



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**Análisis de las habilidades como núcleos de glaciación de
partículas biológicas terrestres**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADA EN CIENCIAS DE LA
TIERRA**

P R E S E N T A:

AIMEÉ MARGARITA MELCHUM JUÁREZ



TUTOR

DR. LUIS ANTONIO LADINO MORENO

Ciudad Universitaria, CD.MX. 2021



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.



AGRADECIMIENTOS

- ❖ Asesor de tesis, el Dr. Luis Ladino, por siempre brindarme su apoyo, compartir su conocimiento conmigo y dirigir este proyecto.
- ❖ M. en C. Leticia Martínez Romero y M. en C. María Eva Salinas Cortés por análisis microbiológico de las muestras, la identificación de las bacterias y por la realización de las diluciones bacterianas para su análisis en la formación de núcleos de congelación.
- ❖ Instituto de Ciencias Atmosféricas y Cambio Climático (ICAyCC) y a la Facultad de Ciencias, UNAM por el conocimiento y habilidades adquiridas en estas instituciones.
- ❖ Dra. Graciela Binimelis de Raga, directora del grupo de Investigación de Interacción Micro y Meso escala del ICAyCC.
- ❖ Por su apoyo en el aprendizaje del manejo del DFA y su conocimiento a María Fernanda Córdoba.
- ❖ Al apoyo económico del proyecto PAPIIT IN111120.
- ❖ A mis abuelitos, Beatriz Cárdenas y José Luis Juárez, parte fundamental en mi vida, por siempre estar conmigo, pero sobretodo en este proceso.
- ❖ A mi hermana, Stephany Melchum, por siempre motivarme, apoyarme en todo lo que necesito y por siempre estar para mí.
- ❖ A mis papás, Ma. Guadalupe Juárez y Alejandro Melchum, por creer en mí, por impulsarme siempre en mis estudios, por todo su amor, apoyo y esfuerzos por los que he llegado hasta aquí, por enseñarme a estar en una constante evolución.
- ❖ Así como a mi abue Margarita Méndez, a quien siempre tengo presente.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS.....	1
LISTA DE ABREVIATURAS	5
INDICE DE FIGURAS.....	7
INDICE DE TABLAS	9
RESUMEN.....	10
1. CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN	11
1.1. Aerosol Atmosférico	11
1.1.1. Características de un aerosol.....	11
1.1.1.1. Propiedades físicas.....	11
1.1.1.1.1. Tamaño	11
1.1.1.1.2. Morfología.....	14
1.1.1.1.3. Densidad.....	15
1.1.1.1.4. Concentración.....	15
1.1.1.2. Propiedades químicas	16
1.1.1.2.1. Composición.....	17
1.1.2. Fuentes de emisión.....	17
1.1.2.1. Naturales y Antropogénicas.....	18
1.1.3. Fuentes de remoción: Depósito seco y Depósito húmedo	18
1.1.4. Tiempo de vida media.....	20
1.1.5. Partículas de aerosol primarias vs. secundarias	21
1.1.6. Bioaerosol.....	21
1.1.6.1. Microalgas.....	22
1.1.6.2. Bacterias	24
1.1.6.3. Virus.....	25
1.1.6.4. Propágulos fúngicos.....	26
1.1.6.5. Polen.....	27
1.1.7. Nubes	28
1.1.7.1. Clasificación de nubes.....	29
1.1.7.1.1. Nubes cálidas.....	29
1.1.7.1.2. Nubes frías	29

1.1.7.1.3.	Nubes mixtas.....	30
1.1.7.2.	Importancia de las nubes en el sistema climático	30
1.1.7.3.	Formación de nubes	31
1.1.7.4.	Núcleos de hielo	32
1.1.7.5.	Mecanismos de formación de hielo	32
1.1.7.5.1.	Nucleación por condensación	33
1.1.7.5.2.	Nucleación por contacto	34
1.1.7.5.3.	Nucleación por depósito	34
1.1.7.5.4.	Nucleación por inmersión.....	35
1.1.7.6.	Partículas biológicas que actúan como INPs.....	36
1.1.8.	Hipótesis	38
1.1.9.	Objetivos	38
1.1.9.1.	Objetivo general.....	38
1.1.9.2.	Objetivos particulares	38
2.	CAPÍTULO 2: METODOLOGÍA.....	39
2.1.	Sitio de Muestreo.....	39
2.1.1.	Ubicación y límites geográficos.....	39
2.1.2.	Climatología.....	44
2.2.	Toma de muestras.....	47
2.3.	Medios de cultivo	50
2.4.	Identificación de microorganismos	52
2.5.	Descripción del DFA	53
2.6.	Procedimiento	55
2.7.	Análisis de datos.....	57
2.7.1.	Fracción Congelada (FF)	58
2.7.2.	Temperatura inicial de congelamiento (T_0).....	58
2.7.3.	Temperatura media de congelamiento (T_{50})	59
3.	CAPÍTULO 3: DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	60
3.1.	Fracción Congelada	62
3.2.	Temperatura inicial de congelamiento (T_0).....	66
3.3.	Temperatura media de congelamiento (T_{50})	69

3.4. <i>Ralstonia paucula</i>	73
4. CAPÍTULO 4: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	75
ANEXO 1.	78
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	80

LISTA DE ABREVIATURAS

ADN	Ácido desoxirribonucleico
ARNr	Ácido ribonucleico ribosomal
BC	Carbono negro
ICAyCC	Instituto de Ciencias de la Atmósfera y Cambio Climático
CCN	Núcleos de condensación de nubes
DFA	Droplet Freezing Assay
ELISA	Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
FF	Frozen Fraction o Fracción Congelada
INA	Ice Nucleation Active
INP	Núcleos de glaciación o Partículas nucleadoras de hielo
IPN	Instituto Politécnico Nacional
GdM	Golfo de México
GYM	Glucosa-extracto de levadura-extracto de malta-agar
LED	Diodo emisor de luz
MEA	Agar extracto de malta
MCB	Bacterias cultivables mesófilas
nm	Nanómetro
PBA	Partículas primarias de aerosol biológico
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PM ₁₀	Material particulado con un tamaño menor a 10 μm
PM _{2.5}	Material particulado con un tamaño menor a 2.5 μm
POM	Materia orgánica particulada
RH _i	Humedad relativa con respecto al hielo
SMV	Sequía de mediados de verano
T	Temperatura
TAE	Amortiguador de disolución formada por tris, acetato y EDTA
TSA	Trypticase Soy Agar
T ₀	Temperatura inicial de congelamiento

T_{50}	Temperatura a la cual la mitad de las gotas se congelan
UFC	Unidades formadoras de colonias
UNAM	Universidad Nacional Autónoma de México
μm	Micrómetro
ρ	Densidad de las partículas de aerosol

INDICE DE FIGURAS

Figura 1 Tamaño de partículas de aerosol asociadas a sus fuentes de emisión..	13
Figura 2. Morfología de diferentes tipos de bioaerosol.....	14
Figura 3. Esquema del balance de radiación solar.....	31
Figura 4. Representación de nucleación homogénea y los cuatro mecanismos de la nucleación heterogénea.....	35
Figura 5. Mapa de la Península de Yucatán (dos sitios de muestreo de partículas de aerosol).....	40
Figura 6. Ubicación del Observatorio Atmosférico Altzomoni de la UNAM.....	41
Figura 7. Sitios de muestreo ubicados en la Zona Metropolitana del Valle de México: ICAyCC y Altzomoni.....	42
Figura 8. Ubicación del Pedregal de San Ángel, CU y la REPSA.....	43
Figura 9. Mapa del clima representativo del estado de Yucatán.....	44
Figura 10. Emisores de contaminantes en la Ciudad de México.....	46
Figura 11. Horario de la recolección de muestras en los dos sitios de muestreo: Sisal y Mérida.....	47
Figura 12. Medios de cultivo para actinobacterias, bacterias y propágulos de fúngicos.....	51
Figura 13. Esquema del equipo UNAM-DFA.....	54
Figura 14. Esquema de la vista lateral de la placa de ELISA.....	56
Figura 15. Fotografías de la opacidad que presentan los pozos de la placa de ELISA durante los experimentos.....	57
Figura 16. Fracción congelada de las bacterias recolectados en la Península de Yucatán y Altzomoni y propágulos fúngicos recolectados en la CDMX.....	63
Figura 17. Temperatura inicial de congelamiento (T_0) para cada microorganismo.....	66
Figura 18. Promedio de la T_0 de los diferentes microorganismos muestreados en cada uno de los tres sitios de muestreo.....	68
Figura 19. Temperatura media de congelamiento (T_{50}).....	70

Figura 20. Promedio de la T_{50} de los microorganismos muestreados en cada sitio de muestreo.**¡Error! Marcador no definido.**

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Modas de la distribución de tamaños de las partículas de aerosol	12
Tabla 2. Concentraciones numéricas y de masa en el aire cercano a la superficie para diferentes tipos de partículas de aerosol biológico primario (PBA)..	16
Tabla 3. Rampa de congelamiento utilizada para los experimentos.	56
Tabla 4. Microorganismos colectados en la Península de Yucatán, Alzomoni y Ciudad de México y usados en el presente estudio.	61
Tabla 5. T ₅₀ de las especies de Fusarium reportados por Kunert et al. (2019).	71
Tabla 6. Temperaturas de congelación de propágulos fúngicos reportadas por Jayaweera and Flanagan (1982).	72
Tabla A1. Imágenes del microscopio y de los medios de cultivo de los propágulos fúngicos recolectados.	78

RESUMEN

Existen diferentes tipos de partículas de aerosol que tienen la capacidad de actuar como núcleos de glaciación de hielo (INPs, por sus siglas en inglés) afectando la formación de nubes y precipitación, y, por lo tanto, el ciclo hidrológico. Diversos estudios han demostrado que las partículas de origen biológico son los INPs más eficientes en nuestro planeta, dado que tienen la capacidad de nuclear hielo a temperaturas cercanas a 0°C. En el presente estudio se analizaron las habilidades como INPs de diferentes bacterias y propágulos fúngicos colectados y aislados en Mérida y Sisal (Yucatán), la estación de monitoreo atmosférico Altzomoni (Estado de México), y el Instituto de Ciencias de la Atmósfera y Cambio Climático, ICAYCC (antes Centro de Ciencias de la Atmósfera) (Ciudad de México).

La capacidad de nucleación de cada uno de los microorganismos aislados se llevó a cabo a través de la técnica de ensayo de congelamiento de gota o Droplet Freezing Assay (UNAM-DFA, por sus siglas en inglés). Se encontró que las bacterias colectadas en Yucatán y Altzomoni resultaron ser INPs ineficientes, dado que su acción como INP ocurre a temperaturas < -25°C. Sin embargo, se encontró que la bacteria *Ralstonia paucula*, aislada en Altzomoni, actúa como INP a -11.5°C. De los diferentes propágulos fúngicos colectados en el ICAYCC, la gran mayoría comenzaron a actuar como INPs a -20°C; sin embargo, se encontró que la temperatura media de congelación oscilaba entre -32 y -33°C. Si bien las biopartículas analizadas mostraron tener el potencial de impactar la formación de hielo dentro de las nubes mixtas, existe una gran variabilidad en sus habilidades como INPs.

1. CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN

1.1. Aerosol Atmosférico

Un aerosol se define como un sistema disperso de partículas sólidas o líquidas suspendidas en un gas portador, como lo es el aire en la atmósfera terrestre (Lohmann et al., 2016). Las partículas de aerosol pueden ser clasificadas en términos de su composición química y de acuerdo con sus características físicas como lo son su tamaño, forma y densidad, las cuales se mencionan en la sección 1.1.3.

1.1.1. Características de un aerosol

Las características de las partículas de aerosol tales como concentración, composición y distribución por tamaño son temporal y espacialmente muy variables (Pöschl, 2005). Dependiendo del tipo de partícula, el aerosol tiene diferentes propiedades que determinan su papel en los procesos atmosféricos (visibilidad, balance radiativo, electricidad atmosférica, contaminación del aire, formación de nubes, etc.) (Ramachandran, 2018). Se pueden utilizar varias propiedades fundamentales para caracterizar las partículas de aerosol, incluyendo propiedades químicas y físicas.

1.1.1.1. Propiedades físicas

1.1.1.1.1. Tamaño

El tamaño es la propiedad física más importante de las partículas de aerosol, ya que muchos de sus impactos en el sistema climático y la salud están relacionadas con él (Lohmann et al., 2016).

El tamaño de las partículas de aerosol abarca varios órdenes de magnitud, desde unos pocos nanómetros para las nuevas partículas producidas por nucleación, hasta decenas o cientos de micrómetros para las partículas más

grandes producidas por la fricción del viento con la superficie terrestre y del océano (Boucher, 2015). Existen modas para describir el tamaño de las partículas de aerosol asociados a su mecanismo de formación como se muestra en la **Tabla 1** (Lohmann et al., 2016).

Tabla 1. Modas de la distribución de tamaños de las partículas de aerosol (Modificada de Lohmann et al., 2016)

TABLA 1. MODAS DE AEROSOL CON SUS RANGOS DE RADIOS CORRESPONDIENTES	
MODA	RANGO EN RADIOS
Nucleación	1.5 - 5 nm
Aitken	5 nm - 0.05 μm
Acumulación	0.05 - 0.5 μm
Grueso	0.5 - 5 μm

Las partículas con un radio menor a 0.5 μm se definen como partículas de moda fina. El mayor número de partículas están dentro de la moda de nucleación, las cuales se encuentran en tamaños de 1.5 nm y 5 nm (Boucher, 2015). Debido a que estas partículas crecen rápidamente, su vida media en la atmósfera es de horas.

El crecimiento de estas partículas se da por la condensación de vapores sobre éstas y por la coagulación con otras partículas, formando partículas de moda Aitken cuyos tamaños varían entre 5 nm y 0.05 μm (Boucher, 2015). Estas partículas pueden tener un origen primario (natural o antropogénico) o secundario (a partir de partículas de la moda de nucleación).

La moda de acumulación presenta partículas en un rango de tamaños entre 0.05 μm y 0.5 μm . En la atmósfera, las partículas de la moda Aitken crecen hasta

formar parte de esta moda por medio de reacciones en fase líquida (Boucher, 2015; Ramachandran, 2018).

Tamaños de partículas superiores a 0.5 μm pertenecen a la moda gruesa para la cual la mayor parte de las partículas se forman por procesos mecánicos como la erosión de la superficie terrestre (material mineral) o por la explosión de burbujas en la superficie de mares y océanos (aerosol marino), es decir, el aerosol de origen primario. Las partículas de aerosol antropogénicas, como el hollín, se clasifican principalmente en el rango de moda fina, mientras que las partículas de aerosol natural, como el polvo mineral, en el rango de moda gruesa.

El componente de aerosol de sal marina que se refiere a las sales contenidas en el agua del mar se representa en las modas de acumulación y gruesa (Ramachandran, 2018), como se muestra en la **Figura 1**.

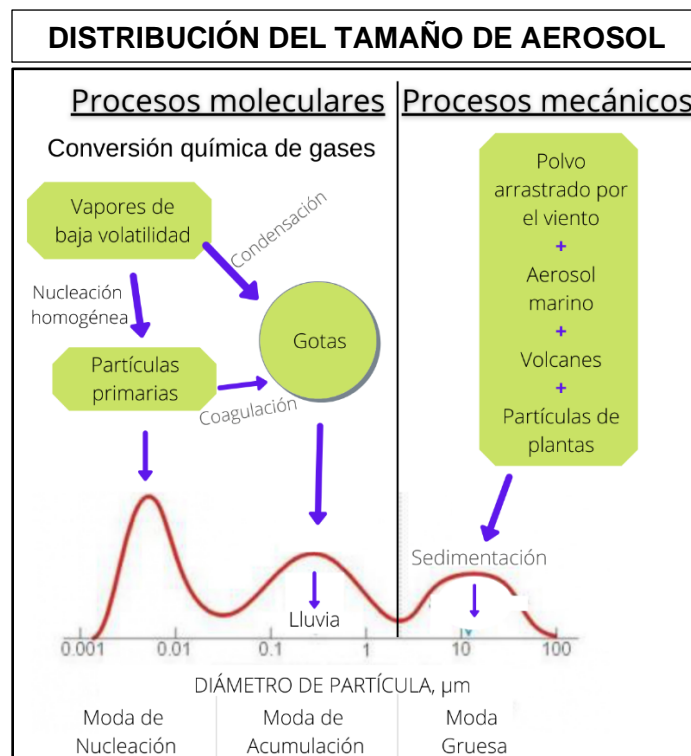


Figura 1. Tamaño de partículas de aerosol asociado a sus fuentes de emisión (Modificada de: <https://www.ems.psu.edu/>).

1.1.1.1.2. Morfología

Las partículas presentan una variedad de formas, como esferas, elipses, cubos, formas irregulares o geometría fractal, etc. (INE-SEMARNAT, 2009). La morfología de las partículas de aerosol es muy importante para determinar sus propiedades ópticas, ya que juegan un papel significativo en el balance radiativo (INE-SEMARNAT, 2009).

Las partículas de aerosol líquidas suelen ser aproximadamente esféricas, mientras que las partículas de aerosol sólidas suelen tener formas complejas. Las partículas de carbono negro, por ejemplo, a menudo se componen de aglomerados en forma de cadena larga (Lohmann et al., 2016); y las bacterias como la *Pseudomonas syringae* tienen forma de bastón con un diámetro y una longitud aproximada inferiores a 1 μm y 2 μm , respectivamente (Morris et al., 2004); mientras que el polen presenta una forma ovoide como se muestra en la **Figura 2** (Delort et al., 2017).

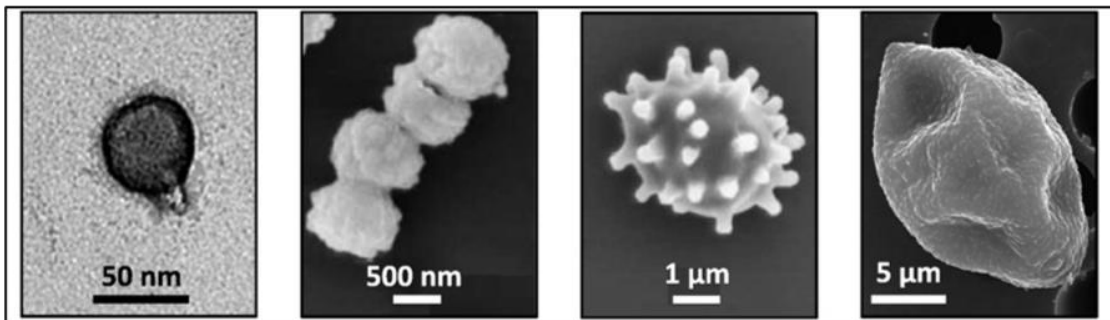


Figura 2. Morfología de diferentes tipos de bioaerosol. De izquierda a derecha: virus, bacteria, hongos y polen. Fotografías tomadas de Fröhlich-Nowoisky et al. (2016).

1.1.1.1.3. Densidad

La densidad de las partículas de aerosol (ρ) varía de 1.0 g cm^{-3} para el carbono negro a 2.6 g cm^{-3} para el polvo mineral. Sin embargo, para partículas de aerosol solubles en agua la densidad es 1.8 g cm^{-3} , mientras que la ρ para partículas insolubles es 2.0 g cm^{-3} . Las partículas de sal marina tienen una densidad de 2.2 g cm^{-3} (Ramachandran, 2018).

La ρ de componentes de aerosol higroscópico (soluble en agua, sulfato y sal marina) disminuye con el aumento de la humedad relativa (Ramachandran, 2018).

1.1.1.1.4. Concentración

En la tropósfera, el número total de partículas y las concentraciones de masa varían en el rango aproximado de 10^2 y 10^5 cm^{-3} y $1 \text{ } \mu\text{g m}^{-3}$ y $100 \text{ } \mu\text{g m}^{-3}$, respectivamente (Pöschl, 2005).

La concentración másica de las partículas de aerosol puede oscilar desde unos pocos $\mu\text{g m}^{-3}$ en un aire limpio a varias centenas de $\mu\text{g m}^{-3}$ en una atmósfera contaminada (Manahan, 2007).

Las partículas de aerosol también se pueden clasificar en PM_{10} y $\text{PM}_{2.5}$ para referirse a las partículas con diámetros iguales o menores a $10 \text{ } \mu\text{m}$ y $2.5 \text{ } \mu\text{m}$, respectivamente (Fromme et al., 2008). Las PM_{10} pueden contener material biológico como polen, esporas, virus, o bacterias; o provenir de la combustión incompleta de combustibles fósiles. Por otro lado, las $\text{PM}_{2.5}$ están formadas primordialmente por material proveniente de la combustión, donde una gran proporción de esta fracción, son secundarias. Las concentraciones másicas se describen en la **Tabla 2**.

Tabla 2. Concentraciones numéricas y de masa en el aire cercano a la superficie para diferentes tipos de partículas de aerosol biológico primario (PBA). Modificado de Fröhlich-Nowoisky et al. (2016).

	Concentración numérica [m ⁻³]	Concentración másica [µg m ⁻³]
Bacteria	~10 ⁴	~0.1
Esporas	~10 ³ -10 ⁴	~0.1-1.0
Polen	~10 (hasta ~10 ⁴)	~1.0
Restos de plantas		~0.1-1.0
Algas	~100 (hasta ~10 ³)	~10 ⁻³
Partículas virales	~10 ⁴	~10 ⁻³

La concentración numérica y la másica de partículas primarias de aerosol de origen biológico sobre las regiones con vegetación son típicamente del orden de ~10⁴ m⁻³ y ~1 µg m⁻³, respectivamente.

1.1.1.2. Propiedades químicas

El estado de la materia, es decir, si las partículas de aerosol son líquidas o sólidas, determina la capacidad de las partículas para actuar como núcleos de condensación de nubes (CCN, por sus siglas en inglés) o como núcleos de hielo (INP, por sus siglas en inglés) (Lohmann et al., 2016).

Las partículas acuosas pueden activarse para convertirse en gotas de nube en nubes cálidas, mientras que las partículas de aerosol sólidas o cristalinas promueven la formación de cristales de hielo y las nubes de fase mixta (Lohmann et al., 2016).

Las reacciones químicas que ocurren en la superficie de las partículas de aerosol (sólidas y líquidas) pueden influir en la química atmosférica de la fase gaseosa, así como, en las propiedades fisicoquímicas de las partículas atmosféricas (Pöschl, 2005).

1.1.1.2.1. Composición

La composición química del aerosol es otro parámetro clave que controla la higroscopicidad del aerosol, es decir, su capacidad para absorber agua y crecer en tamaño a medida que aumenta la humedad relativa. La higroscopicidad también determina la facilidad con la que una partícula de aerosol puede ser eliminada de la atmósfera por la lluvia, su capacidad para actuar como CCN y/o INP, o sus propiedades ópticas (Boucher, 2015).

Los componentes químicos predominantes en el aerosol son sulfato, nitrato, amonio, sal marina, polvo mineral, compuestos orgánicos y carbono negro o elemental, cada uno de los cuales suele contribuir entre el 10 y el 30% de la carga total de masa (Pöschl, 2005). Las partículas biológicas están compuestas de material orgánico (principalmente C, H, O y N), generalmente como una mezcla de proteínas, lípidos y azúcares (Pöschl, 2005).

La composición de las partículas individuales puede ser bastante uniforme (partículas de aerosol mezcladas internamente) o muy diferente de la composición del conjunto (partículas de aerosol mezcladas externamente), dependiendo de las fuentes de partículas y los procesos de envejecimiento atmosférico involucrados (coagulación, conversión gas-partículas, reacciones químicas, etc.) (Lohmann et al., 2016; Pöschl, 2005).

La mezcla de partículas de aerosol se produce mediante la coagulación de partículas de diferente composición química, tanto en el exterior, como en el interior de las nubes y por la condensación de compuestos sobre partículas preexistentes (Pöschl, 2005).

1.1.2. Fuentes de emisión

El aerosol atmosférico puede ser generado por diferentes procesos, tanto de origen natural, como de origen antropogénico.

1.1.2.1. Naturales y Antropogénicas

Las fuentes naturales hacen referencia a aquellas que emiten partículas de aerosol a la atmósfera por medio de procesos naturales como los que ocurren en los océanos, suelos (polvo del suelo arrastrado por el viento), vegetación (material biológico de origen vegetal), incendios (humo de la quema de biota terrestre), volcanes (eyecciones por erupciones volcánicas) y meteoritos (polvo extraterrestre e interplanetario) (Delort et al., 2017; Pöschl, 2005; Ramachandran, 2018).

Las fuentes antropogénicas están dominadas por las actividades humanas, en gran medida por las emisiones de la combustión de combustibles fósiles (es decir, carbón y petróleo), biocombustibles (biomasa vegetal), e incendios de vegetación causados por humanos. Las actividades industriales, el transporte, la calefacción o incluso las actividades domésticas relacionadas con la cocina son fuentes antropogénicas importantes de partículas de aerosol (Delort et al., 2017, Lohmann et al., 2016; Ramachandran, 2018).

1.1.3. Fuentes de remoción: Depósito seco y Depósito húmedo

La eliminación de partículas de aerosol de la atmósfera se lleva a cabo principalmente por dos mecanismos: depósito seco y depósito húmedo.

El depósito seco constituye la remoción de partículas de aerosol de la atmósfera por sedimentación debido a la gravedad y el consiguiente impacto sobre la superficie de la Tierra (Boucher, 2015; Lohmann et al., 2016). La velocidad con la que una partícula de aerosol entra en contacto con la superficie depende del tamaño, la densidad, la forma y otras características del aerosol.

El movimiento browniano ocurre cada vez que la partícula es golpeada por una molécula de gas, se le transfiere impulso, lo que hace que cambie su dirección de movimiento, esto conduce a un movimiento aleatorio en las partículas que se

encuentran en la atmósfera (Lohmann et al., 2016). El movimiento browniano acelera el depósito seco de las partículas más pequeñas debido a la amplia aleatoriedad que presentan, esto ocasiona que las partículas en las proximidades de la superficie colisionen y, por lo tanto, se eliminen a una velocidad significativa (Lohmann et al., 2016). Por lo tanto, la velocidad del depósito seco es menor para partículas de aerosol de tamaño de acumulación y aumenta hacia tamaños más pequeños debido al movimiento browniano.

La velocidad de depósito seco aumenta para partículas con radios mayores de 0.5 μm , cuando el asentamiento gravitacional comienza a convertirse en la fuerza dominante. El depósito seco es el sumidero dominante para las partículas de aerosol de moda gruesa. Para partículas más pequeñas, la velocidad de depósito es lo suficientemente pequeña como para que las partículas se sometan a uno de los procesos que conducen al depósito húmedo (Lohmann et al., 2016).

La remoción de partículas de aerosol mediante el depósito húmedo implica la presencia de hidrometeoros (partículas de agua líquida o sólida que pueden estar suspendidas en la atmósfera) (Lohmann et al., 2016; OMM, 2017). Este mecanismo ocurre cuando un hidrometeoro (gotas, cristales de hielo o copos de nieve) recolecta partículas de aerosol a su paso, removiéndolas de la atmósfera (Boucher, 2015). El depósito húmedo es el mecanismo dominante para las partículas en moda Aitken y acumulación (Lohmann et al., 2016).

Este proceso de "depósito húmedo" es el principal sumidero de partículas de aerosol atmosférico. El "depósito seco" por sedimentación y difusión tiende a ser menos importante a escala planetaria, pero es particularmente relevante con respecto a la calidad del aire local y los efectos sobre la salud (inhalación y depósito en el tracto respiratorio) (Fröhlich-Nowoisky et al., 2016).

1.1.4. Tiempo de vida media

Dependiendo de las propiedades del aerosol y las condiciones meteorológicas, los tiempos de residencia característicos (vida útil) de las partículas de aerosol en la atmósfera varían de horas a semanas (Fröhlich-Nowoisky et al., 2016).

La vida útil de las partículas de aerosol aumenta con la altitud, cuanto más alto se inyectan a la atmósfera, por ejemplo, las partículas de polvo mineral, mayor será su vida útil (Lohmann et al., 2016). Por el contrario, la sal marina tiene el mayor flujo de emisión, pero las partículas permanecen cerca de la superficie en el aire húmedo, donde la sal marina se elimina muy rápidamente por depósito húmedo y seco (Lohmann et al., 2016). Por tanto, la vida útil de las partículas de sal marina (medio día a dos días aproximadamente), es de las más cortas de las diferentes especies de aerosol (Lohmann et al., 2016; Ramachandran, 2018).

De las tres especies antropogénicas: partículas de sulfato, carbono negro (BC, por sus siglas en inglés) y materia orgánica particulada (POM, por sus siglas en inglés), las partículas de sulfato tienen la vida más corta (4 días). Es más corta que la de BC y del POM debido a que éstas son hidrófobas cuando se inyectan en la atmósfera. Se necesitan unos pocos días para convertir las partículas de BC y POM en partículas de aerosol mezcladas que contienen algún material soluble. Solo a partir de entonces se pueden eliminar de la atmósfera estas partículas. Por lo tanto, la vida útil de las partículas BC y POM es de 2 a 3 días más larga que la de las partículas de sulfato (Lohmann et al., 2016; Ramachandran, 2018).

Debido a que las eficiencias de eliminación tanto en seco como en húmedo son más pequeñas para la moda de acumulación, la vida útil de las partículas de aerosol es mayor en esta moda. Es alrededor de una semana en los primeros 1.5 km de la atmósfera, dos semanas en la tropósfera media, y más de 100 días en la región de la tropopausa y alturas superiores (Lohmann et al., 2016).

La vida útil disminuye para las partículas más pequeñas debido al movimiento browniano, que puede resultar en una colisión con un hidrometeoro o en una coagulación con otra partícula lo cual crea una partícula de aerosol de mayor tamaño. La vida útil disminuye para las partículas más grandes debido a la sedimentación gravitacional con la posterior eliminación por depósito seco y una mayor probabilidad de eliminación debido a su capacidad para actuar como CCN (Lohmann et al., 2016).

1.1.5. Partículas de aerosol primarias vs. secundarias

Las partículas de aerosol se pueden clasificar en primarias y secundarias. Las partículas de aerosol primarias son aquellas que se emiten directamente a la atmósfera, es el caso de las partículas producidas por el efecto del rozamiento del viento sobre una superficie oceánica o terrestre y las partículas producidas durante una combustión incompleta (Boucher, 2015; Lohmann et al., 2016).

Se les designa como partículas de aerosol secundarias a aquellas partículas que se forman en la atmósfera a través de la interacción de partículas primarias con gases atmosféricos o a partir de la conversión de gas-partícula en la formación de nuevas partículas (Boucher, 2015; Lohmann et al., 2016). La formación de partículas secundarias es la principal fuente de partículas con un radio menor a 1 μm (Ramachandran, 2018).

1.1.6. Bioaerosol

El bioaerosol hace referencia a las partículas de aerosol primarias de origen biológico (PBA, por sus siglas en inglés). Son partículas con tamaños que varían entre 0.1 μm y 100 μm . Algunos ejemplos de PBA son bacterias, virus, propágulos fúngicos y sus productos metabólicos, así como polen, e incluso pequeños insectos y sus desechos (Hurtado et al., 2014; Fröhlich-Nowoisky et al., 2016; Delort et al., 2017). Los PBA, son liberados a la atmósfera desde la

biósfera por diferentes mecanismos como explosión de burbujas, erosión, y vientos (Ramachandran, 2018; Rodríguez-Gómez et al., 2020).

El bioaerosol representa aproximadamente el 30% de las partículas de aerosol en el aire urbano y rural (Huertas et al., 2018). Estas partículas tienen una gran importancia en el sistema climático dado que pueden actuar como CCNs, INPs y conducir a la formación de precipitación, lo que influye en el ciclo hidrológico y el clima (Fröhlich-Nowoisky et al., 2016). Especialmente en aire limpio sobre regiones con vegetación, es probable que los PBAs sean un factor regulador esencial en la formación de precipitación y viceversa (Fröhlich-Nowoisky et al., 2016).

En el curso del transporte atmosférico, los PBAs experimentan una transformación química y física adicional, estrés y envejecimiento biológico al interactuar con la radiación UV, fotooxidantes y diversos contaminantes del aire como ácidos, óxidos de nitrógeno, compuestos aromáticos, y hollín.

A continuación, se describen las características más relevantes de las partículas biológicas más importantes.

1.1.6.1. Microalgas

Las microalgas son aquellos microorganismos que contienen clorofila y son capaces de realizar fotosíntesis (Gómez, 2017).

Se le denomina fitoplancton a todas las partículas muertas o vivas que se mueven a merced de las aguas (Gómez, 2017); las diatomeas son un grupo de microalgas unicelulares que constituye uno de los tipos más comunes de fitoplancton y son dominantes en las regiones polares. Las diatomeas están constituidas por paredes celulares silíceas (frústulas) en una matriz de proteínas y polisacáridos.

Las diatomeas y los dinoflagelados son los dos grupos más diversos y dominantes en el fitoplancton marino en México. En aguas mexicanas de ambos litorales se han reconocido especies de los géneros *Prochlorococcus* y *Synechococcus* (Hernández-Becerril, 2014). En el Golfo de México (GdM) las diatomeas son más abundantes y representan el 50% del fitoplancton (Murrell et al. 2004) y hay evidencia de poblaciones importantes de *Micromonas pusilla* en el sur del GdM (Hernández-Becerril, 2014). En cuanto al Pacífico Mexicano podemos encontrar las siguientes especies: *Micromonas pusilla*, *Nephroselmis olivacea*, *Pyramimonas orientalis*, *P. cordata* y *Resultor mikron* (Hernández-Becerril, 2014).

El clima cálido se ha relacionado con la selección de especies de diatomeas más pequeñas que se aerosolizarían más fácilmente y con una mayor productividad de estas debido a una mezcla turbulenta impulsada por el viento y una disminución de la capa de hielo marino del Ártico. Un ejemplo de diatomea presente en el aerosol marino es la *Thalassiosira pseudonana* (Knopf et al., 2010).

El fitoplancton juega un papel muy importante en el sistema climático ya que es responsable de más del 45% de la producción de materia orgánica neta del planeta, produciendo alrededor del 50% de la fotosíntesis total (Hernández-Becerril, 2014). En el equilibrio de la reacción respiración-fotosíntesis, los organismos fotosintetizadores juegan un papel importante. Una parte de los fotosintetizadores son plantas terrestres, pero el mar ocupa el 70% de la superficie del planeta y recibe la gran mayoría de la radiación solar. Por lo tanto, una parte clave del equilibrio estará en los organismos fitoplanctónicos, los cuales realizan el balance del dióxido de carbono en la Tierra (Hernández-Becerril, 2014).

1.1.6.2. Bacterias

Las bacterias son microorganismos que presentan un tamaño de unos pocos micrómetros (por lo general entre 0.5 y 5 μm de longitud) y diversas formas, incluyendo esferas (cocos), barras (bacilos), filamentos curvados (vibrios) y helicoidales (espirilos y espiroquetas) (Murray, 2009).

Las bacterias se pueden clasificar en dos grandes grupos según la estructura de la pared celular: Gram positivas y Gram negativas. Una alta frecuencia de bacterias Gram negativas es un indicador de una posible fuente de contaminación. Las bacterias Gram positivas tienen una pared celular de peptidoglicano que las hace más resistentes a ambientes hostiles como la desecación y la radiación solar (Huertas et al.2018).

Se ha encontrado que la densidad promedio de bacterias en la atmósfera en los continentes es de aproximadamente 10^{-2} a 10^{-1}cm^{-3} (Hoose et al., 2010). Aunque esta concentración es relativamente baja en comparación con la de las partículas de polvo mineral (65 cm^{-3}).

Los géneros de bacterias más predominantes en la atmósfera son *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Corynebacterium* y *Pseudomonas* (Rodríguez-Gómez et al., 2020).

Algunos géneros de bacterias marinas son las *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Actinomycetae*, entre otras. En la Península de Yucatán se encontró que los filos bacterianos identificados predominantes eran Proteobacteria, Actinobacteria y Firmicutes. Sin embargo, reportaron 42.0% de Firmicutes, 27.3% de Actinobacteria, 26.1% de Proteobacteria y 4.6% de Bacteroidetes, respectivamente (Rodríguez-Gómez et al., 2020, Rodríguez-Gómez et al., 2005).

En la Ciudad de México, García-Mena et al. (2016) encontraron los mismos filos bacterianos que los reportados por Rodríguez-Gómez et al. (2020), mientras que los géneros de la familia Enterobacteriaceae, los más abundantes fueron *Bacillus spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Acinetobacter spp.*, *Erwinia spp.*, *Gluconacetobacter spp.*, *Proteus spp.*, y *Staphylococcus spp* (Dominguez-Malfavón et al., 2007)

Las bacterias son miembros muy importantes de las comunidades microbianas terrestres con un papel en los ciclos biogeoquímicos (como el carbono, el nitrógeno o el fósforo), incluso hay evidencia de que participan en fenómenos atmosféricos relacionados con la química y la formación de nubes (García-Mena et al., 2016).

Las bacterias actúan como degradadores primarios de la materia orgánica producida por las algas microscópicas de los océanos a través de la fotosíntesis, o de la materia orgánica que llega al mar a través de ríos y de las aguas residuales. A través del proceso de degradación, las bacterias liberan al agua elementos esenciales para la red trófica, como el nitrógeno o el fósforo (Bunse et al., 2016).

1.1.6.3. Virus

Un virus es un agente infeccioso microscópico acelular que sólo puede replicarse dentro de las células de otros organismos (ICTV, 2020).

Actualmente se han descrito más de 5000, y algunos autores opinan que podrían existir millones de tipos diferentes (Lawrence et al., 2009). Los virus se hallan en casi todos los ecosistemas de la Tierra; son la entidad biológica más abundante, su tamaño es del orden de unos 10 nm (Edwards et al., 2005).

La importancia de los virus en los ecosistemas se debe a que los virus determinan procesos ecológicos fundamentales, tales como la regulación de ciclos biogeoquímicos, el control de poblaciones, la estructuración de las comunidades, el metabolismo de las profundidades marinas y el funcionamiento general del ecosistema más grande de nuestra biosfera (Danovaro et al., 2008). La evidencia creciente indica que la infección viral puede ser responsable de la alta mortalidad de organismos autótrofos y heterótrofos en la superficie de los océanos, con efectos en cascada sobre el ciclo del carbono y la regeneración de nutrientes (Danovaro et al., 2008).

1.1.6.4. Propágulos fúngicos

Los propágulos fúngicos son microorganismos ubicuos: en plantas, suelo, animales, agua, interiores, etc. (Delort et al., 2017). La forma y tamaño (típicamente entre 2 μm y 56 μm de diámetro) de las esporas varían entre especies. Los propágulos y esporas de hongos generalmente se detectan en sitios tropicales en concentraciones reportadas en unidades formadoras de colonias (UFC), unidad usada para estimar el número de células viables (capacidad de multiplicarse) de bacterias o de esporas en una muestra, para el caso de los propágulos fúngicos la unidad de medida es superior a 150 UFC m^3 (Ponce et al., 2013).

Se considera que los propágulos fúngicos crecen más fácilmente en áreas con clima cálido y húmedo. Las condiciones favorables para el crecimiento de hongos son de humedades relativas superiores al 75% y temperaturas entre 21°C y 30°C, una temperatura más alta presenta un número menor de propágulos fúngicos en el aire (Ponce et al., 2013).

Los géneros de esporas que se encuentran en la atmósfera son *Cladosporium* (constituye aproximadamente el 40% del recuento total de esporas), *Penicillium*

digitatum (se encuentran en la atmósfera ártica), así como *Fusarium*, y *Alternaria* (Yacobi-Hancock et al., 2013).

Ponce et al. (2013) identificaron en Mérida (México) 19 géneros fúngicos entre los que se encuentran principalmente *Fusarium spp.*, *Cladosporium spp.*, *Penicillium spp.*, *Aspergillus spp.* y *Acremonium*.

Los propágulos fúngicos juegan un papel fundamental en los procesos biogeoquímicos, afectando la disponibilidad de agua y nutrientes para las plantas, lo cual a su vez influye en la productividad del ecosistema, favoreciendo la presencia de patógenos o incluso provocando la muerte de las plantas. Por lo tanto, las alteraciones en las interacciones bióticas pueden originar cambios en la microfauna. También son relevantes para la ecología porque pueden, potencialmente, influir en la química y física atmosférica, la biosfera y el clima al actuar como CCNs e INPs afectando la formación de niebla y hielo en nubes de fase mixta (Ramos et al., 2017).

1.1.6.5. Polen

El polen es el elemento fertilizante masculino de las plantas, comúnmente contienen polisacáridos en su superficie (Yakobi-Hancock et al., 2013). Son granos de forma ovoide con un tamaño promedio de alrededor de 30 μm y 40 μm (Delort et al., 2017); sin embargo, el polen de *Myosotis spp.* puede ser tan pequeño como 7 μm , mientras que los granos de polen de Cucurbitáceas pueden alcanzar diámetros de más de 100 μm (Delort et al., 2017).

Se ha estimado que el promedio de densidad de polen en la atmósfera continental es de aproximadamente 10^{-6} a 10^{-5} cm^{-3} , y está sujeto a una gran variabilidad estacional (Yakobi-Hancock et al., 2013).

Calderon-Ezquerro et al. (2018) encontraron que el polen en el aire de la Ciudad de México está dominado por polen de árbol: *Fraxinus spp.* (40,2%), *Cupressaceae* (29,9%), *Alnus spp.* (5,4%) *Pinus* (4,3%) y *Quercus* (3,8%), entre otros. El polen de plantas herbáceas solo representa el 5% del total, con mayores concentraciones de polen de *Poaceae* (2.5%), pero también de *Urticaceae* (1.4%), entre otros.

El polen es importante debido a que la polinización contribuye a la reproducción de una gran variedad de plantas, lo que permite el crecimiento de nuevos árboles, plantas y la generación de bosques, los que a su vez contribuyen a conservar la biodiversidad, a captar el dióxido de carbono de la atmósfera y al sustento de animales y aves (FAO, 2020).

1.1.7. Nubes

Las nubes están formadas por gotas de agua y/o cristales de hielos suspendidos en la atmósfera. Para que una nube sea visible, las partículas de la nube deben existir en una concentración suficientemente grande (Lohmann et al., 2016).

Las nubes se forman a partir de aire sobresaturado (humedad relativa > 100%) respecto al agua líquida o del hielo, principalmente por alguno de los siguientes mecanismos: convección, convergencia o forzamiento topográfico (por orografía) (Wallace and Hobbs, 2006).

En promedio anual (mundial), aproximadamente el 70% de la superficie de la Tierra está cubierta de nubes. La cobertura de nubes es entre un 5% y un 15% más alta sobre los océanos que sobre la superficie terrestre (Lohmann et al., 2016).

1.1.7.1. Clasificación de nubes

Existen diferentes tipos de nubes según sus propiedades microfísicas: las nubes cálidas, las nubes frías, y las nubes de fase mixta (Lohmann et al., 2016).

1.1.7.1.1. Nubes cálidas

Un pequeño subconjunto del aerosol atmosférico (CCN) sirve como partículas sobre las que el vapor de agua se condensa para formar gotas, las cuales crecen por condensación para formar gotas de nube (Wallace and Hobbs, 2006).

Las nubes denominadas nubes cálidas, contienen solo gotas de agua (Wallace and Hobbs, 2006). Su temperatura puede estar por encima o por debajo de 0°C siempre que no haya partículas de hielo (Lohmann et al., 2016; Wallace and Hobbs, 2006). Pueden existir nubes cálidas hasta temperaturas cercanas a los -38°C, por debajo de las cuales el agua se congela de manera homogénea (Lohmann et al., 2016).

La aparición de nubes cálidas disminuye con el descenso de la temperatura, comenzando entre el 40% y el 100% del tiempo a temperaturas superiores a -5°C. Una pequeña fracción de nubes cálidas todavía se encuentra a temperaturas por debajo de -30°C (Lohmann et al., 2016).

1.1.7.1.2. Nubes frías

Las nubes frías pueden consistir puramente en cristales de hielo y pueden ocurrir a todas las temperaturas por debajo de 0°C. La frecuencia de aparición de nubes de hielo aumenta con la disminución de la temperatura, comenzando entre 0% y 30% a temperaturas superiores a -5°C a más del 80% a temperaturas inferiores a -30°C, en conjuntos de datos obtenidos en Canadá e Israel (Lohmann et al., 2016).

1.1.7.1.3. Nubes mixtas

A las nubes con una mezcla de cristales de hielo y gotitas de nube se les conoce como nubes de fase mixta (Lohmann et al., 2016). Aunque la temperatura puede estar por debajo de 0°C, las gotas de agua todavía pueden existir en las nubes, en cuyo caso se las conoce como gotas superenfriadas (Wallace and Hobbs, 2006).

Las nubes de fase mixta se pueden encontrar entre 0°C y -38°C (Hoose et al., 2010). Su frecuencia de ocurrencia alcanza un pico entre -20°C y -25°C con más del 80% en las nubes orográficas estudiadas en los Alpes (Lohmann et al., 2016).

1.1.7.2. Importancia de las nubes en el sistema climático

El clima de la Tierra está determinado por numerosos procesos físicos, químicos y biológicos interconectados, que ocurren en la atmósfera, en los océanos y en la superficie. Las nubes son importantes en el sistema climático de la Tierra debido al papel que juegan en el balance radiativo. Las nubes pueden atrapar la radiación infrarroja emitida por la Tierra y al mismo tiempo pueden reflejar la radiación solar visible entrante, teniendo así un efecto de calentamiento y enfriamiento en la Tierra, respectivamente (**Figura 3**) (Lohmann et al., 2016; Yakobi-Hancock et al., 2013).

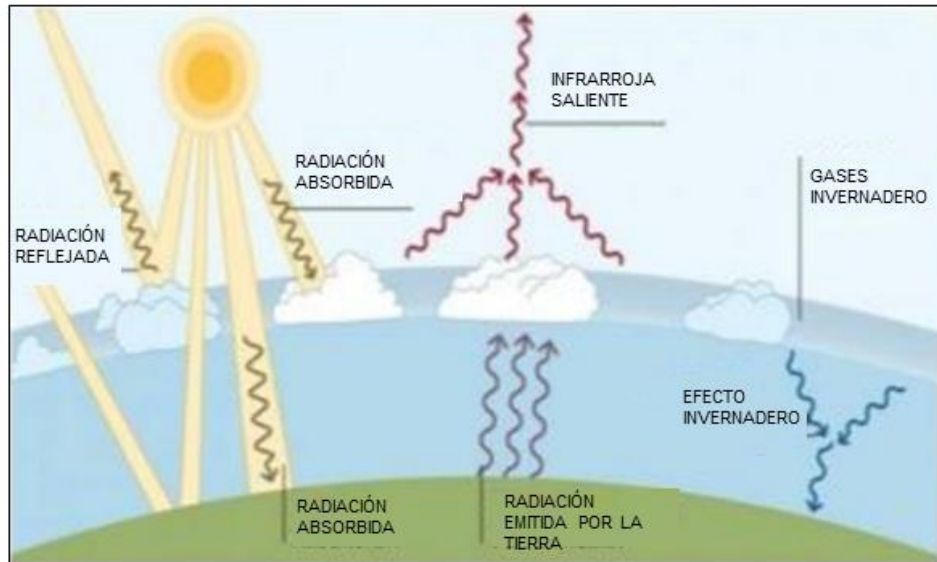


Figura 3. Esquema del balance de radiación solar. Se puede apreciar que las nubes afectan las propiedades radiativas. Tomada de: www.studocu.com/es/document/universitat-de-valencia/meteorologia/resumenes/t04y05-balance-radiativo/2502320/view

En el ciclo hidrológico, las nubes transportan agua de la atmósfera a la superficie de la Tierra en forma de lluvia o nieve. La precipitación elimina los gases solubles y las partículas de aerosol de la atmósfera, y posteriormente las deposita en la superficie. Además, las nubes proporcionan un medio para las reacciones químicas en fase acuosa, es decir, reacciones que tienen lugar dentro de las gotas de las nubes (Lohmann et al., 2016).

Debido a que entre el 60% y el 70% de la precipitación total es iniciada por nubes frías, estas nubes controlan sustancialmente el intercambio de agua entre el océano y los continentes, así como, entre la superficie planetaria y la atmósfera (Lohmann et al., 2006).

1.1.7.3. Formación de nubes

Las partículas de aerosol son necesarias para formar nubes, ya que las moléculas de agua en la atmósfera necesitan algún lugar para condensarse. Sin la presencia de partículas de aerosol, las condiciones termodinámicas normales en la atmósfera son demasiado desfavorables para que el agua se condense y

se formen gotas de nube o cristales de hielo, por lo cual dicha formación solo toma lugar cuando existen partículas de aerosol que actúen como CCN o INPs.

1.1.7.4. Núcleos de hielo

La formación de hielo dentro de las nubes es facilitada por la presencia de INPs (Kanji et al. 2017).

Los INPs reducen la barrera energética que se lleva a cabo en la nucleación del hielo, logrando que cristales de hielo se formen a temperaturas mayores a -38°C pudiendo llegar a temperaturas cercanas a los 0°C (Kanji et al., 2017; Zhang et al., 2020).

Existen dos tipos de INP, los biológicos y los no biológicos, los cuales son ubicuos en las nubes y en la precipitación. Los INP no biológicos (como el polvo mineral y el hollín) predominan a temperaturas inferiores a -15°C (Hoose et al., 2012). Sin embargo, los INP biológicos (como el polen, las bacterias, las esporas de hongos y el plancton), tienen proteínas de nucleación de hielo las cuales, pueden desencadenar la congelación de las gotas líquidas a temperaturas más cálidas ($> -15^{\circ}\text{C}$) (Murray et al., 2012).

1.1.7.5. Mecanismos de formación de hielo

Existen dos procesos para la formación de hielo dentro de las nubes: nucleación homogénea y nucleación heterogénea.

La nucleación es aquel proceso por el cual se inicia una transición de fase a partir de una fase estable pre-existente, bajo condiciones críticas de sobresaturación (depósito, condensación) o de sobre enfriamiento (congelación).

Al proceso que no requiere de la presencia de partículas de aerosol y que ocurra a temperaturas muy bajas ($<-38^{\circ}\text{C}$) así como de altas humedades relativas respecto al hielo ($\text{RH}_i >145\%$) se le conoce como nucleación homogénea (Kanji et al., 2017). Si bien la nucleación homogénea es importante para la formación de las nubes cirros, la nucleación heterogénea es el proceso dominante mediante el cual se forman las nubes de fase mixta (Tobo, 2016; Yakobi-Hancock et al., 2013).

La formación de cristales de hielo vía nucleación heterogénea requiere de la presencia de partículas de aerosol las cuales actúan como INPs. Como se mencionó anteriormente los INPs reducen la energía para que se lleve a cabo la nucleación de hielo, logrando que los cristales de hielo se formen a temperaturas cercanas a 0°C y a RH_i menores que las requeridas para la nucleación homogénea (Kanji et al., 2017; Wright et al., 2017).

La nucleación heterogénea de cristales de hielo puede ocurrir a través de cuatro diferentes mecanismos: condensación, contacto, depósito e inmersión como se muestra en la **Figura 4** (Kanji et al., 2017; Lohmann et al., 2016; Ramachandran, 2018).

1.1.7.5.1. Nucleación por condensación

Este mecanismo ocurre cuando el vapor de agua se condensa sobre la superficie de un INP formando una gota líquida, la cual se congela inmediatamente (Kanji et al., 2017; Lohmann et al., 2016).

Como los INP en general contienen al menos una pequeña cantidad de compuestos solubles además de la parte insoluble, pueden actuar como CCN a sobresaturaciones de solo una fracción de un porcentaje. Por lo tanto, la congelación por condensación puede ocurrir solo en el rango estrecho de valores

de sobresaturación antes de que se active el CCN y tenga lugar la congelación por inmersión en gotas de nubes (Lohmann et al., 2016).

1.1.7.5.2. Nucleación por contacto

En este mecanismo un INP se acerca a la interfaz aire-agua ya sea desde el interior (cuando un INP toca la superficie de la gota desde el interior de la gota) o desde el exterior de una gota superenfriada y posteriormente colisiona formando el cristal de hielo (Kanji et al., 2017; Lohmann et al., 2016).

La evaporación de una gota podría conducir a la congelación por contacto de adentro hacia afuera y las colisiones de partículas pueden proporcionar energía del impacto del INP con la superficie de la gota para congelarla. La frecuencia con la que ocurren estos dos mecanismos en la atmósfera sigue siendo poco conocida, pero su contribución podría ser relevante para las nubes de fase mixta (Ladino et al., 2013).

Estudios han mostrado que la eficiencia de la congelación por contacto domina sobre la congelación por inmersión.

1.1.7.5.3. Nucleación por depósito

La nucleación del hielo por depósito es el único mecanismo de nucleación heterogénea en el que se presume que no hay agua líquida, debido a que el vapor de agua (sobresaturado con respecto al hielo, $RH_i > 100\%$) se deposita directamente sobre el INP (Kanji et al., 2017; Lohmann et al., 2016).

Recientemente, Marcolli (2014) sugirió que el depósito también podrían ser condensación y congelación de poros que ocurren por condensación de agua en cavidades que se encuentran en las superficies de INP seguido de congelación homogénea a temperaturas suficientemente bajas ($T < -38^\circ\text{C}$).

Este mecanismo no es significativo para la formación de hielo en las nubes de fase mixta, donde se espera que los INP se activen primero a gotas (Ansmann et al., 2008), pero podría ser importante para las nubes cirros.

1.1.7.5.4. Nucleación por inmersión

Este proceso ocurre cuando el INP insoluble se encuentra inmerso en una gota de agua superenfriada debido a la activación de un CCN, y al disminuir la temperatura de la gota esta procede a congelarse gracias al INP inmerso en ella. Este mecanismo ha sido identificado como el más importante para la formación de las nubes en fase mixtas (Kanji et al., 2017; Lohmann et al., 2016; Tobo, 2016).

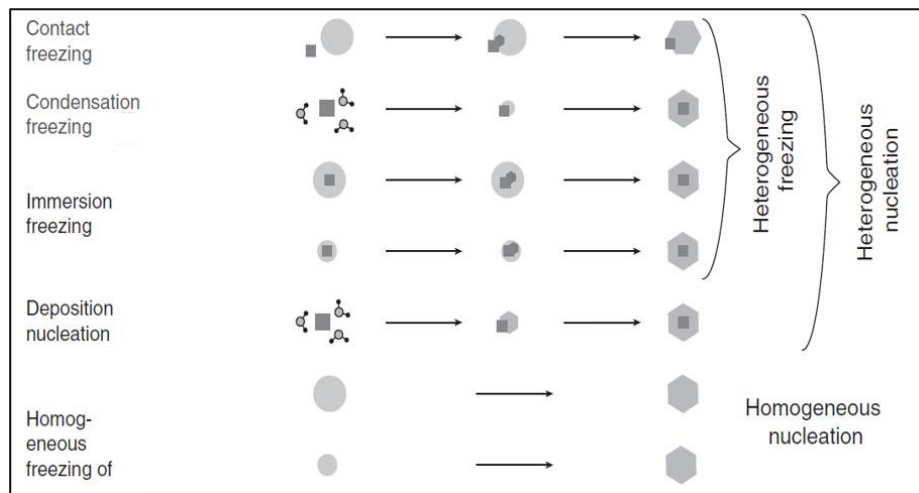


Figura 4. Representación de nucleación homogénea, así como de los cuatro mecanismos de la nucleación heterogénea. Modificado de Lohmann et al. (2016).

1.1.7.6. Partículas biológicas que actúan como INPs

Bacterias:

La habilidad de las bacterias para actuar como INP se debe a la capacidad de los genes que codifican una proteína de nucleación de hielo que se ubica en la membrana celular bacteriana. Esta proteína inicia la nucleación del hielo al orientar las moléculas de agua en una estructura cristalográfica similar al hielo (Morris et al., 2004).

Además, estudios sobre SNOMAX (material disponible comercialmente para la producción de nieve artificial el cual contiene bacterias *Pseudomonas syringae*) mostraron que para *Pseudomonas syringae*, la nucleación del hielo se puede inducir en el rango de temperatura de aproximadamente -2°C a -10°C (Wex et al., 2015). Debido a la temperatura de congelación que presenta la *Pseudomonas syringae*, éstas se encuentran entre los INP más eficientes (Hoose et al., 2010).

Propágulos fúngicos:

Se sabe que el género cosmopolita *Fusarium* puede regular la expresión génica para la producción de INP, dependiendo de las condiciones ambientales como la disponibilidad de nutrientes (Kuner et al., 2019). Otras esporas de hongos reconocidas como buenos INPs, debido a que inician la congelación a temperaturas tan altas como a -10°C son las *Penicillium digitatum*, las cuales se encuentran en la atmósfera ártica (Yacobi-Hancock et al., 2013).

Polen:

Pummer y colaboradores (2012) encontraron que el rango de las temperaturas a las cuales nuclean varias especies de polen provenientes de abedul y coníferas era de -13.2°C y -18.5°C , lo cual se le atribuye a la presencia de polisacáridos en la superficie del polen.

La superficie de los granos de polen muestra posibles sitios activos como ranuras, bordes y las llamadas aberturas para gérmenes. Estas aberturas de gérmenes se distribuyen a través de la exina y conducen al interior del grano de polen (Diehl et al., 2001).

Los granos de polen son capaces de absorber cantidades importantes de agua: al 95% de humedad relativa hasta el triple de su masa seca, al 73% todavía hasta el 10% de su masa seca.

von Blohn y colaboradores (2005) concluyeron que la capacidad de nucleación del hielo parece ser una propiedad general del polen. Por lo que se asume que el 100% del polen tiene propiedades de nucleación de hielo similares al polen de abedul (Diehl et al., 2001).

Fitoplancton:

La diatomea planctónica, *Thalassiosira pseudonana*, puede actuar como un núcleo de hielo eficiente en condiciones típicas de la tropósfera (Knopf et al., 2010; Wilson et al., 2015). Wilson y colaboradores (2015) encontraron que las temperaturas de congelación de dicha diatomea, así como sus exudados se presentan aproximadamente entre -9°C y -13°C, por lo tanto, los INP biogénicos presentes en los exudados de fitoplancton son un buen candidato para la nucleación de hielo observada en las microcapas de la superficie del mar. Este material orgánico se expulsa a la atmósfera durante el estallido de burbujas, lo que resulta en un aerosol de aspersión marina.

Alpert y colaboradores (2011) analizaron la eficiencia de congelación por inmersión (en gotas de NaCl) de *Nannochloris atomus* y *Emiliania huxleyi*, fitoplancton marino; encontrando que *N. atomus* en gotitas acuosas de NaCl mejoran la nucleación del hielo por encima del límite de congelación homogénea mientras que las células de *E. huxleyi* cubiertas por placas de calcita no mejoran las temperaturas de congelación de las gotas.

1.1.8. Hipótesis

Las partículas biológicas primarias (bacterias, propágulos fúngicos y actinobacterias) colectadas en el Golfo de México, Altzomoni y la Ciudad de México muestran diferentes eficiencias de nucleación de hielo, teniendo como mejor INP a las bacterias.

1.1.9. Objetivos

1.1.9.1. Objetivo general

Evaluar la capacidad que tienen diferentes especies de bacterias y propágulos fúngicos para actuar como INPs.

1.1.9.2. Objetivos particulares

- Obtener la fracción congelada para bacterias y propágulos fúngicos.
- Determinar el INP más eficiente, así como las condiciones que favorecieron la nucleación de hielo.
- Comparar las habilidades como núcleo de hielo de bacterias y propágulos fúngicos aislados en la costa vs las bacterias aisladas en Altzomoni y la Ciudad de México (Instituto de Ciencias Atmosféricas y Cambio Climático).
- Analizar la relación que tiene la presencia de los bioaerosoles en cada sitio de muestreo con sus respectivos patrones de precipitación.

2. CAPÍTULO 2: METODOLOGÍA

2.1. Sitio de Muestreo

2.1.1. Ubicación y límites geográficos

Se recolectaron partículas de aerosol en cuatro sitios de muestreo diferentes, dos de los cuales se llevaron a cabo en la Península de Yucatán: Sisal y Mérida. Los otros dos muestreos se realizaron en Alzomoni en el Estado de México y en el Instituto de Ciencias de la Atmósfera y Cambio Climático (ICAYCC) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) en la Ciudad de México.

YUCATÁN

La recolección de las partículas de aerosol para evaluar si los microorganismos presentes en la Península tienen la capacidad de actuar como INPs, se llevó a cabo en la azotea del edificio del Instituto de Ingeniería de la UNAM (IE-UNAM), ubicado a 50 m de la costa y a 1.7 km del centro de Sisal. El segundo sitio de muestreo se ubicó en la azotea del edificio de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Yucatán (FQ-UADY), localizado en la parte centro-occidental de la Ciudad de Mérida.

La Península de Yucatán conforma la región sureste de la República Mexicana la cual separa el GdM del mar Caribe y se encuentra dividida en tres entidades de la federación mexicana: Quintana Roo, Campeche y Yucatán. La Península de Yucatán tiene una topografía muy plana donde la mayor parte del territorio lo conforma una llanura que se formó como producto de la aparición de una plataforma continental compuesta por roca calcárea y en donde se han formado cenotes (INEGI, 2019). En la zona costera, se han desarrollado playas y cuerpos de agua como el estero de Celestún, Yucalpetén, El Islote y el estero Ría Lagartos (INEGI, 2019). El paisaje de estas zonas está dominado por arenas claras y vegetación de palmas nativas (Osnaya, 2021).

La capital del Estado de Yucatán, Mérida, se localiza a menos de 50 km del GdM en la parte noroeste de la Península de Yucatán, sus coordenadas son 20.98°N, 89.64°O, como se muestra en la **Figura 5**. Al este colinda con el Estado de Quintana Roo, al oeste con el Estado de Campeche y al norte con el GdM. Según el censo de 2020 realizado por el INEGI, la población de la ciudad era de 995,129 habitantes.

En el litoral norponiente de Yucatán se dibuja el pueblo de Sisal (21.16°N, 90.04°O), a un metro sobre el nivel del mar, localizado en el municipio de Hunucmá, a 49 km de Mérida y a 41 km de Puerto Progreso, además se distingue por pertenecer al Corredor Biológico Mesoamericano (Méndez, 2016). Según el INEGI, esta comunidad pesquera contaba con una población de 2,078 habitantes en el 2020.



Figura 5. Mapa de la Península de Yucatán donde se señalan los dos sitios de muestreo de partículas de aerosol (Google Earth, 2021).

ALTZOMONI

Dentro del Parque Nacional Izta-popo Zoquiapan (19.1187° N, 98.6552° O) se encuentra el tercer sitio de muestreo en el que se colectaron bacterias, llamado Altzomoni (19°07'12"N 98°39'14"O), lugar donde el ICAyCC dio marcha al

Observatorio Atmosférico Altzomoni y forma parte de la Red Universitaria de Observatorio Atmosférico de la UNAM (RUOA), el cual está entre los volcanes Popocatepetl e Iztaccíhuatl en el municipio de Amecameca como se muestra en la **Figura 6**, a cuatro mil metros de altura sobre el nivel del mar (SEMARNAT, 2013).



Figura 6. Ubicación del Observatorio Atmosférico Altzomoni de la UNAM (SEMARNAT, 2013).

Este observatorio se encuentra en un sitio estratégico que permite estudiar, además de la composición atmosférica, el transporte de contaminantes y los procesos convectivos entre la tropósfera y la estratósfera, así como el impacto de la actividad volcánica en la atmósfera (Dirección de Monitoreo Atmosférico, 2020).

El parque nacional Izta-Popo Zoquiapan es reconocido por su destacada biodiversidad y la riqueza de sus ecosistemas, que aportan tanto servicios ambientales como bienes faunísticos y vegetales que han sido aprovechados por los habitantes de la región de los volcanes y su área de influencia (SEMARNAT, 2016). Este parque de 40 mil hectáreas, ubicado en los estados de México, Puebla y Morelos, forma parte de la Sierra Nevada y es una de las áreas protegidas más antiguas de México. Por su posición geográfica y características, este parque nacional es un importante reservorio de especies de hongos, flora y fauna silvestres. Al ser parte de una gran cadena montañosa (el Eje Volcánico Transversal) donde coinciden las regiones neártica y neotropical, se presenta un alto índice de endemismos (18 especies exclusivas de esta región). Su vegetación se caracteriza

por bosques de coníferas y encinos, pastizales y vegetación inducida (SEMARNAT, 2016).

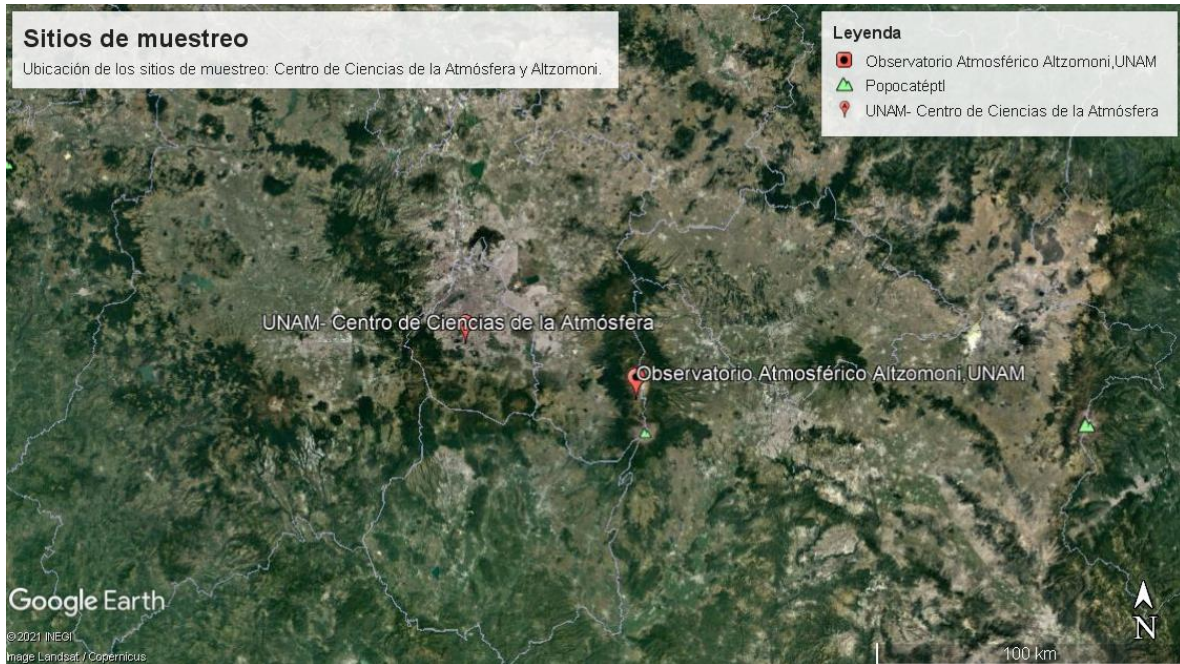


Figura 7. Sitios de muestreo ubicados en la Zona Metropolitana del Valle de México: ICAYCC y Altzomoni (Google Earth, 2021).

CIUDAD DE MÉXICO

El muestreo de propágulos fúngicos se realizó en el ICAYCC-UNAM, el cual está ubicado cerca del Pedregal de San Ángel, al suroeste de la Ciudad de México en el campus central de la UNAM ($19^{\circ}19'44''N$, $99^{\circ}11'14''O$), se puede observar en la **Figura 8**. De acuerdo con los datos del Censo de Población y Vivienda del 2020, en la Ciudad de México habitan 9 millones 209 mil 944 habitantes, de los cuales 614 mil 447 habitantes residen en la alcaldía Coyoacán en dónde se encuentra el sitio de muestreo.



Figura 8. Ubicación del Pedregal de San Ángel (polígono negro), Ciudad Universitaria (polígono amarillo) y la REPSA (rojo). En las imágenes el Norte está hacia arriba. Tomada de: <http://www.repsa.unam.mx/index.php/ubicacion>.

Dentro del campus de la UNAM está la única reserva ecológica de la Ciudad de México, un espacio natural en el que viven más de mil 500 especies nativas de plantas, animales, hongos y microorganismos y que, además, capta dos millones de litros de agua al año (Boletín UNAM, 2015). Se llama Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel (REPSA), espacio de 237.3 hectáreas de matorral xerófilo que crece sobre un sustrato de roca volcánica proveniente de la erupción del volcán Xitle (Boletín UNAM, 2015).

El ICAYCC se encuentra ubicado dentro del Circuito de Investigación Científica de Ciudad Universitaria (CU), por lo que alrededor de él se encuentran los Institutos de Geofísica, Geología, Física y Astronomía, así mismo la Facultad de Veterinaria se encuentra al norte del ICAYCC. El ICAYCC cuenta con el edificio principal y el Edificio II, el muestreo se realizó en la azotea del edificio principal donde se montó el equipaje descrito en el capítulo 2.2. El metro CU está ubicado a 256.44 metros (Google Earth, 2021) al este del ICAYCC sobre la Av. Delfín madrigal, donde se encuentra una de las entradas al campus lo cual permite la afluencia a la universidad de 218 808 de estudiantes de licenciatura, 30 334 de estudiantes de posgrado y 5 260 de doctorado (Agenda estadística, 2020).

2.1.2. Climatología

YUCATÁN

El 85.5% de la superficie del estado presenta clima cálido subhúmedo y el restante 14.5% presenta clima seco y semiseco, que se localiza en la parte norte del estado como se muestra en la **Figura 9** (INEGI, 2019).

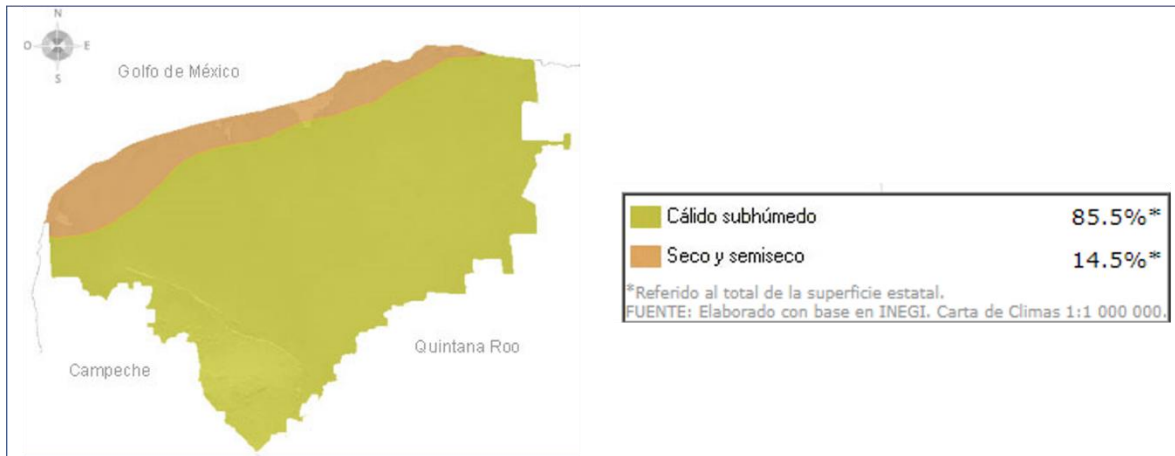


Figura 9. Mapa del clima representativo del estado de Yucatán. (CONAGUA, 2017)

La costa de Sisal se puede clasificar geomorfológicamente de tipo isla de barrera (Carranza et al., 1975). Con un clima predominantemente cálido subhúmedo con lluvias regulares en verano (SEMAR, 2013); la temperatura media anual es de 26.5°C, registrándose la máxima en el mes de mayo (34.9°C) y la mínima en enero (19°C), la precipitación media anual es de 503.3 mm (CONAGUA, 2017).

La Ciudad de Mérida presenta una temperatura promedio de 25°C, la temperatura máxima es de 33.5°C y el registro de la temperatura mínima es de 19.2°C, con una precipitación acumulada anual de 900 mm.

Las precipitaciones que se presentan en la Península de Yucatán son principalmente convectivas y por influencia de los vientos alisios que traen humedad del Atlántico (Strahler y Merali, 2008). Durante la época de verano, la presencia de huracanes en el Atlántico genera lluvias en la costa al aproximarse a ésta, y su

influencia se va debilitando gradualmente a medida que el centro de baja presión avanza hacia el interior del continente (Márdero et al., 2012).

Es importante mencionar que, en la mayor parte de la península, se presentan dos periodos de sequía: el pre-estival o de primavera, que abarca un periodo de dos a cuatro meses (entre enero y abril), y el intra-estival o canícula que se presenta durante julio y agosto. Esta última se debe a perturbaciones en los vientos alisios (Márdero et al., 2012). En verano se presenta un sobrecalentamiento del mar en la porción tropical del Pacífico oriental, por debajo de la zona intertropical de convergencia, lo cual debilita el gradiente barométrico y, por ende, disminuye la intensidad de los alisios. Lo anterior trae como consecuencia una disminución en la frecuencia y cantidad de lluvia, así como un patrón bimodal del régimen pluvial en los territorios que afecta (Magaña et al., 1991; Márdero et al., 2012). Los vientos dominantes son del sureste ($0-15 \text{ km h}^{-1}$) la mayor parte del año, pero de noviembre a febrero se presentan fuertes vientos del noreste ($50-90 \text{ km h}^{-1}$) y precipitaciones, asociados a frentes polares y conocidos como "nortes", lo cual define el patrón temporal de la época de nortes en esta región (de noviembre a febrero) (Osnaya, 2021).

ALTZOMONI

Por la latitud, el sitio de muestreo: Altzomoni, se ve afectado en la época fría del año por sistemas de tiempo propios de las latitudes medias, como los frentes fríos y la invasión de masas de aire polar continental; en el verano influyen los sistemas meteorológicos: huracanes y las ondas tropicales (SEMARNAT, 2013). Debido a su topografía y ubicación, el parque tiene una variedad de climas que van del templado húmedo a los climas frío y muy frío; la temperatura disminuye con la altura a razón de 0.68°C por cada 100 metros (SEMARNAT, 2013). De igual manera, por su latitud, el parque se ubica en la región de los vientos alisios, en una zona donde predominan las circulaciones de tipo convectivo local, lo cual hace posible una gran estabilidad meteorológica durante la mayor parte del año (SEMARNAT, 2013).

Amecameca presenta una temperatura media anual de 14°C; siendo el mes más frío enero con 10.8°C y el más cálido mayo con 16.2°C. La precipitación media anual es de 928 milímetros; el mes más seco es febrero con una precipitación de 6.9 milímetros y el más húmedo, septiembre con una precipitación de 185.6 milímetros (SEMARNAT, 2013).

CIUDAD DE MÉXICO (ICAyCC)

Se caracteriza por presentar clima templado subhúmedo con lluvias en verano; la época de lluvias abarca los meses de mayo a octubre y la época seca comprende de los meses de noviembre a abril. La precipitación media anual es de 833 mm y la temperatura media anual es de 15.6°C.

Sin embargo, la calidad del aire en la Ciudad de México se diferencia de los sitios de muestreo Altzomoni y la Península de Yucatán debido al resultado de fenómenos complejos: las características fisiográficas de la zona, la cantidad de contaminantes emitidos y la actividad meteorológica (SEMARNAT, 2011). Aunado a estos fenómenos complejos, también está presente la combustión proveniente de los hogares, los vehículos de motor de combustión y las instalaciones industriales como se muestra en la **Figura 10**. De igual forma, los incendios forestales son fuentes comunes de contaminación del aire en esta zona del país (Rivera et al., 2016). La contaminación atmosférica en la Ciudad de México es provocada por diversos factores, entre ellos: contaminantes que se emiten a la atmósfera, condiciones fisiográficas de la zona, incremento demográfico.

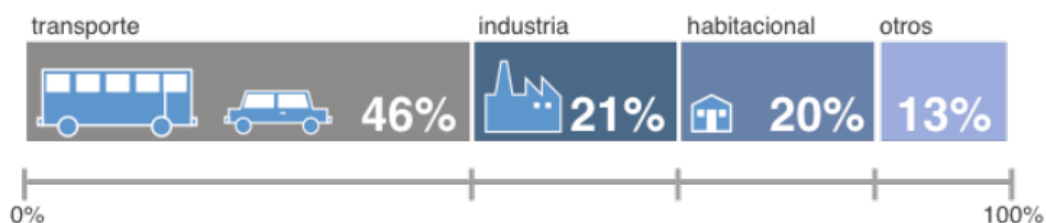


Figura 10. Emisores de contaminantes en la Ciudad de México (SEDEMA).

En los últimos 40 años se ha observado un incremento en la temperatura ambiente asociado principalmente con el efecto de isla de calor, provocado por la modificación de la cobertura del suelo, que originalmente era lacustre y actualmente está cubierto por concreto y asfalto (Rivera et al., 2016).

La alcaldía Coyoacán presenta cantidades representativas de los contaminantes: O₃, y CO, los cuales son emitidos por el tránsito vehicular (Retama et al., 2010). Estos contaminantes modifican las condiciones atmosféricas debido a su capacidad para absorber luz UV, dando como resultado que la presencia de biopartículas sea diferente a la de los otros dos sitios de muestreo.

2.2. Toma de muestras

La toma de muestras en la Península de Yucatán se realizó en cuatro sets independientes entre enero del 2017 y julio del 2018, dos sets en Mérida y dos en Sisal, como se muestra en la **Figura 11**:

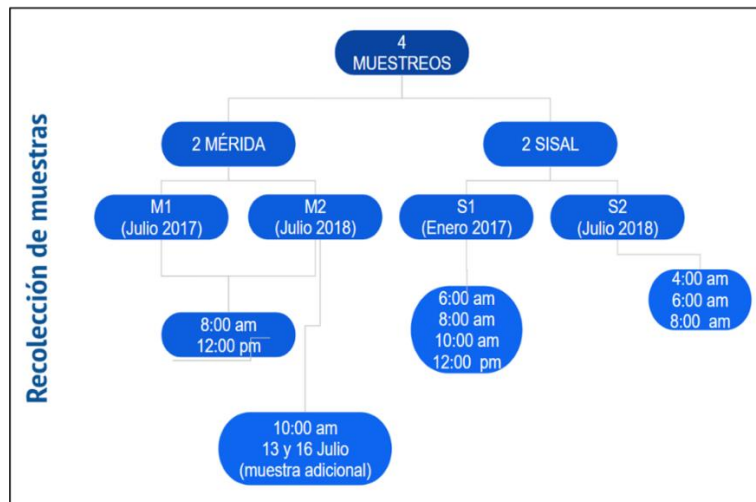


Figura 11. Horario de la recolección de muestras en los dos sitios de muestreo: Sisal y Mérida.

Las muestras etiquetadas como Mérida 1 (M1) y Mérida 2 (M2) se recolectaron a las 8:00 am y 12:00 pm, con una muestra adicional a las 10:00 am entre el 13 y 16 de Julio durante Julio del 2018. Las muestras etiquetadas como Sisal 1 (S1) se recolectaron diariamente a las 6:00 am, 8:00 am, 10:00 am y 12:00 pm. Las

muestras etiquetadas como Sisal 2 (S2), solo se recolectaron por la mañana a las 4:00 am, 6:00 am y 8:00 am. Se obtuvo un perfil diario de la concentración de propágulos fúngicos y bacterias entre el 22 y 23 de enero con muestras cada dos horas, como se muestra en la **Figura 11**.

La mayor concentración de bacterias transportadas por el aire se detectó en la mañana, de 4:00 am a 10:00 am. En la tarde y alrededor de la media noche se observaron concentraciones bajas de bacterias. En contraste, no se encontró una tendencia clara en los propágulos fúngicos en el aire, con concentraciones más altas observadas solo entre las 2:00 am y las 4:00 am. Es importante señalar que, aunque estos perfiles no reflejaron completamente la variabilidad diurna de los microorganismos transportados por el aire en la Península de Yucatán, fueron útiles para decidir los horarios de recolección de muestras más apropiadas, es decir, antes del mediodía.

Por otro lado, se seleccionó el mes de enero porque la Península de Yucatán se ve afectada anualmente por frentes fríos durante el invierno. Los frentes fríos, con fuertes vientos horizontales asociados y la actividad de grandes olas, producen grandes cambios en varios ecosistemas en el GdM y la Península de Yucatán. La gran actividad del oleaje en los frentes fríos de la región está asociada con un mayor estallido de burbujas y la aerosolización de microorganismos marinos.

Se seleccionó el mes de Julio como el otro período de muestreo debido al clima regional. La sequía de mediados de verano (SMV), fenómeno climatológico que afecta el centro / sur de México y América Central, se observa con frecuencia durante Julio (Magaña et al., 1999). El aumento de magnitud del chorro caribeño de bajo nivel y la reducción de la presencia de nubes y precipitación, maximiza la probabilidad de que partículas de polvo mineral originadas en los desiertos africanos lleguen a la Península de Yucatán (Kishcha et al. 2014; Córdoba et al. 2021; Raga et al., 2021). Además, Garrison et al. (2006), Schlesinger et al. (2006) y Kellogg et

al. (2004) han demostrado que los microorganismos pueden viajar largas distancias sumergidos en capas de polvo.

Para la toma de muestras se utilizó un impactador en cascada para partículas viables Biostage Quick Take 30 de una etapa (SKC Inc. EE. UU.), acoplado a una bomba de succión de aire (Quick Take® 30 Sample Pump, SKC Inc. EE. UU.), la cual funciona a un flujo constante de 28.3 L min^{-1} , y es ideal para el muestreo de partículas biológicas (GRUPO MICROANÁLISIS, 2021). Se utilizó como medio de colecta cajas Petri con 30 mL de cuatro diferentes medios de cultivo, el Quick Take 30 se montó en la azotea de los edificios IE-UNAM y FQ-UADY a 10 m sobre el nivel del suelo. El tiempo de muestreo fue de 5 min; sin embargo, en S1 las primeras muestras se recolectaron durante 15 min.

La colecta de muestras en Alzomoni se realizó durante la temporada de lluvias en dos campañas de muestreo, la primera se llevó a cabo del 12 al 14 de septiembre del 2019 y la segunda del 25 al 27 de septiembre del 2019. El muestreo se llevó a cabo por medio de un Liquid impinger, el cual tiene como función la recolección de gases, vapores y aerosoles atmosféricos en fase líquida. Se utilizó una aspiradora Karcher (DS5800). Se colocó el impinger sobre una base metálica en la azotea del Observatorio Atmosférico Alzomoni. Se muestrearon partículas de aerosol atmosférico durante cinco horas, con un flujo de aproximado de 61 L min^{-1} . Para el depósito se ocupó agua de consumo humano, debido a que esta contiene sales que sirven de nutrientes para la supervivencia de las bacterias durante el muestreo. Como medida de control y para garantizar que los microorganismos observados se hayan obtenido en el muestreo y no a los ya existentes en el agua, ésta fue previamente esterilizada en una autoclave a 120°C por 15 minutos. Una vez terminado el muestreo se retiró el depósito de agua de la aspiradora, se agitó manualmente para que la muestra estuviera homogéneamente distribuida, y se transvasó la muestra colectada en tubos Falcon rotulados que se refrigeraron a 4°C hasta que fueron analizados.

La toma de muestras de propágulos fúngicos se realizó en la azotea (a 10 m sobre el nivel del suelo) del edificio principal del ICAYCC. Para ello, el día 31 de mayo del 2021 se colocó una caja de Petri con agar extracto de malta (EMA) dentro del impactador en cascada Quick Take 30, indicado para la colecta de propágulos fúngicos durante un tiempo de muestreo de 15 minutos, una vez concluido el muestreo la caja Petri fue incubada por 72 h a 25°C, al finalizar las colonias fueron cuantificadas. El equipo utilizado para el muestreo es el mismo que se utilizó para la colecta de muestras en la Península de Yucatán.

2.3. Medios de cultivo

Para la colecta de diferentes tipos de microorganismos se cambió el medio de impactación, con un lapso de 15 a 20 min entre cada toma de muestra. Se utilizaron cajas de Petri (100 mm × 10 mm) con agar de soya y tripticaseína (TSA) (BD, Bioxon) como medio de impactación suplementado con 100 mg L⁻¹ de cicloheximida (Sigma-210 Aldrich) para evitar el crecimiento de propágulos fúngicos y permitir el crecimiento únicamente de bacterias mesofílicas cultivables (MCB). Se utilizaron placas de Petri con EMA; (BD Bioxon), para propágulos fúngicos cultivables y agar glucosa extracto de levadura y malta (GYM) con y sin agua de mar para actinobacterias marinas y terrestres, como se muestra en la **Figura 12**. El medio preparado con agua de mar suplementado con Rifampicina (5 µg mL⁻¹) tuvo como objetivo el cultivo de actinobacterias marinas estrictamente adaptadas o actinomicetos habitantes del medio marino. El medio preparado sin agua de mar fue suplementado con 50 µg/mL de Nistatina (Bristol Myers Squibb de México, S. de R.L. de C.V.) como antimicótico.

Medios de cultivo			
TSA + Cicloheximida → BACTERIAS MESOFÍLICAS CULTIVABLES (MCB)			
EMA (Agar Extracto de Malta) → PROPÁGULOS FÚNGICOS CULTIVABLES			
GYM + CaCO ₃ + con o sin agua marina → ACTINOBACTERIAS			
Medio de cultivo	T incubación	Recuentos	Almacenadas
TSA	37°C	24 y 48 hrs	4° (selladas con Parafilm)
GYM	30°C	48 y 72 hrs	4°
EMA	25°C	48 y 72 hrs	4°

Figura 12. Medios de cultivo para actinobacterias, bacterias y propágulos fúngicos.

Como se muestra en la **Figura 12** las placas de TSA, EMA y GYM se cultivaron a 37°C, 25°C y 30°C, respectivamente. Las concentraciones de bacterias cultivables se reportaron como Unidades Formadoras de Colonias por m³ de aire (UFC m⁻³), dicha unidad de medida es de utilidad debido a que ayuda a estimar el número de bacterias o propágulos fúngicos viables. Las cuantificaciones se realizaron a las 24 h y 48 h para las placas de TSA, mientras que para las placas EMA y GYM, los recuentos se realizaron a las 48 h y 72 h. Después de 48 h (para bacterias) y 72 h (para propágulos fúngicos y actinobacterias) de cultivo, las placas de Petri se sellaron con parafilm y se almacenaron a 4°C para su posterior análisis. Los valores de CFU incluyen una corrección de orificios positiva proporcionada por tablas de corrección para impactadores de 200 y 400 orificios para ajustar el conteo por error en la sobreposición.

Se seleccionaron y purificaron colonias de bacterias representativas de cada placa, haciendo varias resiembras en TSA. Posteriormente se les realizó la tinción de Gram para su clasificación en bacterias Gram positivas y Gram negativas mediante observación microscópica (100x) de las preparaciones. Las bacterias aisladas fueron conservadas en caldo Luria Bertani (BD Bioxon) 30% de glicerol y se almacenaron a -72°C antes de la secuenciación. Las bacterias aisladas de los

cultivos puros se identificaron mediante secuenciación parcial del gen ARNr 16S (código de barras del ADN) con una longitud de 800 a 1000 pares de bases de nucleótidos.

2.4. Identificación de microorganismos

Para la identificación de las bacterias y actinobacterias colectadas, primero se extrajo el ADN utilizando el kit QIAamp DNA Mini (QIAGEN). Se amplificaron las secuencias parciales del gen ARNr 16S parciales mediante la técnica de cadena de la polimerasa (PCR) utilizando cebadores bacterianos universales:

- 27F (AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG)
- 1492R (TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACT T)

Las PCR se realizaron en un volumen total de 50 μL , incluidos 2 μL de ADN bacteriano, 35.4 μL de ddH₂O (agua deuterada), 5 μL de buffer de PCR 10 X, 1.5 μL de MgCl₂ (1.5 mM), 1 μL de dNTP (desoxirribonucleótidos trifosfatos) (10 mM), 0.1 μL de Taq ADN polimerasa (5U μL^{-1}) y 2.5 μL de cada cebador (10 μM).

Las condiciones de amplificación fueron las siguientes:

1. Desnaturalización inicial a 94°C durante 1 min.
2. Seguido de 35 ciclos a 94°C durante 1 min.
3. 56°C durante 30 s.
4. 72°C durante 1.5 min.
5. Una extensión final a 72°C durante 5 min.

Los productos de PCR se examinaron para determinar el tamaño y el rendimiento usando geles de agarosa al 1.0% (p / v) en buffer de corrida TAE (Tris, acetato y EDTA), el cual es de utilidad para la migración de ácidos nucleicos, por lo tanto, la recuperación de ADN. Después de una amplificación exitosa, los productos fueron

purificados, cuantificados y enviados a secuenciar al Instituto de Biotecnología-UNAM campus Cuernavaca, Morelos.

Las secuencias de ADN se editaron y ensamblaron utilizando el software Seq-Man y Edit Seq (Chromas Lite, Technely Slom Pty Ltd. EE. UU.). El análisis de similitud de secuencia se realizó utilizando el software BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>), obteniendo > 98% de homología entre cada bacteria secuenciada y las bases de datos BLAST.

Las colonias de actinobacterias típicas que crecen en cada placa GYM se seleccionaron y purificaron mediante varias resiembras en el medio: GYM, o mediante diluciones en serie sembradas en el mismo medio. La reacción de tinción de Gram se llevó a cabo como se describió anteriormente. Las cepas puras se conservaron como describen Wellington y Williams (1979). El ADN genómico se extrajo utilizando procedimientos estándar informados previamente por Maldonado et al., (2005).

La identificación de propágulos fúngicos se realizó a nivel de género utilizando claves taxonómicas con base en las características macroscópicas de las colonias y el examen microscópico de las esporas (60x).

2.5. Descripción del DFA

Para analizar la capacidad de nucleación de cada uno de los microorganismos aislados, en el laboratorio del grupo Interacción Micro y Mesoescala del (ICAyCC-UNAM) se utilizó la técnica de ensayo de congelamiento de gota o Droplet Freezing Assay (DFA, por sus siglas en inglés), la cual permite estudiar la formación de cristales de hielo por el modo de nucleación por inmersión, en pequeñas gotas de 50 μ L (Ladino et al., 2020). Este equipo está conformado por:

Sistema mecánico:

Este sistema consta de un soporte hecho de acero inoxidable resistente al refrigerante y las bajas temperaturas. Fue construido a medida de la tina del baño de recirculación y a la medida de una placa ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay), como se muestra en la **Figura 13b**.

Sistema de enfriamiento con recirculación:

Este equipo está conformado por un termostato LAUDA (ECO Silver RE1050) con una temperatura de trabajo mínima de -50°C y una temperatura máxima de 200°C , con líquido refrigerante (polidimetilsiloxano, cuyo rango de temperatura es de 222°C a -95°C).

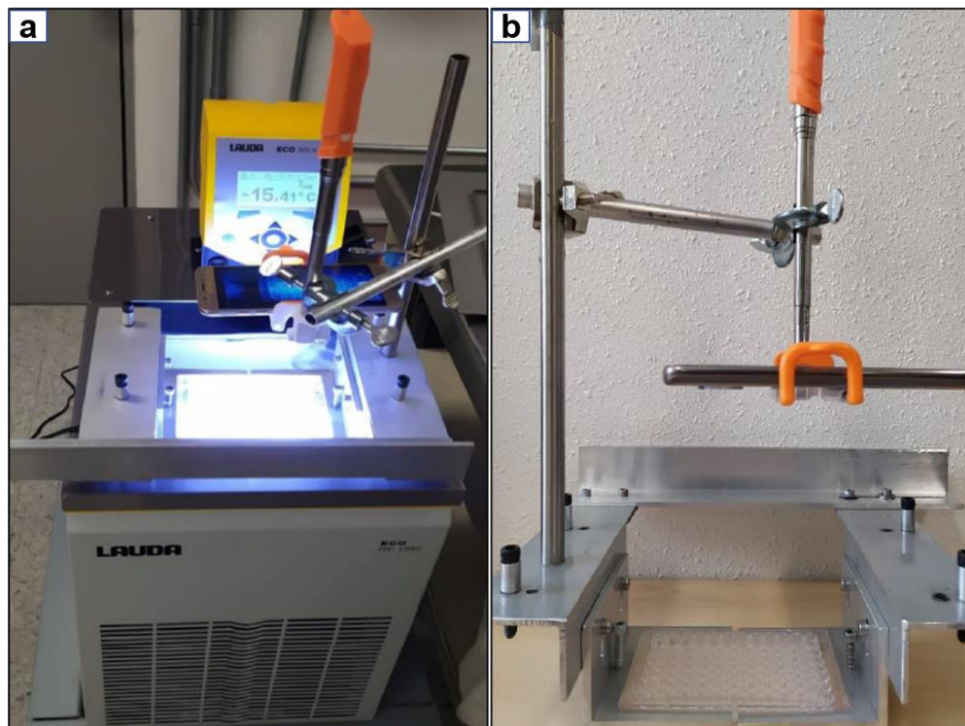


Figura 13. Esquema del equipo UNAM-DFA. **a.** Sistema de iluminación y video. **b.** Montaje del sistema mecánico con la placa de ELISA ensamblada.

Sistema de iluminación y video:

Está compuesto por una lámpara LED, emisora de luz blanca, la cual es sumergida en el líquido refrigerante del baño frío para llevar a cabo el proceso de congelación, como se muestra en la **Figura 13a**.

Para obtener videos del proceso de congelación de cada muestra se ocupó un celular. Además, simultáneamente, para obtener la temperatura en la cual las gotas se iban congelando, se utilizó una cámara portátil USB (ATVIO). Posteriormente se analizaron los datos obtenidos en los videos.

2.6. Procedimiento

Para realizar los experimentos se utiliza una micropipeta de 8 canales (Eppendorf) para depositar 50 μ L en cada uno de los 96 pozos de la placa de ELISA (Juárez, 2018). Posteriormente, se sella la placa con una mica adherible transparente para evitar que impurezas del aire contaminen la muestra y afecte los resultados. Una vez preparada la placa de ELISA, se embona en la base de acero inoxidable, prestando atención que no presente ninguna inclinación. La posición horizontal de la placa de ELISA se ajusta con los tornillos de cada una de las esquinas de la base de acero.

Al introducir la placa dentro del polidimetilsiloxano, debe hacerse teniendo cuidado de que el refrigerante cubra sólo el margen de metal más no la placa de muestra cómo se observa en la **Figura 14**; es decir, el líquido refrigerante solo debe cubrir los pozos hasta el nivel que ocupa la muestra (Juárez, 2018). Siempre debe de checarsé que conforme pase el tiempo no baje el nivel del polidimetilsiloxano, de ser así, la placa se reajusta con los tornillos de la base metálica.

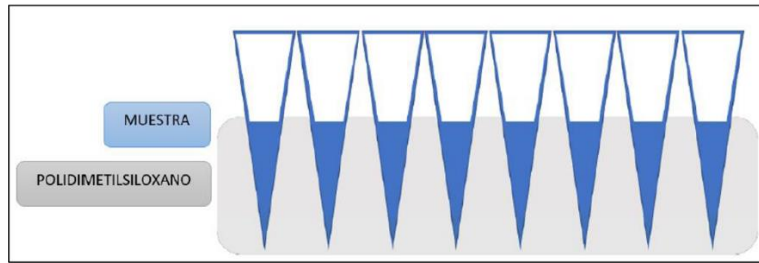


Figura 14. Esquema de la vista lateral de la placa de ELISA, con los pozos sumergidos en el polidimetilsiloxano al nivel de la muestra. Esquema tomado de Juárez (2018).

Una vez instalada la placa de ELISA en la base metálica, se comienza a montar el sistema de video. El celular se coloca mediante un selfie-stick montado a la base de acero inoxidable, el cual permite tener la cámara del celular encima de la placa de ELISA, que se ilumina con la lámpara LED (previamente sumergida en el líquido refrigerante). Para obtener los videos de la temperatura se ocupó la cámara USB, montada de la misma manera, a la base de acero, sin embargo, esta queda enfrente del termostato.

Para comenzar con el experimento, se inició rampa de congelamiento que se muestra en la **Tabla 3**:

Tabla 3. Rampa de congelamiento utilizada para los experimentos.

T (°C)	Tiempo(min)	Bomba
-10	5	2
-20	5	2
-30	10	3
-40	10	4

Con el termostato usado se puede configurar una rampa de temperatura que va de 0°C hasta los -40°C, sin embargo, en los experimentos la temperatura mínima alcanzada fue de -36°C en 32 minutos.

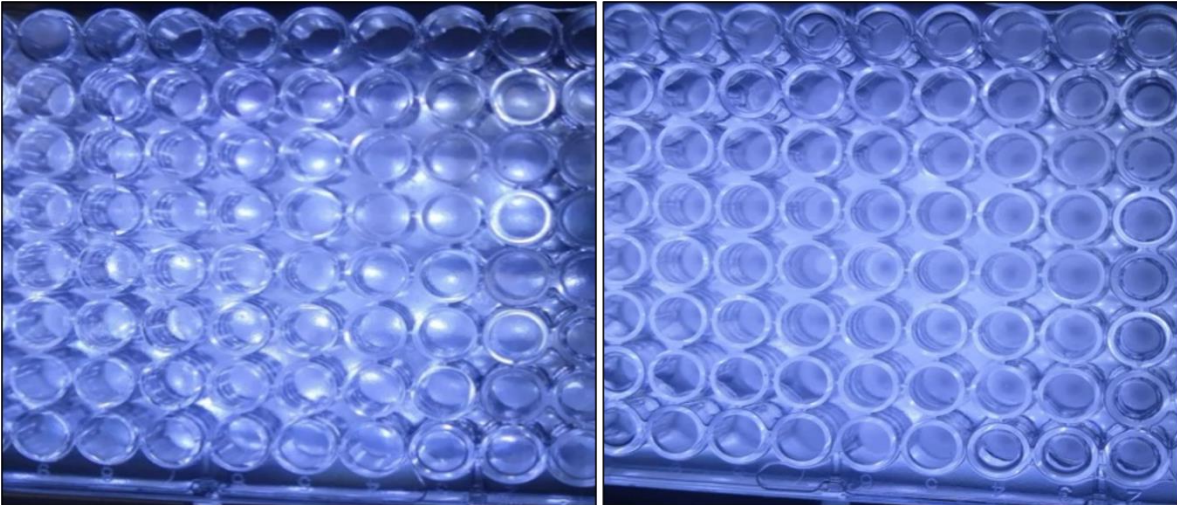


Figura 15. Fotografías de la opacidad que presentan los pozos de la placa de ELISA durante los experimentos. Foto del lado izquierdo muestra inicio del experimento, momento donde todavía las muestras se encuentran en estado líquido. La foto del lado derecho muestra los pozos con las muestras ya congeladas.

Durante el proceso de congelación, los pozos se oscurecen, debido a que el hielo muestra un comportamiento de dispersión de la luz diferente al agua líquida. Los cambios de opacidad en cada pozo se registran en el video como se muestra en la **Figura 15**. El procedimiento se realizó tres veces para una misma muestra con la finalidad de disminuir el marco de error.

2.7. Análisis de datos

El análisis de datos se realizó de la siguiente manera:

1. Base de datos en Excel, lo cual facilitó el análisis de datos por medio de gráficas de Fracción Congelada (FF, por sus siglas en inglés), de la temperatura inicial de congelamiento (T_0) y la temperatura a la cual la mitad de las gotas de las muestras se congelan (T_{50}).
2. Se utilizó MATLAB para generar las gráficas de FF, T_0 y T_{50} .

2.7.1. Fracción Congelada (FF)

En una hoja en Excel se representó la placa de ELISA por medio de una matriz, la cual contaba con 8 columnas y 12 filas, lo que permitió tener un mejor manejo sobre la temperatura a la cual cada pozo se congelaba. En cada celda se anotó el tiempo en el que se observaba la congelación del pozo (por la difracción de la luz de la muestra congelada) correspondiente. Una vez determinado el tiempo de congelación de cada pozo, se elaboró una columna con el tiempo ordenado de menor a mayor. Posteriormente, observando el video de temperatura y la matriz de Excel, se determinó la temperatura a la cual se congeló cada uno de los 96 pozos en cada uno de los experimentos. Con esta información disponible se determinó la FF, la cual se obtiene usando la **Ecuación 1**:

$$FF = \frac{\text{Número de gotas congeladas}}{\text{Total de gotas}}, \text{ Ecuación (1)}$$

Una vez que se obtuvo el análisis de los tres experimentos realizados para cada muestra se recabaron los promedios de los tres experimentos, así como la desviación estándar, de esta manera se pudo obtener la gráfica de FF para cada bacteria y propágulo fúngico en MATLAB.

2.7.2. Temperatura inicial de congelamiento (T_0)

Para determinar T_0 , se extrajo de la base de datos previamente mencionada, la temperatura a la cual congeló la primera gota de cada experimento y posteriormente se calculó el promedio para cada muestra. Se realizó el gráfico "Box Plot" para comparar las distribuciones de cada microorganismo de una manera más fácil, y así poder observar de manera descriptiva su comportamiento.

2.7.3. Temperatura media de congelamiento (T_{50})

Con la gráfica obtenida para FF, se encontró la temperatura a la cuál la mitad de las gotas de cada experimento se congelaron, también conocida como la temperatura media de congelamiento (T_{50}). Utilizando el “Data Cursor” que proporciona MATLAB en los gráficos, se obtuvo dicha temperatura al colocarlo sobre cada muestra sobre el valor de y, es decir, $y=0.5$. Posteriormente se realizó un gráfico “Box Plot” en correspondiente a la temperatura a la que se congeló la mitad de las gotas de cada microorganismo.

3. CAPÍTULO 3: DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

Se analizaron 23 bacterias provenientes de la Península de Yucatán (**Tabla 4**), 2 de ellas aisladas por la Dra. Erika Quinta del Instituto Politécnico Nacional (IPN) y las otras 22 aisladas en el Grupo de Aerobiología del ICAYCC-UNAM. De igual manera se analizaron otras 11 bacterias recolectadas en Alzomoni y 6 especies de hongos recolectados en la azotea del ICAYCC, también aislados en el Grupo de Aerobiología del ICAYCC-UNAM. Todas las muestras analizadas en el presente estudio se encuentran ordenadas según su sitio de muestreo en la **Tabla 4**. En las siguientes secciones (**3.1**, **3.2**, **3.3**) se muestran los resultados obtenidos para la FF, T_0 y T_{50} .

Tabla 4. Microorganismos colectados en la Península de Yucatán, Altzomoni y Ciudad de México y usados en el presente estudio.

Bacterias aisladas en el ICAYCC (Península de Yucatán)	Bacterias aisladas en el IPN (Península de Yucatán)	Bacterias aisladas en el ICAYCC (Altzomoni)	Hongos aislados en el ICAYCC (Ciudad de México)
<i>Kacuria palustris</i>	P3113-1	<i>Bacillus pumilus</i>	<i>Aspergillus</i> sp 1
<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Roseomonas</i>	<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	<i>Aspergillus flavus</i>
<i>Rhodococcus</i>		<i>Acinetobacter haemolyticus</i>	<i>Cladosporium</i>
<i>Pantoea séptica</i>		<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Penicillium</i> sp 1
<i>Paenibacillus dendritiformis</i>		<i>Stenotrophomonas maltophila</i>	<i>Penicillium</i> sp 2
<i>Enterobacter soli</i>		<i>Pseudomonas chengduensis</i>	<i>Alternaria</i>
<i>Sphingomonas mucosissima</i>		<i>Staphylococcus hominis</i>	
<i>Micrococcus letus</i>		<i>Bacillus foraminis</i>	
<i>Bacillus nealli</i>		<i>Bacillus niacini</i>	
<i>Bacillus aeris</i>		<i>Bacillus megaterium</i>	
<i>Bacillus oceanisediminis</i>		<i>Ralstonia paucula</i>	
<i>Vibrio alginolyticus</i>			
<i>Microbacterium arborescens</i>			
<i>Microbacterium esteraromatium</i>			
<i>Microbacterium paludícola</i>			
<i>Staphylococcus kloosii</i>			
<i>Staphylococcus hepdlensis</i>			
<i>Pseudomonas stutzeri</i>			
<i>Exiguobacterium aurantiarum</i>			
<i>Kocuria polaris</i>			
<i>Vibrio neocaledonicus</i>			

3.1. Fracción Congelada

Las curvas de FF se muestran en la **Figura 16** (líneas de colores) junto a la curva de congelamiento homogénea (línea negra) la cual se obtuvo usando agua ultrapura y siguiendo el mismo procedimiento descrito en la sección anterior. Se realizó esta gráfica con la finalidad de comparar sus eficiencias como INPs y observar si difieren de la curva de congelación homogénea, además, distinguir el grupo de curvas que podría facilitar la formación de hielo con mayor eficiencia, es decir, cuál microorganismo (propágulos fúngicos o bacterias) es más eficiente para actuar como un INP. Como se mencionó anteriormente, un buen INP es aquel que comienza a congelar más cerca de los 0°C y más alejado de la curva de congelación homogénea en ausencia de INPs, razón por la cual se toma de referencia.

La **Figura 16** está conformada por tres grupos de curvas, en el **Panel A** se encuentran las muestras colectadas en la Península de Yucatán, en el **Panel B** las colectadas en Alzomoni y en el **Panel C** se muestran los microorganismos obtenidos en la Ciudad de México.

Fracción Congelada de Bacterias y Hongos recolectados

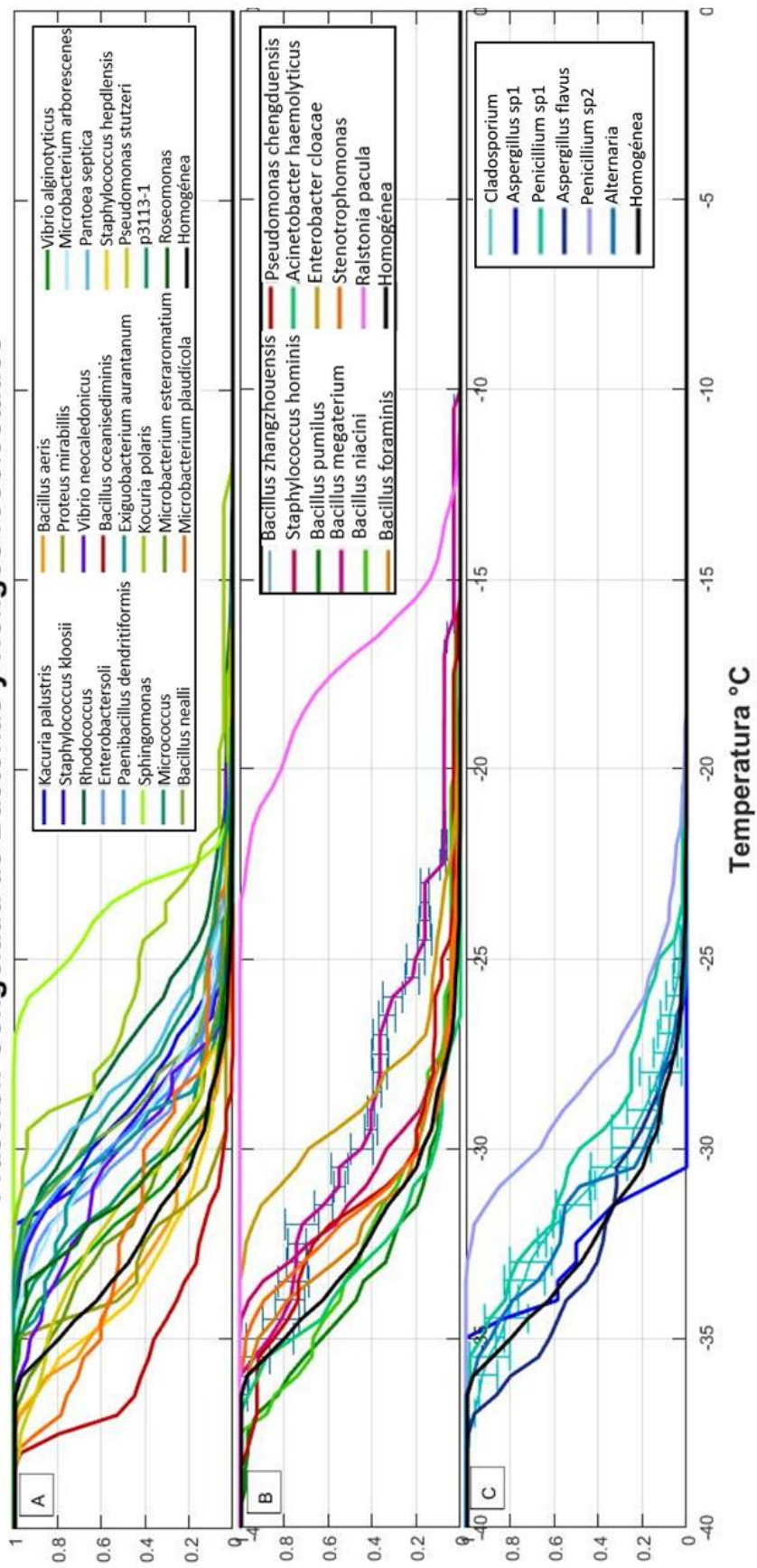


Figura 16. Fracción congelada de las bacterias recolectadas en la Península de Yucatán (**Panel A**), Altzomoni (**Panel B**) y propágulos fúngicos recolectados en la Ciudad de México (**Panel C**).

Para empezar, considerando el **Panel A**, la mayoría de las curvas se sitúan entre los -25°C y -30°C . Si bien hay INPs que forman cristales de hielo a temperaturas mayores a -38°C (Kanji et al., 2017; Zhang et al., 2020), no es el caso de los INPs biológicos mostrados. Según Murray et al. (2012), los INPs biológicos tienen proteínas que pueden desencadenar la congelación de las gotas líquidas a temperaturas más cálidas ($T > -15^{\circ}\text{C}$). Por lo tanto, las bacterias que se muestran en el **Panel A** no pueden ser consideradas eficientes como INPs. Sin embargo, la bacteria *Sphingomonas* presenta un comportamiento diferente al de las otras bacterias, ya que la mayoría de las gotitas de esta muestra se congelaron cerca o a la misma temperatura (-22°C), la temperatura de congelación más cálida para las bacterias recolectadas y aisladas de la Península de Yucatán. Este género es una bacteria Gram-negativa, lo que facilita la formación de cristales de hielo probablemente por medio de las proteínas contenidas en su membrana celular.

Observando el **Panel B**, el bloque de las curvas de congelación correspondiente a las bacterias colectadas en Alzomoni está mayoritariamente en los -30°C , muy cerca de la curva de congelación homogénea, lo cual indica que son microorganismos poco eficientes para actuar como INPs. Sin embargo, hay una curva que presenta temperaturas más cálidas para la nucleación de hielo, ya que estas temperaturas se encuentran entre los -15°C y los -17°C , la cual es identificada como *Ralstonia paucula*. Más adelante discutiremos a mayor profundidad sobre dicha bacteria.

Debido a que en el **Panel A** y en el **Panel B** se muestran las curvas de congelamiento de las 24 bacterias es importante destacar que, aunque las muestras de *Sphingomonas* y especialmente *Ralstonia paucula* mostraron ser eficientes como INP, sus temperaturas son menos cálidas que las que se han reportado para la bacteria *Pseudomonas syringae*, la cual puede inducir la nucleación del hielo en el rango de temperatura de aproximadamente -2°C a -10°C (Wex et al., 2015).

Por último, las muestras de propágulos fúngicos (**Panel C**) tienen temperaturas de congelación alrededor de los -33°C . De este bloque de curvas de congelación la muestra que presenta temperaturas más cálidas de nucleación es el género *Penicillium* sp2, seguida de *Cladosporium*. Por otro lado, se observa que *Alternaria* se encuentra muy cerca a los valores de la curva de congelación homogénea.

En general los propágulos fúngicos colectados en este proyecto presentaron temperaturas de congelación muy bajas en comparación a las temperaturas reportadas de hasta -2.5°C para géneros como *Fusarium*, (Pouleur et al., 1992) y -4°C para *Rhizoplaca chrysoleuca* (Kieft and Ruscetti, 1990). Así mismo, se puede notar que las curvas de congelación de los propágulos fúngicos se encuentran más desplazadas al lado izquierdo de la gráfica en comparación con los **Paneles A y B**, lo cual concuerda con lo reportado por Kanji y colaboradores (2017) y Huang y colaboradores (2021) en donde muestran que los propágulos fúngicos son menos eficientes como INPs que las bacterias. Además, Hoose y colaboradores (2010) realizaron una simulación en donde encontraron que la tasa de congelación de PBA se divide en 11% de bacterias, 1% de esporas de hongos y 88% de polen.

Tanto las bacterias como los propágulos fúngicos analizados en este trabajo se muestran más cerca de la curva de congelación homogénea que de los 0°C , a excepción de la bacteria *Ralstonia paucula*.

3.2. Temperatura inicial de congelamiento (T_0)

La T_0 es la temperatura a la cual se congela la primera gota de cada muestra. Esta variable toma importancia, ya que como señala Hoose et al. (2010) una vez que los primeros cristales de hielo se han formado en una nube de fase mixta pueden crecer rápidamente a través del proceso de Wegener-Bergeron-Findeisen, estimulando así la formación de precipitación.

Al igual que el gráfico de la sección anterior, la **Figura 17** se encuentra seccionada en tres bloques cada uno correspondiente al microorganismo recolectado en cada sitio de muestreo, por lo que en el **Panel A**, se encuentran las muestras de bacterias colectadas en la Península de Yucatán, en el **Panel B**, las bacterias colectadas en Altzomoni y en el **Panel C**, se muestran los propágulos fúngicos obtenidos en la Ciudad de México.

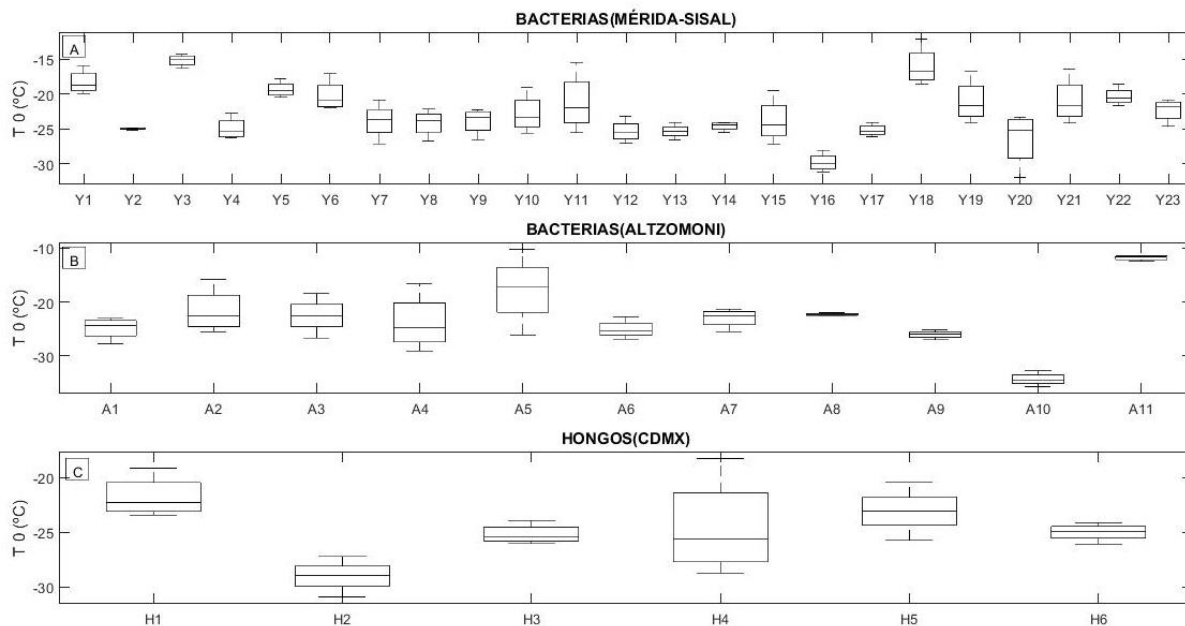


Figura 17. Temperatura inicial de congelamiento (T_0) para cada microorganismo. En el **Panel A** las muestras corresponden a: Y1= *Kacuria palustris*, Y2= *Staphylococcus kloosii*, Y3= *Rhodococcus*, Y4= *Enterobacter soli*, Y5= *Paenibacillus dendritiformis*, Y6= *Sphingomonas mucosissima*, Y7= *Micrococcus luteus*, Y8= *Bacillus nealli*, Y9= *Vibrio alginolyticus*, Y10= *Microbacterium arborescens*, Y11= *Pantoea séptica*, Y12= *Staphylococcus hepdensis*, Y13= *Bacillus aeris*, Y14= *Proteus mirabillis*, Y15= *Vibrio neocaledonicus*, Y16= *Bacillus oceaniss*, Y17= *Exiguobacterium aurantiarum*, Y18= *Kocuria polaris*, Y19= *Esteraro* Y20= *Microbacterium paludicola*, Y21= *Pseudomonas stutzeri*, Y22= *I-AMJA p3113-1*, Y23= *Roseomonas*. **Panel B:** A1= *Actinobacter haemolyticus* A2= *Pseudomonas chengduensis*, A3= *Bacillus foraminis*, A4= *Bacillus niacini*, A5= *Bacillus megaterium*, A6= *Bacillus pumilus*, A7= *Bacillus zhangzhouensis*,

A8=*Staphylococcus hominis*, A9=*Enterobacter cloacae*, A10=*Stenotrophomonas*, A11=*Ralstonia paucula*. **Panel C:** H1=*Cladosporium*, H2=*Aspergillus* sp, H3=*Aspergillus flavus*, H4=*Penicillium* sp 1, H5=*Alternaria*, H6=*Penicillium* sp 2.

En la Península de Yucatán (**Panel A**), tres de las bacterias recolectadas mostraron una T_0 , bastante cercana a los 0°C : *Rhodococcus* (Y3), *Kocuria Palustris* (Y1), y *Kocuria Polarís* (Y18), cuyas temperaturas máximas de congelación son de -15°C , -17°C y -18.5°C , respectivamente. Aunque son temperaturas cálidas, la T_0 de *Kocuria Polarís* (Y18) fue muy variable entre las réplicas de los experimentos, así como, las bacterias *Pantoea Septica* (Y11), *Microbacterium arborescens* (Y10) y *Microbacterium paludícola* (Y20). Las que menor variabilidad tuvieron fueron *Rhodococcus* (Y3), *Proteus mirabilis* (Y14) y *Staphylococcus klossii* (Y2).

Las características que permitieron la congelación de agua a -15°C de la bacteria *Rhodococcus* (Y3) podría ser su morfología ya que este género presenta colonias de tipo mucoide, lisas o rugosas (Sánchez et al., 2004). La rugosidad de este género pudiera posiblemente haber desencadenado el inicio de la formación de cristales de hielo a estas altas temperaturas, al actuar como sitios activos en donde la condensación de poros y su posterior congelación permiten la formación de hielo en la gota de la nube (Kanji et al., 2017).

La bacteria *Ralstonia paucula* (A11) vuelve a ser el microorganismo más eficiente, tanto de las muestras de Alzomoni como de todos los microorganismos analizados, con una T_0 de -11.5°C con una baja variabilidad entre los experimentos. *Bacillus megaterium* (A5), es la segunda bacteria más eficiente recolectada en Alzomoni (**Panel B**), ya que comienza a congelarse entre los -13°C y los -25°C , presentando una variabilidad significativa. Por el contrario, la T_0 de *Staphylococcus hominis* (A8) es de -20°C y presenta menor variabilidad que la bacteria anterior.

Como se muestra en la **Figura 17 (Panel C)**, la T_0 de *Cladosporium* (H1) oscila entre los -22°C y los -25°C , mostrando mayor eficiencia si se compara con lo

temperatura inicial reportada para este mismo género por Iannone et al. (2011) la cual fue de -28.5°C .

Otras especies fúngicas analizadas muestran una mayor eficiencia como INP. Por ejemplo, la *Mortierella alpina*, hongo recolectado en primavera al sureste de Wyoming (EE. UU.) mostró valores de T_0 entre los -5°C y los -6°C . (Fröhlich-Nowoisky et al., 2015).

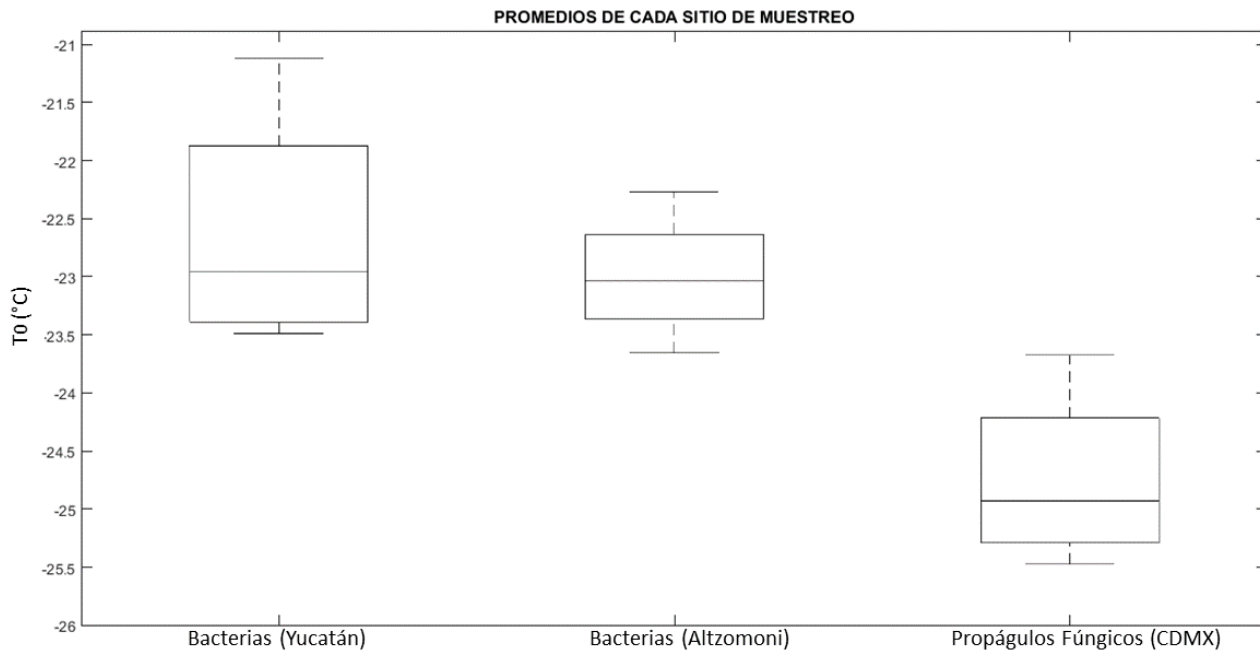


Figura 18. Promedio de la T_0 de los diferentes microorganismos muestreados en cada uno de los tres sitios de muestreo.

En la **Figura 18** se presentan los promedios de la T_0 para cada sitio de muestreo con la finalidad de saber qué sitio de muestreo emite las biopartículas más eficientes para nuclear hielo y qué condiciones atmosféricas pudieron favorecer su comportamiento. En este gráfico se puede apreciar que en general las bacterias de la Península de Yucatán son las más eficientes para actuar como INP; sin embargo, es importante observar que la temperatura más “cálida” para este sitio de muestreo es de -21°C . De igual manera, este sitio de muestreo presenta mayor variabilidad que la encontrada para los otros dos sitios, lo cual tiene sentido ya que en este sitio se recolectaron más microorganismos (24 bacterias). Por otro lado, las bacterias de Altzomoni presentaron temperaturas de congelamiento más frías que las de la

Península de Yucatán, así como una menor variabilidad, con valores de T_0 que se encuentran entre los -22°C y los -23.7°C .

En la **Figura 18 (Panel C)** se puede observar que los propágulos fúngicos (muestreados en la CDMX) siguen siendo los microorganismos más ineficientes con valores de T_0 que van desde los -23.7°C a los -25.5°C , temperaturas bastantes frías para comenzar la congelación de hielo.

Con lo anterior se puede inferir que las bacterias colectadas en ambientes cálidos (Yucatán) son más eficientes que las colectadas en ambientes con temperaturas más frías como lo es Alzomoni ya que éstas bacterias se encuentran sometidas constantemente a temperaturas más bajas por lo tanto el estrés al que están sometidas es menor al que presentan las colectadas en ambientes cálidos, es decir, las bacterias de ambientes cálidos al someterlas a una temperatura diferente a la de su entorno, diferente a la que siempre se encuentran, tienen una mayor habilidad para actuar como INP. La capacidad que tienen los genes de codificar una proteína de nucleación de hielo que se ubica en la membrana celular bacteriana, como se mencionó con anterioridad, esta proteína inicia la nucleación del hielo al orientar las moléculas de agua en una estructura cristalográfica similar al hielo, se puede decir que este mecanismo es más rápido en aquellas bacterias que se encuentran sometidas a ambientes diferentes a los de su entorno.

Por otro lado, la ineficiencia de los propágulos fúngicos, en términos de T_0 , coincide con lo discutido anteriormente para la fracción congelada, donde se mostró que las bacterias son mejores INPs que los propágulos fúngicos.

3.3. Temperatura media de congelamiento (T_{50})

En la **Figura 19** se observa el gráfico de la T_{50} , que indica la temperatura a la que el 50% de las gotitas está congelada. Con una T_{50} de -17°C y una poca variabilidad, la bacteria *Ralstonia paucula* (A11), mostró ser es la bacteria más eficiente.

En el **Panel A** de la **Figura 19** también se muestra que las bacterias *Rhodococcus* (Y3), *Roseomonas* (Y23), *Paenibacillus dendritiformis* (Y5) y *Sphingomonas mucosissima* (Y6) no muestran una gran variabilidad, lo que indica que sus habilidades como INPs son altamente reproducibles. Además, la bacteria *Sphingomonas mucosissima* (Y6) destaca por presentar la temperatura más cálida de las bacterias recolectadas en la Península de Yucatán, es decir, de -25°C . *Rhodococcus* (Y3) mostró una T_{50} de -27°C , y al tener una T_0 de -15°C se puede decir que su trayectoria de congelamiento se llevó acabo de la misma manera en la que empezó a congelar.

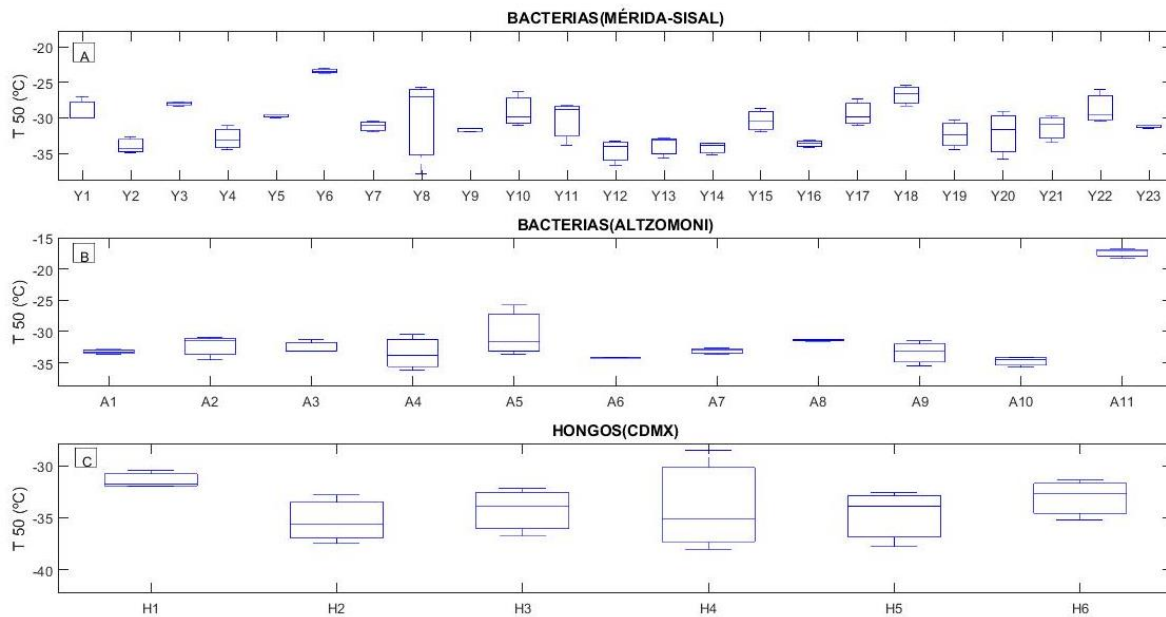


Figura 19. Temperatura media de congelamiento (T_{50}) a la cual la mitad de las gotas de las muestras ya están congeladas. En el **Panel A** las muestras corresponden a: Y1= *Kacuria palustris*, Y2= *Staphylococcus kloosii*, Y3= *Rhodococcus*, Y4= *Enterobacter soli*, Y5= *Paenibacillus dendritiformis*, Y6= *Sphingomonas mucosissima*, Y7= *Micrococcus luteus*, Y8= *Bacillus nealli*, Y9= *Vibrio alginolyticus*, Y10= *Microbacterium arborescens*, Y11= *Pantoea séptica*, Y12= *Staphylococcus hepdlensis*, Y13= *Bacillus aeris*, Y14= *Proteus mirabillis*, Y15= *Vibrio neocaledonicus*, Y16= *Bacillus oceaniss*, Y17= *Exiguobacterium aurantiarum*, Y18= *Kocuria polaris*, Y19= *Esteraro* Y20= *Microbacterium paludícola*, Y21= *Pseudomonas stutzeri*, Y22= *I-AMJA p3113-1*, Y23= *Roseomonas*. **Panel B:** A1= *Actinobacter haemolyticus* A2= *Pseudomonas chengduensis*, A3= *Bacillus foraminis*, A4= *Bacillus niacini*, A5= *Bacillus megaterium*, A6= *Bacillus pumilus*, A7= *Bacillus zhangzhouensis*, A8= *Staphylococcus hominis*, A9= *Enterobacter cloacae*, A10= *Stenotrophomonas*, A11= *Ralstonia paucula*. **Panel C:** H1= *Cladosporium*, H2= *Aspergillus* sp, H3= *Aspergillus flavus*, H4= *Penicillium* sp 1, H5= *Alternaria*, H6= *Penicillium* sp 2.

De las muestras colectadas en Altzomoni (**Figura 19, Panel B**) la mayoría presenta una gran variabilidad en los valores de T_{50} . Después de la *Ralstonia paucula* (A11), *Bacillus megaterium* (A5) es la bacteria que presenta los valores de T_{50} más cálidos; sin embargo, al igual que su T_0 , la variabilidad de T_{50} es bastante alta.

En el **Panel C** se puede observar que los propágulos fúngicos son los microorganismos que mayor variabilidad presentaron en los experimentos. De estos, *Cladosporium* (H1) tiene la T_{50} más cálida (-31°C), lo que hace automáticamente que todos los propágulos fúngicos analizados sean considerados como INPs ineficientes. Al comparar estas temperaturas con las T_{50} reportadas por Kunert et al. (2019) para el género *Fusarium* (**Tabla 5**), se evidencia que éstas temperaturas son demasiado bajas ya que la temperatura más cálida de *Fusarium* fue de -3.5°C y la más baja de -11.2°C , en comparación con los -38°C que presentó *Penicillium* sp2 (H4), la temperatura más baja que presentaron los propágulos fúngicos.

Tabla 5. T_{50} de las especies de *Fusarium* reportados por Kunert et al. (2019).

Género	T_{50} ($^{\circ}\text{C}$)
<i>F. acuminatum</i>	-3.5 a -6.2
<i>F. avenaceum</i>	-5 a -7.6
<i>F. begoniae</i>	-5.3
<i>F. concentricum</i>	-11.2
<i>F. langsethiae</i>	-4.6
<i>F. tricinctum</i>	-7.3

Así mismo, Jayaweera and Flanagan (1982) reportaron las siguientes temperaturas de congelamiento para los propágulos fúngicos que analizaron en el Ártico (**Tabla 6**):

Tabla 6. Temperaturas de congelación de propágulos fúngicos reportadas por Jayaweera and Flanagan (1982).

Especies	Color	T ₉₆ (°C)
<i>Penicillium digitatum</i>	beige	-10
<i>Cladosporium herbarum</i>	beige	-15
<i>Penicillium notatum</i>	verde oscuro	-22
<i>Penicillium frequentens</i>	verde claro	-22.5
<i>Rhizopus stolonifera</i>	café	-23

Jayaweera and Flanagan (1982) obtuvieron datos de temperaturas de congelación para tres especies de *Penicillium* y una de *Cladosporium*, lo que nos da una idea de qué tan eficientes son estas especies en latitudes tropicales comparadas con las latitudes altas. La T₀ de *Cladosporium*, oscila entre los -22°C, la T₅₀ de *Penicillium* sp 1 de -34°C (en los propágulos fúngicos aquí analizados), en cambio los resultados que dichos autores reportaron fueron de -15°C y -22°C para el total de gotas de las muestras de *Cladosporium herbarum*, y de *Penicillium*, respectivamente. Esto indica que las especies analizadas por Jayaweera and Flanagan (1982) (latitudes altas) resultaron más eficientes como INPs que los analizados en este trabajo (latitudes tropicales).



Figura 20. Promedio de la T₅₀ de los microorganismos muestreados en cada uno de los tres sitios de muestreo.

En general, en términos de T_{50} , los propágulos fúngicos son los microorganismos con mayor variabilidad y sus temperaturas varían entre los -32°C y -38°C . Las bacterias recolectadas en Mérida-Sisal reportan valores de T_{50} más cálidas, temperaturas que se encuentran entre -12°C y -23°C . Por otro lado, las bacterias de Altzomoni reportan un T_{50} promedio de $\sim -34^{\circ}\text{C}$, por lo que se corrobora que las muestras de la Península de Yucatán son más eficientes que las de Altzomoni.

3.4. *Ralstonia paucula*

Debido a que la bacteria *Ralstonia paucula*, una proteobacteria, mostró ser el microorganismo más eficiente se ahondará más en dicha bacteria, también llamada *Cupriavidus pauculus* (Koneman, 2008).

Dado que *Ralstonia paucula* presentó valores promedio de T_0 de $-11.5 \pm 1.33^{\circ}\text{C}$ y T_{50} de $-17 \pm 0.66^{\circ}\text{C}$, esta bacteria es el único microorganismo de los 40 analizados, que mostró tener habilidades de medias a altas como INP.

Es importante comparar a la *Ralstonia paucula* con otras bacterias que se han reportado como INPs eficientes debido a que sus temperaturas son cercanas a las de estas bacterias, que también son Gram-negativas. Cabe destacar que la mayoría de las bacterias que se han reportado en la literatura como eficientes INPs son bacterias Gram negativas (Kassmannhuber, 2017).

Como se mencionó anteriormente y como lo reportó Maki et al. (1974), la *Pseudomonas syringae* tiene valores de T_0 que varían entre -2°C y -4°C , la cual al igual que *Ralstonia paucula* es una proteobacteria. Sin embargo, la bacteria *Pseudomonas syringae* presenta una morfología de bacilo (Anzai, et al., 2000) y las colonias típicas de la *Ralstonia paucula* son redondas, lisas y no pigmentadas (Inkster et al., 2021). La diferencia entre las temperaturas de congelación posiblemente se deba a su morfología y/o a que en general, no todas las cepas dentro de una especie son INA (ice nucleation active), es decir, no todas pueden

activarse para la nucleación de hielo y también dentro de las cepas INA, la fracción de células nucleadoras de hielo varía significativamente (Hirano y Upper, 1995). Por otro lado, la bacteria *Pantoea agglomerans* mostró temperaturas de congelamiento de hasta -3.4°C (Ariya et al., 2009) y el Snomax de -8°C . Aunado a esto, la investigación de Christner et al. (2008) reveló que los INP biológicos activos a temperaturas cálidas son abundantes en las muestras de nieve fresca y ubicuos en las precipitaciones.

4. CAPÍTULO 4: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

Los microorganismos analizados en este proyecto fueron muestreados en tres sitios diferentes donde las condiciones atmosféricas de cada uno de ellos eran altamente variables. El sitio de muestreo de Altzomoni es caracterizado por sus bajas temperaturas, por el contrario, en la Península de Yucatán se llega a presenciar temperaturas de hasta 34.9°C. La Ciudad de México, se encuentra principalmente afectada por sus altos niveles de contaminación con una temperatura anual promedio de 16°C y con temperaturas tan altas como 25°C.

A pesar de que las partículas de origen biológico están consideradas como uno de los aerosoles más eficientes como INPs, sólo un microorganismo, la bacteria Gram-negativa *Ralstonia paucula*, de los 40 analizados mostró temperaturas de congelación de T_0 de -11.5°C y una T_{50} de -17°C. Aun así, lo anterior no es completamente sorprendente dado que una fracción muy pequeña de las partículas de aerosol (típicamente 1 en un millón) logra reunir las características necesarias para poder actuar como INP, lo cual concuerda con los resultados encontrados en el presente estudio.

Se encontró que las bacterias colectadas en la Península de Yucatán resultaron ser más eficientes como INPs que las recolectadas en Altzomoni (*a excepción de Ralstonia paucula*). Las bacterias recolectadas en Altzomoni, se encuentran constantemente sometidas a un mayor estrés debido a las bajas temperaturas que caracteriza a este sitio de muestreo, algo a lo que no están expuestas las bacterias de la Península de Yucatán. Los propágulos fúngicos recolectados en la Ciudad de México mostraron temperaturas de nucleación más cercanas a la de la congelación homogénea, por lo que se puede concluir que, de los microorganismos analizados en el presente estudio, los propágulos fúngicos son los menos eficientes como INPs.

Si bien la eficiencia como INP mostrada por la bacteria *Ralstonia paucula*, no es tan alta como la mostrada por otras bacterias como la *Pseudomonas syringae* y la *Patoea agglomerans*, su eficiencia es un indicativo que las partículas biológicas tienen un gran potencial en afectar la formación de hielo y, por lo tanto, los patrones de precipitación a nivel local y/o regional. Sin embargo, es necesario continuar evaluando el papel que juegan las biopartículas en el ciclo hidrológico.

RECOMENDACIONES

Ya que la bacteria *Ralstonia paucula* fue el microorganismo más eficiente para llevar a cabo la nucleación de hielo, es conveniente que se determinen las características fisicoquímicas que posee esta bacteria para tener un mejor entendimiento de las especies que pueden facilitar la nucleación de hielo a temperaturas cálidas.

Para contar con más información, sería interesante comparar y complementar los resultados obtenidos en este proyecto con otras especies y de esta manera tener un mejor entendimiento del comportamiento de las biopartículas que pueden actuar como INPs en latitudes tropicales y también específicamente en México. Por lo tanto, se recomienda hacer estudios tanto en otras ciudades, así como en las demás costas que posee México.

Debido a que en estudios anteriores se ha encontrado que *Cladosporium*, *Alternaria* y *Penicillium* son comunes en ambientes continentales y marinos, se recomienda que se tomen muestras oceánicas para poder ser comparadas con las que ya se tomaron en la Ciudad de México y determinar si la contaminación disminuye la eficiencia como INPs de estos organismos.


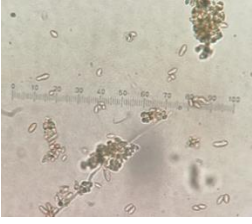


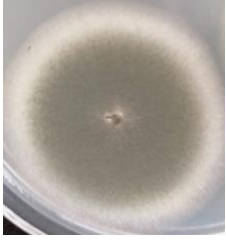

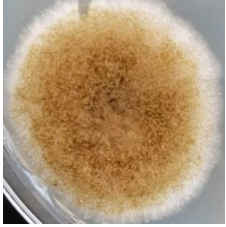


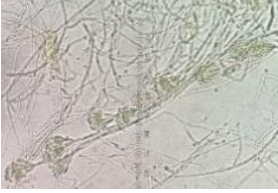
En cuanto a la realización de los experimentos las recomendaciones son: contar también con una cámara que grabe la placa de ELISA, de esta manera ya no se ocuparía el celular. Así mismo, tener una cámara que grabe la rampa de temperatura en un solo video facilitaría el análisis de los experimentos y a su vez

disminuiría el margen de error que provoca el tener grabada la temperatura de un experimento en varios videos.

ANEXO 1.

Imágenes de los propágulos fúngicos recolectados. Una vez que se cultivaron los propágulos que fueron analizados, se pudieron observar cómo están representados en la **Tabla 7**.

Tabla 7. Imágenes de las colonias de propágulos fúngicos crecidos en EMA y de las esporas correspondientes a cada colonia, colectados en la Ciudad de México.

Nombre del hongo	Medio de cultivo	Microscopio
<i>Cladosporium</i>		
<i>Alternaria</i>		
<i>Aspergillus sp1</i>		
<i>Aspergillus sp 2</i>		
<i>Penicillium sp 1</i>		

Penicillium sp2



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alpert, P. A., Aller, J. Y., and Knopf, D. A. (2011). Initiation of the ice phase by marine biogenic surfaces in supersaturated gas and supercooled aqueous phases. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 13(44), 19882–19894.
- Ansmann, A., Tesche, M., Althausen, D., Müller, D., Seifert, P., Freudenthaler, V., Dubovik, O. (2008). Influence of Saharan dust on cloud glaciation in southern Morocco during the Saharan Mineral Dust Experiment. *Journal of Geophysical Research*, 113(D4).
- Anzai, Y., Kim, H., Park, J.Y., Wakabayashi, H., and Oyaizu, H. (2000). Phylogenetic affiliation of the pseudomonads based on 16S rRNA sequence. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 4:1563-1589.
- Boletín UNAM. (2015). ALOJA CIUDAD UNIVERSITARIA ÚNICA RESERVA ECOLÓGICA DE LA CIUDAD DE MÉXICO. Boletín UNAM-DGCS-384.
- Boucher, Olivier. (2015). Atmospheric Aerosols: Properties and Climate Impacts. *Springer*. <https://search-ebSCOhost-com.pbidi.unam.mx:2443/login.aspx?direct=true&db=cat02025a&AN=lib.MX001001890445&lang=es&site=eds-live>.
- Bunse, C., Lundin, D., Karlsson, C.M.G., Akram, N., Vila-Costa, M., Palovaara, J., Svensson, L., Holmfeldt, K., González, J.M., Calvo, E., Pelejero, C., Marrasé, C., Dopson, M., Gasol, J.M. and Pinhassi, J. (2016). Response of marine bacterioplankton pH homeostasis gene expression to elevated CO₂. *Nature Climate Change*; 6:483-487. <http://dx.doi.org/10.1038/nclimate2914>
- Calderon-Ezquerro, M. C., Guerrero-Guerra, C., Galán, C., Serrano-Silva, N., Guidos-Fogelbach, G., Jiménez-Martínez, M. C., Larenas-Linnemann, D., López, E. D., and Ayala, J. (2018). Pollen in the atmosphere of Mexico City and its impact on the health of the pediatric population. *Atmospheric Environment*, 186, 198–208. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2018.05.006>
- Dirección de Monitoreo Atmosférico. Calidad del Aire. (2020) SEDEMA. Observatorio Atmosférico Alzomoni. Fecha de consulta: agosto

2021.

Disponible

en:

<http://www.aire.cdmx.gob.mx/default.php?opc=%27aaBhnmU=%27>

- Carranza E., Gutiérrez Estrada A. and Rodríguez Torres M. (1975). Unidades morfo-tectónicas continentales de las costas mexicanas. *Anales del Instituto de Ciencias de Mar y Limnología, UNAM*, 2(1): 81-88.
- CONAGUA. (2017) Comisión Nacional del Agua. Servicio Meteorológico Nacional, Normales Climatológicas. Fecha de consulta: febrero 2021. Disponible en: <https://smn.conagua.gob.mx/es/informacion-climatologica-por-estado?estado=yuc>
- Córdoba, F., Ramírez-Romero C., Cabrera, D., Raga, G. B., Miranda, J., Alvarez-Ospina H., Rosas, D., Figueroa, B., Kim, J. S., Yakobi-Hancock J., Amador, T., Gutierrez, W., García, M., Bertram, A. K., Baumgardner, D., and Ladino, L. A. (2021). Measurement report: Ice nucleating abilities of biomass burning, African dust, and sea spray aerosol particles over the Yucatán Peninsula. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 21, 4453–4470.
- Danovaro, R., Dell'Anno, A., Corinaldesi, C., Magagnini, M., Noble, R., Tamburini, C., and Weinbauer, M. (2008). Major viral impact on the functioning of benthic deep-sea ecosystems. *Nature*, 454, 1084-1087
- Delort, J. M., and Amato, P. (2017). Microbiology of aerosols. John Wiley and Sons, 4-11.
- Diehl, K., Quick, C., Matthias-Master, S., Mitra, S. K., and Jaenicke, R. (2001). The ice nucleating ability of pollen Part I: Laboratory studies in deposition and condensation freezing modes. *Atmospheric Research*, 58(2), 75–87
- Domínguez-Malfavón L, Cervantes-González E, García-Romero JR, Torres-Mota AM, Rojas-Avelizapa NG and García-Mena J. (2007). Study of the microbial diversity of outdoor bioaerosols of Mexico City. *Progress in environmental science and technology*, (vol. I). pp 502–509.
- Edwards R. A., Rohwer F. (2005). Viral metagenomics. *Nature Reviews Microbiology*, 3 (6): 504-510.

- Escamilla, Jaime. Agenda Estadística (2020). Dirección General de Planeación UNAM: 10-22, 70. Consultado el 13 de diciembre de 2020.
- FAO. (2020). Acción mundial de la FAO sobre servicios de polinización para una agricultura sostenible. <http://www.fao.org/pollination/background/es/> diciembre, 2020.
- Fröhlich-Nowoisky, J., Kampf, C. J., Weber, B., Huffman, J. A., Pöhlker, C., Andreae, M. O., Lang-Yona, N., Burrows, S. M., and Gunthe, S. S. (2016). Bioaerosols in the Earth system: Climate, health, and ecosystem interactions. *Atmospheric Research*.182: 346-376.
- Fröhlich-Nowoisky, J., T. C. J. Hill, B. G. Pummer, P. Yordanova, G. D. Franc, and U. Pöschl. (2015). Ice nucleation activity in the widespread soil fungus *Mortierella alpina*. *Biogeosciences*, 12(4), 1057–1071. <https://doi.org/pbidi.unam.mx:2443/10.5194/bg-12-1057-2015>
- Fromme, H., Diemer, J., Dietrich, S., Cyrys, J., Heinrich, J., Lang, W., Kiranoglu, M., and Twardella, D. (2008). Chemical and morphological properties of particulate matter (PM 10, PM 2.5) in school classrooms and outdoor air. *Atmospheric Environment*, 42(27), 6597–6605. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2008.04.047>
- García-Mena, J., Murugesan, S., Perez-Muñoz, A.A., García-Espitia, M., Maya, O., Jacinto-Montiel, M., Monsalvo-Ponce, G., Piña-Escobedo, A., Domínguez- Malfavon, L., Gomez-Ramírez, M., Cervantes-Gonzalez, E., Núñez-Cardona, M.T., (2016). Airborne bacterial diversity from the low atmosphere of greater Mexico City. *Microbial Ecology*, 72, 70–84. <https://doi.org/10.1007/s00248-016-0747-3>.
- Garrison, V.H, Foreman, W.T, Genualdi, S, Griffin, D. W, Kellogg, C. A, Majewski, M. S, Mohammed, A, Ramsubhag, A, Shinn, E. A, Simonich, S. L, and Smith, G. W. (2006). Saharan dust - a carrier of persistent organic pollutants, metals, and microbes to the Caribbean? *Revista de Biología Tropical*, 54, 9-21.
- Gómez L. (2007). Microalgas: Aspectos ecológicos y biotecnológicos. *Revista Cubana de Química*, 19(2): 3-20.

- Hernández-Becerril, D. U. (2014). Biodiversidad de algas planctónicas marinas (Cyanobacteria, Prasinophyceae, Euglenophyta, Chrysophyceae, Dictyochophyceae, Eustigmatophyceae, Parmophyceae, Raphidophyceae, Bacillariophyta, Cryptophyta, Haptophyta, Dinoflagellata) en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85: S44-S53, DOI: 10.7550/rmb.32037
- Hirano S.S., and Upper C.D. (1995). Biological Ice Nucleation and its Applications. *The American Phytopathological Society*. pp 41–61
- Hoose, C., Kristjánsson, J. E., and Burrows, S. M. (2010). How important is biological ice nucleation in clouds on a global scale? *Environmental Research Letters*, 5(2). <https://doi.org/10.1088/1748-9326/5/2/024009>
- Hoose C., and Möhler, O. (2012). Heterogeneous ice nucleation on atmospheric aerosols: a review of results from laboratory experiments. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 12(20), 9817–9854. <https://doi.org/10.5194/acp-12-9817-2012>
- Huang, S., Hu, W., Chen, J., Wu, Z., Zhang, D., and Fu, P. (2021). Overview of biological ice nucleating particles in the atmosphere. *Environment International*, 146, 106197.
- Huertas, M. E., Acevedo-Barrios, R. L., Rodríguez, M., Gaviria, J., Arana, R., and Arciniegas, C. (2018). Identification and Quantification of Bioaerosols in a Tropical Coastal Region: Cartagena de Indias, Colombia. *Aerosol Science and Engineering*, 2(4), 206–215. <https://doi.org/10.1007/s41810-018-0037-1>
- Hurtado L., Rodríguez G., Lopez J., Castillo J.E., Molina L., Zavala M., and Quintana P.J.E., (2014). Characterization of atmospheric bioaerosols at 9 Sites in Tijuana, México. *Atmospheric Environment*, 96, 430-436.
- Iannone, R., Chernoff, D.I., Pringle, A., Martin, S.T., Bertram, A.K., (2011). The ice nucleation ability of one of the most abundant types of fungal spores found in the atmosphere. *Atmospheric Chemistry Physics*. 11, 1191–1201. <https://doi.org/10.5194/acp-11-1191-2011>.
- Inkster, T., Peters, C., Wafer, T., Holloway, D., and Makin, T. (2021). Investigation and control of an outbreak due to a contaminated hospital water system, identified following a rare case of *Cupriavidus pauculus*

bacteraemia. *Journal of Hospital Infection*, 111, 53–64. [https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1016/j.jhin.2021.02.001](https://doi.org/pbidi.unam.mx:2443/10.1016/j.jhin.2021.02.001)

- INEGI (2019). Información por entidad: yucatán [WWW Document]. URL [Relieve. Yucatán \(inegi.org.mx\)](https://inegi.org.mx)
- INEGI (2019). Información por entidad: yucatán [WWW Document]. URL <http://cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/yuc/territorio/clima.aspx?tema=me&e=31>. (20/01/2021).
- INE-SEMARNAT (2009), “Estudio sobre la variabilidad estacional de la composición y toxicidad de partículas finas en el valle de México”. Segundo Reporte Técnico.
- Jayaweera, K. and Flanagan, P. (1982). Investigations on biogenic ice nuclei in the arctic atmosphere. *Geophysical Research Letters*. 9, 9497, doi: 10.1029/GL009i001p00094
- Joly, M., Attard, E., Sancelme, M., Deguillaume, L., Guilbaud, C., Morris, C.E., Amato, P., and Delort, A. M., (2013). Ice nucleation activity of bacteria isolated from cloud water. *Atmospheric Environment*, 70, 392–400. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2013.01.027>.
- Juárez, J. (2018). Determinación de las habilidades para de la microcapa superficial del océano para la formación de cristales de hielo: Golfo de México vs. Pacífico Norte (Tesis de Licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, México.
- Kanji, Z., Ladino, L.A., Wex, H., Boose, Y., Cziczo, M. B.-K., and Krämer, M. (2017). Overview of Ice Nucleating Particles. *Meteorological Monographs*, 58, 1.1- 1.33.
- Kassmannhuber, J., Mascha, R., Schöner, Witte , A., and Werner, L. (2017). Functional display of ice nucleation protein InaZ on the surface of bacterial ghosts. *Bioengineered*, 8(5), 488-500.
- Kellogg, C.A., Griffin, D.W., Garrison, V.H., Peak, K.K., Royall, N., Shinn, E.A., and Smith, R.R. (2004) Characterization of Aerosolized Bacteria and Fungi from Desert Dust Events in Mali, West Africa. *Aerobiologia*, 20(2), 99–110. <https://doi.org/10.1023/B:AERO.0000032947.88335.bb>

- Kieft, T. L. and Ruscetti, T. (1990). Characterization of biological ice nuclei from a lichen, *Journal of Bacteriology*, 172, 3519–3523.
- Kishcha, P., da Silva, A. M., Starobinets, B., Long, C. N., Kalashnikova, O., and Alpert, P. (2014) Meridional distribution of aerosol optical thickness over the tropical Atlantic Ocean, *Atmospheric Chemistry and Physics*, 14, 23309–23339, <https://doi.org/10.5194/acpd-14-23309-2014>.
- Knopf, D., Alpert, P., Wang, B. and Aller, J. (2010) Stimulation of ice nucleation by marine diatoms. *Nature Geoscience*, 4(2), 88-90.
- Koneman, E. W. (2008). Koneman diagnóstico microbiológico: Texto y atlas en color. Buenos Aires: Panamericana.
- Kunert, A.T., Pöhlker, M.L., Tang, K., Krevert, C.S., Wieder, C., Speth, K.R., Hanson, L.E., Morris, C.E., Schmale III, D.G, Pöschl, U., and Fröhlich-Nowoisky. (2019). Macromolecular fungal ice nuclei in Fusarium: effects of physical and chemical processing. *Biogeosciences*, 16, 4647–4659. <https://doi.org/10.5194/bg-16-4647-2019>
- Ladino L.A., Juarez-Perez, J., Z. Ramirez-Diaz, L.A. Miller, J. Herrera, G.B. Raga, K. Simpson, G. Cruz, D. Pereira, and F. Cordoba (2020). The UNAM-Droplet Freezing Assay: An Evaluation of the Ice Nucleating Capacity of the Sea-Surface Microlayer and Surface Mixed Layer in Tropical and Subpolar Waters. *Atmósfera* (In-press).DOI: <https://orcid.org/0000-0002-4941-7945>
- Ladino Moreno, L. A., Stetzer, O., and Lohmann, U.: Contact freezing: a review of experimental studies. (2013). *Atmospheric Chemistry and Physics*, 13, 9745–9769, <https://doi.org/10.5194/acp-13-9745-2013>.
- Ladino, L. A., Raga, G. B., Alvarez-Ospina, H., Andino-Enríquez, M. A., Rosas, I., Martínez, L., Salinas, E., Miranda, J., Ramírez-Díaz, Z., Figueroa, B., Chou, C., Bertram, A. K., Quintana, E. T., Maldonado, L. A., García-Reynoso, A., Si, M., and Irish, V. E. (2019) Ice-nucleating particles in a coastal tropical site. *Atmospheric Chemistry Physics*, 19, 6147–6165, <https://doi.org/10.5194/acp-19-6147-2019>.

- Lawrence C.M., Menon S., and Eilers B.J. (2009). Structural and functional studies of archaeal viruses. *Journal of Biological Chemistry*. 284 (19): 12599-603. doi:10.1074/jbc.R800078200. PMID 19158076. PMC 2675988
- Lohmann, U., Lüönd, F., Mahrt F. (2016). *An Introduction to Clouds: From Microscale to Climate*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Magaña, V., J. Amador and S. Medina (1999), "The Midsummer Drought over Mexico and Central America", *Journal of Climate*, American Meteorological Society, 12(6), 1577–1588.
- Magaña, V., and Yanai, M. (1991). Tropical-Midlatitude Interaction on the Time Scale of 30 to 60 Days during the Northern Summer of 1979, *Journal of Climate*, 4(2), 180-201.
- Maldonado, L.A., Stach, J.E.M., Pathom-Aree, W., Ward, A.C., Bull, A.T., Goodfellow, M., (2005). Diversity of cultivable actinobacteria in geographically widespread marine sediments. *Antonie van Leeuwenhoek. International Journal of General and Molecular Microbiology*. 87, 11–18. <https://doi.org/10.1007/s10482-004-6525-0>.
- Manahan, S. E. (2007). *Introducción a la química ambiental*. Barcelona: Editorial Reverté, 387-389
- Márdero, Sofía, Nickl, Elsa, Schmook, Birgit, Schneider, Laura, Rogan, John, Christman, Zachary, and Lawrence, Deborah. (2012). Sequías en el sur de la península de Yucatán: análisis de la variabilidad anual y estacional de la precipitación. *Investigaciones geográficas*, (78), 19-33.
- C. Marcolli. (2014). Deposition nucleation viewed as homogeneous or immersion freezing in pores and cavities. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 14(4), 2071–2104. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.5194/acp-14-2071-2014>
- Méndez Álvarez, Daniela. 2016. "Análisis de la participación comunitaria en el ámbito ambiental. El caso de Sisal, Yucatán". Tesis para obtener grado en Licenciatura en Manejo Sustentable de Zonas Costeras. Facultad de Ciencias, UNAM. Sisal, Yucatán, Méx.

- Mérida (Información de la ciudad). Dirección de Desarrollo Económico y Turismo. (20/01/2021). URL: <https://www.merida.gob.mx/municipio/sitiosphp/merida/php/informacion.php>
[x](#)
- Murray, B. J., O, sullivan, D., Atkinson, J. D., and Webb, M. E. (2012). Ice nucleation by particles immersed in supercooled cloud droplets. *Chemical Society Reviews*, 41(19), 6519–6554. <https://doi.org/10.1039/c2cs35200a>
- Murray, P. R. (2009). Microbiología Médica + Student Consult, 6a ed. *Elsevier España*. ISBN 978-84-8086-465-7.
- Ortega, G. A., and Bernal, Edgar A. (2011). Bacteriemia asociada a catéter por *Cupriavidus pauculus*. *Infectio*, 15(4), 289-292.
- Osnaya Miranda, M. Á., and Vidal Hernández, L. E. (2021). Contribuciones biológicas, pesqueras y normativas para un ordenamiento pesquero deportivo-recreativo en la península de Yucatán (Tesis de Licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, México.
- Ponce, C., Gamboa, M., López, M., Cerón, I., Quintal, C., and Loría, H. (2013) Seasonal variation of airborne fungal propagules indoor and outdoor of domestic environments in Mérida, Mexico. *Atmósfera*, 26(3), 369-377.
- Pouleur, S., Richard, C., Martin, J.G., and Antouin, H. (1992). Ice nucleation activity in *Fusarium acuminatum* and *Fusarium avenaceum*, *Applied and Environmental Microbiology*, 58, 2960–2964.
- Pöschl, U. (2005). Atmospheric Aerosols: Composition, Transformation, Climate and Health Effects. *Angewandte Chemie-International Edition*, 44(46), 7520–7540.
- Pummer, B. G., Bauer, H., Bernardi, J., Bleicher, S. and Grothe, H. (2012). Suspendable macromolecules are responsible for ice nucleation activity of birch and conifer pollen, *Atmospheric Chemistry and Physics*, 12(5), 2541–2550, doi: 10.5194/acp-12-2541-2012.
- Raga, G. B., Baumgardner, D., Rios, B., Díaz-Esteban, Y., Jaramillo, A., Gallagher, M., Sauvage, B., Wolff, P., and Lloyd, G. (2021). Extreme Ice Crystal Events Linked to Biomass and Fossil Fuel Combustion, *Atmospheric*

Chemistry and Physics. Discuss. [preprint], <https://doi.org/10.5194/acp-2021-288>.

- Ramachandran, S. (2018). *Atmospheric Aerosols*. Boca Raton: CRC Press, <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1201/9781315152400>, 16-18.
- Ramos, R., and Meza, V. (2017). Efectos de algunos factores meteorológicos sobre la concentración de esporas de hongos en la Plaza San Martín de Lima / Effects of some meteorological factors on the concentration of fungal spores at Plaza San Martín, Lima, Perú. *Ecología Aplicada*, 16(2), 143–149. <https://doi.org/10.21704/rea.v16i2.1018>
- REPSA, s.f., Ubicación de Reserva Ecológica del Pedregal del San Ángel. Disponible en: <http://www.repsa.unam.mx/index.php/ubicacion>
- Retama, A., Granados, and G., Loya, I. (2010). *Calidad del Aire en la Ciudad de México. Informe 2010*. México: SEDEMA.
- Rivera, C., Sánchez, F., and Andrade, M.A. (2016). *Contaminación Atmosférica de la Zona Metropolitana del Valle de México y sus efectos en la salud*. Ciudad de México: Universidad Autónoma Metropolitana.
- Rodríguez-Gómez C., Ramírez C., Córdoba F., Raga G.B., Salinas E., Martínez L., Rosas I., Quintana E.T., Maldonado L.A., Rosas D., Amador T., Alvarez H., and Ladino L.A. (2020). Characterization of culturable airborne microorganisms in the Yucatan Peninsula. *Atmospheric Environment*, 223, 117183.
- Rodríguez-Gómez S, Sauri MR, Peniche I, Pacheco J, Ramírez JM (2005) Aerotransportables viables en el área de tratamiento y disposición final de residuos sólidos municipales de Mérida, Yucatán. *Ingeniería* 9:19–29.
- Sánchez, N, Sandoval, AH, Díaz-Corrales, F, & Serrano, JA. (2004). El género *Rhodococcus*. Una revisión didáctica. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 24(1-2), 24-33.
- Schlesinger, P., Mamane, Y. and Grishkan, I. (2006) Transport of microorganisms to Israel during Saharan dust events. *Aerobiologia* 22, 259. <https://doi.org/10.1007/s10453-006-9038-7>

- SEMAR. Secretaría de Marina. 2013. El Sisal, Yucatán. Fecha de consulta: febrero 2021. Disponible en: <http://digaohm.semar.gob.mx/cuestionarios/cnarioSisal.pdf>
- SEMARNAT. (2013). Programa de Manejo Parque Nacional Iztaccíhuatl Popocatepetl. México, D. F.: Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Fecha de consulta: Agosto, 2021. Disponible en: https://simec.conanp.gob.mx/pdf_libro_pm/87_libro_pm.pdf
- SEMARNAT. (2016). Parque Nacional Iztaccíhuatl-Popocatepetl. Fecha de consulta: Agosto, 2021. Disponible en: <https://www.gob.mx/semarnat/articulos/parque-nacional-iztaccihuatl-popocatepetl?idiom=es>
- Strahler, A., and Z. Merali (2008), Visualizing physical geography, Wiley Visualizing by *The National Geographic Society*.
- Tobo, Y. (2016). An improved approach for measuring immersion freezing in large droplets over wide temperature range. *Scientific Reports*, 6:32930.
- Virus Taxonomy: 2019 Release, EC 51, Berlin, Germany, July 2019, 2020 International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV).
- Von Blohn, N., Mitra, S. K., Diehl, K., and Bormlann, S. (2005). The ice nucleating ability of pollen. Part III: New laboratory studies in immersion and contact freezing modes including more pollen types. *Atmospheric Research*, 78(3–4), 182–189
- Wallace, J. M., and Hobbs, P. V. (2006). Atmospheric science: an introductory survey (Second edition). *Elsevier Academic Press*.102(5), 444.
- Wellington, E.M.H., and Williams, S.T. (1979). Preservation of actinomycete inoculum in frozen glycerol. *Microbios Letters*, 6, 151–157.
- Wilson, T. W., Ladino, L. A., Alpert, P. A., Breckels, M. N., Brooks, I. M., Browse, J., Burrows, S. M., Carslaw, K. S., Huffman, J. A., Judd, C., Kilhau, W. P., Mason, R. H., McFiggans, G., Miller, L. A., Nájera, J. J., Polishchuk, E., Rae, S., Schiller, C. L., Si, M., and Temprado, J. V. (2015). A marine biogenic source of atmospheric ice-nucleating particles. *Nature*, 525(7568), 234–238. <https://doi.org/10.1038/nature14986>

- Wex, H., Augustin-Bauditz, S., Boose, Y., Budke, C., Curtius, J., Diehl, K., Dreyer, A., Frank, F., Hartmann, S., Hiranuma, N., Jantsch, E., Kanji, Z.A., Kiselev, A., Koop, T., Möhler, O., Niedermeier, D., Nillius, B., Rösch, M., Rose, D., and Stratmann, F. (2015). Intercomparing different devices for the investigation of ice nucleating particles using Snomax® as test substance. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 15(3), 1463–1485. <https://doi.org/10.5194/acp-15-1463-2015>.
- Wright, T. P., and Petters, M. D. (2017). The role of time in heterogeneous freezing nucleation. *Journal of Geophysical Research. Atmospheres*, 118(9), 3731–3743.
- Yakobi-Hancock, J. D., Ladino, L. A., and Abbatt, J. P. D. (2013). Review of Recent Developments and Shortcomings in the Characterization of Potential Atmospheric Ice Nuclei: Focus on the Tropics. *Revista de Ciencias*, 17, 15-34.
- Zhang, S., Du, R., Chen, H., Zhang, Y., Du, P., and Ren, W. (2020). Characteristics and Distribution of efficient ice nucleating particles in rainwater and soil. *Atmospheric Research*, 246., ISSN 0169-8095. <https://doi.org/10.1016/j.atmosres.2020.105129>