



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES IZTACALA**

**Evaluación del efecto del ácido sulfúrico como componente
de la lluvia ácida sobre *Scenedesmus* sp. (clorofícea) y
Microcystis panniformis (cianobacteria).**

T E S I S

Que para obtener el título de:

Licenciado en Biología

P R E S E N T A :

Llanas Vázquez Randy Seir

DIRECTOR DE TESIS

Dr. Diego de Jesús Chaparro Herrera



LOS REYES IZTACALA EDO. DE MEX.

2018



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES IZTACALA**

**Evaluación del efecto del ácido sulfúrico como componente
de la lluvia ácida sobre *Scenedesmus* sp. (clorofícea) y
Microcystis panniformis (cianobacteria).**

T E S I S

Que para obtener el título de:

Licenciado en Biología

P R E S E N T A :

Llanas Vázquez Randy Seir

DIRECTOR DE TESIS

Dr. Diego de Jesús Chaparro Herrera



LOS REYES IZTACALA EDO. DE MEX.

2018

LA CIENCIA NO ES SOLO
UNA DISCIPLINA DE RAZÓN,
SINO TAMBIÉN DE ROMANCE Y PASIÓN
S. HAWKING.

DEDICATORIA

A mi familia; papá, mamá y hermano. Quienes me han ayudado a crecer académicamente y emocionalmente. Me han apoyado incondicionalmente, por apoyarme en mis sueños y metas, nunca haber dudado de mí. Por su apoyo es que he llegado tan lejos. GRACIAS. Espero que este trabajo sea tan gratificante para ustedes como lo es para mí.

A Gaby Z.; me has acompañado en una de las partes más importantes de mi vida, sin lugar a duda la mejor persona con quien la pude haber compartido.

A Diego; quien ha probado no ser solo un excelente tutor, sino también un gran compañero, amigo y confidente.

A Rocío; quien me apoyo muchas veces y de diversas formas, sin las cuales no habría podido cumplir esta etapa tan importante en mi vida.

AGRADECIMIENTOS

A Carolina y Jesús por haberme enseñado a ser una persona exitosa, seguir siempre mis sueños, por ser los mejores ejemplos de figuras a seguir, por un millón y mas razones tengo tanto que agradecer.

A Denizar porque siempre has sabido como motivarme, tu persistencia y desempeño me ha enseñado demasiado.

A Gaby por ser un gran apoyo y enseñarme lo positivo en cosas que a veces no puedo notar, por ser tan contrariamente complementaria y siempre estar ahí cuando lo necesito.

A mis sinodales: Dr. Diego, Dra. Rocío, Dr. Pedro, Dr. Hugo, Dr. Gerardo, por haber aceptado instruirme, por resolver todas mis dudas, por ayudarme a mejorar este trabajo todo lo que se pudo y por haberme enseñado a ser un buen Biólogo.

Al laboratorio de Bacteriología/CyMA/UIICSE por haberme permitido realizar todas las labores necesarias para llevar a cabo el presente trabajo. A a todos sus integrantes, en especial a: Frida X., Paola, Miguel, Janeth, Catriona, David, Liliana, Fernanda, Frida B., Ricardo, Nayeli y Jorge, por haberme enseñado muchas cosas y amenizar mi estancia en el laboratorio.

ÍNDICE

RESUMEN	
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. JUSTIFICACIÓN.....	9
3. HIPOTESIS.....	10
4. OBJETIVOS.....	11
5. MATERIALES Y METODOS.....	12
6. RESULTADOS.....	22
7. DISCUSIÓN.....	35
8. CONCLUSIONES.....	42
9. LITERATURA CONSULTADA.....	43
ANEXO.....	51

RESUMEN

La contaminación atmosférica es un fenómeno importante en todo el mundo, sin embargo, en México debido al desarrollo urbano aunado al relieve que rodea la Zona Metropolitana del Valle de México, esto representa un papel influyente en ambientes terrestres y acuáticos (disminuyendo el pH y alterando el contenido de elementos disponibles), cuando contaminantes como SO_2 , NO_x y CO_2 entran en contacto con altas cantidades de humedad, formando la denominada lluvia ácida. Se conoce poco sobre el efecto que la precipitación ácida pueda tener sobre las poblaciones de fitoplancton, pero se ha observado que los “blooms” de cianobacterias son permanentes a lo largo del año. Se muestrearon dos lagos de la Ciudad de México (Chapultepec y Tezozómoc), con énfasis en las especies *Scenedesmus* sp. y *Microcystis panniformis*. Se determinaron la densidad celular, clorofila-a y síntesis de microcistinas, en cuatro concentraciones (0.19, 0.39 mM H_2SO_4 y 0.09/0.1, 0.19/0.2 mM $\text{H}_2\text{SO}_4+\text{HNO}_3$) en dos temporadas (secas y lluvias) para corroborar los datos obtenidos de la experimentación. El tiempo de incubación experimental consistió en 8 días bajo luz fluorescente. Según los resultados *Scenedesmus* sp. tuvo el mayor aumento en la densidad celular con una concentración 0.19 mM de H_2SO_4 (de un valor inicial de 0.8×10^5 células/mL a 3.6×10^5 células/mL), mientras que *Microcystis panniformis* lo presentó en la concentración [0.19/0.2] de los ácidos combinados. Se observó un aumento duplicado entre las temporadas de secas y lluvias en el Lago de Tezozómoc, mientras que en el Lago de Chapultepec existió un registro de *Microcystis panniformis* en lluvias. En cuanto a la concentración de microcistinas Chapultepec no presentó valores excepto en temporadas de lluvias, *Microcystis panniformis* obtuvo los valores más altos en la concentración [0.19] del tratamiento con H_2SO_4 . Experimentalmente no se indujo la síntesis de Microcistina-LR con los ácidos combinados y al ser esta la forma en la que se suelen encontrar en la lluvia ácida se deduce que son otros componentes los causantes de su aumento en temporada de lluvias, por lo cual se propone que estudios posteriores se enfoquen en ello.

Palabras clave: Cianobacterias, clorofíceas, contaminación atmosférica, lluvia ácida, microcistinas, lagos urbanos.

INTRODUCCIÓN

El agua es un recurso de suma importancia e imprescindible, no solo los humanos dependemos de su accesibilidad, el agua representa el principal elemento para que se lleven a cabo todos los procesos naturales y metabólicos de los organismos (Chaplin 2001, 2006). Cubre aproximadamente un 75% de la superficie de la tierra y tan solo en el mediterráneo se encuentran en promedio unas 17,000 especies marinas (Coll, 2010), que en su totalidad son aproximadamente 11 millones de especies (Chapman, 2009) y todas dependen del agua para subsistir. En sumatoria, la mayor cantidad de agua se ubica en los océanos (97.5%), mientras que solo un 2.5% es agua dulce, de la cual 69.5% se encuentra en glaciares y permafrost, y 0.3% está en lagos y ríos (Shiklomanov, 1998) la cual queda disponible para el uso humano.

La mayor parte de este recurso se encuentra ubicado en seis países: Brasil, Rusia, Canadá, EE.UU., China e India. Pero debido a las modificaciones que ha causado la humanidad (manipulación de los grandes flujos de agua, presas de almacenamiento, drenaje de humedales, etc.) y las formas de uso (agricultura, doméstico, drenaje, etc.), junto con el crecimiento urbano y demográfico exponencial, se ha venido limitando la cantidad de agua disponible para uso y consumo humano y aun no se han cuantificado totalmente los impactos biológicos que esto representa (Toledo, 2002).

En México, el tema del agua puede abordarse desde varios puntos de vista, uno de ellos es que la disponibilidad de dicho elemento ha causado conflictos dentro del país. Debido a malos manejos en la distribución y cuidado del agua, sumado a un incremento en la densidad poblacional y el desarrollo urbano, genera un aumento en la demanda de la cantidad del líquido en su forma potable (Becerra, 2006). Si a la escasez y demanda excesiva se le asocia que, de los 653 mantos freáticos disponibles, 101 se encuentran sobreexplotados (CNA, 2003), y algunas otras fuentes de agua dulce pueden encontrarse en condiciones de mala calidad o contaminarse por fuentes difusas, el problema se vuelve cada vez más difícil y abrumador.

Desde 1990 se han registrado datos públicos sobre la calidad del agua, pero las formas de medición han variado a lo largo del tiempo, lo cual ha hecho que se dificulte observar cómo ha evolucionado la condición del agua (Jiménez, 2007). En varios

casos esto solo se mide por la cantidad de materia orgánica, pero los causantes de contaminación también pueden ser los desechos urbanos e industriales, lixiviados de la agroindustria y de minas, la erosión, derrames de sustancias tóxicas (accidental o intencional), los efluentes de plantas purificadoras, los subproductos de los procesos de depuración, la ruptura de drenajes y el lavado de la atmósfera, entre otros (Jiménez, 2001).

El lavado atmosférico se entiende como la precipitación de los contaminantes que ahí se encuentran, en este sentido México ha sido reportado como uno de los países que, junto con Tokio, Milán y Moscú entre otros, ha presentado altos niveles de contaminantes del aire (Dockery, 1996; Vallejo, 2003). La contaminación atmosférica también puede ser llamada en general "SMOG", que es una combinación de Dióxido de Carbono (CO_2), Monóxido de carbón (CO), Dióxido de Nitrógeno (NO_2), Óxidos de Nitrógeno (NO_x), Dióxido de Azufre (SO_2), Trióxido de Azufre (SO_3), entre otros (Langman, 2003). La principal fuente de emisión natural de Dióxido de Azufre son los volcanes, pudiendo liberar hasta 20 ± 6 Mt (Megatoneladas = 20×10^9 kg) de SO_2 a la atmósfera, como se calculó en la explosión de 1342, que duró 9 horas (Bluth, 1992). Pero en la actualidad las principales fuentes de emisiones de SO_2 son de origen antropogénico, provenientes de la combustión de hidrocarburos en los automóviles y el sector Industrial. Se puede encontrar de forma gaseosa o aerosol, de lo cual existen registros desde 1850, mostrando un aumento desde esa fecha y una disminución a partir del 2005, variando en diversas localidades en el mundo (Smith, 2011; Klimont, 2013).

Es difícil encontrar estos contaminantes atmosféricos de forma aislada, comúnmente se encuentran mezclados o como agregados (Castro, 2003). Debido a la naturaleza de las emisiones más comunes (combustión de hidrocarburos) el SO_2 y los NO_x suelen encontrarse de forma compuesta, es decir, como conjugación de varios contaminantes en una sola acumulación de partículas gaseosas. Estos pueden entrar de manera natural al ambiente marino o lacustre como consecuencia de la deposición atmosférica, la escorrentía superficial y subterránea, al entrar en contacto con otros elementos como el H_2O , OH y O_3 (Camargo, 2007), como es el caso del Dióxido de

Azufre que, al estar en contacto con altas cantidades de humedad, forma compuestos ácidos (Ácido sulfúrico = H₂SO₄) y en los Óxidos de Nitrógeno (Ácido nítrico = HNO₃) dadas las siguientes reacciones:



La precipitación de esta combinación (lluvia ácida) no solo incrementa la disponibilidad de NO₃⁻ y SO₄⁻, sino que también la cantidad de H⁺, esto acidifica el ambiente, y se ha visto que tiene efectos como disminuir la capacidad de neutralización del ácido y al mismo tiempo disminuye la diversidad y abundancia de los organismos acuáticos, por la disminución de calcio y la pérdida de nutrientes en cationes (Driscoll, 2003). También se ha observado que aumenta los niveles de aluminio, lo cual puede ser mortal para la vida acuática, debido a que interfiere en la deposición normal del calcio e irrita las branquias de los peces que, como respuesta secretan una mucosa que ocasiona muerte por asfixia (Ramírez, 2008). El ácido afecta directamente a las hojas de los vegetales, despojándolas de su cubierta cerosa y causando lesiones que alteran la acción fotosintética (Garcés, 2004).

Los efectos de la lluvia ácida fueron ampliamente estudiados en los años 70's, tanto en ambientes terrestres como acuáticos, esto debido a las emisiones Industriales por parte de plantas de poder y fundidoras, además las Industrias tuvieron un mayor auge, alcanzando lluvias con pH entre 2.0 y 3.0 (Glass, 1979). Experimentalmente se reportaron cambios remarcables en la calidad del agua y flora (desaparición de una especie común *Littorella uniflora* y el aumento de dos especies dominantes), además se encontró que las concentraciones de Ca, Mg, Fe, Mn, Al, Cd y Zn se incrementaron como resultado de la acidificación (Schurkles, 1987).

Para que se lleve a cabo la precipitación ácida es necesario tener altas cantidades de contaminantes; sin embargo, no solo se tienen afectaciones locales. Existen reportes que indican que las emisiones pueden viajar lejos del lugar de origen, como se observa en los datos registrados por el Instituto Nacional de Investigación Ambiental de Corea (NIER, 2004), donde se reporta que una cantidad de más de 94,000 toneladas de SO₂ fueron depositadas en el país y que fueron emitidos en China. Dependiendo del tipo

de creación del contaminante y el alcance que pueda tener (en un gradiente vertical) la emisión del SO_2 , así como las condiciones ambientales del lugar, este puede dispersarse desde unos metros hasta varios Kilómetros, pudiendo llegar hasta otros países lejanos al país productor (Carmichael, 2003, Lu, 2011; Manzur, 2013).

Como comparación, la Ciudad de México, ubicada al Sur del Valle de México, se encuentra rodeada por las sierras de Monte Alto, Ajusco, Monte Bajo y Las Cruces, al igual que por la Sierra Nevada y la Serranía de Chichinauhtzin, que tienen una altura promedio de 1000m (Vallejo, 2003). Al observar su topografía la contaminación atmosférica representa un papel aún más importante que en otros lugares, el relieve impide que los gases se dispersen libremente y en su mayoría quedan contenidos dentro del Valle (Molina, 2002. Véase figura 1 y 2). Dependiendo de las actividades realizadas por la población, la dinámica de partículas y concentración de contaminantes tienen una variación importante a lo largo del día y se pueden establecer los meses y horas con la mayor concentración de SO_2 en la atmósfera (Vázquez, 2012; Dirección de Monitoreo Atmosférico, 2017).

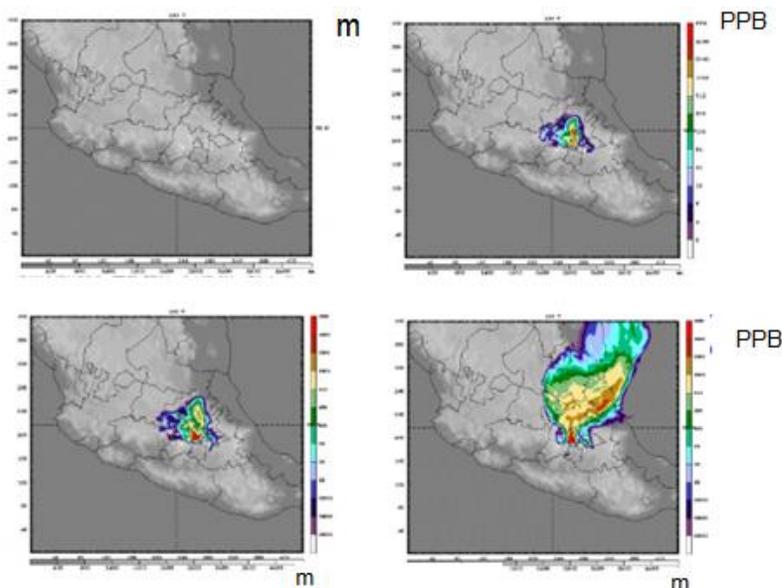


Figura 1. Dispersión de los contaminantes atmosféricos de la Zona Metropolitana del Valle de México. Proyecto MILAGRO (Earth Observing Laboratory, 2006).

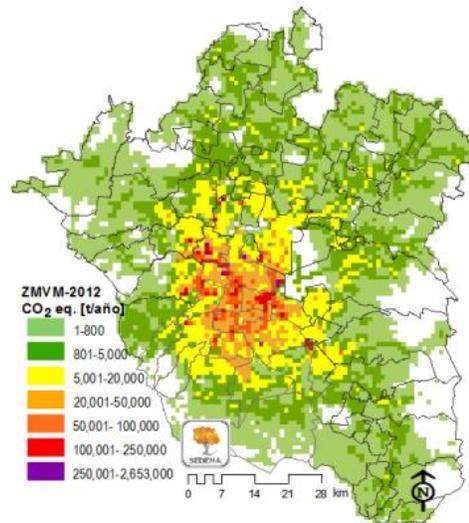


Figura 2. Distribución espacial de gases de efecto invernadero en Zona Metropolitana del Valle de México. Secretaria del medio ambiente (SEDEMA, 2012).

Como se mencionó en los párrafos anteriores el SO_2 es uno de los principales componentes de la contaminación atmosférica y se encuentra en altas cantidades. Esto tiene como consecuencia que la precipitación pueda contener altas cantidades del compuesto, dependiendo del tiempo que ha estado en la atmósfera sin que este haya sido depositado. Se han reportado valores máximos de 121 ppm de SO_2 en enero del 2017 (DMA, 2017). En ese mismo año las primeras lluvias se reportaron en marzo (18.1 mm) y el mes con mayor precipitación correspondió a julio (101.7 mm), según valores reportados por el Servicio Meteorológico Nacional (SMN, 2017).

Debido a esto, los lagos denominados como urbanos, que se encuentran dentro de la Zona Metropolitana del Valle de México sufren de una alta presión en cuanto a la precipitación de estos contaminantes. Se han reportado lluvias con pH de 5.2 en el Desierto de los Leones y de 5.3 en Zoquiapan (Pérez, 2006). La respuesta por parte de estos sistemas varía dependiendo de muchos factores, una de ellas es la capacidad intrínseca que tienen para amortiguar el cambio de pH. Aun tomando esto en cuenta se presentan variaciones en la cantidad de iones, alcalinidad, pH y color del agua (Armienta, 2008; Hongve, 2004). Estos cambios al ambiente pueden tener efectos

sobre los organismos presentes, entre ellos se encuentran las microalgas (clorofíceas) y las cianobacterias.

Las clorofíceas son organismos eucariontes que conforman el denominado fitoplancton, son fotoautótrofas por lo que realizan fotosíntesis. Representan una gran importancia en la red trófica como productores primarios y contribuyen en el balance oxigénico. Un aspecto importante para poder definir las es la presencia de clorofila-*a* y otros compuestos fotosintéticos (Gómez, 2007).

El fitoplancton es ubicuo, se puede encontrar dominando ambientes oligotróficos con baja cantidad de nutrientes ($\text{NO}_3 + \text{NO}_2 < 1 \text{ mM}$) debido a que tienen una alta capacidad para adquirirlos y eficiencia para utilizarlos en su crecimiento (Agawin, 2000). También se ha descrito que al ser estrategias *r* son capaces de adaptarse a limitaciones de fósforo y dominar sobre otras especies (Ferragut, 2010), al igual que tolerar ambientes de estrés con factores de perturbación, como las fluctuaciones del nivel del agua y turbidez (Chellapa, 2009).

En cuanto a las cianobacterias, estos son microorganismos procariontes fotoautótrofos. Tienen una gran importancia evolutiva ya que la capacidad de estos organismos para fijar el dióxido de carbono del ambiente y liberar oxígeno como subproducto, modificó la atmósfera terrestre de reductora a oxidante (Badger, 2002 y 2003), teóricamente por medio de la endosimbiosis esto dio inicio a la gran diversificación de organismos actuales productores de oxígeno (Raven, 2003) y a su vez a los que dependen de él. En la actualidad se encuentran muy relacionadas a la eutrofización y/o hiper-eutrofización, y de forma general se puede describir como un aumento excesivamente alto de nutrientes, principalmente P y N. Este fenómeno se encuentra ligado a los florecimientos masivos o “blooms” y pueden tener origen natural o antropogénico (Schindler, 2006; O’Neil, 2012).

Por otra parte, las cianobacterias producen metabolitos secundarios que son toxinas para otros organismos incluido el humano. Sin embargo no todas las especies de cianobacterias tienen la capacidad de producir cianotoxinas, hasta el momento no se puede señalar concretamente que función tienen, pero se ha reportado que factores como la luz ($45.15 \mu\text{mol fotonos/m}^2/\text{s}$), el pH (7.0) y la cantidad de nutrientes (Nitrógeno

y Fósforo 9:1 aproximadamente) son los responsables de inducir su formación (Kim, 2005; Soto-Liebe, 2012; Harke, 2013); otros estudios apuntan hacia aspectos genéticos o moleculares como los responsables (Kaebernick, 2001 y Neilam, 2008). Algunos de estos reportes presentan resultados contradictorios por la diferencia en los tipos de cultivos (Vézie, 2002). Por esto, la aparición constante de florecimientos puede representar un riesgo tanto para los organismos que cohabitan en el sistema lacustre (Sukenik, 2015), como para la salud humana y es el caso cuando surgen en reservorios y en aguas para uso recreacional (Chorus, 2000; Carmichael, 2001; Vasconcelos, 2010).

Estos compuestos pueden actuar, según su acción, como hepatotoxinas (Microcistina-LR) o neurotoxinas (Anatoxina-a) (Westrick, 2010). Son moléculas muy estables y es difícil que sean degradadas naturalmente y al entrar en el medio se da fácilmente su asimilación por parte de zooplancton y peces, lo cual trae como consecuencia la bioacumulación de estas toxinas y se torna en un tema de interés público debido a que se puede dar una transferencia por consumo hacia el humano (de Magalhães, 2001).

Entre las cianobacterias productoras de toxinas, el género *Microcystis* es uno de los más importantes y cuenta con una distribución mundial, está ampliamente relacionada con ambientes eutróficos y principalmente produce hepatotoxinas (MC-LR). El florecimiento de estos organismos es característico pues forman “natas” que cubren la superficie de los lagos evitando el paso de la luz y modificando la zona fótica, desplazando la competencia de otro tipo de fitoplancton. Los efectos de la aparición de estos organismos son: reducción de transparencia, aumento del pH, reducción de CO₂ y en algunos casos la producción de toxinas, además su dominancia puede durar incluso años (Havens, 2008).

En este estudio se identifican los efectos que tiene la precipitación ácida causada por contaminantes atmosféricos, con énfasis en el ácido sulfúrico, sobre la densidad celular de los florecimientos de clorofíceas (*Scenedesmus*) y cianobacterias (*Microcystis*) presentes en lagos urbanos de la Ciudad de México.

ANTECEDENTES

Báez (2007) realizó un estudio de la composición química al sureste de la Ciudad de México (Ciudad Universitaria) durante la época de lluvia en los años 2001 y 2002. Se encontraron altas concentraciones de Aluminio, junto con otros elementos pesados como Mn, Pb, Ni, V, Cr y Cd, así como SO_4 , NO_3 , HCO_3 , Ca_2 y NH_4 . Relacionando las trayectorias de masas de aire negro con la concentración de contaminante durante cada día lluvioso.

Oberholster (2010) investigó las respuestas del fitoplancton a una mezcla de ácidos por el drenaje de una mina y altas concentraciones de polución por nutrientes en el lago Loskop, África. El surgimiento de un “bloom” de cianobacterias se relacionó a la temporada de lluvias, pH bajo (~ 6) y altas concentraciones de nitrógeno (17 mg L^{-1}) y ortofosfato (0.7 mg L^{-1}), afectando la diversidad de fitoplancton como clorofíceas, euglenas y diatomeas.

Reichwaldt (2012) comparó estudios anteriores sobre diversos efectos que ha presentado la lluvia en poblaciones de cianobacterias en diferentes ambientes. Concluyendo que es posible predecir qué cambios en los patrones de la lluvia puede llevar a condiciones favorables para el crecimiento de cianobacterias debido a una mayor entrada de nutrientes a los cuerpos de agua, afectando a su vez la concentración de microcistinas. Pero de igual manera pueden causar la ruptura temporal de los “blooms”, debido a la des-estratificación.

Wood (2016) estudió la relación entre las comunidades de cianobacterias y la concentración de microcistinas con los cambios climáticos. Niveles moderados de nitrato fueron relacionados con alta precipitación intermitente, lo cual condujo a la dominancia de *Aphanizomenon gracile* y *Dolichospermum crassum*. Los “blooms” *Microcystis aeruginosa* fueron presentes junto con el aumento en la temperatura superficial del agua, la concentración de amonio y la proporción de nitrógeno: fósforo total fueron bajas. También se estableció una relación positiva entre la temperatura del agua y la concentración de microcistinas.

2. JUSTIFICACIÓN

No es secreto que los lagos urbanos están sometidos a una mayor presión por parte de la lluvia ácida, causada por los contaminantes atmosféricos en la Ciudad de México; sin embargo, al ser ambientes hipertróficos (concentración extremadamente alta de nutrientes), no se considera la precipitación como un aporte nutricional, sino como un factor que está actuando sobre los sistemas y por ende la población de fitoplancton. Se ha observado en varios microorganismos diversos tipos de respuestas a condiciones similares, como es la formación de agregados o cambios de color (Huang, 2002).

Se conoce poco del efecto que tiene el dióxido de azufre, sobre las poblaciones de cianobacterias y pocos estudios se han llevado a cabo con base en la respuesta que puedan tener las cianobacterias al estrés fisiológico, u otro, que esto cause.

Al ser organismos fotosintéticos, clorofíceas y cianobacterias, presentan un rol importante en la utilización del CO₂ y liberación de oxígeno, fungen como pequeños “pulmones” dentro de la ciudad. No se pretende erradicar y evitar la proliferación de estos organismos en los lagos urbanos, pero si un aspecto de origen antropogénico, como lo es la contaminación atmosférica, que está influyendo en la síntesis de cianotoxinas, se pueden promover alternativas de manejo y control llevando a cabo investigaciones de la relación que existe entre estos dos aspectos.

3. HIPÓTESIS

La precipitación ácida es un fenómeno constante en áreas urbanas y los florecimientos de crolofíceas y de cianobacterias son permanentes, estos organismos son beneficiados por la acidificación. Por lo que la adición de ácido sulfúrico y en combinación con ácido nítrico, favorecerá la densidad celular de *Scenedesmus* sp. y *Microcystis panniformis*, y a su vez aumentará la síntesis de microcistina en este último.

4. OBJETIVOS

4.1 GENERAL

- Evaluar el efecto del ácido sulfúrico como componente de la lluvia acida sobre el crecimiento de *Scenedesmus* sp. y *Microcystis panniformis* colectados del lago Chapultepec y Tezozómoc en dos épocas del año en la Ciudad de México.

4.2 PARTICULARES

- Cuantificar la abundancia de *Scenedesmus* sp. y *Microcystis panniformis* cultivada en presencia de ácido sulfúrico y de una mezcla con ácido nítrico
- Cuantificar la microcistina intracelular sintetizada por *Microcystis panniformis* creciendo en presencia de ácido sulfúrico y de una mezcla con ácido nítrico
- Cuantificar la concentración de clorofila-a de *Scenedesmus* sp. y *Microcystis panniformis* cultivada en presencia de ácido sulfúrico y de una mezcla con ácido nítrico

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Descripción del área de colecta

El lago de Tezozómoc se encuentra dentro del parque con el mismo nombre y está ubicado en la Delegación Azcapotzalco, colonia Prados del Rosario, en la zona Noroeste de la Ciudad de México, con las coordenadas: 19° 29' 57" N y 99° 12' 34" O, a una altura de 2250 msnm. Es un lago artificial construido en 1982 con influencias de los cuerpos de agua del antiguo Valle de México y en representación del ahora extinto, lago de Texcoco. El fondo está constituido por concreto proveniente del excavado en la construcción de la línea 6 del metro.

En Chapultepec hay tres lagos artificiales, el Lago Viejo, el Lago Mayor y el Lago Menor, el primero se construyó hace más de 700 años y los dos últimos de 1962 a 1964. Se ubican en la Delegación Miguel Hidalgo, Ciudad de México, zona centro-oeste a 2,240 msnm.

El Lago Mayor se sitúa a los 19°25'18'' N y 99°11'09'' O. Se presentan lluvias en verano y tiene un clima templado (García, 1988). Los lagos son alimentados con aguas provenientes de la planta de tratamiento de aguas residuales de Chapultepec.

5.2 Obtención de los organismos

Se seleccionó un sitio de colecta para ambos lagos (Figuras 3 y 4). Se realizaron dos muestreos, el primero en abril del 2017 y el segundo en junio del mismo año (temporada de secas y de lluvias, Figuras 5 y 6). Para la toma de las muestras se filtraron 20 L, evitando tomar colonias grandes (grumos), de la superficie con una malla para fitoplancton con apertura de poro de 20 µm. El filtrado fue depositado en envases de plástico con capacidad de 750 mL, el pH se midió *in situ* con un potenciómetro digital HANNA® HI 9126. 15 mL del filtrado fueron fijados con Lugol al 10% y el resto fue conservado en congelación a -4°C.



Figura 3.- Sitio de muestreo en el Lago Tezozómoc Azcapotzalco, Ciudad de México. Fuente: Google maps (2017)



Figura 4.- Sitio de muestreo en el Lago de Chapultepec, Ciudad de México. Fuente: Google maps (2017)

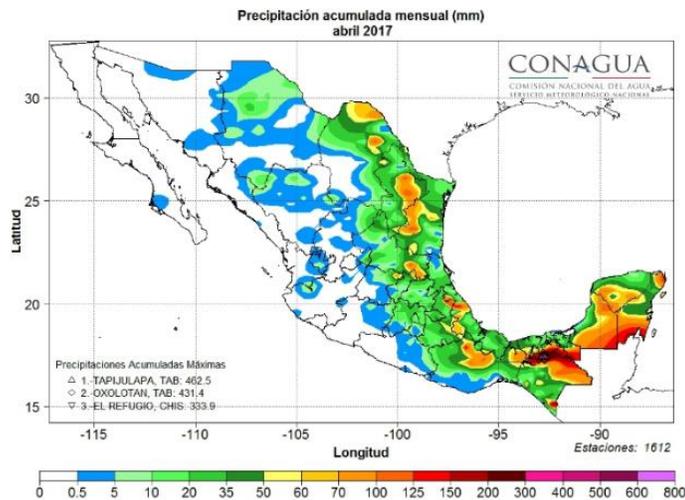


Figura 5. Niveles de precipitación acumulada (mm) en el mes de abril. Imagen tomada del Servicio Meteorológico Nacional (2017).

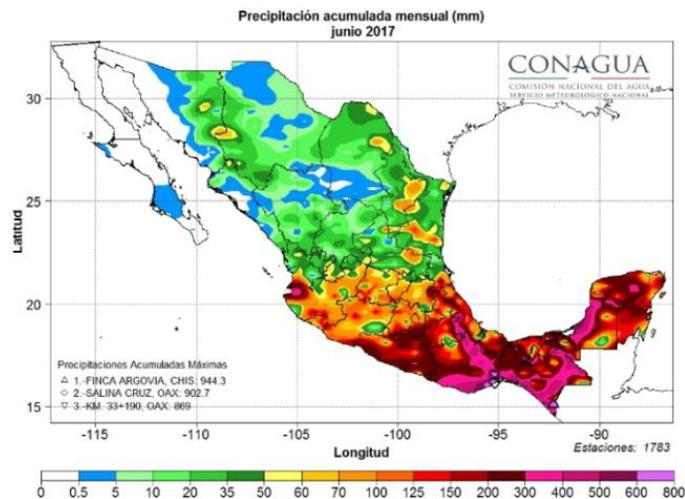


Figura 6. Niveles de precipitación acumulada mensual (mm) en junio 2017. Imagen tomada del Servicio Meteorológico Nacional (2017).

Para la realización de este trabajo se utilizaron dos organismos: uno de la especie *Scenedesmus* sp. (Cloroficeae), proveniente del Lago de Chapultepec en la Delegación Miguel Hidalgo, Ciudad de México, obtenida en abril del 2017, y el segundo de la especie *Microcystis* cf. *paniformis* (Cianobacteria), proveniente del Lago de Tezozómoc en la Delegación Azcapotzalco, Ciudad de México, obtenida en marzo del 2017, se seleccionaron ambas especies tomando en cuenta su dominancia. Ambas cepas se mantuvieron en cultivo en el Laboratorio de Bacteriología de la FES Iztacala UNAM. Una segunda colecta se realizó en junio del mismo año. La muestra

seleccionada para realizar el cultivo en fase experimental fue la colectada en el mes de abril (secas) de ambos lagos, mientras que la segunda muestra colectada en junio (lluvias) solo se utilizó para realizar conteo celular y cuantificación de microcistina, se llevó a cabo de esta manera para tener una comparación entre temporadas y corroborar los datos obtenidos de la experimentación.

Las cianobacterias (*Microcystis panniformis*) se mantuvieron en medio Z8 (Staub, 196; Kotai, 1972; NIVA, 1976), el cual es una solución de agua destilada y sales disueltas como medio de cultivo. Las cianobacterias fueron resuspendidas (Rippka, 1988) en medio nuevo cada 7 días. La microalga (*Scenedesmus* sp.) se mantuvo en Bold Basal (Bischoff, 1963), el medio se cambió cada 5 días.

5.3 Estandarización del diseño y la unidad experimental

Se optó por utilizar la forma precipitada del contaminante debido a los obstáculos presentados (véase anexo). Para observar las fluctuaciones del pH en contacto con el ácido sulfúrico y de forma agregada ($H_2SO_4+HNO_3$) se realizaron pruebas previas a la experimentación, las cuales consistían en agregar 1 μ L de ácido en un volumen conocido de agua y la medición del pH. Se encontró que bastaban 4.5 μ L de ácido sulfúrico para alcanzar un pH de 5.2 el cual se encontraba en el punto de saturación, pues ya no disminuía con la adición de más ácido. Las concentraciones de H_2SO_4 (2 μ L y 1 μ L) fueron seleccionadas debido a que esta cantidad de ácido resultaba en un pH de 6.5 y 7.1, respectivamente, lo que a su vez coincide con el promedio mensual de los valores máximos de SO_2 en la Delegación Miguel Hidalgo, reportados por la Dirección del Monitoreo Atmosférico durante el año 2017.

La unidad experimental fue seleccionada con base en la que previamente se elaboró, la prueba consistía en lo siguiente: colocar muestra de Tezozómoc adicionada con Z8 en 4 recipientes (viales de 20 mL y 10 mL, vaso de vidrio de 30 mL y un envase de plástico de 30 mL), los cuales fueron colocados bajo lámparas fluorescentes y se observó el comportamiento que presentaban monitoreando cada 24 horas. A los tres días se observó un cambio de color en las células, pasando de un color verde a uno naranja-amarillo al igual que evaporación del medio en el envase de plástico y en el

vaso de vidrio, en comparación en los dos viales no se observaron diferencias por lo que se decidió utilizar el de 10 mL debido a que se manejan volúmenes más pequeños sin dejar de ser apto para llevar a cabo los objetivos del trabajo. A su vez se observó que las clorofíceas no presentaban diferencias al ser cultivadas con Z8 o Bold Basal, por lo que se decidió utilizar el medio para cianobacterias en ambos casos.

5.4 Fase experimental

Una vez que se estableció de manera concreta el diseño experimental se prepararon 500 mL de medio Z8, a los que se les adicionó 0.4 g de NaHCO_3 (bicarbonato de sodio) como fuente de carbono. Posteriormente se realizaron 4 tratamientos adicionando ácido sulfúrico y nítrico al Z8 más dos controles:

- a) 2 μL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) = [0.39 mM]
- b) 1 μL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) = [0.195 mM]
- c) 1 μL de la combinación de ácido sulfúrico y nítrico ($\text{H}_2\text{SO}_4+\text{HNO}_3$) = [0.195 mM/0.2 mM]
- d) 0.5 μL de los ácidos combinados ($\text{H}_2\text{SO}_4+\text{HNO}_3$) = [0.097 mM/0.1 mM]
- e) Control A = muestra inicial sin Z8 ni bicarbonato
- f) Control B = Z8 sin bicarbonato

Los dos primeros representando el ácido sulfúrico en su forma aislada y los dos últimos simulan la forma agregada, se realizaron cinco repeticiones para cada tratamiento.

A continuación se presenta el contenido concreto del medio Z8:

1. Solución stock I

NaNO_3	46.7 g
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	5.9 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	2.5 g

Disolver químicos (por separado) y aforar en 1 litro de agua destilada.

2. Solución stock II

K_2HPO_4	3.1 g
Na_2CO_3	2.1 g

Disolver químicos (por separado) y aforar en 1 litro de agua destilada.

3. Solucion stock III

Solución-Fe: 2.80 f $FeCl \cdot 6H_2O$ disuelto en 100 mL 0.1 N HCl

Solución-EDTA: 3.90 g EDTA- Na_2 disuelto en 100 mL 0.1 N NaOH

10 mL de la solución-Fe son disueltos en c. 900 mL de agua destilada.

Agrega 9.5 mL de la solución-EDTA, aforar a un litro.

4. Stock solution IV

1. $Na_2WO_4 \cdot 2H_2O$	0.330 g/100 mL
2. $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$	0.880 g/100 mL
3. KBr	1.20 g/100 mL
4. KJ	4. 0.83 g/100 mL
5. $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	2.87 g/100 mL
6. $Cd(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$	1.55 g/100 mL
7. $Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$	1.46 g/100 mL
8. $CuSO_4 \cdot 5H_2O$	1.25 g/100 mL
9. $NiSO_4(NH_4)_2SO_4 \cdot 6H_2O$	1.98 g/100 mL
10. $Cr(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$	0.410 g/100 mL
11. V_2O_5	0.0890 g/1000 mL
12. $KAl(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$	4.74 g/100 mL
13. H_3BO_3	3.10 g
$MnSO_4 \cdot H_2O$	1.60 g /1000 mL

Agregar 1 mL de las soluciones 1-10 y 12, y 10 mL de las soluciones 11 y 100 mL de la solución 13 a c. 700 mL de agua destilada. Aforar a 1 litro con agua destilada.

5. Preparación final:

Agregar:

10 mL solución I

10 mL solución II

10 mL solución II

1 mL solución IV

Aforar a 1 litro con agua destilada. Autoclave.

El medio debe tener un pH de 6-7.

5.5 Solución stock

Para obtener la concentración, los tratamientos con los ácidos fueron diluidos en medio Z8. Para el tratamiento [0.39 mM H₂SO₄] se tomaron 2 µL de ácido sulfúrico y fueron diluidos en 50 mL de medio Z8 (solución madre), de esta solución se tomaron 20 mL (4 mL por vial por repetición), de los restantes 30 mL se extrajeron 5 mL, que fueron almacenados, y se aforó a 50 mL nuevamente con medio Z8 para obtener la concentración [0.195 H₂SO₄]. Esto se realizó de la misma manera con los tratamientos de los ácidos combinados, con la diferencia de que se usó 1 µL de ambos ácidos (H₂SO₄ y HNO₃) en la solución madre. El procedimiento fue pensado para un solo lago, por lo que se llevó a cabo un duplicado. Los valores de pH resultantes al agregar las concentraciones de ácido se presentan en las siguientes tablas.

Tabla 1.- Valores de pH obtenidos en la unidad experimental al agregar los tratamientos correspondientes.

pH inicial Chapultepec	Tratamiento	pH resultante
7.84	[0.39 H ₂ SO ₄]	7.04
7.84	[1/19 H ₂ SO ₄]	7.20
7.84	[0.19/0.2 H ₂ SO ₄ +HNO ₃]	7.26
7.84	[0.09/0.1 H ₂ SO ₄ +HNO ₃]	7.25

pH inicial Tezozómoc	Tratamiento	pH resultante
8.94	[0.39 H ₂ SO ₄]	6.86
8.94	[0.19 H ₂ SO ₄]	7.01
8.94	[0.19/0.2 H ₂ SO ₄ +HNO ₃]	7.00
8.94	[0.09/0.1 H ₂ SO ₄ +HNO ₃]	7.30

Una vez obtenidas las concentraciones por tratamiento se les agregó a los viales 4 mL con la densidad algal, con excepción del Control A, el cual contuvo 8 mL de la colecta, 0.8×10^5 en el caso de *Scenedesmus* y de 40×10^5 en el caso de *Microcystis panniformis*. Las células fueron incubadas bajo lámparas fluorescentes con energía lumínica de $26.92 \mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$, cuantificado mediante un medidor cuántico apogee modelo MQ-200, en condiciones de laboratorio. El tiempo experimental duró ocho días, se detuvo debido a los primeros indicios de muerte celular. Posterior a este plazo de tiempo se procedió a realizar el conteo celular, la cuantificación de clorofila-a y de microcistina extracelular.

5.6 Conteo celular

Debido a que un conteo preliminar (40.8×10^5 células/mL aproximadamente) de la muestra de Tezozómoc (*Microcystis panniformis*) resultó muy difícil y tardado, fue necesario llevar a cabo un tratamiento de preparación, el cual se resume a continuación:

1. Se filtró la muestra con una malla para zooplancton para obtener colonias menores a 50 μm .
2. Se observó al microscopio y se determinó que las colonias eran más pequeñas, pero aun contaban con demasiadas células.
3. Se sónico la muestra 1 minuto y se observó una ligera separación de las células.
4. Se continuó sonicando minuto a minuto, en el minuto 15 se obtuvo el mejor resultado (colonias muy separadas).
5. Por último, se realizó una dilución 1/10 y se llevó a cabo el conteo celular en una cámara de Neubauer. La densidad observada no era mayor a 100 células y el valor obtenido tuvo un margen de error del 10% con relación al conteo preliminar.

Para el conteo de la densidad celular se seleccionaron viales aleatoriamente de cada tratamiento y se fijaron con Lugol al 10%, lo mismo se realizó para las muestras colectadas en temporada de lluvia y secas. El conteo se llevó a cabo empleando un microscopio Nikon modelo ECLIPSE E600 y una cámara de Neubauer HAUSSER SCIENTIFIC (improved neubauer brightline) con profundidad de 0.100mm siguiendo las instrucciones del fabricante. La sonicación se realizó con el sistema ULTRASONIC LC 30 H.

Este mismo conteo fue colocado en los resultados con el nombre de "Inicial", el cual es la muestra colectada de ambos lagos el mismo día que se realizó la fase experimental.

5.7 Microcistinas

Para la extracción de microcistinas se realizó el siguiente procedimiento: Los 8 mL de los viales fueron congelados durante 24 horas a -20°C , posteriormente se dejaron a temperatura ambiente hasta que volvieran al estado líquido para sonicarlas durante 60 minutos utilizando el sistema ULTRASONIC LC 30 H, con energía de sonicación de 35 kHz. Este procedimiento se llevó a cabo 3 veces, con el objetivo de extraer la microcistina de las células. Posteriormente se centrifugó la muestra utilizando una centrífuga refrigerada SORVALL® RC-5B con temperatura de -5°C a 15,000 rpm durante 15 minutos. La cuantificación de microcistina con base en la prueba de ELISA fue realizada utilizando el Kit QuantiPlate™ Kit for Microcytins ENVIROLOGIX™. Cabe destacar que el kit utilizado para la cuantificación de microcistinas no puede diferenciar las variaciones de las mismas por lo que los resultados obtenidos deberán ser tomados como equivalentes de Microcistina-LR

5.8 Clorofila-a

Se seleccionó de manera aleatoria los viales para la cuantificación de clorofila, el procedimiento fue con base al protocolo de extracción B (ISO 1020:1992), para lo cual fueron filtrados individualmente, los 8 mL contenidos en cada vial, en un Kit Millipore y una membrana de fibra de vidrio con poro de $0.45\ \mu\text{m}$. Una vez filtrado, la membrana fue colocada en 15 mL de acetona al 90% y conservada en refrigeración a 4°C durante 24 horas. Posteriormente se centrifugó a 15,000 rpm, para obtener un sobrenadante claro, la concentración de clorofila-a fueron estimadas por medio de un fluorómetro Turner Designs Intrument Modelo # 7200-000.

Al término de la fase experimental los resultados fueron analizados por el método de análisis de varianza (ANOVA, por sus siglas en inglés) para determinar diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0.01$), posteriormente en los casos necesarios, se realizó una comparación de medias por el estadístico de Holm-Sidak (SigmaPlot 11.0).

6. RESULTADOS

Los resultados son descritos empezando con el valor inicial que corresponde a la muestra obtenida de la primera colecta (abril) seguido de diferencias significativas entre controles y tratamientos, posteriormente se presentan los valores máximos, mínimos y/o similares en relación con el control B.

6.1 Conteo celular

Los valores obtenidos de la densidad celular de *Scenedesmus* sp. (Chapultepec) se presentan en la figura 7. El valor inicial es de 0.8×10^5 células/mL y el del control B es de 1.47×10^5 células/mL. No existen diferencias entre controles, los tratamientos [0.19 H₂SO₄], [0.39 H₂SO₄] y [0.09/0.1 H₂SO₄+HNO₃] son significativamente diferentes al control B (P = 0.001), la concentración media del ácido sulfúrico presentó un aumento de un poco menos de tres veces el valor del control B.

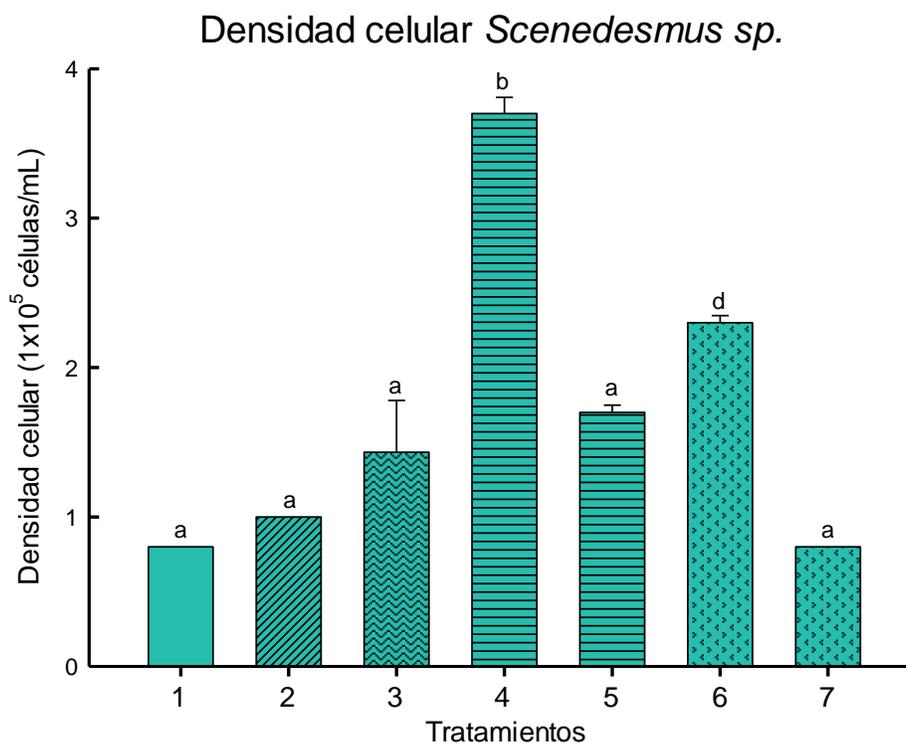


Figura 7. (1= Inicial, 2= Control A, 3= Control B, 4= [0.19] H₂SO₄, 5= [0.39] H₂SO₄, 6= [0.09/0.1] H₂SO₄+HNO₃, 7= [0.19/0.2] H₂SO₄+HNO₃) Resultados del conteo celular de *Scenedesmus* sp. del lago de Chapultepec correspondiente al mes de abril. Los valores se muestran con promedio y desviación estándar (\pm) basado en cuatro réplicas. Las barras con diferentes letras del alfabeto representan una diferencia significativa de P < 0.01 (prueba de Holm-Sidak).

En el caso de *Microcystis panniformis* (Tezozómoc) la densidad inicial arrojó un valor de aproximadamente 40×10^5 células/mL, como se observa en la figura 8. Todos los resultados son significativamente diferentes ($P = 0.001$). Los tratamientos $[0.19 \text{ H}_2\text{SO}_4]$ y $[0.19/0.2 \text{ H}_2\text{SO}_4+\text{HNO}_3]$ aumentaron 47% y 56% respectivamente, en relación con el control B. El valor mínimo se registró en el tratamiento $[0.09/0.1 \text{ H}_2\text{SO}_4+\text{HNO}_3]$ y es dos veces menor al control B, el tratamiento $[0.39 \text{ H}_2\text{SO}_4]$ disminuyó 3%, el resultado más cercano al control A.

Densidad celular *Microcystis panniformis*

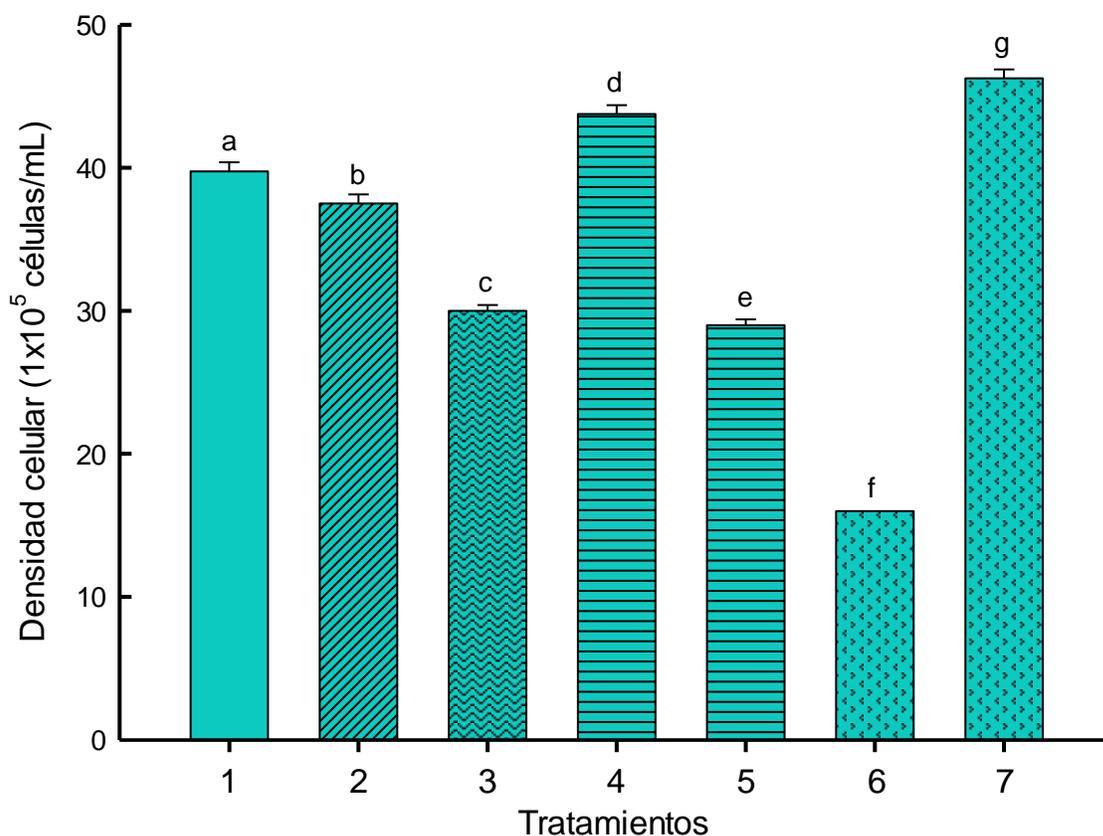


Figura 8. (1= Inicial, 2= Control A, 3= Control B, 4= $[0.19] \text{ H}_2\text{SO}_4$, 5= $[0.39] \text{ H}_2\text{SO}_4$, 6= $[0.09/0.1] \text{ H}_2\text{SO}_4+\text{HNO}_3$, 7= $[0.19/0.2] \text{ H}_2\text{SO}_4+\text{HNO}_3$) Resultados del conteo celular de *Microcystis panniformis* del lago de Tezozómoc presentes en el mes de abril. Los valores se muestran con promedio y desviación estándar (\pm) basado en cuatro réplicas. Las barras con diferentes letras del alfabeto representan una diferencia significativa de $P < 0.01$ (prueba de Holm-Sidak).

La figura 9 representa los valores del conteo celular de Tezozómoc y Chapultepec expuestos en porcentajes en relación con la muestra inicial. En la gráfica se observa una relación inversamente proporcional, *Microcystis* disminuye 10% y 40% en los tratamientos [0.39 H₂SO₄] y [0.09/0.1 H₂SO₄+HNO₃] respectivamente, mientras que *Scenedesmus* aumenta hasta un 400% y 280% en los tratamientos [0.19 H₂SO₄] y [0.09/0.1 H₂SO₄+HNO₃].

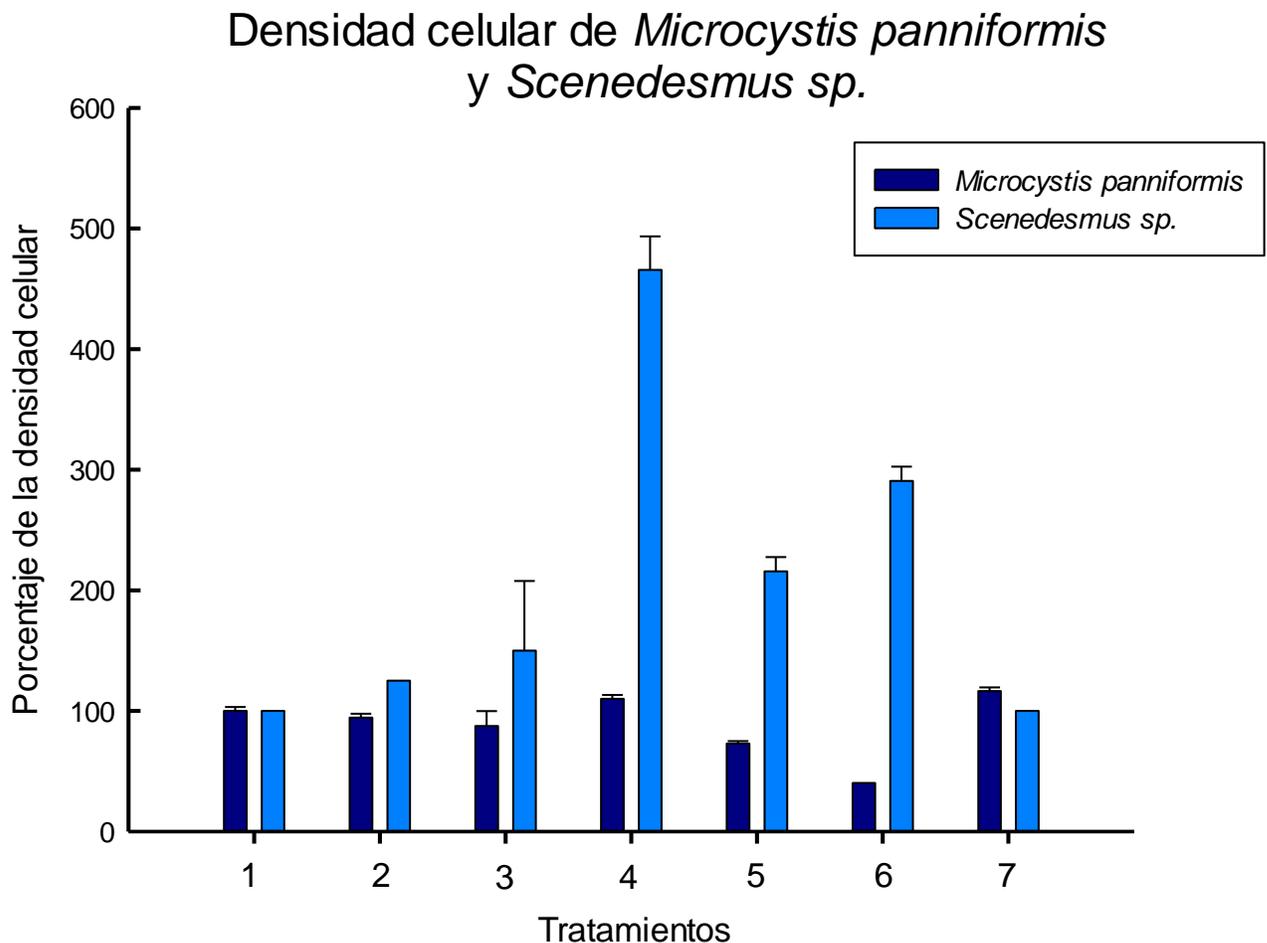


Figura 9. (1= Inicial, 2= Control A, 3= Control B, 4= [0.19] H₂SO₄, 5= [0.39] H₂SO₄, 6= [0.09/0.1] H₂SO₄+HNO₃, 7= [0.19/0.2] H₂SO₄+HNO₃) Comparación entre las gráficas 7 y 8 de los valores de densidad celular de *Scenedesmus* sp. y *Microcystis panniformis* de la muestra colectada en el mes de abril (lluvias) de los lagos Chapultepec y Tezozómoc, respectivamente, expresados en porcentaje.

En las figuras 10 y 11 se comparan los resultados obtenidos de la densidad celular de *Scenedesmus* sp. y *Microcystis panniformis* en secas y lluvias (abril y junio). En la temporada de secas se obtuvo un valor de 6×10^5 células/mL de *M. panniformis* mientras que en la temporada de lluvias el valor aumento al doble. En cuanto a *Scenedesmus* el valor se mantuvo en 0.8×10^5 células/mL en ambas temporadas, cabe destacar que en lluvias se observó presencia de *M. panniformis* en el lago de Chapultepec y se registró una densidad de 1.1×10^5 células/mL.

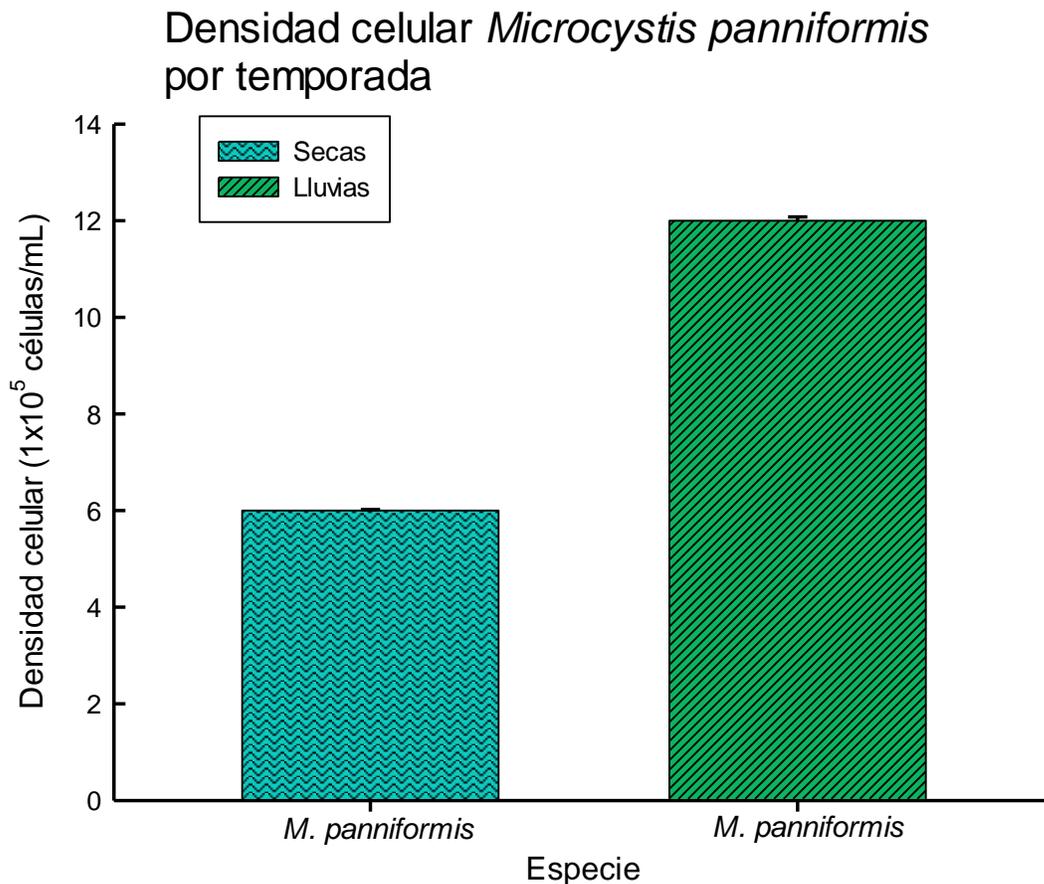


Figura 10. Densidad celular de *Microcystis panniformis* en Tezozómoc por temporada (secas y lluvias) exponencial 1×10^5 células/mL.

Densidad celular de *M. panniformis* y *Scenedesmus sp.* en Chapultepec por temporada

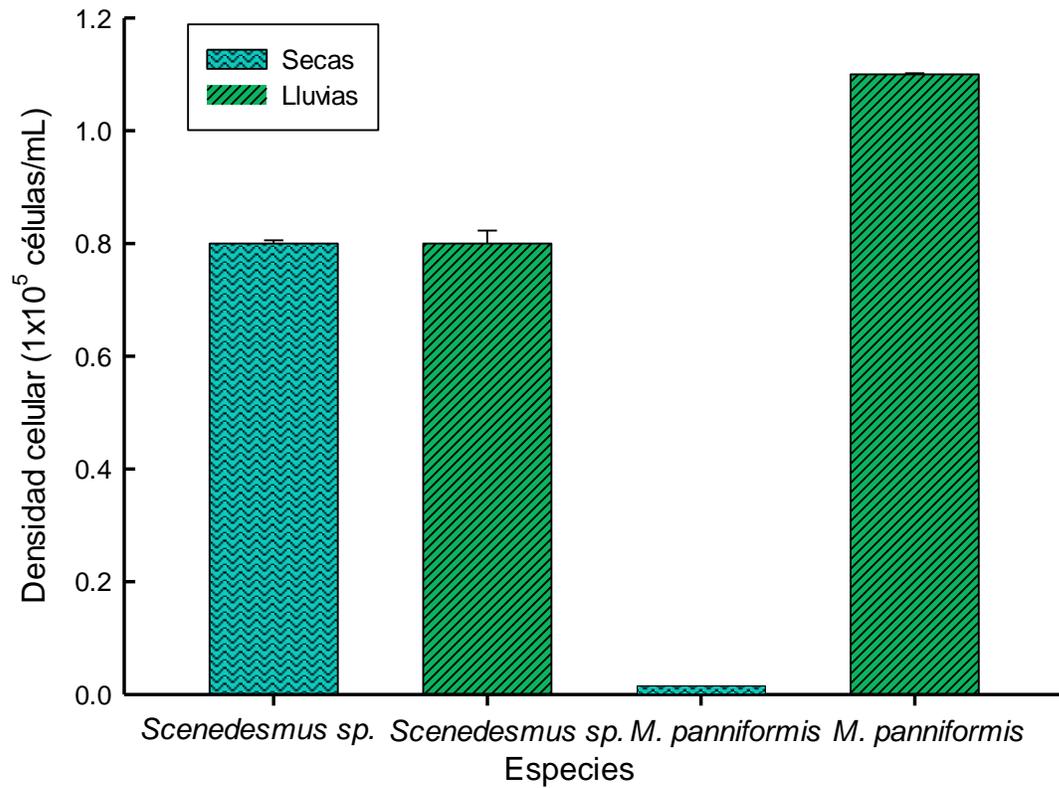


Figura 11. Densidad celular de *Scenedesmus sp.* y *Microcystis panniformis* de las muestras colectadas en ambas temporadas de Chapultepec.

6.2 Microcistina

En la tabla 2 se muestran los valores registrados de equivalentes de Microcistina-LR de la muestra colectada en Chapultepec, incluyendo las muestras colectadas en dos temporadas del año (secas y lluvias). En los tratamientos los valores son 0 debido a que solo había presencia de *Scenedesmus*, al igual que en la muestra de la temporada de secas; sin embargo, en lluvias el valor registrado fue de 2.79 ± 0.06 $\mu\text{g/L}$ de equ. de MC/LR, debido a la aparición de *Microcystis panniformis*.

Tabla 2. Registro de la cuantificación de microcistina en tratamientos, incluyendo las muestras colectadas de Chapultepec en abril y junio (secas y lluvias).

Tratamientos	Concentración de microcistina ($\mu\text{g/L}$)	Desviación estándar (\pm)
Inicial	0	0
Control 2	0	0
[0.19] H_2SO_4	0	0
[0.39] H_2SO_4	0	0
[0.09/0.1] $\text{H}_2\text{SO}_4+\text{HNO}_3$	0	0
[0.19/0.2] $\text{H}_2\text{SO}_4+\text{HNO}_3$	0	0
Secas	0	0
Lluvias	2.79	0.06

En la tabla 3 se muestran los datos registrados de microcistina de *M. panniformis* colectada en Tezozómoc, incluyendo las muestras de abril y junio. La concentración inicial se reporta en 2.06 ± 0.07 $\mu\text{g/L}$ y el control B aumento aproximadamente 30%. El valor máximo se presentó en el tratamiento [0.19] H_2SO_4 , aumento 3% en relación con el control A y el valor mínimo disminuyo 36% con el tratamiento [0.19/0.2] $\text{H}_2\text{SO}_4+\text{HNO}_3$. Por otra parte, se observa un aumento del 115% en el valor de microcistina de lluvias en comparación al valor de secas.

Tabla 3. Registro de la cuantificación de microcistina intracelular de *Microcystis panniformis* incluyendo las muestras colectadas de Tezozómoc en abril y junio (secas y lluvias).

Tratamientos	Concentración de microcistina ($\mu\text{g/L}$)	Desviación estándar (\pm)
Inicial	2.06	0.07
Control 2	2.66	0.03
[0.19] H_2SO_4	2.75	0.02
[0.39] H_2SO_4	2.45	0.06
[0.09/0.1] $\text{H}_2\text{SO}_4+\text{HNO}_3$	2.33	0.09
[0.19/0.2] $\text{H}_2\text{SO}_4+\text{HNO}_3$	0.97	0.03
Secas	2.29	0.06
Lluvias	4.94	0.03

6.3 Correlación entre número de células y microcistina

La figura 12 muestra la concentración de microcistina en relación con el número de células de acuerdo al tratamiento correspondiente de la muestra colectada en Tezozómoc. En la muestra inicial, el control B y el tratamiento [0.19 H₂SO₄] se observa una relación positiva de la densidad celular con respecto a la concentración de microcistina, en los tratamientos [0.39 H₂SO₄] y [0.09/0.1 H₂SO₄+HNO₃] la relación densidad celular-microcistina es inversamente proporcional, se tiene un menor número de células y un valor alto de microcistinas, por último, en el tratamiento [0.09/0.1 H₂SO₄+HNO₃] se observa muy poca concentración de microcistina pero una elevada densidad celular.

Las figuras 13 y 14 muestran la correlación de microcistina y el número de células por temporada en Tezozómoc y Chapultepec. Se observa una relación positiva entre el número de células y la concentración de microcistina, aumentando en temporadas de lluvias en Tezozómoc, en el caso de Chapultepec se dividen dos barras para la temporada de lluvias debido a la presencia de dos especies dominantes *Scenedesmus* sp. y *Microcystis panniformis*, no se registran valores de microcistis en secas ni de *Scenedesmus* sp. en lluvias y el número de células se mantiene igual, en cambio el valor de microcistinas aumenta en correlación al aumento del número de células de *Microcystis panniformis* en Chapultepec.

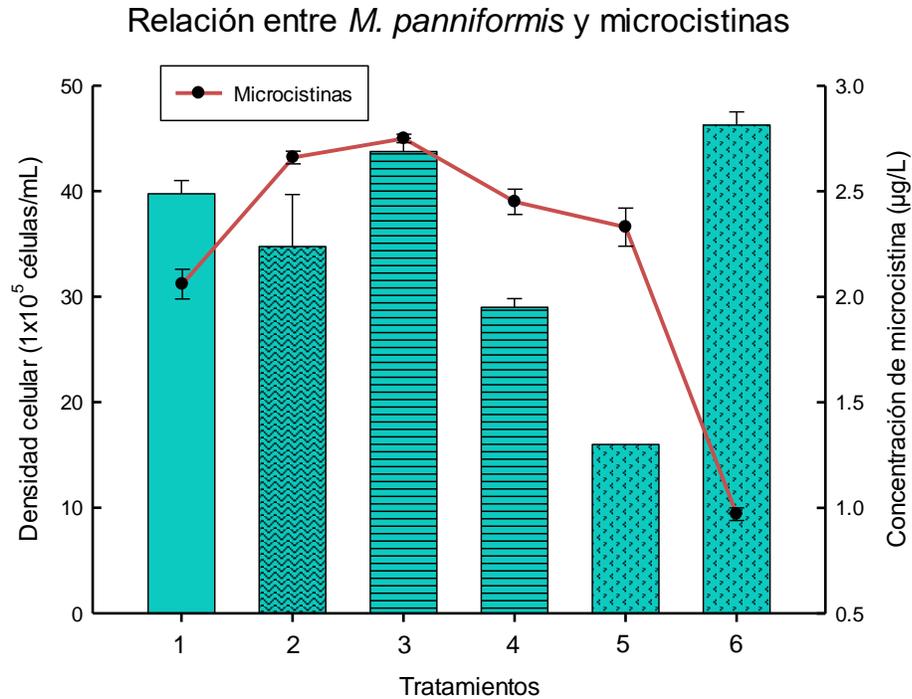


Figura 12. (1= Inicial, 2= Control B, 3= [0.19] H₂SO₄, 4= [0.39] H₂SO₄, 5= [0.09/0.1] H₂SO₄+HNO₃, 6= [0.19/0.2] H₂SO₄+HNO₃) Relación entre la densidad celular de *Microcystis panniformis* y la concentración de microcistina en los tratamientos de ácido sulfúrico y nítrico.

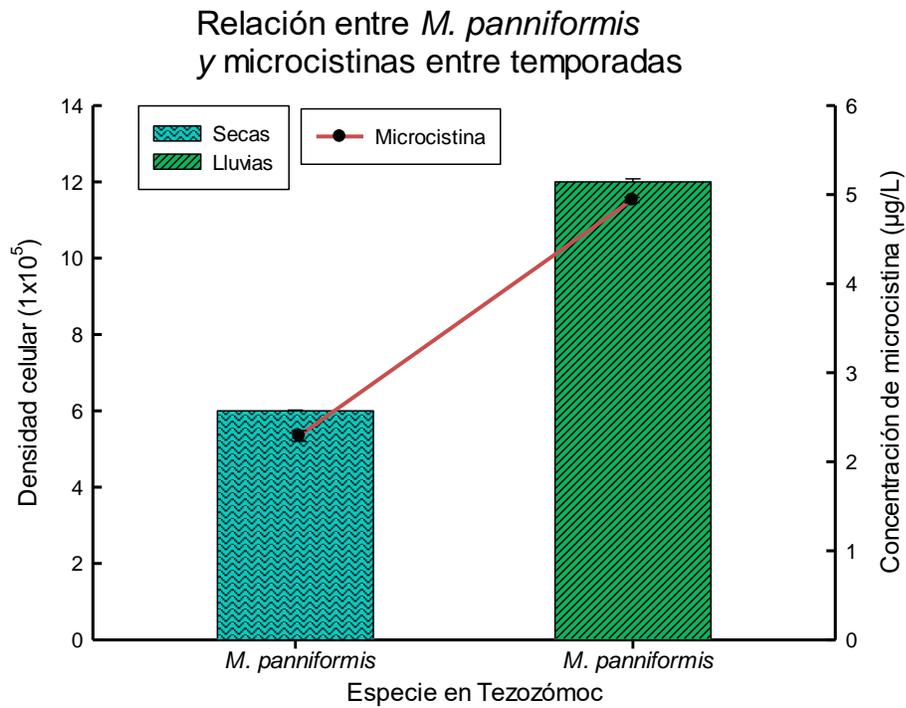


Figura 13. Correlación entre concentración de microcistina y densidad celular de *M. panniformis* de Tezozómoc por temporadas.

Relación de microcistinas y densidad celular

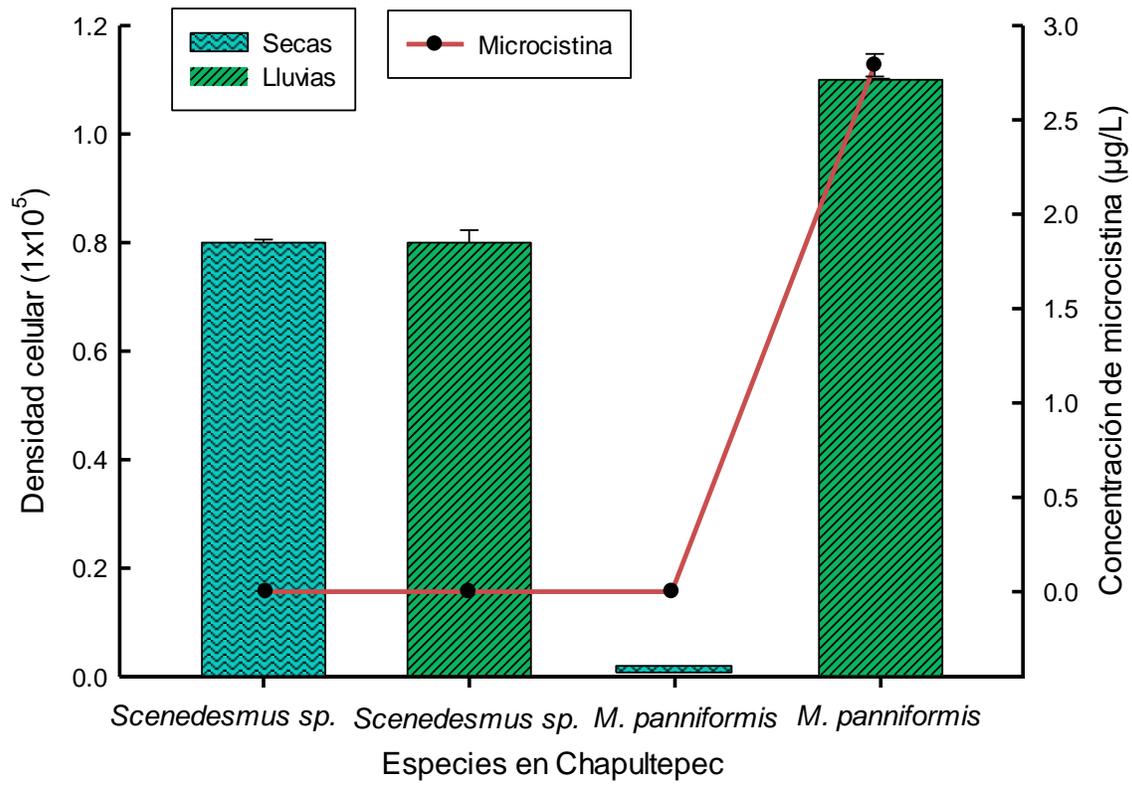


Figura 14. Relación entre la concentración de microcistina y densidad celular en dos especies presentes en dos temporadas en Chapultepec.

6.4 Clorofila-a

En lo que respecta a la cuantificación de clorofila-a solo se presentan valores para los tratamientos, omitiendo la muestra inicial. El valor obtenido en el Control A es de 54.72 $\mu\text{g/mL}$, posteriormente en el control B hay una disminución del 57% y a partir de este se observa una tendencia positiva hacia el aumento en la cantidad de clorofila, como se puede observar en la figura 15. No obstante, no existen diferencias significativas entre ningún tratamiento por lo que no se puede inferir que las concentraciones de ácido induzcan una mayor cantidad de clorofila en las células.

Los resultados de clorofila-a de *Microcystis panniformis* de Tezozómoc se pueden observar en la figura 16, en esta se reporta un valor correspondiente al Control A de 58.87 $\mu\text{g/mL}$, de manera inversa a lo observado en la gráfica anterior, en primera instancia se observa un ligero incremento para después decaer con respecto a la cantidad de ácido. Hay que remarcar que el único valor significativo a su vez es el mínimo correspondiente al tratamiento $[0.39 \text{ H}_2\text{SO}_4]$.

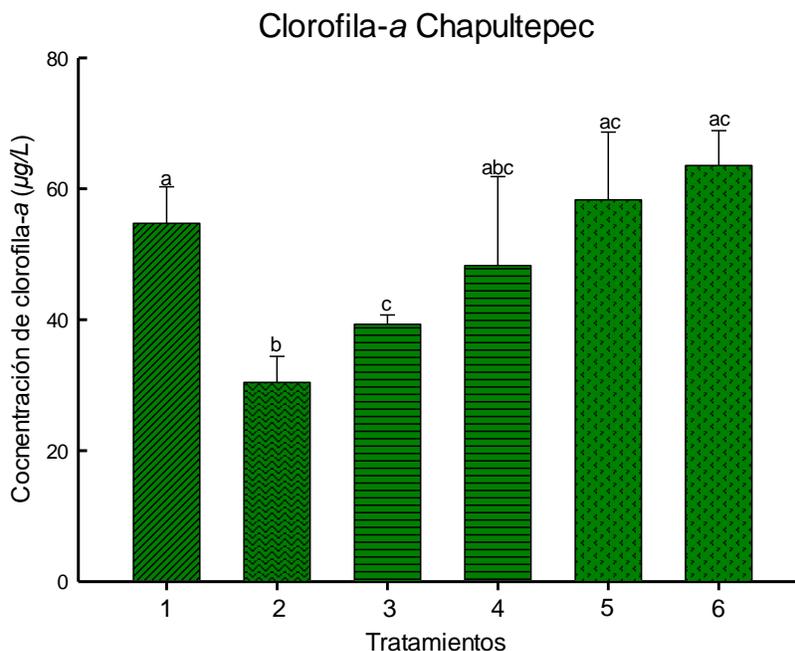


Figura 15. (1= Inicial, 2= Control 2, 3= $[0.19] \text{ H}_2\text{SO}_4$, 4= $[0.39] \text{ H}_2\text{SO}_4$, 5= $[0.09/0.1] \text{ H}_2\text{SO}_4+\text{HNO}_3$, 6= $[0.19/0.2] \text{ H}_2\text{SO}_4+\text{HNO}_3$) Resultados de la cuantificación de clorofila-a celular de *Scenedesmus* sp. Los valores se muestran con media y desviación estándar (\pm) basado en tres réplicas. Las barras con diferentes letras del alfabeto representan una diferencia significativa de $P < 0.01$ (prueba de Holm-Sidak).

Clorofila-a Tezozomoc

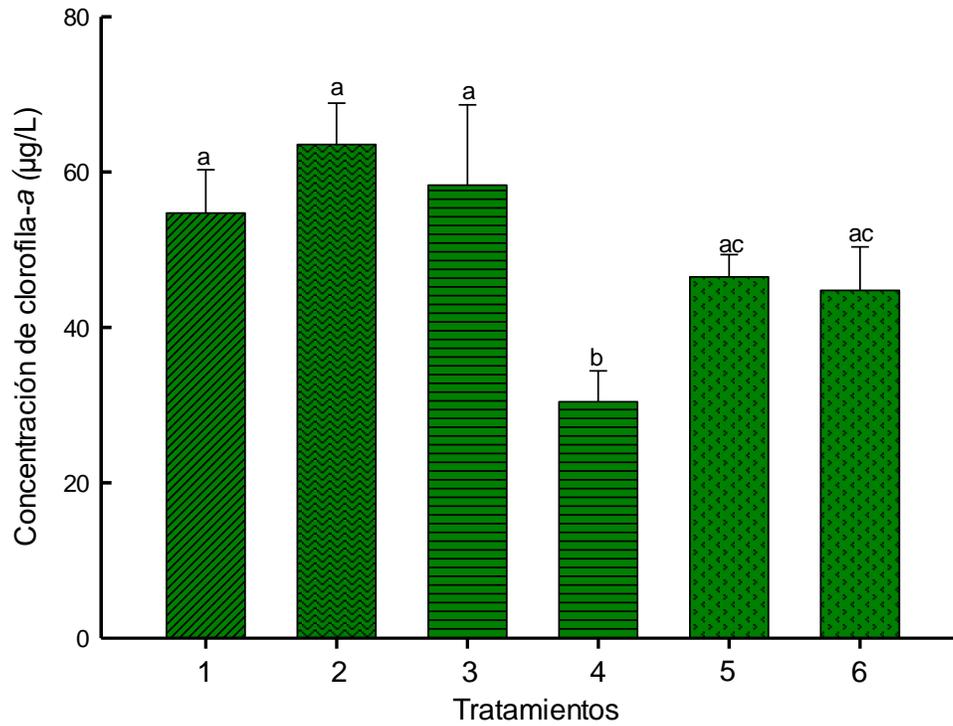


Figura 16. (1= Inicial, 2= Control B, 3= [0.19] H₂SO₄, 4= [0.39] H₂SO₄, 5= [0.09/0.1] H₂SO₄+HNO₃, 6= [0.19/0.2] H₂SO₄+HNO₃) Resultados de la cuantificación de clorofila-a celular de *Microcystis panniformis*. Los valores se muestran con media y desviación estándar (±) basado en tres réplicas. Las barras con diferentes letras del alfabeto representan una diferencia significativa de P < 0.01 (prueba de Holm-Sidak).

6.5 Análisis de varianza de una vía

De los resultados del análisis de varianza se observa que los valores de densidad celular *Microcystis panniformis* y de *Scenedesmus* sp., al igual que la clorofila-*a* de *Scenedesmus* sp. entran en el intervalo de confianza ($p = 0.001$), lo cual significa que existe diferencia significativa entre tratamientos. Por lo que el único valor que sale del intervalo de confianza ($p = 0.89$) corresponde a la clorofila-*a* de Chapultepec, es decir, no hay diferencia significativa entre tratamientos.

7. DISCUSIÓN

Aun cuando en este trabajo no se aborda la respuesta fisiológica de las células al estrés por acidificación, los lagos eutróficos suelen presentar fluctuaciones de pH de hasta 2 unidades (~7.0 a ~9.5), como reporta Jensen (2011) con *Synechococcus* OS-B' de tapetes microbianos del parque nacional de Yellowstone, E.U, esto debido al consumo de CO₂ por la fotosíntesis en la zona fótica. Por lo que se piensa existen estrategias, fisiológicas o químicas, que les permite a los organismos involucrados en estos cambios no verse afectados. Aunado a esto, los componentes ácidos de la lluvia pueden ser neutralizados, dependiendo del ambiente en el cual son depositados, esto varía debido a la cantidad de cationes disponibles, como K⁺, NH₄⁺, Ca²⁺, Na⁺ y Mg²⁺ como se reporta en otro estudio de la neutralización de lluvia ácida en 10 sitios, representando zonas urbanas, industriales y rurales, en el norte de China (Wang, 2012).

Beamud (2007) reporta que las clorofíceas son el grupo algal que prevalece en un cuerpo de agua acidificado naturalmente por las efusiones magmáticas del volcán Copahue, alcanzando un pH de ~2.2. Esto se observó en las clorofíceas, que al estar en contacto con ácido sulfúrico a una concentración de 0.19 mM tuvieron un aumento de la densidad celular de 300% (3.7×10^5 células/mL), mientras que las cianobacterias solo aumentaron un 2% (43.7×10^5). En la concentración [0.39 H₂SO₄], las clorofíceas aumentaron 100% (1.7×10^5 células/mL) y las cianobacterias disminuyeron 10% (29×10^5 células/mL). Por lo que en el caso de que existiera una erupción volcánica cercana a la Ciudad de México, cuyas emisiones llegasen a los lagos urbanos como son Chapultepec y Tezozómoc, se podría observar un florecimiento y dominancia de clorofíceas, pero al no ser un fenómeno recurrente suele prevalecer una dominancia de cianobacterias.

Se puede establecer una relación entre el control de las emisiones de dióxido de azufre y la presencia de clorofíceas en los lagos de diferentes países. Reportes de Smith (2004; 2011) muestran la disminución de la concentración de SO₂ a partir de los años 70's y 80's. Klimont (2013) reporta a E.U., Canadá y Europa como los países que

presentaron la mayor reducción de este contaminante, mientras que en la India permanecieron en aumento.

Se puede esperar encontrar que en este último país exista una dominancia de clorofíceas en la mayoría de los lagos, la cual ha perdurado incluso después de las regulaciones de contaminación. Vyas y Kumar (1968) reportan que las clorofíceas se presentan durante temporada de lluvias e invierno (de septiembre a febrero), además de contar con 23 especies de las 50 encontradas en una presa ubicada al norte de la ciudad de Udaipur. Laskar y Gulpta (2009) describen la diversidad de fitoplancton y la dinámica del lago Chatla en el noreste de la India, encontrando una gran cantidad de clorofíceas a lo largo de todo el año, con mayor abundancia en temporada del monzón e invierno. Debido a que las emisiones han permanecido casi en la misma cantidad de SO₂ en la India, se ha mantenido la dominancia de clorofíceas en este país.

En contraste, países como Canadá y Estados Unidos, donde la regulación de azufre presentó un mayor impacto, se podría observar que la presencia de clorofíceas disminuye hasta fechas más actuales. Bozniak y Kennedy (1968) describen la periodicidad de dos lagos al suroeste de Canadá, el lago Muir (oligotrófico) y el lago Hasting (eutrófico), encontrando una gran riqueza de clorofíceas seguidas por cianobacterias. En años posteriores Rolland (2005) estudió cambios estacionales en la comunidad del fitoplancton, enfocados en las cianobacterias, mostrando que los cuatro lagos muestreados presentan una dominancia de cianobacterias, mientras que las clorofíceas se encuentran en muy baja cantidad. Paterson (2008) presenta los cambios de la composición del fitoplancton a largo plazo en siete lagos del escudo canadiense, en la mayoría se observó una disminución del biovolumen de las clorofíceas a partir de 1981 hasta el 2003.

Por otra parte, cuando los ácidos se encuentran combinados en la concentración [0.19/0.2 H₂SO₄+HNO₃] las cianobacterias presentan un mayor incremento en la densidad celular 16% (46.2x10⁵ células/mL) que las clorofíceas, las cuales no presentaron aumento alguno (0.8x10⁵ células/mL). En este sentido se ha reportado que la lluvia que se suele presentar en la Ciudad de México está compuesta mayoritariamente por NO₃ y SO₂ (Báez, 2007).

Por lo anteriormente mencionado y al ser esta la forma natural de la precipitación ácida, este fenómeno se puede encontrar determinando la dominancia de las cianobacterias en la mayoría de los lagos dentro de la Ciudad. Vasconcelos en el 2010, reportó que varios lagos en la zona centro de México se encuentran dominados por especies de cianobacterias; así mismo, durante el mismo año Arzate observó que las condiciones de los lagos urbanos permiten el establecimiento permanente de los florecimientos a lo largo del año, pero señalan que es necesario determinar si existe una variación temporal que determine la potencial toxicidad de las cianobacterias.

Por otra parte, en el 2000 Dokulil, señaló que la concentración de nutrientes, morfometría del lago, temperatura, disponibilidad de luz bajo el agua, condiciones de mezclado y la estructura de la red alimentaria, son los factores más importantes para que exista una dominancia a largo plazo de cianobacterias. Estudios anteriores han mostrado que *M. aeruginosa* posee una dominancia en muchos lagos en el centro de la Ciudad de México (Valadez, 2005) y por clorofíceas en menor proporción (Alcocer, 1988).

En este estudio no se tomaron en cuenta otros parámetros que están relacionados con la presencia constante de las cianobacterias en sistemas acuáticos, como la concentración de nutrientes, síntesis de cianotoxinas, cantidad de luz, estrés oxidativo o planctívoro. Algunos reportes indican que la disponibilidad de Nitrogeno Total : Fósforo Total promueve el desarrollo de florecimientos (Xu, 2010). Por otro lado, Ni (2012) propone que el control del fósforo total puede mitigar la cantidad dominante de cianobacterias presentes, al igual que la producción de cianotoxinas, debido a que una menor densidad celular conlleva a una menor concentración de microcistinas. Por lo antes mencionado, observamos una similitud en los lagos de Chapultepec y Tezozómoc, ya que son alimentados por efluentes de plantas de tratamiento de agua residual, por lo que existe un aporte constante de nutrientes. La funcionabilidad de estos cuerpos de agua artificiales con fines recreacionales reduce en cierta medida un escaso o nulo interés en el control de la materia orgánica y el nivel de eutrofización.

Un factor que influye en el fitoplancton son los compuestos ácidos, que al entrar en contacto con ambientes alcalinos (pH ~8 a 9) pueden ser transformados a cationes

como sulfatos y nitratos, los cuales, a su vez, son fácilmente asimilados por las células para ser utilizadas metabólicamente. Wood (2017) demuestra en un lago somero de Nueva Zelanda que, en temporada de lluvias existe un mayor ingreso de $\text{NO}_3\text{-N}$, lo cual a su vez tiene un efecto sobre la composición biológica en un lago poco profundo, beneficiando a las clorofíceas sobre las cianobacterias. Complementariamente, en este estudio se encontró un comportamiento similar con el azufre. Se ha observado que la lluvia puede aumentar la densidad en cianobacterias por el mezclado y la resuspensión de células de *Microcystis* del sedimento (Kabede, 1994).

Nosotros observamos que la concentración de los ácidos mezclados se encuentra relacionada con la densidad celular de *M. panniformis*. En el tratamiento [0.09/0.1 $\text{H}_2\text{SO}_4\text{+HNO}_3$], el número de células fue de 16×10^5 células/mL, mientras que en la concentración [0.19/0.2], se observaron 46.2×10^5 células/mL. La hipótesis en este trabajo era que, con una mayor concentración de la combinación de SO_2 y NO_x , se observaría una mayor densidad celular de los florecimientos en la primera precipitación del año (marzo), pero según el monitoreo ambiental, se presentó en el mes de enero (DMA, 2017).

En cultivos de *M. aeruginosa* se ha detectado una recuperación en contacto con alguicidas (CuSO_4), observándose una habilidad en esta cianobacteria para poder soportar y reproducirse en ambientes contaminados por metales pesados, dependiendo de adaptaciones genéticas que han sido desarrolladas a lo largo del tiempo (García-Villada, 2004). La existencia de células mutantes resistentes al sulfato de cobre permite especular si este caso se puede repetir con otros elementos, ya sean metales pesados o compuestos ácidos, como el ácido sulfúrico.

Otra variable que se ve afectada por el cambio (contaminación) en los sistemas acuáticos es la síntesis de toxinas por las cianobacterias (microcistinas). En lo que respecta a la concentración de cianotoxinas. En el lago de Chapultepec no se reportaron valores de microcistina en temporada de secas (abril), solo se encontraba presente *Scenedesmus* sp. Mientras que en lluvias (junio) se encontró una elevada concentración de microcistina $2.79 \mu\text{g/L}$, relacionada a una densidad celular mucho menor (1.1×10^5 células/mL) en comparación a la del lago de Tezozómoc. Davis (2009)

reportó que la cantidad disponible de fósforo y nitrógeno inorgánico junto con altas temperaturas ($\sim 30^{\circ}\text{C}$) promueve florecimientos de cianobacterias tóxicas. Este patrón lo observamos en el muestreo del fitoplancton, donde está presente *M. panniformis* en el lago de Chapultepec, reportada como una cepa altamente tóxica. En el lago de Chapultepec se presenta un ambiente adecuado para el surgimiento de un florecimiento de cianobacterias, ya que es un sistema alimentado con aguas residuales, resultando riesgoso, por lo que es necesario realizar un monitoreo constante a este lago para uso recreacional.

Existen diversos factores que pueden influir en la concentración de toxinas en diferentes fases del crecimiento; por ejemplo, Long (2001) determina que, en condiciones de nitrógeno limitante, las células de *M. aeruginosa* presentan una tasa de crecimiento más acelerada, con una tendencia a ser más pequeñas y con menor masa, pero con un mayor contenido de microcistina intracelular. Así mismo, Jähnichen (2007) demuestra que la deficiencia de carbón inorgánico se encuentra relacionada con un aumento en la concentración de toxinas y de ficocianinas, atribuyéndolo a la senescencia y muerte celular al final de la etapa exponencial. Mientras que Song (1998) reporta que el pH y la luz son los factores más influyentes en *M. viridis* en la mitad de la fase exponencial y la menor síntesis al acercarse a la fase estacionaria.

Experimentalmente se observó que en *M. panniformis* la mayor toxicidad se presentó en la concentración de [0.19] de ácido sulfúrico con un valor de $2.75 \mu\text{g/L}$ (43.7×10^5 células/mL), contrario a lo observado en la concentración [0.19/0.2] de los ácidos combinados con un valor de $0.97 \mu\text{g/L}$ (46.2×10^5 células/mL). Esto es contrario a los datos obtenidos en el campo donde se recolectaron los organismos de fitoplancton, para los cuales, el valor de microcistina presente en el lago de Tezozómoc en secas fue de $2.29 \mu\text{g/L}$ (6×10^5 células/mL) y el de lluvias alcanzó los $4.94 \mu\text{g/L}$ (12×10^5 células/mL).

En cuanto a la temporada de lluvias y secas también se puede atribuir los resultados a otros factores ambientales. Por ejemplo, se han estudiado diversos factores que influyen o inducen la cantidad de microcistina producida por cianobacterias, variando entre especies y cepas. Wiedner (2003) encontró un efecto positivo de la radiación

fotosintéticamente activa en la concentración de microcistina en *Microcystis*. Jang y Takamura (2008) sometieron de manera aleatoria a *M. aeruginosa* a diferentes estadios de zooplancton herbívoro, encontrando un aumento de microcistina en relación con hábitos alimenticios, tamaño corporal e infoquímicos. Finalmente, Zilliges (2011) demuestra que en condiciones de estrés oxidativo, la microcistina tiene un rol de modulación en la síntesis de proteínas por *Microcystis*.

Conectando la toxicidad de las cianobacterias, se ha observado que existe una relación estrecha entre la concentración de microcistina y la densidad celular (Wood, 2011; Wood, 2012). Mientras que Pimentel (2014) encontró que agentes estresantes aunados a una privación de nutrientes, pueden derivar en un incremento significativo de la producción de microcistina en *M. aeruginosa*. Los resultados obtenidos en este trabajo muestran que en la densidad más alta (46.2×10^5 células/mL) se encuentra el menor valor de cianotoxinas (0.97 µg/L). Por lo que se puede deducir que el tratamiento de la combinación de ácido sulfúrico y nítrico no fue estresante para *Myrocystis panniformis*.

Como ya se mencionó con anterioridad, la lluvia ácida, al contener dióxido de azufre y óxidos de nitrógeno en grandes cantidades, promueve la presencia de cianobacterias en la mayoría de los cuerpos de agua dentro de la Ciudad de México, pero al parecer estos contaminantes no son los responsables de su toxicidad. Reichwaldt y Ghadovani (2012) concluyen que los cambios en las características de la lluvia conducirán a condiciones favorables para el crecimiento de cianobacterias, pero es necesario un mayor esfuerzo por entender la relación entre los patrones de la lluvia y las dinámicas de los florecimientos.

De igual manera Oberholster en el 2010, relacionó la temporada de lluvia con el desarrollo de un florecimiento de la cianobacteria *Microcystis* en condiciones de pH bajo (~6) y altas concentraciones de metales pesados, debido al drenaje de una mina en el lago Loskop, ubicado al sur de África; de igual manera mencionan que las clorofíceas son sensibles a una compleja mezcla de contaminantes y esto deriva en su ausencia. Por otra parte, se sabe que la secreción de metabolitos secundarios como

la microcistina, podrían tener la capacidad de unirse a metales pesados y de este modo reducirlos (Oliveira, 2005).

Los resultados de clorofila no serán tomados en cuenta para la discusión debido a que no es posible remarcar ninguna tendencia o relación en cuanto a los demás parámetros obtenidos.

Báez (2011) reportó la presencia de altas concentraciones de metales pesados (Al, Cd, Cr, Mn, Ni, Pb, V) en la lluvia colectada al sur de la Ciudad de México en el 2001 y 2002, con posibilidad de tener un origen antropogénico. Debido a la ausencia de reportes posteriores, no es posible afirmar que las cantidades de estos compuestos hayan ido en aumento; sin embargo, el incremento en la cantidad de fuentes emisoras, permiten deducirlo. Dicho esto, puedo teorizar que existe una relación directamente proporcional entre la concentración de metales pesados en la lluvia y la toxicidad de las cianobacterias que están sometidas a este fenómeno.

8. CONCLUSIONES

En el tratamiento de 0.19 mM ácido sulfúrico *Scenedesmus* presentó los valores más altos en densidad celular, en comparación a *Microcystis panniformis*, la cual presentó el mayor aumento en el tratamiento de 0.19/0.2 mM de los ácidos combinados.

La concentración más alta de microcistina se presentó en el tratamiento de 0.19 mM de ácido sulfúrico y existe una relación con la densidad celular, mientras que la menor se encontró en el tratamiento de 0.19/0.2 mM de los ácidos combinados.

La lluvia representa un factor altamente influyente en la presencia de cianobacterias del género *Microcystis* y su toxicidad. Sin embargo, este último parámetro no está relacionado con la presencia de dióxido de azufre en combinación con óxidos de nitrógeno.

Al no existir relación entre el ácido sulfúrico y nítrico combinados, con la toxicidad de la cianobacteria, pero si con la lluvia, se atribuye la síntesis de microcistinas a otros componentes. Entre estos, y con respaldo en la literatura consultada, se puede vincular a la presencia de metales pesados, pero es necesario confirmarlo en investigaciones posteriores.

9. LITERATURA CONSULTADA

- Agawin, N. S., Duarte, C. M., & Agustí, S. (2000). Nutrient and temperature control of the contribution of picoplankton to phytoplankton biomass and production. *Limnology and Oceanography*, 45(3), 591-600.
- Armienta, M. A., Vilaclara, G., De la Cruz-Reyna, S., Ramos, S., Ceniceros, N., Cruz, O., Arguayo A., & Arcega-Cabrera, F. (2008). Water chemistry of lakes related to active and inactive Mexican volcanoes. *Journal of Volcanology and Geothermal Research*, 178(2), 249-258.
- Arzate-Cárdenas, M. A., Olvera-Ramírez, R., & Martínez-Jerónimo, F. (2010). Microcystis toxigenic strains in urban lakes: a case of study in Mexico City. *Ecotoxicology*, 19(6), 1157-1165.
- Badger, M. R., Hanson, D., & Price, G. D. (2002). Evolution and diversity of CO₂ concentrating mechanisms in cyanobacteria. *Functional Plant Biology*, 29(3), 161-173.
- Badger, M. R., & Price, G. D. (2003). CO₂ concentrating mechanisms in cyanobacteria: molecular components, their diversity and evolution. *Journal of experimental botany*, 54(383), 609-622.
- Beamud, S. G., Diaz, M. M., & Pedrozo, F. L. (2007). Summer phytoplankton composition and nitrogen limitation of the deep, naturally-acidic (pH~ 2.2) Lake Caviahue, Patagonia, Argentina. *Limnologica-Ecology and Management of Inland Waters*, 37(1), 37-48.
- Báez, A., Belmont, R., García, R., Padilla, H., & Torres, M. D. C. (2007). Chemical composition of rainwater collected at a southwest site of Mexico City, Mexico. *Atmospheric Research*, 86(1), 61-75.
- Becerra, P. M., Saíenz, S. J., & Muñoz, P. C. (2006). Los conflictos por agua en México. Diagnóstico y análisis. *Gestión y política pública*, 15(1).
- Bischoff, H.W. & Bold, H.C. (1963): Phycological studies. IV. Some soil algae from Enchanted Rock and related algal species. University of Texas Publications 6318: 1-95.
- Bluth, G. J., Doiron, S. D., Schnetzler, C. C., Krueger, A. J., & Walter, L. S. (1992). Global tracking of the SO₂ clouds from the June, 1991 Mount Pinatubo eruptions. *Geophysical Research Letters*, 19(2), 151-154.
- Bozniak, E. G., & Kennedy, L. L. (1968). Periodicity and ecology of the phytoplankton in an oligotrophic and eutrophic lake. *Canadian Journal of Botany*, 46(10), 1259-1271.
- Camargo, J. A., & Alonso, A. (2007). Contaminación por nitrógeno inorgánico en los ecosistemas acuáticos: problemas medioambientales, criterios de calidad del agua, e implicaciones del cambio climático. *Revista Ecosistemas*, 16(2).
- Campos, V., Lisperguer, S., Weckesser, J., Vera, A., & Muñoz, D. (2005). Cianobacterias y riesgos potenciales de toxicidad en aguas continentales de Chile. *Boletín Micológico*, 20.

- Carmichael, W. W. (2001). Health effects of toxin-producing cyanobacteria: "The CyanoHABs". *Human and ecological risk assessment: An International Journal*, 7(5), 1393-1407.
- Carmichael, G. R., Ferm, M., Thongboonchoo, N., Woo, J. H., Chan, L. Y., Murano, K., Hung V., P., *et al.* (2003). Measurements of sulfur dioxide, ozone and ammonia concentrations in Asia, Africa, and South America using passive samplers. *Atmospheric Environment*, 37(9), 1293-1308.
- Castro, M. E. M., & Neria, J. P. (2003). La contaminación atmosférica en el sur de la zona metropolitana del valle de México. *Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias*, 16(1), 48-53.
- Chaplin, M. F. (2001). Water: its importance to life. *Biochemistry and Molecular Biology Education*, 29(2), 54-59.
- Chaplin, M. (2006). Do we underestimate the importance of water in cell biology?. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 7(11), 861.
- Chapman, A. D. (2009). Numbers of living species in Australia and the world.
- Chellappa, N. T., Chellappa, T., Câmara, F. R., Rocha, O., & Chellappa, S. (2009). Impact of stress and disturbance factors on the phytoplankton communities in Northeastern Brazil reservoir. *Limnologica-Ecology and Management of Inland Waters*, 39(4), 273-282.
- Chisti, Y. (2007). Biodiesel from microalgae. *Biotechnology advances*, 25(3), 294-306.
- Chorus, I., Falconer, I. R., Salas, H. J., & Bartram, J. (2000). Health risks caused by freshwater cyanobacteria in recreational waters. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part B: Critical Reviews*, 3(4), 323-347.
- Coll, M., Piroddi, C., Steenbeek, J., Kaschner, K., Lasram, F. B. R., Aguzzi, J., Ballesteros, E., *et al.* (2010). The biodiversity of the Mediterranean Sea: estimates, patterns, and threats. *PloS one*, 5(8), e11842.
- Comisión Nacional del Agua (2016), *Estadísticas del agua en México*, CNA.
- Davis, T. W., Berry, D. L., Boyer, G. L., & Gobler, C. J. (2009). The effects of temperature and nutrients on the growth and dynamics of toxic and non-toxic strains of *Microcystis* during cyanobacteria blooms. *Harmful algae*, 8(5), 715-725.
- Dirección del Monitoreo Atmosférico de México (DMA). (2017). Aire Ciudad de México. [online] Disponible en: <http://www.aire.cdmx.gob.mx/estadisticas-consultas/concentraciones/index.php> [Consultado 11 Agto. 2017].
- Dockery, D., & Pope, A. (1996). Epidemiology of acute health effects: summary of time-series studies. *Particles in our air: Concentrations and health effects*, 123-147.
- Dokulil, M. T., & Teubner, K. (2000). Cyanobacterial dominance in lakes. *Hydrobiologia*, 438(1), 1-12.

- Driscoll, C. T., Driscoll, K. M., Mitchell, M. J., & Raynal, D. J. (2003). Effects of acidic deposition on forest and aquatic ecosystems in New York State. *Environmental Pollution*, 123(3), 327-336.
- Earth Observing Laboratory (2017). MILAGRO | Eol.ucar.edu. [online] Disponible en: https://www.eol.ucar.edu/field_projects/milagro [Consultado 13 Oct. 2017].
- Ferragut, C., & de Campos Bicudo, D. (2010). Periphytic algal community adaptive strategies in N and P enriched experiments in a tropical oligotrophic reservoir. *Hydrobiologia*, 646(1), 295-309.
- Garcés G. L. F. & Hernández A. M. L., (2004). La lluvia ácida: un fenómeno fisicoquímico de ocurrencia local. *Revista Lasallista de Investigación*, vol. 1, núm. 2, 2004, pp. 67-72
- García, E. (1988). Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen (para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana). Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 220 p.
- García-Villada, L., Rico, M., Altamirano, M., Sánchez-Martín, L., López-Rodas, V., & Costas, E. (2004). Occurrence of copper resistant mutants in the toxic cyanobacteria *Microcystis aeruginosa*: characterisation and future implications in the use of copper sulphate as algicide. *Water research*, 38(8), 2207-2213.
- Gerloff-Elias, A., Spukerman, E., Proschold, T. (2005). Effect of external pH on the growth, photosynthesis and photosynthetic electron transport of *Chlamydomonas acidophila* Negoro, isolated from an extremely acidic lake (pH 2.6). *Plant, Cell & Environ.* 28 (10), 1218-1229, 2005.
- Glass, N. R., Glass, G. E., & Rennie, P. J. (1979). Effects of acid precipitation. *Environmental Science & Technology*, 13(11), 1350-1355.
- Gómez, L. L. M. (2007). Microalgas: Aspectos ecológicos y biotecnológicos. *Revista Cubana de Química*, 19(2).
- Harke, M. J., & Gobler, C. J. (2013). Global transcriptional responses of the toxic cyanobacterium, *Microcystis aeruginosa*, to nitrogen stress, phosphorus stress, and growth on organic matter. *PLoS One*, 8(7), e69834.
- Havens, K. E. (2008). Cyanobacteria blooms: effects on aquatic ecosystems. *Cyanobacterial harmful algal blooms: state of the science and research needs*, 733-747.
- Hongve, D., Riise, G., & Kristiansen, J. F. (2004). Increased colour and organic acid concentrations in Norwegian forest lakes and drinking water—a result of increased precipitation?. *Aquatic sciences*, 66(2), 231-238.
- Huang, J. J., Kolodny, N. H., Redfearn, J. T., & Allen, M. M. (2002). The acid stress response of the cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC 6308. *Archives of microbiology*, 177(6), 486-493.
- Iglesias, R. C., Villarino, M. A. L., Martínez, J. A., Cabrerizo, L., Gargallo, M., Lorenzo, H., *et al.* (2011). Importancia del agua en la hidratación de la población española: documento FESNAD 2010. *Nutrición Hospitalaria*, 26(1), 27-36.

- ISO 10260. Water quality - Measurement of Biochemical Parameters - Spectrometric Determination of the Chlorophyll a Concentration. 1992. pp. 4-6.
- Jang, M. H., Ha, K., & Takamura, N. (2008). Microcystin production by *Microcystis aeruginosa* exposed to different stages of herbivorous zooplankton. *Toxicon*, 51(5), 882-889.
- Jähnichen, S., Ihle, T., Petzoldt, T., & Benndorf, J. (2007). Impact of inorganic carbon availability on microcystin production by *Microcystis aeruginosa* PCC 7806. *Applied and environmental microbiology*, 73(21), 6994-7002.
- Jensen, S. I., Steunou, A. S., Bhaya, D., Köhl, M., & Grossman, A. R. (2011). In situ dynamics of O₂, pH and cyanobacterial transcripts associated with CCM, photosynthesis and detoxification of ROS. *The ISME journal*, 5(2), 317.
- Jiménez, B. E. (2001). La contaminación ambiental en México: causas efectos y tecnología apropiada. Editorial Limusa. Instituto de Ingeniería de la UNAM y FEMISCA. 926p.
- Jiménez-Cisneros B. E. (2007). Sustentabilidad, un debate a fondo: Información y calidad del agua en México. *Trayectorias*; 9: 45-56.
- Kebede, E., & Belay, A. (1994). Species composition and phytoplankton biomass in a tropical African lake (Lake Awassa, Ethiopia). *Hydrobiologia*, 288(1), 13-32.
- Kaebernick, M., & Neilan, B. A. (2001). Ecological and molecular investigations of cyanotoxin production. *FEMS microbiology ecology*, 35(1), 1-9.
- Klimont, Z., Smith, S. J., & Cofala, J. (2013). The last decade of global anthropogenic sulfur dioxide: 2000–2011 emissions. *Environmental Research Letters*, 8(1), 014003.
- Kim, H. R., Kim, C. K., Ahn, T. S., Yoo, S., & Lee, D. H. (2005). Effects of temperature and light on microcystin synthetase gene transcription in *Microcystis aeruginosa*. In *Key Engineering Materials* (Vol. 277, pp. 606-611). Trans Tech Publications.
- Kotai, J. (1972). Instructions for preparation of modified nutrient solution Z8 for algae. *Norwegian Institute for Water Research, Oslo*, 11(69), 5.
- Langmann, B., Bauer, S. E., & Bey, I. (2003). The influence of the global photochemical composition of the troposphere on European summer smog, Part I: Application of a global to mesoscale model chain. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*, 108(D4).
- Laskar, H. S., & Gupta, S. (2009). Phytoplankton diversity and dynamics of Chatla floodplain lake, Barak Valley, Assam, North East India-A seasonal study.
- Long, B. M., Jones, G. J., & Orr, P. T. (2001). Cellular microcystin content in N-limited *Microcystis aeruginosa* can be predicted from growth rate. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(1), 278-283.
- Lu, Z., Z, Q., & Streets, D. G. (2011). Sulfur dioxide and primary carbonaceous aerosol emissions in China and India, 1996–2010. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 11(18), 9839-9864.

- de Magalhães, V. F., Soares, R. M., & Azevedo, S. M. (2001). Microcystin contamination in fish from the Jacarepaguá Lagoon (Rio de Janeiro, Brazil): ecological implication and human health risk. *Toxicon*, 39(7), 1077-1085.
- Manzur, M. E., Benzal, G., & González, S. N. (2013). Modelo de dispersión de contaminantes atmosféricos. En VII Congreso de Medio Ambiente.
- McConnell, M. D., Koop, R., Vasil'ev, S., & Bruce, D. (2002). Regulation of the distribution of chlorophyll and phycobilin-absorbed excitation energy in cyanobacteria. A structure-based model for the light state transition. *Plant physiology*, 130(3), 1201-1212.
- Medina, J. A., Piña, V. P., Nieves, S. J. F., & Guerrero, I. M. (2012). La importancia de las microalgas. *CONABIO. Biodiversitas*, 103:1-5
- Miller, S. R., Augustine, S., Le Olson, T., Blankenship, R. E., Selker, J., & Wood, A. M. (2005). Discovery of a free-living chlorophyll d-producing cyanobacterium with a hybrid proteobacterial/cyanobacterial small-subunit rRNA gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(3), 850-855.
- Molina, L., & Molina, M. J. (2002). Air Quality in the Mexico Megacity: An Integrated Assessment (Vol. 2). Springer Science & Business Media.
- Morales, E., Rodríguez, M., García, D., Loreto, C., & Marco, E. (2002). Crecimiento, producción de pigmentos y exopolisacáridos de la cianobacteria *Anabaena* sp. PCC 7120 en función del pH y CO₂. *Interciencia*, 27(7).
- Moronta, R., Mora, R., & Morales, E. (2006). Respuesta de la microalga *Chlorella sorokiniana* al pH, salinidad y temperatura en condiciones axénicas y no axénicas. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 23(1).
- National Institute of Environmental Research (NIER). (2004). [online] Disponible en: <http://www.nier.go.kr/NIER/eng/rf/nren-rf-0201.do?menuNo=72002> [Consultado 25 Jun. 2017].
- Neilan, B. A., Pearson, L. A., Moffitt, M. C., Mihali, K. T., Kaebnick, M., Kellmann, R., & Pomati, F. (2008). The genetics and genomics of cyanobacterial toxicity. *Cyanobacterial harmful algal blooms: state of the science and research needs*, 417-452.
- Ni, W. M., Zhang, J. Y., Stevenson, R. J., & Zhu, Y. M. (2012). Environmental factors regulating cyanobacteria dominance and microcystin production in a subtropical lake within the Taihu watershed, China. *Journal of Zhejiang University Science A*, 13(4), 311-322.
- NIVA, 1976. Estimation of Algal Growth Potential. Norwegian Inst. for Water Research, Publ. D2-25.
- Oberholster, P. J., Myburgh, J. G., Ashton, P. J., & Botha, A. M. (2010). Responses of phytoplankton upon exposure to a mixture of acid mine drainage and high levels of nutrient pollution in Lake Loskop, South Africa. *Ecotoxicology and environmental safety*, 73(3), 326-335.

- Oliva, M. M. G., Rodríguez, R. A., Lugo, V. A., & Sánchez, R. M. R. (2008). Composición y dinámica del fitoplancton en un lago urbano hipertrófico. *Hidrobiológica*, 18, 1-13.
- Oliveira, A. C., Magalhães, V. F., Soares, R. M., & Azevedo, S. M. (2005). Influence of drinking water composition on quantitation and biological activity of dissolved microcystin (cyanotoxin). *Environmental toxicology*, 20(2), 126-130.
- O'neil, J. M., Davis, T. W., Burford, M. A., & Gobler, C. J. (2012). The rise of harmful cyanobacteria blooms: the potential roles of eutrophication and climate change. *Harmful algae*, 14, 313-334.
- Paterson, A. M., Winter, J. G., Nicholls, K. H., Clark, B. J., Ramcharan, C. W., Yan, N. D., & Somers, K. M. (2008). Long-term changes in phytoplankton composition in seven Canadian Shield lakes in response to multiple anthropogenic stressors. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 65(5), 846-861.
- Pérez-Suárez, M., Cetina-Alcalá, V. M., Aldrete, A., Fenn, M. E., & Landois-Palencia, L. L. (2006). Química de la precipitación pluvial en dos bosques de la cuenca de la ciudad de México. *Agrociencia*, 40(2).
- Pimentel, J. S., & Giani, A. (2014). Microcystin production and regulation under nutrient stress conditions in toxic *Microcystis* strains. *Applied and environmental microbiology*, 80(18), 5836-5843.
- Pulz, O., & Gross, W. (2004). Valuable products from biotechnology of microalgae. *Applied microbiology and biotechnology*, 65(6), 635-648.
- Ramírez R. R. & Olmos C. H. I. (2008). Efectos al ambiente de la lluvia acida. *Revista enlace químico*, Universidad de Guanajuato. Vol. 1 No 10.
- Raven, J. A., & Allen, J. F. (2003). Genomics and chloroplast evolution: what did cyanobacteria do for plants?. *Genome biology*, 4(3), 209.
- Reichwaldt, E. S., & Ghadouani, A. (2012). Effects of rainfall patterns on toxic cyanobacterial blooms in a changing climate: between simplistic scenarios and complex dynamics. *Water Research*, 46(5), 1372-1393.
- Rippka, R. (1988). [1] Isolation and purification of cyanobacteria. *Methods in enzymology*, 167, 3-27.
- Rolland, A., Bird, D. F., & Giani, A. (2005). Seasonal changes in composition of the cyanobacterial community and the occurrence of hepatotoxic blooms in the eastern townships, Québec, Canada. *Journal of Plankton Research*, 27(7), 683-694.
- Schindler, D. W. (2006). Recent advances in the understanding and management of eutrophication. *Limnology and oceanography*, 51(1part2), 356-363.
- Shiklomanov, I. A. (1998). World water resources. A new appraisal and assessment for the 21st century.
- Schuurkes, J. A. A. R., Elbers, M. A., Gudden, J. J. F., & Roelofs, J. G. M. (1987). Effects of simulated ammonium sulphate and sulphuric acid rain on acidification,

water quality and flora of small-scale soft water systems. *Aquatic botany*, 28(3-4), 199-226.

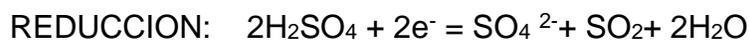
- Smith, S. J., Andres, R., Conception, E., & Lurz, J. (2004). Historical sulfur dioxide emissions 1850-2000: Methods and results (No. PNNL-14537). Pacific Northwest National Laboratory (PNNL), Richland, WA (US).
- Smith, S. J., Aardenne, J. V., Klimont, Z., Andres, R. J., Volke, A., & Delgado Arias, S. (2011). Anthropogenic sulfur dioxide emissions: 1850–2005. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 11(3), 1101-1116.
- Secretaria del Medio Ambiente (SEDEMA). (2012). Inventario de emisiones contaminantes y de efecto invernadero [online] Disponible en: <http://www.aire.cdmx.gob.mx/descargas/publicaciones/flippingbook/inventario-emisioneszmvm2012/inventario-emisioneszmvm2012.pdf> [Consultado 11 Sep. 2017].
- Servicio Meteorológico Nacional (SMN). (2017). Resúmenes Mensuales de Temperaturas y Lluvia. smn.cna.gob.mx. [online] Disponible en: <http://smn.cna.gob.mx/es/climatologia/temperaturas-y-lluvias/resumenes-mensuales-de-temperaturas-y-lluvias> [Consultado 13 Oct. 2017].
- Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E., & Isambert, A. (2006). Commercial applications of microalgae. *Journal of bioscience and bioengineering*, 101(2), 87-96.
- Staub, R. (1961). Ernährungsphysiologisch-autökologische Untersuchungen an der planktischen Blaualge *Oscillatoria rubescens* DC. *Aquatic Sciences-Research Across Boundaries*, 23(1), 82-198.
- Song, L., Sano, T., Li, R., Watanabe, M. M., Liu, Y., & Kaya, K. (1998). Microcystin production of *Microcystis viridis* (cyanobacteria) under different culture conditions. *Phycological research*, 46(s2), 19-23.
- Soto-Liebe, K., Méndez, M. A., Fuenzalida, L., Krock, B., Cembella, A., & Vásquez, M. (2012). PSP toxin release from the cyanobacterium *Raphidiopsis brookii* D9 (Nostocales) can be induced by sodium and potassium ions. *Toxicon*, 60(7), 1324-1334.
- Sukenik, A., Quesada, A., & Salmaso, N. (2015). Global expansion of toxic and non-toxic cyanobacteria: effect on ecosystem functioning. *Biodiversity and Conservation*, 24(4), 889-908.
- Tamayo, J. L. (1962). Geografía general de México (No. 04; F1216, T3 1962.).
- Toledo, A. (2002). El agua en México y el mundo. *Gaceta Ecológica*, (64).
- Tokuşoglu, Ö., & Ünal, M. K. (2003). Biomass nutrient profiles of three microalgae: *Spirulina platensis*, *Chlorella vulgaris*, and *Isochrysis galbana*. *Journal of food science*, 68(4), 1144-1148.
- Valadez, F., Oliva, G., Vilaclara, G., Caballero, M., & Rodríguez, D. C. (2005). On the presence of *Stephanodiscus niagarae* Ehrenberg in central Mexico. *Journal of Paleolimnology*, 34(2), 147-157.

- Vallejo, M., Jáuregui-Renaud, K., Hermosillo, A. G., Márquez, M. F., & Cárdenas, M. (2003). Efectos de la contaminación atmosférica en la salud y su importancia en la Ciudad de México. *Gac Med Mex*, 139, 57-63.
- Vasconcelos, V., Martins, A., Vale, M., Antunes, A., Azevedo, J., Welker, M., López, O., & Montejano, G. (2010). First report on the occurrence of microcystins in planktonic cyanobacteria from Central Mexico. *Toxicon*, 56(3), 425-431.
- Vázquez, C., Beristain, F., & Audelo, E. (2012). Caracterización del Patrón de Comportamiento de las Partículas en Suspensión en el Valle de México. *Información tecnológica*, 23(3), 3-10.
- Vézie, C., Rapala, J., Vaitomaa, J., Seitsonen, J., & Sivonen, K. (2002). Effect of nitrogen and phosphorus on growth of toxic and nontoxic *Microcystis* strains and on intracellular microcystin concentrations. *Microbial ecology*, 43(4), 443-454.
- Vyas, L. N., & Kumar, H. D. (1968). Studies on the phytoplankton and other algae of Indrasagar tank, Udaipur, India. *Hydrobiologia*, 31(3), 421-434.
- Wang, Y., Yu, W., Pan, Y., & Wu, D. (2012). Acid neutralization of precipitation in Northern China. *Journal of the Air & Waste Management Association*, 62(2), 204-211.
- Westrick, J. A., Szlag, D. C., Southwell, B. J., & Sinclair, J. (2010). A review of cyanobacteria and cyanotoxins removal/inactivation in drinking water treatment. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 397(5), 1705-1714.
- Wiedner, C., Visser, P. M., Fastner, J., Metcalf, J. S., Codd, G. A., & Mur, L. R. (2003). Effects of light on the microcystin content of *Microcystis* strain PCC 7806. *Applied and environmental microbiology*, 69(3), 1475-1481.
- Wood, S. A., Borges, H., Puddick, J., Biessy, L., Atalah, J., Hawes, I., Dietrich, D. R., & Hamilton, D. P. (2017). Contrasting cyanobacterial communities and microcystin concentrations in summers with extreme weather events: Insights into potential effects of climate change. *Hydrobiologia*, 785(1), 71-89.
- Wood, S. A., Dietrich, D. R., Cary, S. C., & Hamilton, D. P. (2012). Increasing *Microcystis* cell density enhances microcystin synthesis: a mesocosm study. *Inland Waters*, 2(1), 17-22.
- Wood, S. A., Rueckert, A., Hamilton, D. P., Cary, S. C., & Dietrich, D. R. (2011). Switching toxin production on and off: intermittent microcystin synthesis in a *Microcystis* bloom. *Environmental microbiology reports*, 3(1), 118-124.
- Xu, H., Paerl, H. W., Qin, B., Zhu, G., & Gao, G. (2010). Nitrogen and phosphorus inputs control phytoplankton growth in eutrophic Lake Taihu, China. *Limnology and Oceanography*, 55(1), 420-432.
- Zilliges, Y., Kehr, J. C., Meissner, S., Ishida, K., Mikkat, S., Hagemann, M., *et al.* (2011). The cyanobacterial hepatotoxin microcystin binds to proteins and increases the fitness of *Microcystis* under oxidative stress conditions. *PloS one*, 6(3), e17615.

ANEXO

Estandarización de la unidad experimental

Una vez planteado el objetivo del trabajo, se propusieron diversas ideas de cómo llevar a cabo la unidad experimental. Una de ellas fue la obtención de SO₂ en su forma gaseosa por medio de cobre y ácido sulfúrico, con base en la siguiente formula:



Al llevar a cabo este procedimiento resultaba difícil poder cuantificar la cantidad de dióxido de azufre obtenido, aun cuando se medían las cantidades de ácido y cobre utilizados. Por otra parte, el contaminante resulta muy tóxico, inclusive en cantidades muy pequeñas, por lo que habría que crear un sistema completamente hermético para evitar poner en riesgo la salud del personal del laboratorio. Aun cuando se hubiera controlado lo anterior, resultaba difícil poder asegurar que el gas se depositara en el medio, cuanto tiempo tardaría en hacerlo y en qué cantidades, aparte de realizar cuidados necesarios al cultivo con iluminación suficiente para su desarrollo.

Tomando en cuenta el peligro, el tamaño y su dificultad se decidió optar por la utilización del estado líquido del contaminante, basándose en las concentraciones atmosféricas.

Tablas de análisis de varianza de una vía

Tabla 3. ANOVA de una vía de la densidad observada en los tratamientos de Chapultepec (C) y Tezozómoc (T). GI= grados libertad, Sc= suma de cuadrados, Cm = cuadrado medio, F= prueba de Fisher.

Fuente de variación	GL	SC	CM	F	P
Entre tratamientos C	6	2688.357	448.06	247.788	<0.001
Residual	21	36.5	1.738		
Total	27	274.857			
Entre tratamientos T	6	2563.857	427.31	341.848	<0.001
Residual	21	26.25	1.25		
Total	27	2590.107			

Tabla 4. ANOVA de una vía de la cuantificación de clorofila-a celular en los tratamientos de Chapultepec (C) y Tezozómoc (T). GI= grados libertad, Sc= suma de cuadrados, Cm = cuadrado medio, F= prueba de Fisher.

Fuente de variación	GL	SC	CM	F	P
Entre tratamientos C	5	2311.074	462.215	2.504	0.089
Residual	12	2215.08	184.59		
Total	17	4526.155			
Entre grupos T	5	264696.935	52939.4	66.736	<0.001
Residual	12	9517.14	793.262		
Total	17	274216.075			