



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
MAESTRÍA EN ECOLOGÍA APLICADA

IDÓNEA COMUNICACIÓN DE RESULTADOS

**Distribución espacio-temporal de la composición
bacteriana en la atmósfera baja del Valle de Toluca**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRA
EN ECOLOGÍA APLICADA**

PRESENTA

Guadalupe Cruz Pauseno

Matrícula: 2172800594

COMITÉ TUTORAL

Directora: Dra. María Teresa Núñez Cardona
Codirector: Dr. en C. Jaime García Mena
Asesor: Dr. Raúl Venancio Díaz Godoy

Ciudad de México, 13 de septiembre de 2019

Dedicatoria

A Dios.

A mis padres.

A María Teresa Valdes, por siempre "Tita" †.

Agradecimientos Institucionales

A la Maestría en Ecología Aplicada de la División del Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana, unidad Xochimilco, agradezco el apoyo económico proporcionado por la realización de la maestría en esta casa de estudios "*In Calli Ixcahuicopa*" ("Casa abierta al tiempo").

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el financiamiento otorgado a los proyectos: CB-256751, responsable Dr. Raúl Venancio Díaz Godoy (ININ) y Dra. María Teresa Núñez Cardona (UAM unidad Xochimilco). También, CONACyT-163235 INFR-2011, responsable Dr. en C. Jaime García Mena (Cinvestav unidad Zacatenco).

Asimismo, al Laboratorio de Ecología Microbiana de la Universidad Autónoma Metropolitana en la unidad Xochimilco, a la Dra. María Teresa Núñez Cardona. A Erick Uriel Quezada, Wendy Cifuentes y Félix Zúñiga por su apoyo durante los muestreos, a Viani García Pérez por las técnicas enseñadas en laboratorio y Arturo Martínez Santiago por su ayuda en la realización de las pruebas bioquímicas.

Al Cinvestav unidad Zacatenco, que facilitó las instalaciones para realizar los trabajos de análisis de secuenciación masiva en las muestras ambientales de la presente tesis, Dr. en C. Jaime García Mena, Dr. en C. Khemlal Nirmalkar, así como a la Dra. en C. Igrid García González y el M. en C. Loan Edel Villalobos Flores.

A los investigadores del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares: Dr. Raúl Venancio Díaz Godoy, Dr. Jaime Moreno Alcántara y Dr. José López Monrroy, de igual manera a los estudiantes de servicio social: Luis Arturo Alarcón Valdín, Daniel Misael Estrada Ovando, Alejandro Gil Soto, Laura Jazmín Olin Romero, Marco Antonio Martínez Medina y al equipo de trabajo de la Red Automática de Monitoreo Atmosférico de la ZMVT por el apoyo técnico, infraestructura y logística, así como a todos los que estuvieron en algún momento de este proceso.

Agradecimientos personales

Agradezco inmensamente por su aliento y por su paciencia durante la redacción de esta tesis a mi hermana Josefina y a mi familia.

A la Dra. María Teresa Núñez Cardona, por ser la revisora principal de este manuscrito y darme la posibilidad de aprender de ella, asimismo por impulsarme y apoyarme para el ingreso a la maestría en Ecología Aplicada.

Con profundo respeto, doy gracias al Dr. en C. Jaime García Mena del Cinvestav unidad Zacatenco, por brindarme amablemente su ayuda, apoyo, paciencia y enseñanzas, más que un investigador lo considero un excelente ser humano. También me ha beneficiado mucho colaborar con investigadores y estudiantes talentosos, entre los que se incluyen: Khemlal Nirmalkar, Loan Edel Villalobos Flores, Fernando Hernández Quiroz y por supuesto la distinguida y muy querida Dra. en C. Igrid García González.

De igual manera agradezco al Dr. Raúl Venancio Díaz Godoy por su disposición para asesorarme dentro y fuera de las instalaciones del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares.

A los colegas y compañeros de la maestría en Ecología Aplicada, por la realización de los mapas a Sarah Irma Sifuentes De la Torre, así como un singular agradecimiento, por los consejos y críticas de Jennifer Ramírez Núñez, Diana Esbeida Juan Martínez, José Augusto Chávez Valadés y Ezel Jacome Galindo Pérez y porque a pesar de haber existido serias diferencias, fueron superadas trabajando como un excelente equipo Antonio Lozada Canudas.

También, me gustaría agradecer a los maestros Juan Carlos Vera Manjarrez y Alfonso Esquivel Herrera, Mtra. Ruth Soto Castor y Dra. Carmen Dosta Monrroy el apoyo brindado durante la metamorfosis que transformó mi vida personal y académica. Así como a las personas que siempre me escucharon: Fernando, Joshua, Lirio, Dirce, Luis Fernando, Ignacio, Polo, Ana, Erick y Carmen gracias por su tiempo.

Finalmente, debo un agradecimiento especial por el apoyo y la oportunidad de aceptarme sin conocerme en sus vidas a Obdulia Núñez Cardona y Mónica Mansour que contribuyeron en la generación de un ambiente armonioso y estable para la redacción de este trabajo.

El Jurado asignado por la Comisión Académica de la Maestría en Ecología Aplicada de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, aprobó la Idónea Comunicación de Resultados titulada:

Distribución espacio-temporal de la composición bacteriana en la atmósfera baja del Valle de Toluca

Que presentó:

Guadalupe Cruz Pauseno

El día 13 de septiembre de 2019 en la Ciudad de México para obtener el Grado de

Maestra en Ecología Aplicada

JURADO DE EXAMEN

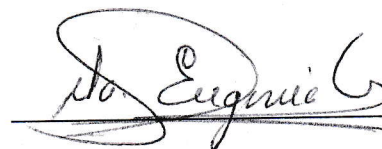
FIRMA

Dr. Raúl Venancio Díaz Godoy
(Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares)



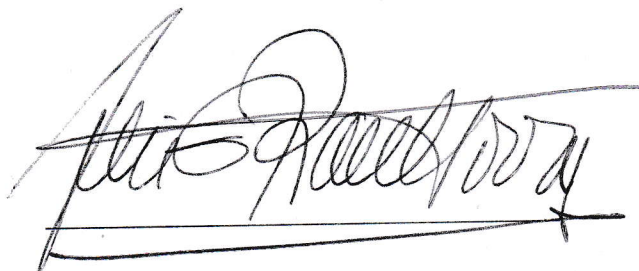
Presidente

Dra. María Eugenia Gutiérrez Castillo
(Centro Interdisciplinario de Investigaciones y Estudios sobre Medio Ambiente y Desarrollo)



Secretaria

Dr. Luis Raúl Tovar Gálvez (Centro Interdisciplinario de Investigaciones y Estudios sobre Medio Ambiente y Desarrollo)



Vocal

“...El arrogante imperativo moral que nos empuja a tratar de guiar a una Tierra caprichosa o de curar a nuestro planeta enfermo es una prueba de nuestra inmensa capacidad para el autoengaño. Más bien necesitamos protegernos de nosotros mismos”.

Lynn Margulis

Índice

Resumen general

Introducción general

Capítulo 1. Aislar bacterias metabólicamente activas de la atmósfera baja de tres sitios del Valle de Toluca y caracterizarlas mediante sus propiedades morfológicas y fisiológicas

1.1. Resumen	1
1.2. Abstract	2
1.3. Introducción.....	3
1.4. Revisión bibliográfica.....	4
1.5. Objetivo	11
1.6. Métodos.....	11
1.6.1. Aislamiento de bacterias en filtros	14
1.6.2. Producción de enzimas extracelulares y hemólisis.....	15
1.6.3. Caracterización catabólica (Carballo-Cruz, 1985 modificado por Núñez-Cardona)	16
1.6.4. Metabolismo respiratorio	16
1.6.5. Elaboración de Dendogramas	17
1.7. Resultados	17
1.7.1. Capacidad para producir enzimas extracelulares y hemólisis	19
1.7.2. Utilización de compuestos orgánicos como fuentes de carbono y energía	20
1.7.3. Metabolismo respiratorio y movilidad.....	21
1.7.4. Taxonomía numérica	22
1.8. Discusión	31
1.9. Conclusiones.....	36

1.10. Literatura citada	37
Anexo 1A	45
Anexo 1B	48
Anexo 1C	51
Anexo 1D	54

Capítulo 2. Analizar la composición química en partículas suspendidas con diámetro aerodinámico menores o igual a 2.5 micrómetros (PM_{2.5}) en tres sitios del Valle de Toluca y conocer a las bacterias que están asociadas a estas

2.1. Resumen	55
2.2. Abstract	56
2.3. Introducción.....	57
2.4. Revisión bibliográfica.....	59
2.5. Objetivo	64
2.6. Métodos.....	64
2.6.1. Colecta de muestras.....	64
2.6.2. Análisis de las muestras: emisión de rayos X inducidos por protones (PIXE)	65
2.6.3. Análisis de los datos	67
2.7. Resultados	67
2.7.1. Composición de las partículas inhalables PM _{2.5}	67
2.7.2. Concentraciones de las partículas PM _{2.5}	70
2.7.3. CQE y grupos bacterianos	71
2.8. Discusión	74
2.9. Conclusiones.....	78
2.10. Literatura citada	79

Capítulo 3. Identificar mediante secuenciación de amplicones (bibliotecas de clones), la composición bacteriana de la atmósfera baja en seis sitios de la ZMVT

3.1. Resumen	85
3.2. Abstract	86
3.3. Introducción.....	87
3.4. Revisión bibliográfica.....	88
3.5. Objetivo	91
3.6. Métodos.....	91
3.6.1. Colecta y procesamiento de muestras.....	92
3.6.2. Extracción de DNA genómico bacteriano	93
3.6.3. Elaboración de bibliotecas de rDNA 16S	94
3.6.4. Análisis de secuenciación del DNA por semiconductores	94
3.6.5. Análisis de datos.....	95
3.7. Resultados	96
3.7.1. Extracción de DNA genómico bacteriano	96
3.7.2. Phyla con mayor abundancia en la ZMVT	98
3.7.3. Diversidad de bacterias	100
3.7.4. Diferencias en las abundancias de las bacterias aéreo-transportadas (BAT)	103
3.7.5. Abundancias principales de las BAT por sitios	105
3.7.6. Frecuencia de las BAT por sitios	108
3.8. Discusión	111
3.9. Conclusiones.....	118
3.10. Literatura citada	119
Anexo 3A	127

Anexo 3B	128
Anexo 3C	129
Anexo 3D	136

Capítulo 4. Relacionar los factores ambientales que determinan la presencia de grupos fisiológicos bacterianos

4.1. Resumen	143
4.2. Abstract	143
4.3. Introducción.....	144
4.4. Revisión bibliográfica.....	145
4.5. Objetivo	148
4.6. Métodos.....	148
4.7. Resultados	149
4.8. Discusión	153
4.9. Conclusiones.....	153
4.10. Literatura citada	154
Conclusiones generales	157

Capítulo 5. Transferencia de conocimiento

Producto de trabajo	169
---------------------------	-----

Resumen general

La Zona Metropolitana del Valle de Toluca (ZMVT), es una de las entidades con importantes actividades antropogénicas e industriales que conllevan a un deterioro en la calidad ambiental, sobre todo en el aire. En este trabajo, se plantearon cuatro objetivos, el primero consistió en: *Aislar bacterias metabólicamente activas de la atmósfera baja de tres sitios del Valle de Toluca y caracterizarlas mediante sus propiedades morfológicas y fisiológicas*. Los sitios de estudio en la ZMVT fueron: San Cristóbal Huichochitlan (SC), San Mateo Atenco (SM) y Ceboruco (CB). Para colectar las muestras (épocas: lluvias, seca-fría y seca-cálida), se utilizó un muestreador TCR TECORA (PM_{2.5}) con filtros de fibra de vidrio, una fracción de estos se colocaron en caldo nutritivo y 0.1 ml fue resembrado en agar nutritivo. Después de 24 horas de incubación (28 °C), se aislaron colonias y obtuvieron cultivos puros. Se utilizó la tinción de Gram para identificar la morfología de las bacterias las cuales fueron caracterizadas mediante su capacidad catabólica, de producir enzimas extracelulares y hemólisis, así como su metabolismo respiratorio. Se obtuvieron 133 aislados bacterianos, la mayoría con forma bacilar y respuesta positiva a la tinción de Gram (89 %); se observó un número mayor de bacterias productoras de enzimas extracelulares en los aislamientos de CB (65 %), seguido de SC (61 %). Las bacterias aisladas de SM, utilizaron mayormente los sustratos ensayados (lluvias= 71 % y seca-fría= 75 %, respectivamente) junto con SC (seca-cálida= 70 %), en especial a la glucosa, sacarosa y fructuosa; más del 81 %. Los cultivos presuntamente pertenecen al Phylum Firmicutes. El segundo objetivo fue *Analizar la composición química en partículas suspendidas con diámetro aerodinámico menores o igual a 2.5 micrómetros (PM_{2.5}) en tres sitios del Valle de Toluca y conocer a las bacterias que están asociadas a estas*. A través de la técnica de Emisión de Rayos X Inducidos por Protones (PIXE), se detectó la Composición Química Elemental (CQE) en los sitios SC, SM y CB. Se identificaron 11 elementos químicos; se consideraron los niveles de riesgo mínimo (LMR) y el índice de calidad de aire (IMECA) para determinar el grado de impacto de estos en la salud de los humanos. El silicio (Si) fue el que se presentó en concentraciones mayores en los tres sitios. La presencia de K y Cl detectados, están relacionados con la quema de biomasa e incineración de

desechos; los valores de LMR en el cloro (Cl); el IMECA no excedió los estándares diarios (24 horas) de la norma Mexicana NOM-025-SSA1-2014, sin embargo, en SM la calidad del aire fue *regular* y *mala*. El tercer objetivo fue *Identificar mediante secuenciación de amplicones (bibliotecas de clones), la composición bacteriana de la atmósfera baja en seis sitios de la ZMVT*. Las muestras fueron colectadas durante la época de lluvias y seca-cálida mediante la técnica por gravedad con cajas de Petri (abiertas durante 30 min.) colocadas a una altura de 0.5-3.0 m del suelo, en los sitios: Oxtotitlan (OX), San Mateo Atenco (SM), San Cristóbal Huichochitlan (SC), Ceboruco (CB), Zinacantepec (ZC) y San Lorenzo Tepaltitlan (SL); se cuantificaron las unidades formadoras de colonias (UFC) y se realizó la extracción de ADN bacteriano (kit DNeasy PowerSoil). Se registró el mayor número de bacterias en los sitios de ZC, CB y SC (130, 104 y 101 UFC) en la época de lluvias, mientras que en la seca-calida, el mayor registro fue en SM (159 UFC), seguido de SC (119 UFC) y CB (103 UFC) y se identificaron 203 géneros bacterianos. En lluvias predominaron los phyla Firmicutes y Proteobacteria, mientras que en la seca-cálida los Firmicutes. La diversidad α , no fue estadísticamente significativa a diferencia de la diversidad β ; el LEfSe mostró que las bacterias aéreo-transportadas (BAT) con mayor abundancia en la época de lluvias fueron *Acinetobacter*, *Trichococcus*, *Mycobacterium*, *Variovorax* y la familia Microbacteriaceae, mientras que en la seca-cálida fueron más abundantes 27 grupos bacterianos especialmente, la mayor frecuencia de las BAT en el aire de la ZMVT en las dos épocas de estudio incluyó: *Bacillus*, *B. flexus* y *B. cereus*. Finalmente, el cuarto objetivo fue *Relacionar los factores ambientales que determinan la presencia de grupos fisiológicos bacterianos*, en seis sitios: OX, CB, SM, SC, ZC y SL. Para ello se registraron parámetros ambientales que incluyeron: dirección del viento, velocidad del viento, humedad relativa, presión atmosférica, temperatura y radiación solar, para establecer una correlación. De acuerdo con los resultados obtenidos, no se observó alguna correlación estadísticamente significativa entre las variables. El presente trabajo aporta datos sobre la distribución espacio-temporal de la composición bacteriana, sus capacidades catabólicas y fisiológicas, así como las condiciones ambientales en donde éstas se desarrollan.

Introducción general

Las actividades metabólicas en la atmósfera indican procesos fisiológicos realizados por los microorganismos que afectan la salud ambiental (Zhong et al., 2016), algunas investigaciones evidencian una relación entre la contaminación del aire y la composición bacteriana en la tropósfera o atmósfera baja. De acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas (2016), la contaminación atmosférica en zonas rurales y ciudades de todo el mundo provoca, anualmente, tres millones de muertes prematuras.

Otros trabajos, sugieren que la estructura de las comunidades bacterianas está relacionada con actividades antropogénicas de cada entorno urbano (Maron et al., 2006). En México los estudios sobre la ecología de las bacterias del aire son escasos aun cuando es importante determinar su distribución espacial y temporal. Por ello, es fundamental identificar qué tipo de bacterias son las más abundantes y determinar si podrían ser un riesgo para la salud de los habitantes.

Debido a lo anterior, surge la necesidad de conocer las bacterias que se inhalan en la Zona Metropolitana del Valle de Toluca (ZMVT), ya que podrían estar asociadas con algunas enfermedades como las registradas durante los primeros cinco meses del año 2016, donde los casos por infecciones respiratorias agudas (IRAS) fueron de 224,170 casos y los registros de padecimientos por neumonía y bronconeumonía de 1,576 casos, igualmente, el escenario de los costos en salud fueron alrededor de \$ 372,367,263, representando el 1 % del PIB y el 20 % del presupuesto del sector salud (INSP, 2016).

En este contexto, en la ZMVT ubicada en el centro del país, considerada la segunda conurbación con mayor importancia económica y demográfica, después de la ciudad de Monterrey, tiene los índices más altos en concentraciones de partículas de 10 micrómetros (PM_{10}) y 2.5 micrómetros ($PM_{2.5}$) (OMS, 2016a) y alrededor de 2, 274, 372 habitantes (COESPO, 2016), están expuestos a estas partículas químicas.

En los años 2017 y 2018, contaminantes menores a las $PM_{2.5}$ han influido para que la calidad del aire sea *mala-regular*, estimada con estándares que van de 45.1 a 97.4 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (RAMAT, 2019), derivado de múltiples actividades productivas y cotidianas que los humanos realizan, influyendo en la abundancia y permanencia de algunos tipos de microorganismos que al formar microambientes disminuyen la calidad del aire que respiran los habitantes de esta zona, favoreciendo el aumento de enfermedades respiratorias e incluso muertes prematuras.

En la ZMVT, se evalúa constantemente la cantidad de partículas ($PM_{2.5}$ y PM_{10}) a través de la Red de Monitoreo Ambiental del Valle de Toluca (RAMAT), pero se conoce poco acerca de la calidad microbiológica, aun cuando es de interés epidemiológico, por lo que es relevante la realización de un análisis en la distribución espacio y temporal de las bacterias suspendidas en la atmósfera y con ello contribuir al conocimiento, que permita tomar medidas preventivas ante la presencia de formas bacterianas patógenas. En este trabajo, se planteó la siguiente hipótesis: las características físicas y químicas de la atmósfera baja, condicionan la permanencia de grupos bacterianos determinados, que podrían representar un riesgo a la salud de la población.

La presente investigación está dividida en cinco capítulos, el primero abarcó el aislamiento de bacterias metabólicamente activas de la atmósfera baja de tres sitios de la ZMVT (San Cristóbal Huichochitlan, San Mateo Atenco y Ceboruco), las cuales fueron caracterizadas mediante sus propiedades morfológicas y fisiológicas. El segundo capítulo, se enfocó principalmente en el análisis de la composición química en partículas suspendidas con diámetro aerodinámico menores o igual a 2.5 micrómetros ($PM_{2.5}$) en tres sitios de la ZMVT (San Cristóbal Huichochitlan, San Mateo Atenco y Ceboruco). El tercer capítulo, consistió en identificar mediante secuenciación masiva la composición bacteriana de la atmósfera baja en seis sitios de la ZMVT (Oxtotitlan, Ceboruco, San Mateo Atenco, San Cristóbal Huichochitlan, Zinacantepec y San Lorenzo Tepaltitlan). En el cuarto capítulo, se relacionó las variables ambientales: dirección del viento (DV), velocidad del viento (VV), humedad relativa (HR), presión atmosférica (PA), temperatura (TMP) y radiación solar (RUV), que determinan la presencia de grupos fisiológicos bacterianos. El quinto capítulo,

consistió en realizar una transferencia de conocimiento a través de una entrevista en la estación de radio Terramar “Conversaciones sobre Ecología, Biodiversidad y Ambiente”, perteneciente al IMER y la publicación de una nota científica en el Boletín informativo cauce de la Universidad Autónoma Metropolitana en la unidad Xochimilco.

Capítulo 1

Aislar bacterias metabólicamente activas de la atmósfera baja de tres sitios del Valle de Toluca y caracterizarlas mediante sus propiedades morfológicas y fisiológicas

1.1. Resumen

La presencia de microorganismos en la atmósfera, está asociada con actividades antropogénicas; al estudiarlos es posible determinar a qué agentes patógenos podrían estar expuestos los humanos. En el presente estudio se caracterizaron fenotípicamente, bacterias presentes en tres sitios de la Zona Metropolitana del Valle de Toluca (ZMVT): San Cristóbal Huichochitlan (SC), San Mateo Atenco (SM) y Ceboruco (CB). Para la colecta de las muestras (épocas: lluvias, seca-fría y seca-cálida), se utilizó un muestreador TCR TECORA (PM_{2.5}) con filtros de fibra de vidrio, se aislaron colonias y se obtuvieron cultivos puros. Se aplicó la tinción de Gram para caracterizarlos morfológicamente; se determinó su capacidad para producir enzimas extracelulares y hemólisis, capacidad catabólica y metabolismo respiratorio. Se obtuvieron 133 aislados bacterianos, la mayoría con forma bacilar Gram positiva (89 %); se observó un número mayor de bacterias productoras de enzimas extracelulares en las bacterias aisladas de CB (65 %), seguido de SC (61 %). Las bacterias aisladas de SM, utilizaron mayormente los sustratos ensayados (lluvias= 71 % y seca-fría= 75 %, respectivamente) junto con SC (seca-cálida= 70 %), en especial a la glucosa, sacarosa y fructuosa; más del 81 % de las bacterias fueron anaerobias facultativas reductoras de nitrato y presuntivamente pertenecen al phylum Firmicutes. Se concluye que, las bacterias aisladas viables de los tres sitios fueron principalmente Gram positivas con morfología bacilar y considerando su capacidad para producir enzimas extracelulares y hemólisis, podrían ser potencialmente patógenas.

Palabras clave: bacterias, sitios, enzimas extracelulares, ZMVT.

1.2. Abstract

The presence of microorganisms in the atmosphere is associated with anthropogenic activities; by studying them it is possible to determine to which pathogens humans could be exposed. In the present study, bacteria present at three sites in the Metropolitan Zone of the Toluca Valley (ZMVT) were characterized phenotypically: San Cristóbal Huichochitlan (SC), San Mateo Atenco (SM) and Ceboruco (CB). For the collection of the samples (times: rains, dry-cold and dry-warm), a TCR TECORA sampler (PM_{2.5}) with fiberglass filters was used, colonies were isolated and pure cultures were obtained. Gram staining was applied to characterize them morphologically; its ability to produce extracellular enzymes and hemolysis, catabolic capacity and respiratory metabolism was determined. We got 133 bacterial isolates were obtained, most of them with a gram-positive bacillary form (89 %); a larger number of extracellular enzyme producing bacteria was observed in the isolated bacteria of CB (65 %), followed by SC (61 %). The bacteria isolated from SM, used mostly the substrates tested (rains = 71% and dry-cold = 75 %, respectively) together with SC (dry-warm = 70 %), especially glucose, sucrose and fructose; more than 81 % of the bacteria were facultative nitrate reducing anaerobes and presumably belong to the phylum Firmicutes. It is concluded that, the viable isolated bacteria from the three sites were mainly Gram positive with bacillary morphology and considering their ability to produce extracellular enzymes and hemolysis, they could be potentially pathogenic.

Keywords: bacteria, sites, extracellular enzymes, ZMVT.

1.3. Introducción

La evolución ha permitido que organismos como las bacterias colonicen numerosos nichos y que tengan una enorme flexibilidad fisiológica para lidiar con las condiciones adversas a las que están expuestas, definiendo así los límites de vida (Esbelin et al., 2018). Las bacterias son organismos ubicuos y uno de los grupos más extensos en la tierra, del 100 % de los microorganismos ambientales menos del 1 % son cultivables en laboratorio, por lo que cualquier muestra ambiental, por más simple contiene una alta diversidad de especies microbianas (Rascovan, 2013), representando el 25 % del número total de partículas en los aerosoles suspendidos en el aire seco como en agua de nube (Matthias-Mater y Jaenicke, 2000).

Abordar el tema de las bacterias presentes en el aire resulta amplio y complejo, debido a la gran variedad de fuentes generadoras, por ejemplo, algunos microorganismos están fuertemente conectados con procesos del cuerpo humano y en consecuencia se liberan nubes microbianas personalizadas (Meadow et al., 2015) que se dispersan al ambiente biótico y abiótico. Incluso, se ha planteado que el tamaño de las bacterias no restringe la tasa de dispersión, así como la densidad de poblaciones bacterianas (Martiny et al., 2006). Otras fuentes potenciales son las superficies terrestres locales, como el manejo de la tierra y la cantidad de suelo sin cubierta vegetal (Bowers et al., 2011).

Con el fin de entender este y otros planteamientos, se han empleado varias técnicas para identificar de forma sistemática a las bacterias que constituyen fracciones en los bioaerosoles conceptualizados como el subconjunto de partículas atmosféricas, liberadas directamente de la biósfera a la atmósfera (Fröhlich-Nowoisky et al., 2016).

Las bacterias, se pueden dividir, según la naturaleza física de sus paredes celulares en Gram positivas o negativas (Tortora et al., 2012) y un criterio para clasificarlas es observando su capacidad de producir compuestos, entre ellos enzimas extracelulares, así como por su actividad hemolítica. Esto último constituye

un carácter taxonómico muy importante puesto que generalmente las bacterias con esta actividad han sido reportadas como potencialmente patógenas en los seres humanos (Granados y Villaverde, 2003). Asimismo, también se puede advertir su presencia mediante su metabolismo, definido como el conjunto de procesos bioquímicos que realizan los organismos para obtener energía requerida para el funcionamiento de la maquinaria celular a través de una serie de reacciones bioquímicas.

En la presente investigación, se aplicaron una serie de técnicas para aislar y caracterizar bacterias de la atmósfera baja de tres sitios del Valle de Toluca: San Cristóbal Huichochitlan, San Mateo Atenco y Ceboruco mediante sus propiedades morfológicas y fisiológicas.

1.4. Revisión bibliográfica

La tropósfera o atmósfera baja comprende, desde la superficie de la Tierra hasta 11 km de altitud aproximadamente (Manahan, 2007), con varias capas que contienen múltiples partículas biológicas o vegetativas distribuidas vertical y horizontalmente por mecanismos activos o pasivos, es decir, a través del viento o remolinos locales que les facilita mantenerse suspendidas y en movimiento (Rosas et al., 2004).

A las partículas biológicas se les denomina bioaerosoles, son de origen natural, de diversos tamaños, en forma de proteínas, virus, bacterias, esporas de hongos y polen (Womack et al., 2010; Walser et al., 2015; Haig et al., 2016), sin que se tenga claro cuáles son los principales factores y mecanismos que afectan la actividad microbiana en ambientes como la atmósfera.

Impulsado por estos conceptos, existe una creciente atención en identificar fuentes puntualizadas generadoras de bacterias aéreo-transportadas (BAT), resultando un tanto compleja de dilucidar, ya que influyen factores como la intensidad del calor, derivado de movimientos de aire convectivo verticalmente distribuyéndolas a grandes distancias, diversificando las fuentes potenciales (Smets

et al., 2016). Por lo que el entorno natural contribuye de forma significativa en la producción de bacterias al ambiente exterior (figura 1.1).

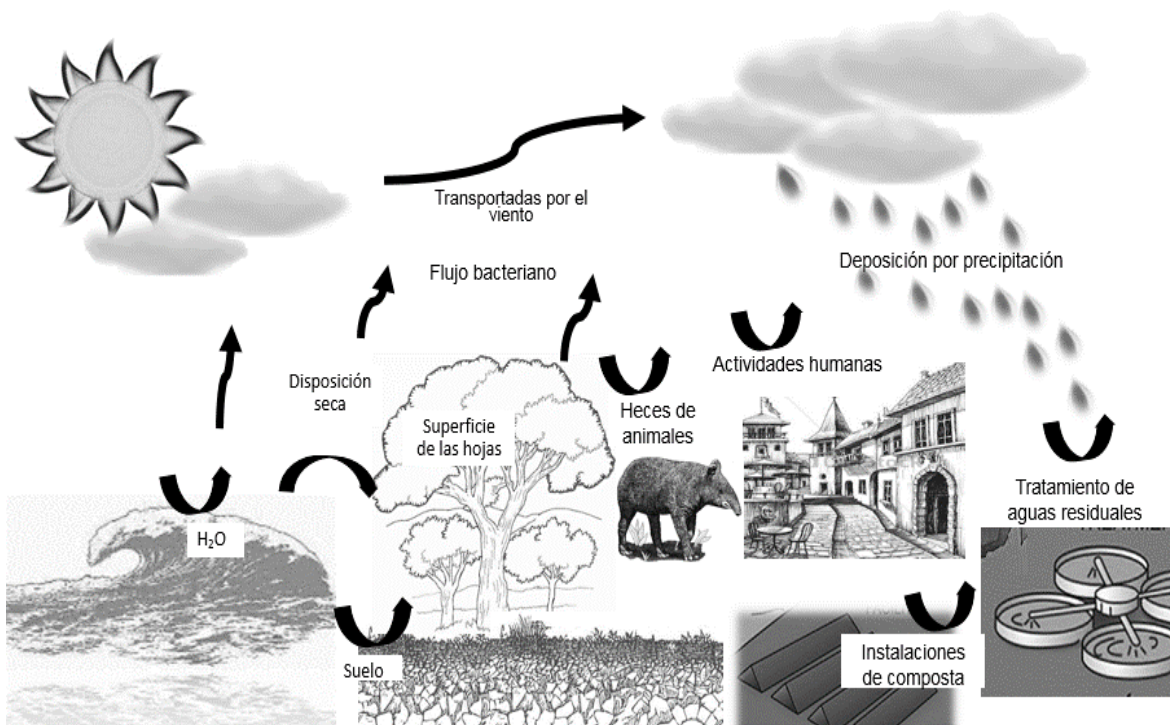


Figura 1.1. Procesos que participan en la generación de las BAT en ambientes locales y globales (Modificado de Smets et al., 2016).

Al respecto, Burrows et al. (2009); Palla y Barresi (2017) clasificaron las fuentes generadoras de bacterias en cinco mecanismos:

- Activos: engloba organismos móviles y a los seres humanos.
- Naturales: resultado de perturbaciones en la superficie de plantas, en el suelo, estallido o el rompimiento de burbujas en las crestas de las olas.
- Antropogénicas: implica actividades agrícolas e industriales.
- Puntuales: plantas de tratamiento de aguas residuales y sitios de construcción.
- De área: incluyen bosques, pastizales y superficies naturales de agua.

Hasta ahora, se conocen las fuentes generadoras de bioaerosoles en entornos interiores y en exteriores, sin embargo, ha resultado complejo determinar las actividades fisiológicas, metabólicas o reproductivas microbianas en un ambiente tan inhóspito como la atmósfera. Esto se debe a que en la atmósfera coexisten microorganismos que son: a) metabólicamente activos, b) los que no lo son, pero ocasionalmente se reproducen y c) los que realizan ambos procesos (Womack et al., 2010) y resulta complicado proporcionar evidencia concluyente. Blazewicz et al. (2013) han sugerido la existencia de al menos uno de los cuatro estados metabólicos, ya sea como: 1) cultivo bacteriano, células que se están dividiendo activamente; 2) células activas, las que están realizando procesos metabólicos (catabolismo o anabolismo) sin que esto implique dividirse, 3) células inactivas, las que no realizan algún proceso y las 4) células muertas, estas no son metabólicamente activas, pero permanecen restos de ellas a través de macromoléculas intactas (figura 1.2).

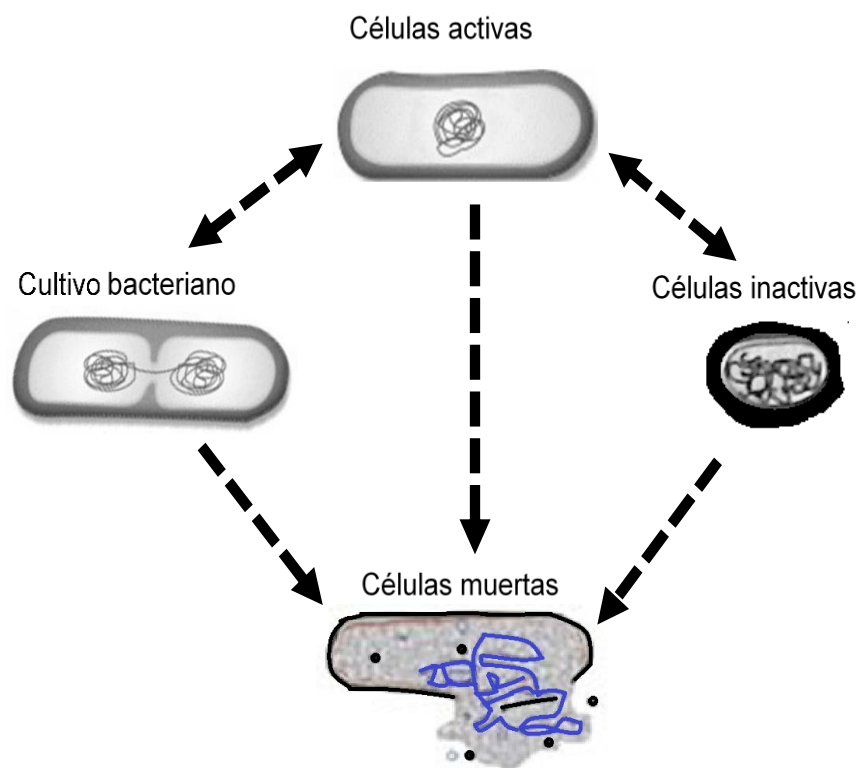


Figura 1.2. Estados metabólicos de las bacterias en la atmósfera (Modificado de Blazewicz et al., 2013).

La estimación de comunidades microbianas activas en la atmósfera implica mecanismos que la naturaleza realiza al seleccionar en un sentido más estricto a los microorganismos vivos, tales como los ciclos de congelación, descongelación y descargas osmóticas (Joly et al., 2015). Bajo esta premisa, se sabe que las bacterias en el aire pueden permanecer metabólicamente activas. Algunas evidencias apuntan que existen sustratos como la glucosa y el sulfato de amonio capaces de controlar el crecimiento de *Pseudomonas fluorescens*, sin que exista una acumulación de productos metabólicos tóxicos (Sinclair et al., 1962). Otras investigaciones refieren cómo *Serratia marcescens* después de su interacción con sustratos como la glucosa, comienza su metabolismo generando CO₂ (Dimmick et al., 1975).

Algunos estudios en *Sphingomonas aerolata in vitro* con compuestos orgánicos volátiles (COV), mostraron un alto contenido de ARNr, sugiriendo que las células tienen el potencial de producir proteínas mientras están suspendidas en la atmósfera (Krumins et al., 2014). Incluso, se ha considerado que el carbono orgánico, fosfato inorgánico y el nitrógeno orgánico e inorgánico en partículas PM_{2.5} son elementos que limitan la tasa de crecimiento bacteriano al agregarse, sustancias nocivas (metales pesados, hidrocarburos aromáticos policíclicos) y tóxicas para las bacterias (Wei et al., 2017).

Otra línea de evidencias apunta que el agua de lluvia contiene 22.9 mL⁻¹ de células bacterianas cultivables a diferencia de las muestras de nieve (3.3 mL⁻¹ de células), predominando en agua de lluvia las bacterias Gram negativas pertenecientes al phylum Proteobacteria (85.7 %) con miembros de los géneros *Pseudomonas* y *Erwinia* (Šantl-Temkiv et al., 2015). Descifrar que las bacterias son metabólicamente activas en la atmósfera, es algo que se puede lograr, pero entender cómo afectaría los procesos de destino en contaminantes volátiles y en los ciclos elementales que influyen en el clima requiere de un plano mucho más sofisticado.

Por otro lado, en los últimos años se ha demostrado que el material particulado en conjunto con los bioaerosoles tiene un impacto en la salud pública y el tamaño aerodinámico determina afectaciones específicas. Por ejemplo, esporas del anthrax ($6\ \mu\text{m}$) se depositan en las cavidades nasales, partículas gruesas de entre 2.5 y $10\ \mu\text{m}$, tienen mayor probabilidad de ingresar y depositarse en zonas como la laringe, así como en regiones traqueobronquiales, mientras que las partículas finas igual o menores a $2.5\ \mu\text{m}$, pueden entrar a los alvéolos, incluso en la sangre, por lo que la exposición a este tipo de partículas está relacionado con una disminución en la esperanza de vida (Brook et al., 2004) (figura 1.3).

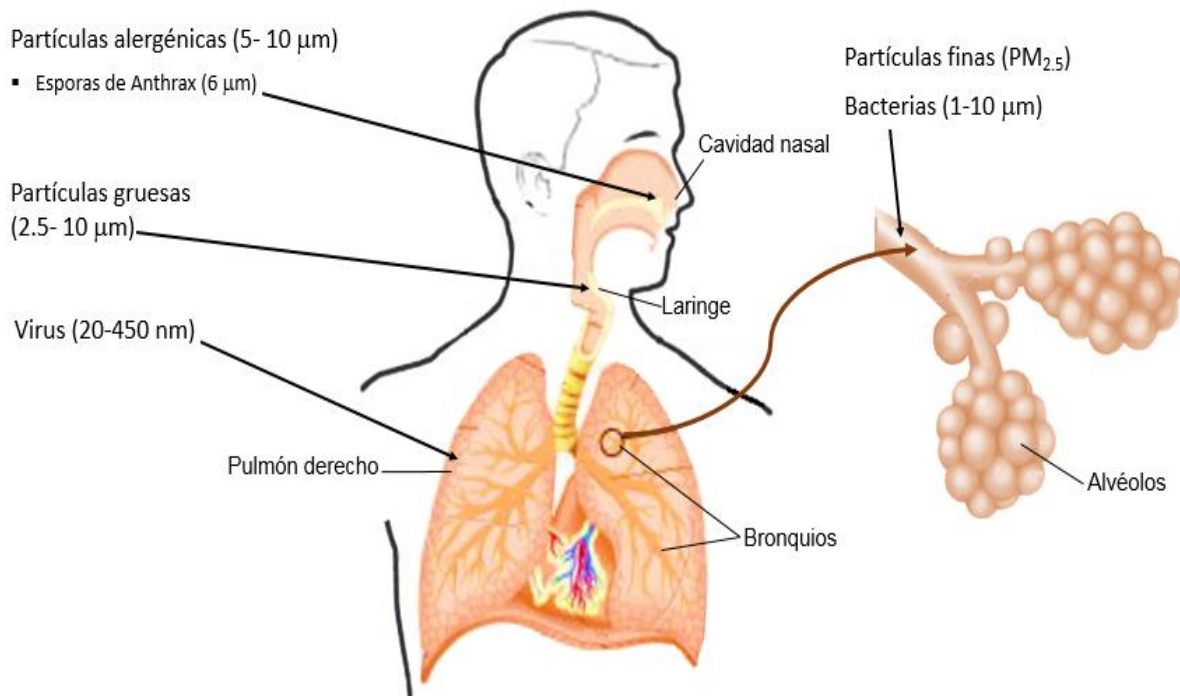


Figura 1.3. Tamaños relativos de partículas viables que ingresan al sistema respiratorio (Modificado de Chang, 2010).

Los avances en la tecnología han contribuido ampliamente para realizar estudios relacionados con las bacterias en diferentes ambientes, la identificación morfológica y fisiológica de las bacterias permiten determinar las interacciones de estas con los sistemas dinámicos de la biósfera. En México, los primeros informes en bacterias suspendidas en el aire, aunque pudieran existir otros más antiguos, son los registrados por Vaca et al. (1995), en ambientes como el periférico norte de la Ciudad de México, donde a partir de muestras de suelo con altas concentraciones de plomo aislaron 45 cepas bacterianas y la mayoría fueron Gram positivas resistentes a este metal pesado.

En otros estados de la República Mexicana, Flores-Tena et al. (2007), aislaron e identificaron 21 especies de bacterias patógenas (ej. *Pasteurella haemolytica*, *Serratia plymuthica* y *Aeromonas hydrophila*) en seis puntos de un relleno sanitario de la ciudad de Aguascalientes que, de acuerdo con los autores, podrían influir negativamente en la salud de los trabajadores del sitio de estudio.

Hurtado et al. (2014) en varios sitios de la ciudad de Tijuana, registraron mayormente comunidades bacterianas durante el verano en contraste con el invierno; todas potencialmente infecciosas (ej. *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterococcus faecalis*). Estudios similares fueron los realizados por Santos-Romo et al. (2014) en la ciudad de Hermosillo, observando una concentración alta de especies bacterianas (*Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter*, *Enterococcus faecalis*, *Proteus penneri*, *Buttiauxella agrestis*, *Salmonella paratyphi* y *Enterobacter sacazakii*) en el centro de la ciudad.

Respecto a la Ciudad de México, autores como Jacinto (2013) realizó estudios en 50 puntos de la Zona Metropolitana del Valle de México e identificó la mayor cantidad de bacterias con fenotipo α y β hemolítico, predominando el género *Bacillus*, seguido por representantes de los géneros *Acinetobacter*, *Enterobacter*, *Paenisporosarcina*, *Massilia*, *Paenibacillus*, *Proteus*, *Brevibacillus* y *Desemzia*. De manera similar, en dos estaciones del metro de esta misma ciudad, se realizaron aislamientos de colonias bacterianas (la mayoría bacilos Gram positivos), bacilos cortos sin espora (85 %) y *Sttreptococcus* (15 %) señalando el riesgo de salud al

que están expuestos los usuarios (Hernández-Castillo et al., 2014).

Simon (2012) menciona que en la Ciudad de México antes Distrito Federal, en tres sitios pertenecientes al Sistema de Monitoreo Atmosférico de la Ciudad de México (SIMAT), de 79 aislados bacterianos, la mayoría fueron bacilos Gram negativos, mostrando características relacionadas con los géneros *Megasphaera*, *Pseudomonas*, *Citrobacter*, *Shigella*, *Salmonella* y *Neisseria*. También, reportó que más del 50 % de las cepas bacterianas presentaron actividad hemolítica y fueron resistentes a antibióticos betalactámicos, exponiendo evidencias que asocian las características fenotípicas con el grado de oportunismo y patogenicidad.

En trabajos más extensos sobre la caracterización de los bioaerosoles en la urbe más grande del país, han sido los realizados por García-Mena et al. (2016), durante un periodo de cuatro años registraron el phylum Firmicutes (75,6 %) como el grupo bacteriano más abundante (con 11 especies de *Bacillus*), seguida por miembros de las Proteobacteria, siendo las menos abundantes las Actinobacteria, resultados que amplían la información relacionada con la temporalidad de las bacterias vivas, algunas de importancia médica (*Staphylococcus*, *Acinetobacter* y *Pseudomonas*) diseminadas a través del aire y asociadas con nubes microbianas de los habitantes de la Ciudad de México.

Algunos reportes del año 2013, realizados en diferentes sitios de ZMVT, específicamente en la Nueva Oxtotitlan, revelan la presencia de bacterias Gram positivas como *Curtobacterium*, *C. flaccumfaciens*, *Staphylococcus* (*S. equorum*, *S. succinus*, *S. epidermidis*), *Exiguobacterium sibiricum*, además de *Pantoea agglomerans* (Núñez-Cardona et al., 2014) que podrían implicar diversas afectaciones en los organismos. Un análisis posterior, indicó que en este sitio predominaron bacilos y cocos Gram negativos; lo contrario se observó en San Mateo donde predominaron los bacilos y cocobacilos Gram positivos (Cruz-Pauseno et al., 2016).

En estudios adicionales se han detectado diferencias en el número de bacterias entre las estaciones Aeropuerto y Oxtotitlan, así, Zuñiga-Ortega et al. (2014) reportaron 87 UFC en la primera y 45 UFC en la segunda. Estos antecedentes son indicadores de que existen diferencias en el tipo de bacterias que se desarrollan tanto estacional como espacialmente.

1.5. Objetivo

- Aislar bacterias metabólicamente activas de la atmósfera baja de tres sitios del Valle de Toluca y caracterizarlas mediante sus propiedades morfológicas y fisiológicas.

1.6. Métodos

En la Zona Metropolitana del Valle de Toluca (ZMVT), ubicada en el centro del país y constituida por 22 municipios se encuentra la Red Automática de Monitoreo Atmosférico de la Zona Metropolitana de Toluca (RAMA), integrada por las estaciones: Toluca Centro, Oxtotitlan, Aeropuerto, San Cristóbal Huichochitlan, Metepec, Ceboruco y San Mateo Atenco. Para este estudio, se eligieron tres estaciones: San Cristóbal Huichochitlan (SC), San Mateo Atenco (SM) y Ceboruco (CB), las cuales están distribuidas en las zonas sur y norte de la ZMVT (tabla 1.1).

Tabla 1.1. Dirección y características generales de los sitios de estudio.

San Cristóbal Huichochitlan (SC)	Dirección
 	<p data-bbox="727 363 1338 506">Paseo de la Luz con esquina Manuel Hinojosa Giles S/N, poblado de San Cristóbal Huichochitlan.</p> <div data-bbox="716 579 1349 642" style="background-color: #e0e0e0; padding: 5px; text-align: center;">Características generales</div> <p data-bbox="727 646 1338 905">Ubicado en un centro semi urbanizado con zonas agrícolas; rodeado por el Libramiento de Toluca, Paseo de la luz y Av. Gpe. Victoria. Colinda al sudoeste con Metepec.</p>
San Mateo Atenco (SM)	Dirección
 	<p data-bbox="727 1041 1338 1129">Avenida Hacienda Tres Marías # 260 en la colonia Santa Elena, San Mateo Atenco.</p> <div data-bbox="716 1262 1349 1325" style="background-color: #e0e0e0; padding: 5px; text-align: center;">Características generales</div> <p data-bbox="727 1329 1338 1587">Actividad económica principal: industria del calzado y metal-mecánica; rodeado por Paseo Tollocán, Niños Héroes, Las Torres y Lerma Pte. Colinda al sudoeste con Metepec y al oeste con Toluca de Lerdo.</p>

Ceboruco (CB)**Dirección**

Calle Ceboruco S/N en la colonia Azteca (dentro de las instalaciones de la Preparatoria # 5 Ángel María Garibay Kintana de la UAEM).

Características generales

Está rodeado por las avenidas principales de Toluca de Lerdo; predominan zonas de cultivo. Geográficamente se sitúa en una zona de transición, es decir, por un lado, una región urbanizada y por el otro semi rural.

Los muestreos, se realizaron el 16 de agosto de 2017 (época de lluvias), 23 de enero de 2018 (época seca-fría) y 26 de marzo (época seca-cálida) del mismo año (figura 1.4). La colecta de bacterias suspendidas en el aire se realizó con un muestreador TCR TECORA (PM_{2.5}) con filtros de fibra de vidrio (47 µm de diámetro marca PALL Corporation) durante 24 horas. Posteriormente, los filtros fueron transportados al laboratorio de Ecología Microbiana de la Universidad Autónoma Metropolitana unidad Xochimilco, conservándose a 5 °C. Asimismo, para el análisis de las muestras se utilizaron las técnicas propuestas por la Dra. María Teresa Núñez-Cardona (comunicación personal).

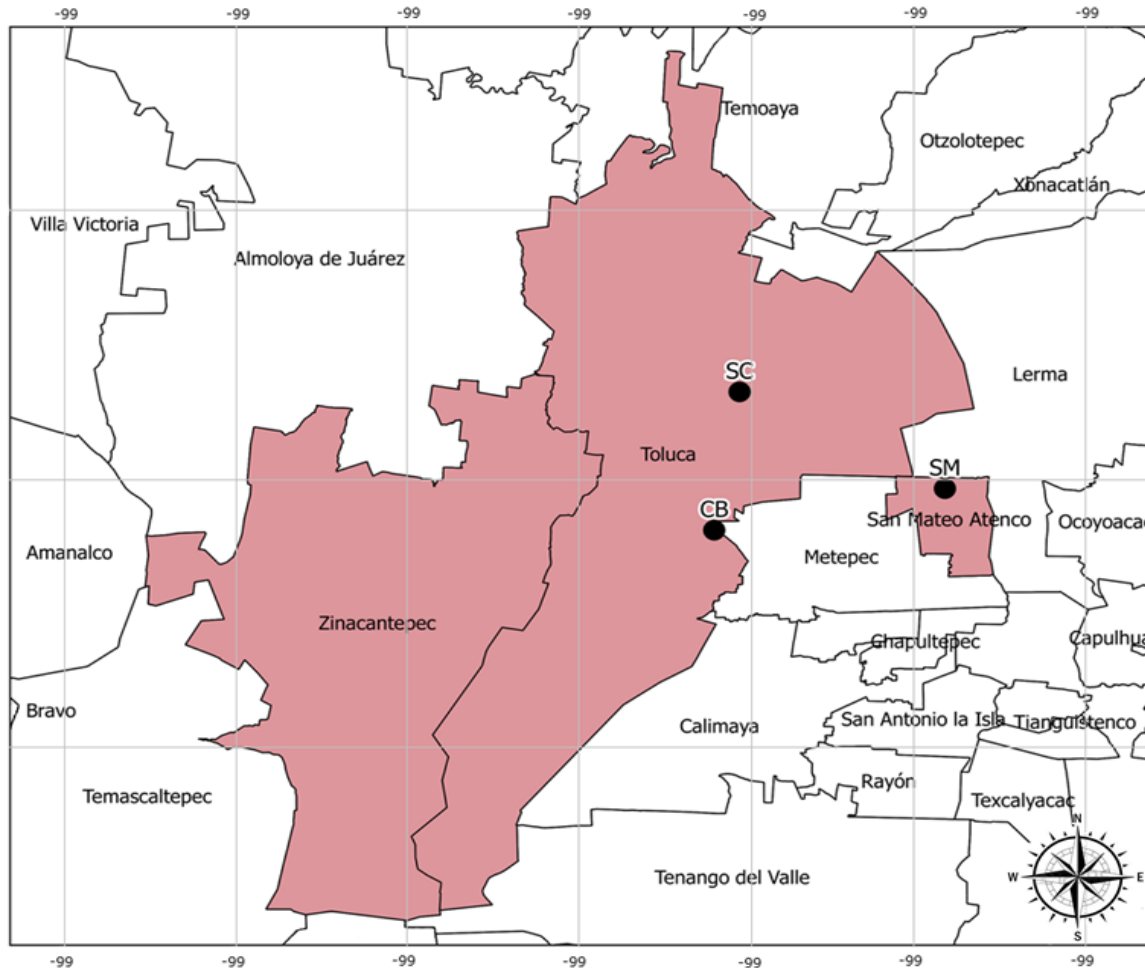


Figura 1.4. Ubicación de los sitios de muestreo en la Zona Metropolitana del Valle de Toluca.

1.6.1. Aislamiento de bacterias en filtros

Para recuperar las bacterias viables colectadas en los filtros de fibra de vidrio, bajo condiciones estériles, se colocó una fracción del filtro (1/4 parte) en un tubo de ensaye conteniendo caldo nutritivo (CN); se incubó durante 24 horas, se utilizó 0.1 ml del medio líquido para inocularse en cajas de Petri conteniendo agar nutritivo (AN) con el objetivo de recuperar a las células bacterianas que constituyen parte de las partículas suspendidas en el aire de la ZMVT. Los cultivos bacterianos fueron incubados a 28 °C, durante 24 horas. Después, fueron aisladas colonias al azar realizándose un registro del tamaño, forma, color y conservadas en viales con AN (figura 1.5).

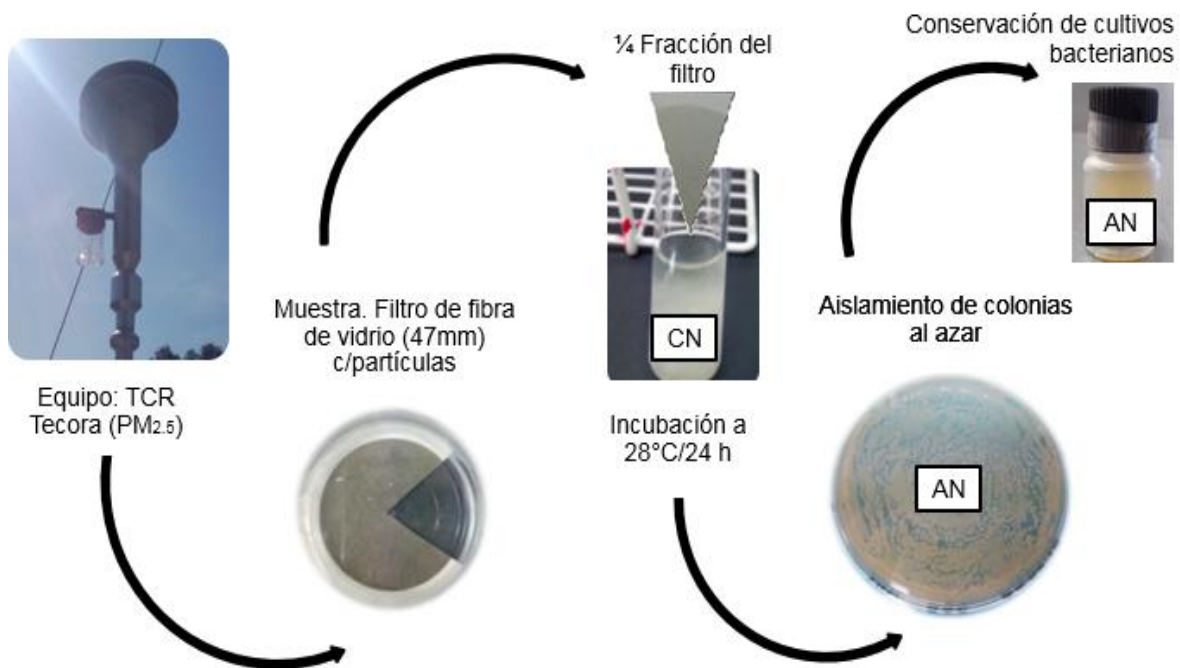


Figura 1.5. Proceso para el aislamiento de colonias bacterianas. CN: caldo nutritivo. AN: agar nutritivo.

Para la obtención de cultivos puros, se activaron las colonias bacterianas en CN; fueron resembrados mediante la técnica de siembra y resiembra, en AN e incubados a 28 °C durante 24 h. Mediante la técnica de tinción de Gram, se observaron las células microbianas al microscopio óptico, determinando su respuesta a Gram positivos o Gram negativos. Asimismo, se realizaron anotaciones de la morfología celular (bacilos, cocobacilos, cocos, entre otros) de cada cultivo puro. Los medios de cultivo y técnicas utilizadas para el aislamiento y caracterización de bacterias aerotransportadas se describen en el Anexo 1A.

1.6.2. Producción de enzimas extracelulares y hemólisis

Algunas enzimas son producidas considerablemente por determinados microorganismos, y en lugar de mantenerse en el interior de la célula son excretadas al medio de cultivo; estas enzimas extracelulares llamadas exoenzimas son capaces de digerir compuestos como la celulosa, proteínas y almidón (Madigan et al., 2009);

en este trabajo, la capacidad de producir enzimas extracelulares (ADNasa, amilasa, lipasa, gelatinasa, ureasa) y hemólisis por los aislados bacterianos, se determinó a través de la activación de los cultivos puros en CN durante 30 min a 28 °C, seguidamente fueron inoculados en condiciones estériles en los medios específicos para cada enzima y se dejaron incubar a 28 °C durante 24 horas. Las técnicas utilizadas e interpretación de los resultados se describen en el Anexo 1B. Posteriormente, se calculó el Índice Medio de producción de Enzimas (IME) (Anexo 1D).

1.6.3. Caracterización catabólica (Carballo-Cruz, 1985 modificado por Núñez-Cardona)

Para la reactivación de los cultivos puros, las células bacterianas se suspendieron en CN; se incubaron durante 30 min. a 28 °C, después fueron inoculadas en medios específicos (lactosa, maltosa, manitol, sacarosa y sorbitol) para conocer la capacidad de utilizar diferentes sustratos orgánicos y el citrato como única fuente de carbono y de nitrógeno. Finalmente, con los resultados de estas pruebas se determinó el Índice Medio de Utilización de sustratos (IMU) (Anexo 1C y 1D).

1.6.4. Metabolismo respiratorio

Para evaluar el metabolismo respiratorio se emplearon las pruebas de óxido-fermentación utilizando carbohidratos específicos que fueron suspendidos en un medio semisólido que contiene como indicador rojo de fenol (fructosa y glucosa). Los aislados bacterianos fueron inoculados por duplicado, con un asa bacteriológica recta, posteriormente a uno de los cultivos se le agregó parafina-aceite de parafina estéril (1:1), con el objetivo de formar un sello y determinar si los microorganismos eran capaces de crecer en ausencia de oxígeno, en tanto que el otro se dejó sin sellar. Con esta prueba, se demuestra la utilización de carbohidratos y se determina la vía metabólica ya sea oxidativa o fermentativa de las células bacterianas.

Adicionalmente, se observó la producción de H₂S e indol, así como la movilidad de cada aislado bacteriano a través del medio SIM y la capacidad de reducir nitrato (NO₃⁻) y nitrito (NO₂⁻) (Anexo 1C).

1.6.5. Elaboración de Dendogramas

Se realizaron dendogramas con los aislados obtenidos para cada sitio de muestreo, con la finalidad de identificar grupos similares. Los dendogramas fueron elaborados con datos de las pruebas aplicadas (respuesta a la tinción de Gram, características morfológicas, producción de enzimas extracelulares y pruebas bioquímicas), realizando una matriz de datos binarios, los cuales el número 1 indica positivo y el 0 negativo. Dicha matriz fue ingresada al software Statistica v.10 y por el método de Ward (método de mínima varianza) se construyeron fenones. El método de Ward, consiste en unir los casos buscando minimizar la varianza dentro de cada grupo a través del cálculo de la media en todas las variables de cada conglomerado, posteriormente, se realizó con la distancia entre cada caso y la media del conglomerado, la suma de las distancias entre todos los casos. Finalmente, se agruparon los conglomerados generados menos aumentos en la suma de las distancias (De la Fuente, 2011). Una vez realizados los dendogramas se estableció un nivel de corte (arbitrario), es decir, donde se observó una mayor agrupación.

1.7. Resultados

En este estudio se obtuvieron un total de 133 cultivos puros provenientes de muestras del aire colectadas en tres días de muestreo (lluvias, seca-fría y seca-cálida) en la ZMVT; se observó en la mayoría de los aislados bacterianos una morfología bacilar, así como una coloración crema, específicamente para el caso de SC predominaron los estreptobacilos (tabla 1.2).

Tabla 1.2. Características morfológicas de los aislados bacterianos.

Caracteres	Lluvias			Seca-fría		Seca-cálida
	SC	SM	CB	SC	SM	SC
Núm. de aislados	18	19	21	25	26	24
Respuesta a la tinción de Gram						
Gram (+)	18	19	20	24	14	23
Gram (-)	0	0	1	1	12	1
Morfología						
Bacilos	6	19	14	8	14	14
Estreptobacilos	12	0	1	17	0	10
Cocobacilos	0	0	6	0	0	0
Cocos	0	0	0	0	12	0
Coloración de la colonia						
Amarilla	2	0	0	1	13	0
Blanca	13	0	0	7	0	7
Crema	0	19	15	16	13	13
Marrón	0	0	0	1	0	0
Transparentes	0	0	5	0	0	4
No registrado	3	0	1	0	0	0

De manera general, en la figura 1.6 se observaron los más altos porcentajes en bacterias Gram positivas (89 %) con morfología bacilar y estreptobacilos a diferencia de los microorganismos Gram negativos, aunque, mostraron una morfología variable fue reducido el número de ejemplares bacterianos con estas características en los tres sitios de estudio.

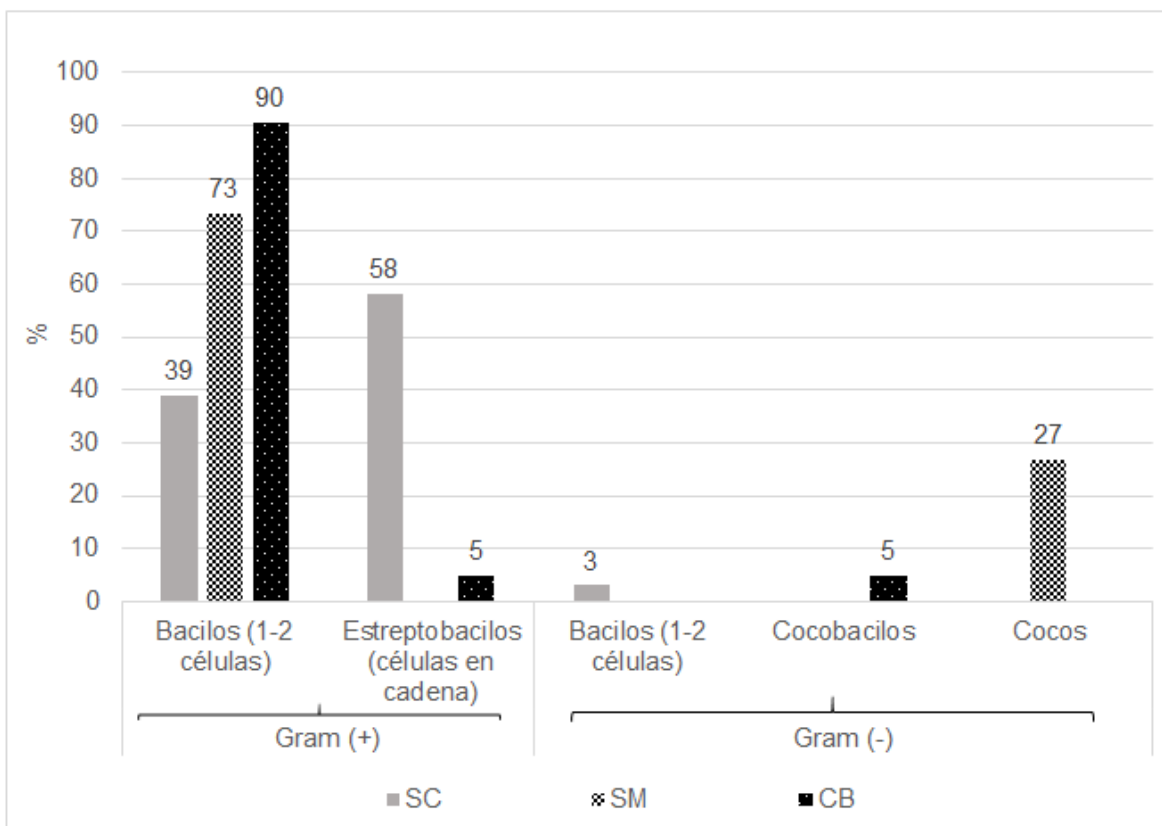


Figura 1.6. Morfología celular y respuesta a la tinción de Gram de los aislados bacterianos de los tres sitios de muestreo.

1.7.1. Capacidad para producir enzimas extracelulares y hemólisis

Las enzimas extracelulares fueron producidas por la mayoría de las bacterias aisladas en los tres sitios entre un 11 % y 96 %, con excepción de la lipasa, donde se observó un número mayor de bacterias productoras de esta exoenzima en el sitio de CB. Asimismo, el porcentaje más alto determinado a partir del IME, se observó en CB (65 %), seguido de SC (61 %) respectivamente; la mayor actividad hemolítica β por los microorganismos se presentó en la época de lluvias, sin observarse diferencias sustanciales entre las bacterias aisladas de SM (68 %) y CB (67 %) (tabla 1.3).

Tabla 1.3. Número de cultivos (%) productores de enzimas extracelulares, IME y hemólisis en los tres sitios de estudio.

Caracteres	Lluvias			Seca-fría		Seca-cálida
	SC	SM	CB	SC	SM	SC
ADNasa (%)	22	58	76	36	23	42
Amilasa (%)	39	0	38	68	38	96
Lipasa (%)	0	0	67	4	0	4
Gelatinasa (%)	78	84	57	28	27	96
Ureasa (%)	11	42	86	32	12	67
IME	30	37	65	34	20	61
Hemólisis β (%)	22	68	67	48	42	0

1.7.2. Utilización de compuestos orgánicos como fuentes de carbono y energía

De los ocho sustratos ensayados la glucosa, fructuosa y sacarosa fueron los compuestos orgánicos utilizados como fuentes de carbono y energía por los aislados bacterianos en más del 68 % en los tres sitios de la ZMVT, asimismo, la maltosa (entre 37% y 100 %) y el manitol (39 % y 92 %), también fueron los compuestos principalmente asimilados. El IMU, evidenció que las bacterias aisladas de SM en la época de lluvias (71 %) y seca-fría (75 %) utilizaron mayormente los sustratos ensayados, mientras que el número de cultivos de SC en la seca-cálida capaces de utilizar compuestos orgánicos como fuentes de carbono y energía aumentó en un 70 % (tabla 1.4).

Tabla 1.4. Utilización de compuestos orgánicos como fuentes de carbono y energía por las bacterias del aire.

Caracteres	Lluvias			Seca-fría		Seca-cálida
	SC	SM	CB	SC	SM	SC
Lactosa (%)	33	74	33	44	73	75
Maltosa (%)	100	37	52	64	88	92
Manitol (%)	39	74	62	76	92	75
Sacarosa (%)	100	89	76	68	88	79
Sorbitol (%)	11	95	48	56	62	17
Citrato (%)	0	11	24	16	12	38
Glucosa (%)	100	95	81	84	96	96
Fructuosa (%)	100	95	76	92	88	92
IMU	56	71	57	63	75	70

1.7.3. Metabolismo respiratorio y movilidad

Para la prueba óxido-fermentación en glucosa, más del 81 % de las bacterias del aire fueron anaerobias facultativas y un 19 % de las aisladas en el sitio de CB aerobias. La prueba óxido-fermentación en fructuosa, evidenció que más del 76 % de las bacterias aéreo-transportadas (BAT) no utilizaron el oxígeno en su metabolismo y menos de un 10 % se desarrollaron en presencia de este gas. También, se observó que más del 52 % de los aislados bacterianos son capaces de reducir NO_3^- a NO_2^- ; entre un 11 % y 96 % reducen nitrito. La capacidad de producir sulfhídrico e indol no se observó en ninguno de los microorganismos evaluados, asimismo, se observó solo un 11 %, 16 % y 13 % de las bacterias aisladas de SC (lluvias), SM (lluvias) y SC (seca-cálida) que mostraron movilidad en el medio semisólido (tabla 1.5).

Tabla 1.5. Metabolismo respiratorio (reducción de NO_3^- ; NO_2^-) y prueba de movilidad de las bacterias aisladas en los tres sitios de la ZMVT.

Caracteres		Lluvias			Seca-fría		Seca-cálida
		SC	SM	CB	SC	SM	SC
Metabolismo respiratorio							
Glucosa (%)	Ana/facult	100	95	81	84	96	96
	Aerobio	0	0	19	0	0	0
Fructuosa (%)	Ana/facult	100	95	76	92	88	92
	Aerobio	0	0	10	0	4	0
Reducción (%)	NO_3^-	83	89	71	52	96	83
	NO_2^-	17	11	29	48	0	17
Prueba de movilidad (%)		11	16	0	0	0	13

Ana/facult: anaerobio facultativo.

NO_3^- : nitrato.

NO_2^- : nitrito.

1.7.4. Taxonomía numérica

En la tabla 1.6, se expone las características fenotípicas de los 18 cultivos Gram positivas (números color morado) aisladas en SC (lluvias). En 14 aislados, se observó la capacidad de producir gelatinasa; utilizar la maltosa y sacarosa como sustratos orgánicos, comportándose como anaerobios facultativos en glucosa y sacarosa. Asimismo, se registraron 15 aislados capaces de reducir nitrato y dos cultivos movilidad en el medio ensayado. En el dendograma de la figura 1.7, se observó que los integrantes del grupo F1 (cinco aislados), se caracterizaron por producir gelatinasa; utilizar maltosa y sacarosa, por ser anaerobios facultativos al igual que los integrantes de F2 (1SC4, 1SC9, 1SC11, 1SC12 y 1SC13). Mientras que los aislados del fenon F3 (1SC19, 1SC20, 1SC21 y 1SC22), además de ser anaerobios facultativos y hemolíticos β , fueron capaces de producir ADNasa, y con excepción de 1SC22, reducir nitrato.

Tabla 1.6. Características fenotípicas de los aislados bacterianos obtenidos en San Cristóbal Huichochitlan (SC) durante la época de lluvias en el primer muestreo.

Aislados	Enzimas extracelulares					H-β	Compuestos orgánicos					Comportamiento respiratorio y mov					
	ADN	Ami	Lip	Gel	Ure		Lac	Mal	Man	Sac	Sor	Cit	G/AnF	F/AnF	NO ₃ ⁻	NO ₂ ⁻	Mov
1SC1				■				■		■		■	■	■	■		
1SC3				■				■		■		■	■	■	■		
1SC7				■				■		■		■	■	■	■		
1SC2				■				■		■		■	■	■	■		
1SC15				■				■		■		■	■	■	■		
1SC14		■		■				■		■		■	■	■	■		
1SC6		■		■				■		■		■	■	■	■		
1SC8				■				■		■		■	■	■	■		
1SC16		■		■				■		■		■	■	■	■		
1SC4				■				■		■		■	■	■	■		
1SC9				■				■		■		■	■	■	■		
1SC13		■		■				■		■		■	■	■	■		
1SC11				■				■		■		■	■	■	■	■	
1SC12		■		■				■		■		■	■	■	■		
1SC19	■	■		■				■		■		■	■	■	■		
1SC20	■	■		■				■		■		■	■	■	■		■
1SC21	■	■		■				■		■		■	■	■	■		■
1SC22	■			■				■		■		■	■	■	■		■

1SC= primer muestreo. ADN: ADNasa. Ami: amilasa. Lip: lipasa. Gel: gelatinasa. Ure: ureasa. H-β: hemólisis beta. Lac: lactosa. Mal: maltosa. Man: manitol. Sac: sacarosa. Sor: sorbitol. Cit: citrato. AnF/G: anaerobio facultativo en glucosa. AnF/F: anaerobio facultativo en fructuosa. NO₃⁻: reducción de nitrato. NO₂⁻: reducción de nitrito. Mov: movilidad. ■ = respuesta positiva.

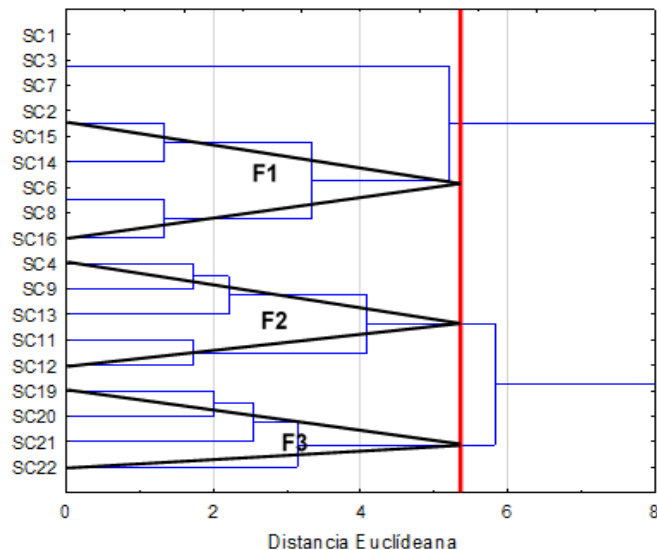


Figura 1.7. Formación de grupos, obtenidos por el método de Ward del sitio de San Cristóbal Huichochitlan (lluvias). SC= San Cristóbal Huichochitlan. F= fenon o grupo. Línea roja= nivel de corte.

En los aislados obtenidos de SM, se observó que de los 19 aislados Gram positivos (números color morado), 11 cultivos produjeron ADNasa, 16 gelatinasa, y 13 fueron hemolíticos β . Los aislados integraron dos fenones con características similares, F1 estuvo conformado por 14 aislados bacterianos, algunos capaces de producir ADNasa, gelatinasa, ureasa (1SM2, 1SM4, 1SM7, 1SM10, 1SM13 y 1SM14); con excepción de 1SM2, 1SM4, 1SM14, 1SM16, mostraron ser hemolíticos β y todos tienen la capacidad de crecer en ausencia o presencia de oxígeno. Mientras, que los aislados del fenon F2, la mayoría fueron anaerobios facultativos, con una reducida capacidad para producir enzimas extracelulares; ser hemolíticos β (1SM9, 1SM18 y 1SM19) y utilizar compuestos orgánicos. Finalmente, los aislados 1SM15 y 1SM19 mostraron movilidad (tabla 1.7 y figura 1.8).

Tabla 1.7. Características fenotípicas de los aislados bacterianos obtenidos en San Mateo Atenco durante la época de lluvias en el primer muestreo.

Aislados	Enzimas extracelulares					H- β	Compuestos orgánicos					Comportamiento respiratorio y mov					
	ADN	Ami	Lip	Gel	Ure		Lac	Mal	Man	Sac	Sor	Cit	G/AnF	F/AnF	NO ₃ ⁻	NO ₂ ⁻	Mov
1SM1																	
1SM6																	
1SM5																	
1SM8																	
1SM3																	
1SM11																	
1SM12																	
1SM4																	
1SM14																	
1SM10																	
1SM13																	
1SM2																	
1SM7																	
1SM16																	
1SM9																	
1SM19																	
1SM15																	
1SM17																	
1SM18																	

1SM= primer muestreo. ADN: ADNasa. Ami: amilasa. Lip: lipasa. Gel: gelatinasa. Ure: ureasa. H- β : hemólisis beta. Lac: lactosa. Mal: maltosa. Man: manitol. Sac: sacarosa. Sor: sorbitol. Cit: citrato. AnF/G: anaerobio facultativo en glucosa. AnF/F: anaerobio facultativo en fructuosa. NO₃⁻: reducción de nitrato. NO₂⁻: reducción de nitrito. Mov: movilidad. ■ = respuesta positiva.

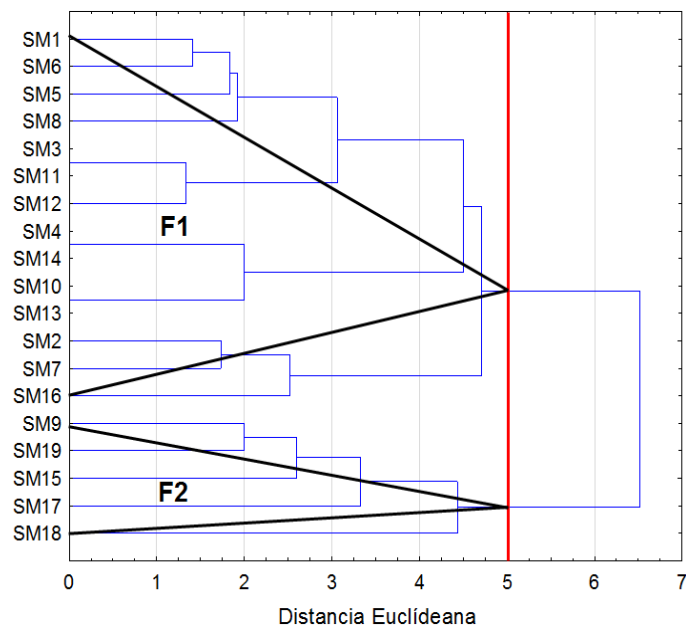


Figura 1.8. Formación de grupos, obtenidos por el método de Ward del sitio de San Mateo Atenco (lluvias). SM= San Mateo Atenco. F= fenon o grupo. Línea roja= nivel de corte.

En CB, se aislaron 20 cultivos puros Gram positivos (números color morado) y uno Gram negativo (número color rosa), con una gran diversidad para producir exoenzimas, utilizar compuestos orgánicos y crecer con o sin oxígeno. Se observó, la formación de cinco fenones: F1 (1CB1, 1CB2, 1CB3 y 1CB6b) y F2 (1CB4, 1CB5, 1CB7, 1CB8, 1CB9 y 1CB10) caracterizados por la capacidad de producir más de tres enzimas extracelulares y utilizar compuestos orgánicos; reducir nitrato, hemolíticos β y anaerobios facultativos. El grupo F3, lo integraron cinco aislados bacterianos, seguido por F4 (cuatro aislados) y F5 (dos aislados). La mayoría de los cultivos que integraron F4 y F5, se caracterizaron por reducir nitrito y ser aerobios, mientras que los cultivos de F3 mostraron una mayor variabilidad en la utilización de sustratos orgánicos y producción de enzimas excretadas al medio de cultivo ensayado (tabla 1.8 y figura 1.9).

Tabla 1.8. Características fenotípicas de los aislados bacterianos obtenidos en Ceboruco durante la época de lluvias en el primer muestreo.

Aislados	Enzimas extracelulares					H-β	Compuestos orgánicos					Comportamiento respiratorio				
	ADN	Ami	Lip	Gel	Ure		Lac	Mal	Man	Sac	Sor	Cit	G/AnF	F/AnF	NO ₃ ⁻	NO ₂ ⁻
1CB1	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
1CB3	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
1CB2	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
1CB6b	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
1CB4	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
1CB5	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
1CB7	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
1CB8	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
1CB9	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
1CB10	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
1CB11	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
1CB17	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
1CB14	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
1CB18	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
1CB19	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
1CB12	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
1CB13	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
1CB20	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
1CB16	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
1CB15	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
1CB21	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■

1CB= primer muestreo. ADN: ADNasa. Ami: amilasa. Lip: lipasa. Gel: gelatinasa. Ure: ureasa. H-β: hemólisis beta. Lac: lactosa. Mal: maltosa. Man: manitol. Sac: sacarosa. Sor: sorbitol. Cit: citrato. AnF/G: anaerobio facultativo en glucosa. AnF/F: anaerobio facultativo en fructuosa. NO₃⁻: reducción de nitrato. NO₂⁻: reducción de nitrito. ■ = respuesta positiva.

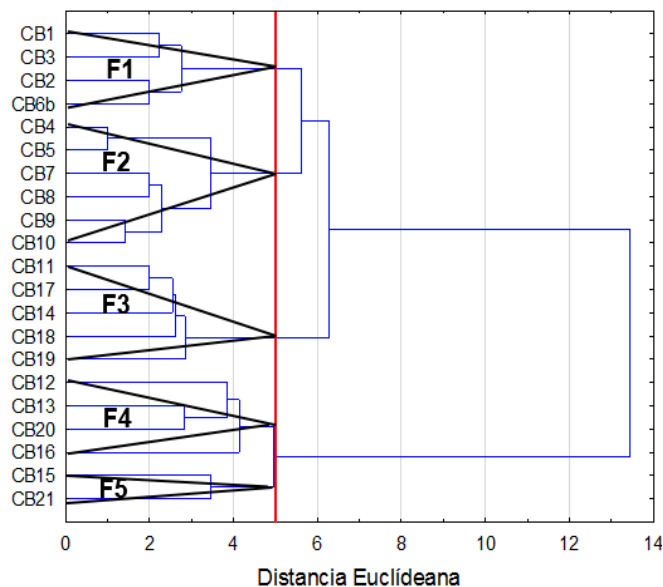


Figura 1.9. Formación de grupos, obtenidos por el método de Ward del sitio de Ceboruco (lluvias). CB= Ceboruco. F= fenon o grupo. Línea roja= nivel de corte.

En el muestreo correspondiente a la época seca-fría, en SC se obtuvieron 24 aislados Gram positivos (números color morado) y uno Gram negativo (número color rosa), se observó la formación de cinco fenones. El fenon F1, constituido por cinco aislados (2SC1, 2SC9, 2SC14, 2SC20 y 2SC22) la mayoría se caracterizó por producir más de una enzima y ser hemolíticas β . También, mostraron capacidad de metabolizar más de dos sustratos orgánicos y ser anaerobios facultativos; reducir nitrato y nitrito. Llama la atención el fenon F3, formado por ocho aislados (2SC4, 2SC7, 2SC8, 2SC10, 2SC12, 2SC19, 2SC24 y 2SC25), que aunque, son reducidas las potencialmente patógenas, se distinguen por metabolizar más de tres sustratos orgánicos y por la capacidad de crecer en un ambiente en presencia o ausencia de oxígeno, así como de reducir nitrato. Finalmente, todos los aislados fueron negativos a la prueba de movilidad (tabla 1.9 y figura 1.10).

Tabla 1.9. Características fenotípicas de los aislados bacterianos obtenidos en San Cristóbal Huichochitlan durante la época seca-fría en el segundo muestreo.

Aislados	Enzimas extracelulares					H- β	Compuestos orgánicos					Comportamiento respiratorio				
	ADN	Ami	Lip	Gel	Ure		Lac	Mal	Man	Sac	Sor	Cit	G/AnF	F/AnF	NO ₃ ⁻	NO ₂ ⁻
2SC1	■	■				■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
2SC22	■	■	■			■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
2SC9	■	■				■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
2SC14	■	■				■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
2SC20	■	■				■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
2SC2		■		■		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
2SC17		■		■		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
2SC5		■				■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
2SC6		■		■		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
2SC4		■			■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
2SC10		■			■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
2SC7		■				■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
2SC8		■				■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
2SC25		■			■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
2SC12		■				■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
2SC19		■			■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
2SC24		■			■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
2SC3	■	■		■		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
2SC23	■	■			■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
2SC21		■			■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
2SC11		■		■		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
2SC15	■	■			■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
2SC16	■	■		■		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
2SC13		■		■		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
2SC18		■				■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	

2SC= segundo muestreo. ADN: ADNasa. Ami: amilasa. Lip: lipasa. Gel: gelatinasa. Ure: ureasa. H- β : hemólisis beta. Lac: lactosa. Mal: maltosa. Man: manitol. Sac: sacarosa. Sor: sorbitol. Cit: citrato. AnF/G: anaerobio facultativo en glucosa. AnF/F: anaerobio facultativo en fructuosa. NO₃⁻: reducción de nitrato. NO₂⁻: reducción de nitrito. ■ = respuesta positiva.

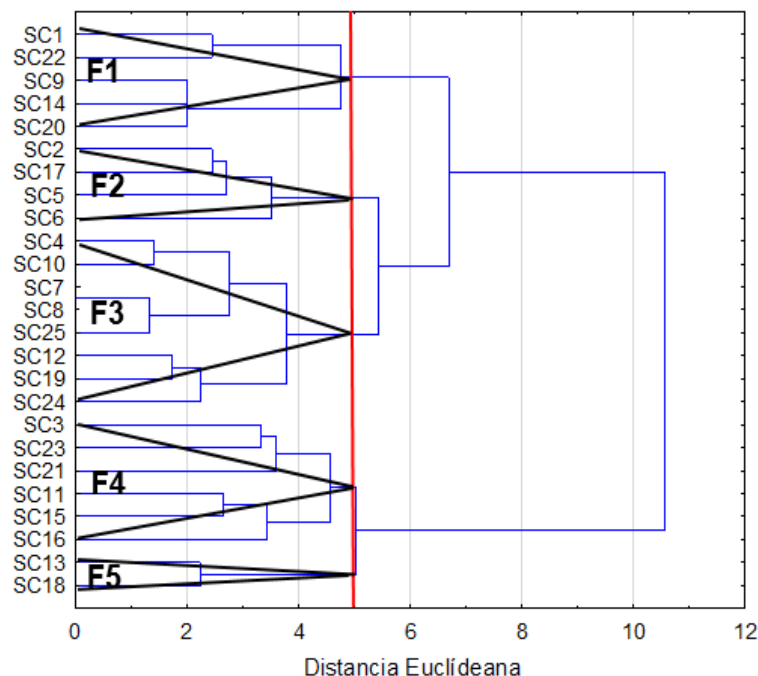


Figura 1.10. Formación de grupos, obtenidos por el método de Ward del sitio de San Cristóbal Huichochitlan (seca-fría). SC= San Cristóbal Huichochitlan. F= fenon o grupo. Línea roja= nivel de corte.

En la tabla 1.10 y figura 1.11, se exponen las características fenotípicas y la formación de tres grupos, integrados por 14 aislados Gram positivos (números color morado) y 12 Gram negativos (números color rosa) obtenidos en SM en la época seca-fría. El fenon F1, fue el grupo con el mayor número de aislados (2SM1, 2SM5, 2SM6, 2SM11, 2SM13, 2SM14, 2SM15, 2SM16, 2SM17, 2SM18, 2SM19 y 2SM21), con una reducida capacidad para producir exoenzimas y con excepción del aislado 2SM15 no fueron hemolíticos. Mientras, que la mayoría utilizó la lactosa, maltosa y manitol, siendo anaerobios facultativos y capaces de reducir nitrato. Por otra parte, los aislados de F2 (2SM2, 2SM3, 2SM7, 2SM8, 2SM9, 2SM10, 2SM12, 2SM20, 2SM22 y 2SM23), de los cuales, tres aislados (2SM2, 2SM9 y 2SM10) fueron capaces de utilizar diferentes compuestos orgánicos como fuentes de carbono y junto con 2SM12 ser hemolíticos, mientras que el comportamiento respiratorio evidenció la capacidad de crecer en medios con y sin oxígeno, así como reducir nitrato. F3, estuvo integrado por cuatro aislados con características muy diversas.

Tabla 1.10. Características fenotípicas de los aislados bacterianos obtenidos en San Mateo Atenco durante la época seca-fría en el segundo muestreo.

Aislados	Enzimas extracelulares					H-β	Compuestos orgánicos					Comportamiento respiratorio			
	ADN	Ami	Lip	Gel	Ure		Lac	Mal	Man	Sac	Sor	Cit	G/AnF	F/AnF	NO ₃ ⁻
2SM1				■			■	■	■	■	■	■	■	■	■
2SM16				■			■	■	■	■	■	■	■	■	■
2SM17		■					■	■	■	■	■	■	■	■	■
2SM18		■		■			■	■	■	■	■	■	■	■	■
2SM5				■			■	■	■	■	■	■	■	■	■
2SM13				■			■	■	■	■	■	■	■	■	■
2SM15						■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
2SM6						■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
2SM11						■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
2SM14						■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
2SM19						■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
2SM21						■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
2SM2	■	■		■		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
2SM10	■	■		■		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
2SM9						■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
2SM12						■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
2SM7	■	■		■		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
2SM3	■	■		■		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
2SM8		■				■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
2SM20		■				■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
2SM22						■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
2SM23		■				■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
2SM4	■				■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
2SM24	■				■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
2SM25	■				■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
2SM26	■				■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■

2SM= segundo muestreo. ADN: ADNasa. Ami: amilasa. Lip: lipasa. Gel: gelatinasa. Ure: ureasa. H-β: hemólisis beta. Lac: lactosa. Mal: maltosa. Man: manitol. Sac: sacarosa. Sor: sorbitol. Cit: citrato. AnF/G: anaerobio facultativo en glucosa. AnF/F: anaerobio facultativo en fructuosa. NO₃⁻: reducción de nitrato. ■ = respuesta positiva.

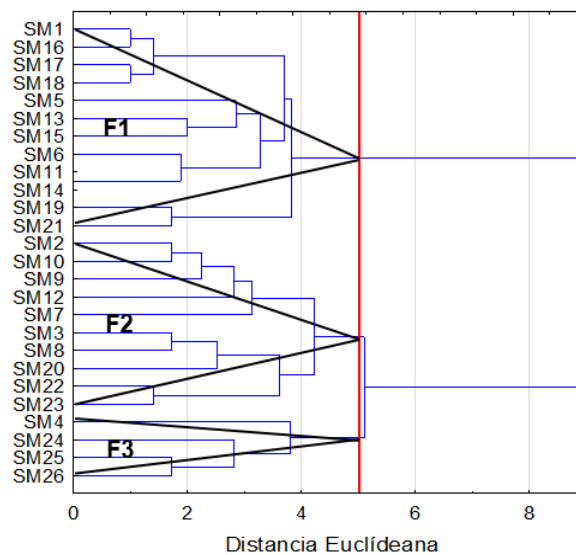


Figura 1.11. Formación de grupos, obtenidos por el método de Ward del sitio de San Mateo Atenco (seca-fría). SM= San Mateo Atenco. F= fenon o grupo. Línea roja= nivel de corte.

En el sitio de SC, los 24 aislados Gram positivos (números color morado) obtenidos en la época seca-cálida integraron tres grupos, de los cuales los aislados del fenon F1 (3SC1, 3SC2, 3SC4, 3SC8, 3SC18 y 3SC19) y F2 (3SC5, 3SC10, 3SC11, 3SC12, 3SC13, 3SC15, 3SC16, 3SC17, 3SC20, 3SC21, 3SC22, y 3SC24) fueron similares al mostrar capacidad para producir más de una enzima, utilizar más de tres sustratos orgánicos como fuentes de carbono y energía, reducir nitrato y ser anaerobios facultativos. Sin embargo, los aislados que formaron el grupo F3 (3SC3, 3SC6, 3SC7, 3SC9, 3SC143 y SC23) se caracterizaron por utilizar menos de dos compuestos orgánicos reducir nitrato y nitrito; por tener movilidad en el medio ensayado. Asimismo, no se observó la capacidad de lisar eritrocitos de la sangre utilizada en el medio ensayado (tabla 1.11 y figura 1.12).

Tabla 1.11. Características fenotípicas de los aislados bacterianos obtenidos en San Cristóbal Huichochitlan durante la época seca-cálida en el tercer muestreo.

Aislados	Enzimas extracelulares					H-β	Compuestos orgánicos					Comportamiento respiratorio y mov					
	ADN	Ami	Lip	Gel	Ure		Lac	Mal	Man	Sac	Sor	Cit	G/AnF	F/AnF	NO ₃ ⁻	NO ₂ ⁻	Mov
3SC1		■		■			■	■	■	■	■	■	■	■			
3SC2		■		■			■	■	■	■	■	■	■	■			
3SC4		■		■			■	■	■	■	■	■	■	■		■	
3SC8		■		■			■	■	■	■	■	■	■	■			
3SC19		■		■			■	■	■	■	■	■	■	■			
3SC18		■		■			■	■	■	■	■	■	■	■			
3SC5		■		■			■	■	■	■	■	■	■	■			
3SC11		■		■			■	■	■	■	■	■	■	■			
3SC16	■	■		■			■	■	■	■	■	■	■	■			
3SC10		■		■			■	■	■	■	■	■	■	■			
3SC13		■		■			■	■	■	■	■	■	■	■			
3SC17		■		■			■	■	■	■	■	■	■	■			
3SC12		■		■			■	■	■	■	■	■	■	■			
3SC20		■		■			■	■	■	■	■	■	■	■			
3SC15		■		■			■	■	■	■	■	■	■	■			
3SC22		■		■			■	■	■	■	■	■	■	■			
3SC24		■		■			■	■	■	■	■	■	■	■			
3SC21		■		■			■	■	■	■	■	■	■	■			
3SC3		■	■	■							■	■	■	■		■	
3SC6		■		■				■		■		■	■	■		■	
3SC7		■		■				■		■		■	■	■		■	
3SC9		■		■							■	■	■	■		■	
3SC23		■		■				■		■		■	■	■		■	
3SC14		■		■				■		■		■	■	■		■	

3SC= tercer muestreo. ADN: ADNasa. Ami: amilasa. Lip: lipasa. Gel: gelatinasa. Ure: ureasa. H-β: hemólisis beta. Lac: lactosa. Mal: maltosa. Man: manitol. Sac: sacarosa. Sor: sorbitol. Cit: citrato. AnF/G: anaerobio facultativo en glucosa. AnF/F: anaerobio facultativo en fructuosa. NO₃⁻: reducción de nitrato. NO₂⁻: reducción de nitrito. Mov: movilidad. ■ = respuesta positiva.

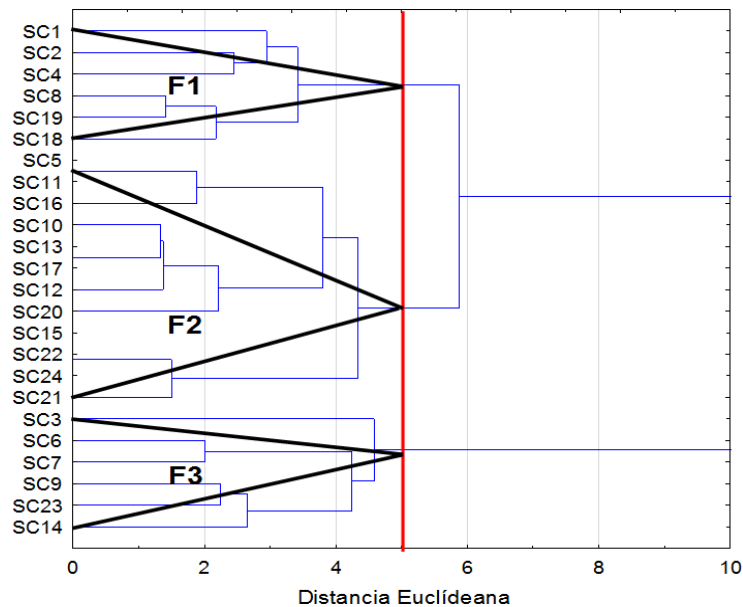


Figura 1.12. Formación de grupos, obtenidos por el método de Ward del sitio de San Cristóbal Huichochitlan (seca-cálida). SM= San Cristóbal Huichochitlan. F= fenon o grupo. Línea roja= nivel de corte.

1.8. Discusión

La mayoría de las técnicas al trabajar con filtros para aislar e identificar bacterias como parte de los bioaerosoles, se basan en métodos como cortar el filtro y colocarlo en BHI (infusión cerebro y corazón), haciendo crecer a los microorganismos en medios de cultivo específicos (Nanclares, 2016), algunos otros utilizan filtros de fibra de vidrio suspendiéndolos en solución de fosfato (Alghamdi et al., 2014); otros recolectan las muestras en filtros de fibra de cuarzo, procediendo a realizar el aislamiento mediante la extracción de DNA en kit comerciales específicos (Gou et al., 2016) por tan solo mencionar algunos. Mientras que la técnica empleada en este trabajo, al aislar bacterias atrapadas en filtros de fibra de vidrio sometidas a condiciones de estrés extremas, utilizando CN y AN para el crecimiento de las células bacterianas, solo permite el desarrollo de aquellas mejor adaptadas, resultando el procedimiento restrictivo, es decir, fue limitado el crecimiento de las bacterias debido a la falta de nutrientes que requieren determinados grupos bacterianos.

De los 133 aislados obtenidos en los tres sitios de la ZMVT, prevaleció la morfología bacilar. Las bacterias con forma de bacilo, anaerobios facultativos o aerobios formadores de esporas se han asignado al género *Bacillus*, las cuales generalmente son microorganismos Gram positivos (Claus y Berkeley, 1986). Asimismo, lo reportado en este trabajo, fue similar a la registrado por Zuñiga-Ortega et al. (2014) en los sitios de Oxtotitlan-Carmen Serdán y Aeropuerto en la ZMVT, durante el mes de mayo de 2014; Cruz-Pauseno et al. (2016) en San Mateo Atenco, donde predominaron los bacilos y cocobacilos Gram positivos, así como los realizados por Hurtado et al. (2014) en la ciudad de Tijuana (México), donde el 62% fueron Gram positivos con forma de bacilos.

En este estudio se identificaron 118 aislados bacterianos pertenecientes al grupo Gram positivas, resultados similares obtenidos por Hu et al. (2017), en muestras de partículas suspendidas (PM_{2.5}), identificando principalmente especies del género *Bacillus* (*B. subtilis*, *B. megaterium* y *B. cereus*). Estos microorganismos, tienen la particularidad de formar esporas ante la falta de nutrientes, proporcionándoles mayores posibilidades para la supervivencia en la atmósfera.

Asimismo, se observó el más alto porcentaje de bacilos Gram positivos en el sitio de CB; autores como García-Mena et al. (2016) aluden a la existencia de nubes microbianas derivadas de aglomeraciones humanas y en este sitio de estudio, ubicado dentro de las instalaciones de la Preparatoria No. 5 "Dr. Ángel María Garibay" de la UAEM, existen flujos continuos de multitudes humanas, que bien pudieran atribuirse los resultados de este trabajo, ya que en estudios similares del interior y exterior de un aula educativa, Obbard et al. (2018), refieren que las bacterias transportadas por el aire derivan de los estornudos, exhalación y tos emitidos por individuos presentes en el interior de la escuela; con base en lo reportado por Findeley et al. (2013), derivado de investigaciones realizadas en piel de personas sanas, se han encontrado bacterias Gram positivas pertenecientes a los géneros *Propionibacterium*, *Corynebacterium* y *Staphylococcus*.

Por otro lado, la disminuida sobrevivencia de bacterias Gram negativas (15 aislados), podría relacionarse con la incapacidad que tienen para agruparse en

pares o cadenas, como lo hacen los bacilos (1-2 células) y estreptobacilos (células en cadena), así como aspectos metabólicos que restringen drásticamente su crecimiento después de ser capturados en los filtros de fibra de vidrio. Algunos microorganismos pueden sobrevivir y soportar periodos de tiempo más cortos o más largos, cerrando su metabolismo al formar esporas o sintetizando compuestos protectores, ejemplo, proteínas de choque térmico o solutos compatibles (Moissl-Eichinger et al., 2016).

En la Tabla 1.3, se observó que las bacterias aisladas de CB presentaron mayor capacidad para producir enzimas extracelulares (IME= 65 %), así como la degradación de macromoléculas de grasa por acción de la enzima lipasa (67 %). La producción de lipasas, es considerada un factor de patogenicidad, sobre todo para los organismos homeotermos, ya que esta producción altera la membrana plasmática del huésped (Soler et al., 2002), resultando importante para la nutrición microbiana de géneros como *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Staphylococcus*, entre otros (Becker y Märkl, 2000). El sitio de CB, está rodeado por avenidas muy transcurridas del municipio de Toluca de Lerdo y geográficamente situado en una zona de transición, es decir, por un lado, una región urbanizada y por el otro semi rural. En estudios recientes Quezada et al. (2018); Quezada (2019), identificaron en esta demarcación, dos especies de *Bacillus* (*B. cereus* y *B. thuringiensis*), *Brevundimona diminuta* y *Exiguobacterium*, por lo que, presuntivamente los aislados obtenidos podrían pertenecer a estas especies.

Las bacterias aisladas de SC aumentaron el porcentaje en la producción de exoenzimas durante la época seca-cálida, registrándose un IME del 61 %, por lo que, posiblemente sean potencialmente patógenas para el humano. La ubicación geográfica de este sitio, está influenciada por los vientos que llegan de municipios cercanos convirtiéndose en un depósito de material particulado fino como las bacterias procedentes de habitantes de las zonas aledañas. En la mayoría de las bacterias aisladas de SM, se observó la capacidad de producir ADNasa (58 % y 23 %), gelatinasa (84 % y 27 %) y hemólisis β (68 % y 42 %) en las épocas: lluvias y seca-fría, caso diferente a lo reportado por Martínez et al. (2018), después de

obtener 24 aislados bacterianos, de los cuales todos produjeron gelatinasa y un bajo porcentaje fue hemolítico (17 %). Por lo que existe una importante variación en cuanto a la producción de exoenzimas, así como la influencia de la técnica utilizada para la colecta de bacterias ambientales.

Estos resultados evidenciaron, cómo los aislados bacterianos de los tres sitios de estudio, produjeron sobre todo ADNasa, gelatinasa y ureasa. La ADNasa, es una exoenzima conocida como desoxirribonucleasa, capaz de degradar el DNA (MacFadin, 2003), por lo que se plantea, que las bacterias aéreo-transportadas capaces de producirlas son potencialmente patógenas. Las enzimas proteolíticas, es decir gelatinasas, están asociadas con factores de patogenicidad en bacterias Gram positivas como *Enterococcus faecalis* (Nakayama et al., 2001). Finalmente, las ureasas microbianas hidrolizan urea en amoniaco y dióxido de carbono (Mobley et al., 1989); en este contexto, se considera la presencia de ureasa como un factor de patogenicidad, ya que algunos informes han evidenciado cómo *Helicobacter pylori* es causante de gastritis y úlceras duodenales, también, su capacidad de metabolizar la urea mediante una ureasa para generar amoniaco, esencial para neutralizar la acidez en la mucosa gástrica que permite colonizar el tracto digestivo (Olivares y Gisbert, 2006), incluso, especies como *Staphylococcus capitis urealiticum*, son capaces de sobrevivir con o sin urea en pacientes hipoclorhídricos (Brandi et al., 2006) y en este trabajo se observó que más de la mitad de las bacterias aisladas de CB (86 %) produjeron esta enzima.

La hemólisis consiste en la fragmentación de los estromas generando la liberación de la hemoglobina (Cuadra, 1957) y las bacterias capaces de producir hemolisinas, son consideradas patógenas (Cleary y Cheng, 2006) como los géneros *Streptococcus* y *Enterococcus* (Brooks et al., 2010). En este trabajo, las BAT aisladas en lluvias y seca-fría, entre un 22 % y 68 % fueron hemolíticas β , lo que podría indicar procesos que comprenden lisis en los eritrocitos, desencadenando efectos citotóxicos en el sistema inmune, sobre todo en los sitios de SM (68 %) y CB (67 %). Sin embargo, de acuerdo con García-Mena et al. (2016) las bacterias

hemolíticas β , no necesariamente son un riesgo potencial para las personas saludables.

En relación a la utilización de compuestos orgánicos como fuentes de carbono y energía, en este trabajo la glucosa, fructuosa y sacarosa fueron los compuestos orgánicos mayormente utilizados por los aislados bacterianos (más del 68 %); en un estudio similar Cruz-Pauseno et al. (2016b) mostraron cómo la fructuosa y sacarosa (74 % y 67 %), también, fueron los sustratos más utilizados por las bacterias aisladas del sitio de San Mateo Atenco durante la temporada seca-fría. Simon (2012) en tres puntos de la actual Ciudad de México (Pedregal de San Ángel, Santa Úrsula y La Merced), observó que las cepas aisladas utilizaron mayormente fructuosa (promedio 72 %), manosa (promedio 71 %) y glucosa (promedio 68 %), coincidiendo en que la glucosa y fructuosa son los sustratos orgánicos mayormente utilizados por las bacterias suspendidas en el aire, sobre todo en ciudades contaminadas como lo es la ZMVT. Los resultados del IMU, evidencian que las bacterias aéreo-transportadas aisladas tienen la capacidad para degradar la materia orgánica al utilizar los carbohidratos como una fuente de carbono y energía en más del 56 %.

Algunos autores, clasifican a las bacterias patógenas por sus requerimientos de oxígeno en: a) aerobias estrictas, precisan de oxígeno libre, b) anaerobias facultativas, pueden vivir y multiplicarse con o sin oxígeno y c) anaerobios estrictos, crecen en condiciones altamente reductoras o de potencial óxido reducción (Harvey et al., 2007); en este trabajo la mayoría de las bacterias fueron anaerobias facultativas y reductoras de nitrato, particularidades de aquellas capaces de acoplar la reducción de nitrato a la oxidación de diferentes sustratos orgánicos como los miembros cultivados de los phyla Actinobacteria y Firmicutes (Kourtev et al., 2009), por lo que la bacterias aisladas en este estudio, presuntivamente pertenecen al phylum Firmicutes, reforzando la conjetura con lo encontrado en esta investigación (Capítulo 3, figura 3.4).

1.9. Conclusiones

- Las bacterias aéreo-transportadas viables de San Cristóbal Huichochitlan, San Mateo Atenco y Ceboruco fueron principalmente Gram positivas con morfología bacilar.
- El IME, evidenció cómo los aislados bacterianos de CB (67 %) y SC (61 %), fueron capaces de producir enzimas extracelulares, por lo que, se infiere que poseen características potenciales de patogenicidad.
- El IMU, mostró que la glucosa, sacarosa y fructuosa son los sustratos orgánicos mayormente utilizados por las bacterias aéreo-transportadas, y sobre todo los aislados de SM y SC, tienen la mayor capacidad para degradar la materia orgánica al utilizar los sustratos como fuentes de carbono y energía.
- La mayoría de las bacterias fueron anaerobias facultativas, reductoras de nitrato y presuntivamente pertenecen al phylum Firmicutes.

1.10. Literatura citada

- Alghamdi MA, Shamy M, Redal MA, Khoder M, Awad AH, Elserougy S. 2014. Microorganisms associated particulate matter: a preliminary study. *Science of the Total Environment*, 479:109-116.
- Becker P and Märkl H. 2000. Modeling of olive oil degradation and oleic acid inhibition during chemostat and batch cultivation of *Bacillus thermoleovorans* IHI-91. *Biotechnology and Bioengineering*, 70(6):630-637.
- Blazewicz SJ, Barnard RL, Daly RA, Firestone MK. 2013. Evaluating rRNA as an indicator of microbial activity in environmental communities: limitations and uses. *The ISME Journal*, 7(11):2061-2068.
- Bowers RM, McLetchie S, Knight R, Fierer N. 2011. Spatial variability in airborne bacterial communities across land-use types and their relationship to the bacterial communities of potential source environments. *The ISME Journal*, 5(4):601-612.

- Brandi G, Biavati B, Calabrese C, Granata M, Nannetti A, Mattarelli P, Di Febo G, Saccoccio G, Biasco G. 2006. Urease-positive bacteria other than *Helicobacter pylori* in human gastric juice and mucosa. *The American Journal of Gastroenterology*, 101(8):1756-1761.
- Brook RD, Franklin B, Cascio W, Hong Y, Howard G, Lipsett M, Luepker R, Mittleman M, Samet J, Smith SC, Tager I. 2004. Air pollution and cardiovascular disease a statement for healthcare professionals from the Expert Panel on Population and Prevention Science of the American Heart Association. *Circulation*, 109(21):2655-2671.
- Brooks G, Butel J, Morse S. 2010. Microbiología médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. 25a. El Manual Moderno, México, 773 p.
- Burrows SM, Elbert W, Lawrence MG, Pöschl U. 2009. Bacteria in the global atmosphere-Part 1: review and synthesis of literature data for different ecosystems. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 9(23):9263-9280.
- Carballo-Cruz R. 1985. Caracterización de bacterias heterótrofas en los aportes de la laguna de Términos a la Sonda de Campeche. [Tesis de licenciatura]. Universidad Nacional Autónoma de México, México, 145 p.
- Chang C. 2010. The immune effects of naturally occurring and synthetic nanoparticles. *Journal of Autoimmunity*, 34(3):234-246.
- Claus D and Berkeley RCW. 1986. Genus *Bacillus* Cohn, 1872. In: Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME and Holt JG, editors. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Williams & Wilkins, Baltimore, 34:1105-1139.
- Cleary P and Cheng Q. 2006. Medically important beta-hemolytic *Streptococci*. In: Dworkin M, Flkow S, Rosenberg E, Schleifer KH, Stackebrandt E, editors. *The Prokaryotes*. 2nd ed. Springer, New York, p. 108-148.
- COESPO. Consejo Estatal de Población Estado de México. 2016. Cuaderno Estadístico, Encuesta Intercensal 2015. Consultado el 05 de julio de 2017. Disponible en:<http://coespo.edomex.gob.mx/sites/coespo.edomex.gob.mx/files/files/cuaderno%20estadistico%202016.pdf>

- Cruz-Pauseno G, Núñez-Cardona MT, Díaz-Godoy RV, García PAV. 2016b. Caracterización fenotípica de bacterias heterótrofas de la estación San Mateo del Valle de Toluca (Red de Monitoreo Ambiental). XII Congreso de Investigación. Universidad Nacional Autónoma de México Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, México. 17-21 de octubre de 2016.
- Cruz-Pauseno G, Núñez-Cardona MT, Díaz-Godoy RV. 2016. Comparación fenotípica y resistencia a los antibióticos de aerobacterias en dos sitios del Valle de Toluca. 2do. Congreso Nacional de Investigaciones Microbiológicas. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México. 7-9 de noviembre de 2016.
- Cuadra M. 1957. Mecanismo de destrucción de los eritrocitos. La hemólisis intravascular. En: Anales de la Facultad de Medicina. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú, 40(4):872-907.
- De la Fuente FS. 2011. Análisis de conglomerados. Consultado el 27 de mayo de 2019. Disponible en http://www.estadistica.net/Master-Econometria/Analisi_Cluster.pdf
- Dimmick RL, Straat PA, Wolochow H, Levin GV, Chatigny M A, Schrot JR. 1975. Evidence for metabolic activity of airborne bacteria. *Journal of Aerosol Science*, 6(6):387-393.
- Esbelin J, Santos T, Hébraud M. 2018. Desiccation: an environmental and food industry stress that bacteria commonly face. *Food Microbiology*, 69:82-88.
- Findeley K, Oh J, Yang J, Conlan S, Deming C, Meyer JA, Schoenfeld D, Nomicos E, Park M. 2013. Topographic diversity of fungal and bacterial communities in human skin. *Nature*, 498(7454):367-370.
- Flores-Tena FJ, Pardave LM, Valenzuela I. 2007. Estudio aerobiológico de la zona San Nicolás, Municipio de Aguascalientes. *Investigación y Ciencia*, 37:13-18.
- Fröhlich-Nowoisky J, Kampf CJ, Weber B, Huffman JA, Pöhlker C, Meinrat OA, Lang-Yona N, Burrows SM, Gunthe SS, Wolfgang E, Hang S, Hoor P, Thines E, Hoffmann T, Després VR, Pöschl U. 2016. Bioaerosols in the earth system: climate, health, and ecosystem interactions. *Atmospheric Research*, 182:346-376.

- García-Mena J, Murugesan S, Pérez-Muñoz AA, García-Espitia M, Maya O, Jacinto-Montiel M, Giselle Monsalvo-Ponce G, Piña-Escobedo A, Domínguez-Malfavón L, Gómez-Ramírez M, Cervantes-González E, Núñez-Cardona MT. 2016. Airborne bacterial diversity from the low atmosphere of greater Mexico City. *Microbial Ecology*, 72(1):70-84.
- Gou H, Lu J, Li S, Tong Y, Xie C, Zheng X. 2016. Assessment of microbial communities in PM₁ and PM₁₀ of Urumqi during winter. *Environmental Pollution*, 214:202-210.
- Granados RP y Villaverde MCP. 2003. Bacteriología, características y clasificación bacteriana, virología características y técnicas bioquímicas. En: *Microbiología tomo 1*. 3a ed. Thomson, Madrid, 325.
- Haig CW, Mackay WG, Walker JT, Williams C. 2016. Bioaerosol sampling: sampling mechanisms, bioefficiency and field studies. *Journal of Hospital Infection*, 93:242-255.
- Harvey RA, Champe PC, Fisher BD. 2007. *Microbiología*. 2a. ed. Lippincott Williams & Wilkins. España, 448.
- Hernández-Castillo OV, Mugica-Álvarez MT, Castañeda-Briones JM, Murcia F, García-Franco Y, Briseño F. 2014. Aerobiological study in the Mexico City subway system. *Aerobiologia*, 30:357-367.
- Hu YD, Ma AZ, Lü PY, Zhang Y, Zhuang GQ. 2017. Community characteristics of cultivable bacteria in fine particles (PM_{2.5}) of Beijing and Baoding. *Environmental Science*, 38(4):1327-1339.
- Hurtado L, Rodríguez G, López J, Castillo JE, Molina L, Zavala M, Quintana PJ. 2014. Characterization of atmospheric bioaerosols at 9 sites in Tijuana, Mexico. *Atmospheric Environment*, 96:430-436.
- INSP. Instituto Nacional de Salud Pública. 2016. Consultado el 22 de junio de 2017. Disponible en https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/171727/20160630_calidadAire_INSP_H_Riojas.pdf
- Jacinto MM. 2013. Estudio de la composición de las bacterias aerotransportadas en la atmósfera baja de la zona Metropolitana del Valle de México. [Tesis de

- licenciatura]. Facultad de estudios superiores Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México. México, 88.
- Joly M, Amato P, Sancelme M, Vinatier V, Abrantes M, Deguillaume L, Delort AM. 2015. Survival of microbial isolates from clouds toward simulated atmospheric stress factors. *Atmospheric Environment*, 117:92-98.
- Kaphalia BS. 2014. Chapter 16- Biomarkers of acute and chronic pancreatitis. *Biomarkers in Toxicology*, 279-289.
- Kourtev PS, Nakatsu CH, Konopka AK. 2009. Inhibition of nitrate reduction by chromium (VI) in anaerobic soil microcosms. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(19):6249-6257.
- Krumins V, Mainelis G, Kerkhof LJ, Fennell DE. 2014. Substrate-dependent rRNA production in an airborne bacterium. *Environmental Science and Technology Letters*, 1(9):376-381.
- MacFadin JF. 2003. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. 3a Ed., Panamericana, Buenos Aires, Argentina, 839 p.
- Madigan MT, Martinko JM, Dunlap PV, Clark DP. 2009. Brock Biología de los Microorganismos. Pearson. México, 1259 p
- Manahan SE. 2007. Introducción a la Química Ambiental. Reverté. Consultado el 22 de junio de 2017. Disponible en:https://books.google.com.mx/books?id=5NR8Dik1n68C&printsec=frontcover&dq=Introduccion+a+la+Quimica+Ambiental&hl=es&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q=Introduccion%20a%20la%20Quimica%20Ambiental&f=false.
- Maron PA, Mougél C, Lejon DP, Carvalho E, Bizet K, Marck G, Ranjard L. 2006. Temporal variability of airborne bacterial community structure in an urban area. *Atmospheric Environment*, 40(40):8074-8080.
- Martínez SA, Núñez-Cardona MT, Quezada CEU, González SG, Díaz-Godoy RV. 2018. Factores de virulencia en bacterias aero-transportadas de tres estaciones de la Red Automática de Monitoreo Ambiental de Toluca. XXVIII Congreso Técnico Científico ININ-SUTIN. Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares, México, 142-143. 27-30 de diciembre de 2018.

- Martiny JBH, Bohannan BJ, Brown JH, Colwell RK, Fuhrman JA, Green JL, Morin PJ. 2006. Microbial biogeography: putting microorganisms on the map. *Nature Reviews Microbiology*, 4(2):102.
- Matthias-Maser S y Jaenicke R. 2000. The size distribution of primary biological aerosol particles in the multiphase atmosphere. *Aerobiologia*, 16(2):207-210.
- Meadow JF, Altrichter AE, Bateman AC, Stenson J, Brown GZ, Green JL, Bohannan BJ. 2015. Humans differ in their personal microbial cloud. *PeerJ*, (3):e1258.
- Mobley HLT, Hausinger RP. 1989. Microbial ureases: significance, regulation, and molecular characterization. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 53(1):85-108.
- Mogrovejo FMT. 2015. Evaluación de las tendencias de calidad del aire en la zona metropolitana del valle de Toluca durante los años 2000-20013. [Tesis de pregrado]. Universidad de Cuenca, Ecuador, 110 p.
- Moissl-Eichinger C, Cockell C, Rettberg P. 2016. Venturing into new realms? Microorganisms in space. *FEMS Microbiology Reviews*, 40(5):722-737.
- Nanclares DAC. 2016. Evaluación de las bacterias aisladas de material particulado PM_{2.5} captado en tres estaciones de la red de monitoreo de calidad de aire del Área Metropolitana Valle de Aburrá. [Tesis de maestría]. Universidad Nacional de Colombia-Sede Medellín, Colombia, 74 p.
- Núñez-Cardona MT, Bustos-Martínez JA, Hamdan-Partida A, Chavez-Ibañez E, Díaz-Godoy RV, Gutiérrez-Castillo ME. 2014. Identificación de bacterias aerotransportadas aisladas de la estación de monitoreo Oxtotitlan (Estado de México). Mediante el análisis de su 16S rADN. 1er. Congreso Nacional de Investigación en Microbiológicas. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México, 26-28 de noviembre de 2014.
- Obbard JP. 2018. Levels of airborne bacteria in a school classroom environment in Doha Qatar. *Qatar Foundation Annual Research Conference Proceedings*, 2018(1):EEPD1078.
- Olivares D y Gisbert JP. 2006. Factores implicados en la patogenia de la infección por *Helicobacter pylori*. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*, 98(5):382-386.

- OMS. Organización Mundial de la Salud. 2016. Ambient air pollution: a global assessment of exposure and burden of disease. Consultado el 22 junio de 2017. Disponible en: http://www.who.int/about/licensing/copyright_form/en/
- OMS. Organización Mundial de la Salud. 2016a. Data base: outdoor air pollution in cities. Consultado el 18 junio de 2017. Disponible en: http://www.who.int/phe/health_topics/outdoorair/databases/cities-2011/en/
- Palla F and Barresi G. 2017. Biotechnology and conservation of cultural heritage. Springer. Berlin, 100 p.
- Quezada CEU, Núñez-Cardona MT, Hamdam AP, Bustos MJA, Gómez EM, Díaz RVG, Moreno JA. 2018. Aislamiento e identificación de bacterias heterótrofas, presentes en la atmosfera baja, de la Zona Metropolitana del Valle de Toluca, Estado de México. XXVIII Congreso Técnico Científico ININ-SUTIN. Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares, México. 27-30 de diciembre de 2018.
- Quezada CEU. 2019. Análisis de bacterias heterótrofas aerotransportadas, en tres sitios del Valle de Toluca, Estado de México. [Informe de servicio social]. Universidad Autónoma Metropolitana, unidad Xochimilco, México, 51 pag.
- RAMAT. Red Automática de Monitoreo Atmosférico de la ZMT. 2019. Reportes Mensuales 2018 Mosaico de la calidad del aire por partículas suspendidas fracción respirable (PM_{2.5}) en la Zona Metropolitana del Valle de Toluca (2011-2018). Consultado el 9 de febrero de 2019. Disponible en: <http://rama.edomex.gob.mx/mosaico>
- Rascovan N. 2013. Abriendo la caja negra de los microbiomas ambientales argentinos. Caracterizaciones funcionales y ecológicas en lagunas de altura andinas y suelos de la pampa húmeda con secuenciación de alto rendimiento. [Tesis doctoral]. Buenos Aires, Argentina, 236 p.
- Rosas I, Salinas E, Martínez L, Eslava C, Cravioto A. 2004. La atmósfera como parte del hábitat. En: Microbiología ambiental. Instituto Nacional de Ecología, México, 134 p.
- Šantl-Temkiv T, Sahyoun M, Finster K, Hartmann S, Augutin-Bauditz S, Stratmann F, Wex H, Clauss T, Woetmann NN, Havskov SJ, Smith KU, Wick YL,

- Gosewinkel KU. 2015. Characterization of airborne ice-nucleation-active bacteria and bacterial fragments. *Atmospheric Environment*, 109:105-117.
- Santos-Romo A, Janeth SAN, Certucha-Barragán MT, Almendáriz-Tapia FJ, Monge-Amaya O, Hernández-López J, Zepeda-Ibarra J. 2014. Microbiological identification of atmospheric particles in Hermosillo, Sonora, México. *Journal of Environmental Protection*, 5(5):376-386.
- Simón IC. 2012. Caracterización de bacterias heterótrofas de bioaerosoles colectados en tres puntos del Distrito Federal. [Informe de servicio social]. Universidad Autónoma Metropolitana, unidad Xochimilco, México, 45 p.
- Sinclair NA, Stokes JL. 1962. Factors which control maximal growth of bacteria. *Journal of Bacteriology*, 83(5):1147-1154.
- Smets W, Moretti S, Denys S, Lebeer S. 2016. Airborne bacteria in the atmosphere: Presence, purpose, and potential. *Atmospheric Environment*, 139:214-221.
- Soler L, Figueras MJ, Chacón MR, Vila J, Marco F, Martínez-Murcia AJ, Guarro J. 2002. Potential virulence and antimicrobial susceptibility of *Aeromonas popoffii* recovered from freshwater and seawater. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 32(3):243-247.
- Tortora GJ, Funke BR, Case CL. 2012. *Introducción a la Microbiología*. 9a Ed., Médica Panamericana, Madrid, España, 923 p.
- Vaca SP, Miranda R, Cervantes C. 1995. Inorganic-ion resistance by bacteria isolated from a Mexico City freeway. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 67(4):333-337.
- Walser SM, Gerstner DG, Brenner B, Bünger J, Eikmann T, Janssen B, Sagunski H. 2015. Evaluation of exposure–response relationships for health effects of microbial bioaerosols - a systematic review. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 218(7):577-589.
- Wei M, Xu C, Chen J, Zhu C, Li J, Lv G. 2017. Characteristics of bacterial community in cloud water at Mt Tai: similarity and disparity under polluted and non-polluted cloud episodes. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 17(8):5253-5270.
- Womack AM, Bohannan BJM, Green JL. 2010. Biodiversity and biogeography of the atmosphere. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 365(1558):3645-3653.

- Zhang Q, Han Y, Xiao H. 2017. Microbial α -amylase: a biomolecular overview. *Process Biochemistry*, 53:88-101.
- Zhong X, Qi J, Li H, Dong L, Gao D. 2016. Seasonal distribution of microbial activity in bioaerosols in the outdoor environment of the Qingdao coastal region. *Atmospheric Environment*, 140:506-513.
- Zuñiga-Ortega JF, Castillo-Simon I, Núñez-Cardona MT, Díaz-Godoy RV, Gutiérrez-Castillo ME. 2014. Aislamiento y caracterización de bacterias heterótrofas aerotransportadas de dos sitios de la Red de Monitoreo Ambiental del Valle de Toluca. XIX Simposio del Departamento de Ciencias de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana, unidad Iztapalapa, México. 26-28 de diciembre de 2014.

Anexo 1A. Medios de cultivo y técnicas utilizadas para el aislamiento y caracterización de bacterias aéreo-transportadas

Agar Nutritivo

Reactivos

Caldo nutritivo	8.0 g
Agar bacteriológico	15.0 g
Agua destilada	1 000 mL

Esterilizar por autoclave a 15 lb (121 °C) de presión durante 15 minutos. Enfriar, vaciar en cajas Petri, este medio también fue utilizado para conservar los cultivos puros (la cantidad depende del tamaño del vial).

Uso. Es un medio sólido utilizado para aislar bacterias con exigencias nutrimentales generales.

Caldo nutritivo (BIOXON)

Reactivos

Caldo nutritivo	8.0 g
Agua destilada	1 000 mL

Suspender, distribuir y esterilizar a 121 °C durante 15 minutos.

Solución salina

Reactivos

NaCl	8.5 g
Agua destilada	1 000 mL

Agregar 9.0 mL de la solución salina en tubos de ensaye de 15.0 mL de capacidad y esterilizar por autoclave a 15 libras (121 °C), durante 20 minutos.

Uso. Esta solución es un diluyente isotónico para las células bacterianas con el fin de proporcionar una concentración adecuada para observación al microscopio o para lavar las células en preparación para su estudio.

Tinción de Gram (Carballo-Cruz, 1985)

Reactivos. Cristal violeta-oxalato de amonio

Solución A		Solución B	
Cristal violeta	2.0 g	Oxalato de amonio	0.8 g
Etanol al 96%	20 mL	Agua destilada	80 mL

Mezclar cada uno de los solutos en su disolvente respectivo. Dejar la solución oxalato de amonio en reposo durante una noche. Añadir las dos soluciones y filtrar. Dejar reposar durante 24 horas en un frasco oscuro.

Reactivos. Lugol (300 mL)

Solución A		Solución B	
Agua destilada	240 mL	Carbonato de sodio (Na ₂ CO ₃) al 5 %	30 mL
Yodo (cristales)	1.0 g		
Yoduro de potasio	2.0 g		

Disolver en una pequeña cantidad de agua (de los 240 mL) el Yoduro, posteriormente agregar el Yodo. Mezclar las dos soluciones y filtrar. Dejar reposar durante 24 horas en un frasco oscuro.

Reactivos. Safranina

Safranina	0.5 g
Alcohol etílico (95 %)	5 mL
Agua destilada	95 mL

Reactivos. Alcohol-acetona 100 mL

Acetona	30 mL
Alcohol etílico (95 %)	70 mL

Mezclar cada una de las soluciones.

Uso. Para distinguir dos grupos de células: Gram positivas y Gram negativas, esta tinción se debe realizar en cultivos menores a 24 horas de crecimiento.

El proceso para la técnica de tinción de Gram fue de acuerdo con Carballo-Cruz (1985):

Proceso para la
técnica de tinción de
Gram

1. Preparar un frotis con el aislado bacteriano y dejar secar las células bacterianas a temperatura ambiente.
2. Cubrir con cristal violeta y esperar un minuto.
3. Lavar con agua (moradas/Gram positivas).
4. Aplicar la solución de Lugol y esperar un minuto.
5. Lavar con agua.
6. Lavar el frotis con alcohol-acetona, hasta decoloración.
7. Lavar con agua.
8. Cubrir el frotis con Safranina durante un minuto.
9. Lavar con agua, hasta que no haya restos del colorante (rosadas/Gram negativas).
10. Dejar secar y agregar aceite de inmersión.

Interpretación. Los microorganismos Gram positivos se tiñen de color morado y los Gram negativos se tiñen de color rojo o rosa.

Anexo 1B. Preparación de medios de cultivo para la prueba de producción de enzimas extracelulares y hemólisis, con adaptaciones realizadas por Núñez-Cardona de Carballo-Cruz (1985)

Ureasa

Reactivos

Agar bacteriológico (base)	15.0 g
Urea	29.0 g
Agua destilada (base)	1 000 mL

La solución base y tubos a utilizar (con rosca) se esterilizan a 121 °C durante 20 minutos. Se expone la urea a rayos UV durante 15 minutos (Núñez-Cardona, comunicación personal). Se mezcla la solución base y la urea en un ambiente estéril, posteriormente se vacía 3 mL en cada tubo con rosca. Se deja solidificar en posición inclinada.

Interpretación. Si existe un cambio de color en el medio de cultivo (color rosa), la respuesta es positiva a la prueba.

ADNasa (BIOXON)

Reactivos

Agar prueba ADNasa	42.0 g
Agua destilada	1 000 mL

Mezclar hasta homogenizar y esterilizar a 121 °C durante 20 minutos, dejar enfriar y vaciar en cajas de Petri.

Interpretación. Adicionar ácido clorhídrico (HCL) 1.0 N, un halo blanco muestra la prueba positiva.

Amilasa

Reactivos

Agar nutritivo	23.0 g
Almidón soluble	1.5 g
Cloruro de sodio (NaCl)	5.0 g
Agua destilada	1 000 mL

Mezclar hasta homogenizar y esterilizar a 121 °C durante 20 minutos, dejar enfriar y vaciar en cajas de Petri.

Interpretación. Cubrir la placa con solución de Lugol, se produce un halo transparente cuando es positiva a la prueba.

Lipasa

Reactivos

Tween 80	10 mL
Agar nutritivo	23.0 g
Agua destilada	1 000 mL

Mezclar hasta homogenizar y esterilizar a 121 °C durante 20 minutos Dejar enfriar y vaciar en cajas de Petri.

Interpretación. Observar la formación de un halo de cristales alrededor del área de crecimiento, la respuesta es positiva.

Gelatinasa

Reactivos

Gelatina bacteriológica	4.0 g
Agar nutritivo	23.0 g
Agua destilada	1 000 mL

Mezclar hasta homogenizar la solución y esterilizar a 121 °C durante 20 minutos. Dejar enfriar y vaciar en cajas de Petri.

Interpretación. Adicionar cloruro mercurico (HgCl_2), si se observa la formación de un halo transparente alrededor del área de crecimiento, la respuesta es positiva.

Hemólisis

Reactivos

A		B	
Agar Müeller Hinton	38.0 g	Sangre	50 mL
Agua destilada	950 mL		

Mezclar los reactivos de A y esterilizar a 121 °C durante 20 minutos. Dejar enfriar y agregar B. Homogenizar y vaciar en cajas de Petri.

- Hemólisis alfa (α). Se observa la formación de un halo negro-verde alrededor del área de crecimiento.
- Hemólisis beta (β). Se observa la formación de un halo transparente alrededor del área de crecimiento.

Anexo 1C. Preparación de pruebas bioquímicas (Núñez-Cardona, comunicación personal)

Lactosa, maltosa, manitol, sacarosa, sorbitol (azúcares)

Reactivos

Rojo de fenol (base)	16.0 g
Agua destilada	1000 mL
Adicionar el sustrato: azúcares (lactosa, maltosa, manitol, sacarosa, sorbitol)	5.0 g

Mezclar hasta homogenizar la solución. Vaciar 3 mL en tubos (con rosca) y esterilizar a 121 °C durante 20 minutos.

Interpretación. Se considera como positivo el cambio del medio de cultivo de color rojo a amarillo.

Citrato de Simmons

Reactivos

Agar citrato de Simmons	22.0 g
Agua destilada	1 000 mL

Calentar para homogenizar la solución (hasta que comience a burbujear). Vaciar en tubos con rosca y esterilizar a 121 °C durante 20 minutos. Dejar enfriar el medio y colocarlos en posición inclinada.

Interpretación. Crecimiento con un color azul intenso en el medio de cultivo, la prueba es positiva, si no se observa cambio de color, la respuesta es negativa.

Reducción de nitrato (NO_3^-) y nitrito (NO_2^-)

Reactivos

Caldo nutritivo	8.0 g
Nitrato de potasio (KNO_3)	1.0 g
Agua destilada	1 000 mL

Calentar para homogenizar la solución. Vaciar 3 mL en tubos (con rosca y campana Durham) y esterilizar a 121 °C durante 20 minutos.

Interpretación. Agregar tres gotas de reactivos Griess A (ácido sulfanílico) y B (alfa naftilamina). Agitar el tubo con suavidad (esperar 2 minutos). Si al agregar los reactivos A y B se observa color rojo en el medio líquido, la reducción de nitrato es positiva y la de nitrito es negativa. Si no hay cambio de color, agregar una pizca de polvo de zinc, esperar de 3 minutos, si con este no cambia de color quiere decir que el organismo redujo el nitrato en nitrito; si el medio líquido vira a rojo, el nitrato no ha sido reducido por el organismo.

SIM (Sulfhídrico, Indol y Movilidad)

Reactivos

Medio SIM (BIOXON)	30.0 g
Agua destilada	1 000 mL

Calentar la solución para homogenizar (hervir durante 1 minuto). Vaciar 3 mL en tubos con rosca. Esterilizar a 121 °C durante 20 minutos. Dejar enfriar en posición vertical.

Interpretación.

- Movilidad. Si se observa turbidez alrededor de la línea de siembra, respuesta positiva. Crecimiento únicamente en la línea de siembra, respuesta negativa.
- Producción de ácido sulfhídrico (SH_2). Cuando se observa en el medio un color negro, respuesta positiva.

- Producción de Indol. Agregar 5 gotas de reactivo Ehrlich por la pared interior del tubo, si se observa la formación de un anillo rojo intenso en la superficie del medio, respuesta positiva.

Óxido-Fermentación de azúcares (Núñez-Cardona, comunicación personal)

Reactivos

Rojo de fenol (base)	16 g
Agar bacteriológico (BIOXON)	3.0 g
Agua destilada (base)	1 000 mL
Adicionar el sustrato: glucosa/fructuosa	5.0 g

Calentar para que se disuelva (retirar hasta que empiece a burbujear) y vaciar 3.0 mL en tubos con tapón de algodón, esterilizar a 121 °C durante 20 minutos, después de 24 horas, se inoculan los aislados por duplicado y se coloca un sello de parafina y aceite de parafina (1:1) estériles a uno de ellos. El cambio de color rojo a amarillo en ambos cultivos indica respuesta positiva a la anaerobiosis facultativa. Cuando hay cambio de color en un solo tubo quiere decir que es aerobio estricto (Carballo-Cruz, 1985).

Anexo 1D. Índice Medio de producción de Enzimas (I.M.E.) descrito por Carballo-Cruz (1985)

El Índice medio de producción de enzimas exocelulares calcula la “capacidad de producirlas por un grupo de cepas que participan en la degradación de todos los sustratos” metabolizados.

$$\text{I.M.E.} = \text{Pe}/\text{Ne}$$

Donde:

Pe = Porcentaje positivos de las exoenzimas

N = Número total de exoenzimas ensayadas

Índice Medio de Utilización de sustrato (I.M.U.) descrito por Carballo-Cruz (1985).

Con este índice se calcula el “promedio de utilización de un sustrato, de una familia de sustratos o del total de sustratos probados por una o grupo de cepas” (Carballo-Cruz, 1985).

$$\text{IMU} = \sum \text{P}/\text{N}$$

Donde:

P = Porcentaje de utilización de cada uno de los sustratos

N = Número total de sustratos probados de cada familia química

Capítulo 2

Analizar la composición química en partículas suspendidas con diámetro aerodinámico menores o igual a 2.5 micrómetros (PM_{2.5}) en tres sitios del Valle de Toluca y conocer a las bacterias que están asociadas a estas

2.1. Resumen

Se realizó un estudio exploratorio mediante el análisis de partículas PM_{2.5} en tres sitios de la Zona Metropolitana del Valle de Toluca (ZMVT). A través de la técnica de Emisión de Rayos X Inducidos por Protones (PIXE), se detectó la Composición Química Elemental (CQE), identificándose 11 elementos químicos; se consideraron los niveles de riesgo mínimo (LMR) y el índice de calidad de aire (IMECA) para determinar el grado de impacto en la salud; se estableció una asociación entre la CQE y grupos bacterianos. El silicio (Si) fue el elemento químico con mayor concentración en los sitios de San Cristóbal Huichochitlan (SC), San Mateo Atenco (SM) y Ceboruco (CB), registrando las mayores concentraciones en este último. Los hallazgos detectados de K y Cl estar vinculados con la quema de biomasa e incineración de desechos; los valores de LMR en el cloro (Cl), podrían estar relacionados con resultados adversos en la salud de adultos mayores; el IMECA no excedió los estándares diarios (24 horas) de la norma Mexicana NOM-025-SSA1-2014, sin embargo, en SM se observó una calidad de aire *regular y mala*, como resultado de intensas actividades industriales y tránsito vehicular. Se infiere una asociación entre la CQE y la presencia de bacterias, ya que algunos elementos químicos son esenciales en los procariotas y están involucrados con procesos de esporulación, mientras que otros CQE podrían ser bioabsorbidos, por lo que determinados microorganismos bacterianos podrían representar un importante reservorio de compuestos químicos en la ZMVT.

Palabras clave: ZMVT, PIXE, PM_{2.5}, composición química y bacterias.

2.2. Abstract

An exploratory study was performed by analyzing PM_{2.5} particles at three sites in the Toluca Valley Metropolitan Area (ZMVT). Through the technique of Proton Induced X-ray Emission (PIXE), Elemental Chemical Composition (CQE) was detected, identifying 11 chemical elements; the minimum risk levels (MRLs) and the air quality index (IMECA) were considered to determine the degree of health impact; An association was established between the CQE and bacterial groups. Silicon (Si) was the chemical element with the highest concentration at the sites of San Cristóbal Huichochitlan (SC), San Mateo Atenco (SM) and Ceboruco (CB), registering the highest concentrations in the latter. The detected findings of K and Cl be linked to biomass burning and waste incineration; MRL values in chlorine (Cl) could be related to adverse health outcomes in older adults; IMECA did not exceed the daily standards (24 hours) of the Mexican standard NOM-025-SSA1-2014, however, in SM a regular and bad air quality was observed, as a result of intense industrial activities and vehicular traffic. An association between the CQE and the presence of bacteria is inferred, since some chemical elements are essential in prokaryotes and are involved with sporulation processes, while other CQE could be bioabsorbed, so that certain bacterial microorganisms could represent an important reservoir of chemical compounds in the ZMVT.

Keywords: ZMVT, PIXE, PM_{2.5}, elementary particles and bacteria.

2.3. Introducción

La contaminación atmosférica es la presencia de materia química y biológica que alteran la calidad del aire causando efectos negativos en animales, en la vegetación (algunas de importancia económica), en personas y hasta en edificaciones con valor histórico. En el aire, existen partículas con diámetros aerodinámicos de origen antropogénico clasificados en: a) partículas gruesas inhalables, con diámetro de 10 μm , b) partículas finas, con diámetro de 2.5 μm o menos y c) partículas ultrafinas, con tamaño a nano escala (Baysal et al., 2018).

Las partículas finas o $\text{PM}_{2.5}$, suspendidas en la atmósfera están constituidas por diferentes elementos químicos y partículas orgánicas e inorgánicas. La complejidad de las $\text{PM}_{2.5}$, radica en que son un problema cotidiano de ciudades emergentes mayormente contaminadas como China, India, Rusia, Corea del Sur, entre otras (Banco Mundial, 2018), resultado del aumento en la población y la demanda de los recursos naturales.

La suspensión y permanencia de las $\text{PM}_{2.5}$ en la atmósfera, deterioran notablemente la calidad del aire y se ve reflejado en la salud de cada individuo expuesto a estas partículas. De acuerdo con la OMS (2018), nueve de cada diez personas inhalan aire contaminado, esto afecta directamente al sistema cardiovascular, causando accidentes cerebrovasculares, cardiopatías, cáncer de pulmón, neumopatía obstructiva crónica e infecciones respiratorias. Asimismo, el 90 % de las muertes asociadas con la contaminación del aire se producen en países en vías de desarrollo.

En México, se han establecido 84 redes de monitoreo ambiental en distintas zonas metropolitanas con estaciones que evalúan contaminantes como el ozono (O_3), bióxido de azufre (SO_2), bióxido de nitrógeno (NO_2), monóxido de carbono (CO), partículas menores a 10 y 2.5 micrómetros (PM_{10} y $\text{PM}_{2.5}$), partículas suspendidas totales (PST) y plomo (Pb). Para el caso de la Zona Metropolitana del Valle de Toluca (ZMVT), la Red Automática de Monitoreo Atmosférico (RAMA), actualmente monitorea la calidad del aire y evalúa las concentraciones de las

partículas PM₁₀, PM_{2.5}, O₃, NO₂, CO y SO₂.

La RAMA, está integrada por siete estaciones de muestreo: Oxtotitlan, Toluca Centro, Aeropuerto, San Cristóbal Huichochitlan, Metepec, Ceboruco y San Mateo Atenco; opera a través de tres épocas climatológicas del año: seca-fría (noviembre-febrero), seca-cálida (marzo-mayo) y lluvias (junio-octubre). Por la estructura topográfica de la ZMVT (2,668 m sobre el nivel del mar), se producen inversiones térmicas que impiden que la contaminación del aire se disperse (Romieu et al., 2012), aunado a la serie de cambios que en los últimos años ha tenido, la ZMVT se ha transformado de una superficie natural a urbana y por consiguiente el clima, caracterizándola como una ciudad seca. Esto puede explicarse, en gran parte, por contaminantes derivados de 9,284 industrias y 47,576 comercios (Mata et al., 2018).

En este sentido, es relevante el monitoreo de los contaminantes presentes en la atmósfera de la ZMVT y una forma para el estudio de las PM_{2.5}, es mediante la técnica de origen atómico, multielemental, no destructivo, rápida y altamente sensitiva denominada PIXE (emisión de rayos-X inducidos por protones), que opera cuando un haz de protones provenientes de un acelerador interactúa con los electrones (capas o subcapas) de los átomos presentes en las muestras a analizar, ocasionando un hueco al expulsar un electrón. Este hueco es ocupado seguidamente por otro electrón, produciéndose una emisión de energía conocida como rayos-X, dando lugar un espectro característico con el mismo nombre y a partir de este espectro conociendo el área bajo el pico, se conoce su concentración (Díaz y Domínguez, 2008).

Adicionalmente, con la técnica PIXE es posible determinar elementos de configuración electrónica Z=12 hasta Z=82, ya que es rápida y no destructiva, además, por su eficiencia, es aplicada a disciplinas como las Ciencias Ambientales, Geología, Mineralogía, Petroquímica, Antropología y Medicina (Cortez-Lugo et al., 2018).

En este trabajo, se analizó la composición química en partículas suspendidas con diámetro aerodinámico menores o igual a 2.5 micrómetros ($PM_{2.5}$) en tres sitios de la Zona Metropolitana del Valle de Toluca: San Cristóbal Huichochitlan (SC), San Mateo Atenco (SM) y Ceboruco (CB) a través de la técnica de PIXE, asociándose con la presencia de grupos bacterianos identificados mediante secuenciación masiva (Capítulo 3).

2.4. Revisión bibliográfica

La contaminación atmosférica, es originada por la quema de combustible fósil y otras fuentes de energía, generando gases como el dióxido de carbono (CO_2), NO_x (N_2O , NO , N_2O_3 , N_2O_4 , NO_2 , N_2O_5), monóxido de carbono (CO), dióxido de azufre (SO_2), ozono (O_3), metano (CH_4) y compuestos clorados (CFC's, HCFC's). La concentración de estos contaminantes dependerá principalmente de su composición física, química, variables meteorológicas y topográficas existentes (Masters y Wendell, 2008; Sánchez, 2015). Por su fuente de origen, autores como Manahan (2007) los clasifican en partículas primarias y secundarias (figura 2.1).

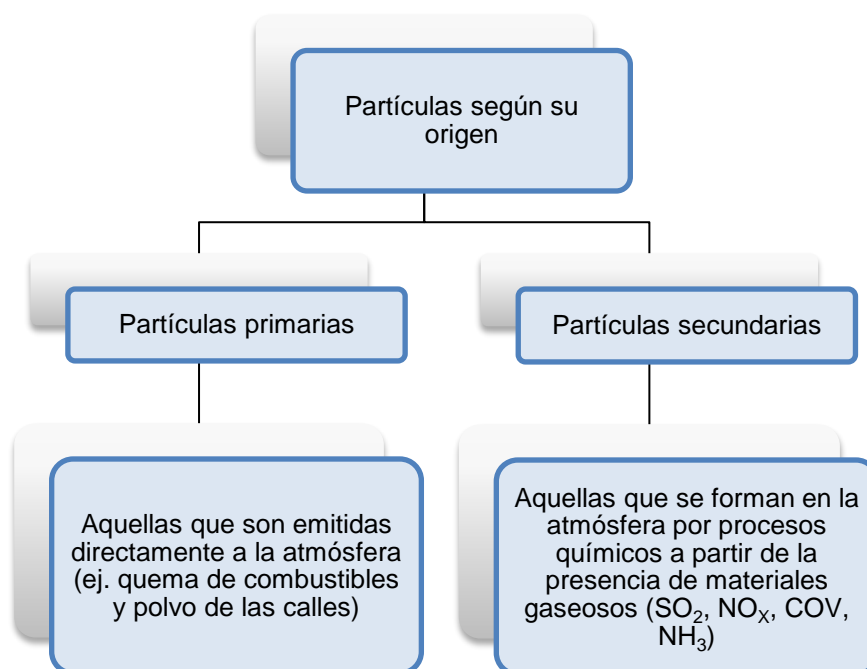


Figura 2. 1. Clasificación de las partículas según su fuente de origen.

Las partículas también se clasifican de acuerdo a su tamaño (diámetro aerodinámico) como gruesas ($PM_{2.5}$ - PM_{10}), finas ($\leq PM_{2.5}$) y ultrafinas ($PM_{0.1}$). Actualmente, las investigaciones se concentran en el estudio de las partículas finas y ultrafinas, ya que mientras más pequeño es el diámetro aerodinámico mayor será la viabilidad de penetrar y alojarse en las zonas más profundas del sistema respiratorio e incluso atravesar barreras pulmonares ingresando al torrente sanguíneo, contribuyendo al riesgo de originar enfermedades cardiovasculares y respiratorias (OMS, 2018b).

Las partículas suspendidas son un indicador de contaminación en el aire; dependiendo de la fuente de origen y de la formación podrían estar constituidos por una amplia gama de elementos, entre los que se han identificado componentes minoritarios de elementos traza; aniones como el sulfato (SO_4^{2-}), ozono (O_3^-), cloruro (Cl^-), oxalato ($C_2O_4^{2-}$); algunos cationes (NH_4^+ , Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+}), $PM_{2.5}$ (Nayebare et al., 2016), polvos minerales, agua, incluso polen, hongos, bacterias, virus, entre otros (figura 2.2).

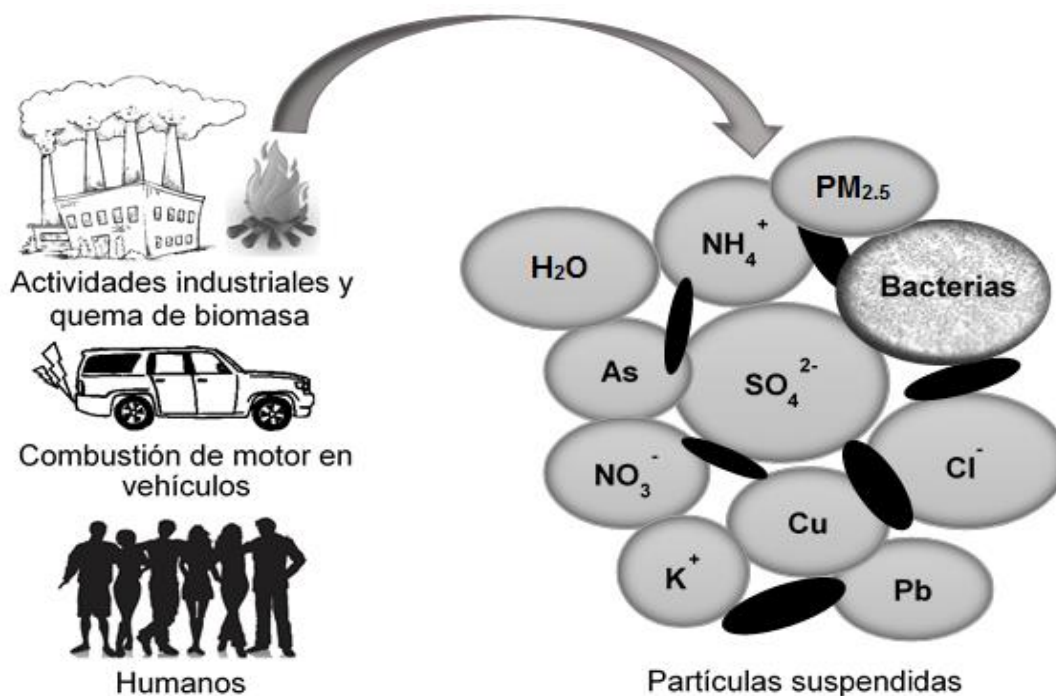


Figura 2.2. Origen y composición de las partículas suspendidas en el aire (Modificado de Zhong et al., 2019).

Las PM_{2.5} por su diámetro, tiene la facilidad de transportar diversos materiales tóxicos, ingresar a través del vello nasal y llegar al tracto respiratorio e ir acumulándose por difusión generando daños en otras áreas del cuerpo como algunos autores señalan (Xing et al., 2016). Es por ello, que comprender la interacción entre las partículas biológicas y químicas diseminadas en la atmósfera adquiere gran relevancia. Autores como Baysal et al. (2018), han demostrado el efecto de las PM_{2.5}, nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) y dióxido de titanio (TiO₂) en bacterias Gram negativas (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) y Gram positivas (*Bacillus subtilis* y *Staphylococcus aureus*), evidenciando cómo las Gram negativas no muestran inhibición ante la exposición de las PM_{2.5} con ZnO, mientras que la habilidad para crecer y formar colonias de ambos grupos bacterianos se ve afectado ante la exposición de partículas PM_{2.5} y TiO₂, originado por daños en el DNA.

También, existen factores como la zona de estudio que influye en la cantidad de partículas y bacterias presentes en el aire. Gandolfi et al. (2015), integraron datos derivados de investigaciones realizadas en áreas urbanas como Milán y Venecia, considerando que es mínima la contribución de las partículas químicas con la formación de comunidades bacterianas, al observar que organismos del orden Burkholderiales y Actinomycetales están correlacionados significativamente con los iones de magnesio (Mg²⁺), bario (Ba) y dióxido de azufre (SO₂), dado que SO₂ es un compuesto esencial para el crecimiento bacteriano, mientras que el Ba es aceptado por una amplia diversidad de grupos bacterianos. Xie et al. (2018), señalaron que las bacterias suspendidas en los sitios urbanos e industriales están influenciados por fuentes estacionalmente independientes (ej. polvo del pavimento y actividades humanas cotidianas), mientras que las bacterias relacionadas con la vegetación predominan en las áreas rurales, además de que las estructuras bacterianas están reguladas por condiciones meteorológicas.

Otro grupo de investigadores en Xi'an (China) informaron una asociación entre las abundancias relativas de las bacterias y el tamaño de las partículas, debido a la proporción de estas, ya que las más gruesas tienen mayor superficie para la

adhesión de los microorganismos, mientras que las que tienen extensiones lisas disminuyen la eficacia de la adhesión (Lu et al., 2018). Contenidos semejantes registraron Wolf et al. (2017), al observar cómo las concentraciones de componentes similares a las bacterias (partículas artificiales) fue mayor en $PM_{2.5}$ (1.41%) que en las $PM_{1.0}$ (0.52 %), evidenciando una alta eficiencia que tienen las células bacterianas con diámetros aerodinámicos de 1 μm .

Por otro lado, análisis realizados por Franzetti et al. (2011), señalaron que existen variaciones estacionales en las comunidades bacterianas presentes en las partículas $PM_{2.5}$ y PM_{10} durante el verano e invierno; mostraron cómo las poblaciones microbianas se comparten entre sí, pero difieren en abundancia y tipo de taxones dominantes influenciados por diferentes fuentes, en verano la cantidad de Rhizobiales y Sphingomonadales se relacionó con la presencia de restos de plantas y pólenes en las partículas, mientras que las bacterias formadoras de esporas en invierno (Actinomycetales y Firmicutes) están relacionadas con la dinámica de la población debido a la presión selectiva, es decir, solo las bacterias más resistentes predominan durante la temporada más severa.

Bajo este supuesto, los hallazgos de Wackett et al. (2004), aluden en cómo los genes que facilitan la supervivencia de la célula bacteriana adquieren carbono, nitrógeno, azufre, fósforo, cationes principales, cloruro, zinc y metales de transición funcionando de manera sistematizada para la supervivencia del microorganismo, siendo los cationes principales Na^+ , K^+ , Mg^{2+} y Ca^{2+} los que se encuentran en las células microbianas. Los hallazgos en los análisis de $PM_{2.5}$, muestran que estas partículas carecen de nutrientes, lo cual resulta desfavorable para el crecimiento y reproducción en los microorganismos, sin embargo las $PM_{2.5}$ al ser oligotróficas y con un alto contenido mineral contribuyen en la formación de esporas, lo que mantiene el estado latente de las bacterias por mayores periodos de tiempo y una alta resistencia que aumenta las oportunidades de supervivencia microbiana en circunstancias de sequías, altas radiaciones solares y a los fármacos (Hu et al., 2017).

En lo concerniente a las normas oficiales mexicanas, en México se han establecido límites en máximos permisibles de contaminantes en el aire, a fin de garantizar la protección de la salud de la población, la tabla 2.1 resume los indicadores para el cumplimiento de las normas oficiales con respecto a cada contaminante criterio.

Tabla 2.1. Valores de concentración máxima para contaminantes atmosféricos en México de las Normas oficiales mexicanas.

Norma Oficial Mexicana	Contaminante	Valor permisible de exposición	Tiempo de exposición	Exposición
NOM-021-SSA1-1993	Plomo (Pb)	1.5 µg/m ³	Promedio aritmético de tres meses	Crónica
NOM-023-SSA1-1993	Dióxido de nitrógeno (NO ₂)	0.210 ppm Segundo máximo	Dato horario	Aguda
NOM-021-SSA1-1993	Monóxido de carbono (CO)	11 ppm Segundo máximo	Promedio móvil de 8 horas	Aguda
NOM-022-SSA1-2010	Dióxido de azufre (SO ₂)	0.200 ppm Segundo máximo	Promedio de 8 horas	Aguda
		0.110 ppm máximo	Promedio de 24 horas	Aguda
		0.025 ppm Promedio anual	Dato horario	Crónica
NOM-020-SSA1-2014	Ozono (O ₃)	0.095 ppm máximo	Dato horario	Aguda
		0.070 ppm máximo	Promedio móvil de 8 horas	
NOM-025-SSA1-2014	Partículas PM ₁₀	75 µg/m ³ máximo	Promedio 24 horas	Aguda

	40 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ Promedio anual		Crónica
Partículas $\text{PM}_{2.5}$	45 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ máximo	Promedio 24 horas	Aguda
	12 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ Promedio anual		Crónica

Fuente: gob.mx/cofepris.

2.5. Objetivo

- Analizar la composición química en partículas suspendidas con diámetro aerodinámico menores o igual a 2.5 micrómetros ($\text{PM}_{2.5}$) en tres sitios del Valle de Toluca y conocer a las bacterias que están asociadas a estas.

2.6. Métodos

2.6.1. Colecta de muestras

Para este estudio, se realizó la colecta de muestras ambientales en un día de tres épocas (lluvias, seca-fría y seca-cálida) en los sitios de San Cristóbal Huichochitlan (SC), San Mateo Atenco (SM) y Ceboruco (CB), todas pertenecientes a la Red Automática de Monitoreo Atmosférico de la ZMVT considerando las recomendaciones establecidas en el laboratorio del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares, dirigido por el Dr. Raúl Venancio Díaz Godoy. Las muestras fueron colectadas con un muestreador TCR TECORA para partículas $\text{PM}_{2.5}$ (figura 2.3), con un flujo de 16.7 L/min y filtros de fibra de vidrio de 47 mm (PALL Corporation), esterilizados con rayos gama.

Las colectas se realizaron a una altura promedio de 3.0 m aproximadamente, durante 24 horas. La Composición Química Elemental (CQE) identificada fueron caracterizadas mediante la técnica de Análisis por emisión de rayos X inducidos por protones (PIXE).



Figura 2.3. Muestreador TCR TECORA para la captura de partículas $PM_{2.5}$.

2.6.2. Análisis de las muestras: emisión de rayos X inducidos por protones (PIXE)

Para la cuantificación de las CQE y $PM_{2.5}$ mediante la técnica de PIXE, se cortaron los filtros con tijeras metálicas previamente esterilizadas; posteriormente, la fracción de cada filtro fue colocado sobre una regleta metálica para introducirlos así en la cámara de bombardeo que trabaja con vacío de 5×10^{-5} Torr, generado por dos bombas, una mecánica y otra de fusión. La cámara está conectada al acelerador de partículas Tandem Van de Graaff de 12 MV, este acelerador emite un haz de protones de 2.5 MeV y una intensidad de 10 nA, cuyas especificaciones metodológicas fueron descritas por Aldape et al. (1996) (figura 2.4).

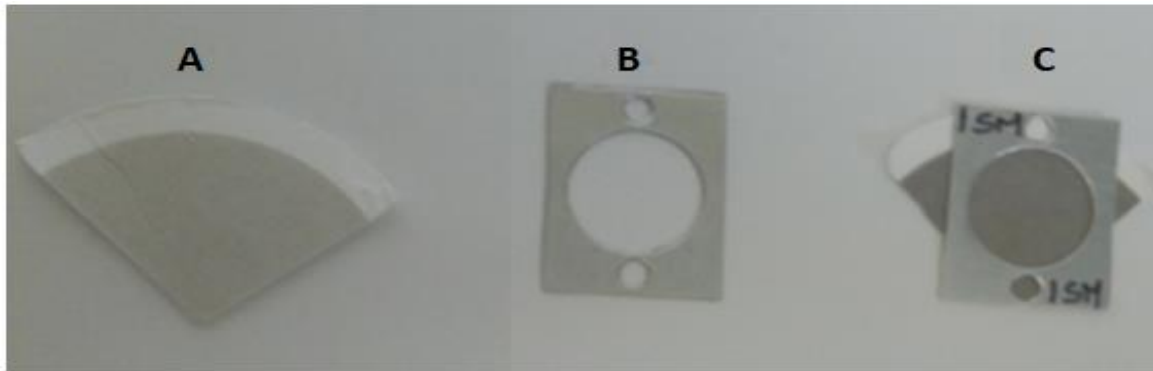


Figura 2.4. Componentes del filtro de fibra de vidrio con las partículas retenidas. (A) filtro, (B) marco de aluminio y (C) ensamblaje del filtro con el marco de aluminio.

Previo al análisis PIXE, se normalizó la precisión de los estándares elementales finos producidos con un margen de error no mayor al 0.7% para cada elemento que se identificó; se utilizó el software GUPIXWIN para la determinación y cuantificación de los elementos químicos presentes en las muestras (figura 2.5).

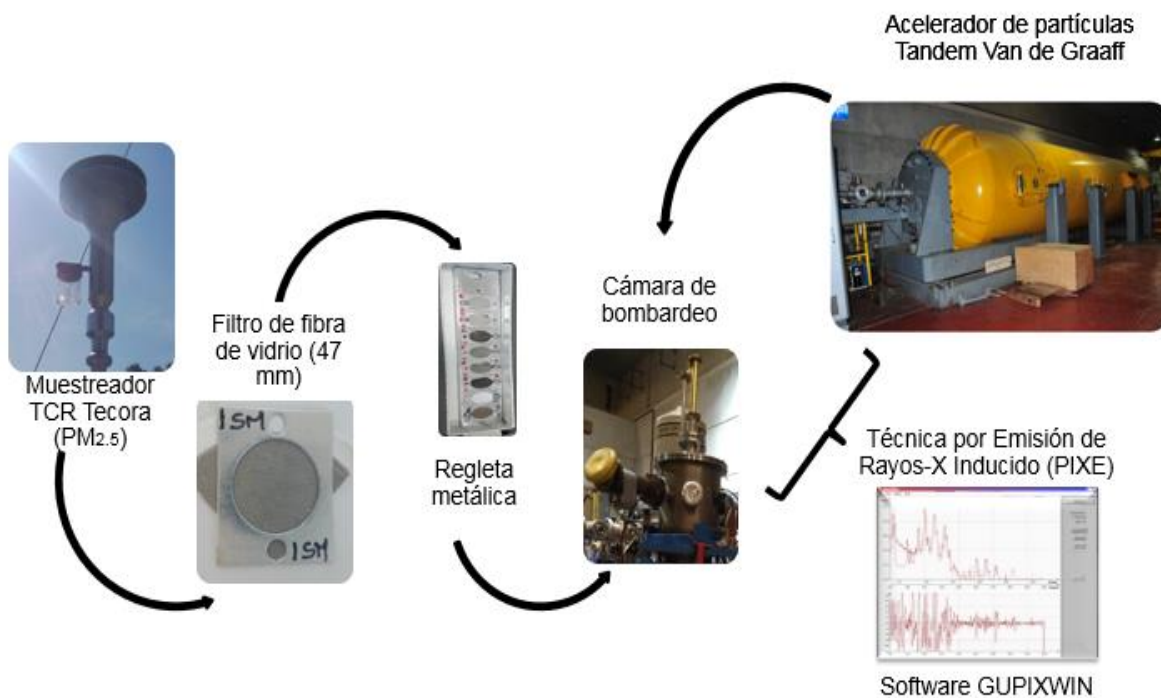


Figura 2.5. Metodología para la detección de CQE utilizando la técnica de PIXE (Díaz-Godoy comunicación personal).

Paralelamente, se determinaron las concentraciones (μ/m^3) para las partículas $PM_{2.5}$ y se estimaron los índices de calidad de aire (IMECA) a partir de dichas concentraciones según el algoritmo disponible en la página oficial de la Red Automática de Monitoreo Atmosférico de la ZMVT (rama.edomex.gob.mx/imeca). Los valores de referencia IMECA se muestran en la tabla 2.2.

Tabla 2.2. Valores de referencia IMECA considerados por la Red Automática de Monitoreo Atmosférico de la ZMVT.

Intervalos	0-50	51-100	101-150	151-200	201-300
Calidad del aire	Buena	Regular	Mala	Muy mala	Extremadamente mala

2.6.3. Análisis de los datos

Para el análisis de la asociación entre las CQE y las bacterias ambientales, se consideraron registros con concentraciones mayores a $0.10 \text{ mg}/m^3$ para cada CQE registrado en los sitios de muestreo, los cuales fueron asociados con la presencia de grupos bacterianos detectados a partir de 100 conteos realizados por secuenciación masiva (figura 3.10 en Capítulo 3).

2.7. Resultados

2.7.1. Composición de las partículas inhalables $PM_{2.5}$

La técnica de PIXE permitió detectar 11 elementos químicos en las partículas $PM_{2.5}$, las cuales fueron: silicio (Si), azufre (S), cloro (Cl), argón (Ar), potasio (K), calcio (Ca), vanadio (V), cromo (Cr), manganeso (Mn), hierro (Fe) y zinc (Zn). Es importante mencionar que, el sitio de SC en la época de lluvias, se registraron datos imprecisos debido a errores técnicos (ejemplo, fallas con la energía eléctrica) en el equipo de medición TCR TECORA, por lo que estos datos no fueron analizados.

En el sitio CB en las tres épocas de muestreo (lluvias, seca-fría y seca-cálida), se detectaron las mayores concentraciones de Si, Ca, K y Fe, en comparación con los sitios SM y SC; con respecto al Cl, se observó una alta variabilidad de sus concentraciones en los tres sitios, independientemente de la época estacional, estos valores se encontraron en un rango general entre 0 y 0.44 mg/m³. Las concentraciones de S, V y Zn fueron variables no estableciéndose una tendencia o comportamiento (tabla 2.3).

Tabla 2.3. Concentraciones de la CQE (mg/m³) detectadas en las PM_{2.5}.

Composición química elemental (mg/m ³)	Lluvias			Seca-fría			Seca-cálida		
	SC	SM	CB	SC	SM	CB	SC	SM	CB
Si	¹	5.80	44.61	4.74	1.05	43.63	14.84	6.70	64.15
S		0.30	*	0.34	*	*	0.42	0.43	*
Cl		0.17	*	0.44	0.26	0.34	0.29	0.27	*
Ar		*	*	*	*	*	0.25	0.16	*
K	¹	0.63	3.49	0.67	0.62	1.99	0.30	0.66	2.74
Ca	¹	6.63	28.74	6.33	5.22	20.34	1.69	5.94	29.53
V		0.07	*	*	*	*	0.08	*	*
Cr		0.01	*	*	*	*	*	*	*
Mn		0.10	*	*	*	*	*	*	*
Fe	¹	0.53	0.84	0.25	0.28	1.31	0.11	0.27	0.94
Zn		0.03	*	0.01	0.08	0.04	0.05	*	0.37

¹ Datos no integrados. * Datos no detectados.

Para determinar el grado de contingencia que representan las concentraciones de partículas químicas elementales detectadas en este estudio, se consideraron los niveles de riesgo mínimo (LMR), de acuerdo con los valores establecidos por la ATSDR (2018), para la composición química elemental de Cl, V, Cr, Mn y Zn (tabla 2.4).

Tabla 2.4. Valores de LMR y afecciones por inhalación.

Composición química elemental	Niveles de riesgo mínimo (LMR) ²	Duración	Sistemas afectados
Cl	0.06 ppm (0.17 mg/m ³)	Agudo	Cáncer dérmico, ocular, respiratorio y sistema nervioso
	0.002 ppm	Intermedio	
	0.00005 ppm	Crónico	
V	0.0008 mg/m ³	Agudo	Sistema nervioso, respiratorio, cardiovascular, gastrointestinal, renal, reproductivo
	0.0001 mg/m ³	Crónico	
	0.01 mg/kg/día	Intermedio**	
Cr	0.0003 mg/m ³	Intermedio	Daño al sistema inmunológico, urinario, nervioso y respiratorio
Mn	0.3 µg/m ³	Crónico	Sistema nervioso y respiratorio
Zn	0.3 mg/kg/día	Intermedio y crónico**	Sistema nervioso, respiratorio, cáncer gastrointestinal, hematológico

² ATSDR (2018). Agudo= 1 a 14 días, Intermedio= 15 a 364 días y Crónico= 1 año o más. ** Vía de ingestión oral.

2.7.2. Concentraciones de las partículas PM_{2.5}

Las concentraciones de las partículas PM_{2.5} alcanzaron concentraciones mayores a 34 µg/m³ (rango 34-93 µg/m³) en todos los sitios de muestreo, siendo en SM donde se detectó la mayor variabilidad, con una mayor concentración (80 µg/m³) en la temporada de seca fría con respecto a la de lluvia y seca-cálida (p>0.05). Los sitios SC y CB mostraron niveles similares de PM_{2.5} en las tres épocas del año (p>0.05), como se observa en la tabla 2.5.

Tabla 2.5. Concentraciones de las partículas PM_{2.5} (µg/m³) e índices de calidad del aire (IMECA) registrados en los sitios de muestreo por época de estudio.

Valores de concentración (µg/m ³)	Lluvia			Seca-fría			Seca-cálida		
	SC	SM	CB	SC	SM	CB	SC	SM	CB
PM _{2.5}	34	35	93	49	53	34	52	80	38
IMECA**	84	85	40	105	108	84	107	134	90

** Los valores de referencia IMECA se muestran en la sección de Métodos, Tabla 2.2.

Con base a los índices IMECA en las partículas PM_{2.5}, la mayoría de los sitios estudiados mostraron una REGULAR y MALA calidad en el aire, siendo SM el sitio que mostró los más altos índices de contaminación por PM_{2.5} (tabla 2.5 y figura 2.6).

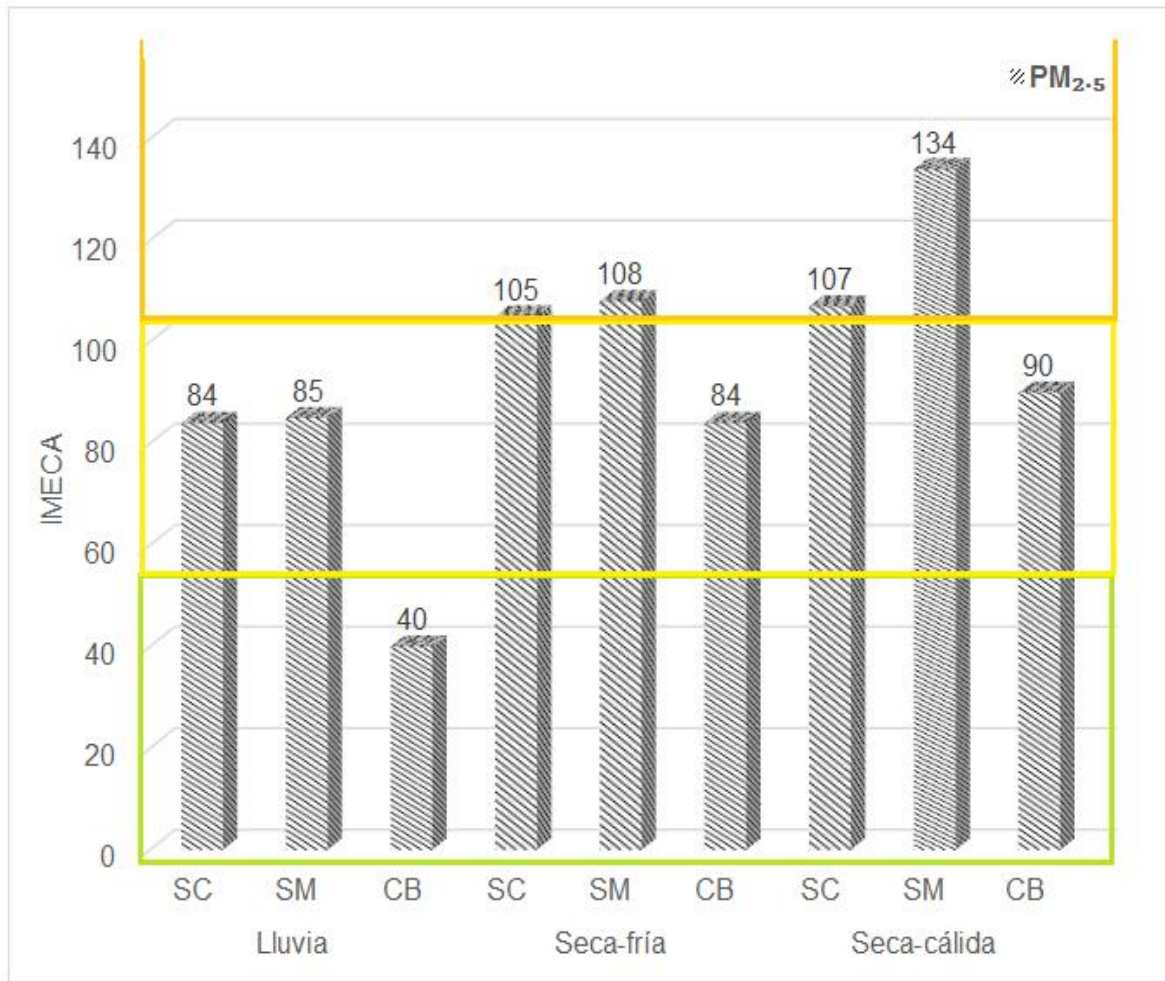


Figura 2.6. Comportamiento de las PM_{2.5} con base al IMECA por época de muestreo. Rectángulo verde: calidad del aire buena, Rectángulo amarillo: calidad del aire regular. Rectángulo naranja: calidad del aire mala.

2.7.3. CQE y grupos bacterianos

En este análisis solo fue posible establecer una asociación entre la CQE y la presencia de los grupos bacterianos identificados por secuenciación masiva con datos disponibles de dos épocas del año (lluvias y seca-cálida) en los tres sitios de estudio. Las bacterias con mayor presencia fueron las pertenecientes a la familia Bacillaceae; los géneros *Exiguobacterium* y tres especies de *Bacillus* (*B. cereus* y *B. flexus*), así como la CQE: Si, Ca, Fe y K, independientemente de la época de muestreo. Específicamente en SM se observaron los mismos ejemplares bacterianos (*Paenibacillus* sp., *Paenibacillus lautus* y *Pseudomonas*);

concentraciones de Cl y S en ambas épocas.

Mientras que para el caso de CB, las bacterias registradas en ambas épocas fueron los de la familia Enterobacteriaceae, Exiguobacteraceae, Oxalobacteraceae y Rhodobacteraceae; en la seca-cálida se observaron tres especies adicionales (*Bacillus firmus*, *Bacillus selenatarsenatis* y *Paenibacillus lautus*) (tabla 2.6).

Tabla 2.6. CQE y grupos bacterianos identificados en tres sitios de la ZMVT.

Lluvias				Seca-cálida					
SM		CB		SC		SM		CB	
CQE	Gpo. bacteriano	CQE	Gpo. bacteriano	CQE	Gpo. bacteriano	CQE	Gpo. bacteriano	CQE	Gpo. bacteriano
Si	<i>Acinetobacter</i> sp.	Si	<i>Acinetobacter lwoffii</i>	Si	Bacillaceae	Si	Bacillaceae	Si	<i>Acinetobacter lwoffii</i>
S	<i>Acinetobacter lwoffii</i>	K	Bacillaceae	S	Bacillales	S	Bacillales	K	Bacillaceae
Cl	Bacillaceae	Ca	<i>Bacillus</i> sp.	Cl	<i>Bacillus</i> sp.	Cl	<i>Bacillus</i> sp.	Ca	Bacillales
K	<i>Bacillus</i> sp.	Fe	<i>Bacillus cereus</i>	Ar	<i>Bacillus cereus</i>	Ar	<i>Bacillus cereus</i>	Fe	<i>Bacillus</i> sp.
Ca	<i>Bacillus cereus</i>		<i>Bacillus flexus</i>	K	<i>Bacillus firmus</i>	K	<i>Bacillus flexus</i>	Zn	<i>Bacillus cereus</i>
Mn	<i>Bacillus flexus</i>		<i>Citrobacter</i> sp.	Ca	<i>Bacillus flexus</i>	Ca	Balneimonas		<i>Bacillus firmus</i>
Fe	Exiguobacterium		<i>Deinococcus</i> sp.	Fe	<i>Bacillus selenatarsenatis</i>	Fe	Enterobacteriaceae		<i>Bacillus flexus</i>
Zn	<i>Paenibacillus</i> sp.		Enterobacteriaceae	Zn	<i>Balneimonas</i> sp.		<i>Erwinia</i> sp.		<i>Bacillus selenatarsenatis</i>
	<i>Paenibacillus lautus</i>		Exiguobacteraceae		<i>Exiguobacterium</i>		<i>Erwinia dispersa</i>		Enterobacteriaceae
	<i>Pseudomonas</i> sp.		<i>Exiguobacterium</i>		Exiguobacteraceae		Exiguobacteraceae		<i>Erwinia</i> sp.
			<i>Lactococcus</i> sp.		Oxalobacteraceae		<i>Exiguobacterium</i>		Exiguobacteraceae
			<i>Microbacterium</i>		<i>Paenibacillus</i> sp.		Oxalobacteraceae		<i>Exiguobacterium</i>
			Oxalobacteraceae		<i>Paenibacillus lautus</i>		<i>Paenibacillus</i> sp.		Oxalobacteraceae
			Planomicrobium		Planococcaceae		<i>Paenibacillus lautus</i>		<i>Paenibacillus lautus</i>
			<i>Pseudomonas</i> sp.		<i>Planomicrobium</i>		Planococcaceae		Planococcaceae
			Rhizobiales		Rhizobiales		<i>Planomicrobium</i> sp.		Planomicrobium
			Rhodobacteraceae		<i>Solibacillus</i> sp.		<i>Pseudomonas</i> sp.		<i>Pseudomonas</i> sp.
			<i>Solibacillus</i> sp.		Sphingomonadaceae		Rhizobiales		Rhodobacteraceae
					<i>Sreptomyces</i> sp.		Sphingomonadaceae		
							<i>Sreptomyces</i> sp.		

2.8. Discusión

Respecto a la composición química de las PM_{2.5}, el silicio (Si) fue el elemento con mayores concentraciones en los tres sitios de estudio, sobre todo en CB. Bzdek et al. (2014) en un estudio realizado en California, Estados Unidos, reportaron que el Si es un componente abundante en las partículas atmosféricas tanto a escala local como regional, sobre todo en lugares afectados por actividades antropogénicas, debido a emisiones a la atmósfera de productos químicos para el cuidado personal, polímeros, recubrimientos de materiales comerciales, productos de construcción y equipos científicos. En este estudio, los sitios de muestreo se encuentran geográficamente entre los municipios de Toluca, San Mateo Atenco y muy cerca de Metepec, los cuales alcanzaban en el año 2015 alrededor de 1,176,874 habitantes (INEGI, 2015), por lo que, probablemente, estas altas concentraciones de Si estén relacionadas con la intensa actividad antropogénica.

El Si es el segundo elemento más abundante en la corteza terrestre (Bueche, 1988); en el sitio de CB, las altas concentraciones registradas podrían estar relacionadas con las cenizas que se dispersan en el aire producto de la quema industrial o el polvo mineral derivado del suelo, como lo señalan Tegen y Kohfeld (2006) en estudios realizados en California (E.U.). Por otro lado, la exposición al Si cristalino como el polvo derivado de cuarzo, tridimita y cristobalita, aumentan el riesgo de contraer silicosis e infecciones causadas por *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium kansasii* y *Mycobacterium intracellulare* (Greenberg et al., 2007). La silicosis, es una enfermedad pulmonar fibrótica ocasionada por la inhalación de dióxido de silicio cristalino, que en ocasiones se desarrolla después de varias décadas de exposición a este elemento químico en concentraciones altas (Leung et al., 2012). Actualmente, el límite permisible para la exposición al sílice cristalino respirable, recomendado por el Instituto Nacional de Salud y Seguridad Ocupacional es un promedio ponderado en el tiempo de 8 horas de 0.05 mg/m³ (Rosenman et al., 1996). Si bien, los argumentos expuestos podrían considerarse válidos, se requieren mediciones periódicas locales en las concentraciones de Si industrial, así como del polvo mineral presente en el aire para definir sus fuentes principales de

emisión en la ZMVT y de esta forma determinar si se trata de un comportamiento causal o no.

Los hallazgos encontrados para el Ca y el Fe en los tres sitios, coinciden con lo reportado por Díaz y Aldape (2002) en la zona de Ticomán en la Ciudad de México, a través del análisis PIXE. En este caso, ambos compuestos conjuntamente con el K se relacionaron significativamente con la presencia de partículas de polvo procedentes del suelo. Algunos reportes de Romero-Guzmán et al. (2018) de mediciones realizadas en seis estaciones de la ZMVT, concluyeron que el Fe es un contaminante abundante en dichas zonas. Por el contrario, de acuerdo a un estudio realizado en una escuela primaria de Cuajimalpa en la Ciudad de México, se registraron concentraciones menores de Ca, K y Fe (Díaz y Domínguez, 2009). Algunos autores refieren en la estación San Cristóbal Huichochitlan, cómo las concentraciones de K están asociadas con las prácticas de agricultura, ya que las partículas de este elemento químico derivan de la quema cortical en sembradíos de maíz (Martínez, 2017).

Otra línea de evidencias apunta que las partículas de sal marina son fuentes naturales de Cl en la atmósfera (Keene et al., 1999), sin embargo, algunos orígenes derivan de actividades antropogénicas como la quema de biomasa, la combustión de carbón, la incineración de desechos, entre otros, que aunque en concentraciones menores, también contribuyen con la presencia de este elemento químico (Wang et al., 2019); en el presente estudio, se observaron concentraciones mayores de Cl, independientemente de la época estacional, contenidos similares registraron Faxon et al. (2015) en el sureste de Texas (E.U.) donde los registros en Cl inhalable, alcanzaron concentraciones de 2-60 ppm, sugiriendo que el Cl afecta la reactividad atmosférica que en consecuencia repercute en la formación de ozono y aerosoles orgánicos secundarios.

El Cl en el aire, en concentraciones menores de 10 ppm, fácilmente puede ingresar al organismo a través de la nariz y boca, en este sentido la EPA estableció como límite 0.5 ppm de Cl, ya que la exposición a niveles más altos produce cáncer en la piel, ocular, así como afectaciones en el sistema respiratorio y nervioso

(ATSDR, 2010). En México, las normas establecidas en salud ambiental en valores límite permisibles de contaminantes atmosféricos no existen estándares que regulen las concentraciones respirables de las partículas elementales, por lo que es importante el monitoreo de estos contaminantes.

Díaz y Domínguez (2009) después de trabajos realizados en la Zona Metropolitana de la ciudad de México, concluyeron que concentraciones de 0.22 mg/día de CI inhalable, aumentan los riesgos en la salud reflejados en daños a los sistemas ocular, respiratorio, nervioso, cardiovascular, gastrointestinal, renal y reproductivo, sobre todo en adultos mayores de 70 años. En el presente estudio se detectaron concentraciones entre 0.17 y 0.44 mg/m³, por lo que se debe prestar mayor interés y prevenir la exposición a estos contaminantes. La sinergia entre varios elementos y contaminantes atmosféricos incrementa el deterioro en la salud; la toxicidad por inhalación depende no solo del componente químico, sino también de la dosis, el tamaño y el lugar donde se depositen (Baysal et al., 2018).

Las concentraciones de las PM_{2.5}, en la mayoría de los sitios monitoreados mostraron una regular y mala calidad en el aire, característico de ciudades contaminadas como Zhuhai, China (Liang et al., 2018), Nueva Delhi, India (Pant et al., 2015), Yessentuki, Rusia (Azarov et al., 2017) superando notablemente los estándares nacionales de calidad del aire ambiental durante los periodos de estudio. En este contexto, las fuentes comunes generadoras de partículas finas y ultrafinas provienen de automóviles (40%), fábricas industriales (33%) y la combustión por diésel (26%) como Posner et al. (2015) han señalado.

No es sorprendente ver, que en SM se hayan registrado los niveles más altos de PM_{2.5}, ya que existe una intensa actividad industrial y tránsito vehicular, aunque esto no justifica, en realidad, lo registrado durante el muestreo, por lo que se deben hacer más investigaciones a escala local para tener un panorama completo sobre el comportamiento de las PM_{2.5} y las posibles fuentes.

Lo obtenido en este estudio ayudaría a entender la posible relación con efectos adversos para la salud en la población, por ejemplo, enfermedades

cardiovasculares, cáncer de pulmón (OMS, 2018) y sintomatologías poco mencionadas como el estrés oxidativo intracelular (Feng et al., 2016), necrosis tumoral y cambios en la microbiota del tracto respiratorio (Yang et al., 2019; Quin et al., 2019) por tan solo mencionar algunos.

Por otro lado, es posible que las muestras ambientales de los sitios de recolección tengan diferentes contaminantes que den cuenta de los diferentes resultados, en este sentido, existe una amplia vinculación entre el S y bacterias como *Escherichia coli*, ya que este elemento en conjunto con el C, O, N y P comprenden aproximadamente el 97 % de la estructura celular y son elementos esenciales en todos los procariontes (Wackett et al., 2004).

Los resultados en este estudio, registraron la presencia de elementos como el Ca, considerado un catión menor, pero que está involucrado en la producción de nucleasas que generan el proceso de esporulación (Burke et al., 1982), asimismo, el Ca es un componente importante en las endosporas (dipicolinato de Ca) el cual está vinculado con la resistencia de la spora al calor extremo (Gottschalk, 1979). Las esporas, se encuentran generalmente en los géneros como *Bacillus*, identificados en los sitios de estudio de la ZMVT.

En relación al Fe, Kotrba et al. (2011) informaron que este elemento es consumido por bacterias como *Streptomyces rimosus* y *Deinococcus radiodurans*, adicionalmente, esta especie tiene la capacidad de bioacumular elementos como el Mn, dependiendo de las concentraciones relativas del entorno extracelular. También, organismos como *Pseudomonas putida* y *Streptomyces rimosus* bioabsorben elementos como el Z, este elemento y metales de transición comprenden del 1 al 2 % de la masa microbiana esenciales para las células bacterianas (Wackett et al., 2004), por lo que no es inesperado que los grupos bacterianos identificados en la ZMVT hayan desarrollado respuestas a la presencia de estos CQE.

Algunos estudios señalan que células bacterianas con forma de bastón, menores a 1 μm de largo poseen flagelos e inclusiones ricas en P y K (Pósfai et al.,

2003), en este contexto, los grupos bacterianos suspendidos en el aire, podrían representar un importante reservorio de compuestos químicos en el aire de la ZMVT. De igual manera, en una revisión, Wackett et al. (2004) refieren que hay procesos de sustitución del hierro por manganeso en algunos patógenos bacterianos, debido a la ausencia de proteínas en las membranas que contienen hierro y genes que codifican proteínas como el superóxido dismutasa, que comprenden manganeso en lugar de hierro.

Los grupos bacterianos detectados en el aire de la ZMVT fueron ligeramente mayores en la época seca-cálida, debido a las temperaturas más altas, que favorecen el crecimiento de los microorganismos, como las bacterias. Los hallazgos de esta investigación podrían ser el antecedente para entender la asociación entre grupos bacterianos aero transportados y las CQE que integran las PM_{2.5}.

2.9. Conclusiones

- En las PM_{2.5}, se identificaron 11 CQE y el Si registró las concentraciones más altas en CB, esto podría relacionarse con actividades antropogénicas y polvo derivado del suelo.
- Las concentraciones de Cl, podrían vincularse con la quema de biomasa e incineración de desechos.
- En México no existen estándares que regulen las concentraciones respirables de Cl y de los CQE registrados en este trabajo.
- Las partículas PM_{2.5} detectadas en la mayoría de los sitios monitoreados, mostraron una regular y mala calidad en el aire, sobre todo el sitio de SM, como resultado de la intensa actividad industrial y tránsito vehicular.
- Se infiere una asociación entre los CQE y la presencia de bacterias, ya que algunos elementos químicos detectados en este estudio son esenciales para los procariota y están involucrados en el proceso de esporulación. Asimismo, determinadas especies bacterianas son capaces de bioabsorber estos CQE por lo que podrían representar un importante reservorio de elementos químicos en la ZMVT.

2.10. Literatura citada

- Aldape F, Flores MJ, Díaz RV, Crumpton D. 1996. Upgrading of the PIXE system at ININ (Mexico) and report on elemental composition of atmospheric aerosols from 1990 in the ZMCM. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms, 109:459-464.
- ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 2010. Public health service agency for toxic substances and disease registry. Consultado el 1 de abril de 2019. Disponible en https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs172.html
- ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 2018. Minimal risk levels (MRLs) list. Consultado el 12 de abril de 2019. Disponible en <https://www.atsdr.cdc.gov/mrls/index.asp>.
- Azarov V, Sergina N, Sidyakin P, Kovtunov I. 2017. Seasonal variations in the content of dust particles PM₁₀ and PM_{2.5} in the air of resort cities depending on intensity transport traffic and other conditions. Earth and Environmental Science, 90(1):1-9.
- Banco Mundial. 2018. Emisiones de CO₂ (toneladas métricas per cápita). Consultado el 12 de abril de 2019. Disponible en <https://datos.bancomundial.org/indicador/en.atm.co2e.pc?end=2014&start=2014&view=map>.
- Baysal A, Saygin H, Ustabasi GS. 2018. Interaction of PM_{2.5} airborne particulates with ZnO and TiO₂ nanoparticles and their effect on bacteria. Environmental Monitoring and Assessment, 190(1):1-34.
- Bueche FJ. 1988. La Tierra en Ciencias físicas. Editorial Reverte. Universidad de Dayton. New York, 361 p.
- Burke WF and Slinker BS. 1982. Extracellular exonuclease as a stage 0 biochemical marker in *Bacillus subtilis* sporulation. Journal of Bacteriology, 149(2):768-770.
- Bzdek BR, Horan AJ, Pennington MR, Janecek NJ, Baek J, Stanier CO, Johnston MV. 2014. Silicon is a frequent component of atmospheric nanoparticles. Environmental Science and Technology, 48(19):11137-11145.
- Cofepri. Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios. 2017.

- Normas Oficiales Mexicanas (NOM) de Calidad del Aire Ambiente 2017. Consultado el 8 de abril de 2019. Disponible en:<https://www.gob.mx/cofepris/acciones-y-programas/4-normas-oficiales-mexicanas-nom-de-calidad-del-aire-ambiente>.
- Cortez-Lugo M, Riojas-Rodríguez H, Moreno-Macías H, Montes S, Rodríguez Agudelo Y, Hernández-Bonilla D, Catalán-Vázquez M, Díaz-Godoy R, Rodríguez-Dozala S. 2018. Evaluation of the effect of an environmental management program on exposure to manganese in a mining zone in Mexico. *Neurotoxicology*, 64:142-151.
- Díaz R V y Domínguez ER. 2009. Health risk by inhalation of PM_{2.5} in the metropolitan Zone of the City of Mexico. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(3):866-871.
- Díaz RV y Aldape F. 2002. Identification of airborne particulate sources, of samples collected in Ticomán, Mexico, using PIXE and multivariate analysis. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 189(1-4):249-253.
- Díaz RV y Domínguez ER. 2008. Componente natural y antropogénica de la composición química elemental de las partículas suspendidas (PM_{2.5}) y sus posibles fuentes de emisión, en un sitio de la zona metropolitana de la Ciudad de México. *Afinidad LXV*, 65(534):120-128.
- Faxon CB, Bean JK, Hildebrandt RL. 2015. Island concentrations of Cl₂ and ClNO₂ in southeast Texas suggest chlorine chemistry significantly contributes to atmospheric reactivity. *Atmosphere*, 6(10):1487-1506.
- Feng S, Gao D, Liao F, Zhou F, Wang X. 2016. The health effects of ambient PM_{2.5} and potential mechanisms. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 128:67-74.
- Franzetti A, Gandolfi I, Gaspari E, Ambrosini R, Bestetti G. 2011. Seasonal variability of bacteria in fine and coarse urban air particulate matter. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 90(2):745-753.
- Gandolfi I, Bertolini V, Bestetti G, Ambrosini R, Innocente E, Rampazzo G, Papacchini M, Franzetti A. 2015. Spatio-temporal variability of airborne bacterial communities and their correlation with particulate matter chemical composition

- across two urban areas. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99(11):4867-4877.
- Gottschalk G. 1979. Nutrition of bacteria. In: *Bacterial Metabolism*. Springer Series in Microbiology. Springer, Nueva York, 1-11.
- Greenberg MI, Waksman J, Curtis J. 2007. Silicosis: a review. *Disease-a-Month*, 53(8):394-416.
- Hu YD, Ma AZ, Lü PY, Zhang Y, Zhuang GQ. 2017. Characteristics of the population of cultivable bacteria in fine atmospheric particles in the areas of Beijing and Baoding. *Huan Jing Ke Xue= Huanjing Kexue*, 38(4):1327-1339.
- INEGI. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. 2015. Número de habitantes. Consultado el 3 de abril de 2019. Disponible en:<http://cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/mex/poblacion/>
- Keene WC, Khalil MAK, Erickson III DJ, McCulloch A, Graedel TE, Lobert JM, Midgley P. 1999. Composite global emissions of reactive chlorine from anthropogenic and natural sources: reactive chlorine emissions inventory. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*, 104(D7):8429-8440.
- Kotrba P, Mackova M, Fišer J, Macek T. 2011. Biosorption and metal removal through living cells. In: Kotrba P, Mackova M, Macek T. *Editions Microbial Biosorption of Metals*. Springer. Dordrecht, 321 p.
- Leung CC, Yu ITS, Chen W. 2012. Silicosis. *The Lancet*, 379(9830):2008-2018.
- Liang Z, Zhao X, Chen J, Gao L, Zhu A, Wang Z, Zhang K. 2018. Seasonal characteristics of chemical compositions and sources identification of PM_{2.5} in Zhuhai, China. *Environmental Geochemistry and Health*, 1-14.
- Lu R, Li Y, Li W, Xie Z, Fan C, Liu P, Deng D. 2018. Bacterial community structure in atmospheric particulate matters of different sizes during the haze days in Xi'an, China. *Science of the Total Environment*, 637(638):244–252.
- Manahan SE. 2007. *Introducción a la Química Ambiental*. Editorial Reverté. Consultado el 22 de junio de 2017. Disponible en:https://books.google.com.mx/books?id=5NR8DIk1n68C&printsec=frontcover&dq=Introduccion+a+la+Quimica+Ambiental&hl=es&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q=Introduccion%20a%20la%20Quimica%20Ambiental&f=false.

- Martínez HA. 2017. Captura de material particulado en hojas de árboles del municipio de Toluca, Estado de México. [Tesis de Licenciatura]. Facultad de Planeación Urbana y Regional. Universidad Autónoma del Estado de México, 146 p.
- Masters GM and Wendell PE. 2008. Introducción a la ingeniería medioambiental. Editorial Pearson. España, 753 p.
- Mata IV y Rangel CFG. 2018. Comportamiento termopluviométrico en la Zona Metropolitana de Toluca: el deterioro ambiental de las ciudades. *Sociedad y Ambiente*, 18:145-173.
- Nayebare SR, Aburizaiza OS, Khwaja HA, Siddique A, Hussain MM, Zeb J, Blake DR. 2016. Chemical characterization and source apportionment of PM_{2.5} in Rabigh, Saudi Arabia. *Aerosol and Air Quality Research*, 16(12):3114-3129.
- OMS. Organización Mundial de la Salud. 2018. Nueve de cada diez personas de todo el mundo respiran aire contaminado. Comunicado de prensa. Consultado el 26 de noviembre de 2018. Disponible en <http://www.who.int/es/news-room/detail/02-05-2018-9-out-of-10-people-worldwide-breathe-polluted-air-but-more-countries-are-taking-action>.
- OMS. Organización Mundial de la Salud. 2018b. calidad del aire y salud. Consultado el 14 de abril de 2019. Disponible en [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/ambient-\(outdoor\)-air-quality-and-health](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/ambient-(outdoor)-air-quality-and-health).
- Pant P, Shukla A, Kohl SD, Chow JC, Watson JG, Harrison RM. 2015. Characterization of ambient PM_{2.5} at a pollution hotspot in New Delhi, India and inference of sources. *Atmospheric Environment*, 109:178-189.
- Pósfai M, Li J, Anderson JR, Buseck PR. 2003. Aerosol bacteria over the Southern Ocean during ACE-1. *Atmospheric Research*, 66(4):231-240.
- Posner LN and Pandis SN. 2015. Sources of ultrafine particles in the Eastern United States. *Atmospheric Environment*, 111:103-112.
- Qin T, Zhang F, Zhou H, Ren H, Du Y, Liang S, Wang F, Cheng L, Xie X, Jin A, Wu Y, Zhao J, Xu J. 2019. High-level PM_{2.5}/PM₁₀ exposure is associated with alterations in the human pharyngeal microbiota composition. *Frontiers in Microbiology*, 10(54):1-9.

- RAMA. Red de Monitoreo Atmosférico de la Zona Metropolitana de Toluca. 2017. Reportes Mensuales 2016. Consultado el 24 de enero de 2017. Disponible en <http://rama.edomex.gob.mx/calidad-aire/2014>.
- Romero-Guzmán ET, Hernández-Mendoza H, Kuri-Cruz A, Reyes-Gutiérrez LR. 2018. Airborne particulate material in Metropolitan Zone of Toluca Valley (Mexico) by SEM and ICP-SFMS. *Chemistry and Ecology*, 34(5):482-494.
- Romieu I, Gouveia N, Cifuentes LA, Ponce DLA, Junger W, Vera J, Strappa V, Hurtado-Díaz M, Miranda-Soberanis V, Rojas-Bracho L, Carbajal-Arroyo L, Tzintzun-Cervantes G. 2012. Multicity study of air pollution and mortality in Latin America (the ESCALA study). *Research Report, Health Effects Institute*, 171:5-86.
- Rosenman KD, Reilly MJ, Rice C, Hertzberg V, Tseng CY, Anderson HA. 1996. Silicosis among foundry workers: implication for the need to revise the OSHA standard. *American Journal of Epidemiology*, 144(9):890-900.
- Sánchez MHE. 2015. Comportamiento espacial de las partículas suspendidas PM₁₀ y estrategias de gestión Ambiental del Aire en la Zona Metropolitana de Toluca, México. [Tesis de maestría]. Facultad de Química. Universidad Autónoma del Estado de México, 117 p.
- Tegen I and Kohfeld KE. 2006. Atmospheric transport of silicon. In: Ittekkot V, Unger D, Humborg C, An NT. *The silicon cycle human perturbations and impacts on aquatic systems*. Edition SCOPE. Washington, 66:81-92.
- Wackett LP, Dodge AG, Ellis LB. 2004. Microbial genomics and the periodic table. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(2):647-655.
- Wang Z, Lv J, Tan Y, Guo M, Gu Y, Xu S, Zhou Y. 2019. Temporospatial variations and Spearman correlation analysis of ozone concentrations to nitrogen dioxide, sulfur dioxide, particulate matters and carbon monoxide in ambient air, China. *Atmospheric Pollution Research*, 1-8.
- Wolf R, El-Haddad I, Slowik JG, Dällenbach K, Bruns E, Vasilescu J, Baltensperger U, Prévôt, ASH. 2017. Contribution of bacteria-like particles to PM_{2.5} aerosol in urban and rural environments. *Atmospheric Environment*, 160:97-106.
- Xie J, Jin L, Luo X, Zhao Z, Li X. 2018. Seasonal disparities in airborne bacteria and

- associated antibiotic resistance genes in PM_{2.5} between urban and rural sites. *Environmental Science and Technology Letters*, 5(2):74-79.
- Xing YF, Xu YH, Shi MH, Lian YX. 2016. The impact of PM_{2.5} on the human respiratory system. *Journal of Thoracic Disease*, 8(1):E69-E74.
- Yang B, Zhang Y, Li B, Zou Y, Xiao C. 2019. Fine particulate matter alters the microecology of the murine respiratory tract. *Environmental Science and Pollution Research*, 26:8623-8632.
- Zhong S, Zhang L, Jiang X, Gao P. 2019. Comparison of chemical composition and airborne bacterial community structure in PM_{2.5} during haze and non-haze days in the winter in Guilin, China. *Science of the Total Environment*, 655:202-210.

Capítulo 3

Identificar mediante secuenciación de amplicones (bibliotecas de clones), la composición bacteriana de la atmósfera baja en seis sitios de la ZMVT

3.1. Resumen

En la atmósfera existe una amplia variedad de microorganismos como las bacterias y sus fuentes pueden ser naturales (ejemplo, vegetación y suelo) o por influencia antropocéntrica. El objetivo de este estudio fue identificar mediante secuenciación masiva, la composición bacteriana de la atmósfera baja en seis sitios de la Zona Metropolitana del Valle de Toluca (ZMVT). Las muestras fueron colectadas durante la época de lluvias y seca-cálida mediante la técnica por gravedad con cajas de Petri (abiertas durante 30 min.) colocadas a una altura de 0.5-3.0 m del suelo, en los sitios: Oxtotitlan (OX), San Mateo Atenco (SM), San Cristóbal Huichochitlan (SC), Ceboruco (CB), Zinacantepec (ZC) y San Lorenzo Tepaltitlan (SL); se cuantificaron las unidades formadoras de colonias (UFC) y se realizó la extracción de ADN bacteriano (kit DNeasy PowerSoil). Se registró el mayor número de bacterias en los sitios de ZC, CB y SC (130, 104 y 101 UFC) en la época de lluvias, mientras que en la seca-calida, el mayor registro fue en SM (159 UFC), seguido de SC (119 UFC) y CB (103 UFC) y se identificaron 203 géneros bacterianos. En lluvias, predominaron los phyla Firmicutes y Proteobacteria, mientras que en la seca-cálida los Firmicutes. La diversidad α , no fue estadísticamente significativa a diferencia de la diversidad β ; el LEfSe mostró que las bacterias aéreo-transportadas (BAT) con mayor abundancia en la época de lluvias fueron *Acinetobacter*, *Trichococcus*, *Mycobacterium*, *Variovorax* y la familia Microbacteriaceae, mientras que en la seca-cálida fueron más abundantes 27 grupos bacterianos. La mayor frecuencia de las BAT en el aire de la ZMVT en las dos épocas de estudio incluyeron: *Bacillus*, *B. flexus* y *B. cereus*.

Palabras clave: bacterias, aire, secuenciación, sitios, ZMVT.

3.2. Abstract

In the atmosphere there is a wide variety of microorganisms such as bacteria and their sources can be natural (eg, vegetation and soil) or by anthropocentric influence. The objective of this study was to identify by mass sequencing, the bacterial composition of the lower atmosphere at six sites in the Metropolitan Zone of the Toluca Valley (ZMVT). The samples were collected during the rainy season and dry-warm by gravity technique with Petri dishes (open for 30 min.) Placed at a height of 0.5-3.0 m from the ground, at the sites: Oxtotitlan (OX), San Mateo Atenco (SM), San Cristóbal Huichochitlan (SC), Ceboruco (CB), Zinacantepec (ZC) and San Lorenzo Tepaltitlan (SL); colony forming units (CFU) were quantified and bacterial DNA extraction (DNeasy PowerSoil kit) was performed. The highest number of bacteria was recorded at the sites of ZC, CB and SC (130, 104 and 101 CFU) in the rainy season, while in the dry-warm season, the highest record was in SM (159 CFU), followed of SC (119 CFU) and CB (103 CFU) and 203 bacterial genera were identified. In rains, the Phyla Firmicutes and Proteobacteria predominated, while in the dry-warm the Firmicutes. The α diversity was not statistically significant unlike the β diversity; The LEfSe showed that the airborne bacteria (BAT) with greater abundance in the rainy season were *Acinetobacter*, *Trichococcus*, *Mycobacterium*, *Variovorax* and the Microbacteriaceae family, while in the dry-warm 27 bacterial groups were more abundant. The highest frequency of BAT in the air of the ZMVT in the two study periods included: *Bacillus*, *B. flexus* and *B. cereus*.

Keywords: bacteria, air, sequencing, site, ZMVT.

3.3. Introducción

Las bacterias constituyen aproximadamente el 25 % de los llamados bioaerosoles (Jaenicke, 2005), estos son condensados de partículas biológicas suspendidas en el aire, que incluyen virus, bacterias, hongos, polen, endotoxinas y micotoxinas (Walser et al. 2015). En este sentido las bacterias suspendidas en el aire tienen múltiples tamaños, algunas son tan diminutas que pueden llegar a medir 100 nm y otras iguales o mayores a 1 μm (Pöschl y Shiraiwa, 2015), dependiendo de las fuentes de origen. Las bacterias aéreo-transportadas (BAT) interactúan positiva y negativamente con el ambiente, por lo que la comprensión en su distribución, diversidad, abundancia, y variabilidad temporal en sitios con entornos diferentes adquiere gran relevancia.

Existen múltiples técnicas para evaluar la calidad del aire, por medio de la estimación del volumen de partículas suspendidas con diámetros aéreo dinámicos (PM_{10} y $\text{PM}_{2.5}$), utilizando plantas como indicadores biológicos, analizando el agua de lluvia, colectando bioaerosoles en medios de cultivo o utilizando filtros de distintos diámetros. Incluso, se ha monitoreado a las bacterias aerotransportadas mediante la comparación entre dos métodos de identificación bacteriana (MALDI-TOF MS y secuenciación masiva) analizando la atmósfera baja de la actual Ciudad de Gran México por periodos de cuatro años (García-Mena et al., 2016).

En el presente estudio se realizó la identificación de las bacterias en la atmósfera baja de la Zona Metropolitana del Valle de Toluca (ZMVT) a través de un secuenciador por semiconductores Ion Torrent, basado en un chip que comprende un sistema integrado de detección electroquímica; que evalúa la variación de pH mediante un sistema Semiconductor complementario de óxido-metal (CMOS), y la liberación de un protón (H^+) durante la adición de un nucleótido en la hebra complementaria del DNA a secuenciar a través de la DNA polimerasa, generando una señal gráfica proporcional al número de nucleótidos adicionados (Merriman et al., 2012).

El objetivo de este capítulo fue identificar mediante secuenciación de amplicones (bibliotecas de clones), la composición bacteriana de la atmósfera baja en seis sitios de la ZMVT, los cuales fueron: Oxtotitlan (OX), Ceboruco (CB), San Mateo Atenco (SM), San Cristóbal Huichochitlan (SC), Zinacantepec (ZC) y San Lorenzo Tepaltitlan (SL).

3.4. Revisión bibliográfica

Se han publicado estudios diversos respecto al reconocimiento bacteriano a través de varios métodos de identificación como los realizados por Fykse et al. (2015), quienes reportaron 140 colonias aisladas, de las cuales los géneros *Bacillus* y *Staphylococcus*, predominaron en la atmósfera de Noruega y Finlandia, mientras que las bacterias Gram negativas del género *Acinetobacter* lo fueron en Suecia, argumentando que existe una correlación entre los cambios en dirección del viento y partículas de tierra o polvo.

En otro estudio García-Mena et al. (2016), durante las cuatro estaciones del año en 12 sitios de la Ciudad de México y 7 municipios del Estado de México, a través de la secuenciación del 16S rDNA y el análisis de espectrometría de masas, mostraron cómo ambos métodos coinciden en un 91.3 % a nivel de género y un 65.2 % a nivel de especie, asimismo, las bacterias identificadas por secuenciación Sanger correspondieron a Firmicutes con 75.6 % del género *Bacillus* (*B. pumilus*, *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. cereus*, *B. amyloliquefaciens*, *B. simplex*, *B. safensis* y *B. thuringensis*); el 19.5 % del phylum Actinobacteria (*Enterococcus*, *Lysinibacillus fusiformis* y *Microbacterium esteraromaticum*), mientras que la diversidad bacteriana de los bioaerosoles caracterizados mediante secuenciación masiva mostró que los phyla más abundantes fueron Firmicutes (*Staphylococcus*) y Proteobacteria (*Erwinia*, *Acinetobacter* y *Pseudomonas*), sugiriendo que las bacterias suspendidas tienen abundancias diferentes y no son las mismas a lo largo del año.

Siguiendo esta misma estrategia Serrano-Silva y Calderón-Ezquerro (2018), utilizaron tres métodos de muestreo durante una semana en la Ciudad de México (alcaldía de Coyoacán) de los cuales el método Hirst, fue el más eficiente, colectando la mayor abundancia de los géneros: *Paracoccus*, *Corynebacterium*, *Arthrobacter*, *Kaistobacter*, *Rubellimicrobium*, *Microbispora*, *Sphingomonas*, *Rhodococcus*, *Dietzia*, *Kocuria*, *Lactobacillus*, *Staphylococcus*, obteniendo los mismos géneros bacterianos entre los muestreadores Durham y Jet de alto rendimiento.

Genitsaris et al. (2017), en la ciudad de Thessaloniki, Grecia, al incluir mediciones de abundancia, biomasa y la composición taxonómica bacteriana (por secuenciación), mostraron cómo la atmósfera del área de estudio alberga una abundante y diversa comunidad bacteriana. Los resultados del análisis molecular mostraron que la mayoría de las unidades taxonómicas operativas (OTU) pertenecieron a los phyla Proteobacteria (47 %), seguidas por Firmicutes (18 %), Actinobacteria (17 %) y Bacteroidetes (10 %), mientras que el resto de las OTU fueron Cyanobacterias (3 %), registrando la mayor abundancia bacteriana en verano. Al mismo tiempo, evidenciaron cómo la temperatura del aire afecta significativamente la abundancia y biomasa de las bacterias suspendidas.

Por otro lado, algunas investigaciones realizadas en el monte Bachelor, Oregón, exponen información de bacterias metabólicamente activas en la atmósfera, a través de una relación entre las secuencias de ARNr y ADNr, ya que el número de ribosomas por célula activas contienen de 100 a 1,000 ribosomas y fácilmente se correlaciona con la tasa de crecimiento; las bacterias más abundantes incluyó a miembros del orden Rhodospirillales (*A. rubrifaciens* y *A. rubrifaciens*) en las comunidades tanto de ARNr como de ADNr, sugiriendo que los microorganismos microbianos metabólicamente activos en el aire pueden alterar la química de la atmósfera a través de su participación en los ciclos biogeoquímicos (Klein et al., 2016).

Además, se ha evidenciado que bacterias provenientes de nubes en la atmósfera de Puy de Dôme (Francia), son capaces de mantener la actividad metabólica y asimilar carbono orgánico, así como reducir radicales a través de su metabolismo oxidativo, sugiriendo que los microorganismos bacterianos desempeñan una doble función en la química atmosférica (Baldrian et al., 2012).

Smith et al. (2018), después de un estudio en la troposfera y la estratosfera, registraron los phyla con mayor abundancia que incluyó: Firmicutes, Proteobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes, Cyanobacteria, Euryarchaeota y Fusobacteria, sugiriendo que las posibles fuentes de bacterias capturadas a grandes alturas provienen de instalaciones de tratamiento de aguas residuales y de la agricultura, sin embargo, el establecimiento de conexiones a fuentes de emisión específicas no fue posible dentro del marco experimental aplicado, concluyendo que la mayoría de los géneros están ampliamente distribuidos en la naturaleza.

Las bacterias transportadas por el aire, están expuestas a condiciones muy severas en la troposfera, por ejemplo: estrés por desecación, radiación UV, bajas temperaturas y condiciones oligotróficas. En este sentido, con base en análisis de estudios en partículas de polvo del Sahara provenientes de los Alpes Europeos, se han identificado bacterias productoras de pigmentos capaces de adaptarse a la radiación UV y al estrés por desecación como: Gemmatimonadetes, Deinococcus-Thermus, Chloroflexi, Deltaproteobacteria y Myxococcales (Meola et al., 2015).

Para la identificación de las bacterias aéreo transportadas (BAT), en las últimas décadas se han utilizado algunos métodos como la secuenciación, que se refiere a la determinación del orden preciso de los nucleótidos en una molécula de DNA (o de RNA) mediante una serie de reacciones químicas (Madigan et al., 2009). En el caso de organismos procarióticos las secuencias empleadas, mayormente como una herramienta para la identificación molecular, está basado en el DNA ribosómico 16S (rDNA) como un indicador taxonómico y filogenético, este gen es como un código de barras para cada especie que al secuenciarse se pueden identificar de forma única. El gen 16S tiene aproximadamente 1500 pares de bases y nueve regiones variables que aportan la mayor parte de la información para

distinguir a las especies bacterianas, permitiendo la definición más alta de la misma (Winstock, 2011).

3.5. Objetivo

- Identificar mediante secuenciación de amplicones (bibliotecas de clones), la composición bacteriana de la atmósfera baja en seis sitios de la ZMVT.

3.6. Métodos

El muestreo se realizó en dos días (16 de agosto de 2017 y 26 de marzo de 2018) en cuatro estaciones de la Red Automática de Monitoreo Atmosférico de la Zona Metropolitana de Toluca (RAMA): Oxtotitlan (OX: 19° 17' 0.40" N, 99° 41' 0.56" O), San Mateo Atenco (SM: 19° 16' 49.5"N, 99° 32' 30" O), San Cristóbal Huichochitlan (SC: 19° 19' 38.0" N, 99° 38' 3.44" O) y Ceboruco (CB: 19° 15' 37.1" N, 99° 38' 44.6" O), adicionalmente se consideraron dos sitios cumpliendo con los requerimientos establecidos por la Regulación Ambiental de la EPA (2006): Zinacantepec (ZC: 19° 16' 34.21" N, 99° 44' 03.3" O) y San Lorenzo Tepaltitlan (SL: 19° 18' 59.96" N, 99° 32' 25.3" O). Todos los sitios de estudio están distribuidos en las zonas centro, norte y sur de la Zona Metropolitana del Valle de Toluca (ZMVT) (figura 3.1). Por su ubicación, en la ZMVT convergen fenómenos atmosféricos provenientes de áreas frías, templadas y tropicales, por lo que su atmósfera es muy dinámica durante el año con un clima templado, lluvias en verano y precipitaciones en invierno, con oscilaciones térmicas anuales (inferiores a 5 °C) y con temperaturas elevadas antes del solsticio de verano (Morales et al., 2007).

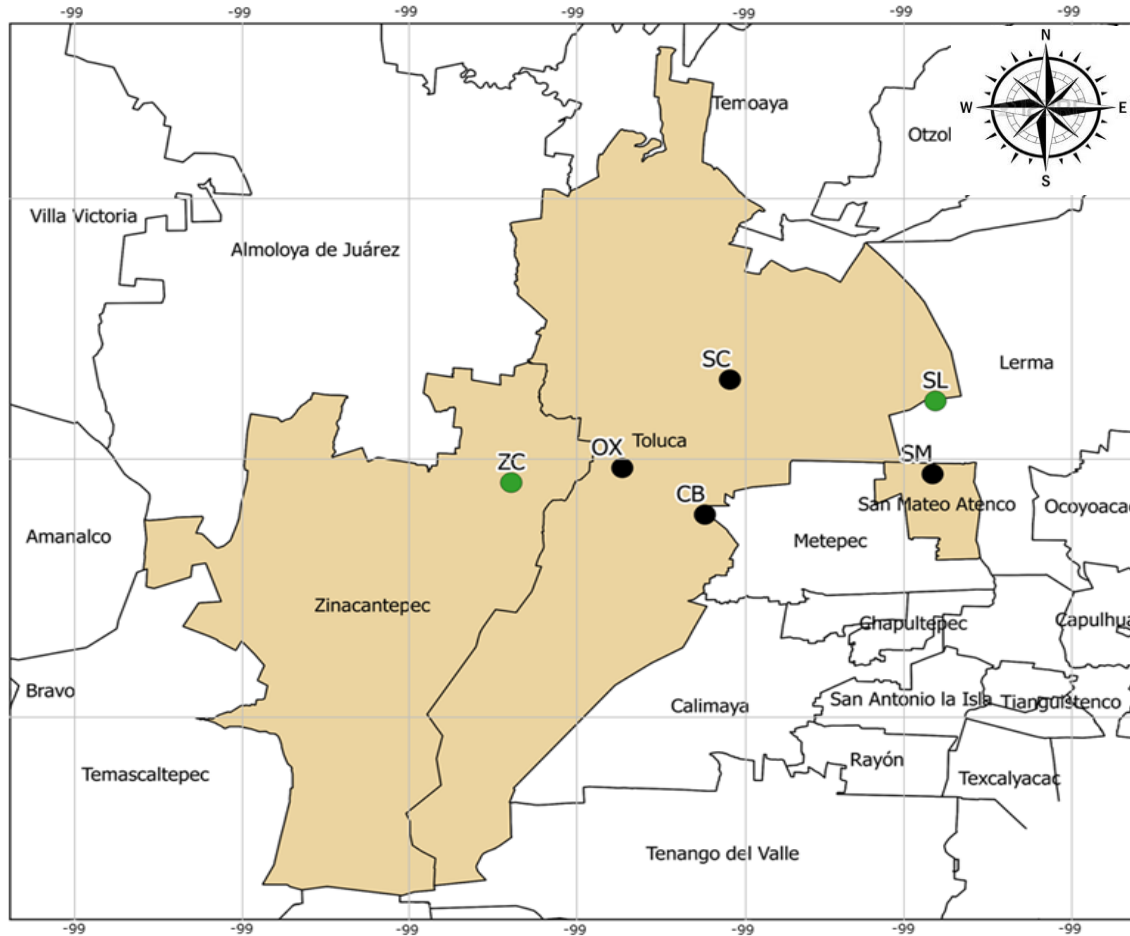


Figura 3.1. Estado de México, ubicación de los sitios de estudio en la ZMVT.

3.6.1. Colecta y procesamiento de muestras

Las muestras fueron colectadas simultáneamente (12:00 am) en los seis sitios de la ZMVT: OX, CB, SM, SC, ZC y SL mediante el método de gravedad, usando, por duplicado, cajas Petri con agar nutritivo (abiertas durante 30 min), colocadas a una altura de 0.5-3.0 m del suelo, siguiendo la metodología descrita por García-Mena et al. (2016). Los cultivos fueron incubados (37 °C, durante 48 h); se cuantificaron las unidades formadoras de colonias (UFC); se extrajo el ADN bacteriano utilizando kit DNeasy PowerSoil siguiendo las indicaciones del fabricante (Anexos 3A) (figura 3.2).

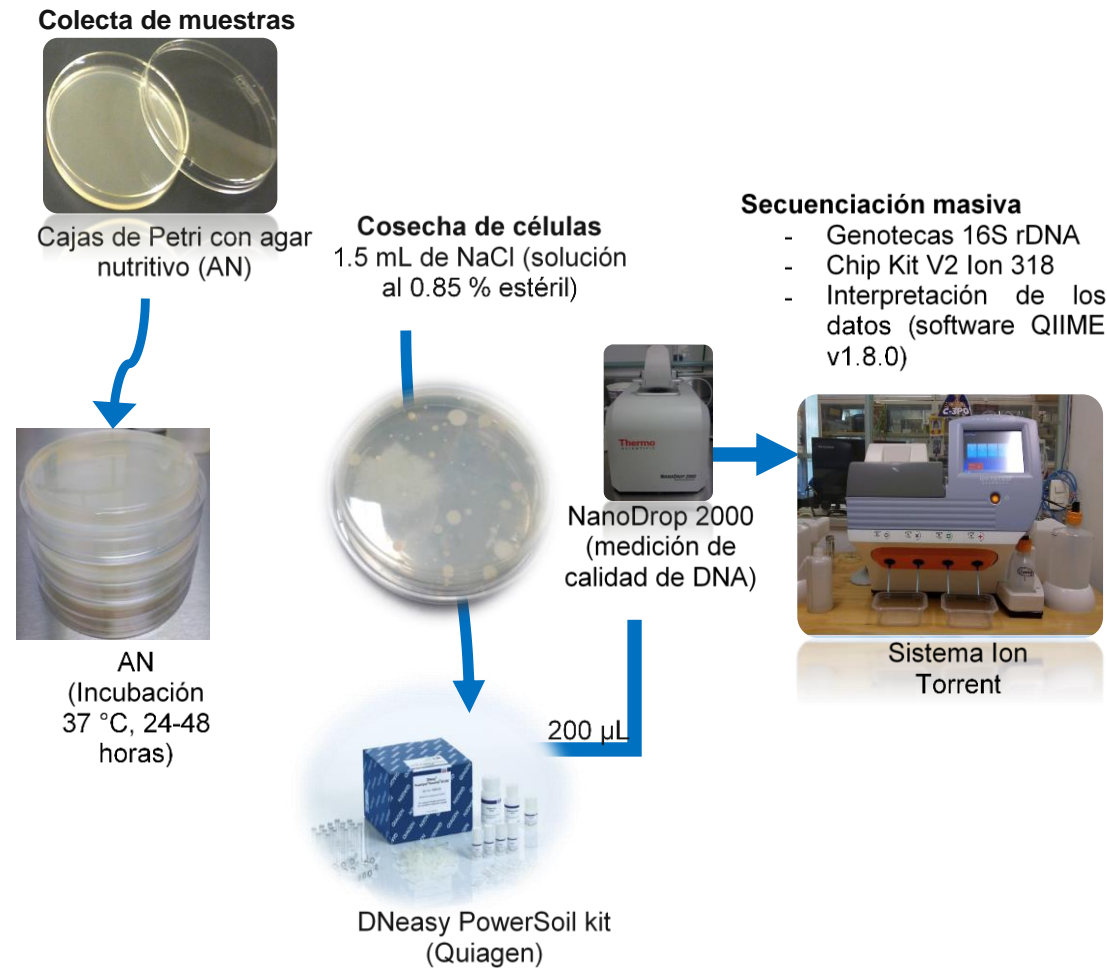


Figura 3.2. Colecta y procesamiento de muestras analizadas en seis sitios de la ZMVT, en dos días de épocas diferentes para el análisis de secuenciación masiva.

3.6.2. Extracción de DNA genómico bacteriano

Se colocó 1.5 mL de NaCl (solución estéril al 0.85 %) en las muestras con las colonias bacterianas del cual se utilizó 200 µL para la extracción de DNA mediante el DNeasy PowerSoil kit (Qiagen, México, No. de catálogo 12888-100). La calidad del DNA purificado se determinó por niveles de absorbancia A260/A280 nm en el equipo NanoDrop 2000 (Thermo Scientific); evaluándose mediante el fraccionamiento electroforético en 0.5 x TBE gel en 0.5 % agarosa, teñidos con Midori Green a través del equipo Bio-Rad Molecular Imager Gel Doc XR+Imaging System, conservándose a -12.8 °C.

3.6.3. Elaboración de bibliotecas de rDNA 16S

Las bibliotecas de rDNA 16S se construyeron con un amplicon de aproximadamente 281 pb incluyendo la región polimórfica V3 del rDNA 16S bacteriano utilizando un Chip Kit V2 Ion 318 y el Sistema Ion Torrent PGM System y un antisentido. Los 12 *primers* utilizados fueron los barcode CAAACAACAGCT, GCGATATATCGC, CAGCTCATCAGC, GATCTGCGATCC, GCAACACCATCC, CGAGCAATCCTA, TGGACATCTCTT, GAACACTTTGGA, GAGCCATCTGTA, AAGGCGCTCCTT, ACCATAGCTCCG, TTGGGTACACGT. Los 12 iniciadores utilizados fueron: V3-341F1, V3-341F2, V3-341F3, V3-341F4, V3-341F5, V3-341F6, V3-341F19, V3-341F20, V3-341F21, V3-341F22, V3-341F23, V3-341F24 (complementarias a las posiciones 334-354), además del *primer* V3-518R (complementarios a las posiciones 506-529). La amplificación se realizó utilizando el termociclador Applied Biosystems 2720 durante 5 min a 95 °C y 25 ciclos durante 40 min a 72 °C.

3.6.4. Análisis de secuenciación del DNA por semiconductores

Después de la secuencia, las lecturas fueron filtradas por el software de PGM para eliminar la baja calidad y las secuencias policlonales (García-Mena et al., 2016). Los datos filtrados fueron exportados como archivos FASTQ; después los archivos se “demultiplexearon” y se analizaron a través del software QIIME (v1.9.0); con FastQC report se determinó la calidad de las secuencias, estas se recortaron mediante Trimmomatic-0.36 con lecturas de 200 pb. Las alineaciones de secuencias representativas se realizaron con el conjunto Greengenes (v13.8) en QIIME, agrupándose en unidades taxonómicas operativas (OTU) estructurando las secuencias con un umbral de similitud del 97 %, posterior a ello, se guardaron en formato Matriz de Observación Biológica (BIOM), así mismo las quimeras fueron eliminadas de los conjuntos de datos usando Chimera Slayer.

3.6.5. Análisis de datos

La diversidad alfa (α) en las comunidades bacterianas, se determinaron utilizando la prueba no paramétrica Mann-Whitney-Wilcoxon, para contrastar si dos muestras proceden de poblaciones uniformemente densas, donde $p = <0.05$ es estadísticamente significativo, determinando los índices: Chao1 y Shannon, basadas en su abundancia, para dilucidar qué tan uniformes fueron las especies bacterianas y Simpson, basado en la dominancia, para estimar la probabilidad de que dos individuos sacados al azar de una muestra correspondan a la misma especie, utilizando los paquetes Phyloseq (Vegan v2.2.1 y Ggplot2) en el entorno R (v3.4.4).

Para evaluar la diversidad beta (β) se aplicó el Análisis de Similitudes (ANOSIM), esta determina si existe una diferencia significativa entre dos o más grupos de unidades de muestreo, empleando las distancias calculadas UniFrac (Vázquez-Baeza et al., 2013), mediante el "agrupamiento" por categoría de metadatos (tablas de unidades taxonómicas operativas o OTU) y el análisis de coordenadas principales, donde $p = <0.05$ es estadísticamente significativo. La abundancia de los grupos bacterianos en diferentes niveles taxonómicos se realizó por separado mediante el análisis de componentes principales (PCA).

La abundancia de las BAT, se determinó utilizando el Análisis Discriminante Lineal (LDA, por sus siglas en inglés) (LEfSe, v1.0) observando las abundancias relativas significativamente diferentes de los taxón a través de una gráfica de barras, estableciendo los parámetros con el valor p predeterminado, $\alpha = <0.05$, y una puntuación LDA >2.0 con LEfSe (Nirmalkar et al., 2018) y aquellos grupos bacterianos que no fueron representativos se descartaron dejando aquellas bacterias de importancia médica. Para diferenciar la abundancia bacteriana por sitios de estudio, se elaboró un mapa de calor agrupando de forma jerárquica las especies bacterianas en función de las secuencias (>100 lecturas), la intensidad de color tiene como escala de 0 a 12 indica: verde, es una baja abundancia, amarillo, abundancia media y rojo alta abundancia.

3.7. Resultados

De la colecta realizada por el método de gravedad y después de 48 h de incubación, en un día correspondiente a la época de lluvias, se observó el mayor crecimiento bacteriano en los sitios de ZC, CB y SC (130, 104 y 101 UFC), sin embargo, este registro cambió durante el muestreo realizado en la seca-calida, registrándose el mayor crecimiento de las BAT en SM (159 UFC), seguido de SC (119 UFC) y CB (103 UFC) respectivamente (tabla 3.1).

Tabla 3.1. Promedio de UFC de bacterias cultivables en los seis sitios de estudio en la época de lluvias y seca-cálida en la ZMVT.

Sitios	Lluvias	Seca-cálida
	(16 de agosto de 2017)	(26 de marzo de 2018)
Oxtotitlan (OX)	50	94
Ceboruco (CB)	104	103
San Mateo Atenco (SM)	25	159
San Cristóbal Huichochitlan (SC)	101	119
Zinacantepec (ZC)	130	46
San Lorenzo Tepaltitlan (SL)	18	98

3.7.1. Extracción de DNA genómico bacteriano

La extracción de DNA genómico se llevó a cabo de acuerdo con García-Mena et al. (2016), obteniendo concentraciones aceptables para continuar con el análisis (tabla 3.2).

Tabla 3.2. Concentración de DNA de las muestras colectadas, durante la época de lluvias y seca-cálida.

Sitios	Lluvias		Seca-cálida	
	Concentración DNA (mg)	A260/280(nm)	Concentración DNA (mg)	A260/280(nm)
OX	14.8	2.01	14.8	1.95
CB	4.3	1.89	4.3	1.94
SM	33.9	1.92	33.9	2.15
SC	21.6	1.92	12.8	2.01
ZC	12.8	2.06	21.6	1.91
SL	3.5	1.92	3.5	1.87

La calidad del DNA mediante el fraccionamiento electroforético (0.5 % agarosa), se observó con el equipo Bio-Rad Molecular Gel XR+Imaging System registrando niveles admisibles para la construcción de genotecas (figura 3.3).

a) Lluvias

b) Seca-cálida

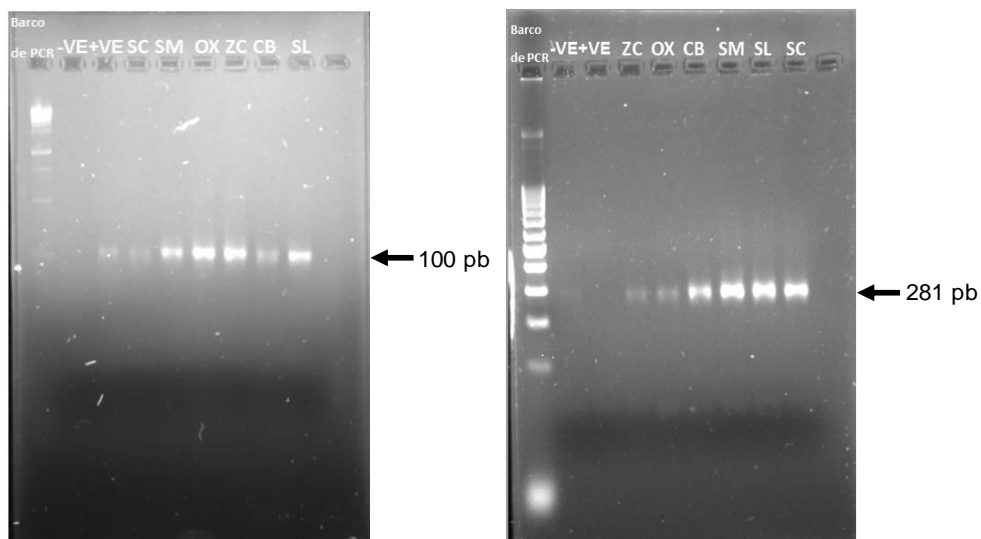


Figura 3.3. Amplificación de la región V3 secuenciados con los primers 341 en gel agarosa. Carril 1: Barco de PCR. Carril 2 y 3: marcador negativo y positivo. Carril 4-9: moléculas de DNA del gen aislado derivado de las muestras de aire.

3.7.2. Phyla con mayor abundancia en la ZMVT

Se realizaron 10 000 lecturas de las 12 muestras analizadas; las secuencias recuperadas fueron agrupadas con base en la identidad de secuencia (92 %) identificándose 203 géneros bacterianos. De las dos épocas de muestreo, la mayor abundancia la registraron los Firmicutes (59.4 % y 79.1 %) que incluye la familia Planococcaceae (4.9 % y 8.8 %) y los géneros *Bacillus* (25.9 % y 49.7 %), *Paenibacillus* (24.6 % y 8.5 %); en porcentajes muy bajos *Exiguobacterium* (1.6 % y 1.1 %). También, se observó el phylum Proteobacteria, con porcentajes altos en grupos bacterianos pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae (20.3 % y 6.4 %) dentro de los cuales se identificó el género *Erwinia* (2.7 % y 0.4 %); en este grupo también se observaron los géneros *Acinetobacter* (10.3 % y 0.3 %), *Pseudomonas* (1.7 % y 0.1 %) y otro sin clasificar (5.1 % y 0.2 %). De igual manera, se registraron, en porcentajes mínimos los phyla Cyanobacteria, Bacteroidetes, Actinobacteria, Acidobacteria y otro que no fue posible asignarle un nombre (figura 3.4).

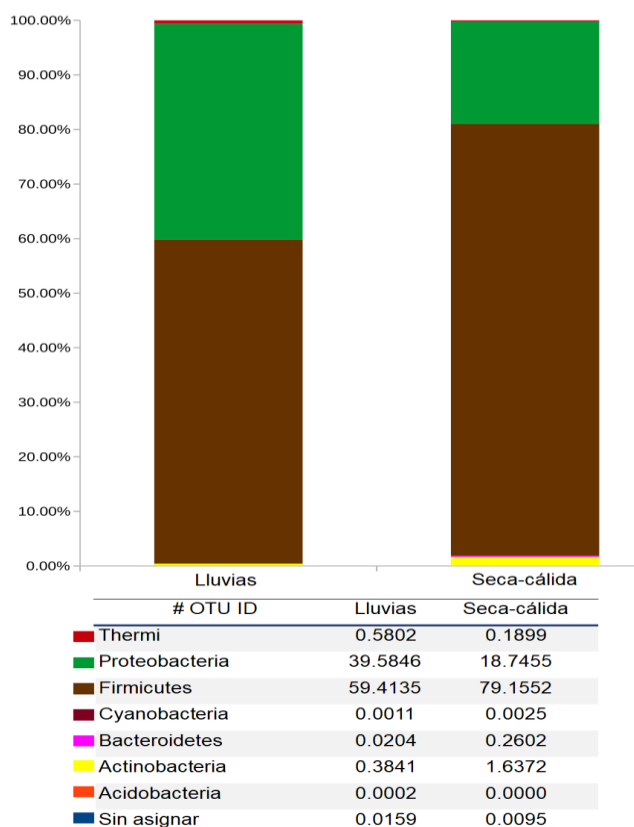


Figura 3.4. Abundancia bacteriana (%) a nivel de phyla identificados con el gen 16S rDNA, en la época de lluvias y seca-cálida en la ZMVT.

La mayor abundancia relativa de los phyla identificados en lluvias incluye a los Firmicutes en SM (97.04 %), SC (95.39 %), SL (72.42 %) y ZC (51.28 %) y las Proteobacteria con porcentajes que sobrepasan la mitad de los taxa identificados en los sitios de OX (74.76 %) y CB (72.75 %) (figura 3.5).

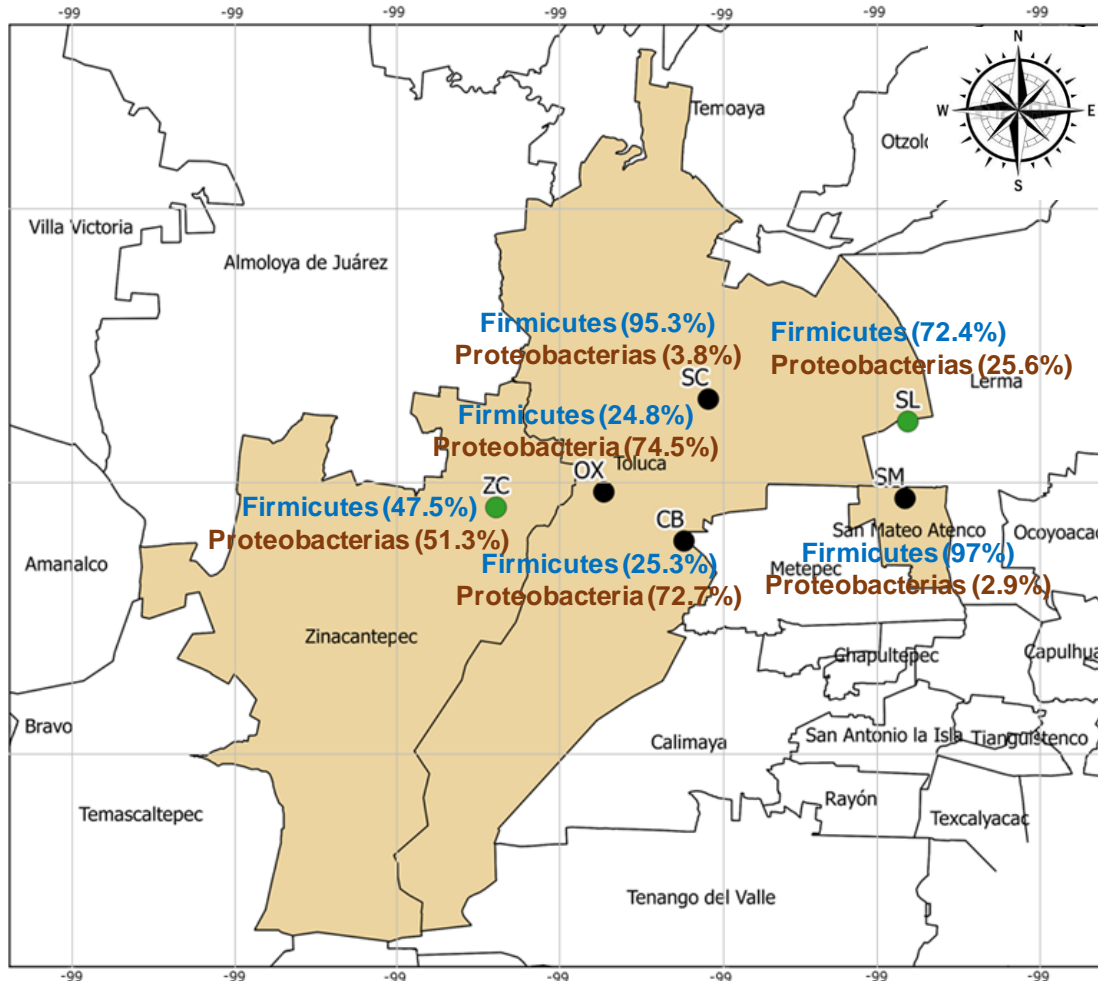


Figura 3.5. Abundancia de los phyla registrados en los seis sitios de la ZMVT (lluvias).

En general, se observó en las muestras de aire colectadas en seca-cálida estaban dominadas por el phylum Firmicutes. Este grupo bacteriano, se detectó considerablemente en los seis sitios de muestreo, mostrando un impacto notable en la composición de la diversidad bacteriana al observarse los porcentajes más altos en los sitios de SL (95.10 %), SC (83.91 %) y CB (81.09 %) (figura 3.6). En conjunto, los registros sugieren que la composición de las comunidades bacterianas en el aire

de la ZMVT, son muy cambiantes ante factores ambientales asociados con la temperatura del aire, humedad relativa y la intensidad de radiación solar, sobre todo en sitios donde se forman aldeas de calor por tiempos prolongados como lo son varios sitios de la ZMVT.

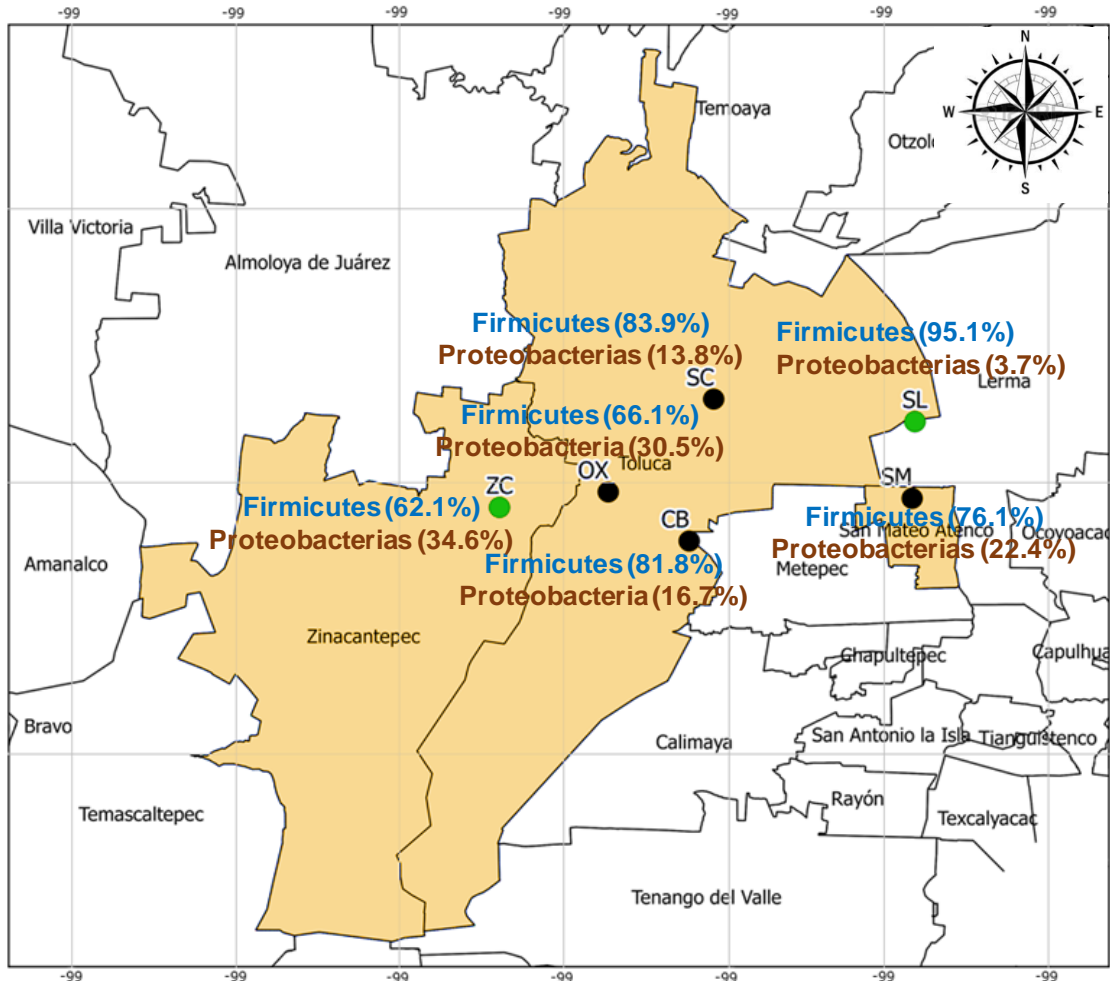


Figura 3.6. Phyla con mayor abundancia en los seis sitios de muestreo de la ZMVT (seca-cálida).

3.7.3. Diversidad de bacterias

En los gráficos, el análisis de diversidad α mostró ser diferente entre lluvias y seca-cálida, sin embargo, las estas diferencias no fueron estadísticamente significativas (figura 3.7).

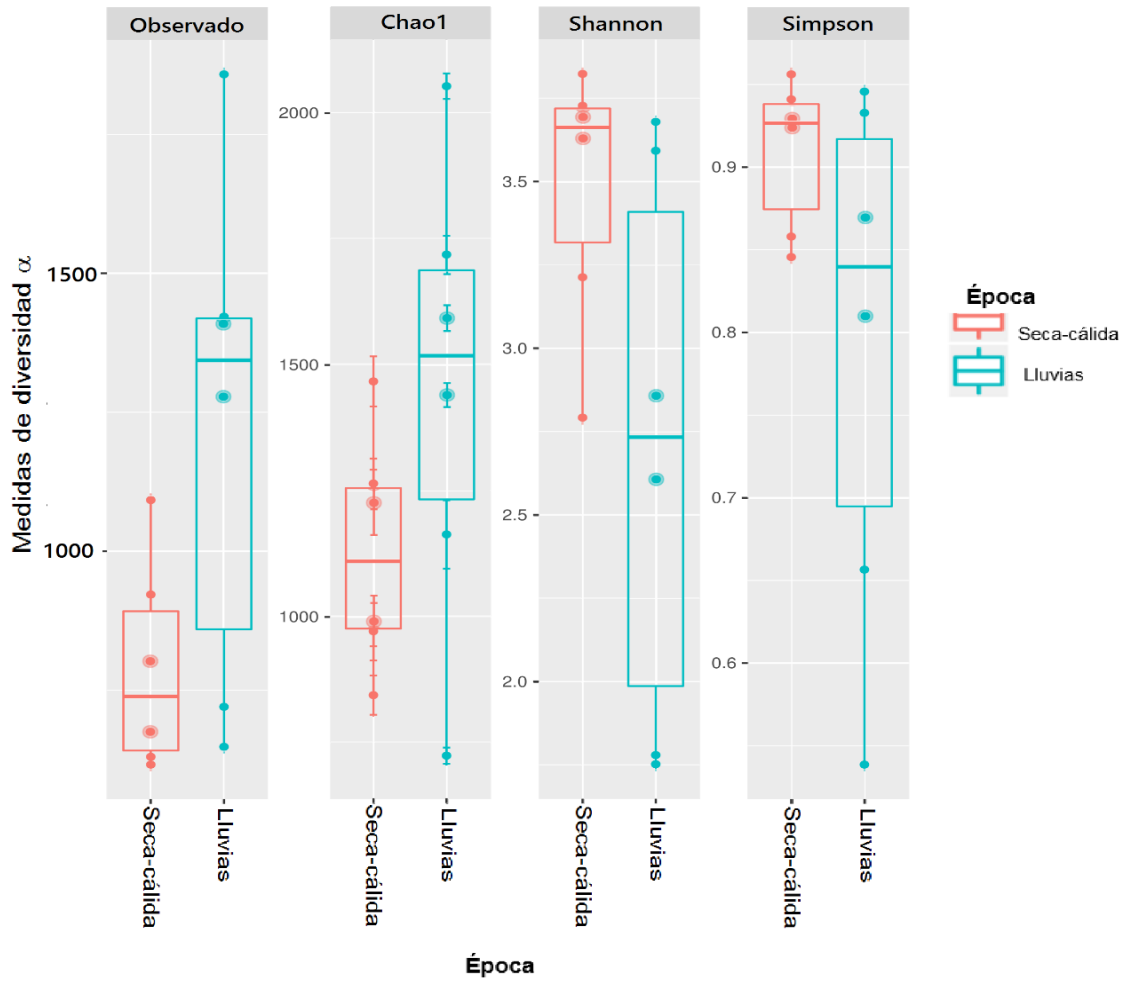
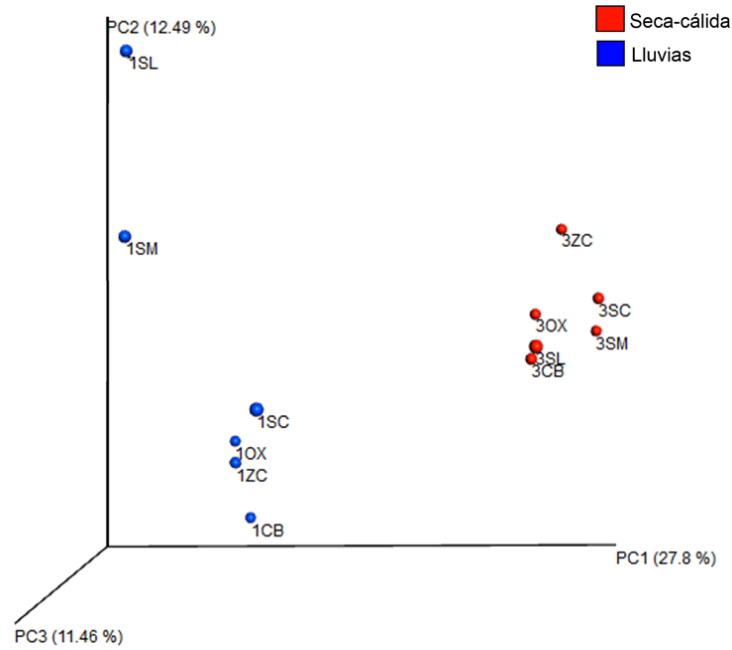


Figura 3.7. Índices de diversidad α . El eje Y muestra el número de especies observadas ($p= 0.09$); el índice de riqueza Chao1 ($p= 0.24$); los índices de diversidad de Shannon ($p= 0.06$) y Simpson ($p= 0.30$). El eje X representa el día muestreado en la época de lluvias y seca-cálida.

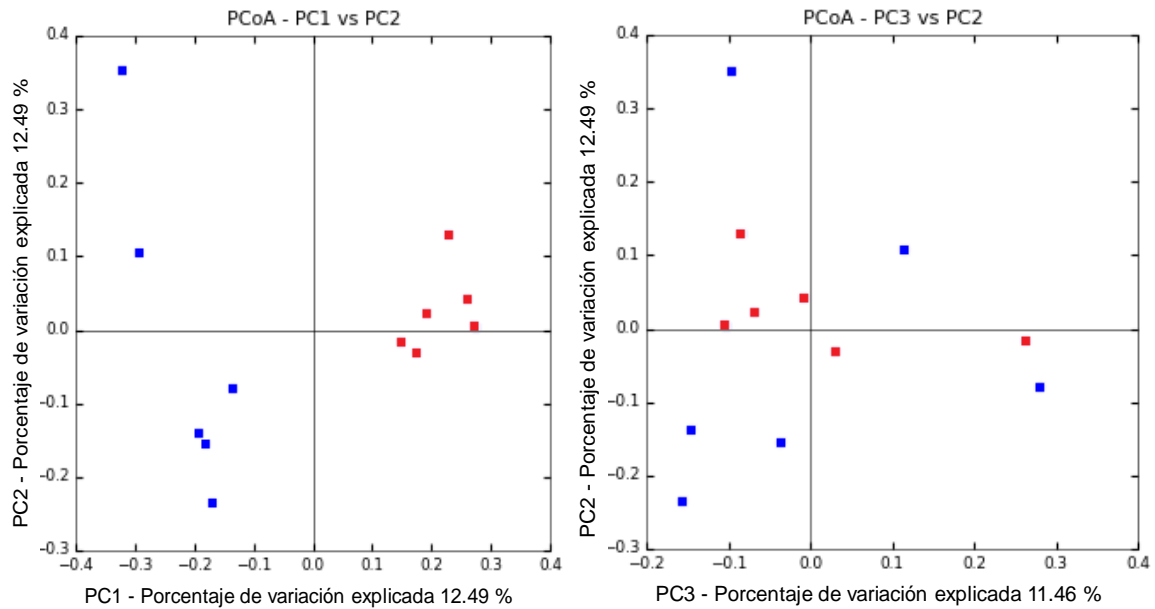
También se calculó la diversidad β , para evaluar la matriz de distancia entre las unidades taxonómicas operativas (OTU) distribuidas en las dos épocas del año, generando un gráfico de dispersión tridimensional mediante el análisis de coordenadas principales (PCoA), el cual expone una diversidad estadísticamente significativa ($p= 0.04$), ya que las propiedades filogenéticas de las comunidades bacterianas se agruparon de manera diferente entre cada época (figura 3.8a). En la figura 3.8b se observó desde diferentes ángulos las coordenadas principales PC1 (27.8 %), PC2 (12.49 %) y PC3 (11.46 %), mostrando mayor variabilidad entre

los sitios de estudio en la época de lluvias, mientras que en la seca-cálida estuvieron definidas al compartir comunidades bacterianas semejantes con excepción de 3ZC (PC3 vs PC2).

a)



b)



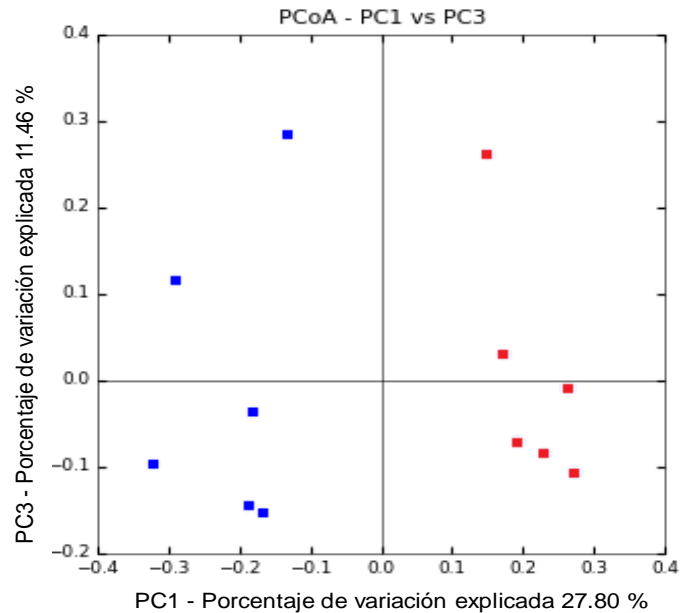


Figura 3.8. Diversidad β . Análisis de coordenadas principales. a) Gráfico de dispersión tridimensional. b) Ángulos de las coordenadas principales. Los puntos más próximos indican la similitud filogenética entre las comunidades bacterianas. Lluvias (cuadro azul): 1OX, 1CB, 1SM, 1SC, 1ZC y 1SL. Seca-cálida (cuadro rojo): 3OX, 3CB, 3SM, 3SC, 3ZC y 3SL.

3.7.4. Diferencias en las abundancias de las bacterias aéreo-transportadas (BAT)

Para identificar los géneros bacterianos con abundancias diferentes entre los días muestreados, se utilizó el análisis de discriminante lineal (LEfSe); se observó diferencias estadísticamente significativas, las BAT más abundantes en un día de lluvias fueron cuatro géneros (*Acinetobacter*, *Mycobacterium*, *Variovorax*, *Trichococcus*) y la familia Microbacteriaceae, en contraste con la seca-cálida, donde se observó 27 grupos bacterianos (figura 3.9).

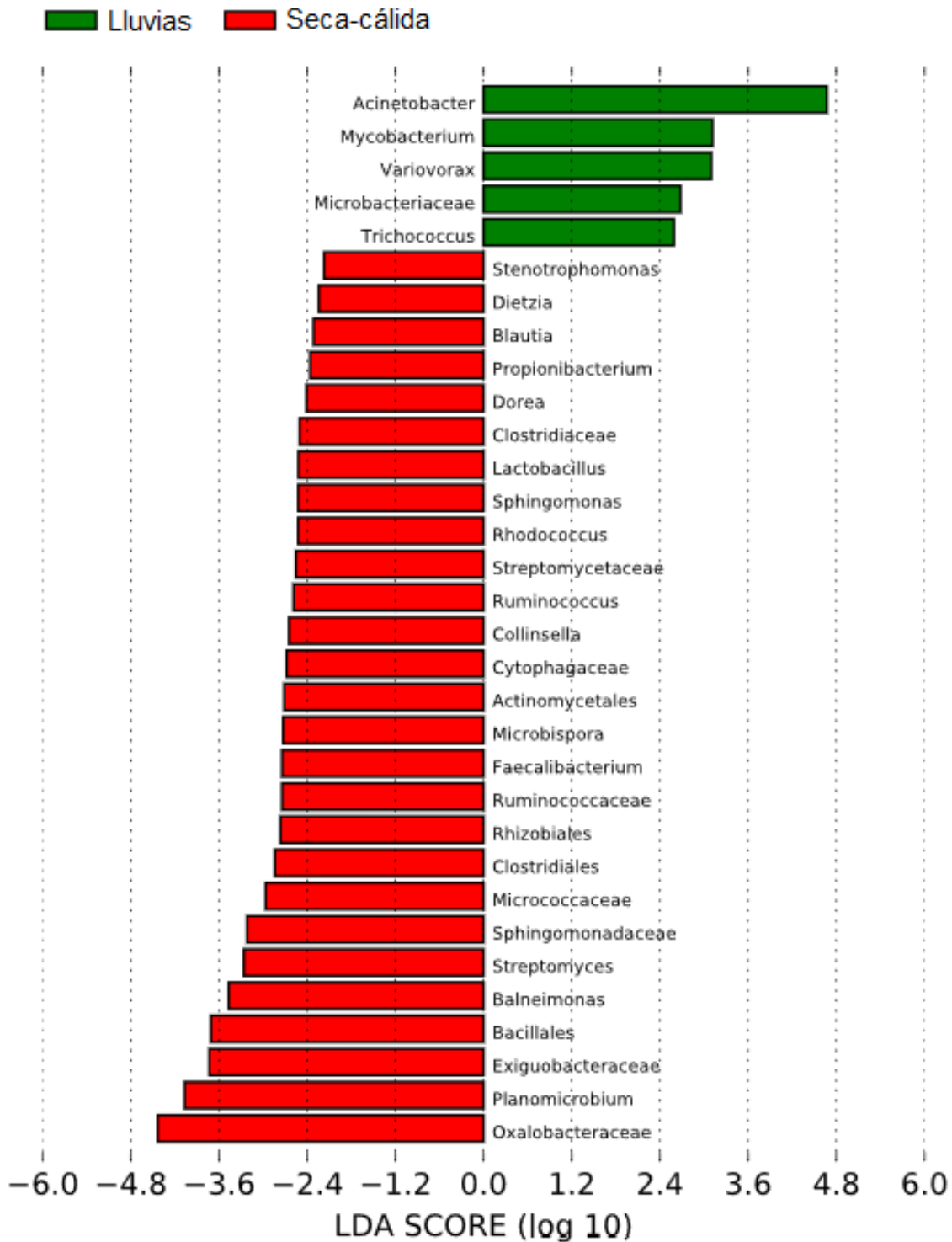


Figura 3.9. Análisis de discriminación lineal (LDA) en las BAT. Los taxa con cambio estadísticamente significativo en abundancia relativa ($p < 0.05$), se muestra junto a las líneas horizontales.

3.7.5. Abundancias principales de las BAT por sitios

Se obtuvieron un total de 40 taxas (≥ 0.1 % en abundancia relativa) en la época de lluvias, registrándose cinco phyla que incluyó: Actinobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes, Proteobacteria y Thermi. En SM se registró la mayor abundancia del género *Paenibacillus* (86.5 %); en todos los sitios se observó porcentajes considerables del género *Bacillus* y *Acinetobacter*. Mientras que en SC se registraron ejemplares de la familia Planococcaceae (40.86 %); en CB grupos bacterianos pertenecientes a Enterobacteriaceae (46.37 %). Así mismo, en OX se detectaron bacterias de la familia Planococcaceae (15.09 %), Enterobacteriaceae Otro (22.41 %), Enterobacteriaceae (20.03 %) y una familia sin identificar perteneciente a la clase Gammaproteobacteria (26.40 %) (tabla 3.3). El total de los OTU identificados se encuentran en Anexos 3C.

Tabla 3.3. Abundancia relativa (%) de las bacterias identificadas en los seis sitios de la ZMVT (lluvias).

Bacterias identificadas (OTU ID)		OX	CB	SM	SC	ZC	SL
Actinobacteria	<i>Corynebacterium</i>	0.13	0.00	0.00	0.01	0.01	0.15
	<i>Microbacterium</i>	0.08	0.38	0.01	0.03	0.04	0.40
	Micrococcaceae	0.01	0.08	0.00	0.02	0.21	0.00
	<i>Kocuria</i>	0.03	0.31	0.00	0.02	0.00	0.11
	<i>Streptomyces</i>	0.01	0.02	0.00	0.10	0.04	0.00
Bacteroidetes	Weeksellaceae	0.00	0.00	0.00	0.15	0.00	0.00
Firmicutes	Bacillales	0.00	0.13	0.01	0.76	0.47	0.00
	Bacillaceae Otro	0.01	0.28	0.21	1.56	0.78	0.02
	Bacillaceae	0.00	0.11	0.08	0.82	0.32	0.00
	<i>Bacillus</i>	5.42	18.58	9.94	49.09	38.36	67.91
	<i>Paenibacillus</i>	1.42	0.12	86.57	0.06	0.91	1.18
	Planococcaceae Otro	0.01	0.01	0.00	0.11	0.04	0.00
	Planococcaceae	15.09	0.02	0.03	40.68	0.08	0.00
	<i>Lysinibacillus</i>	0.00	0.00	0.00	0.11	0.00	0.00
	<i>Rummeliibacillus</i>	2.04	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00
	<i>Solibacillus</i>	0.00	0.20	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Staphylococcus</i>	0.25	0.07	0.04	0.82	1.68	0.68
	Exiguobacteraceae Otro	0.00	1.71	0.01	0.11	0.08	0.08
	<i>Exiguobacterium</i>	0.38	2.49	0.11	0.97	4.60	1.86
	<i>Trichococcus</i>	0.11	0.01	0.03	0.06	0.00	0.00

	<i>Enterococcus</i>	0.01	0.09	0.00	0.11	0.00	0.65
	<i>Lactococcus</i>	0.00	0.71	0.00	0.00	0.00	0.00
Proteobacteria	Rhizobiales	0.02	0.25	0.00	0.00	0.01	0.00
	<i>Balneimonas</i>	0.01	0.04	0.00	0.00	0.19	0.00
	Rhodobacteraceae	0.08	0.20	0.00	0.08	0.00	0.00
	<i>Skermanella</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.12	0.00
	Sphingomonadacea	0.03	0.07	0.00	0.00	0.00	0.05
	Comamonadaceae	0.02	0.00	0.00	0.00	1.07	0.00
	Oxalobacteraceae Otro	0.00	0.24	0.00	0.00	0.01	0.00
	Oxalobacteraceae	1.42	0.35	0.00	0.00	1.47	0.00
	Gammaproteobacteria	26.40	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
	Enterobacteriaceae Otro	22.41	12.34	0.00	0.22	0.39	0.00
	Enterobacteriaceae	20.03	46.37	0.00	0.01	3.88	0.00
	<i>Citrobacter</i>	0.01	4.27	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Enterobacter</i>	0.12	0.17	0.00	0.01	0.01	0.00
	<i>Erwinia</i>	1.65	0.09	0.00	0.07	12.53	0.00
	<i>Serratia</i>	0.57	0.19	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Acinetobacter</i>	1.53	5.41	2.82	3.41	24.01	25.55
	<i>Pseudomonas</i>	0.03	2.55	0.09	0.01	7.37	0.00
Thermi	<i>Deinococcus</i>	0.48	0.94	0.01	0.37	0.83	1.19

Para la época seca-cálida, se estimó la abundancia de 58 grupos bacterianos (≥ 0.1 % en abundancia relativa), las OTU se asignaron de nuevo a los mismos phyla (Actinobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes, Proteobacteria y Thermi), pero en diferente abundancia de bacterias. Se registró el mayor porcentaje en CB del género *Bacillus* (69.63 %), seguido SL con la familia Planococcaceae (34.65 %), así como en SM el género *Paenibacillus* (19.15 %). También se identificó un porcentaje importante de comunidades bacterianas pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae (26.57 %) en ZC (tabla 3.4). Otros constituyentes menores registrados en los seis sitios incluyeron: *Microbacterium*, *Microbispora*, *Streptomyces*, *Planomicrobium*, *Exiguobacterium*, *Balneimonas*, *Agrobacterium* y *Deinococcus*, así como grupos bacterianos de la familia Actinomycetales, Micrococcaceae Otro, Micrococcaceae, Bacillales Otro, Bacillaceae, Exiguobacteraceae Otro, Rhizobiales Otro, Sphingomonadacea, Oxalobacteraceae Otro y Oxalobacteraceae. El total de los OTU identificados se encuentran en Anexos 3D.

Tabla 3.4. Abundancia relativa (%) de las bacterias identificadas en los seis sitios de la ZMVT (seca-cálida).

Bacterias identificadas (OTU ID)		OX	CB	SM	SC	ZC	SL	
Actinobacteria	<i>Corynebacterium</i>	0.00	0.28	0.02	0.04	0.10	0.00	
	<i>Microbacterium</i>	0.47	0.43	0.34	0.33	0.92	0.19	
	Micrococcacea Otro	0.04	0.27	0.13	0.14	0.11	0.32	
	Micrococcaceae	0.02	0.10	0.03	0.26	0.18	0.13	
	<i>Kocuria</i>	0.01	0.00	0.00	0.00	0.11	0.00	
	<i>Microbispora</i>	0.16	0.11	0.05	0.20	0.09	0.06	
	<i>Rhodococcus</i>	0.00	0.02	0.00	0.00	0.26	0.00	
	<i>Streptomyces</i>	0.85	0.09	0.46	0.59	0.41	0.26	
Bacteroidetes	Cytophagaceae	0.19	0.27	0.00	0.05	0.03	0.00	
	<i>Hymenobacter</i>	0.00	0.02	0.02	0.00	0.21	0.00	
	<i>Pontibacter</i>	0.00	0.00	0.00	0.10	0.00	0.01	
	<i>Chryseobacterium</i>	0.82	0.01	0.02	0.02	0.03	0.00	
Firmicutes	Bacillales Otro	1.13	0.52	1.90	2.03	0.92	0.24	
	Bacillales	0.26	1.05	0.56	1.47	1.15	0.19	
	Bacillaceae Otro	1.74	1.10	0.62	2.87	0.28	0.63	
	Bacillaceae	0.26	0.99	0.27	0.34	0.01	0.43	
	<i>Bacillus</i>	41.95	69.63	36.34	60.64	46.88	45.23	
	<i>Brevibacillus</i>	2.17	0.00	0.48	0.00	0.38	0.00	
	<i>Paenibacillus</i>	3.69	1.94	19.15	4.97	0.12	10.20	
	Planococcaceae Otro	0.00	0.26	1.20	0.03	0.01	0.02	
	Planococcaceae	8.13	1.60	5.01	2.24	2.83	34.65	
	<i>Lysinibacillus</i>	0.00	0.36	0.57	0.00	0.01	0.00	
	<i>Planomicrobium</i>	3.36	1.46	2.77	2.54	4.20	1.19	
	<i>Rummeliibacillus</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	1.26	0.01	
	<i>Solibacillus</i>	0.15	0.00	0.10	4.79	1.03	0.00	
	<i>Sporosarcina</i>	0.00	0.01	0.00	0.01	0.00	0.79	
	<i>Viridibacillus</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.06	1.25	
	<i>Staphylococcus</i>	1.12	0.01	0.01	0.07	0.22	0.00	
	Exiguobacteraceae Otro	1.71	1.04	4.45	0.78	0.62	0.09	
	<i>Exiguobacterium</i>	0.22	0.87	2.47	0.82	1.81	0.10	
	Proteobacteria	Rhizobiales Otro	0.16	0.11	0.31	0.27	0.10	0.03
		Rhizobiales	0.01	0.01	0.07	0.11	0.00	0.03
Bradyrhizobiacea Otro		0.02	0.02	0.04	0.10	0.00	0.01	
<i>Balneimonas</i>		0.35	0.19	0.97	1.11	1.22	0.13	
<i>Agrobacterium</i>		0.02	0.01	0.11	0.01	0.01	0.84	
Rhodobacteraceae		0.01	1.39	0.01	0.00	0.00	0.54	
Acetobacteraceae		1.68	0.10	0.02	0.00	0.01	0.01	
<i>Azospirillum</i>		0.01	0.00	0.07	0.00	0.62	0.00	

	<i>Skermanella</i>	0.13	0.01	0.05	0.02	0.03	0.00
	Sphingomonadacea	0.16	0.17	0.93	0.67	0.11	0.13
	Betaproteobacteria	1.70	0.04	0.01	0.00	0.00	0.00
	Comamonadacea Otro	0.00	0.15	0.01	0.00	0.00	0.00
	Oxalobacteraceae Otro	6.86	0.53	0.36	1.76	0.38	0.07
	Oxalobacteraceae	14.29	9.92	2.33	8.80	0.79	1.70
	<i>Cupriavidus</i>	0.00	0.44	0.00	0.00	0.00	0.00
	<i>Janthinobacterium</i>	0.46	0.12	0.01	0.00	0.00	0.00
	Gammaproteobacteria Otro	0.00	0.00	0.00	0.03	0.12	0.03
	Enterobacteriaceae Otro	2.90	0.56	8.27	0.00	1.01	0.00
	Enterobacteriaceae	0.88	0.46	1.76	0.02	26.57	0.00
	<i>Enterobacter</i>	0.01	0.25	0.22	0.00	0.35	0.00
	<i>Erwinia</i>	0.25	0.48	0.54	0.00	2.05	0.00
	<i>Acinetobacter</i>	0.06	1.25	0.00	0.23	0.98	0.00
	<i>Enhydrobacter</i>	0.43	0.05	0.00	0.32	0.00	0.00
	Pseudomonadacea Otro	0.00	0.00	5.63	0.00	0.00	0.00
	Pseudomonadaceae	0.01	0.08	0.03	0.10	0.01	0.01
	<i>Pseudomonas</i>	0.00	0.32	0.30	0.01	0.01	0.00
Thermi	<i>Deinococcus</i>	0.01	0.30	0.04	0.27	0.47	0.18
	Actinomycetales	0.56	0.08	0.05	0.02	0.05	0.01

3.7.6. Frecuencia de las BAT por sitios

La frecuencia de las BAT en función de las secuencias (≥ 1 % del total de lecturas) fue de 36 microorganismos bacterianos. La figura 3.10 expone mediante una intensidad de color, cómo en la época de lluvias se registró la mayor frecuencia de grupos bacterianos en CB y ZC. El género *Exiguobacterium* y la especie *Acinetobacter lwoffii* estuvieron presentes en todos los sitios de estudio (lluvias). En contraste con la época seca-cálida, la frecuencia de las bacterias aumentó en SM, SC y fue muy representativa en CB, permaneciendo en los seis sitios el género *Planomicrobium*, organismos del orden Bacillales, bacterias de las familias Oxalobacteraceae y Planococcaceae. También, en ambas épocas se detectaron bacterias que mantuvieron su frecuencia en la mayoría de los sitios de la ZMVT que incluyó: *Bacillus*, *B. flexus* y *B. cereus*.

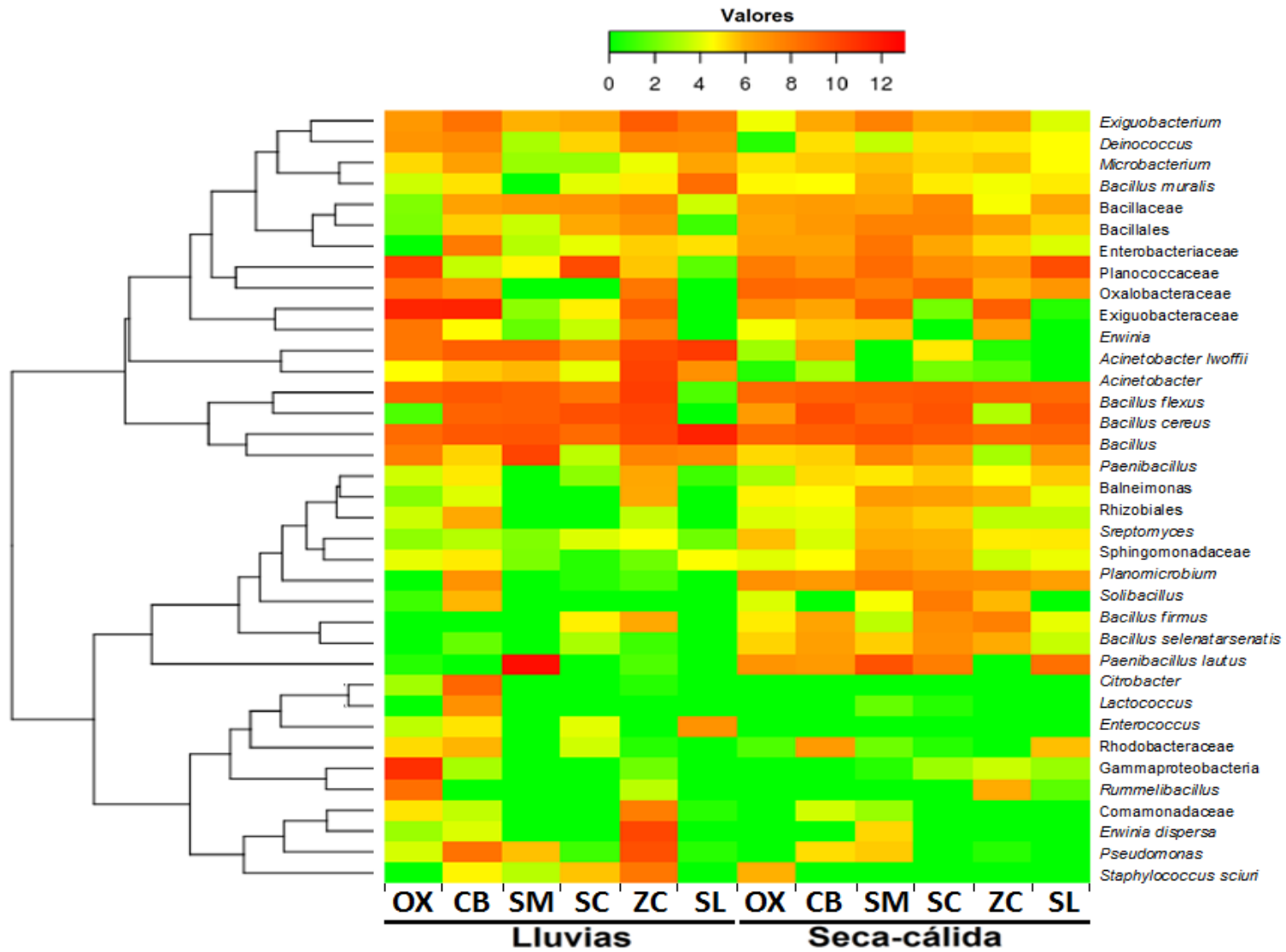


Figura 3.10. Frecuencia de las BAT por encima del 1 % del total de lecturas.

3.8. Discusión

Se observó que las BAT colectadas en la ZMVT, requieren 48 h para crecer en un medio de cultivo, ya que el registro de las UFC se observó durante este periodo de tiempo; en los sitios de CB (lluvias: 104 UFC y seca-cálida: 103 UFC) y SC (lluvias: 101 UFC y seca-cálida: 119 UFC) el crecimiento fue ligeramente similar, mientras que en el resto de los sitios fue muy variable. Sin embargo, los recuentos de placas están sujetos a errores, porque las BAT podrían ser viables y perder la capacidad de formar colonias, es decir, están presentes, pero no sobreviven en el medio utilizado. Si las BAT, presentan este fenómeno, los datos obtenidos están subestimados y no estarían representando adecuadamente el total de bacterias presentes en el aire.

Vale la pena señalar que existe una diferencia importante en la composición bacteriana del aire de la ZMVT, ya que en lluvias y en la seca-cálida, las bacterias en el aire tienen una distribución diferente con respecto a la época del día muestreado. Algunos reportes realizados por Agarwal (2017), sugieren que la variación estacional es atribuida a las condiciones geográficas y meteorológicas del sitio de estudio.

Los resultados de este trabajo, evidencian los phyla con mayor abundancia: Firmicutes y las Proteobacteria, resultados similares a lo registrado por García-Mena et al. (2016) en ciudades tan grandes como la Ciudad de México, incluso en conjunto con las Actinobacterias y Cyanobacterias son muy comunes en muestras de bioaerosoles urbanos (Serrano-Silva y Calderón-Ezquerro, 2018). En este contexto, el phylum Firmicutes es más común en la atmósfera de ecosistemas urbanos, gracias a sus estrategias de vida al formar propágulos inactivos (por ejemplo, esporas), muy característico en especies de *Bacillus* y otras bacterias Gram positivas, por tanto, son organismos ubicuos en amplios rangos geográficos (Womack, 2010). Dado que, características como los altos niveles de partículas suspendidas en las grandes urbes, Lu et al. (2018) evidenciaron la contribución de las partículas gruesas con la abundancia de grupos bacterianos Gram positivos

(Firmicutes) ya que las partículas más gruesas poseen mayor superficie para la adhesión de los microorganismos, mientras que las que tienen superficies lisas disminuyen la eficacia de la adhesión, este hallazgo está de acuerdo con la abundancia observada de Firmicutes registrados en la ZMVT y la cantidad partículas suspendidas de fracción respirable (PM_{10} y O_3), donde para el año 2017 la calidad del aire fue reportada como regular y para el año 2018 como mala (RAMA, 2019). Apoyando la hipótesis de una asociación entre este grupo de bacterias aéreo-transportadas y las partículas gruesas suspendidas, sin embargo, se requieren de estudios posteriores para confirmar esta percepción.

Investigaciones recientes en sitios urbanos y rurales, han demostrado cómo predomina en zonas urbanas el phylum Proteobacteria (Liu et al., 2019), no obstante, en este trabajo las BAT integrantes de este phylum tuvieron una baja abundancia. Características de algunos ejemplares de las Proteobacteria, es que están relacionadas con especies bacterianas fijadoras de nitrógeno, además están asociadas con los ciclos ambientales en el aire de este elemento (Aziz et al., 2018) y la baja abundancia de estos phyla en la ZMVT es justificable, ya que la mayoría de los municipios que la conforman, tienen características de zonas rurales y la superficie del suelo es de uso agrícola, forestal y en mayor proporción de uso urbano (SMAGEM y SEMARNAT, 2016). También, llama la atención la presencia del phylum Cyanobacteria, resultados que coinciden con los realizados por varios autores, favoreciendo el planteamiento de que las bacterias marinas en su mayoría integrantes de este phylum, pueden ser transportados por corrientes de aire a grandes distancias entre los continentes, y así pueden depositarse en las áreas más distantes del mundo diseminándose a través de las nubes y la precipitación (Polymenakou, 2012; Hu et al., 2017).

La diversidad α , mostró en los gráficos (observado, Chao1, Shannon y Simpson) marcadas diferencias entre ambas épocas, sin embargo, el análisis estadístico determinó que no existían diferencias significativas. El número de muestreos y los datos con valores muy extremos registrados en este trabajo, podrían explicar una de las razones principales a este resultado. Mientras que la

diversidad β , registró una marcada disimilitud y una diversidad estadísticamente significativa, en este sentido las bacterias en el aire tienen una distribución diferente con respecto a la temperatura que requiere su óptimo desarrollo y crecimiento (Fang et al., 2018).

Los resultados derivados del análisis LEfSe, muestran las BAT con mayor abundancia en lluvias incluyen: los géneros *Acinetobacter*, *Mycobacterium*, *Variovorax*, *Trichococcus* y la familia Microbacteriaceae. En primer lugar, son reducidas las BAT identificadas en este día de muestreo, por las precipitaciones ocurridas en esta época contribuyendo con la limpieza de la atmósfera, mecanismo que eliminó bacterias asociadas a partículas suspendidas en la columna de aire (Jang et al., 2018), otra segunda explicación es que los orígenes de las muestras de aire fueron colectadas en un episodio donde la lluvia ya había realizado el “lavado” y en términos de contaminación microbiológica, el aire de la ZMVT era “más limpio”.

El género *Acinetobacter* (Proteobacteria), con 57 especies reportadas a la fecha, comúnmente se encuentran en el suelo, en cuerpos de agua naturales y residuales. Se ha demostrado que grupos bacterianos de este género están ampliamente asociados con nódulos de la raíz en plantas, en vegetales crudos, lavados y congelados (Juni, 2015), también se han identificado en productos de pescado congelados (Zotta et al., 2019). Algunas especies como *Acinetobacter baumannii* son resistentes a varios fármacos como los carbapenemas, antibióticos betalactámicos con amplio espectro de actividad bactericida y otras especies son patógenos oportunistas y nosocomiales que generan infecciones en el torrente sanguíneo e incluso llegan a producir neumonía (McDonald et al., 1999), endocarditis, meningitis, infecciones en heridas quirúrgicas y tracto urinario (Lee et al., 2017), infecciones en la piel y otros tejidos blandos (Peleg et al., 2008).

En informes realizados por VandeWalle et al. (2012), reportaron una relación entre las poblaciones de *Acinetobacter*, *Aeromonas* y *Trichococcus* en la infraestructura de alcantarillado urbano, ya que los sistemas de aguas pluviales

liberan estas especies facilitando su propagación a través de las tuberías de alcantarillado, al grado en que la infraestructura urbana afecta a los ríos, lagos y costas urbanas de todo el mundo (McLellan y Roguet, 2019). Así mismo, el género *Trichococcus* (Firmicutes), está integrado por ocho especies Gram positivos hasta ahora reportadas, de las cuales *Trichococcus flocculiformis*, *Trichococcus pasteurii* y *Trichococcus collinsii* han sido aislados de pantanos, guano de pingüinos, suelo y sitios contaminados por hidrocarburos (Rainey, 2015); tienen la capacidad de crecer en un amplio rango de temperaturas, menores a los 0 °C hasta más de 45 °C (Strepis et al., 2016). Actualmente, no hay reportes asociados con alguna patogénesis en el humano, por el contrario, los ejemplares de *Trichococcus*, tienen particularidades con potencial para aplicaciones biotecnológicas que incluyen: biorremediación ambiental, producción de polisacáridos extracelulares, ácido láctico y moléculas con propiedades anticongelantes (Pikuta y Hoover, 2014), por lo que la presencia de estos dos géneros *Acinetobacter* y *Trichococcus* en la ZMVT, podrían derivar de diversas fuentes.

La familia Microbacteriaceae (Actinobacteria), comprende 21 géneros (por ejemplo: *Agromyces*, *Clavibacter*, *Cutobacterium* y *Microbacterium*), varían de morfología celular (desde coccoide, bastones irregulares hasta hifas de fragmentación ramificada), residen en hábitats naturales terrestres y acuáticos; en asociación con plantas, animales, algas, hongos y algunas son consideradas organismos nosocomiales (Evtushenko y Takeuchi, 2006). También, se ha informado de especies capaces de reducir la contaminación por metales pesados y ser altamente resistentes a la radiación UV y desecación (Evtushenko, 2015), características que podrían explicar la presencia abundante de esta familia en la ZMVT, donde el clima urbano, está relacionado con islas de calor generado a partir de la concentración de edificios y calles pavimentadas que contribuyen a que el aire caliente se acumule en el centro de la ciudad (Morales et al., 2007).

En esta investigación, se identificó una abundancia representativa del género *Mycobacterium* integrante de la familia Mycobacteriaceae, hasta el año 2019, se han reportado 213 especies y subespecies con publicación válida (Parte, 2018),

el género incluye parásitos obligados, saprófitos y formas oportunistas. La mayoría de las especies micobacterianas viven de manera natural en el suelo y cuerpos de agua, sin embargo el mayor nicho ecológico son huéspedes de sangre caliente, y la mayoría de las infecciones en humanos se deben a *Mycobacterium leprae* o *Mycobacterium tuberculosis*, esto es particularmente en individuos con el sistema inmune debilitado (Magee y Ward, 2015). En Toluca, de acuerdo con datos del ISEM (2019) han sido 60 los casos nuevos notificados por tuberculosis para el año 2017, de los cuales 22 casos acontecieron en la época de lluvias, sin existir ningún reporte por lepra, por lo que la abundancia de esta bacteria, podría relacionarse con la ocurrencia de tuberculosis en la ZMVT.

El género *Variovorax* (Proteobacteria), tiene nueve especies reportadas, son rizobacterias móviles Gram negativas que forman colonias amarillentas; crecen a temperaturas de 20-35 °C (Gao et al., 2015) y promueven el crecimiento en las plantas. Nguyen y Kim (2016), mencionan que especies de este género degradan sustratos como la quitina, celulosa y facilitan procesos de biodegradación en la naturaleza. También se ha reportado que las cepas de *Variovorax* son capaces de degradar policarbonatos alifáticos polihexametileno, carbonatos y complejos metálicos (Willems et al., 2015), incluso existe evidencia de que pueden degradar el isopreno (Carrión et al., 2018).

En el día correspondiente a la seca-cálida, se identificaron 27 grupos bacterianos, de los cuales sobresalen: *Stenotrophomonas* (con 18 especies reportadas), es un bacilo de distribución universal, típicamente se encuentran en el suelo, agua, vegetales y animales; especies como *Stenotrophomonas maltophilia*; son consideradas bacterias nosocomiales, capaces de causar infecciones respiratorias, ya que fácilmente pueden alojarse en las manos del personal sanitario (Corzo-Delgado et al., 2006). El género *Blautia*, integrado por 13 especies Gram positivas (Parte, 2013), caracterizados por ser anaerobios estrictos y formar parte de la microbiota en el intestino humano (Bircher et al., 2018), han sido aislados de heces y apéndice cecal en mamíferos (Shin et al., 2018), al igual que *Collinsella* (Actinobacteria), con cinco especies reportadas (Parte, 2013),

fueron detectadas de manera abundante en el tracto gastrointestinal de humanos (Bag et al., 2017). Otro género que se presenta en heces fecales humanas y del que existe reducida información es *Dorea* (Firmicutes), ya que actualmente solo han sido reportadas dos especies (Taras et al., 2002), caso similar lo es *Faecalibacterium*, con solo una especie reportada *Faecalibacterium prausnitzii* (Jayasudha et al., 2018) ambas registradas en este estudio.

Asimismo, *Propionibacterium* (22 especies y subespecies reportadas), es un comensal de la piel y patógeno oportunista que causa infecciones asociadas a implantes (Achermann et al., 2014). *Lactobacillus*, con más de 170 ejemplares, es considerado como uno de los colonizadores más abundantes del colon del hombre, si bien forman parte de la microbiota gastrointestinal y vaginal en humanos, también pueden ser patógenos ocasionales (Goldstein et al., 2015). *Sphingomonas*, con 128 especies reportadas, forman colonias con pigmento amarillo y han sido clasificadas como oportunistas emergentes, asociadas con alteraciones en la microbiota bacteriana de personas con cáncer de colon (Richard et al., 2018); bacterias como *Sphingomonas paucimobilis* causan afecciones en los huesos y tejidos blandos de personas inmunocompetentes (El Beaino et al., 2018). *Rhodococcus* con 66 especies reportadas, es un cocobacilo aerobio, Gram positivo; ejemplares como *Rhodococcus equi*, causan enfermedades oportunistas inusuales en personas con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (VIH) y en ocasiones los síntomas pueden confundirse con tuberculosis pulmonar (Vechi et al., 2018), mientras que microorganismos como *Rhodococcus ruber*, han mostrado un gran potencial para biorremediar varios entornos contaminados por ésteres de ácido ftálico (DEHP), especialmente en ambientes salinos (Yang et al., 2018), al igual que *Streptomyces* (787 especies y subespecies reportadas) con cepas aisladas de suelos hiperaridos y propiedades bioactivas (Idris et al., 2017), algunas otras han sido detectadas del suelo fangoso (Shen et al., 2018), incluso de manera *in vitro* se ha comprobado la actividad citotóxica contra el cáncer de próstata, cáncer de mama y cáncer de pulmón (Ramirez-Rodriguez et al., 2018). Realizar este tipo de estudios, es importante, para disminuir los riesgos de infecciones causadas por bacterias consideradas oportunistas, diseminadas en el

aire de la ZMVT.

Se puede inferir en este estudio, que las características geográficas de cada sitio de muestreo podrían tener influencia con el tipo de microorganismo identificado, para el caso de SM, donde se registró el género *Paenibacillus* (ambas épocas), que cuenta con patógenos oportunistas responsables de provocar cáncer de piel, nacimientos prematuros, hidrocefalia y leucemia linfoblástica (Grady et al., 2016), la fuente principal podría relacionarse con la suspensión de polvos provenientes de áreas pavimentadas y sin pavimento, la erosión del suelo, así como de áreas agrícolas aledañas. Algunas fuentes puntuales podrían ser la industria del calzado, la cría del ganado para la obtención de las pieles y el proceso de la curtiduría (Pillado et al., 2013), la presencia de animales domésticos (ejemplo: perros, gatos, aves y roedores).

La frecuencia de grupos bacterianos identificados en los sitios de la ZMVT en lluvias, incluyó: *Exiguobacterium* y *Acinetobacter Iwoffii*. Las especies pertenecientes al género *Exiguobacterium*, rara vez provocan afectaciones en la salud humana (Chen et al., 2017), por lo que se sugiere que son parte del entorno natural de la atmósfera de la ZMVT, ya que ha sido reportada su amplia distribución y fuentes de origen como la rizosfera de las plantas, cuerpos de agua naturales y en plantas de procesamiento de alimentos (Vishnivetskaya et al., 2009). Mientras que para el caso de *Acinetobacter Iwoffii*, aunque, es una especie ubicua en el medio ambiente, ha sido documentada como un agente causal de infecciones nosocomiales como sepsis neonatal (Mittal et al., 2015).

En ambas épocas, la frecuencia del género *Bacillus* en el aire de la ZMVT, podría explicarse, por su capacidad de formar endosporas que le permiten resistir condiciones extremas como entornos fríos y calientes (Rodrigues y Tiedje, 2007) y algunas cepas de *Bacillus cereus*, han sido reportadas como agentes de intoxicación alimentaria y como causantes de infecciones en heridas y ojos (Ehling-Schulz et al., 2019), por lo tanto, se sugiere tener ciertos cuidados al manipular alimentos en la calle o expuestos al aire libre, ya que fácilmente podrían contaminarse y causar daños en la salud de las personas que los ingieren. Estudios

similares, en ciudades como Kurdistán (Irán), *Bacillus flexus* ha sido documentado como una cepa resistente a metales pesados que incluyó: zinc, cromo, níquel, cobre, mercurio y cadmio con diferentes concentraciones, concluyendo que esta especie es un transformador de arsénico (Jebeli et al., 2017) y en algunos casos ha sido reportado como una especie nosocomial en pacientes con heridas en quemaduras (Uçar et al., 2016).

3.9. Conclusiones

- El promedio de unidades formadoras de colonias (UFC) en el aire de la Zona Metropolitana del Valle de Toluca (ZMVT) oscilaron entre 18 y 159 UFC.
- Se identificaron 203 grupos bacterianos en los dos días correspondientes a la época de lluvias y seca-cálida, registrándose la mayor abundancia relativa en los phyla Firmicutes y Proteobacteria.
- La diversidad β , mostró diferencias estadísticamente significativas; en la época de lluvias cinco géneros bacterianos fueron los más abundantes: *Acinetobacter*, *Mycobacterium*, *Variovorax*, *Trichococcus* y *Microbacteriaceae*, mientras que en la seca-cálida, se observaron 27 grupos bacterianos, entre los que tienen importancia médica fueron: *Stenotrophomonas*, *Propionibacterium*, *Lactobacillus*, *Sphingomonas* y *Rhodococcus* reportados como patógenos oportunistas.
- La mayor frecuencia de bacterias aéreo-transportadas viables en el aire de la ZMVT en las dos épocas de estudio incluyó: *Bacillus*, *B. flexus* y *B. cereus*.

3.10. Literatura citada

- Achermann Y, Goldstein EJ, Coenye T, Shirliff ME. 2014. *Propionibacterium acnes*: from commensal to opportunistic biofilm-associated, implant pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*, 27(3):419-440.
- Agarwal S. 2017. Seasonal variability in size-segregated airborne bacterial particles and their characterization at different source-sites. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(15):13519-13527.
- Aziz AA, Lee K, Park B, Park H, Park K, Choi IG, Chang IS. 2018. Comparative study of the airborne microbial communities and their functional composition in fine particulate matter (PM_{2.5}) under non-extreme and extreme PM_{2.5} conditions. *Atmospheric Environment*, 194:82-92.
- Bag S, Ghosh TS, Das B. 2017. Complete Genome Sequence of *Collinsella aerofaciens* isolated from the Gut of a Healthy Indian Subject. *Genome Announcements*, 5(47):1-2.
- Baldrian P, Kolařík M, Štursová M, Kopecký J, Valášková V, Větrovský T, Voříšková J. 2012. Active and total microbial communities in forest soil are largely different and highly stratified during decomposition. *The ISME Journal*, 6(2):248-258.
- Bircher L, Geirnaert A, Hammes F, Lacroix C, Schwab C. 2018. Effect of cryopreservation and lyophilization on viability and growth of strict anaerobic human gut microbes. *Microbial Biotechnology*, 721-733.
- Carrión O, Larke-Mejía NL, Gibson L, Haque MFU, Ramiro-García J, McGenity TJ, Murrell JC. 2018. Gene probing reveals the widespread distribution, diversity and abundance of isoprene-degrading bacteria in the environment. *Microbiome*, 6(1):1-11.
- Chen X, Wang L, Zhou J, Wu, H, Li D, Cui Y, Lu B. 2017. *Exiguobacterium* sp. A1b/GX59 isolated from a patient with community-acquired pneumonia and bacteremia: genomic characterization and literature review. *BMC Infectious Diseases*, 17(1):508.
- Corzo-Delgado JE, Gómez-Mateos JM. 2006. *Stenotrophomonas maltophilia*, un patógeno nosocomial de importancia creciente. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 24(1):1-3.

- Ehling-Schulz M, Koehler TM, Lereclus D. 2019. The *Bacillus cereus* group: *Bacillus* species with pathogenic potential. *Microbiology Spectrum*, 7(3):1-60.
- El Beaino M, Fares J, Malek A, Hachem R. 2018. *Sphingomonas paucimobilis*-related bone and soft-tissue infections: a systematic review. *International Journal of Infectious Diseases*, 77:68-73.
- Evtushenko LI and Takeuchi M. 2006. The family Microbacteriaceae. In: *The prokaryotes*. Springer. New York, 1020-1098.
- Evtushenko LI. 2015. Microbacteriaceae. In: Whitman W, Goodfellow, M, Kämpfer P, Busse HJ, Trujillo M, Ludwig W, Suzuki KI, Parte A, editors. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. John Wiley & Sons. Moscow, Russia, 1-14.
- Fang Z, Guo W, Zhang J, Lou X. 2018. Influence of heat events on the composition of airborne bacterial communities in urban ecosystems. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(10):2295.
- Fykse EM, Tjärnhage T, Humppi T, Sorvik VE, Ingebretsen A, Skogan G, Olofsson G, Wästerby P, Gradmark P, Larsson A, Dybwad M, Blantny JM. 2015. Identification of airborne bacteria by 16S rDNA sequencing, MALDI-TOF MS and the MIDI microbial identification system. *Aerobiologia*, 31:271-281.
- Gao JL, Yuan M, Wang XM, Qiu TL, Li JW, Liu HC, Li X, Sun JG. 2015. *Variovorax guangxiensis* sp. nov., an aerobic, 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase producing bacterium isolated from banana rhizosphere. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 107(1):65-72.
- García-Mena J, Murugesan S, Pérez-Muñoz AA, García-Espitia M, Maya O, Jacinto-Montiel M, Giselle Monsalvo-Ponce G, Piña-Escobedo A, Domínguez-Malfavón L, Gómez-Ramírez M, Cervantes-González E, Núñez-Cardona MT. 2016. Airborne bacterial diversity from the low atmosphere of greater Mexico City. *Microbial Ecology*, 72(1):70-84.
- Genitsaris S, Stefanidou N, Katsiapi M, Kormas KA, Sommer U, Moustaka-Gouni. 2017. Variability of airborne bacteria in an urban Mediterranean area (Thessaloniki, Greece). *Atmospheric Environment*, 157:101-110.
- Goldstein EJ, Tyrrell KL, Citron DM. 2015. *Lactobacillus* species: taxonomic

- complexity and controversial susceptibilities. *Clinical Infectious Diseases*, 60(sup1_2):S98-S107.
- Grady EN, MacDonald J, Liu L, Richman A, Yuan ZC. 2016. Current knowledge and perspectives of *Paenibacillus*: a review. *Microbial Cell Factories*, 15(203):1-18.
- Hu W, Murata K, Horikawa Y, Naganuma A, Zhang D. 2017. Bacterial community composition in rainwater associated with synoptic weather in an area downwind of the Asian continent. *Science of the Total Environment*, 601:1775-1784.
- Idris H, Labeda DP, Nouioui I, Castro JF, del Carmen Montero-Calasanz M, Bull JA, Goodfellow M. 2017. *Streptomyces aridus* sp. nov., isolated from a high altitude Atacama Desert soil and emended description of *Streptomyces noboritoensis* Isono et al. 1957. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 110(5):705-717.
- ISEM. Instituto de Salud del Estado de México. 2019. Boletín Epidemiológico Estado de México. Semana Epidemiológica No. 13 del 25 al 31 de marzo del 2018. *Estado de México*, 13(1057):12.
- Jaenicke R. 2005. Abundance of cellular material and proteins in the atmosphere. *Science*, 308(5718):73.
- Jang GI, Hwang CY, Cho BC. 2018. Effects of heavy rainfall on the composition of airborne bacterial communities. *Frontiers of Environmental Science and Engineering*, 12(2):12.
- Jayasudha R, Chakravarthy SK, Prashanthi GS, Sharma S, Garg P, Murthy SI, Shivaji S. 2018. Alterations in gut bacterial and fungal microbiomes are associated with bacterial keratitis, an inflammatory disease of the human eye. *Journal of Biosciences*, 43(5):835-856.
- Jebeli MA, Maleki A, Amoozegar MA, Kalantar E, Izanloo H, Gharibi F. 2017. *Bacillus flexus* strain As-12, a new arsenic transformer bacterium isolated from contaminated water resources. *Chemosphere*, 169:636-641.
- Juni E. 2015. *Acinetobacter*. In: *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. John Wiley and Sons. USA, 1-26.
- Klein AM, Bohannan BJM, Jaffe DA, Levin DA, Green JL. 2016. Molecular evidence for metabolically active bacteria in the atmosphere. *Frontiers in Microbiology*, 7:1-11.

- Lee CR, Lee JH, Park M, Park KS, Bae QG, Kim YB, Lee SH. 2017. Biology of *Acinetobacter baumannii*: pathogenesis, antibiotic resistance mechanisms, and prospective treatment options. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 7(55):1-35.
- Liu H, Hu Z, Zhou M, Hu J, Yao X, Zhang H, Li Z, Lou L, Xi C, Qian H, Li C, Xu X, Zheng P, Hu B. 2019. The distribution variance of airborne microorganisms in urban and rural environments. *Environmental Pollution*, 247:898-906.
- Lu R, Li Y, Li W, Xie Z, Fan C, Liu P, Deng D. 2018. Bacterial community structure in atmospheric particulate matters of different sizes during the haze days in Xi'an, China. *Science of the Total Environment*, 637(638):244–252.
- Madigan MT, Martinko JM, Dunlap PV, Clark DP. 2009. *Brock Biología de los Microorganismos*. Pearson. México, 1259 p.
- Magee JG y Ward AC. 2015. *Mycobacterium*. In: *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. John Wiley and Sons. UK, 1-84.
- McDonald LC, Banerjee SN, Jarvis WR. 1999. Seasonal variation of *Acinetobacter* infections: 1987–1996. *Clinical Infectious Diseases*, 29(5):1133-1137.
- McLellan SL and Roguet A. 2019. The unexpected habitat in sewer pipes for the propagation of microbial communities and their imprint on urban waters. *Current Opinion in Biotechnology*, 57:34-41.
- Meola M, Lazzaro A, Zeyer J. 2015. Bacterial composition and survival on Sahara dust particles transported to the European Alps. *Frontiers in Microbiology*, 6(1454):1-17.
- Merriman B, R&D Team I.T. Rothberg JM. 2012. Progress in Ion Torrent semiconductor chip based sequencing. *Electrophoresis*, 33(23):3397-3417.
- Mittal S, Sharma M, Yadav A, Bala K, Chaudhary U. 2015. *Acinetobacter lwoffii* an emerging pathogen in neonatal ICU. *Infectious Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Infectious Disorders)*, 15(3):184-188.
- Morales CCM; Madrigal DU, González LAB. 2007. Isla de calor en Toluca, México. *Ciencia Ergo-Sum*, 14(3):307-316.
- Nguyen TM and Kim J. 2016. Description of *Variovorax humicola* sp. nov., isolated from a forest topsoil. *International Journal of Systematic and Evolutionary*

- Microbiology, 66(7):2520-2527.
- Nirmalkar K, Murugesan S, Pizano-Zárata ML, Villalobos-Flores LE, García-González C, Morales-Hernández RM, Núñez-Hernández JA, Hernández-Quiroz F, Romero-Figueroa MS, Hernández-Guerrero C, Hoyo-Vadillo C, García-Mena J. 2018. Gut microbiota and endothelial dysfunction markers in obese Mexican children and adolescents. *Nutrients*, 10(12):1-23.
- Parte AC. 2013. LPSN- List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature. *Nucleic Acids Research*, 42(D1):D613-D616.
- Parte AC. 2018. LPSN- List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (bacterio.net), 20 years on. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 68(6):1825-1829.
- Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. 2008. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*, 21(3):538-582.
- Pikuta EV and Hoover RB. 2014. Lactic acid bacteria biodiversity and taxonomy. Historical background and chronology of nomenclature for *Trichococcus* species. Consultado el 10 de febrero de 2019. Disponible en <https://books.google.com.mx/books?id=9Xx-AwAAQBAJ&pg=PT278&dq=The+genus+Trichococcus&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwiZtLWIqq3gAhVBnq0KH XtKCvAQ6AEIMDAB#v=onepage&q&f=false>.
- Pillado KV. 2013. Efectos en las actividades económicas en los pueblos ribereños del curso alto del río Lerma por la extracción del agua de las lagunas (1942-2011). [Tesis de maestría]. Facultad de Química, Universidad Autónoma del Estado de México. México, 140 p.
- Polymenakou PN. 2012. Atmosphere: a source of pathogenic or beneficial microbes?. *Atmosphere*, 3(1):87-102.
- Pöschl U and Shiraiwa M. 2015. Multiphase chemistry at the atmosphere-biosphere interface influencing climate and public health in the anthropocene. *Chemical Reviews*, 115(10):4440-4475.
- Rainey FA. 2015. *Trichococcus*. In: *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. John Wiley and Sons. USA, 1-7.
- RAMA. Red Automática de Monitoreo Atmosférico de la ZMT. 2019. Reportes

- Mensuales 2018 Mosaico de la calidad del aire por partículas suspendidas fracción respirable (PM_{2.5}) en la Zona Metropolitana del Valle de Toluca (2011-2019). Consultado el 11 de febrero de 2019. Disponible en http://rama.edomex.gob.mx/sites/rama.edomex.gob.mx/files/files/RAMA_PD_F_MPM2_5_FEB18.pdf.
- Ramirez-Rodriguez L, Stepanian-Martinez B, Morales-Gonzalez M, Diaz L. 2018. Optimization of the cytotoxic activity of three *streptomyces* strains isolated from Guaviare river sediments (Colombia, south America). *BioMed Research International*, 2018:1-14.
- Richard ML, Liguori G, Lamas B, Brandi G, da Costa G, Hoffmann TW, Campieri M. 2018. Mucosa-associated microbiota dysbiosis in colitis associated cancer. *Gut Microbes*, 9(2):131-142.
- Rodrigues DF and Tiedje JM. 2007. Multi-locus real-time PCR for quantitation of bacteria in the environment reveals *Exiguobacterium* to be prevalent in permafrost. *FEMS Microbiology Ecology*, 59(2):489-499.
- Serrano-Silva N and Calderón-Ezquerro MC. 2018. Metagenomic survey of bacterial diversity in the atmosphere of Mexico City using different sampling methods. *Environmental Pollution*, 235:20-29.
- Shen Y, Sun T, Jiang S, Mu S, Li D, Guo X, Xiang W. 2018. *Streptomyces lutosisoli* sp. nov., a novel *Actinomycete* isolated from muddy soil. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 111(12):2403-2412.
- Shin NR, Kang W, Tak EJ, Hyun DW, Kim PS, Kim HS, Kim HS, Lee JY, Sung H, Whon TW, Bae JW. 2018. *Blautia hominis* sp. nov., isolated from human faeces. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 68(4):1059-1064.
- SMAGEM y SEMARNAT. Secretaría del Medio Ambiente del Gobierno del Estado de México y Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales. 2016. Programa para Mejorar la Calidad del Aire del Valle de Toluca (2012-2017). Consultado el 4 de abril de 2018. Disponible en https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/69287/8_ProAire_ZMVT.pdf.
- Smith DJ, Ravichandar JD, Jain S, Griffin DW, Yu H, Tan Q, Thissen J, Lusby T,

- Nicoll P, Shedler S, Martinez P, Osorio A, Lechniak J, Choi S, Sabino K, Iverson K, Chan L, Jaing C, McGrath J. 2018. Airborne bacteria in earth's lower stratosphere resemble taxa detected in the troposphere: results from a new NASA Aircraft Bioaerosol Collector (ABC). *Frontiers in Microbiology*, 9:1-14.
- Strepis N, Sánchez-Andrea I, van Gelder AH, van Kruistum H, Shapiro N, Kyrpides N, Göker M, Hans-Peter K, Schaap P, Stams AJM, Sousa DZ. 2016. Description of *Trichococcus ilyis* sp. nov. by combined physiological and in silico genome hybridization analyses. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66(10):3957-3963.
- Taras D, Simmering R, Collins MD, Lawson PA, Blaut M. 2002. Reclassification of *Eubacterium formicigenerans* Holdeman and Moore 1974 as *Dorea formicigenerans* gen. nov., comb. nov., and description of *Dorea longicatena* sp. nov., isolated from human faeces. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52(2):423-428.
- Uçar AD, Ergin ÖY, Avcı, M, Arı A, Yıldırım M, Erkan N. 2016. *Bacillus flexus* outbreak in a tertiary burn center. *Burns: Journal of the International Society for Burn Injuries*, 42(4):948-949.
- VandeWalle JL, Goetz GW, Huse SM, Morrison HG, Sogin ML, Hoffmann RG, Yan K, McLellan SL. 2012. *Acinetobacter*, *Aeromonas* and *Trichococcus* populations dominate the microbial community within urban sewer infrastructure. *Environmental Microbiology*, 14(9):2538-2552.
- Vázquez-Baeza Y, Pirrung M, Gonzalez A, Knight R. 2013. EMPeror: a tool for visualizing high-throughput microbial community data. *Giga Science*, 2(1):1-4.
- Vechi HT, Oliveira ETGD, Freitas MRD, Rossi F, Britto MHMFD, Alves MDM. 2018. Chronic cavitary pneumonia by *Rhodococcus equi* in a highly prevalent tuberculosis country: a diagnosis challenge. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 60:1-6.
- Vishnivetskaya TA, Kathariou S, Tiedje JM. 2009. The *Exiguobacterium* genus: biodiversity and biogeography. *Extremophiles*, 13(3):541-555.
- Walser SM, Gerstner DG, Brenner B, Bünger J, Eikmann T, Janssen B, Kolb S, Kolk A, Nowak D, Raulf M, Sagunski H, Sedlmaier N, Suchenwirth R, Wiesmûler G,

- Wollin KM, Tesseraux I, Sagunski H. 2015. Evaluation of exposure-response relationships for health effects of microbial bioaerosols-a systematic review. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 218(7):577-589.
- Willems A, Mergaert J, Swings J. 2015. *Variovorax*. In: *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. John Wiley & Sons. Belgium, 1-9.
- Winstock MG. 2011. Chapter 18 The impact of next-generation sequencing technologies on metagenomics. In: De Bruijn FJ. *Handbook of molecular microbial ecology I: metagenomics and complementary approaches*. John Wiley and Sons. New Jersey, p. 143-147.
- Womack AM, Bohannan BJM, Green JL. 2010. Biodiversity and biogeography of the atmosphere. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 365(1558):3645-3653.
- Yang T, Ren L, Jia Y, Fan S, Wang J, Wang J, Wang J, Nahurira R, Wang H, Yan Y. 2018. Biodegradation of Di-(2-ethylhexyl) phthalate by *Rhodococcus ruber* YC-YT1 in contaminated water and soil. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(5):964.
- Zotta T, Parente E, Ianniello R G, De Filippis F, Ricciardi A. 2019. Dynamics of bacterial communities and interaction networks in thawed fish fillets during chilled storage in air. *International Journal of Food Microbiology*, 293:102-113.

Anexo 3A. Proceso para la extracción de DNA bacteriano utilizando el kit DNeasy PowerSoil (100 pruebas) con No. Catálogo 12888-100.

— Sample to Insight —



PowerSoil Kit, extracción de ADN:

- 1.** Agregar 200µl de la muestra al tubo PowerBead (tubos con piedritas rojas) y mezclar suavemente con el vórtex.
- 2.** Añadir 60 µl de solución **C1** y colocar en el vórtex por 10 min.
- 3.** Centrifugar los tubos a 10,000 rfc durante 30 s.
- 4.** Transferir 500 µl del sobrenadante a un tubo limpio de 2 ml (con la pipeta de 200 µl azul oscuro).
- 5.** Añadir 250 µl de solución **C2** y agitar en el vórtex durante 30 s. Incubar a 4°C durante 5 min.
- 6.** Centrifugar los tubos durante 1 min a 10, 000 rfc.
- 7.** Evitando el pellet, transfiera 600 µl del sobrenadante a un tubo de 2 ml limpio.
- 8.** Añadir 200 µl de solución **C3** y agitar con el vórtex brevemente 30 s. Incubar a 4°C durante 5 min.
- 9.** Centrifugar los tubos durante 1 min a 10,000 rfc.
- 10.** Evitando el gránulo, transfiera 750 µl del sobrenadante a un tubo limpio de 2 ml (con la pipeta de 200 µl).
- 11.** Colocar la solución **C4** y añadir 1200 µl al tubo de 2 ml, mezclar con el vórtex durante 30 s.
- 12.** Extraer 675 µl en la columna *MB Spin Column* y centrifugar a 10,000 rfc durante 1 min (desechar el líquido/vaciar).
- 13.** Repita el paso dos veces, hasta que toda la muestra haya sido procesada.
- 14.** Añadir 500 µl de la solución **C5**. Centrifugar durante 30 s a 10,000 rfc.
- 15.** Vaciar (que no quede nada). Centrifugar de nuevo durante 1 min a 10,000 rfc.
- 16.** Coloque cuidadosamente la columna *MB Spin Column* en un tubo limpio de 2 ml.
- 17.** Añadir 100µl de solución **C6** al centro de la membrana filtrante. Esperar por 2 min.
- 18.** Centrifugar durante 1 min a 10,000 rfc. Deseche la columna giratoria de *MB Spin Column*. El ADN está ahora listo para aplicaciones posteriores.

Anexos 3B. Barcode utilizados para la secuenciación masiva en muestras de aire de la ZMVT en las épocas: lluvias y seca-cálida.

#Sample ID	Barcode	LinkerPrimerSequence	Input_file_name	Description
Época de lluvias				
SC	GATCTGCGA TCC	CCATCTCATCCCTGCGTGT CTCCGACTCAG	V3-341F1-.trimm.fna	August17
SM	CAGCTCATC AGC	CCATCTCATCCCTGCGTGT CTCCGACTCAG	V3-341F2-.trimm.fna	August17
OX	CAAACAACA GCT	CCATCTCATCCCTGCGTGT CTCCGACTCAG	V3-341F3-.trimm.fna	August17
ZC	GCAACACCA TCC	CCATCTCATCCCTGCGTGT CTCCGACTCAG	V3-341F4-.trimm.fna	August17
CB	GCGATATAT CGC	CCATCTCATCCCTGCGTGT CTCCGACTCAG	V3-341F5-.trimm.fna	August17
SL	CGAGCAATC CTA	CCATCTCATCCCTGCGTGT CTCCGACTCAG	V3-341F6-.trimm.fna	August17
Época seca-cálida				
ZC	ACCATAGCT CCG	CCATCTCATCCCTGCGTGT CTCCGACTCAG	V3-341F19-.trimm.fna	March18
OX	TGGACATCT CTT	CCATCTCATCCCTGCGTGT CTCCGACTCAG	V3-341F20-.trimm.fna	March18
CB	GAACACTTT GGA	CCATCTCATCCCTGCGTGT CTCCGACTCAG	V3-341F21-.trimm.fna	March18
SM	GAGCCATCT GTA	CCATCTCATCCCTGCGTGT CTCCGACTCAG	V3-341F22-.trimm.fna	March18
SL	TTGGGTACA CGT	CCATCTCATCCCTGCGTGT CTCCGACTCAG	V3-341F23-.trimm.fna	March18
SC	AAGGCGCTC CTT	CCATCTCATCCCTGCGTGT CTCCGACTCAG	V3-341F24-.trimm.fna	March18

Anexos 3C. Bacterias obtenidas mediante secuenciación masiva en la época de lluvias.

#OTU ID	SC	SM	OX	ZC	CB	SL
P_sin asignaar; otro;otro;otro;otro;otro	0.00	0.01	0.03	0.03	0.01	0.01
P__acidobacteria;c__acidobacteria-6;o__iii1-15;f__:g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P__actinobacteria;c__acidimicrobiia;o__acidimicrobiales;f__:g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P__actinobacteria;c__actinobacteria;o__actinomycetales;otro;otro	0.01	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00
P__actinobacteria;c__actinobacteria;o__actinomycetales;f__:g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00
P__actinobacteria;c__actinobacteria;o__actinomycetales;f__actinomycetaceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P__actinobacteria;c__actinobacteria;o__actinomycetales;f__actinosynnemataceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P__actinobacteria;c__actinobacteria;o__actinomycetales;f__bogoriellaceae;g__georgenia	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00
P__actinobacteria;c__actinobacteria;o__actinomycetales;f__brevibacteriaceae;g__brevibacterium	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03
P__actinobacteria;c__actinobacteria;o__actinomycetales;f__cellulomonadaceae;otro	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P__actinobacteria;c__actinobacteria;o__actinomycetales;f__cellulomonadaceae;g__actinotalea	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P__actinobacteria;c__actinobacteria;o__actinomycetales;f__cellulomonadaceae;g__cellulomonas	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P__actinobacteria;c__actinobacteria;o__actinomycetales;f__corynebacteriaceae;g__corynebacterium	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.15
P__actinobacteria;c__actinobacteria;o__actinomycetales;f__dermatobacteriaceae;g__brachybacterium	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01
P__actinobacteria;c__actinobacteria;o__actinomycetales;f__dietziaceae;otro	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P__actinobacteria;c__actinobacteria;o__actinomycetales;f__dietziaceae;g__dietzia	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00
P__actinobacteria;c__actinobacteria;o__actinomycetales;f__frankiaceae;otro	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P__actinobacteria;c__actinobacteria;o__actinomycetales;f__frankiaceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P__actinobacteria;c__actinobacteria;o__actinomycetales;f__geodermatophilaceae;g__modestobacter	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P__actinobacteria;c__actinobacteria;o__actinomycetales;f__gordoniaceae;g__gordonia	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00
P__actinobacteria;c__actinobacteria;o__actinomycetales;f__intrasporangiaceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00
P__actinobacteria;c__actinobacteria;o__actinomycetales;f__intrasporangiaceae;g__arsenicococcus	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P__actinobacteria;c__actinobacteria;o__actinomycetales;f__microbacteriaceae;otro	0.00	0.01	0.00	0.00	0.03	0.00
P__actinobacteria;c__actinobacteria;o__actinomycetales;f__microbacteriaceae;g__	0.00	0.00	0.02	0.00	0.04	0.00
P__actinobacteria;c__actinobacteria;o__actinomycetales;f__microbacteriaceae;g__agrococcus	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P__actinobacteria;c__actinobacteria;o__actinomycetales;f__microbacteriaceae;g__clavibacter	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P__actinobacteria;c__actinobacteria;o__actinomycetales;f__microbacteriaceae;g__curtobacterium	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P__actinobacteria;c__actinobacteria;o__actinomycetales;f__microbacteriaceae;g__microbacterium	0.03	0.01	0.08	0.04	0.38	0.40
P__actinobacteria;c__actinobacteria;o__actinomycetales;f__micrococcaceae;otro	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00

P_actinobacteria;c__actinobacteria;o__actinomycetales;f__micrococcaceae;g__	0.02	0.00	0.01	0.21	0.08	0.00
P_actinobacteria;c__actinobacteria;o__actinomycetales;f__micrococcaceae;g__arthrobacter	0.01	0.00	0.02	0.00	0.01	0.00
P_actinobacteria;c__actinobacteria;o__actinomycetales;f__micrococcaceae;g__kocuria	0.02	0.00	0.03	0.00	0.31	0.11
P_actinobacteria;c__actinobacteria;o__actinomycetales;f__micrococcaceae;g__microbispora	0.01	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00
P_actinobacteria;c__actinobacteria;o__actinomycetales;f__micrococcaceae;g__micrococcus	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00
P_actinobacteria;c__actinobacteria;o__actinomycetales;f__micromonosporaceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_actinobacteria;c__actinobacteria;o__actinomycetales;f__mycobacteriaceae;g__mycobacterium	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_actinobacteria;c__actinobacteria;o__actinomycetales;f__nocardiaceae;g__nocardia	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_actinobacteria;c__actinobacteria;o__actinomycetales;f__nocardiaceae;g__rhodococcus	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_actinobacteria;c__actinobacteria;o__actinomycetales;f__nocardioidaceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_actinobacteria;c__actinobacteria;o__actinomycetales;f__nocardioidaceae;g__aeromicrobium	0.01	0.00	0.01	0.01	0.02	0.00
P_actinobacteria;c__actinobacteria;o__actinomycetales;f__promicromonosporaceae;otro	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02
P_actinobacteria;c__actinobacteria;o__actinomycetales;f__propionibacteriaceae;g__propionibacterium	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_actinobacteria;c__actinobacteria;o__actinomycetales;f__streptomycetaceae;otro	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_actinobacteria;c__actinobacteria;o__actinomycetales;f__streptomycetaceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_actinobacteria;c__actinobacteria;o__actinomycetales;f__streptomycetaceae;g__streptomyces	0.10	0.00	0.01	0.04	0.02	0.00
P_actinobacteria;c__actinobacteria;o__bifidobacteriales;f__bifidobacteriaceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_actinobacteria;c__actinobacteria;o__bifidobacteriales;f__bifidobacteriaceae;g__bifidobacterium	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_actinobacteria;c__coriobacteriia;o__coriobacteriales;f__coriobacteriaceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_actinobacteria;c__coriobacteriia;o__coriobacteriales;f__coriobacteriaceae;g__collinsella	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_actinobacteria;c__coriobacteriia;o__coriobacteriales;f__coriobacteriaceae;g__slackia	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_bacteroidetes;c__bacteroidia;o__bacteroidales;f__bacteroidaceae;g__bacteroides	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_bacteroidetes;c__bacteroidia;o__bacteroidales;f__prevotellaceae;g__prevotella	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_bacteroidetes;c__bacteroidia;o__bacteroidales;f__s24-7;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_bacteroidetes;c__bacteroidia;o__bacteroidales;f__[paraprevotellaceae];g__[prevotella]	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_bacteroidetes;c__cytophagia;o__cytophagales;f__cytophagaceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00
P_bacteroidetes;c__cytophagia;o__cytophagales;f__cytophagaceae;g__dyadobacter	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_bacteroidetes;c__cytophagia;o__cytophagales;f__cytophagaceae;g__hymenobacter	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_bacteroidetes;c__cytophagia;o__cytophagales;f__cytophagaceae;g__pontibacter	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_bacteroidetes;c__flavobacteriia;o__flavobacteriales;f__flavobacteriaceae;g__flavobacterium	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_bacteroidetes;c__flavobacteriia;o__flavobacteriales;f__[weeksellaceae];g__	0.15	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

P_bacteroidetes;c_flavobacteriia;o_flavobacteriales;f_[weeksellaceae];g_chryseobacterium	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00
P_bacteroidetes;c_sphingobacteriia;o_sphingobacteriales;f_sphingobacteriaceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_bacteroidetes;c_sphingobacteriia;o_sphingobacteriales;f_sphingobacteriaceae;g_pedobacter	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_bacteroidetes;c_[saprospirae];o_[saprospirales];f_chitinophagaceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_cyanobacteria;c_4c0d-2;o_mle1-12;f__;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_cyanobacteria;c_chloroplast;o_chlorophyta;f_chlamydomonadaceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_cyanobacteria;c_chloroplast;o_streptophyta;f__;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_firmicutes;c_bacilli;o_bacillales;otro;otro	0.05	0.00	0.00	0.09	0.00	0.00
P_firmicutes;c_bacilli;o_bacillales;f__;g__	0.76	0.01	0.00	0.47	0.13	0.00
P_firmicutes;c_bacilli;o_bacillales;f_bacillaceae;otro	1.56	0.21	0.01	0.78	0.28	0.02
P_firmicutes;c_bacilli;o_bacillales;f_bacillaceae;g__	0.82	0.08	0.00	0.32	0.11	0.00
P_firmicutes;c_bacilli;o_bacillales;f_bacillaceae;g_bacillus	49.09	9.94	5.42	38.36	18.58	67.91
P_firmicutes;c_bacilli;o_bacillales;f_bacillaceae;g_marinibacillus	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_firmicutes;c_bacilli;o_bacillales;f_bacillaceae;g_virgibacillus	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_firmicutes;c_bacilli;o_bacillales;f_paenibacillaceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_firmicutes;c_bacilli;o_bacillales;f_paenibacillaceae;g_brevibacillus	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_firmicutes;c_bacilli;o_bacillales;f_paenibacillaceae;g_cohnella	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_firmicutes;c_bacilli;o_bacillales;f_paenibacillaceae;g_paenibacillus	0.06	86.57	1.42	0.91	0.12	1.18
P_firmicutes;c_bacilli;o_bacillales;f_planococcaceae;otro	0.11	0.00	0.01	0.04	0.01	0.00
P_firmicutes;c_bacilli;o_bacillales;f_planococcaceae;g__	40.68	0.03	15.09	0.08	0.02	0.00
P_firmicutes;c_bacilli;o_bacillales;f_planococcaceae;g_kurthia	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_firmicutes;c_bacilli;o_bacillales;f_planococcaceae;g_lysinibacillus	0.11	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_firmicutes;c_bacilli;o_bacillales;f_planococcaceae;g_paenisporosarcina	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_firmicutes;c_bacilli;o_bacillales;f_planococcaceae;g_planococcus	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_firmicutes;c_bacilli;o_bacillales;f_planococcaceae;g_planomicrobium	0.00	0.00	0.00	0.00	0.63	0.00
P_firmicutes;c_bacilli;o_bacillales;f_planococcaceae;g_rummeliibacillus	0.00	0.00	2.04	0.01	0.00	0.00
P_firmicutes;c_bacilli;o_bacillales;f_planococcaceae;g_solibacillus	0.00	0.00	0.00	0.00	0.20	0.00
P_firmicutes;c_bacilli;o_bacillales;f_planococcaceae;g_sporosarcina	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_firmicutes;c_bacilli;o_bacillales;f_planococcaceae;g_viridibacillus	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_firmicutes;c_bacilli;o_bacillales;f_staphylococcaceae;g_jeotgalicoccus	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_firmicutes;c_bacilli;o_bacillales;f_staphylococcaceae;g_macrooccus	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

P_firmicutes;c_bacilli;o_bacillales;f_staphylococcaceae;g_staphylococcus	0.82	0.04	0.25	1.68	0.07	0.68
P_firmicutes;c_bacilli;o_bacillales;f_exiguobacteraceae;otro	0.11	0.01	0.00	0.08	1.71	0.08
P_firmicutes;c_bacilli;o_bacillales;f_exiguobacteraceae;g__	0.01	0.00	0.00	0.02	0.03	0.01
P_firmicutes;c_bacilli;o_bacillales;f_exiguobacteraceae;g_exiguobacterium	0.97	0.11	0.38	4.60	2.49	1.86
P_firmicutes;c_bacilli;o_gemellales;f_gemellaceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_firmicutes;c_bacilli;o_lactobacillales;f_aerococcaceae;g_aerococcus	0.03	0.00	0.02	0.02	0.00	0.00
P_firmicutes;c_bacilli;o_lactobacillales;f_carnobacteriaceae;g_desemzia	0.00	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00
P_firmicutes;c_bacilli;o_lactobacillales;f_carnobacteriaceae;g_granulicatella	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_firmicutes;c_bacilli;o_lactobacillales;f_carnobacteriaceae;g_trichococcus	0.06	0.03	0.11	0.00	0.01	0.00
P_firmicutes;c_bacilli;o_lactobacillales;f_enterococcaceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_firmicutes;c_bacilli;o_lactobacillales;f_enterococcaceae;g_enterococcus	0.11	0.00	0.01	0.00	0.09	0.65
P_firmicutes;c_bacilli;o_lactobacillales;f_lactobacillaceae;g_lactobacillus	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_firmicutes;c_bacilli;o_lactobacillales;f_leuconostocaceae;g_weissella	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_firmicutes;c_bacilli;o_lactobacillales;f_streptococcaceae;g_lactococcus	0.00	0.00	0.00	0.00	0.71	0.00
P_firmicutes;c_bacilli;o_lactobacillales;f_streptococcaceae;g_streptococcus	0.01	0.00	0.00	0.00	0.03	0.01
P_firmicutes;c_clostridia;o_clostridiales;otro;otro	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_firmicutes;c_clostridia;o_clostridiales;f__;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_firmicutes;c_clostridia;o_clostridiales;f_clostridiaceae;otro	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00
P_firmicutes;c_clostridia;o_clostridiales;f_clostridiaceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_firmicutes;c_clostridia;o_clostridiales;f_clostridiaceae;g_clostridium	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00
P_firmicutes;c_clostridia;o_clostridiales;f_clostridiaceae;g_proteiniclasticum	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_firmicutes;c_clostridia;o_clostridiales;f_lachnospiraceae;otro	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_firmicutes;c_clostridia;o_clostridiales;f_lachnospiraceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_firmicutes;c_clostridia;o_clostridiales;f_lachnospiraceae;g_blautia	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_firmicutes;c_clostridia;o_clostridiales;f_lachnospiraceae;g_coproccoccus	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_firmicutes;c_clostridia;o_clostridiales;f_lachnospiraceae;g_dorea	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_firmicutes;c_clostridia;o_clostridiales;f_lachnospiraceae;g_lachnospira	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_firmicutes;c_clostridia;o_clostridiales;f_lachnospiraceae;g_roseburia	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_firmicutes;c_clostridia;o_clostridiales;f_lachnospiraceae;g_[ruminococcus]	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_firmicutes;c_clostridia;o_clostridiales;f_peptostreptococcaceae;g_tepidibacter	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_firmicutes;c_clostridia;o_clostridiales;f_ruminococcaceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

P_firmicutes;c__clostridia;o__clostridiales;f__ruminococcaceae;g__faecalibacterium	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_firmicutes;c__clostridia;o__clostridiales;f__ruminococcaceae;g__osillospira	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_firmicutes;c__clostridia;o__clostridiales;f__ruminococcaceae;g__ruminococcus	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_firmicutes;c__clostridia;o__clostridiales;f__veillonellaceae;g__megamonas	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_firmicutes;c__erysipelotrichi;o__erysipelotrichales;f__erysipelotrichaceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_firmicutes;c__erysipelotrichi;o__erysipelotrichales;f__erysipelotrichaceae;g__eubacterium	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_proteobacteria;otro;otro;otro;otro	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_proteobacteria;c__alphaproteobacteria;otro;otro;otro	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_proteobacteria;c__alphaproteobacteria;o__caulobacterales;f__caulobacteraceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_proteobacteria;c__alphaproteobacteria;o__rhizobiales;otro;otro	0.00	0.00	0.02	0.01	0.25	0.00
P_proteobacteria;c__alphaproteobacteria;o__rhizobiales;f__g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_proteobacteria;c__alphaproteobacteria;o__rhizobiales;f__aurantimonadaceae;otro	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_proteobacteria;c__alphaproteobacteria;o__rhizobiales;f__bradyrhizobiaceae;otro	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_proteobacteria;c__alphaproteobacteria;o__rhizobiales;f__bradyrhizobiaceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_proteobacteria;c__alphaproteobacteria;o__rhizobiales;f__bradyrhizobiaceae;g__balneimonas	0.00	0.00	0.01	0.19	0.04	0.00
P_proteobacteria;c__alphaproteobacteria;o__rhizobiales;f__bradyrhizobiaceae;g__bradyrhizobium	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_proteobacteria;c__alphaproteobacteria;o__rhizobiales;f__hyphomicrobiaceae;g__devosia	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_proteobacteria;c__alphaproteobacteria;o__rhizobiales;f__hyphomicrobiaceae;g__hyphomicrobium	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_proteobacteria;c__alphaproteobacteria;o__rhizobiales;f__methylobacteriaceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_proteobacteria;c__alphaproteobacteria;o__rhizobiales;f__methylobacteriaceae;g__methylobacterium	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_proteobacteria;c__alphaproteobacteria;o__rhizobiales;f__methylocystaceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_proteobacteria;c__alphaproteobacteria;o__rhizobiales;f__phyllobacteriaceae;g__mesorhizobium	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_proteobacteria;c__alphaproteobacteria;o__rhizobiales;f__rhizobiaceae;otro	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00
P_proteobacteria;c__alphaproteobacteria;o__rhizobiales;f__rhizobiaceae;g__agrobacterium	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00
P_proteobacteria;c__alphaproteobacteria;o__rhodobacterales;f__hyphomonadaceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_proteobacteria;c__alphaproteobacteria;o__rhodobacterales;f__rhodobacteraceae;g__	0.08	0.00	0.08	0.00	0.20	0.00
P_proteobacteria;c__alphaproteobacteria;o__rhodobacterales;f__rhodobacteraceae;g__paracoccus	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00
P_proteobacteria;c__alphaproteobacteria;o__rhodospirillales;f__g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_proteobacteria;c__alphaproteobacteria;o__rhodospirillales;f__acetobacteraceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.06	0.00	0.00
P_proteobacteria;c__alphaproteobacteria;o__rhodospirillales;f__rhodospirillaceae;otro	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_proteobacteria;c__alphaproteobacteria;o__rhodospirillales;f__rhodospirillaceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

P_proteobacteria;c__alphaproteobacteria;o__rhodospirillales;f__rhodospirillaceae;g__azospirillum	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_proteobacteria;c__alphaproteobacteria;o__rhodospirillales;f__rhodospirillaceae;g__skermanella	0.00	0.00	0.00	0.12	0.00	0.00
P_proteobacteria;c__alphaproteobacteria;o__sphingomonadales;otro;otro	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_proteobacteria;c__alphaproteobacteria;o__sphingomonadales;f__sphingomonadaceae;otro	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00
P_proteobacteria;c__alphaproteobacteria;o__sphingomonadales;f__sphingomonadaceae;g__	0.00	0.00	0.03	0.00	0.07	0.05
P_proteobacteria;c__alphaproteobacteria;o__sphingomonadales;f__sphingomonadaceae;g__sphingobium	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_proteobacteria;c__alphaproteobacteria;o__sphingomonadales;f__sphingomonadaceae;g__sphingomonas	0.00	0.00	0.01	0.00	0.01	0.00
P_proteobacteria;c__alphaproteobacteria;o__sphingomonadales;f__sphingomonadaceae;g__sphingopyxis	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_proteobacteria;c__betaproteobacteria;otro;otro;otro	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_proteobacteria;c__betaproteobacteria;o__burkholderiales;otro;otro	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00
P_proteobacteria;c__betaproteobacteria;o__burkholderiales;f__:g__	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	0.00
P_proteobacteria;c__betaproteobacteria;o__burkholderiales;f__alcaligenaceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_proteobacteria;c__betaproteobacteria;o__burkholderiales;f__alcaligenaceae;g__achromobacter	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_proteobacteria;c__betaproteobacteria;o__burkholderiales;f__burkholderiaceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_proteobacteria;c__betaproteobacteria;o__burkholderiales;f__comamonadaceae;otro	0.00	0.00	0.04	0.04	0.02	0.00
P_proteobacteria;c__betaproteobacteria;o__burkholderiales;f__comamonadaceae;g__	0.00	0.00	0.02	1.07	0.00	0.00
P_proteobacteria;c__betaproteobacteria;o__burkholderiales;f__comamonadaceae;g__acidovorax	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00
P_proteobacteria;c__betaproteobacteria;o__burkholderiales;f__comamonadaceae;g__methylibium	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_proteobacteria;c__betaproteobacteria;o__burkholderiales;f__comamonadaceae;g__variovorax	0.01	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01
P_proteobacteria;c__betaproteobacteria;o__burkholderiales;f__oxalobacteraceae;otro	0.00	0.00	0.00	0.01	0.24	0.00
P_proteobacteria;c__betaproteobacteria;o__burkholderiales;f__oxalobacteraceae;g__	0.00	0.00	1.42	1.47	0.35	0.00
P_proteobacteria;c__betaproteobacteria;o__burkholderiales;f__oxalobacteraceae;g__cupriavidus	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_proteobacteria;c__betaproteobacteria;o__burkholderiales;f__oxalobacteraceae;g__janthinobacterium	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00
P_proteobacteria;c__betaproteobacteria;o__methylophilales;f__methylophilaceae;g__methylophila	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_proteobacteria;c__betaproteobacteria;o__rhodocyclales;f__rhodocyclaceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_proteobacteria;c__gammaproteobacteria;otro;otro;otro	0.00	0.00	26.40	0.00	0.01	0.00
P_proteobacteria;c__gammaproteobacteria;o__alteromonadales;otro;otro	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_proteobacteria;c__gammaproteobacteria;o__alteromonadales;f__alteromonadaceae;g__marinobacter	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_proteobacteria;c__gammaproteobacteria;o__enterobacteriales;f__enterobacteriaceae;otro	0.22	0.00	22.41	0.39	12.34	0.00
P_proteobacteria;c__gammaproteobacteria;o__enterobacteriales;f__enterobacteriaceae;g__	0.01	0.00	20.03	3.88	46.37	0.00
P_proteobacteria;c__gammaproteobacteria;o__enterobacteriales;f__enterobacteriaceae;g__citrobacter	0.00	0.00	0.01	0.00	4.27	0.00

P__proteobacteria;c__gammaproteobacteria;o__enterobacteriales;f__enterobacteriaceae;g__enterobacter	0.01	0.00	0.12	0.01	0.17	0.00
P__proteobacteria;c__gammaproteobacteria;o__enterobacteriales;f__enterobacteriaceae;g__erwinia	0.07	0.00	1.65	12.53	0.09	0.00
P__proteobacteria;c__gammaproteobacteria;o__enterobacteriales;f__enterobacteriaceae;g__klebsiella	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00
P__proteobacteria;c__gammaproteobacteria;o__enterobacteriales;f__enterobacteriaceae;g__salmonella	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P__proteobacteria;c__gammaproteobacteria;o__enterobacteriales;f__enterobacteriaceae;g__serratia	0.00	0.00	0.57	0.00	0.19	0.00
P__proteobacteria;c__gammaproteobacteria;o__enterobacteriales;f__enterobacteriaceae;g__trabulsiella	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00
P__proteobacteria;c__gammaproteobacteria;o__pseudomonadales;otro;otro	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P__proteobacteria;c__gammaproteobacteria;o__pseudomonadales;f__moraxellaceae;g__acinetobacter	3.41	2.82	1.53	24.01	5.41	25.55
P__proteobacteria;c__gammaproteobacteria;o__pseudomonadales;f__moraxellaceae;g__enhydrobacter	0.00	0.00	0.01	0.00	0.04	0.00
P__proteobacteria;c__gammaproteobacteria;o__pseudomonadales;f__moraxellaceae;g__psychrobacter	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P__proteobacteria;c__gammaproteobacteria;o__pseudomonadales;f__pseudomonadaceae;otro	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P__proteobacteria;c__gammaproteobacteria;o__pseudomonadales;f__pseudomonadaceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P__proteobacteria;c__gammaproteobacteria;o__pseudomonadales;f__pseudomonadaceae;g__pseudomonas	0.01	0.09	0.03	7.37	2.55	0.00
P__proteobacteria;c__gammaproteobacteria;o__xanthomonadales;f__sinobacteraceae;otro	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P__proteobacteria;c__gammaproteobacteria;o__xanthomonadales;f__xanthomonadaceae;otro	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P__proteobacteria;c__gammaproteobacteria;o__xanthomonadales;f__xanthomonadaceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P__proteobacteria;c__gammaproteobacteria;o__xanthomonadales;f__xanthomonadaceae;g__lysobacter	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00
P__proteobacteria;c__gammaproteobacteria;o__xanthomonadales;f__xanthomonadaceae;g__stenotrophomonas	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

Anexos 3D. Bacterias obtenidas mediante secuenciación masiva en la época seca-cálida.

#OTU ID	ZC	OX	CB	SM	SL	SC
P_Sin asignaar; Otro;Otro;Otro;Otro;Otro	0.03	0.01	0.01	0.00	0.01	0.01
P__Acidobacteria;c__Acidobacteria-6;o__iii1-15;f__g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Actinobacteria;c__Acidimicrobiia;o__Acidimicrobiales;f__g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Actinobacteria;c__Actinobacteria;o__Actinomycetales;Otro;Otro	0.05	0.56	0.08	0.05	0.01	0.02
P_Actinobacteria;c__Actinobacteria;o__Actinomycetales;f__g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Actinobacteria;c__Actinobacteria;o__Actinomycetales;f__Actinomycetaceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Actinobacteria;c__Actinobacteria;o__Actinomycetales;f__Actinosynnemataceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Actinobacteria;c__Actinobacteria;o__Actinomycetales;f__Bogoriellaceae;g__Georgenia	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Actinobacteria;c__Actinobacteria;o__Actinomycetales;f__Brevibacteriaceae;g__Brevibacterium	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00
P_Actinobacteria;c__Actinobacteria;o__Actinomycetales;f__Cellulomonadaceae;Otro	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Actinobacteria;c__Actinobacteria;o__Actinomycetales;f__Cellulomonadaceae;g__Actinotalea	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Actinobacteria;c__Actinobacteria;o__Actinomycetales;f__Cellulomonadaceae;g__Cellulomonas	0.02	0.09	0.02	0.03	0.01	0.01
P_Actinobacteria;c__Actinobacteria;o__Actinomycetales;f__Corynebacteriaceae;g__Corynebacterium	0.10	0.00	0.28	0.02	0.00	0.04
P_Actinobacteria;c__Actinobacteria;o__Actinomycetales;f__Dermabacteraceae;g__Brachybacterium	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	0.03
P_Actinobacteria;c__Actinobacteria;o__Actinomycetales;f__Dietziaceae;Otro	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Actinobacteria;c__Actinobacteria;o__Actinomycetales;f__Dietziaceae;g__Dietzia	0.03	0.04	0.01	0.04	0.00	0.02
P_Actinobacteria;c__Actinobacteria;o__Actinomycetales;f__Frankiaceae;Otro	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00
P_Actinobacteria;c__Actinobacteria;o__Actinomycetales;f__Frankiaceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00
P_Actinobacteria;c__Actinobacteria;o__Actinomycetales;f__Geodermatophilaceae;g__Modestobacter	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Actinobacteria;c__Actinobacteria;o__Actinomycetales;f__Gordoniaceae;g__Gordonia	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Actinobacteria;c__Actinobacteria;o__Actinomycetales;f__Intrasporangiaceae;g__	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00
P_Actinobacteria;c__Actinobacteria;o__Actinomycetales;f__Intrasporangiaceae;g__Arsenicococcus	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Actinobacteria;c__Actinobacteria;o__Actinomycetales;f__Microbacteriaceae;Otro	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.01
P_Actinobacteria;c__Actinobacteria;o__Actinomycetales;f__Microbacteriaceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Actinobacteria;c__Actinobacteria;o__Actinomycetales;f__Microbacteriaceae;g__Agrococcus	0.04	0.01	0.02	0.05	0.01	0.05
P_Actinobacteria;c__Actinobacteria;o__Actinomycetales;f__Microbacteriaceae;g__Clavibacter	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Actinobacteria;c__Actinobacteria;o__Actinomycetales;f__Microbacteriaceae;g__Curtobacterium	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Actinobacteria;c__Actinobacteria;o__Actinomycetales;f__Microbacteriaceae;g__Microbacterium	0.92	0.47	0.43	0.34	0.19	0.33
P_Actinobacteria;c__Actinobacteria;o__Actinomycetales;f__Micrococcaceae;Otro	0.11	0.04	0.27	0.13	0.32	0.14

P_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Micrococcaceae;g__	0.18	0.02	0.10	0.03	0.13	0.26
P_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Micrococcaceae;g_Arthrobacter	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00	0.01
P_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Micrococcaceae;g_Kocuria	0.11	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Micrococcaceae;g_Microbispora	0.09	0.16	0.11	0.05	0.06	0.20
P_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Micrococcaceae;g_Micrococcus	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Micromonosporaceae;g__	0.02	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00
P_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Mycobacteriaceae;g_Mycobacterium	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Nocardiaceae;g_Nocardia	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Nocardiaceae;g_Rhodococcus	0.26	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00
P_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Nocardioideae;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Nocardioideae;g_Aeromicrobium	0.02	0.03	0.02	0.01	0.01	0.01
P_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Promicromonosporaceae;Otro	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01
P_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Propionibacteriaceae;g_Propionibacterium	0.04	0.01	0.01	0.01	0.00	0.01
P_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Streptomycetaceae;Otro	0.00	0.01	0.00	0.01	0.01	0.01
P_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Streptomycetaceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Actinomycetales;f_Streptomycetaceae;g_Streptomyces	0.41	0.85	0.09	0.46	0.26	0.59
P_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Bifidobacteriales;f_Bifidobacteriaceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Bifidobacteriales;f_Bifidobacteriaceae;g_Bifidobacterium	0.03	0.00	0.01	0.04	0.00	0.03
P_Actinobacteria;c_Coriobacteriia;o_Coriobacteriales;f_Coriobacteriaceae;g__	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Actinobacteria;c_Coriobacteriia;o_Coriobacteriales;f_Coriobacteriaceae;g_Collinsella	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01
P_Actinobacteria;c_Coriobacteriia;o_Coriobacteriales;f_Coriobacteriaceae;g_Slackia	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_Bacteroidaceae;g_Bacteroides	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_Prevotellaceae;g_Prevotella	0.01	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00
P_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_S24-7;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Bacteroidetes;c_Bacteroidia;o_Bacteroidales;f_[Paraprevotellaceae];g_[Prevotella]	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Bacteroidetes;c_Cytophagia;o_Cytophagales;f_Cytophagaceae;g__	0.03	0.19	0.27	0.00	0.00	0.05
P_Bacteroidetes;c_Cytophagia;o_Cytophagales;f_Cytophagaceae;g_Dyadobacter	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00
P_Bacteroidetes;c_Cytophagia;o_Cytophagales;f_Cytophagaceae;g_Hymenobacter	0.21	0.00	0.02	0.02	0.00	0.00
P_Bacteroidetes;c_Cytophagia;o_Cytophagales;f_Cytophagaceae;g_Pontibacter	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.10
P_Bacteroidetes;c_Flavobacteriia;o_Flavobacteriales;f_Flavobacteriaceae;g_Flavobacterium	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Bacteroidetes;c_Flavobacteriia;o_Flavobacteriales;f_[Weeksellaceae];g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

P_Bacteroidetes;c_Flavobacteriia;o_Flavobacteriales;f_[Weeksellaceae];g_Chryseobacterium	0.03	0.82	0.01	0.02	0.00	0.02
P_Bacteroidetes;c_Sphingobacteriia;o_Sphingobacteriales;f_Sphingobacteriaceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01
P_Bacteroidetes;c_Sphingobacteriia;o_Sphingobacteriales;f_Sphingobacteriaceae;g_Pedobacter	0.02	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00
P_Bacteroidetes;c_[Saprospirae];o_[Saprospirales];f_Chitinophagaceae;g__	0.06	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Cyanobacteria;c_4C0d-2;o_MLE1-12;f__;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Cyanobacteria;c_Chloroplast;o_Chlorophyta;f_Chlamydomonadaceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Cyanobacteria;c_Chloroplast;o_Streptophyta;f__;g__	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;Otro;Otro	0.92	1.13	0.52	1.90	0.24	2.03
P_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f__;g__	1.15	0.26	1.05	0.56	0.19	1.47
P_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Bacillaceae;Otro	0.28	1.74	1.10	0.62	0.63	2.87
P_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Bacillaceae;g__	0.01	0.26	0.99	0.27	0.43	0.34
P_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Bacillaceae;g_Bacillus	46.88	41.95	69.63	36.34	45.23	60.64
P_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Bacillaceae;g_Marinibacillus	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01
P_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Bacillaceae;g_Virgibacillus	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00
P_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Paenibacillaceae;g__	0.00	0.03	0.04	0.00	0.00	0.00
P_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Paenibacillaceae;g_Brevibacillus	0.38	2.17	0.00	0.48	0.00	0.00
P_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Paenibacillaceae;g_Cohnella	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00
P_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Paenibacillaceae;g_Paenibacillus	0.12	3.69	1.94	19.15	10.20	4.97
P_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Planococcaceae;Otro	0.01	0.00	0.26	1.20	0.02	0.03
P_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Planococcaceae;g__	2.83	8.13	1.60	5.01	34.65	2.24
P_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Planococcaceae;g_Kurthia	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Planococcaceae;g_Lysinibacillus	0.01	0.00	0.36	0.57	0.00	0.00
P_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Planococcaceae;g_Paenisporosarcina	0.01	0.06	0.01	0.00	0.00	0.07
P_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Planococcaceae;g_Planococcus	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00
P_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Planococcaceae;g_Planomicrobium	4.20	3.36	1.46	2.77	1.19	2.54
P_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Planococcaceae;g_Rummeliibacillus	1.26	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00
P_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Planococcaceae;g_Solibacillus	1.03	0.15	0.00	0.10	0.00	4.79
P_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Planococcaceae;g_Sporosarcina	0.00	0.00	0.01	0.00	0.79	0.01
P_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Planococcaceae;g_Viridibacillus	0.06	0.00	0.00	0.00	1.25	0.00
P_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Staphylococcaceae;g_Jeotgalicoccus	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01
P_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Staphylococcaceae;g_Macrocooccus	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

P_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Staphylococcaceae;g_Staphylococcus	0.22	1.12	0.01	0.01	0.00	0.07
P_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Exiguobacteraceae;Otro	0.62	1.71	1.04	4.45	0.09	0.78
P_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Exiguobacteraceae;g__	0.01	0.01	0.01	0.02	0.01	0.01
P_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Exiguobacteraceae;g_Exiguobacterium	1.81	0.22	0.87	2.47	0.10	0.82
P_Firmicutes;c_Bacilli;o_Gemellales;f_Gemellaceae;g__	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00
P_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Aerococcaceae;g_Aerococcus	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Carnobacteriaceae;g_Desemzia	0.00	0.00	0.01	0.00	0.01	0.01
P_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Carnobacteriaceae;g_Granulicatella	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Carnobacteriaceae;g_Trichococcus	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Enterococcaceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Enterococcaceae;g_Enterococcus	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Lactobacillaceae;g_Lactobacillus	0.02	0.00	0.01	0.00	0.01	0.00
P_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Leuconostocaceae;g_Weissella	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Streptococcaceae;g_Lactococcus	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00
P_Firmicutes;c_Bacilli;o_Lactobacillales;f_Streptococcaceae;g_Streptococcus	0.01	0.00	0.02	0.02	0.00	0.02
P_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;Otro;Otro	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00
P_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f__;g__	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.01
P_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Clostridiaceae;Otro	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Clostridiaceae;g__	0.01	0.00	0.01	0.01	0.00	0.01
P_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Clostridiaceae;g_Clostridium	0.00	0.00	0.06	0.00	0.00	0.00
P_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Clostridiaceae;g_Proteinoclasticum	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Lachnospiraceae;Otro	0.04	0.01	0.02	0.03	0.01	0.04
P_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Lachnospiraceae;g__	0.07	0.04	0.01	0.05	0.00	0.05
P_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Lachnospiraceae;g_Blautia	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01
P_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Lachnospiraceae;g_Coprococcus	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Lachnospiraceae;g_Dorea	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00
P_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Lachnospiraceae;g_Lachnospira	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Lachnospiraceae;g_Roseburia	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Lachnospiraceae;g_[Ruminococcus]	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Peptostreptococcaceae;g_Tepidibacter	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Ruminococcaceae;g__	0.05	0.01	0.01	0.02	0.01	0.02

P_Firmicutes;c__Clostridia;o__Clostridiales;f__Ruminococcaceae;g__Faecalibacterium	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Firmicutes;c__Clostridia;o__Clostridiales;f__Ruminococcaceae;g__Oscillospira	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Firmicutes;c__Clostridia;o__Clostridiales;f__Ruminococcaceae;g__Ruminococcus	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Firmicutes;c__Clostridia;o__Clostridiales;f__Veillonellaceae;g__Megamonas	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Firmicutes;c__Erysipelotrichi;o__Erysipelotrichales;f__Erysipelotrichaceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Firmicutes;c__Erysipelotrichi;o__Erysipelotrichales;f__Erysipelotrichaceae;g__Eubacterium	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Proteobacteria;Otro;Otro;Otro;Otro	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;Otro;Otro;Otro	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Caulobacterales;f__Caulobacteraceae;g__	0.01	0.00	0.01	0.02	0.00	0.00
P_Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rhizobiales;Otro;Otro	0.10	0.16	0.11	0.31	0.03	0.27
P_Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rhizobiales;f__;	0.00	0.01	0.01	0.07	0.03	0.11
P_Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rhizobiales;f__Aurantimonadaceae;Otro	0.00	0.00	0.01	0.00	0.02	0.00
P_Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rhizobiales;f__Bradyrhizobiaceae;Otro	0.00	0.02	0.02	0.04	0.01	0.10
P_Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rhizobiales;f__Bradyrhizobiaceae;g__	0.02	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00
P_Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rhizobiales;f__Bradyrhizobiaceae;g__Balneimonas	1.22	0.35	0.19	0.97	0.13	1.11
P_Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rhizobiales;f__Bradyrhizobiaceae;g__Bradyrhizobium	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00
P_Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rhizobiales;f__Hyphomicrobiaceae;g__Devosia	0.00	0.01	0.00	0.02	0.02	0.04
P_Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rhizobiales;f__Hyphomicrobiaceae;g__Hyphomicrobium	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rhizobiales;f__Methylobacteriaceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01
P_Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rhizobiales;f__Methylobacteriaceae;g__Methylobacterium	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01
P_Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rhizobiales;f__Methylocystaceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00
P_Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rhizobiales;f__Phyllobacteriaceae;g__Mesorhizobium	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rhizobiales;f__Rhizobiaceae;Otro	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rhizobiales;f__Rhizobiaceae;g__Agrobacterium	0.01	0.02	0.01	0.11	0.84	0.01
P_Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rhodobacterales;f__Hyphomonadaceae;g__	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rhodobacterales;f__Rhodobacteraceae;g__	0.00	0.01	1.39	0.01	0.54	0.00
P_Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rhodobacterales;f__Rhodobacteraceae;g__Paracoccus	0.00	0.00	0.03	0.00	0.01	0.00
P_Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rhodospirillales;f__;	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rhodospirillales;f__Acetobacteraceae;g__	0.01	1.68	0.10	0.02	0.01	0.00
P_Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rhodospirillales;f__Rhodospirillaceae;Otro	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rhodospirillales;f__Rhodospirillaceae;g__	0.02	0.01	0.00	0.01	0.00	0.00

P_Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rhodospirillales;f__Rhodospirillaceae;g__Azospirillum	0.62	0.01	0.00	0.07	0.00	0.00
P_Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rhodospirillales;f__Rhodospirillaceae;g__Skermanella	0.03	0.13	0.01	0.05	0.00	0.02
P_Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Sphingomonadales;Otro;Otro	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Sphingomonadales;f__Sphingomonadaceae;Otro	0.01	0.01	0.01	0.03	0.01	0.05
P_Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Sphingomonadales;f__Sphingomonadaceae;g__	0.11	0.16	0.17	0.93	0.13	0.67
P_Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Sphingomonadales;f__Sphingomonadaceae;g__Sphingobium	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Sphingomonadales;f__Sphingomonadaceae;g__Sphingomonas	0.06	0.02	0.01	0.05	0.02	0.05
P_Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Sphingomonadales;f__Sphingomonadaceae;g__Sphingopyxis	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Proteobacteria;c__Betaproteobacteria;Otro;Otro;Otro	0.00	1.70	0.04	0.01	0.00	0.00
P_Proteobacteria;c__Betaproteobacteria;o__Burkholderiales;Otro;Otro	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Proteobacteria;c__Betaproteobacteria;o__Burkholderiales;f__;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Proteobacteria;c__Betaproteobacteria;o__Burkholderiales;f__Alcaligenaceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Proteobacteria;c__Betaproteobacteria;o__Burkholderiales;f__Alcaligenaceae;g__Achromobacter	0.00	0.00	0.00	0.07	0.00	0.00
P_Proteobacteria;c__Betaproteobacteria;o__Burkholderiales;f__Burkholderiaceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00
P_Proteobacteria;c__Betaproteobacteria;o__Burkholderiales;f__Comamonadaceae;Otro	0.00	0.00	0.15	0.01	0.00	0.00
P_Proteobacteria;c__Betaproteobacteria;o__Burkholderiales;f__Comamonadaceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Proteobacteria;c__Betaproteobacteria;o__Burkholderiales;f__Comamonadaceae;g__Acidovorax	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Proteobacteria;c__Betaproteobacteria;o__Burkholderiales;f__Comamonadaceae;g__Methylibium	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Proteobacteria;c__Betaproteobacteria;o__Burkholderiales;f__Comamonadaceae;g__Variovorax	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Proteobacteria;c__Betaproteobacteria;o__Burkholderiales;f__Oxalobacteraceae;Otro	0.38	6.86	0.53	0.36	0.07	1.76
P_Proteobacteria;c__Betaproteobacteria;o__Burkholderiales;f__Oxalobacteraceae;g__	0.79	14.29	9.92	2.33	1.70	8.80
P_Proteobacteria;c__Betaproteobacteria;o__Burkholderiales;f__Oxalobacteraceae;g__Cupriavidus	0.00	0.00	0.44	0.00	0.00	0.00
P_Proteobacteria;c__Betaproteobacteria;o__Burkholderiales;f__Oxalobacteraceae;g__Janthinobacterium	0.00	0.46	0.12	0.01	0.00	0.00
P_Proteobacteria;c__Betaproteobacteria;o__Methylophilales;f__Methylophilaceae;g__Methylotenera	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Proteobacteria;c__Betaproteobacteria;o__Rhodocyclales;f__Rhodocyclaceae;g__	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;Otro;Otro;Otro	0.12	0.00	0.00	0.00	0.03	0.03
P_Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Alteromonadales;Otro;Otro	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Alteromonadales;f__Alteromonadaceae;g__Marinobacter	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Enterobacteriales;f__Enterobacteriaceae;Otro	1.01	2.90	0.56	8.27	0.00	0.00
P_Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Enterobacteriales;f__Enterobacteriaceae;g__	26.57	0.88	0.46	1.76	0.00	0.02
P_Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Enterobacteriales;f__Enterobacteriaceae;g__Citrobacter	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

P_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Enterobacteriales;f_Enterobacteriaceae;g_Enterobacter	0.35	0.01	0.25	0.22	0.00	0.00
P_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Enterobacteriales;f_Enterobacteriaceae;g_Erwinia	2.05	0.25	0.48	0.54	0.00	0.00
P_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Enterobacteriales;f_Enterobacteriaceae;g_Klebsiella	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Enterobacteriales;f_Enterobacteriaceae;g_Salmonella	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Enterobacteriales;f_Enterobacteriaceae;g_Serratia	0.00	0.01	0.00	0.04	0.00	0.00
P_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Enterobacteriales;f_Enterobacteriaceae;g_Trabulsiella	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Pseudomonadales;Otro;Otro	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Pseudomonadales;f_Moraxellaceae;g_Acinetobacter	0.98	0.06	1.25	0.00	0.00	0.23
P_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Pseudomonadales;f_Moraxellaceae;g_Enhydrobacter	0.00	0.43	0.05	0.00	0.00	0.32
P_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Pseudomonadales;f_Moraxellaceae;g_Psychrobacter	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02
P_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Pseudomonadales;f_Pseudomonadaceae;Otro	0.00	0.00	0.00	5.63	0.00	0.00
P_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Pseudomonadales;f_Pseudomonadaceae;g__	0.01	0.01	0.08	0.03	0.01	0.10
P_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Pseudomonadales;f_Pseudomonadaceae;g_Pseudomonas	0.01	0.00	0.32	0.30	0.00	0.01
P_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Xanthomonadales;f_Sinobacteraceae;Otro	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Xanthomonadales;f_Xanthomonadaceae;Otro	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00
P_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Xanthomonadales;f_Xanthomonadaceae;g__	0.02	0.01	0.00	0.01	0.00	0.00
P_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Xanthomonadales;f_Xanthomonadaceae;g_Lysobacter	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Xanthomonadales;f_Xanthomonadaceae;g_Stenotrophomonas	0.03	0.04	0.01	0.00	0.00	0.01
P_Therm;c_Deinococcio_Deinococcales;f_Deinococcaceae;g_Deinococcus	0.47	0.01	0.30	0.04	0.18	0.27

Capítulo 4

Relacionar los factores ambientales que determinan la presencia de grupos fisiológicos bacterianos

4.1. Resumen

Existen bacterias suspendidas en el aire y están ampliamente relacionadas con el entorno natural. El objetivo de este trabajo fue relacionar los factores ambientales que determinan la presencia de grupos fisiológicos bacterianos en seis sitios de la Zona Metropolitana del Valle de Toluca (ZMVT), para lo cual se realizó una base de datos con las abundancias relativas de los phyla identificados en los sitios: Oxtotitlan (OX), Ceboruco (CB), San Mateo Atenco (SM), San Cristóbal Huichochitlan (SC), Zinacantepec (ZC) y San Lorenzo Tepaltitlan (SL); se registraron parámetros ambientales que incluyó: dirección del viento (DV), velocidad del viento (VV), humedad relativa (HR), presión atmosférica (PA), temperatura (TMP) y radiación solar (RUV), estableciendo una correlación. De acuerdo con los resultados obtenidos, no se observó correlación estadísticamente significativa entre las variables.

Palabras clave: bacterias del aire, relación, variables ambientales.

4.2. Abstract

There are bacteria suspended in the air and are widely related to the natural environment. The objective of this work was to relate the environmental factors that determine the presence of bacterial physiological groups in six sites of the Metropolitan Zone of the Toluca Valley (ZMVT), for which a database was made with the relative abundances of the phyla identified at the sites: Oxtotitlan (OX), Ceboruco (CB), San Mateo Atenco (SM), San Cristóbal Huichochitlan (SC), Zinacantepec (ZC) and San Lorenzo Tepaltitlan (SL); Environmental parameters were recorded that included: wind direction (DV), wind speed (VV), relative humidity (HR), atmospheric pressure (PA), temperature (TMP) and solar radiation (RUV), establishing a correlation. According to the results obtained, no statistically significant correlation was observed between the variables.

Key words: air bacteria, correlation, environmental variables.

4.3. Introducción

“... la Tierra como un sistema auto-regulado que surge de la totalidad de organismos que la componen, las rocas de la superficie, el océano y la atmósfera, estrechamente unidos como un sistema que evoluciona” (Lovelock, 2007), funciona de manera armoniosa y cada elemento interactúa con otro, por lo que la supervivencia y distribución de las bacterias que entran a la atmósfera naturalmente, así como de fuentes antropogénicas están moduladas por factores biológicos y condiciones meteorológicas, como la radiación solar, la temperatura, la humedad relativa y la composición química (Lighthart, 1997).

El transporte bacteriano en el aire puede ser de varios miles de kilómetros (Després et al., 2012) y en su mayoría aquellos capaces de crecer en algún medio de cultivo se caracterizan por ser bacterias Gram positivas (Gandolfi et al., 2013) con una fracción de tamaño de partícula mayores a 10 μm (Clauß, 2015).

Las bacterias aéreo-transportadas (BAT) tienen un papel importante en la formación de nubes y precipitaciones, especialmente bacterias como *Pseudomonas syringae*, existen trabajos, donde se ha sugerido que las bacterias crecen, se dividen, producen proteínas y metabolitos en las nubes dentro de la atmósfera, incluso lo hacen a temperaturas inferiores de 0 °C (Womack et al., 2010). De ahí que las bacterias presentes en el aire influyen en la composición de las asociaciones microbianas de nieve, suelos, agua en los lagos, océanos, vías metabólicas, así como en las redes alimenticias de estos ambientes (Sattler et al., 2001). El objetivo de este trabajo fue relacionar los factores ambientales que determinan la presencia de grupos fisiológicos bacterianos.

4.4. Revisión bibliográfica

Existen algunos informes sobre la variación estacional y la caracterización de las bacterias en el aire cerca de fuentes puntuales en ciudades como Nueva Delhi, registrando concentraciones altas de bacterias en invierno y primavera a diferencia del verano (Agarwal, 2017). En estudios similares Zhen et al. (2017) en la ciudad de Pekín, registraron recuentos bacterianos altos en primavera y otoño, aludiendo que estos resultados se deben principalmente a factores meteorológicos y no a la presencia de contaminantes atmosféricos. Diversas investigaciones, han evidenciado una relación entre grupos bacterianos y la época del año (tabla 4.1), así como del lugar de estudio.

Tabla 4.1. Diversidad bacteriana registrada en cinco lugares diferentes con los phyla más abundantes.

Referencia	Lugares de estudio	Grupos bacterianos		Época
Fykse et al. (2015)	Noruega, Finlandia, Suecia	Firmicutes	<i>Bacillus</i>	
		Proteobacteria	<i>Staphylococcus</i> , <i>Acinetobacter</i>	
García-Mena et al. (2016)	Ciudad de México y Estado de México	Firmicutes	<i>Bacillus</i> y <i>Staphylococcus</i>	Otoño
		Proteobacteria	<i>Pseudomonas</i> , <i>Acinetobacter</i>	Invierno y Verano
Klein et al. (2016)	Monte Bachelor, Oregón	Proteobacteria	<i>Acidisphaera rubrifaciens</i> , <i>Pseudomonas</i> , Myxococcaceae	
		Actinobacteria	Solirubrobacterales, Actinomycetales	
Genitsaris et al. (2017)	Thessaloniki, Grecia	Proteobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes, Cianobacterias		Verano
Yuan et al. (2017)	Beijing	Firmicutes	<i>Bacillus pichinoty</i> , <i>Kocuria palustris</i>	
		Actinobacteria		

Zhai et al. (2018), después de un estudio, integran datos sugiriendo que las fuentes locales desempeñan un papel importante en la configuración de las comunidades bacterianas en el aire, teniendo un impacto mayor que los causados por las condiciones meteorológicas. No obstante, algunos autores señalan que las variables meteorológicas son el factor principal, por ejemplo, durante la primavera influyó sustancialmente la temperatura, la humedad relativa y la velocidad del viento, mientras que en verano lo fue la presión atmosférica y la humedad relativa, infiriendo que los factores meteorológicos pueden alterar la liberación y el transporte bacteriano e incluso acarrear bacterias exógenas (Zhen et al., 2017).

Otros estudios, mencionan que la atmósfera está colonizada transitoriamente por bacterias de fuentes locales como el suelo, el agua o las plantas de cada área, infiriendo en una asociación de microorganismos bacterianos con polvos en el aire, ya que de esta forma logran protegerse del efecto por radiación solar y al mismo tiempo lo utilizan como vía de transporte (Bertolini et al., 2013). Bajo este contexto, especies como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Burkholderia cenocepacia*, *Bacillus subtilis* y *Serratia marcescens* no logran evadir la muerte celular causada por la exposición al ozono y por iones negativos presentes en el aire (Fletcher et al., 2007).

Por otro lado, una sola gota de lluvia puede transferir el 0.01 % de las bacterias a la superficie del suelo y de esta al aire a través de los cientos de aerosoles generados por la lluvia (Joung et al., 2017) y después de un evento de calor este mismo fenómeno se ha observado al incrementarse significativamente la abundancia de bacterias formadoras de esporas (Fang et al., 2018).

En otro aspecto, el territorio de la ZMVT es una zona influenciada por los vientos alisios que soplan con más intensidad en primavera y verano. Se caracteriza por tener un clima templado en la mayor parte del valle; semifrío en los municipios de Lerma, Zinacantepec y Toluca, así como un clima frío, en estos últimos dos (GEM y SEMARNAP, 1997).

Elevaciones montañosas como la Sierra Nevada de Toluca al suroeste, la Sierra de las Cruces y la Sierra de Ocoyotepec al este, la Sierra de Monte Alto al noroeste y la Sierra Matlazinca al sur, determinan fuertemente la dirección de los vientos, en las que el Nevado de Toluca influye en las corrientes de aire provenientes del sur, generando el cambio de su trayectoria; mientras que la Sierra de Monte Alto y la Sierra de las Cruces impiden la circulación de los vientos alisios, en la época seca-fría que llegan al Valle (ProAire, 2012). Este fenómeno natural origina que los vientos predominantes en el Valle de Toluca se deslicen al sureste y en ocasiones crean domos de polvo en la ciudad (GEM, 2007; Morales et al., 2007). En la figura 4.1, se observa la dirección de los vientos en los seis sitios de estudio de la ZMVT.

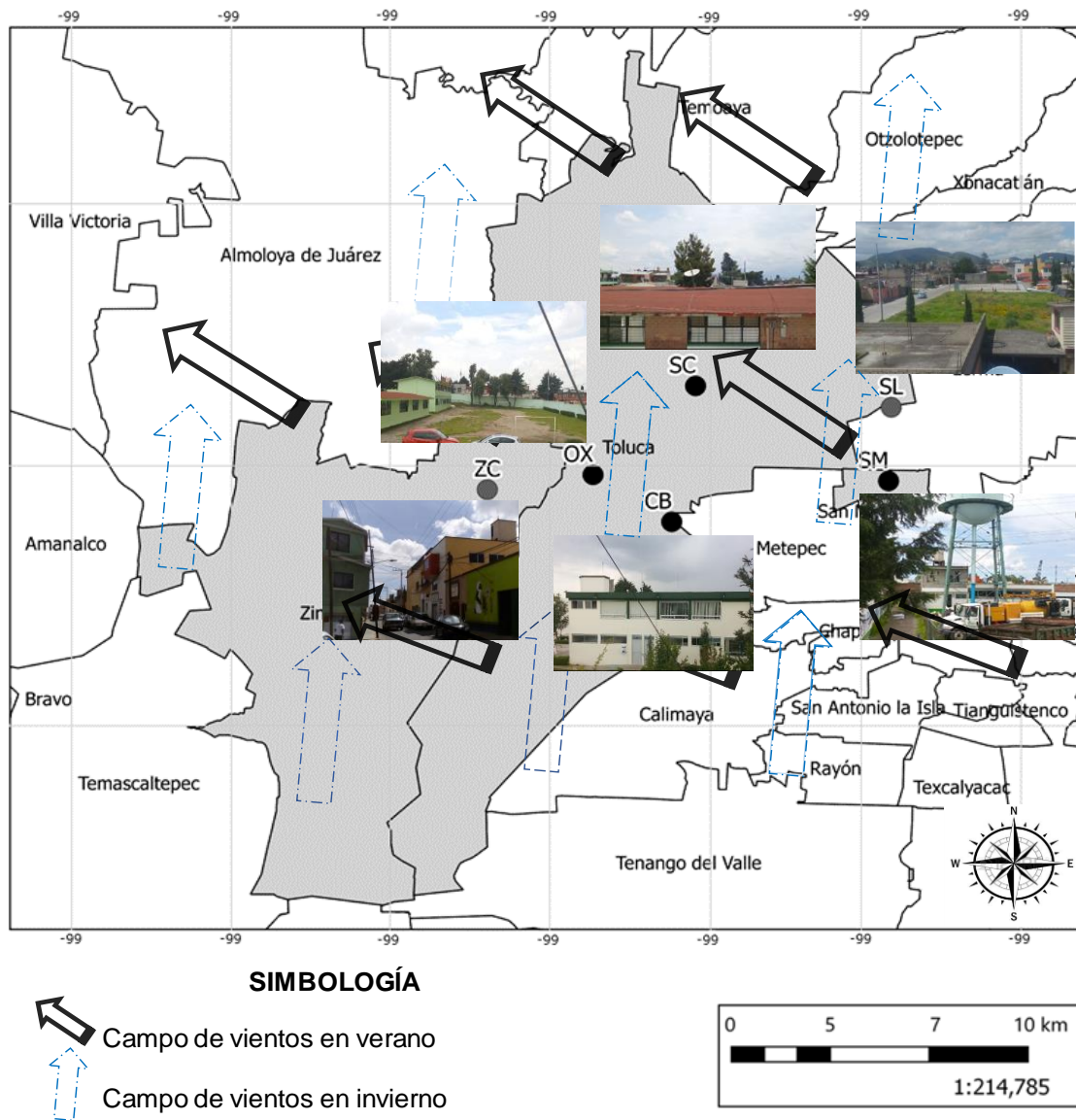


Figura 4.1. Dirección de los vientos en la ZMVT (Modificado de ProAire, 2012).

Respecto al uso de suelo en la ZMVT existe una estrecha relación entre el clima, el uso de suelo y las partículas, debido a que estas últimas provienen de actividades humanas. De acuerdo con datos del Gobierno del Estado de México (GEM, 2007) para el año 2004, la superficie territorial de la ZMTV era de 2,669.6 Km², dentro del cual incluía: uso agrícola (1,696.9 Km²), uso humano (110.5 Km²), uso forestal (518.9 Km²), entre otros (343.2 Km²), con ocho tipos de suelo. En la tabla 4.2, se observan los tipos de suelos que predominan en la ZMVT.

Tabla 4.2. Territorio y proporción de los tipos de suelo que predominan en la ZMTV.

Territorio	Proporción	Tipo de suelo
Centro y sur	Mayor	Phaeozem
		Andosol
		Vertisol
Temoaya y Oztolotepec	Menor	Luvisol
		Cambisol
		Planosol
Nevado de Toluca y Tenango del Valle	Mínima	Regosol
		Leptosol

FAO-Unesco (1976).

4.5. Objetivo

- Relacionar los factores ambientales que determinan la presencia de grupos fisiológicos bacterianos.

4.6. Métodos

La colecta de las muestras se llevó a cabo los días 16 de agosto de 2017 (época de lluvias) y 26 de marzo de 2018 (época seca-cálida) en los sitios: Oxtotitlan (OX), Ceboruco (CB), San Mateo Atenco (SM), San Cristóbal Huichochitlan (SC), Zinacantepec (ZC) y San Lorenzo Tepaltitlan (SL) ubicados en la zona centro, norte y sur de la Zona Metropolitana del Valle de Toluca (ZMVT), a través de la técnica por gravedad (Capítulo 3); en un intento

por comprender la relación entre las bacterias aéreo-transportadas (BAT) y las variables ambientales, se realizó una base de datos con las abundancias relativas de los phyla identificados en los seis sitios de estudio y el registro de los parámetros ambientales que incluyó: dirección del viento (DV), velocidad del viento (VV), humedad relativa (HR), presión atmosférica (PA), temperatura (TMP) y radiación solar (RUV), estableciendo una correlación de Spearman (coeficiente de correlación R), considerando significativo un valor de $p < 0.05$.

4.7. Resultados

Se identificaron cinco phyla en los seis sitios de estudio: OX, CB, SM, SC, ZC y SL; en ambas épocas los phyla con mayor abundancia fueron los Firmicutes y las Proteobacteria. Se registró una mayor VV (m/s) y HR (%) en la época de lluvias a diferencia de la época seca-cálida (tabla 4.1 y 4.2). Los valores reportados en este estudio, son razonables ya que en la época de lluvias se caracteriza por fuertes ráfagas de vientos y la humedad relativa aumenta con el agua originada por las precipitaciones en la ZMVT.

Tabla 4.1. Grupos bacterianos y variables ambientales registrados en seis sitios de la ZMVT en la época de lluvias.

Phyla (%)	Lluvias					
	SC	SM	CB	OX	ZC	SL
Acidobacteria	0.24	0.03	1.02	0.21	0.36	0.73
Bacteroidetes	0.18	0.00	0.00	0.04	0.01	0.01
Firmicutes	95.39	97.04	25.29	24.79	47.48	72.42
Proteobacteria	3.83	2.92	72.75	74.46	51.28	25.63
Thermi	0.37	0.01	0.94	0.48	0.83	1.19
Variables ambientales						
DV (°A)	174	170	156	139	131	—
VV (m/s)	2.7	1.7	1.3	2.2	3.9	—
HR (%)	77	82	69	—	78	—
PA (mm de Hg)	561	563	562	—	—	—
TMP (°C)	15.1	16.6	17.0	0.000	15.0	—
RUV (W/m ²)	0.8	0.9	0.9	0.0	—	—

—: datos no disponibles.

Tabla 4.2. Grupos bacterianos y variables ambientales registrados en época seca-cálida.

Phyla (%)	Seca-cálida					
	SC	SM	CB	OX	ZC	SL
Acidobacteria	1.82	1.36	1.52	2.35	2.47	1.04
Bacteroidetes	0.20	0.07	0.34	1.02	0.36	0.02
Firmicutes	83.91	76.11	81.09	66.08	62.10	95.10
Proteobacteria	13.78	22.41	16.74	30.53	34.55	3.65
Thermi	0.27	0.04	0.30	0.01	0.47	0.18
Variables ambientales						
DV (°A)	–	–	–	–	200	–
VV (m/s)	1.6	1.5	1.1	1.3	3.6	–
HR (%)	46	0	0	–	46	–
PA (mm de Hg)	560	560	560	–	1026	–
TMP (°C)	16.5	18.0	17.7	16.8	25.0	–
RUV (W/m ²)	0.9	1.1	1.1	–	–	–

_: datos no disponibles.

De acuerdo con los resultados la correlación entre los grupos bacterianos y las variables: DV, VV, HR, PA, TMP y RUV, no se observó una correlación significativa (tabla 4.3). Este resultado sugiere, la realización de registros y periodos de tiempo mayores a los realizados en este estudio.

Tabla 4.3. Correlación entre los grupos bacterianos y las variables ambientales registrados en los seis sitios de estudio.

Variables ambientales	Grupos bacterianos (Phyla %)					
		Acidobacteria	Bacteroidetes	Firmicutes	Proteobacteria	Thermi
DV (°A)	R=	0.657	0.808	0.541	-0.566	-0.451
	$p=$	0.156	0.052	0.267	0.242	0.370
VV (m/s)	R=	-0.163	-0.217	-0.152	0.155	0.443
	$p=$	0.653	0.546	0.675	0.669	0.200
HR (%)	R=	-0.608	-0.495	-0.139	0.160	0.407
	$p=$	0.110	0.213	0.743	0.705	0.316
PA (mm de Hg)	R=	0.642	0.575	-0.221	0.196	0.181
	$p=$	0.120	0.177	0.634	0.673	0.698
TMP (°C)	R=	0.592	0.263	0.442	-0.467	-0.115
	$p=$	0.071	0.463	0.200	0.174	0.752
RUV (W/m ²)	R=	0.549	0.347	0.587	-0.601	-0.276
	$p=$	0.201	0.445	0.166	0.154	0.549

R: coeficiente de correlación. Se considera significativo un valor de $p < 0.05$.

4.8. Discusión

En este trabajo se había sugerido relacionar los factores ambientales que determinan la presencia de grupos fisiológicos bacterianos identificados previamente, sin embargo, no se observó una correlación estadísticamente significativa entre las variables consideradas. Apoyando estas observaciones Matthias-Maser et al. (2000), evidencian que solo las biopartículas con dimensiones considerables (ejemplo, polen y esporas de hongos), mostraron una relación estadísticamente significativa con las condiciones atmosféricas a diferencia de las concentraciones de bacterias con diámetros aproximados de 2 μm . Así mismo, Qi et al. (2015), en un estudio para determinar el nivel de actividad microbiana en la atmósfera en Qingdao, China, observaron que estos procesos microbianos no mostraron una correlación significativa con variables ambientales que incluyó: la temperatura, la humedad relativa y la velocidad del viento. No obstante, podría apreciarse posiblemente una correlación sustancial si se realiza un muestreo por periodos de tiempo más largo; en este sentido Marotzke y Forster (2015), sugieren que es probable observar algunos efectos como el cambio climático cuando se consideran conjuntos de datos meteorológicos a largo plazo, lo que se sugiere, sea aplicable en estudios futuros para dilucidar lo planteado inicialmente.

4.9. Conclusiones

- De acuerdo con los resultados de la relación entre los grupos bacterianos y las variables: dirección del viento (DV), velocidad del viento (VV), humedad relativa (HR), presión atmosférica (PA), temperatura (TMP) y radiación solar (RUV), mediante la correlación de Spearman, no se observó correlación estadísticamente significativa.

4.10. Literatura citada

- Agarwal S. 2017. Seasonal variability in size-segregated airborne bacterial particles and their characterization at different source-sites. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(15):13519-13527.
- Bertolini V, Gandolfi I, Ambrosini R, Bestetti G, Innocente E, Rampazzo G, Franzetti A. 2013. Temporal variability and effect of environmental variables on airborne bacterial communities in an urban area of Northern Italy. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(14):6561-6570.
- Clausß M. 2015. Particle size distribution of airborne microorganisms in the environment-A review. *Landbauforsch Applied Agricultural and Forestry Research*, 65(2):77-100.
- Després V, Huffman JA, Burrows SM, Hoose C, Safatov A, Buryak G, Fröhlich-Nowoisky J, Wolfgang E, Meinrato A, Ulrich P, Jaenicke R. 2012. Primary biological aerosol particles in the atmosphere: a review. *Chemical and Physical Meteorology*, 64(1):2-40.
- Fang Z, Guo W, Zhang J, Lou X. 2018. Influence of heat events on the composition of airborne bacterial communities in urban ecosystems. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(10):2295.
- FAO-Unesco. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura. 1976. Mapa mundial de suelos 1: 5 000 000. París, 3:104.
- Fletcher LA, Gaunt LF, Beggs CB, Shepherd SJ, Sleigh PA, Noakes CJ, Kerr KG. 2007. Bactericidal action of positive and negative ions in air. *BMC Microbiology*, 7(1):1-9.
- Fykse EM, Tjarnhage T, Humppi T, Sørvik VE, Ingebretsen A, Skogan G, Olofsson G, Wa"sterby P, Gradmark P, Larsson A, Dybwad M, Blatny JM. 2015. Identification of airborne bacteria by 16S rDNA sequencing, MALDI-TOF MS and the MIDI microbial identification system. *Aerobiologia*, 31:271-281.
- Gandolfi I, Bertolini V, Ambrosini R, Bestetti G, Franzetti A. 2013. Unravelling the bacterial diversity in the atmosphere. *Applied Microbiology and*

- Biotechnology, 97(11):4727-4736.
- García-Mena J, Murugesan S, Pérez-Muñoz AA, García-Espitia M, Maya O, Jacinto-Montiel M, Giselle Monsalvo-Ponce G, Piña-Escobedo A, Domínguez-Malfavón L, Gómez-Ramírez M, Cervantes-González E, Núñez-Cardona MT. 2016. Airborne bacterial diversity from the low atmosphere of greater Mexico City. *Microbial Ecology*, 72(1):70-84.
- GEM y SEMARNAP. Gobierno del Estado de México, Secretaria del Medio Ambiente, Recurso Naturales y Pesca. 1997. Aire Limpio: Programa para el Valle de Toluca 1997-2000. Consultado el 5 de febrero de 2019. Disponible en https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/69320/16_PROAIRE_VALLE_DE_TOLUCA_1997-2000.pdf
- GEM. Gobierno del estado de México. 2007. Inventario de Emisiones de la Zona Metropolitana del Valle de Toluca, 2004. Consultado el 7 de julio de 2017. Disponible en: http://sma.edomex.gob.mx/sites/sma.edomex.gob.mx/files/files/sma_pdf_ie_zm_vt.pdf
- Genitsaris S, Stefanidou N, Katsiapi M, Kormas KA, Sommer U, Moustaka-Gouni M. 2017. Variability of airborne bacteria in an urban Mediterranean area (Thessaloniki, Greece). *Atmospheric Environment*, 157:101-110.
- Joung YS, Ge Z, Buie CR. 2017. Bioaerosol generation by raindrops on soil. *Nature Communications*, 8:1-10.
- Klein AM, Bohannan BJM, Jaffe DA, Levin DA, Green JL. 2016. Molecular evidence for metabolically active bacteria in the atmosphere. *Frontiers in Microbiology*, 7:1-11.
- Lighthart B. 1997. The ecology of bacteria in the alfresco atmosphere. *FEMS Microbiology Ecology*, 23:263-274.
- Lovelock J. 2007. La venganza de la Tierra. Editorial Planeta, Barcelona, 249 p.
- Marotzke J and Forster PM. 2015. Forcing, feedback and internal variability in global temperature trends. *Nature*, 517(7536):1-15.
- Matthias-Maser S, Jaenicke R. 2000. The size distribution of primary biological aerosol particles in the multiphase atmosphere. *Aerobiologia*, 16(2):207-210.
- Morales CCM; Madrigal DU and González LAB. 2007. Isla de calor en Toluca,

-
- México. *Ciencia Ergo-Sum*, 14(3):307-316.
- ProAire. Programa para mejorar la calidad del aire Valle de Toluca 2012-2017. 2012. Consultado el 26 de junio de 2019. Disponible en http://proaire.edomex.gob.mx/toluca_2012_2017
- Qi J, Zhong X, Shao Q, Gao D, Wu L, Huang L, Ye Y. 2015. Microbial activity levels in atmospheric bioaerosols in Qingdao. *Aerobiologia*, 31(3):353-365.
- Sattler B, Puxbaum H, Psenner R. 2001. Bacterial growth in supercooled cloud droplets. *Geophysical Research Letters*, 28(2):239-242.
- Womack AM, Bohannan BJM, Green JL. 2010. Biodiversity and biogeography of the atmosphere. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 365(1558):3645-3653.
- Yuan H, Zhang D, Shi Y, Li B, Yang J, Yu X, Chen N, Kakikawa M. 2017. Cell concentration, viability and culture composition of airborne bacteria during a dust event in Beijing. *Journal of Environmental Sciences*, 55:33-40.
- Zhai Y, Li X, Wang T, Wang B, Li C, Zeng G. 2018. A review on airborne microorganisms in particulate matters: composition, characteristics and influence factors. *Environment International*, 113:74-90.
- Zhen Q, Deng Y, Wang Y, Wang X, Zhang H, Sun X, Ouyang Z. 2017. Meteorological factors had more impact on airborne bacterial communities than air pollutants. *Science of the Total Environment*, 601:703-712.

Conclusiones generales

El análisis de los resultados obtenidos en cada capítulo ha permitido establecer cuatro conclusiones con respecto a la distribución espacio-temporal de la composición bacteriana en la atmósfera baja del Valle de Toluca:

1. En tres sitios: San Cristóbal Huichochitlan (SC), San Mateo Atenco (SM) y Ceboruco (CB) se obtuvo:
 - a) El aislamiento y caracterización de las bacterias viables a través de sus propiedades morfológicas y fisiológicas.
 - b) Mediante la técnica atómica denominada PIXE se detectó la composición química elemental de las $PM_{2.5}$.
 - c) Se determinó la asociación entre las $PM_{2.5}$ y las bacterias aéreo-transportadas.
2. En seis sitios de la ZMVT: Oxtotitlán (OX), Ceboruco (CB), San Mateo Atenco (SM), San Cristóbal Huichochitlan (SC), Zinacantepec (ZC) y San Lorenzo Tepaltitlán (SL), mediante secuenciación masiva, se identificó la composición bacteriana y se observaron factores que determinaron la presencia de grupos fisiológicos bacterianos.
3. Se cumplieron los objetivos planteados y se obtiene la distribución espacio-temporal de la composición bacteriana en la atmósfera baja del Valle de Toluca.
4. Se requiere incrementar la frecuencia de la toma de muestras tanto de las $PM_{2.5}$ como de las bacterias aéreo-transportadas para precisar la influencia y su relación.

Capítulo 5. Transferencia de conocimiento

A través de la divulgación científica, se transmite el conocimiento a la comunidad interesada, conocimiento derivado de investigaciones que directa o indirectamente influye en la cultura de la sociedad. En este trabajo, mediante una entrevista en Radio Ciudadana 660 AM Ciudad de México (o también Terramar), titulado: “Contaminantes biológicos en la atmósfera. El caso de la Zona Metropolitana del Valle de Toluca, México”, se planteó satisfacer la transferencia de este conocimiento.

Radio Ciudadana 660 AM, inicia en mayo de 2017, transmitiendo por radio AM e internet desde la Ciudad de México, todos los jueves a las 18:30 horas. Emite conversaciones sobre "Ecología, Biodiversidad y Ambiente", es una estación de radio que impulsa la cultura, la libertad de expresión y el derecho a la información. El oyente encuentra temas de interés general por expertos, sin fines de lucro o publicidad, el único propósito de la estación es difundir investigaciones de calidad, realizadas sobre todo por investigadores, científicos y estudiantes que comparten lo más novedoso y relevante de diferentes ramas de la ciencia. Está dirigido a todo público interesado en estos temas, pero especialmente a la generación del cambio (climático). El equipo Terramar está integrado por: Javier Rodrigo Reyes Pinzón (conductor), Ricardo Reyes Chilpa (contenidos) y Carolina Durán (producción), que abrieron el espacio para compartir una fracción del trabajo realizado en la Zona Metropolitana del Valle de Toluca, México.

Asimismo, como parte de la transferencia de conocimiento, se realizó la publicación de una nota científica en el Boletín informativo CAUCE que lleva por nombre: “Bacterias que se inhalan en la Zona Metropolitana del Valle de Toluca”, con la finalidad de divulgar a la comunidad estudiantil una parte del trabajo que se realizó en esta tesis.

Contenido de Escaleta realizada durante la entrevista en radio *TERRAMAR*, enero de 2019.

1

“TERRAMAR: Conversaciones sobre Ecología, Biodiversidad y Ambiente No. - Grabación: 15/Enero/2019. IMER 19hrs. Transmisión: Pendiente
 Conducción: Javier Rodrigo Reyes Pinzón. Producción: Carolina -Durán.
 Guión: Guadalupe Cruz, Antonio Lozada y Ricardo Reyes
 Tema: **Contaminantes Biológicos en la Atmósfera. El caso de la Zona Metropolitana del Valle de Toluca, México.**
Invitados: Guadalupe Cruz Pauseno y Antonio Lozada Canudas

CONDUCTOR: INTRODUCCIÓN

Robert Owen (1816) relacionó el bienestar humano y la calidad del aire a través de la siguiente frase: “Para obtener y conservar la salud de un buen estado, para mantener la felicidad, es necesario aire purp. Las ciudades y fábricas no tienen aire puro, es necesario adoptar medidas para garantizarlo”. Si bien desde esa fecha ha existido un creciente interés en el tema, solo después de la Segunda Guerra Mundial (1945) surge oficialmente la necesidad de identificar las fuentes de contaminación del aire que pueden afectar la salud humana. El rápido y desordenado crecimiento urbano y la industrialización, como ocurre en la Zona Metropolitana de la ciudad de Toluca, México, se traducen en un aumento en las fuentes de contaminantes inorgánicos, como el ozono; pero también es necesario conocer los riesgos de las partículas orgánicas de origen biológico, hongos y bacterias, también conocidas como bioaerosoles, a los cuales no se les brinda suficiente atención.

Invitados: Guadalupe Cruz Pauseno y Antonio Lozada Canudas. Ambos son biólogos por la Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco y estudiantes de la Maestría en Ecología Aplicada en la misma universidad.

Conductor: Contaminantes Biológicos en la Atmósfera. El caso de la Zona Metropolitana del Valle de Toluca, México.

Con: Guadalupe Cruz Pauseno y Antonio Lozada Canudas

CONDUCTOR: INICIA ENTREVISTA

1.- ¿Qué es la contaminación atmosférica?

Es la presencia de materia, sustancias químicas, biológicas y formas de energía que alteran la calidad del aire causando efectos negativos en animales, vegetación

2

(algunas de importancia económica), personas y edificaciones de importancia histórica.

2.- ¿Cuáles son los principales contaminantes?

Primero habría que clasificar los contaminantes de acuerdo con su origen: Inorgánicos- Emisiones principalmente relacionadas con actividades humanas como la industria, minerías, otros. Los contaminantes criterios monitoreados son Dióxido de azufre (SO₂), Monóxido de carbono (CO), Dióxido de nitrógeno (NO₂), Ozono (O₃) y Plomo (Pb).

Orgánicos- También conocidos como bioaerosoles, son aquellos que comprenden partículas de origen o actividad biológica que pueden afectar a seres humanos. Están compuestos principalmente por polen, virus, bacterias y hongos de diferentes diámetros.

3.- ¿Por qué estudiar la Zona Metropolitana del Valle de Toluca?

Porqué se encuentra en el centro del país y esta reportada como la segunda conurbación con importancia económica del Estado de México. También se resalta su importancia debido a que conserva actividades agrícolas cerca de las zonas industriales presentes, traduciéndose esto en características particulares de los sitios que tienen el potencial de fungir como fuentes de diversos microorganismos. Para esto se realizaron los muestreos en seis sitios los cuales fueron: San Mateo Atenco, Nueva Oxtotitlan, San Cristóbal Huichochitlan, Ceboruco, Zinacantepec y San Lorenzo Tepaltitlan.

4.- ¿Cual es en general la calidad del aire en el Valle de Toluca?

Si bien es complicado generalizar, gracias a los datos obtenidos por la Red Automática de Monitoreo Atmosférico de Toluca, los mosaicos de la calidad del aire por partículas suspendidas de fracción respirable (10 µm, 2.5 µm y ozono) se han registrado como regular (2017) y mala (2018).

5.- Comentan sobre partículas muy pequeñas en el aire. Recordemos a nuestra audiencia que un micrómetro es la milésima parte de un milímetro. ¿Por qué es importante el diámetro de los microorganismos?

De acuerdo con la NOM-025-SSA1-2014 "Límites permitidos para PM10 y PM2.5", las partículas se pueden clasificar en 3 tipos. Gruesas (10 μm), finas (2.5 μm) y ultra finas (0.1 μm). La importancia de esta clasificación radica en la región del cuerpo a la que puede impactar, hay estudios que refieren que las partículas con diámetro de 10 μm se alojan en la parte superior del tracto respiratorio (Nariz-tráquea), mientras que las partículas de 2.5 μm pueden llegar a la parte baja del tracto respiratorio (Faringe-pulmones) pudiendo llegar hasta los alvéolos pulmonares.

6.- Uds. Se han enfocado a estudiar microorganismos en el aire ¿por qué?

- Generar antecedentes en el monitoreo de microorganismos (bacterias y hongos) para fomentar el interés en estos estudios, que podrían proporcionar una referencia potencialmente importante para la gestión agrícola y de salud.
- Acondicionar el camino para el desarrollo de propuestas o normativas ambientales que establezcan los mínimos y máximos permisibles de partículas biológicas (bacterias y hongos); reforzar las estrategias ambientales para contrarrestar los riesgos a la salud a nivel local y nacional.

7.- ¿Qué microorganismos han detectado? ¿Cómo lo hicieron? ¿Qué daños a la salud pueden causar?

Para la obtención de las muestras se empleó la técnica de sedimentación pasiva, en la que se expusieron cajas de Petri con Agar Nutritivo (bacterias) y Agar Rosa de Bengala (hongos); posteriormente fueron incubadas a diferentes temperaturas. Para el caso de las bacterias se extrajo el DNA bacteriano para una secuenciación masiva e identificarlas de acuerdo a su huella genética.

4

Guadalupe: Se identificaron 203 tipos de bacterias, dentro de las cuales sobresalen las que pertenecen a la familia Planococcaceae, Enterobacteriaceae, Oxalobacteraceae; géneros como *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Erwinia* *Acinetobacter* y *Planomicrobium*. Algunos de los padecimientos asociados son cáncer en la piel, nacimientos prematuros, leucemia, infecciones pulmonares, endocarditis, meningitis e infecciones en el tracto urinario.

Antonio: De 2,500 unidades formadoras de colonia analizadas, se registraron más de 55 géneros fúngicos de los cuales se resalta la presencia de *Fusarium*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Acremonium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Epicoccum*, *Mucor*, *Geotrichum*, *Verticillium*. Algunos de los padecimientos respiratorios son complicaciones de asma, rinitis alérgica, aspergilosis bronquiopulmonar alérgica, cromoblastomicosis, sinusitis alérgica, bronquitis y mucormicosis, entre otras.

8.- ¿De dónde provienen estos hongos y bacterias? ¿Nos vamos a enfermar por respirarlos?

No, no es mala la presencia de estos microorganismos. Ya que tanto bacterias como hongos cumplen funciones vitales en los diferentes ecosistemas, ya sea como degradadores de materia orgánica, intervienen en los ciclos biogeoquímicos, como control biológico natural o recirculadores de nutrientes en las cadenas tróficas.

Si bien su presencia en grandes concentraciones supone un riesgo para la salud del ser humano, se necesita que la persona esté en un estado inmunocomprometido para que estos patógenos, identificados como oportunistas, puedan generar algún tipo de padecimiento.

9.- ¿Cuál es su recomendación...?

- Seguir apoyando a los estudios de monitoreo atmosférico, para la identificación de partículas biológicas y contaminantes inorgánicos.
- Identificación de los periodos con mayor presencia de partículas biológicas, para la implementación de estrategias preventivas por parte del sector salud.

5

- El fomento de hábitos de higiene en la población y de un estilo de vida saludable, para prevenir padecimientos derivados de algún cuadro de inmunodepresión al sistema.
- Generar conciencia ambiental en torno a los microorganismos que se estudiaron, para conocer sus aspectos benéficos, así como sus posibles impactos al ser humano.

10.- ¿Dónde y qué apoyo tuvieron para realizar estos estudios? ¿Dónde pueden consultarlos?

- Maestría en Ecología Aplicada UAM-Xochimilco

Guadalupe Cruz Pauseno trabaja con la Dra. María Teresa Núñez Cardona en la identificación de bacterias suspendidas en el aire.

Antonio Lozada trabaja con la Dra. María Judith Castellanos Moguel en el monitoreo de hongos presentes en la atmósfera.

Agradecimientos: Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el financiamiento otorgado a los proyectos:

- CB-256751: Responsable Dr. Raúl V. Díaz Godoy (ININ), Dra. María Judith Castellanos Moguel y Dra. María Teresa Núñez Cardona (UAM-Xochimilco), Dra. Martha Patricia Sierra Vargas (INER).
- 163235 INFR-2011: Responsable Dr. Jaime García Mena, (CINVESTAV Zacatenco).

CONDUCTOR: Agradecemos a nuestros invitados **Guadalupe Cruz Pauseno** y **Antonio Lozada Canudas** por su presencia el día de hoy, tratando el tema: **Contaminantes Biológicos en la Atmósfera. El caso de la Zona Metropolitana del Valle de Toluca, México.** Los invitamos a que escuchen el próximo programa y que nos escriban a nuestro Facebook.



Ciudad de México a 27 de Febrero del 2019

Guadalupe Cruz Pauseno

Maestra

Presente.

Sirva este conducto para agradecer su participación en el programa **Terramar, Conversaciones sobre ecología, biodiversidad y ambiente**, abordando el tema **"CONTAMINANTES BIOLÓGICOS EN LA ATMÓSFERA BAJA DE LA ZONA METROPOLITANA DEL VALLE DE TOLUCA"** el cual se llevó a cabo el 27 de Febrero del 2019, en XEDTL, Ciudadana 660 AM del Instituto Mexicano de la Radio.

Valoramos el poder contar con ciudadanos/ciudadanas comprometidas como usted, que ha contribuido honoríficamente a llevar a nuestros y nuestras radioescuchas información valiosa.

Cordialmente,

Lic. Claudia Ortigoza Pérez
Gerente



Publicación de nota científica en el Boletín Informativo CAUCE Junio de 2019.



Bacterias que se inhalan en la Zona Metropolitana del Valle de Toluca

Guadalupe Cruz Pauseno, Jaime García Mena, Raúl Venancio Díaz Godoy

Las bacterias son organismos que comprenden uno de los grupos taxonómicos más extensos en la tierra, estas se encuentran en cualquier ambiente y forman parte del entorno natural incluso en el cuerpo humano. El aire no es la excepción, ya que las que están forman parte de los bioaerosoles, que son fracciones de origen natural, con diversos tamaños en forma de proteínas, virus, bacterias, esporas de hongos y polen, además funcionan como núcleos para la formación de cristales de hielo; nubes, influyendo en el clima¹. La permanencia y distribución de las bacterias dependen de factores químicos como la contaminación en el aire derivado de actividades antropogénicas y naturales como la velocidad y dirección del viento, radiación solar, temperatura, humedad entre otros.

A medida que los núcleos urbanos crecen, también se incrementa la contaminación en el aire, por lo que se requiere saber más sobre su composición y calidad, sobre todo en la Zona metropolitana del Valle de Toluca (ZMVT), considerada como la segunda conurbación con mayor importancia económica y demográfica. En la ZMVT respiran alrededor de 2, 274, 372 habitantes², se evalúa constantemente las partículas suspendidas como las PM_{2.5} y PM₁₀ (partículas menores a 2.5 y 10 micras) a través de la Red Automática de Monitoreo Atmosférico de la ZMVT (RAMA). Sin embargo, son escasos los estudios acerca de la calidad microbiológica, aun cuando es de interés epidemiológico.

Debido a lo anterior, surge la necesidad de conocer las bacterias que se inhalan en la ZMVT, ya que están asociadas con diversas enfermedades en plantas, animales y en el humano, adquiriendo gran importancia biológica y económica. Con la finalidad de conocer la composición bacteriana en seis sitios de la ZMVT: Oxtotitlan, San Mateo Atenco, San Cristóbal Huichochitlan, Ceboruco, Zinacantepec y San Lorenzo Tepaltitlan, fueron colectadas bacterias vivas del ambiente mediante la exposición de cajas de cultivo por el método por gravedad³. Después de coleccionar las bacterias, se trasladaron al laboratorio del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados para ser incubadas; cosechadas y extraer los ácidos nucleicos posteriormente, fueron secuenciadas utilizando el gen 16S ribosomal como identificador genético.

A través de la secuenciación, se identificaron 203 géneros bacterianos presentes en el aire de la ZMVT; la lista incluye microorganismos poco comunes y algunas de interés médico como: *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Exiguobacterium*, *Erwinia* y *Acinetobacter*. La presencia de estos ejemplares en grandes concentraciones podría ser un riesgo para la salud de personas con un sistema inmunológico debilitado, por lo que un óptimo estado de salud protege al organismo de adquirir infecciones originadas por la presencia de estas bacterias.

En el Laboratorio de Ecología Microbiana de la unidad Xochimilco de la UAM, a cargo de la doctora María Teresa Núñez Cardona, el Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional bajo la dirección del doctor Jaime García Mena y el Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares, coordinado por el doctor Raúl Venancio Díaz Godoy, la alumna Guadalupe Cruz Pauseno desarrolla en la Maestría de Ecología Aplicada de la UAM-X, el proyecto: “Distribución espacio-temporal de la composición bacteriana en la atmósfera baja del Valle de Toluca”, con el financiamiento otorgado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología a los proyectos: 163235 INFR-2011-01 del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados de la unidad Zacatenco y CB-256751 del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares.

Agradecimientos

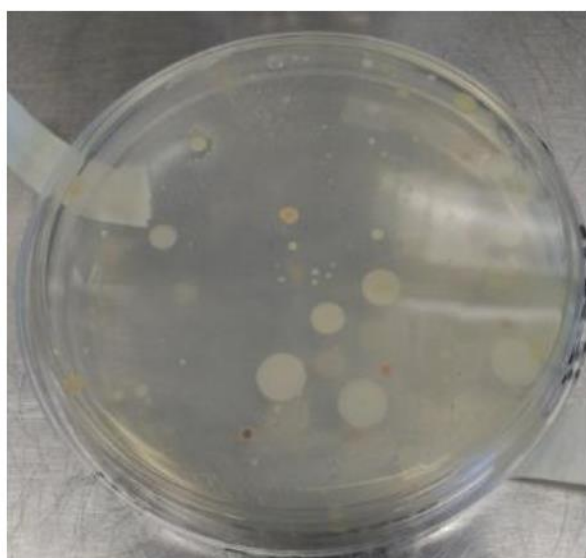
Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el financiamiento otorgado a los proyectos: 163235 INFR-2011-01 (responsable Dr. Jaime García Mena-CINVESTAV-Zacatenco), CB-256751 (responsable-Dr. Raúl V. Díaz Godoy-ININ y Dra. María Teresa Núñez-Cardona-UAM-X) y a la Maestría en Ecología Aplicada.

Referencias

- ¹ Fröhlich-Nowoisky J, Kampf CJ, Weber B, Huffman JA, Pöhlker C, Meinrat OA, Lang-Yona N, Burrows SM, Gunthe SS, Wolfgang E, Hang S, Hoor P, Thines E, Hoffmann T, Després VR, Pöschl U. 2016. Bioaerosols in the Earth system: Climate, health, and ecosystem interactions. *Atmospheric Research*, 182:346-376.
- ² COESPO. Consejo Estatal de Población Estado de México. 2016. Cuaderno Estadístico, Encuesta Intercensal 2015. Consultado el 05 de julio de 2017. Disponible en: <http://coespo.edomex.gob.mx/sites/coespo.edomex.gob.mx/files/files/cuaderno%20estadistico%202016.pdf>
- ³ García-Mena J, Murugesan S, Pérez-Muñoz AA, García-Espitia M, Maya O, Jacinto-Montiel M, Giselle Monsalvo-Ponce G, Piña-Escobedo A, Domínguez-Malfavón L, Gómez-Ramírez M, Cervantes-González E, Núñez-Cardona MT. 2016. Airborne Bacterial Diversity from the Low Atmosphere of Greater Mexico City. *Microbial Ecology*, 72 (1): 70-84.



Estación de monitoreo ambiental perteneciente a la Red Automática de Monitoreo Atmosférico de la ZMVT.



Microorganismos colectados en la Zona Metropolitana del Valle de Toluca.



Casa abierta al tiempo
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO

SID.035.19

15 de julio de 2019

COORDINACIÓN DE LA MAESTRÍA EN ECOLOGÍA APLICADA

UAM XOCHIMILCO

Presente

Por medio de la presente, le comunico que la **C. Guadalupe Cruz Pauseno**, alumna de la maestría en ecología aplicada, con número de matrícula 2172800594; presentó una solicitud de difusión para la investigación titulada: **Bacterias que se inhalan en la Zona Metropolitana del Valle de Toluca.**

Dicho material se difundió en la página web de la Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco (www.xoc.uam.mx), como también en las redes sociales: Facebook/ Sección de Información y Difusión y Twitter @CAUCEUAMXOC

Agradezco su atención y quedo de usted para cualquier duda, sin más por el momento, reciba un cordial saludo.

Atentamente

Casa abierta al tiempo

Lic. Alejandro Sauste Lobo
Jefe de la Sección de Información y Difusión
Coordinación de Extensión Universitaria
www.xoc.uam.mx
5483 7325 y 5483 7521
cauce@correo.xoc.uam.mx

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO
COORDINACIÓN DE EXTENSIÓN
UNIVERSITARIA
SECCIÓN DE INFORMACIÓN Y DIFUSIÓN
CALLE DE HERRERO NO. 1500 COL. VILLAS GUAYAS
DELEGACIÓN GUADAJARÁN
ESTADO MEXICANO, D. F.

Producto de trabajo

Guadalupe Cruz Pauseno, María Teresa Núñez-Cardona, Raúl V. Díaz-Godoy y Jaime García Mena. 2017. Characterization of hemolytic bacteria in the atmosphere of two sites from the Toluca Valley. Técnicas para el estudio de las bacterias del aire en México. XL Congreso Nacional de Microbiología. Asociación Mexicana de Microbiología A. C. Guadalajara, Jalisco 2 al 5 de abril de 2017.



Guadalupe Cruz Pauseno, María Teresa Núñez-Cardona, Raúl V. Díaz-Godoy y Jaime García Mena. 2017. Técnicas para el estudio de las bacterias del aire en México. XIV Encuentro Participación de la Mujer en la Ciencia. Centro de Investigaciones en Óptica, A.C. León, Guanajuato 18 de mayo de 2017.

XIV encuentro
Participación de la
Mujer
en la
Ciencia

17-19 **MAYO 2017** León, Guanajuato

OTORGA EL PRESENTE
Reconocimiento
por su valiosa participación a:

Cruz-Pauseno Guadalupe, Núñez-Cardona María Teresa, Díaz-Godoy Raúl V. y
García Mena Jaime

Por el trabajo:
TÉCNICAS PARA EL ESTUDIO DE LAS BACTERIAS DEL AIRE EN MÉXICO

Dr. Elder de la Rosa Cruz
Director General del CIO

Dra. Ma. Eugenia Sánchez
Representante del Comité Organizador

ISSN 2448-5063

CIO
CENTRO DE INVESTIGACIONES
EN ÓPTICA, A.C.

Matilde Montoya

Guadalupe Cruz Pauseno, María Teresa Núñez-Cardona, Jaime García Mena, Raúl V. Díaz-Godoy. 2017. Distribución espacio-temporal de la composición bacteriana en la atmósfera baja del valle de Toluca. 2da. Reunión Académica en Ecología Aplicada. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, Ciudad de México, 22 de mayo de 2017.



Casa abierta al tiempo
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
DIVISION DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD. **UNIDAD XOCHIMILCO**
DEPARTAMENTO EL HOMBRE Y SU AMBIENTE



Se otorga la presente
CONSTANCIA

A: Guadalupe Cruz Pauseno, María Teresa Núñez Cardona, Jaime García Mena,
Raúl V. Díaz Godoy

Como autores del Cartel: DISTRIBUCIÓN ESPACIO-TEMPORAL DE LA COMPOSICIÓN BACTERIANA EN LA ATMÓSFERA BAJA DEL VALLE DE TOLUCA: PROYECTO DE INVESTIGACIÓN



M. EN SIG. GILBERTO SVEN BINNQUIST CERVANTES
Jefe del Departamento:
El Hombre y su Ambiente



DR. LUIS AMADOR AYALA PÉREZ
Coordinador de la Maestría
en Ecología Aplicada

**"HAY UN LIBRO ABIERTO SIEMPRE PARA TODOS LOS DÍAS:
LA NATURALEZA" (JEAN JACQUES ROUSSEAU)**

Guadalupe Cruz Pauseno, María Teresa Núñez-Cardona, Jaime García Mena, Raúl V. Díaz-Godoy. 2017. Avances en el estudio de la distribución espacio-temporal de la composición bacteriana en la atmósfera baja del Valle de Toluca. 13º Congreso de Investigación. Universidad Nacional Autónoma de México, unidad FES Zaragoza. Ciudad de México, 16 al 20 de octubre de 2017.



UNIVERSIDAD
NACIONAL
AUTÓNOMA
DE MÉXICO

CONSTANCIA

Que otorga la
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES ZARAGOZA
a través del Departamento
de Educación Continua

a *Guadalupe Cruz Pauseno, María Teresa Núñez
Cardona, Jaime García Mena, Raúl V. Díaz Godoy,
María Eugenia Gutiérrez Castillo*

Por la presentación del Trabajo en Cartel: Avances en el Estudio de la Distribución Espacio-Temporal de la Composición Bacteriana en la Atmósfera Baja del Valle de Toluca, dentro del 13º Congreso de Investigación, organizado por la División de Estudios de Posgrado e Investigación de esta Facultad el 16 de octubre del año en curso.

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
Ciudad de México, a 20 de octubre de 2017.



Dr. Victor Manuel Mendoza Núñez
Director



Guadalupe Cruz Pauseno, María Teresa Núñez-Cardona, Jaime García Mena, Raúl V. Díaz-Godoy. 2017. Estado del arte del proyecto de investigación: Distribución espacio-temporal de la composición bacteriana en la atmósfera baja del valle de Toluca. XXII Simposio del Departamento de Ciencias de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana, unidad Iztapalapa. Ciudad de México, 13 al 15 de diciembre de 2017.

XXII
Simposio del Departamento de Ciencias de la Salud
2017
UAM Iztapalapa

LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
y
EL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA SALUD
UNIDAD IZTAPALAPA
Casa abierta al tiempo

Otorgan la presente
Constancia
a:
Cruz Pauseno Guadalupe, Núñez Cardona María Teresa, García Mena Jaime,
Díaz Godoy Raúl Venancio.

Por la presentación del trabajo:
"ESTADO DEL ARTE DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN: DISTRIBUCIÓN ESPACIO-TEMPORAL DE LA
COMPOSICIÓN BACTERIANA EN LA ATMÓSFERA BAJA DEL VALLE DE TOLUCA."
en el **XXII Simposio del Departamento de Ciencias de la Salud**

18 y 19 de septiembre, 13 al 15 de diciembre, 2017
Sala Cuicacalli

Dr. Eduardo Casas Hernández
Jefe del Dpto. de Ciencias de la Salud

Dra. Norma Edith López Díaz-Guerrero
Coordinadora

Dra. Elsa Cervantes Ríos
Coordinadora

UAM Iztapalapa logo



Casa abierta al tiempo

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO**
División de Ciencias Biológicas y de la Salud
Departamento El Hombre y su Ambiente

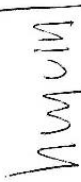
OTORGAN LA PRESENTE CONSTANCIA


*A: Cruz Pauseno Guadalupe, Núñez Cardona María Teresa,
García Mena Jaime y Díaz Godoy Raúl Venancio*


Por su participación en la presentación del cartel científico “ESTUDIOS EN BACTERIAS DEL AIRE REALIZADOS EN MÉXICO DE 2006-2016” en el Encuentro Académico Día del Biólogo 2018.

Celebrado en la Ciudad de México, 25 de Enero de 2018.


Mtro. Rafael Díaz García
Director de la División de CBS


M. en SIG. Gilberto Sven Binnquist Cervantes
Jefe del Departamento El Hombre y su Ambiente


Dra. Júdice Castellanos Moguel
Coordinadora de la Licenciatura en Biología


M. en C. Araceli Cortes García
Coordinadora del Evento

Guadalupe Cruz Pauseno, María Teresa Núñez-Cardona, Jaime García Mena, Raúl Venancio Díaz Godoy. 2018. Qué implica vivir en la zona metropolitana del Valle de Toluca. XV Encuentro Participación de la Mujer en la Ciencia. Centro de Investigaciones en Óptica, A.C. León, Guanajuato 23 de mayo de 2018.



23-25 MAYO 2018 León, Guanajuato



*Otorga el presente
Reconocimiento
por su valiosa participación a:*

Guadalupe Cruz Pauseno, María Teresa Núñez Cardona, Jaime García Mena y Raúl Venancio Díaz Godoy

Por el trabajo:

QUÉ IMPLICA VIVIR EN LA ZONA METROPOLITANA DEL VALLE DE TOLUCA

Dra. Gloria Verónica Vázquez García
Representante del Comité Organizador

Dr. Elder de la Rosa Cruz
Director General del CIO



Dorothy Crossfoot Hodgkin
Química Estadounidense

Guadalupe Cruz Pauseno, María Teresa Núñez-Cardona, Jaime García Mena, Raúl Venancio Díaz-Godoy. 2018. Identificación de bacterias del aire en seis puntos del Valle de Toluca. 14º Congreso de Investigación. Universidad Nacional Autónoma de México, unidad FES Zaragoza. Ciudad de México, 17 al 21 de septiembre de 2018.



UNIVERSIDAD
NACIONAL
AUTÓNOMA
DE MÉXICO



CONSTANCIA

Que otorga la
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES ZARAGOZA
a través del Departamento
de Educación Continua

a *Guadalupe Cruz Pauseno, María Teresa Núñez Cardona, Jaime García Mena,
Raúl Venancio Díaz Godoy*

Por la presentación del **Trabajo en Cartel: Identificación de Bacterias del aire en Seis Puntos del Valle de Toluca**, dentro del 14º Congreso de Investigación, el día 17 de septiembre del año en curso, organizado por la División de Estudios de Posgrado e Investigación de esta Facultad.

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
Ciudad de México, a 30 de noviembre de 2018.



Dr. Vicente Jesús Hernández Abad
Director



Guadalupe Cruz Pauseno, María Teresa Núñez Cardona, Jaime García Mena, Raúl Venancio Díaz Godoy. 2018. Avances en el estudio de la Distribución espacio-temporal de la composición bacteriana en la atmósfera baja del Valle de Toluca parte II. 1er Congreso de Ecología Aplicada. Universidad Autónoma Metropolitana, unidad Xochimilco. Ciudad de México, 21 y 22 de octubre de 2018.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Xochimilco



Maestría en Ecología Aplicada

1er Congreso en Ecología Aplicada

Otorgan la presente constancia a:

***Cruz Pauseno Guadalupe, Núñez Cardona María
Teresa, García Mena Jaime, Díaz Godoy Raúl Venancio***

Por su participación:

**En el 1er Congreso en Ecología Aplicada, con la ponencia oral:
“Avances en el estudio de la Distribución espacio-temporal de la
composición bacteriana en la atmósfera baja del Valle de Toluca parte II”**

Auditorio Jesús Virchez, edificio R, Universidad Autónoma Metropolitana, 21 y
22 de Noviembre de 2018



Dr. Luis Amado Ayala Pérez
Secretario Académico de la División de Ciencias
Biológicas y de la Salud

M. EN SIG. Gilberto S. Binnquíst Cervantes
Jefe de Departamento El Hombre y su Ambiente

Guadalupe Cruz Pauseno, María Teresa Núñez-Cardona, Jaime García Mena, Raúl V. Díaz-Godoy. 2017. Perspectivas del uso de plantas para mejorar la calidad del aire en el Valle de Toluca. XXIII Simposio del Departamento de Ciencias de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana, unidad Iztapalapa. Ciudad de México, 22 al 26 de octubre de 2018.



LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Y
EL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA SALUD

Otorgan la presente

Constancia

al:
Cruz Pauseno Guadalupe, Núñez Cardona María Teresa, García Mena Jaime, Díaz Godoy Raúl

Por la presentación del trabajo:

“PERSPECTIVAS DEL USO DE PLANTAS PARA MEJORAR LA CALIDAD DEL AIRE EN EL VALLE DE TOLUCA”

en el **XXIII Simposio del Departamento de Ciencias de la Salud**

22 al 26 de Octubre de 2018
Sala Cuicacalli


Dr. José Luis Gómez Olivares
Jefe del Depto. de Ciencias de la Salud


Dra. Norma Edith López Díaz-Guerrero
Coordinadora


Dra. Elsa Cervantes Ríos
Coordinadora



Guadalupe Cruz Pauseno, María Teresa Núñez-Cardona, Jaime García Mena, Khemlal Nirmalkar, Raúl V. Díaz-Godoy. 2018. Análisis por secuenciación masiva de bacterias aerotransportadas en seis puntos de la Zona Metropolitana del Valle de Toluca. XXVIII Congreso Técnico Científico. Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares-SUTIN, Toluca, México 27 al 30 de noviembre de 2018.

El Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares
y el Sindicato Único de Trabajadores de la Industria Nuclear
Otorgan el presente

Reconocimiento

a Guadalupe Cruz Pauseno, María Teresa Núñez
Cardona, Jaime García Mena, Khemlal Nirmalkar and
Raúl Venancio Díaz Godoy
Por la presentación del trabajo:

Análisis por secuenciación masiva de bacterias
aerotransportadas en seis puntos de la Zona Metropolitana
del Valle de Toluca

Dra. Lydia C. Paredes Gutiérrez
Directora General
Instituto Nacional
de Investigaciones Nucleares

Ing. Manuel García Barajas
Secretario General
Sindicato Único de Trabajadores
de la Industria Nuclear

Noviembre de 2018