuales pueden ocurrir con medios de cultivo inmediatamente extraídos del refrigerador o gotas de medio de cultivo desecadas.

Si se desea tener mayores detalles sobre métodos tradicionales de aislamiento de microalgas, revisar el trabajo de Andersen y Kawachi (2005).

Figura 22. El aislamiento es realizado pasando el organismo deseado de gota en gota de medio de cultivo hasta obtener un sólo organismo en un gota (tomado de Andersen y Kawachi, 2005).



¹⁶ El aumento utilizado varía según la distancia focal de los objetivos utilizados: para el aislamiento con el método de la micropipeta es requerido un espacio amplio de maniobra.

¹⁷ Debido a la capilaridad es necesario para un correcto control de la succión de los organismos llenar (previamente al aislamiento) la micropipeta con una gota de medio de cultivo estéril.

6. Medio Bourrelly

Este medio de cultivo ha sido utilizado para el crecimiento de clorofitas y principalmente Chlorococales (Hegewald *et al.*, 1994). Su preparación consiste en disolver una secuencia de determinado volumen de soluciones madre en un volumen de agua destilada. Es importante respetar el orden indicado con el fin de evitar la precipitación de metales. Debido a la presencia de vitaminas, el medio de cultivo es esterilizado por filtración (filtro con poro de 0.22 μm de diámetro previamente esterilizado por calor húmedo).

Una vez preparado y esterilizado el medio de cultivo, se guarda en refrigeración a 4°C.

Componente	Solución madre (g.l^{-1} de H_2O)	Volumen utilizado (volumen final de un litro)
KNO_3	100	2 ml
K_2HPO_4	10	4 ml
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	10	3 ml
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	10	3 ml
Vitaminas		
Biotina + B₁₂	Ver receta a continuación	20 ml
Tiamina	0.0005 5×10^{-4}	10 ml
FeEDTA	Ver receta a continuación	0.5 ml
Elementos traza	Ver receta a continuación	1 ml

La concentración final de tiamina en el medio de cultivo utilizado es cien veces mayor que la de Hegewald *et al.* (1994) y la de elementos traza es al doble.

Solución madre de vitamina Biotina + B₁₂

Componente	Solución madre (mg.l^{-1} de H_2O)
Biotina	33
B₁₂	5

Solución madre de FeEDTA

Componente	Solución madre (g.l^{-1} de H_2O)
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	6.95
FeEDTA	9.30

Para la preparación de esta solución madre es necesario disolver primero las sustancias en 800 ml de agua, hervir brevemente y posteriormente completar el litro de solución.

Solución madre de elementos traza

Componente	Solución inicial (g.l ⁻¹ de H ₂ O)	Solución Stock (ml.l ⁻¹ de H ₂ O)
MnCl₂ x 4H₂O	9.9	10
CoSO₄ x 7H₂O	2.8	1
CuSO₄ x 5H₂O	0.5	1
ZnSO₄ x 7H₂O	3.15	2
H₃BO₃	6.2	5
(NH₄)₆Mo₇O₂₄ x 4H₂O	1.8	1
NiSO₄ x 6H₂O	2.63	10
NH₄VO₃	1.46	1

7. Medio de enriquecimiento: agua-suelo y chicharo

El enriquecimiento de medios de cultivo con agua-suelo y chicharo permite aumentar el espectro de especificidad de los medios y es utilizado para cultivos no-axénicos. Su eficacia depende del tipo de suelo utilizado, el cual no debe de ser ni muy rico en humus, ni haber sido recientemente fertilizado con fertilizantes comerciales (Wayne, 1973).

La preparación del agua-suelo enriquecido con chicharo consiste en poner una parte de suelo en el fondo de un recipiente con tapa, añadir una pizca de carbonado de calcio y medio chicharo, llenar el recipiente con dos partes de agua destilada dejando un tercio vacío. Se esteriliza realizando baños maría durante una hora y media, tres días consecutivos, cuidando que la temperatura se mantenga de 100°C durante la hora y media del baño. Es importante dejar enfriar a temperatura ambiente al menos por 18 horas entre cada baño. Habiendo esterilizado el agua suelo, se dejan sedimentar las partículas de suelo y se utilizan 40 ml de sobrenadante para 960 ml de medio de cultivo (Wayne, 1973).

Debido a la altura de la Ciudad de México la temperatura de 100°C no puede ser alcanzada, por lo tanto, con el fin de evitar la contaminación del medio de cultivo, el sobrenadante utilizado para el enriquecimiento de los cultivos es añadido en el caso del Bourrelly, antes de realizar la esterilización por filtrado.

8. Medio Bourrelly sólido al 1.5% de agar

La preparación de medio Bourrelly sólido al 1.5% de agar está compuesta por tres etapas: la preparación de un medio Bourrelly concentrado, la preparación de la solución de agar, la obtención final del medio sólido.

Preparación del medio Bourrelly concentrado

En un matraz estéril con 400 ml de agua estéril se disuelven una a una las soluciones stock como si se preparara un litro de medio de cultivo líquido. Esta solución es posteriormente filtrada con un filtro de poro de 0.22 µm.

Si se desea enriquecer el medio de cultivo se añade la solución deseada antes de filtrar el medio de cultivo concentrado.

Preparación de la solución de agar al 1.5%

Se disuelven 15 gramos de agar granulado en 600 ml de agua desionizada. Posteriormente se esteriliza la solución en autoclave.

Cajas medio de cultivo sólido

La solución de agar se deja enfriar hasta que pueda ser tolerado con la mano (<58°C) y en ese momento se añade al matraz el medio Bourrelly concentrado y filtrado. Esta precaución con la temperatura del agar es tomada debido a la toxicidad reportada por Allen (1968) en la preparación de medio BG-11 sólido. Se homogeneiza el medio de cultivo y entonces se vierte en cajas de petri estériles y se deja solidificar a temperatura ambiente.

9. Soluciones para la Microscopía Electrónica de Barrido

A continuación se indican las proporciones, en función del volumen final deseado, de reactivos para la preparación de las soluciones utilizadas en el procesamiento de fitoplacton de agua dulce para Microscopía Electrónica de Barrido.

Buffer NaCac 0.2M (stock)

H ₂ O	10 ml	25 ml	50 ml	100 ml	200 ml
NaCac	0.428 g	1.07 g	2.14 g	4.28 g	8.56 g

Ajustar el pH a 7.2 con HCl (8.4ml con HCl al 0.2N)

GTA 2% en 0.1 buffer de NaCac a pH 7.2

	5 ml	10 ml	20 ml	30 ml	50 ml	100 ml
NaCac 0.2M	2.5 ml	5 ml	10 ml	15ml	25 ml	50 ml
GTA 50%	0.2 ml	0.4 ml	0.8 ml	1.2ml	2 ml	4 ml
H₂O	2.3 ml	4.6 ml	9.2 ml	13.8	23 ml	46 ml

Mantenerlo en refrigeración 4°C y usarlo previo a las 2 semanas, la recomendación es usar fresco.

GTA 2% en medio de cultivo

	5 ml	10 ml	20 ml	30ml	50 ml	100 ml
GTA 50%	0.2 ml	0.4 ml	0.8 ml	1.2ml	2 ml	4 ml
Medio de cultivo	4.8 ml	9.6 ml	19.2 ml	28.8ml	48 ml	96 ml

Mantenerlo en refrigeración 4°C y usarlo previo a las 2 semanas, la recomendación es usar fresco.

Buffer NaCac 0.1M pH 7.2

Mismo volumen de solución stock y agua destilada. Son cuatro enjuagues.

	5 ml	10 ml	20 ml	30ml	50 ml	100 ml
NaCac 0.2M	2.5 ml	5 ml	10 ml	15ml	25 ml	50 ml
H₂O	2.5 ml	5 ml	10 ml	15ml	25 ml	50 ml

Alcohol al 70%

	10 ml	20 ml	30 ml	50 ml	100 ml	200 ml
Alcohol absoluto	7 ml	14 ml	21ml	35 ml	70 ml	140 ml
H₂O	3 ml	6 ml	9ml	15 ml	30 ml	60 ml

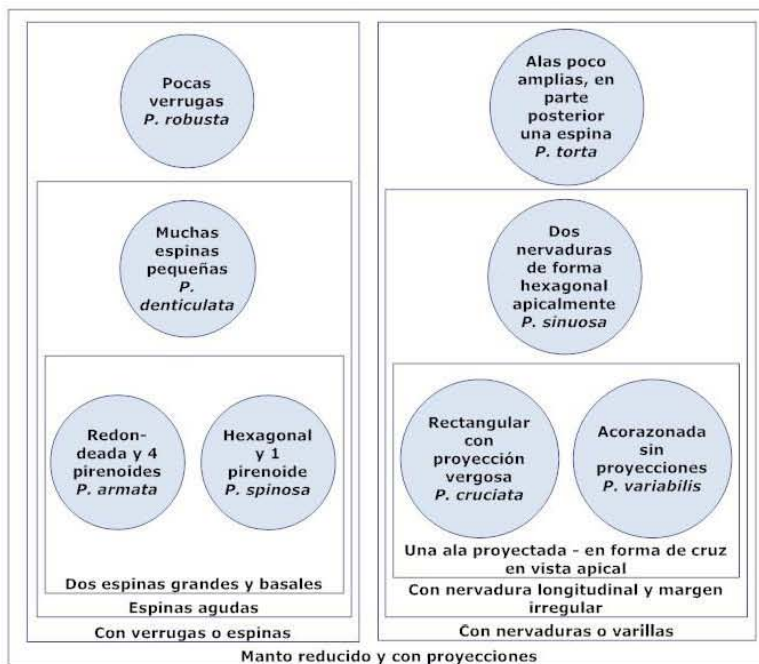
Alcohol al 50%

	10 ml	20 ml	30 ml	50 ml	100 ml	200 ml
Alcohol absoluto	5 ml	10 ml	15ml	25 ml	50 ml	100 ml
H₂O	5 ml	10 ml	15ml	25 ml	50 ml	100 ml

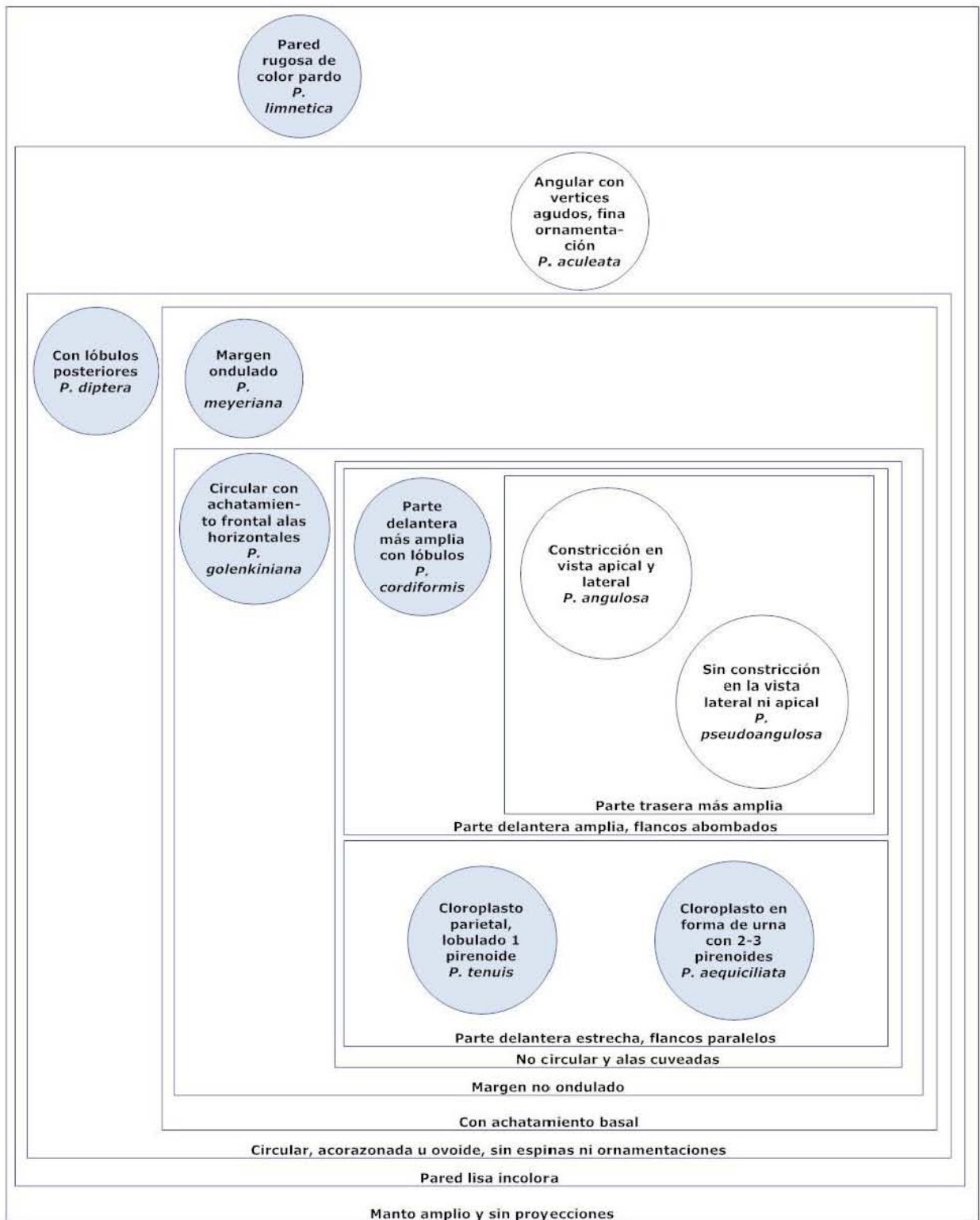
Alcohol al 25%

	10 ml	20 ml	30 ml	50 ml	100 ml	200 ml
Alcohol 50%	5 ml	10 ml	15 ml	25 ml	50 ml	100 ml
H₂O	5 ml	10 ml	15 ml	25 ml	50 ml	100 ml

10. Representación diagramática de la clave taxonómica para la



identificación de especies de *Pteromonas* a partir de Ettl (1983)



Dibujos y descripciones de *Pteromonas limnetica* y *P. spinosa*

Pteromonas limnetica en la descripción de Ettl (1983) es más o menos circular en la vista frontal y rómbica en la sección transversal sin que haya una distinción con las alas. Su superficie es rugosa, incolora, rojiza o pardusca. En ciertas ocasiones presenta tres líneas longitudinales. Su protoplasto tiene forma lenticular. Su cloroplasto es de masivo a en forma de urna con un ensanchamiento basal en donde se sitúa un gran pirenoide. Las medidas de la célula, incluyendo la pared son: 23.5-25.5 μm de largo, 21-22.5 μm de ancho y 8.5-10 μm de grueso (Figura 23).

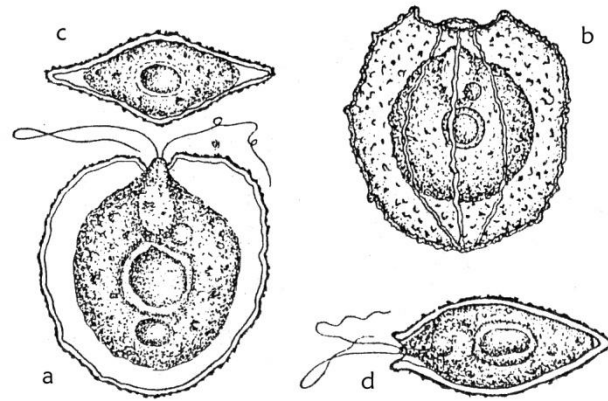


Figura 23. Esquemas de *Pteromonas limnetica*. **a.** y **b.** Vistas frontales, **c.** Vista apical en el plano ecuatorial, **d.** Vista lateral en el plano ecuatorial. (Fuente: Ettl, 1983)

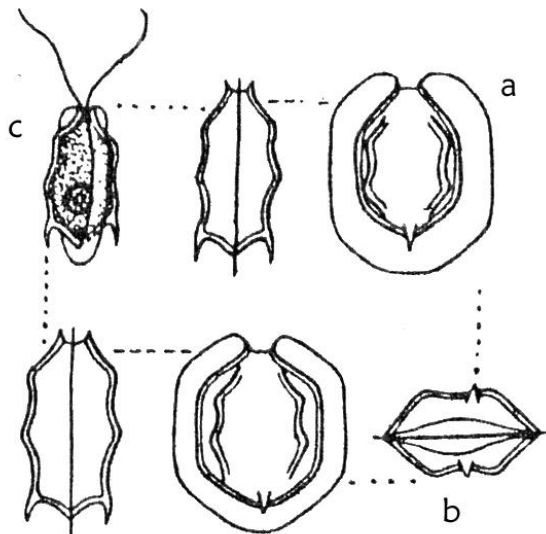


Figura 24. Esquemas de *P. spinosa*. **a.** Vista frontal, **b.** Vista lateral y **c.** Vista apical. (Fuente: Ettl, 1983; tomado de Nygaard, 1949).

En el caso de *Pteromonas spinosa*, Ettl (1983) la describe como una célula hexagonal con los vértices redondeados en la vista frontal, que presenta tres depresiones en la vista lateral. En la zona apical la pared forma un cono y en la zona posterior es de plana a aguda con engrosamientos como espinas. En la sección transversal es en forma de huso con una constricción central. El manto es muy amplio y se extiende hacia la zona apical de la célula. Su cloroplasto es en forma de urna con un pirenoide basal. Las medidas de la célula sin las alas son: 15-19.5 μm de largo, 11-13 μm de ancho, 9-11 μm de grueso. Las alas miden 2-4 μm de ancho y las espinas son de 2-3 μm de largo (Figura 24).