



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

“ESTUDIO DE LA DIVERSIDAD DE LAS BACTERIAS AEROTRANSPORTADAS
EN LA ATMÓSFERA BAJA DE LA ZONA METROPOLITANA DEL VALLE DE MÉXICO.”

TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
BIÓLOGA

PRESENTA
MONSERRAT JACINTO MONTIEL

DIRECTOR DE TESIS
DR. JAIME GARCÍA MENA

ASESOR INTERNO
DR. JUAN JOSÉ RODRÍGUEZ MERCADO



MÉXICO, D. F. JUNIO 2013



Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Genómica Ambiental del Departamento de Genética y Biología Molecular. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Unidad Zacatenco, bajo la asesoría y supervisión del Dr Jaime García Mena.

Y fue financiado por el Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional; por la Red de Medio Ambiente y Sustentabilidad, (REMAS) del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) proyecto 0123119 y por el Instituto de Ciencia y Tecnología del Distrito federal (ICyTDF) proyecto ICYTDF/324/2009.



**En todo lo que hagas, Pon a Dios en primer lugar
y Él te guiará y coronará de felicidad y éxito tus esfuerzos.**

Proverbios 3:6

Si hemos y habremos de habitar este planeta,
es indispensable conocerlo mejor, para convivir mejor con él y en él.

La química, la biología y la física nos ayudan a hacerlo.

No es simplemente algo que nos fuerzan a estudiar en la escuela.

Es parte de la cultura imprescindible de todo ciudadano.



DEDICATORIA

Primeramente a mi Dios porque a pesar de todas las dificultades siempre me ha mostrado su luz, si algo tengo y he logrado es gracias a Él.

A mis Padres, MONCI y GERARDO pues me han apoyado en todas mis decisiones, me han aconsejado y han sido una guía en mi camino.

A mi hermana y amigos que para mí también son mis hermanos: DIANA, AMANECER, LUCERO y MARCO por que siempre han estado conmigo, me han visto en mis mejores y peores momentos, por sus consejos y apoyo.

A mi tía SUSANA y a mi prima ARY y por supuesto a mi pequeña sobrina MARÍA FERNANDA porque desde que inicie con esta etapa de mis estudios me apoyaron enormemente, me cuidaron y se preocuparon por mí. Gracias por todo su amor.

A mis tías ROCÍO, ALEJANDRA, ELIZABETH, OSMA y mi tío VÍCTOR porque siempre me han hecho sentir que en realidad puedo alcanzar todo lo que me proponga, ustedes sin darse cuenta me animan cada vez que siento que no lo lograre.

A la memoria de JULIA SOSA RODRÍGUEZ, una Gran Señora, la mejor persona que Dios me permitió conocer. Gracias por tu amor incondicional, por tu gran apoyo y fortaleza, por las veces que te desvelaste a causa mía.

Aunque físicamente ya no estás a mi lado, sigues presente en todo momento. Mi MAMA JU.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México por abrirme sus puertas y permitirme recibir la formación profesional que ahora tengo

Al Dr Juan José, porque desde que fue mi maestro en la carrera me guio y apoyo en mis estudios, por eso no dude ni un instante en escogerlo como mi asesor.

A la Dra. Patricia Piña porque en mi servicio social me enseñó y dio la confianza de trabajar en el laboratorio, por sus consejos y enseñanzas.

Al Dr Jaime García Mena, por brindarme la oportunidad de adentrarme en un área del conocimiento nuevo para mí y por su apoyo durante mi estancia en el laboratorio. Gracias por que en realidad me enseñó más de lo que imagina.

Al Biol. Alberto Piña Escobedo por su asistencia con los reactivos, además por los consejos para llevar a buen puerto el trabajo Gracias Albert, así como al Sr. Rodrigo García Gutiérrez por su asistencia con el material del laboratorio y amistad.

A Selva Sankar que me apoyo durante la estancia en el labo y de quien aprendí mucho, a los chavos de servicio social: Rodolfo, Mario, Ángel, Jacqueline, pero sobre todo a Erick por su dedicación desde que inicié, porque fue mi primer alumno y además gracias a él también aprendí muchas cosas. A Keila por que descubrí una nueva amistad y porque tiene en verdad un don de calmarme hasta en mis peores momentos. Gracias a todos por ayudarme pero sobre todo por su amistad y apoyo a lo largo de mi estancia en el laboratorio. Sin ustedes no lo hubiera logrado.

A los chavos del verano: Martín, Adolfo, Fernanda, Isabel, Daniel, José Luis. Gracias por que fueron una base fundamental para que el trabajo saliera adelante y aunque lo admito me desesperaban en un principio como no tienen idea, los extraño cuando su estancia termino.

Y claro a mis compañeros de la FES, en especial a Juan y Ricardo con quienes compartí mi último año de escuela y uno de los errores más grandes donde conocimos el laboratorio de inmunología más horrible del mundo “estar de malas no es un estado de ánimo, es un estilo de vida.”

ÍNDICE

CONTENIDO	PAGINA
LISTA DE TABLAS	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
ABREVIATURAS	ix
1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN.....	2
La calidad del aire	2
Los bioaerosoles	3
Las bacterias en la atmósfera	4
Características del genero <i>Bacillus</i>	6
Métodos de muestreo	7
Métodos de detección e identificación de microorganismos	9
Tinción de Gram	9
Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)	10
DNA 16S ribosomal	10
Secuenciación	12
3. ANTECEDENTES.....	14
4. JUSTIFICACIÓN	15
5. ALCANCE DEL PROYECTO	15
6. OBJETIVOS	15
7. HIPÓTESIS	16
8. ZONA DE ESTUDIO	16
9. MATERIAL Y MÉTODOS	19
Muestreo con el BioSampler SKC.....	19
Muestreo de sedimentación por gravedad	21
Aislamiento	23
Tinción de Gram.....	24
Confirmación de fenotipo hemolítico	24
Extracción de DNA	25
Amplificación del gen 16S ribosomal.....	26
Reacción de secuenciación	27
10. RESULTADOS	29
BioSampler.....	29
Sedimentación por gravedad.....	31
Aislamiento de las UFC α y β hemolíticas	36
Extracción de DNA	39
Amplificación del 16S.....	45

Secuencias depuradas y obtención del dendograma.....	49
11. DISCUSIÓN.....	53
12. CONCLUSIONES	60
13. RECOMENDACIONES.....	60
14. REFERENCIAS.....	61
15. APÉNDICE.....	68

LISTA DE TABLAS

CONTENIDO	PAGINA
Tabla 1. Puntos de muestreo en la ZMVM (sedimentación por gravedad)	22
Tabla 2. Componentes de la reacción de PCR	26
Tabla 3. Componentes de la reacción de secuenciamiento	27
Tabla 4. Resultados de las UFC en medio GS de junio	33
Tabla 5. Resultados del número de UFC en medio GS de julio.....	35
Tabla 6. Resultados de la cuantificación del ADN de junio.....	39
Tabla 7. Resultados de las extracciones del ADN de julio.....	40
Tabla 8. Recomendaciones para el análisis del ARN 16S	46

LISTA DE FIGURAS

CONTENIDO	PAGINA
Figura 1. Esquema del sistema BioSampler SKC.....	8
Figura 2. Estructura secundaria del ARNr 16S	12
Figura 3. Distribución de los municipios de la ZMVM.....	17
Figura 4. Zonas del muestreo con el BioSampler SKC	20
Figura 5. Sistema BioSampler SKC armado	20
Figura 6. Localización de los puntos de muestreo (sedimentación por gravedad)	22
Figura 7. Identificación de las colonias aisladas	24
Figura 8. Esquema del gen 16S ribosomal (regiones para amplificar y secuenciar)....	27
Figura 9. Ejemplo de los alineamientos de las muestras	28
Figura 10. Ejemplo de los resultados que arrojó el BLAST	28
Figura 11. Comparación de los tiempos de muestreo con el BioSampler	29
Figura 12. Cajas de Petri del muestreo BioSampler y Gravedad	30
Figura 13. Grafica del total de UFC de junio y julio.....	31
Figura 14. Porcentaje de las UFC y α y β hemolíticas en junio y julio	31
Figura 15. Cajas de Petri con mayor cantidad de UFC en junio	32
Figura 16. Cajas de Petri con mayor cantidad de UFC en julio	34
Figura 17. Tinciones de Gram que se realizaron en junio	37
Figura 18. Comprobación de fenotipo de las muestras de junio	37
Figura 19. Tinciones de Gram que se realizaron en julio.....	38
Figura 20. Comprobación de fenotipo de las muestras de julio	38
Figura 21. Gel de agarosa al 0.5 % para las extracciones de junio	44
Figura 22. Gel de agarosa al 0.5 % para las extracciones de julio	44
Figura 23. Gel de agarosa al 1 % para los productos de PCR de junio	45
Figura 24. Gel de agarosa al 1 % para los productos de PCR de julio	45
Figura 25. Ejemplo de los electroferogramas analizados	47
Figura 26. Géneros de las bacterias y la frecuencia con la que se encontraron	49
Figura 27. Dendograma realizado a partir de las secuenciadas	50

ABREVIATURAS

α : colonia alfa-hemolítica

β : colonia beta-hemolítica

γ : colonia gamma-hemolítica

ADN: ácido desoxiribonucleico.

dNTP's: desoxirribonucleósidos trifosfatados.

EDTA: ácido etilen diamino tetraacético.

g: gramos.

GS: Gelosa sangre

h: horas

L: litro

LB: Luria-Bertoni.

m: metros

min: minutos

nm: nanómetros

ng: nanogramos

PCR: reacción en cadena de la polimerasa.

pb: pares de bases

μ L: microlitro.

rpm: revoluciones por minuto.

s: segundo

Taq: ADN polimerasa de *Thermus aquaticus*.

TAE: solución amortiguadora tris- acetato EDTA

UFC: Unidad formadora de colonia

1. RESUMEN

La calidad del aire de la Zona Metropolitana del Valle de México (ZMVM) es considerada como una de las más deterioradas del mundo y ya que las investigaciones se centran en contaminantes como el ozono o monóxido de carbono y no en los bioaerosoles que son los causantes principales de diversas enfermedades e infecciones, se llevo a cabo un muestreo de sedimentación por gravedad en 50 puntos de la ZMVM en el verano del 2012 (junio y julio) con la finalidad de conocer la diversidad de bacterias suspendidas en el aire, las cuales fueron colectadas por el método de sedimentación por gravedad en medio gelosa sangre (GS) y a partir de la secuenciación de las regiones 3 y 4 del gen 16S de 100 de las muestras colectadas, se encontró que las bacterias muestreadas con un fenotipo α o β hemolítico, pertenecen en mayor proporción a los géneros *Bacillus* con un 77 % debido a su capacidad para resistir las condiciones atmosféricas por la formación de la endospora, seguido del género *Acinetobacter*, *Enterobacter*, *Paenisporsarcina*, *Massilia*, *Paenibacillus*, *Proteus*, *Brevibacillus* y *Desemzia*. También se observo que la lluvia al realizar un lavado de la atmosfera disminuye la cantidad de bacterias en el aire como sucedió en el muestreo de junio donde un día previo al muestreo llovió en la ZMVM.

Por otro lado se realizaron muestreos en los meses de febrero a principios de junio por solubilización en líquido utilizando el equipo BioSampler SKC en el área deportiva del CINVESTAV Zacatenco y en Ecatepec, con el fin de encontrar las mejores condiciones para realizar el muestreo, siendo el agua destilada estéril el mejor tiempo de recolección y los 60 min el tiempo adecuado, sin embargo es necesario un lugar con un mayor grado de contaminación como lo podría ser un tiradero de basura o una planta potabilizadora de agua, para lograr la colección una extracción de ADN optima.

2. INTRODUCCIÓN

La calidad del aire es un término empleado para describir el nivel de los principales contaminantes atmosféricos presentes en un lapso determinado que resulta del balance entre la emisión a la atmósfera de sustancias contaminantes y la capacidad de la región para concentrarlos, transportarlos y diluirlos (ICAVM, 2003). La contaminación del aire es un problema que afecta negativamente la salud humana, de los animales y las plantas. Pese a esto, los esfuerzos en control, prevención e investigación se han limitado a partículas inertes y gases, cuando en su mayoría los responsables de las enfermedades e infecciones son las bacterias, virus y hongos en el aire (Sánchez *et al.*, 2007).

La contaminación, en cualquiera de sus formas, remite a cualquier tipo de alteración del ambiente. En el caso de la contaminación atmosférica, es “la presencia en el aire de toda materia o energía en cualquiera de sus estados físicos y formas, que al incorporarse o actuar en la atmósfera altera o modifica su composición y condición natural”. Esquemáticamente, los contaminantes se agrupan por su origen, su estado físico o su estado químico; sin embargo, lo más importante es considerar los daños que pueden causar a la salud humana, por ello se determinan las normas de calidad del aire que establecen las cantidades máximas o permisibles de contaminantes antes de ser considerados un riesgo para la salud (Lezama y Graizbord, 2010).

La calidad del aire en la ZMVM ha sido considerada por varias décadas como una de las más deterioradas al compararla con otras grandes ciudades del país y del mundo, debido a las emisiones contaminantes ocasionadas por sectores como el industrial, el de transporte y el de servicios por mencionar algunos. Esta situación propició que se instrumentara un procedimiento de vigilancia permanente dentro de la Ciudad de México bajo la operación de un Sistema de Monitoreo Atmosférico (SIMAT), sustentado por la Secretaría del Medio Ambiente del Gobierno del Distrito Federal (SMA-GDF). El SIMAT realiza mediciones de los principales contaminantes atmosféricos como el ozono (O₃), dióxido de azufre (SO₂), óxidos de nitrógeno (NO_x), monóxido de carbono (CO), partículas menores a 10 µm, partículas menores a 2.5 µm y parámetros meteorológicos de superficie (ICAVM, 2006).

El SIMAT, cuenta actualmente con 34 estaciones remotas de monitoreo, 11 localizadas en el Estado de México y 23 en el Distrito Federal. Las estaciones automáticas provistas con instrumental meteorológico son 15. El Estado de México cuenta con 6 y el Distrito Federal con 9, mismas que establecen el subsistema denominado Red Meteorológica (REDMET). Su principal objetivo es medir temperatura, humedad relativa y viento (dirección y magnitud), algunas estaciones cuentan con instrumentos que miden radiación solar en las bandas UV-A y UV-B del espectro electromagnético (ICAVM, 2006).

Los bioaerosoles

Son un tipo particular de contaminante atmosférico que se encuentra en la troposfera, la capa más cercana a la superficie de la Tierra, en ella respiramos y se dan los fenómenos meteorológicos que determinan el clima (Martínez y Díaz, 2004). Se definen como partículas suspendidas en el aire de organismos vivos de entre 1 a 100 μm , que pueden causar algún tipo de alergia, toxicidad o infección, como los virus, bacterias o esporas (Sánchez *et al.*, 2006; Sánchez *et al.*, 2007; Tellier, 2009; An *et al.*, 2004).

La atmósfera en general no se considera un hábitat para los microorganismos ya que sólo algunos de ellos son capaces de reproducirse allí. Durante su transporte bajan su tasa metabólica debido al estrés producido por las condiciones ambientales que pueden dañarlas o incluso causarles la muerte, aunque otros pueden recuperarse al impactar sobre un organismo o medio con las condiciones óptimas para continuar su ciclo biológico. Su presencia en la atmósfera ha sido demostrada por su crecimiento en medios de cultivo, sin embargo, se considera que esto representa sólo una pequeña fracción de la población total y el resto de ellas podría estar muerta o encontrarse en forma viable no cultivable (Vélez *et al.*, 2008; Rosas *et al.*, 2004).

El tamaño de la biota que fluye en la atmósfera varía desde nm, como en el caso de virus, μm en las bacterias, esporas y polen, o mm, como las semillas y los insectos sin alas, se pueden encontrar cerca del suelo o a grandes alturas (Rosas *et al.*, 2004), su número cambia según la altura, obteniéndose el más alto junto al suelo (hasta los 2 m de altura) que constituyen el microclima del

hombre, disminuyen en los 200 m y luego se hacen más escasos a los 5,000 m (De la Rosa *et al.*, 2002).

Los bioaerosoles predominan en las zonas bajas de la atmósfera próximas a las fuentes locales de generación (Dungan *et al.*, 2009) y una vez que se encuentran en suspensión, su distribución y supervivencia está gobernado por sus propiedades físicas (forma, tamaño y densidad), las condiciones medioambientales (estaciones del año, corrientes de aire, humedad y temperatura) y la ubicación geográfica en la que se encuentran (Vélez *et al.*, 2008). Las partículas de mayor tamaño (superior a 10 μm) tienden rápidamente a sedimentar por la acción de las fuerzas gravitacionales, mientras que las muy pequeñas (inferiores a 0.1 μm) son transportadas por movimientos brownianos, movimiento en un camino irregular similar a un gas, permaneciendo así en suspensión (Sánchez *et al.*, 2006).

Por su fracción microscópica, los que se consideran de mayor riesgo, son los de un tamaño inferior a 5 μm , ya que pueden ser inhalados y alcanzar fácilmente los alvéolos pulmonares (Caballero *et al.*, 2008; Dungan *et al.*, 2009), causando enfermedades respiratorias, sistémicas y alérgicas (De la Rosa *et al.*, 2002; Sánchez *et al.*, 2006; Thomas *et al.*, 2008). Los ejemplos más ilustrativos es la tuberculosis causada por *Mycobacterium tuberculosis*, el carbunco pulmonar, por la inhalación de esporas de *Bacillus anthracis*, el resfriado común originado por el virus del género *Rhinovirus* o la enfermedad de los legionarios y la fiebre de Pontiac (infecciones respiratorias) ocasionada por *Legionella pneumophila* (De la Rosa *et al.*, 2002).

Las bacterias en la atmósfera

El Reino Monera, según la última edición del Manual Bergey's de sistemática de Bacteriología son organismos unicelulares, aunque a menudo forman colonias o filamentos de células independientes, su tamaño varía entre los 0.5 y 3 μm . Carecen completamente de organelos delimitados por membranas, su ADN es circular y cerrado, su pared celular está compuesta por peptidoglicano, no poseen citoesqueleto, presentan pilis, pueden poseer flagelos y viven en el suelo, el agua y los organismos vivos (Tortora *et al.*, 2007).

Básicamente se diferencian por su forma al microscopio que está determinada por la rigidez de su pared celular. Por medio de la tinción de Gram se pueden clasificar según la naturaleza física de sus paredes celulares en Gram positivas o negativas (Tortora *et al.*, 2007), otro criterio para clasificarlas es su actividad hemolítica hecho que constituye un carácter taxonómico muy importante puesto que generalmente las bacterias con esta actividad han sido reportadas como patógenas para los seres humanos (Granados *et al.*, 2003).

La hemólisis (eritrocateresis) es el fenómeno de la desintegración de los eritrocitos y ciertos tipos de bacterias pueden inducir este fenómeno. Algunas bacterias en medio de cultivo GS por acción de las hemolisinas producen halos de transparencia más o menos intensos (Granados *et al.*, 2003), existen diferentes tipos de actividades hemolíticas. La α -hemólisis, se caracteriza por la lisis parcial de los eritrocitos, lo que produce un cambio de color verde del medio de cultivo, la β -hemólisis se refiere a la lisis completa de los glóbulos rojos que rodean una colonia y la γ -hemólisis se da por la ausencia de hemólisis por lo que no aparece ningún halo de transparencia alrededor de la colonia (Granados *et al.*, 2003; Hernández *et al.*, 2010).

La mayoría de las bacterias que entran a la atmósfera provienen de fuentes naturales como la vegetación, el suelo y los cuerpos de agua, y en menor proporción de las actividades antropogénicas, esto se fundamenta en el hecho de que los microorganismos constituyen uno de los grupos más abundantes en el ambiente (Vélez *et al.*, 2008; Thomas *et al.*, 2008).

En las zonas urbanas existe un aumento considerable de estos microorganismos, asociada principalmente a la gran densidad poblacional que generan actividades como el tráfico vehicular, las plantas de tratamiento de aguas residuales, los centros de manejo de desechos sólidos, las prácticas agrícolas y la manipulación de composta entre otros (Rosas *et al.*, 2004; Vélez *et al.*, 2008). Los animales y el hombre también constituyen una fuente importante de bacterias patógenas, que se liberan al hablar, toser y estornudar, con la descamación de la piel y el cabello y en las heces que contaminan el suelo con microorganismos potencialmente patógenos y existe la posibilidad de que sean suspendidos posteriormente en la atmósfera, produciendo la contaminación de las áreas circundantes (Rosas *et al.*, 2004).

Generalmente se encuentran asociadas a fragmentos de hojas, gotas de agua o saliva, piel o fibras de ropa que les facilitan su transporte (Vélez *et al.*, 2008; De la Rosa *et al.*, 2002), por lo que su concentración aumenta durante la época de secas, debido a las corrientes de convección, las cuales ayudan a dispersar cualquier contaminante en el aire y en la época de lluvias su número disminuye significativamente debido al lavado de la atmósfera (Rosas *et al.*, 2004).

La supervivencia de las bacterias es variable, debido a su diversidad estructural y metabólica. En general, las Gram positivas son más resistentes que las Gram negativas debido a que su pared celular es más gruesa (De la Rosa *et al.*, 2002) y varias de ellas comparten la capacidad de formar un tipo peculiar de célula latente denominada endospora, que les confieren resistencia contra el calor, la radiación ultravioleta e ionizante y en general a las condiciones adversas del ambiente. La mayoría de las bacterias esporuladas son anaerobios estrictos (*Clostridium*), pero las anaerobias facultativas se sitúan en el género *Bacillus* (Stanier *et al.*, 1988).

Características del género *Bacillus*

Son un género que en la actualidad se encuentran ampliamente distribuidas en el agua, suelo, aire y como parte de la flora intestinal normal de algunos mamíferos; su presencia indica una mayor expectativa de supervivencia en condiciones extremas, características que justifican la gran cantidad de especies de este género en diversos hábitats (Bergey's, 1994; Tejera *et al.*, 2011; Foster, 2001).

Las bacterias del género *Bacillus* fueron una de las primeras en ser descritas, se descubrieron en 1872 por Ferdinand J. Cohn. Taxonómicamente pertenecen al Filo: Firmicutes, Clase: Bacilli, Orden: Bacillales, Familia: Bacillaceae, Género: *Bacillus* (Granados *et al.*, 2003). Es un género que hoy en día incluye más de 60 especies de bacilos. Está formado por microorganismos bacilares Gram positivas, formadores de endosporas, que normalmente son móviles y rodeados de flagelos periticos. Son anaerobios o aerobios facultativos. Las células bacterianas de este género tienen un tamaño que varía de 0.5-2.5 μm x 1.2-10 μm y se encuentran en suelo, (Tejera *et al.*, 2011; Foster, 2001).

La endospora de los *Bacillus* generalmente está formada por proteínas deshidratadas utilizando el ácido poli-β-hidroxibutírico en aerobios y polisacáridos en los anaerobios. Estas endosporas tienen un largo tiempo de duración, observándose que algunas han llegado a soportar de 200 a 400 años, pero el grado de resistencia depende ampliamente de las condiciones del entorno bajo las cuales fueron formadas (Tejera et al., 2011). Cuando el ambiente se torna desfavorable, ciertos géneros de bacterias (*Bacillus*, *Clostridium*, *Micrococcus*) son capaces de formar esta estructura sin actividad enzimática, estado que se revierte cuando las condiciones se hacen favorables (Frioni, 1999). La formación de la endospora es el resultado de una serie de cambios controlados genéticamente que son observados como una forma primitiva de diferenciación celular (Starr, 1981).

Algunas especies de *Bacillus* son patógenas para el hombre, como *B. anthracis*, *B. cereus*, y otras son de utilidad para producir antibióticos, como la especie *B. subtilis*, *B. polymyxa*, al igual que *B. brevis*. Pero también se han demostrado las potencialidades de las especies de este género para la producción de enzimas, la solubilización de fosfatos y la fijación biológica del nitrógeno. En este sentido, se han realizado estudios de promoción del crecimiento vegetal y control biológico de patógenos, buscando estrategias que permitan la disminución del uso de fertilizantes químicos (Tejera et al., 2011; Sauka y Benintende, 2008).

Métodos de muestreo

Existen distintas metodologías para la captación e identificación de los bioaerosoles que han sido propuestas en distintos países, sin embargo no hay recomendaciones internacionalmente aceptadas sobre que técnica y cuál debe ser la duración de muestreo (Sánchez et al., 2006; Srikanth et al., 2008). Por lo tanto, la mejor forma de elegir un método es conocer sus características de funcionamiento y el análisis al que se van a someter las muestras y estos se pueden clasificar en pasivos y activos.

En los métodos pasivos, las partículas son depositadas por la influencia de la gravedad, fue empleado por primera vez en 1887, es un método barato y fácil de aplicar el cual consiste en ubicar las cajas de Petri con medio de cultivo estéril en el sitio seleccionado, estas permanecerán

abiertas durante determinados períodos de tiempo, permitiendo la sedimentación de los microorganismos (An *et al.*, 2004; De la Rosa *et al.*, 2002).

Los métodos activos utilizan bombas de vacío que aspiran el aire para extraer los microorganismos de la atmósfera e impactarlos en el medio de recolección seleccionado. Por ejemplo los “impringers” donde la muestra es colectada sobre un medio líquido como es el caso del AGI-30 (all-glass impinger) o el BioSampler SKC (An *et al.*, 2004; Rosas *et al.*, 2004).

En el AGI-30 (Figura 1), el flujo de aire llega a 30 mm de la base del muestreador. Esto incrementa la eficiencia del muestreo de partículas viables, ya que reduce la velocidad a la que son impactadas y disminuye el daño causado por el contacto con la base. Este equipo funciona con un flujo de aire de 12.5 L/min y generalmente se usan 20 mL de medio de colecta (Rosas *et al.*, 2004).

Por otro lado tenemos al BioSampler SKC el cual atrapa a los microorganismos en el aire y los impacta en un remolino de líquidos para su posterior análisis. Está hecho de vidrio, utiliza una bomba de vacío a 12.5 L/min para succionar aire a través de la entrada y hacia el líquido de recolección y su diseño solo permite la entrada a partículas que pasan a través de la nariz humana. En estudios previos se ha utilizado con solución salina al 0.9 % (An *et al.*, 2004) y con agua estéril (Lin *et al.*, 2000), a una altura promedio de 1 m sobre el nivel del suelo y el tiempo de muestreo va de los 30 a los 60 min (Angenent *et al.*, 2005; Fabian *et al.*, 2005).

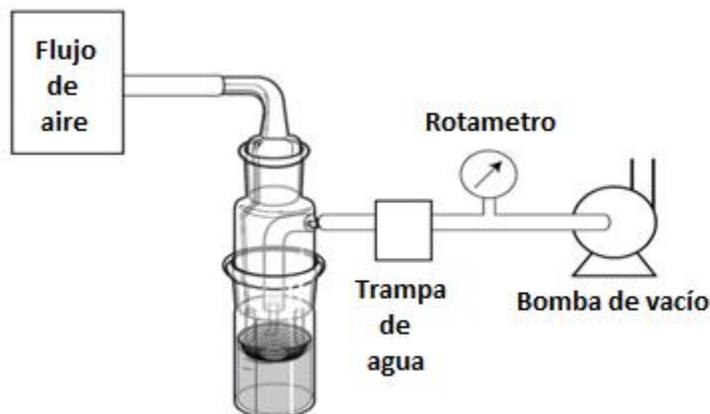


Figura 1. Esquema del sistema BioSampler SKC (tomada del Biosampler, Operating Instructions)

Métodos de detección e identificación de microorganismos

Actualmente, la identificación bacteriana se realiza por medio de métodos convencionales basados en su morfología, propiedades bioquímicas y metabólicas, el cultivo permite el aislamiento de microorganismos, su identificación, el estudio de sensibilidad a los antimicrobianos y facilita la aplicación de marcadores epidemiológicos, pero la ausencia de concordancia entre las características observables hacen que los métodos fenotípicos realicen la identificación más probable y no la definitiva, por ejemplo no todas las cepas de una misma especie muestran una característica específica y una misma cepa puede generar diferentes resultados en ensayos repetidos (Bou *et al.*, 2011).

Para solventar los problemas de identificación se han propuesto los métodos genotípicos de identificación bacteriana como procedimientos complementarios o alternativos, utilizando genes como dianas moleculares en los estudios taxonómicos o de filogenia en las distintos géneros y distintas especies bacterianas, constituyendo el análisis del ADNr 16S, el marcador inicial y suficiente en numerosas situaciones para realizar una identificación más precisa (Bou *et al.*, 2011).

Tinción de Gram

La propiedad de teñirse o no de violeta es una característica taxonómica importante con la que se correlacionan también otras propiedades de las bacterias. El procedimiento de la tinción de Gram se inicia con un colorante (cristal violeta), a continuación se trata con una disolución de lugol el cual forma una laca con el cristal violeta, que es insoluble en agua y medianamente soluble en alcohol o acetona. Las células se tratan después con alcohol y solo las Gram positivas retienen el colorante, al tener una pared celular muy gruesa que se deshidrata por acción del alcohol y esto provoca que se cierren los poros de las paredes impidiendo que se escape el colorante. Finalmente las Gram negativas se hacen visibles mediante una coloración de contraste (safranina). El fundamento radica en la diferente estructura de la pared celular de ambos grupos, y no está relacionada directamente con la química de sus paredes, ya que las levaduras que tienen una gruesa pared celular pero una composición química totalmente diferente también son Gram positivas. Por lo tanto no son los constituyentes químicos, sino la estructura física de la pared lo que confiere la grampositividad (Brock, 1978; Licdo, 2007).

Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

La técnica molecular más usada comercialmente con la que se pueden producir múltiples copias de un fragmento de ADN específico, es la reacción en cadena de la polimerasa cuyas iniciales en inglés son PCR "polymerase chain reaction", es una técnica que desarrolló Kary Mullis a mediados de los años 80, se basa en la actividad de la enzima ADN polimerasa que puede trabajar a temperaturas muy elevadas, ya que proviene de la bacteria *Thermus aquaticus*, de ahí su nombre comercial: *taq* polimerasa, que es capaz de fabricar una cadena de ADN complementaria de otra ya existente (Costa, 2004).

La PCR consiste en una serie de cambios de temperatura que se repiten, donde cada uno posee tres etapas: la primera, en torno a los 95° C, permite la separación de los ácidos nucleicos de doble cadena; el segundo, a una temperatura de 50 a 60° C, permite el alineamiento de los cebadores al ADN molde; el tercero, de 68 a 72° C, facilita la polimerización. Las temperaturas usadas y el tiempo aplicado en cada ciclo dependen de gran variedad de parámetros, como: la enzima usada para la síntesis de ADN, la concentración de iones divalentes, los desoxirribonucleótidos (dNTPs) en la reacción y la temperatura de unión de los cebadores (Costa, 2004).

ADN 16S ribosomal

Los ácidos nucleicos en todos los seres vivos cambian con el tiempo, ellos son los responsables de la información genética, por ello pueden considerarse como cronómetros moleculares o documentos de la historia viva y las diferencias en las secuencias de los nucleótidos presentes en dos formas de vida, reflejan la distancia evolutiva existente entre ellas. Este concepto es el que se ha utilizado para establecer las relaciones filogenéticas entre los seres vivos (Rodicio y Mendoza, 2004).

El ADN 16S (unidades Svedberg es una constante de sedimentación) es un polirribonucleótido codificado por el gen *rrs*, incluido en la subunidad 30S del ribosoma bacteriano, es el gen más utilizado en estudios de filogenia y taxonomía (Figura 2), constituye un método rápido y eficaz de identificación (Bou *et al.*, 2011; Rodicio y Mendoza, 2004). Aunque existen cronómetros

moleculares alternativos al ARNr 16S, hasta el momento ninguno ha conseguido desplazarle. Esta macromolécula presenta una serie de características, por las que fue considerada como cronómetro molecular definitivo:

1. Se trata de una molécula presente en todas las bacterias actuales.
2. Su estructura y función han permanecido constantes durante un tiempo muy prolongado, de modo que las alteraciones en la secuencia reflejan probablemente cambios aleatorios.
3. Los cambios ocurren de manera suficientemente lenta, como para aportar información acerca de todos los procariotas, sin embargo, contienen suficiente variabilidad para diferenciar no sólo los organismos más alejados, sino también los más próximos.
4. La conservación en estructura secundaria puede servir de ayuda en las comparaciones, aportando una base para el alineamiento preciso.
5. Existe una base de datos amplia con la cual se pueden comparar los resultados (Baker *et al.* 2003; Rodicio y Mendoza, 2004).

Una vez establecidas las comparaciones entre las secuencias, será el grado de similitud que presenten lo que indique su relación evolutiva. Es importante tener en cuenta que es la comparación de genomas completos y no la comparación del 16S, la que aporta una indicación exacta de las relaciones evolutivas (Bou *et al.*, 2011; Rodicio y Mendoza, 2004).

Ya se ha indicado que la identificación de una bacteria a nivel de especie no requiere necesariamente la secuenciación del ADN 16S ribosomal completo. De hecho, aunque existen posiciones filogenéticamente informativas a lo largo de todo el gen, la mayor variabilidad se concentra en las primeras 500 bases, correspondientes al extremo 5'. Generalmente, esta secuencia de 500 bases será suficiente para la correcta identificación de un aislado (Rodicio y Mendoza, 2004).

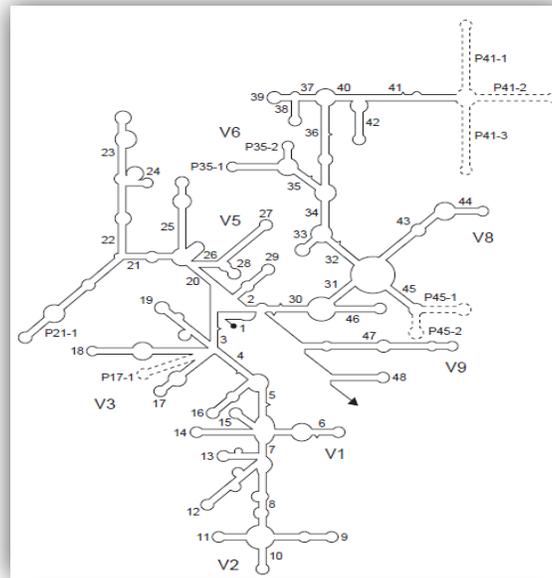


Figura 2. Estructura secundaria del ARNr 16S (tomada de Rodicio y Mendoza, 2004). Las hélices comunes a todos los seres vivos, denominadas hélices universales, se numeran de la 1 a la 48, en orden de aparición a partir del extremo 5'. Las hélices específicas de procariotas se indican con Pa-b, donde a es el número de la hélice universal precedente y b el número de serie. Las regiones relativamente conservadas se presentan en negrilla. Las regiones variables, en líneas finas, se designan V1-V9. Las regiones que se muestran en líneas discontinuas sólo están presentes en un número limitado de estructuras.

Existen nueve "regiones hipervariables" en el gen 16S ribosomal que se muestran gráficamente en la Figura 2. Tienen una diversidad de secuencia considerable entre las diferentes especies bacterianas que pueden ser utilizadas para su identificación. Estas zonas están flanqueadas por tramos conservados, lo que permite la amplificación utilizando cebadores universales. En estudios anteriores se ha demostrado que el análisis de las regiones V2, V3 son las más adecuadas para distinguir todas las especies bacterianas a el nivel de género a excepción de enterobacterias estrechamente relacionados (Soumitesh, 2007).

Secuenciación

Es el proceso mediante el cual se determina el orden exacto de las cuatro bases (A, G, C y T) del genoma de un organismo a partir de cualquier fragmento de ADN y ofrece la oportunidad de identificar de una forma rápida y precisa las muestras de diferentes organismos y a la elucidación

de sus relaciones naturales. El método más usado para la secuenciación es el conocido como técnica de terminación de cadena de Sanger, la cual se ha perfeccionado conociéndose actualmente como la técnica del didesoxi. Se denomina así por ser necesario los didesoxirribonucleótidos, que han perdido su grupo alcohol OH del carbono 3'. Como los nucleótidos se unen por este grupo OH del carbono 3', hay que pensar que si nos encontramos con un didesoxinucleótido será imposible que se una otro nucleótido y la cadena terminará aquí (Brown, 2008)

En 1953, J. D. Watson y F. H. C. Crick postularon un modelo preciso para explicar la estructura tridimensional del ADN y pusieron de manifiesto que la secuencia lineal de los nucleótidos que forman la molécula constituye la herencia genética que se transmite de padres a hijos. En ese momento, varios laboratorios centraron sus esfuerzos en desarrollar un método preciso para determinar el orden o secuencia en que se encuentran dispuestos los nucleótidos en una cadena de ADN (Avila *et al.*, 1995).

Los hallazgos de la década de los 80's contribuyeron al desarrollo de máquinas automatizadas capaces de determinar miles de bases de secuencia por día. En 1986, Smith *et al.*, reportaron una técnica de secuenciación automatizada, basada en la terminación específica con cuatro diferentes fluoróforos para cada una de las bases (A, G, C, T). La mezcla de síntesis se cargaba en un solo carril de gel, en tubo, y se usaba un detector óptico para determinar la absorción de cada banda. Esta información pasaba directamente a una computadora y permitía obtener información precisa de la secuencia (Smith *et al.*, 1986).

3. ANTECEDENTES

En los últimos años la contaminación biológica en ambientes interiores han recibido una importante atención por los problemas de naturaleza infecciosa y alérgica que pueden ocasionar y en México las investigaciones sobre los bioaerosoles se han centrado en el aire que se encuentra en el interior como los estudios realizados por Castañeda *et al.* en el 2006 dentro de una fábrica de zapatos o el realizado por Monedero *et al.* en el 2007 en una planta depuradora de agua donde las partículas aerotransportables de origen biológico en el caso de ser inhaladas, pueden suponer un riesgo para la salud tanto para los operarios de la planta como para los habitantes de zonas residenciales vecinas.

Sin embargo estos trabajos están enfocados en lugares donde la probabilidad de contaminación por bioaerosoles es alta por ser ambientes cerrados, pero hasta el momento en México no se han realizado muestreos en zonas urbanas donde la población se traslada y realiza sus actividades diarias.

Y el laboratorio de Genómica Ambiental, del CINVESTAV es hasta el momento el único en realizar investigaciones sobre la diversidad microbiana presente en la Ciudad de México, en las cuatro estaciones del año, con dos métodos de captura, a través de un “biomuestreador” y utilizando el método de sedimentación por gravedad, dando este ultimo resultados interesantes sobre la diversidad en la composición de la población microbiana en las muestras en el aire, integrada por diversos géneros como *Bacillus*, *Lactobacilli*, *Planococcus*, *Pseudomonas*, *Enterococcus*, *Microbacterium* y *Acinetobacter* (García, 2012).

4. JUSTIFICACIÓN

El aire de la Zona Metropolitana del Valle de México, ha sido considerado por varias décadas uno de los más contaminados, debido a las emisiones provenientes de diversos servicios como el transporte y la industria. Con el fin de vigilar su calidad, la Ciudad de México cuenta con un sistema de monitoreo atmosférico (ICAVM, 2006), pero no realiza análisis respecto a los bioaerosoles y debido a que estos tienen un efecto negativo en la salud de la población causando enfermedades respiratorias, sistémicas y alérgicas (De la Rosa *et al.*, 2002; Sánchez *et al.*, 2006), por lo que es necesario identificar las bacterias que se encuentran presentes en la atmósfera y así poder crear una base de datos donde se puedan consultar los organismos presentes en el aire.

5. ALCANCE DEL PROYECTO

Caracterizar la diversidad de las bacterias que se encuentran en la atmósfera de la Zona Metropolitana del Valle de México durante el verano del 2012 (junio y julio), por medio de su huella genética (ADN 16S ribosomal) Para contribuir a la información sobre bacterias que están presentes en el aire.

6. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Identificar la diversidad de las bacterias que se encuentran en la atmósfera baja de la Zona Metropolitana del Valle de México, por el método de sedimentación por gravedad.

OBJETIVOS PARTICULARES

- 1.- Estandarizar la técnica para muestrear con el BioSample SKC, para conocer cuál es el mejor tiempo de muestreo y medio de recolección.
- 2.- Extraer el ADN de las muestras colectadas por sedimentación para secuenciar parte del gen 16S y así conocer a que genero pertenecen.

7. HIPÓTESIS

Se conoce que las bacterias están presentes en diversos hábitats como el suelo, el agua o los animales dependiendo de sus características, por lo cual se lograra detectar e identificar bacterias aerotransportadas que se encuentren entre alturas de 1 a 1.5 m dentro de la ZMVM, las cuales corresponderán preferentemente al género *Bacillus* por su capacidad de formar endoesporas y resistir mejor al estrés al cual están sometidas en la atmósfera.

8. ZONA DE ESTUDIO

La Zona Metropolitana del Valle de México (ZMVM)

El área de estudio para este trabajo, se sitúa en un cuadrante geográfico entre los 19° 03' y 19° 54' de latitud norte, y los 98° 38' y 99° 31' de longitud oeste, a una elevación de 2,240 m sobre el nivel del mar (ICAVM, 2006). Se encuentra en la porción central del país, dentro de una serie de montañas compuesto por la Sierra de Guadalupe, situada al norte de la ciudad, el Ajusco en su lado sur, la Sierra de Santa Catarina al oeste y el Cerro de la Estrella y la Sierra de las Cruces en su lado este (Lezama y Graizbord, 2010).

La ZMVM se integra de 59 municipios del Estado de México, 29 municipios de Hidalgo y 16 delegaciones del Distrito Federal (Figura 3). La población residente en el D.F. de acuerdo al censo poblacional 2010, fue de 8, 851,080 habitantes, 1, 264,162 habitantes en Hidalgo y 11, 218,831 habitantes en el Estado de México. De acuerdo con el Consejo Nacional de Población, en 2003 la metrópoli de la Ciudad de México ocupó el segundo lugar en población total metropolitana con 18.7 millones, sólo después de Tokio que contaba con 35 millones y antes que Nueva York con 18.3 millones (COESPO, 2010).

En términos generales, el clima prevaleciente comprende dos estaciones: la húmeda, que va de mayo a octubre, descendiendo con ello los niveles de algunos contaminantes, principalmente por el efecto de lavado troposférico y la llamada “estación seca”, que comprende dos periodos, uno de marzo a mayo y otro que corre de noviembre a febrero. Se considera que la época de lluvia es

favorable a la calidad del aire en la medida que disminuye la acumulación de sustancias tóxicas (Lezama y Graizbord, 2010).



Figura 3. Distribución de los municipios de la ZMVM (Tomada de COESPO, 2010)

Existen factores fisiográficos y climáticos que afectan la calidad del aire, entre estos se encuentran a) El entorno montañoso que la rodea ya que constituye una barrera natural que dificulta la libre circulación del viento y la dispersión de los contaminantes atmosféricos y b) Su altitud, porque ocurren frecuentes inversiones térmicas que dificultan el movimiento del aire, provocando un estancamiento temporal de las masas de aire en la atmósfera favoreciendo la concentración de los contaminantes, este es un fenómeno natural que perdura hasta que, al transcurrir el día y de manera gradual, la inversión térmica se rompe debido al calentamiento de la atmósfera, entonces los contaminantes se dispersan (Lezama y Graizbord, 2010).

Los muestreos realizados con el BioSampler SKC se realizaron únicamente dentro de la zona deportiva del CINVESTAV y Ecatepec (Ciudad Cuautemoc, Calle Topacio), durante los meses de febrero a principios de junio del 2012.

Los muestreos de sedimentación por gravedad se realizaron los días 28 de junio y 19 de julio del 2012 de 8:00 am a 3:00 pm, dentro de la ZMVM en una red de muestreo conformada por 50 puntos, dentro de los cuales se encuentran las terminales de cada medio de transporte masivo (el tren ligero, el metro y el ferrocarril suburbano). De los puntos muestreados Cuautitlán (47) y Xochimilco (50) representa el punto más al norte y al sur respectivamente, mientras que La Paz (30) y Cuatro Caminos (13) son los puntos más cercanos al este y oeste. También se incluyeron puntos representativos de la ZMVM como lo son Bellas Artes (15) y el Zócalo (16) al ser zonas muy concurridas y Tepepan (49) que en comparación a las estaciones anteriores es un lugar donde el flujo de personas es muy bajo.

9. MATERIALES Y MÉTODOS

Los muestreos con el BioSampler SKC se llevaron a cabo en el área deportiva del CINVESTAV y en Ecatepec (Figura 4 y 5) durante los meses de febrero a principios de junio. Los puntos de muestreo se eligieron principalmente por las siguientes razones:

1. Se necesitaba que fuera una zona abierta.
2. Es necesario contar con una instalación eléctrica cerca, dado que la bomba del BioSampler necesita ser conectada a la corriente.
3. El sistema completo es difícil de trasladar, debido al peso y volumen que ocupa el equipo. Por lo que no era viable trasladarlo de un punto a otro como en el caso del muestreo por sedimentación.
4. Puesto que el objetivo era estandarizar la técnica para el muestreo con el BioSampler, era importante que el punto fuera cercano al laboratorio o a una casa donde fuera posible dejar el equipo, como lo fue el caso de Ecatepec.

En total se realizaron 12 muestreos para establecer cuáles eran las mejores condiciones del muestreo. Todos los muestreos realizados con el BioSampler se comenzaron a las 9:00 am, con un flujo de aire de 12.5 L/min y a una altura de 1.5 m (la altura media del sistema respiratorio de cualquier receptor mexicano), para que los resultados obtenidos fueran comparables entre ellos. Los tiempos de muestreo que se probaron fueron de 30, 60 y 90 min y como medio de recolección se utilizaron 20 mL de solución salina al 0.85 % y agua destilada estéril.

En la zona de muestreo se hizo pasar el aire a través del sistema BioSampler SKC donde las partículas abandonan la corriente de aire por impactación en el medio de recolección quedando retenidas en el mismo. La muestra se pasó a un tubo estéril de polipropileno y se selló con parafilm para evitar contaminación al momento de su traslado. Simultáneamente al muestreo se colocó una caja de Petri con medio de cultivo LB sólido como control de muestreo el cual fue preparado con 10 g de Bacto triptona, 5 g de extracto de levadura, 5 g de NaCl y 15 g de Agar que se disolvieron y aforaron a 1 L en agua destilada. Una vez estéril se vació aproximadamente 25 mL por caja de Petri, las cuales se almacenaron a 4° C para su posterior uso.

Entre cada periodo del muestreo el BioSampler se enjuaga con agua destilada estéril y al finalizar los tres muestreos del día era lavado y esterilizado para eliminar cualquier resto del muestreo que se hubiese quedado.



Figura 4. Zona del muestreo con el BioSampler SKC. (A) el área deportiva del CINVESTAV, (B) la zona de Ecatepec

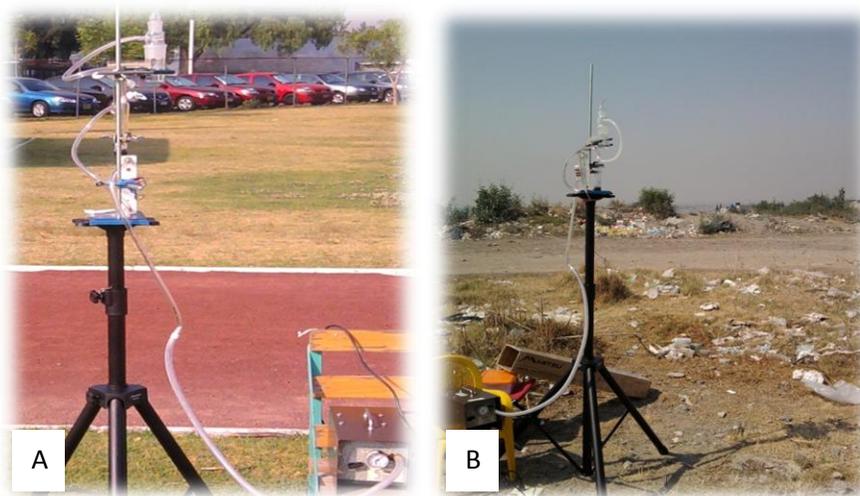


Figura 5. Sistema BioSampler SKC armado (A) en el área deportiva del CINVESTAV y (B) en Ecatepec.

Al llegar las muestras al laboratorio se procesaron de la siguiente manera.

Las muestras se homogenizaron y se sembraron 200 μ L en una caja de Petri con medio LB, Esta caja se incubo junto con las cajas del muestreo por gravedad a 37° C por 18 hr y después de la

incubación las cajas se fotografiaron y posteriormente se contabilizaron las unidades formadoras de colonias (UFC).

El resto de las muestras de los bioaerosoles se centrifugo a 7,000 rpm durante 20 min para obtener un botón con los microorganismos y a partir de este comenzar la extracción del ADN con el kit PowerSoil de MoBio. La extracción se verifico con una electroforesis en un gel de agarosa al 0.5 %, donde se cargaron 2 μ L de la extracción mezclada con 1 μ L de azul de bromofenol y el gel se corrió a 100 volts por 40 min. Los geles fueron fotografiados con una cámara digital Kodak Science, Electrophoresis Documentation and Analysis System 120. Adaptada a un Trasiluminador con luz UV, conectada a una computadora y visualizados con el software Kodak ds 1D versión 3.0.2. El ADN se cuantifico por espectrometría, en un BioPhotometer Eppendorf, a una longitud de onda de 260 nm.

Para el muestreo de sedimentación por gravedad se seleccionaron 50 puntos de muestreo tomando en cuenta.

- 1) Que el punto a muestrear fuera de fácil acceso y seguro.
- 2) que se encontrara dentro de la ZMVM.
- 3) que la distancia entre cada punto fuera similar, en promedio fue de 3 km de separación.
- 4) que fueran puntos significativos (con un flujo de personas bajo, medio y alto).
- 5) que se representaran las diferentes actividades que se realizan dentro de esta zona.

En cada punto seleccionado dentro de la ZMVM (Figura 6, Tabla 1) se expuso una caja con medio GS, el cual se preparo con sangre de cordero al 10 % y 40 g de medio de cultivo base de agar sangre previamente esteril. Las cajas se dejaron por un periodo de 30 min a una altura aproximada de 1 m, sobre el nivel del suelo, al término del periodo de muestreo las cajas de Petri fueron selladas para ser transportadas al laboratorio, donde se incubaron a 37° C durante 18 h. Al término de la incubación se fotografiaron con ayuda de un transiluminador VariQuest 26, se contaron y registraron los datos de las cajas (el número de UFC, se diferenciaron las colonias γ , α y β hemolíticas). Las cajas fueron refrigeradas a 4° C hasta su uso.

“Estudio de la diversidad de las bacterias aerotransportadas en la atmósfera baja de la Zona Metropolitana del Valle de México.”

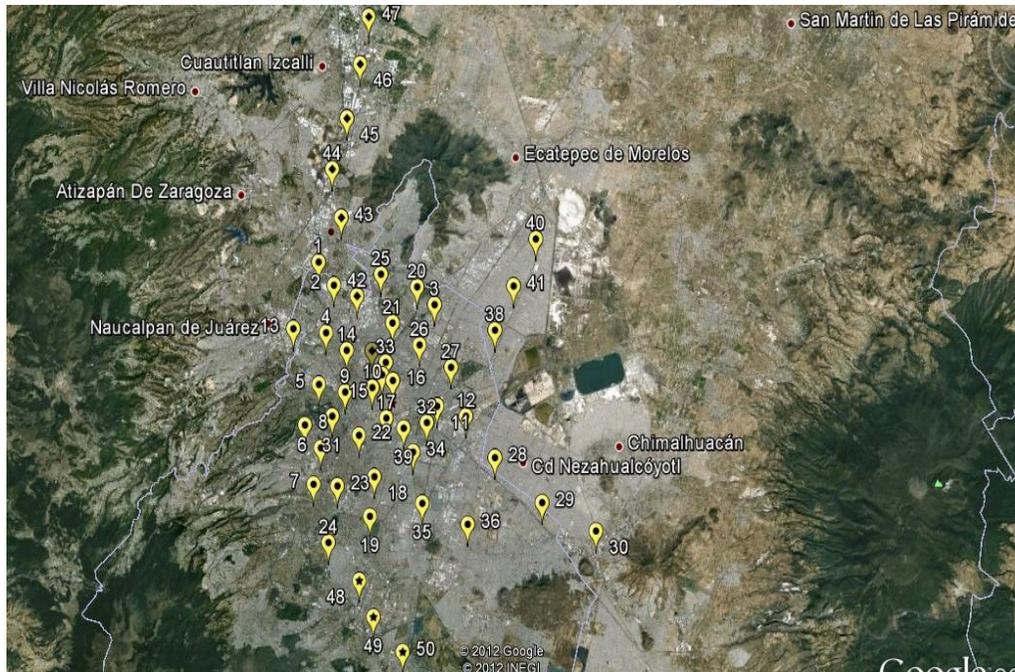


Figura 6. Localización de los puntos de muestreo en la ZMVM.

Tabla 1. Puntos de muestreo en la ZMVM con el método de sedimentación por gravedad.

N° del punto de muestreo	Estación de muestreo	N° del punto de muestreo	Estación de muestreo
1	Rosario	26	Consulado
2	Azcapotzalco	27	Oceanía
3	Martin Carrera	28	Tepalcates
4	Tacuba	29	Acatitla
5	Auditorio	30	La paz
6	San Antonio	31	Patriotismo
7	Barranca del muero	32	Velódromo
8	Observatorio	33	Garibaldi
9	Sevilla	34	Iztacalco
10	Balderas	35	Atlalilco
11	Aeropuerto	36	Constitución 1917
12	Pantitlán	37	Buenavista sub
13	Cuatro Caminos	38	Netzahualcóyotl
14	Colegio Militar	39	Santa Anita
15	Bellas Artes	40	Ciudad azteca
16	Zócalo	41	Muzquiz

17	Chabacano	42	Fortuna
18	Portales	43	Tlalnepantla
19	Tasqueña	44	San Rafael
20	Indios Verdes	45	Lechería
21	La Raza	46	Tultitlan
22	Etiopia	47	Cuautitlán
23	Coyoacán	48	Estadio Azteca
24	Universidad	49	Tepepan
25	Politécnico	50	Xochimilco

Las UFC que resultaron ser α ó β hemolíticas fueron aisladas sobre medio de cultivo LB hasta obtener cultivos puros, se utilizó la técnica de aislamiento por agotamiento en caja, este método está basado en arrastrar, mediante un asa bacteriológica, un número cada vez más pequeño de individuos. Al incubar la caja, y dejar crecer las bacterias distribuidas sobre ella, cada una de las bacterias originará una colonia. Para comprobar que los aislamientos eran puros, se realizaron tinciones de Gram. Ya con el cultivo puro y con las colonias aisladas se confirmó su fenotipo hemolítico (α o β).

Las bacterias con fenotipo α y β se hicieron crecer en medio LB durante 18 h en baño con agitación (150 rpm) a una temperatura controlada de 37° C, después de la incubación, el medio de cultivo se centrifugo para recuperar el paquete celular que fue re suspendido en 1 mL de agua desionizada. Posteriormente se extrajeron los ácidos nucleídos totales por medio de fenol, se amplifico la mayor parte del gen 16S ribosomal y se secuencio la región variable 3 y 4 del gen 16S ribosomal.

Aislamiento

El aislamiento se realizó en cajas de Petri que contenían medio LB, estas fueron debidamente etiquetadas para identificar cada colonia aislada. A cada colonia α y β hemolítica se le asignó un código, que nos ofrece la información correspondiente de la procedencia de cada muestra y su tipo de hemolisis.

El código de la muestra está formado por tres caracteres; el primero de ellos se refiere al número de estación donde fue colectada la bacteria, el siguiente carácter hace referencia al tipo de

hemolisis que presento antes de que se realizara el primer aislamiento y el tercer carácter se refiere al orden en que se fueron registrando las colonias α o β hemolíticas (Figura 7).

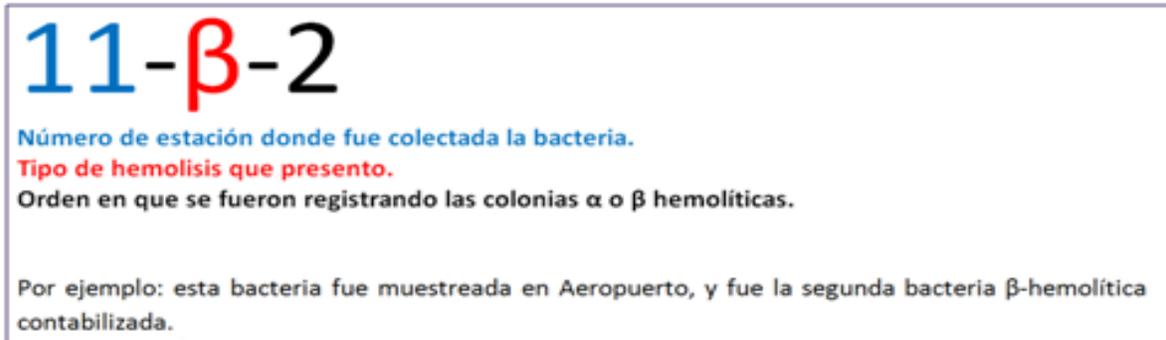


Figura 7. Identificación de las colonias aisladas

Para aislar las colonias se flameo al asa y se tomó la colonia seleccionada; la muestra se colocó en una orilla de la caja de Petri y se realizaron 4 estrías; entre cada estría el asa era flameada para eliminar restos de la muestra y a partir de las estrías realizada anteriormente se realizaba la siguiente, con la precaución de no cruzar las estrías. Una vez que se terminó de estriar las cajas fueron incubadas a 37° C por 18 h. El proceso de aislamiento se repitió las veces que fueron necesarias para cada cepa seleccionada hasta que se obtuvieron cepas puras.

Tinción de Gram

En un portaobjetos limpio con 10 μ L de agua destilada estéril y con ayuda de un asa bacteriológica se colocó la muestra de las bacterias. Se dejó secar a temperatura ambiente y se fijó con calor. Se agregó una gota de cristal violeta y se dejó por un minuto, después de este tiempo se enjuagó con agua y se le agregó lugol durante un minuto, después se le agregó alcohol y se dejó por 15 s, se enjuagó y se agregó safranina por 45 s, al final se enjuagó y se observó al microscopio.

Confirmación de fenotipo hemolítico

Se realizó por medio de una picadura en una caja de Petri con medio de GS previamente dividida y marcada en cuadros de 1 cm². Del cultivo puro y aislado con un palillo de madera estéril se tomó un fragmento de la colonia y se pasó a la caja de Petri con medio GS en su espacio

correspondiente. Al finalizar se incubo a 37° C durante 18 h y la caja se fotografió y se identificaron las colonias α y β hemolíticas. Después de la confirmación y cuando las cajas ya no fueron requeridas se desecharon como residuos biológicos infecciosos.

Extracción de ADN

Las colonias α y β hemolíticas seleccionadas se hicieron crecer en 5 mL de medio LB líquido. También se realizo un control negativo (únicamente LB) para tener un control de la calidad del medio de cultivo. Se incubaron a baño maría a 37° C con agitación (150 rpm) durante 18 h. Después de la incubación se verifico que el control no presentara crecimiento (el medio no se observara turbio) para poder comenzar con la extracción.

De cada muestra se transfirió 1 mL del medio LB a un tubo eppendorf de 1.5 mL debidamente etiquetado con el nombre de la colonia y se centrifugo por 5 min a 4° C a 13,500 rpm esto para concentrar el paquete celular, el sobrenadante se desecho y esto se repitió hasta terminar con los 5 mL del medio inoculado.

Al paquete celular se adicionaron 500 μ L de fenol pH 8, se mezcló por 5 min en un vortex y se centrifugo el contenido a 14,000 rpm por 5 min a 4° C, después de centrifugar se pueden observar 3 fases, una roja que contiene los solventes orgánicos, una fase blanca con las proteínas celulares y una trasparente donde se encuentran los ácidos nucleicos, se transfirió la fase transparente en un tubo limpio y debidamente etiquetado, se adiciono un volumen igual de cloroformo. Se mezcló por inversión y se centrifugo nuevamente. Se recuperó el sobrenadante y se adicionaron 0.5 volúmenes de acetato de sodio (3M pH 5.2) y dos volúmenes de etanol absoluto para precipitar el ADN que fueron mezclados por inversión. El ADN precipitado se recuperó centrifugando una vez más. Se realizó un lavado con etanol al 70 %, se centrifugo y elimino el sobrenadante. El botón de ADN se dejo secar a temperatura ambiente y una vez seco se disolvió en 500 μ L de agua desionizada estéril y fue almacenado a -20° C.

Para confirmar la extracción, el ADN se sometió a una electroforesis horizontal en gel de agarosa al 0.5 % durante 40 min a 100 volts con Tris-Acético-EDTA (TAE) como buffer de corrida. Las muestras antes de ser colocarlas en los pozos se mezclaron con azul de bromofenol (1:1) y los

geles fueron fotografiados con una cámara Kodak digital Science. Al final el ADN se cuantificó por espectrometría, en un BioPhotometer Eppendorf, a una longitud de onda de 260 nm.

Amplificación del gen 16S ribosomal.

Se realizó la amplificación y secuenciación de una parte del gen 16S para poder identificar con ayuda de la herramienta BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) las bacterias presentes en el verano del 2012 en la Z MVM.

Con una PCR en un volumen final de 20 μ L, se amplificó el gen 16S ribosomal. Se utilizaron los iniciadores FBac (5' ATCATGGCTCAGATTGAACGC 3', Invitrogen) y CGO 605R (5' CGGTGAATACGTTCCCGGG 3', Invitrogen) para amplificar la mayor parte del 16S (de la base 31-1386) dando como resultado un producto de PCR de 1355 pb (Figura 8 y Tabla 2). En cada corrida de PCR se realizó un control negativo (Mix sin ADN) y un control positivo (Mix con ADN de *E. coli*).

Tabla 2. Componentes de la reacción de PCR para las muestras obtenidas con el método de sedimentación por gravedad.		
Componentes de la reacción	[] inicial	[] final 1Rx
Buffer	10 x	1 x
MgCl₂	25 mM	2 mM
dNTPs	10 mM	0.2 mM
Iniciador (F) FBac	10 μ M	0.2 μ M
Iniciador (R) CGO 605R	10 μ M	0.2 μ M
Taq	5 u/ μ L	0.025 u/ μ L
Agua	_____	_____

La reacción se llevó a cabo en un termociclador Applied Biosystems bajo el siguiente programa térmico: 96° C por 1 min, 25 ciclos (96° C por 30 s, 59.7° C por 30 s y 60° C por 30 s) y 4° C por 5 min. Al final se corrieron 2 μ L de cada producto de la PCR mezclado con azul de bromofenol en un gel de agarosa al 2 % teñido con bromuro de etidio, en el primer pozo de cada gel se utilizó el marcador de peso molecular Lambda como referencia para determinar el tamaño de los fragmentos obtenidos. El gel se corrió por 45 min a 100 Volt. Al final de la electroforesis el gel fue fotografiado y los productos de la PCR fueron almacenados a -4° C.

Reacción de secuenciación.

A partir de cada producto de PCR, se realizaron dos reacciones de secuenciamiento con el kit BigDye Terminator Cycle Sequencing de Appliend Biosystems una con el iniciador CGO465F (5’ CTCCTACGGGAGGCAGCAG 3’, Invitrogen) y la otra con el iniciador CGO465R (5’ CAGGATTAGATACCCTGGTAG 3’, Invitrogen) que flanquean la región variable 3 y 4 del gen 16S (de la base 337-802, Tabla 3 y Figura 8). La reacción de secuenciación se realizó en un volumen final de 20 µL, bajo el siguiente programa térmico: 96° C por 1 min, 25 ciclos (96° C por 10 s, 50° C por 5 s y 60° C por 4 min) y 4° C por 5min. Las reacciones se mantuvieron a 4° C hasta su utilización.

Tabla 3. Componentes de la reacción de secuenciamiento		
Componentes de la reacción	[] inicial	[] final 1Rx
Buffer	5 x	0.5 x
Mix (Taq, dNTP’s marcados, MgCl ₂)	25 mM	2 mM
dNTPs	10 mM	0.2 mM
Iniciador	10 µM	0.5 µM
Agua	_____	_____

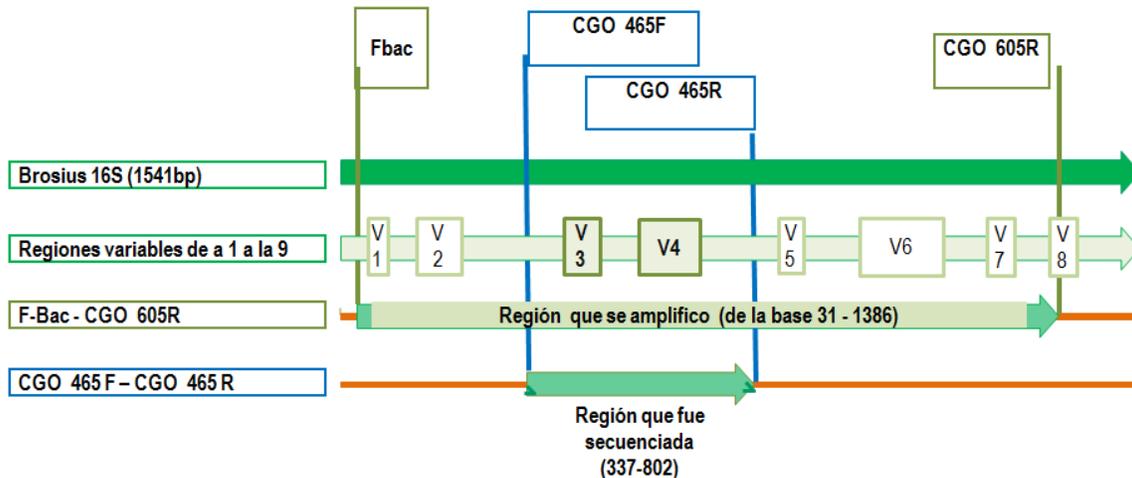


Figura 8. Esquema que representa el gen 16S ribosomal (1541 pb), las regiones para amplificar y secuenciar.

Precipitación de la reacción de secuenciación, por el método EDTA-etanol.

Los productos obtenidos de la reacción de secuenciamiento se purificaron adicionando 5 μL de EDTA (125 mM pH 8) y 60 μL de etanol al 100 % y fue incubada a temperatura ambiente por 30 min, posteriormente se centrifugo por 20 min a velocidad máxima, el sobrenadante se eliminó completamente para poder lavar el botón con 250 μL de etanol al 70 %, se centrifugo a velocidad máxima por 5 min. El lavado se realizó nuevamente. Al final se retiró todo el sobrenadante, la muestra se dejó secar por 5 min a temperatura ambiente y se almacena a 4° C.

El **secuenciamiento** se realizó en la unidad de ácidos nucleicos del departamento de Genética y Biología Molecular del CINVESTAV Unidad Zacatenco con el secuenciador automático ABI3130x1 de Applied Biosystems, utilizando una columna capilar de alta resolución. Para realizar la depuración de las secuencias se utilizó el software BioEdit y VECTOR NTI Advance. Solo se tomaron en cuenta los alineamientos que tuvieran de 95 al 100 % de identidad (Figura 9), las secuencias fueron comparadas con la herramienta BLAST de NCBI (National Center for Biotechnology Information), en el banco de datos de GenBank (Figura 10) con el fin de obtener información acerca de los microorganismos con los cuales presentan homologías, los resultados de las secuencias se guardaron en formato FASTA. Para realizar el dendograma se tomaron las 5 primeras secuencias de la base de datos del BLAST y se realizó con el software BioEdit y Mega 5.1.

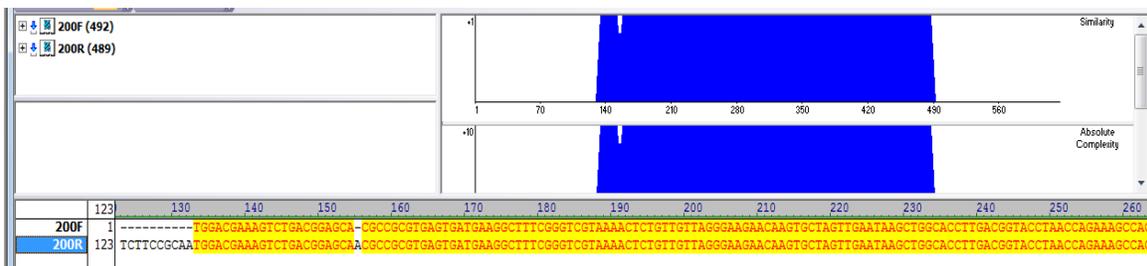


Figura 9. Ejemplo de los alineamientos de las muestras.



Figura 10. Ejemplo de los resultados que arroja el BLAST para una de las muestras.

10. RESULTADOS

BioSampler SKC. En total se realizaron 12 muestreos para establecer cuáles eran las mejores condiciones de muestreo.

Es importante señalar que el mejor tiempo de recolección fue de 60 min ya que al momento de contabilizar las UFC que crecieron en el medio LB sólido, después de que se sembraran 200 μ L del medio de recolección que se utilizó al muestrear con el BioSampler fue el que registró el mayor número de UFC. El sitio de muestreo en donde se logró obtener una mayor cantidad fue en Ecatepec y en lo que se refiere al medio de recolección, el agua destilada estéril fue la que logró coleccionar un mayor número de bacterias (Figura 11). Al haber establecido cuáles eran las mejores condiciones para trabajar con el BioSampler, se decidió utilizar agua destilada estéril, con un tiempo de 60 min para los últimos 4 muestreos que se llevaron a cabo en Ecatepec (Figura 12) y donde el objetivo era lograr la extracción de ADN directo del medio de recolección.

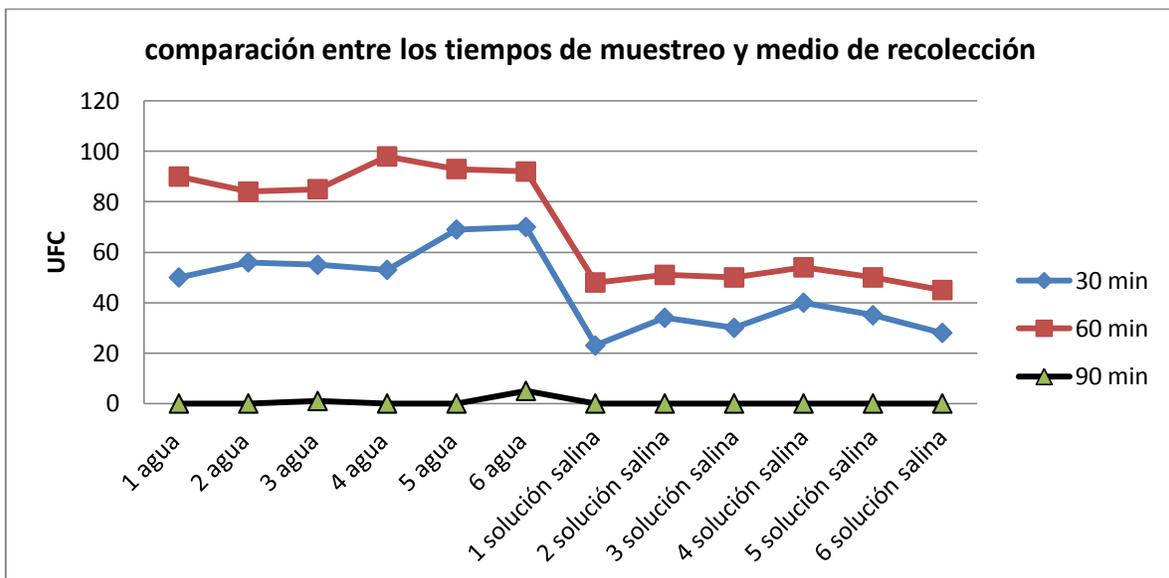


Figura 11. Cantidad de UFC totales y tiempos de muestreo donde se utilizó agua destilada estéril y solución salina, el muestreo 1, 2 y 3 se realizó en el Cinvestav y el 4to, 5to y 6to muestreo se llevó a cabo en Ecatepec. Como se puede apreciar en la gráfica el mejor tiempo y medio de recolección para muestrear con el BioSampler SKC son 60 min con agua destilada estéril y el mejor punto de muestreo fue Ecatepec.

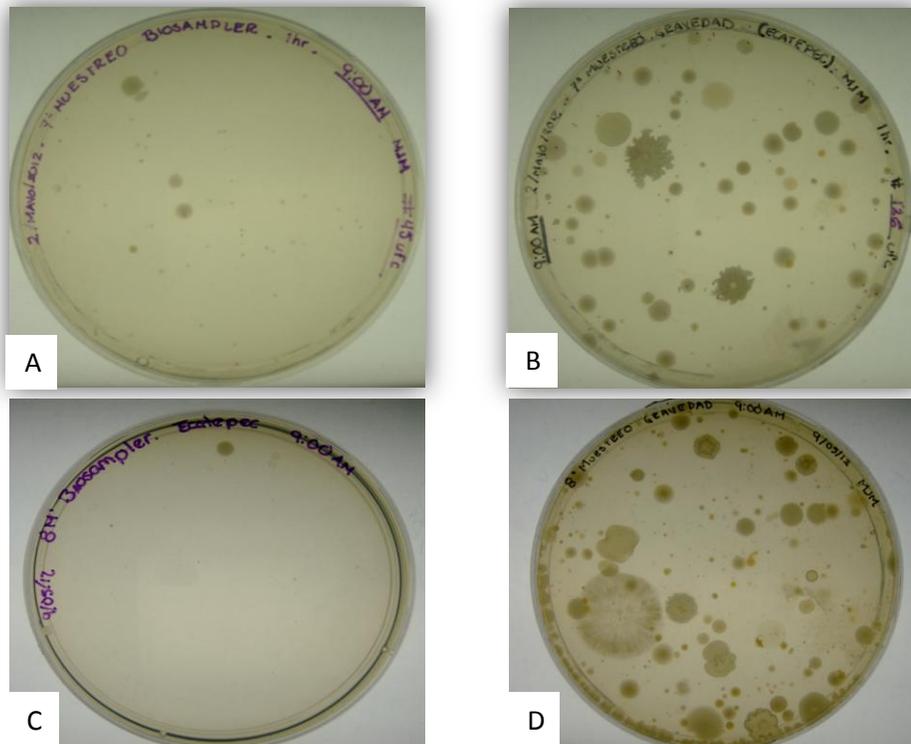


Figura 12. Se pueden observar las diferencias entre el número de UFC del muestreo por gravedad y la que fueron sembradas directo del medio de recolección del BioSampler las dos cajas pertenecen a 2 de los 4 muestreos realizados en Ecatepec a las 9 am, con un tiempo de muestreo de 60 min y como medio de recolección se utilizó agua destilada estéril. A) 7mo muestreo con BioSampler 45 UFC B) 7mo muestreo gravedad 126 UFC, C) 8º muestreo con BioSampler 10 UFC y D) 8vo muestreo gravedad 460 UFC.

Las cajas de LB que se utilizaron en el método de sedimentación fueron un control para asegurarnos que en el ambiente estaban presentes los bioaerosoles. Se puede apreciar una diferencia entre la cantidad y diversidad de UFC muestreadas con el BioSampler y por Gravedad y esto se puede explicar porque el BioSampler es un método selectivo que solo permite la entrada a microorganismos menores de 0.5 μm además de la posibilidad de que no todos los microorganismos sobreviven al estrés al que se les induce dentro del equipo como son el impacto, el movimiento y la baja de temperatura que es de 17° C.

El que las cajas con medio LB sembradas con el medio de recolección presentaran UFC nos indica que el muestreo con el equipo se llevó a cabo correctamente, sin embargo no fue posible extraer ADN directo del agua destilada estéril (medio de recolección), por lo tanto no se logró identificar a

las bacterias que se encontraban en el ambiente por este método, debido a la baja cantidad de bacterias que eran colectadas y suspendidas en 20 mL de agua resulta difícil la extracción del ADN.

Sedimentación por gravedad. En total se colectaron 3567 UFC en junio y 4862 UFC en julio del 2012 (Figura 13).

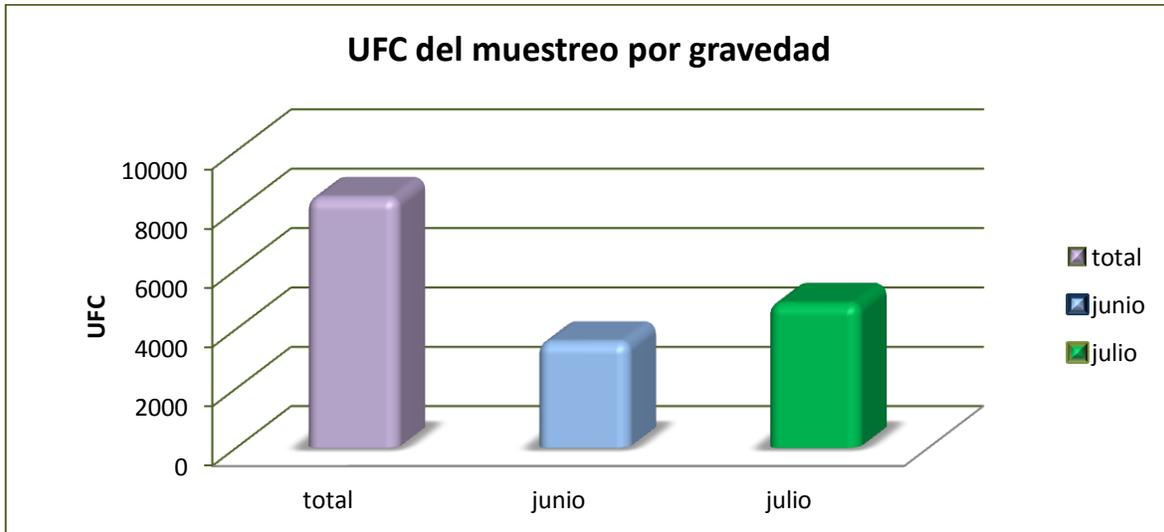


Figura 13. Grafica del total de UFC en el muestreo de Junio y Julio

Resultados de las cajas con medio gelosa sangre. El porcentaje de las UFC en medio GS de los dos muestreos que se realizaron a pesar de que el número de UFC colectadas fue diferente, la distribución de las colonias α , β y γ hemolíticas fue igual para los dos meses: 97 % perteneció a las γ -hemolíticas, 2 % a las β -hemolíticas y el 1 % a las colonias α -hemolíticas (Figura 14).

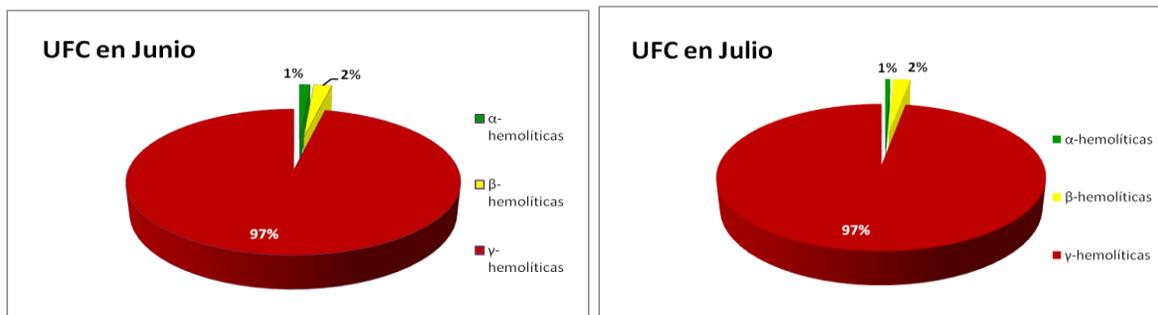


Figura 14. Porcentaje de las UFC γ , α y β hemolíticas en los meses de junio y julio.

En el muestreo de junio del 2012, las zonas en donde más UFC α y β hemolíticas se obtuvieron fueron Oceanía (27), Patriotismo (31), Lechería (45) y Tultitlan (46) (Figura 15). Cabe mencionar que fue imposible muestrear la estación Garibaldi, pues la lluvia lo impidió. Es por esa razón que no se tienen resultados en este punto. Los muestreos comenzaron a las 8 de la mañana y terminaron el mismo día a las 4:30 de la tarde. Después de la incubación se observó que cada caja de GS a simple vista solo contenía bacterias con un máximo de 8 morfologías diferentes a pesar de que en promedio por caja había 56.5 UFC (Tabla 4). Este resultado se esperaba, puesto que tener una gran cantidad de UFC no necesariamente quiere decir que cada una represente a una colonia diferente.

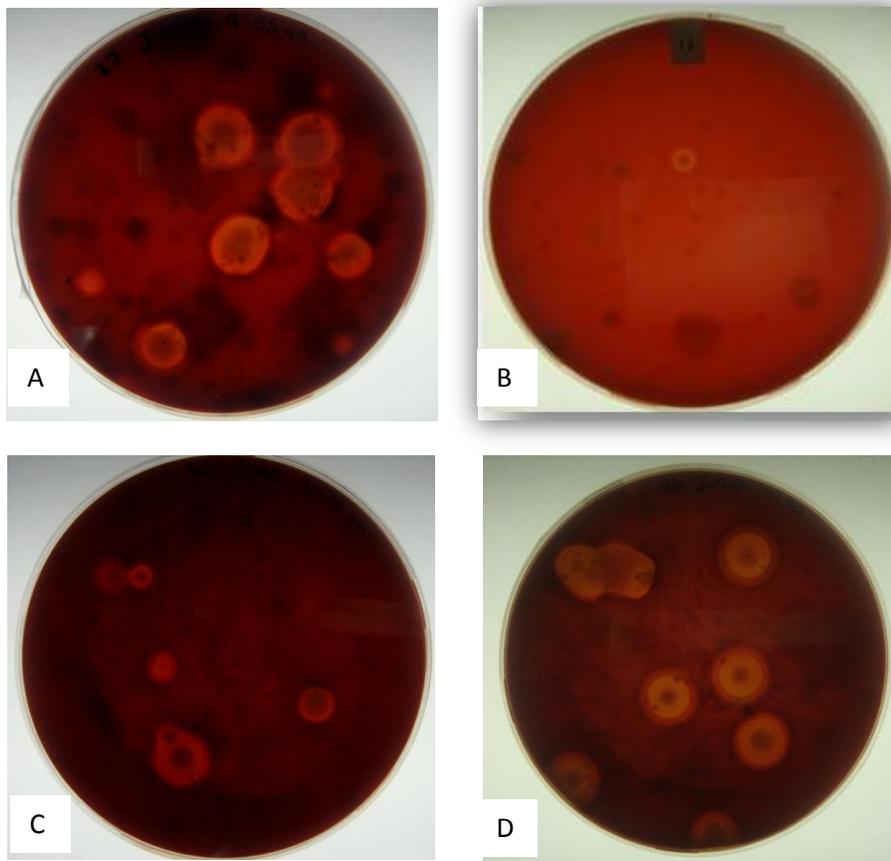


Figura 15. Cajas de Petri muestreo de junio, con mayor cantidad de UFC β -hemolíticas. (A) Oceanía, (B) Patriotismo, (C) Lechería y (D) Tultitlan.

"Estudio de la diversidad de las bacterias aerotransportadas en la atmósfera baja de la Zona Metropolitana del Valle de México."

Tabla 4. Resultados de las UFC en medio GS en el mes de junio.

Muestreo en la ZMVM (28-junio-2012)							
N° del punto	Punto de muestreo	Hora de muestreo		Total en gelosa sangre	En gelosa sangre		
		Inicio	Termino		α-hemólisis	β-hemólisis	γ-hemólisis
1	Rosario	10:00	10:30	18	0	0	18
2	Azcapotzalco	09:05	09:35	20	0	0	20
3	Martin Carrera	08:10	08:40	51	1	0	50
4	Tacuba	10:52	11:22	24	0	0	24
5	Auditorio	11:39	12:09	36	0	0	36
6	San Antonio	12:25	12:55	106	0	0	106
7	Barranca del muero	13:10	13:40	76	0	1	75
8	Observatorio	10:25	10:55	30	0	0	30
9	Sevilla	09:15	09:45	24	0	0	24
10	Balderas	08:00	08:35	19	0	0	19
11	Aeropuerto	12:05	12:35	43	0	1	42
12	Pantitlán	13:05	13:35	54	0	0	54
13	Cuatro Caminos	08:08	08:38	160	0	0	160
14	Colegio Militar	09:05	09:35	65	1	0	64
15	Bellas Artes	14:05	14:35	26	0	0	26
16	Zócalo	10:05	10:35	59	0	0	59
17	Chabacano	12:30	13:00	163	2	6	155
18	Portales	11:05	11:35	66	0	1	65
19	Tasqueña	08:05	08:35	12	0	3	9
20	Indios Verdes	15:00	15:30	26	0	0	26
21	La raza	16:00	16:20	184	0	4	180
22	Etiopia	10:35	12:05	22	0	0	22
23	Coyoacán	12:25	12:55	299	2	5	292
24	Universidad	13:25	13:55	7	0	1	6
25	Politécnico	08:00	08:30	73	2	0	71
26	Consulado	09:10	09:40	48	2	5	41
27	Oceanía	09:55	10:25	244	2	10	232
28	Tepalcates	09:50	10:20	46	0	0	46
29	Acatitla	08:42	09:12	86	1	0	85
30	La paz	07:41	08:11	59	1	4	54
31	Patriotismo	16:11	16:44	295	0	5	290
32	Velódromo	15:07	15:37	46	0	0	46
33	Garibaldi						
34	Iztacalco	10:35	11:05	14	0	0	14
35	Atlalilco	09:36	10:06	34	0	0	34
36	Constitución 1917	08:20	08:50	37	0	0	37
37	Buenavista Suburbano	14:00	14:30	55	0	1	54
38	Netzahualcóyotl	08:05	08:35	56	0	0	56
39	Santa Anita	11:37	12:07	24	0	0	24
40	Ciudad Azteca	10:40	11:10	21	1	2	18
41	Muzquiz	09:45	10:15	44	0	1	43

“Estudio de la diversidad de las bacterias aerotransportadas en la atmósfera baja de la Zona Metropolitana del Valle de México.”

42	Fortuna	15:10	15:40	201	0	1	200
43	Tlalnepantla	12:50	01:20	43	0	3	40
44	San Rafael	11:42	12:12	145	3	3	139
45	Lechería	10:36	11:06	120	1	5	114
46	Tultitlan	09:30	10:00	140	2	10	128
47	Cuautitlán	08:10	08:40	30	0	4	26
48	Estadio Azteca	09:01	09:31	95	0	0	95
49	Tepepan	10:00	10:30	2	0	0	2
50	Xochimilco	11:10	11:40	19	0	0	19

En el muestreo que se realizó en julio del 2012, las zonas en donde más UFC α y β -hemolíticas se obtuvieron fueron San Antonio (6), Aeropuerto (11), Coyoacán (23) y Fortuna (42) (Figura 16, Tabla 5).

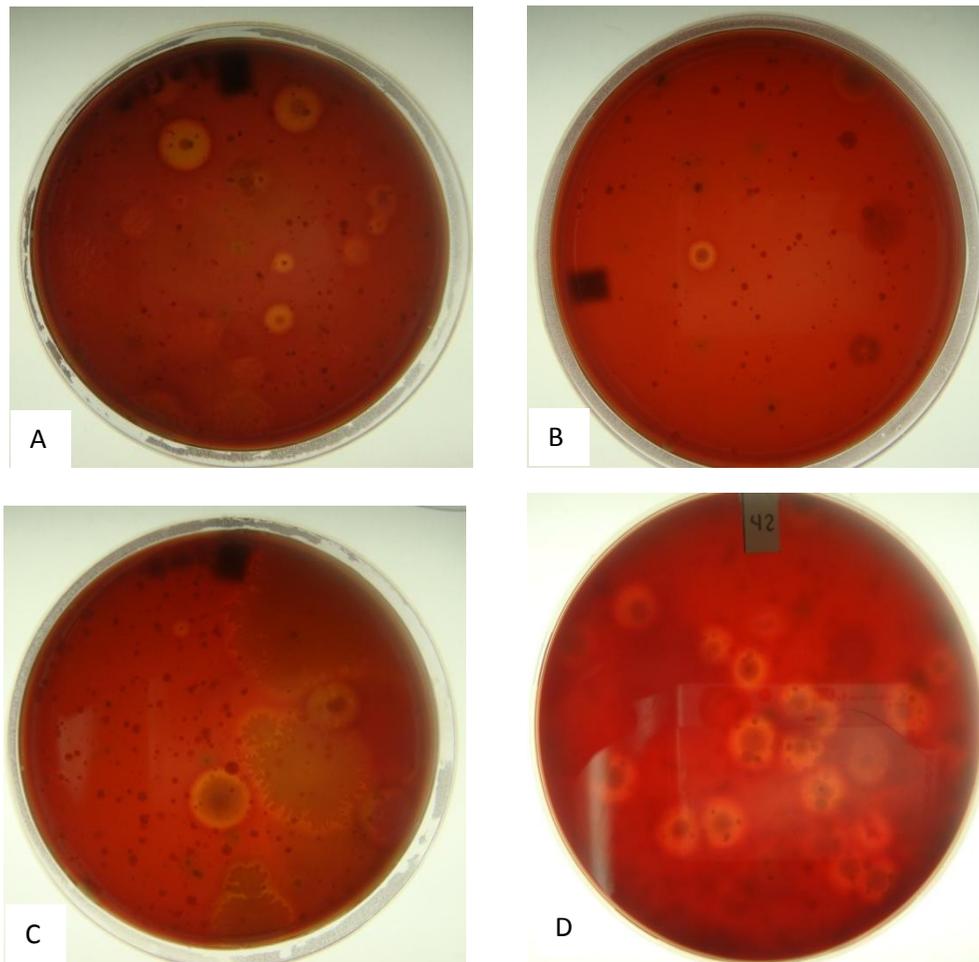


Figura 16. Cajas de Petri con medio GS que presentaron mayor cantidad de UFC β -hemolíticas, en el mes de Julio (A), San Antonio, (B) Aeropuerto, (C) Coyoacán y (D) Fortuna.

"Estudio de la diversidad de las bacterias aerotransportadas en la atmósfera baja de la Zona Metropolitana del Valle de México."

Tabla 5. Resultados de las UFC en medio GS en el mes de julio.

Muestreo en la ZMVM (19-julio-2012)							
N° del punto	Punto de muestreo	Hora de muestreo		Total en gelosa sangre	En gelosa sangre		
		Inicio	Termino		α -hemólisis	β -hemólisis	γ -hemólisis
1	Rosario	10:00	10:30	11	0	4	7
2	Azcapotzalco	09:05	09:35	108	1	0	107
3	Martin Carrera	08:10	08:40	172	6	5	161
4	Tacuba	10:52	11:22	17	0	0	17
5	Auditorio	11:39	12:09	72	1	1	70
6	San Antonio	12:25	12:55	156	3	9	144
7	Barranca del muero	13:10	13:40	43	2	0	41
8	Observatorio	10:25	10:55	18	0	0	18
9	Sevilla	09:15	09:45	19	0	0	19
10	Balderas	08:00	08:35	23	0	0	23
11	Aeropuerto	12:05	12:35	113	2	6	105
12	Pantitlan	13:05	13:35	238	4	0	234
13	Cuatro Caminos	08:08	08:38	132	6	1	125
14	Colegio Militar	09:05	09:35	41	2	0	39
15	Bellas Artes	14:05	14:35	28	0	2	26
16	Zócalo	10:05	10:35	53	2	1	50
17	Chabacano	12:30	13:00	7	0	0	7
18	Portales	11:05	11:35	39	1	0	38
19	Tasqueña	08:05	08:35	75	0	4	71
20	Indios Verdes	15:00	15:30	115	1	3	111
21	La raza	16:00	16:20	81	1	2	78
22	Etiopia	10:35	12:05	54	0	0	54
23	Coyoacán	12:25	12:55	213	3	7	203
24	Universidad	13:25	13:55	97	2	0	95
25	Politécnico	08:00	08:30	18	0	0	18
26	Consulado	09:10	09:40	85	3	0	82
27	Oceanía	09:55	10:25	501	0	2	499
28	Tepalcates	09:50	10:20	96	0	0	96
29	Acatitla	08:42	09:12	8	0	0	8
30	La paz	07:41	08:11	61	3	3	55
31	Patriotismo	16:11	16:44	28	0	0	28
32	Velódromo	15:07	15:37	12	0	0	12
33	Garibaldi	14:26	14:56	24	1	3	20
34	Iztacalco	10:35	11:05	112	2	1	109
35	Atlalilco	09:36	10:06	34	3	0	31
36	Constitución 1917	08:20	08:50	13	0	0	13
37	Buenavista Suburbano	14:00	14:30	17	0	0	17
38	Netzahualcóyotl	08:05	08:35	230	3	2	225
39	Santa Anita	11:37	12:07	8	0	0	8
40	Ciudad Azteca	10:40	11:10	271	3	4	264
41	Muzquiz	09:45	10:15	171	1	2	168

“Estudio de la diversidad de las bacterias aerotransportadas en la atmósfera baja de la Zona Metropolitana del Valle de México.”

42	Fortuna	15:10	15:40	534	0	20	514
43	Tlalnepantla	12:50	01:20	97	0	3	94
44	San Rafael	11:42	12:12	294	6	8	280
46	Tultitlan	09:30	10:00	53	1	0	52
47	Cuautitlán	08:10	08:40	0	0	0	0
48	Estadio Azteca	09:01	09:31	1	0	0	1
49	Tepepan	10:00	10:30	0	0	0	0
50	Xochimilco	11:10	11:40	35	0	0	35

Aislamientos de las UFC α y β hemolíticas

Fue un requisito previo para la identificación de los microorganismos, dado que en este paso se comprobó que las colonias con las que se trabajaría fueran puras y esto no interfiriera con los próximos pasos a seguir.

Para el mes de junio en total se aislaron 92 UFC, se realizaron tinciones de Gram, donde el 74 % de las tinciones resultaron ser Gram positivas y solo el 26 % fueron Gram negativas, la morfología que presentaron al microscopio fue la siguiente: 70 de ellas fueron bacilos, 19 fueron cocos y 3 cocobacilos. Se comprobó el fenotipo de las 92 colonias aisladas, de las cuales solo 67 mantuvieron un fenotipo α o β -hemolítico (Figura 17 y 18) y a estas 67 se les extrajo el ADN, se amplificó y secuenció el 16S.

En julio se aislaron 158 colonias y a estas se les realizó la tinción de Gram (figura 19), donde se lograron observar que en su mayoría fueron Gram positivas (130 UFC que representa el 82.2 % del total de las colonias con las que se trabajó) y 28 UFC resultaron ser Gram negativas y al igual que en el mes de Junio la forma que predominó al microscopio fueron los bacilos con el 72 %, los cocos (25 %) y los cocobacilos (3 %). En total de los meses de junio y julio se realizaron 250 aislamientos y tinciones de Gram. Para la confirmación de fenotipo del muestreo de julio, 102 UFC mantuvieron un fenotipo α o β - hemolítico, esto representa un 64 % de las colonias totales (Figura 20). Pero en esta ocasión a comparación del mes de junio se trabajó con las 158 colonias aisladas a las que se les extrajo el ADN, se amplificó y secuenció parte del 16S.

La disminución en el número de bacterias α y β -hemolíticas al momento de realizar la confirmación de fenotipo se puede explicar porque para tomar las colonias y hacer los aislamientos se pudo haber tomado una colonia distinta a la marcada con el fenotipo α o β , esto

debido a que las colonias estaban demasiado juntas y era complicado seleccionar con precisión las colonias.

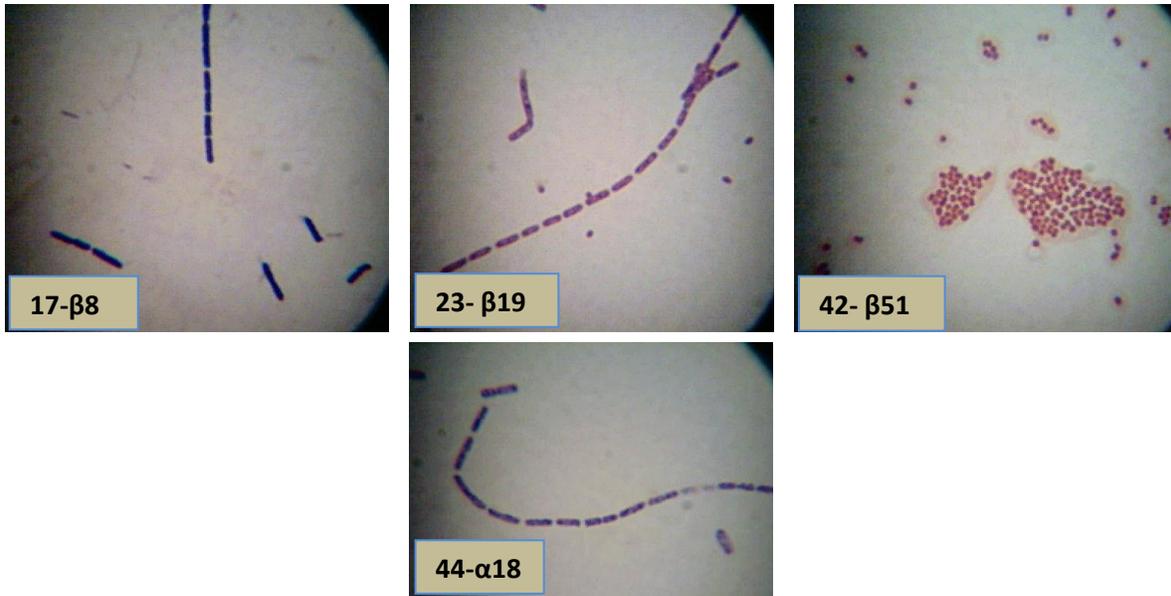


Figura 17. Se pueden observar 4 de las 92 tinciones de Gram a 1000 X que se realizaron en el mes de junio para confirmar que la colonia era pura.

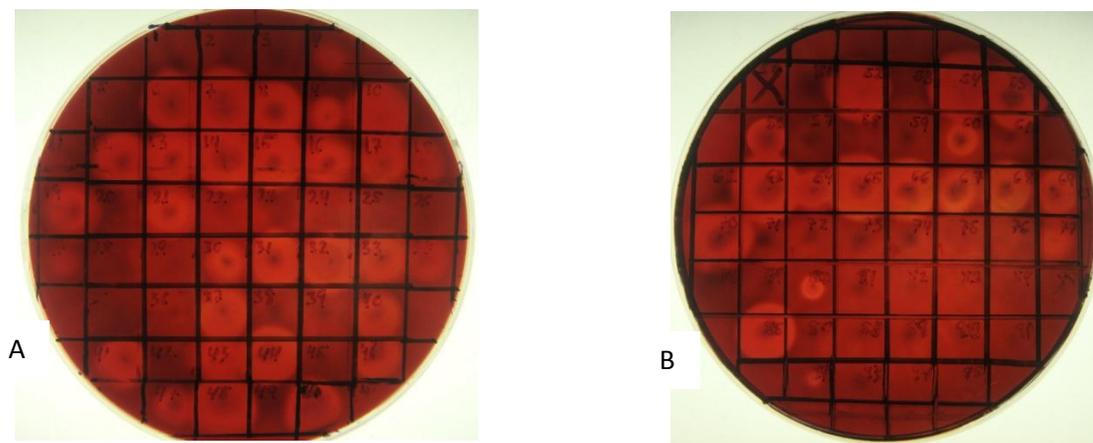


Figura 18. Comprobación de fenotipo α y β hemolítico (A) de la colonia 1 a la 49 y (B) de la colonia 50 a la 92)

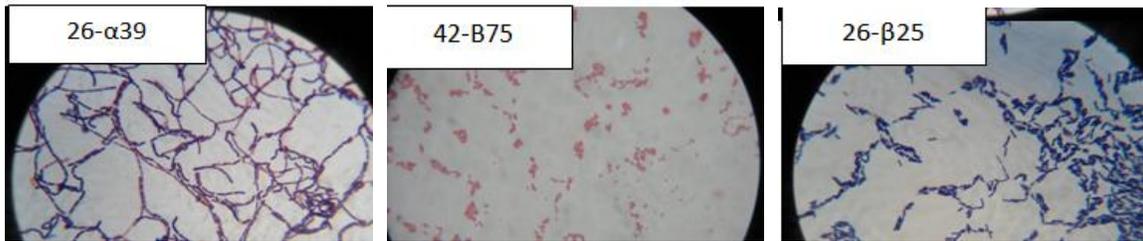


Figura 19. Se pueden observar 3 de las 158 tinciones de Gram a 1000X que se realizaron en el mes de julio para confirmar que la colonia era pura.

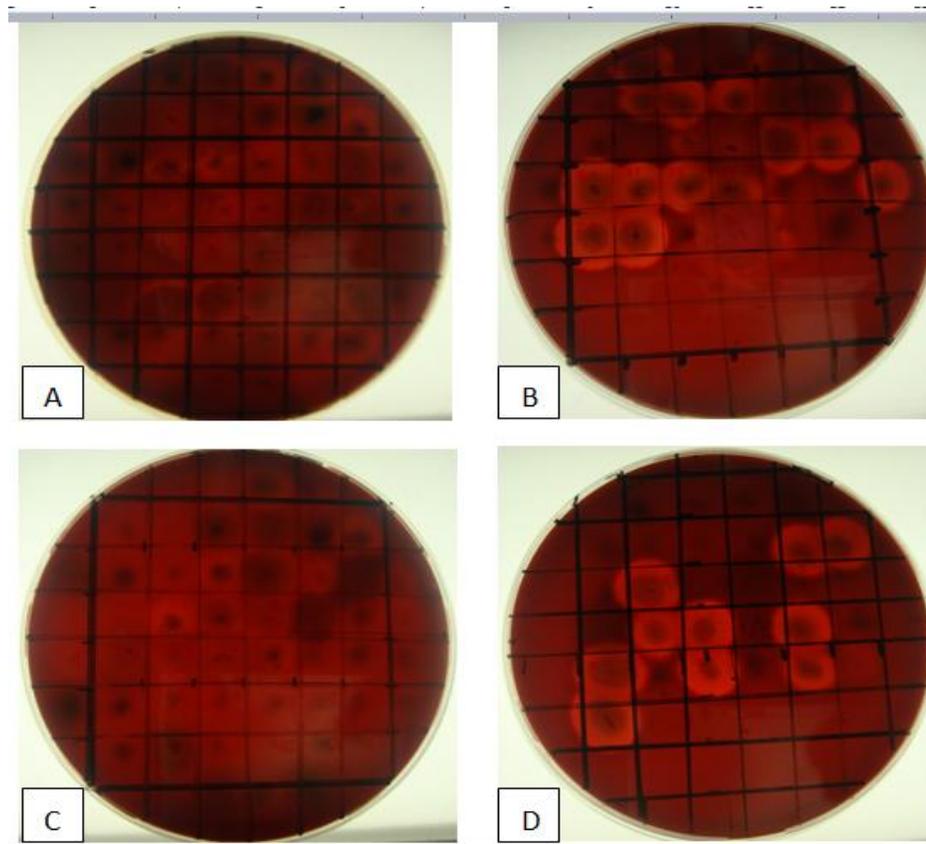


Figura 20. Confirmación de fenotipo α y β hemolítico del las 158 UFC colectadas en el mes de Julio.

Extracción de ADN

Después de seleccionar las UFC con fenotipo α y β hemolítico se realizó la extracción de ADN. Para el mes de junio no todas las bacterias aisladas se utilizaron para continuar con la extracción, solo las que al final conservaron el fenotipo α o β hemolítico fueron seleccionadas (Tabla 6, Figura 21). Se utilizó el fenol para realizar la extracción de los ácidos nucleídos, estas se comprobaron con una electroforesis y se cuantifico la concentración de ADN con una longitud de onda 260 nm.

Tabla 6. Resultados de la cuantificación del ADN de las muestras del mes de junio 2012					
Muestra	absorbancia a 260 nm	absorbancia a 280 nm	260nm /280nm	lectura ng/mL	$\mu\text{g/mL}$
11- β 2	0.081	0.05	1.74	7	202.5
17- β 3	0.133	0.102	1.43	10	332.5
17- β 4	0.045	0.033	1.44	4	112.5
17- β 5	0.133	0.107	1.33	10	332.5
17- β 6	0.274	0.216	1.47	18	685
17- β 7	0.094	0.077	1.27	8	235
17- β 8	0.174	0.145	1.31	12	435
17- α 3	0.921	0.612	1.7	75	2302.5
18- β 9	0.587	0.373	1.74	51	1467.5
19- β 10	0.091	0.076	1.23	8	227.5
19- β 11	0.06	0.05	1.23	5	150
19- β 12	0.087	0.071	1.26	8	217.5
21- β 13	0.178	0.111	1.74	16	445
21- β 14	0.126	0.094	1.37	12	315
21- β 15	0.126	0.099	1.31	11	315
21- β 16	0.132	0.091	1.53	12	330
23- β 17	0.039	0.032	1.49	2	97.5
23- β 19	0.097	0.07	1.61	7	242.5
23- α 6	0.047	0.039	1.21	4	117.5
24- β 22	0.342	0.252	1.52	26	855
α 14	0.037	0.028	1.72	2	92.5
26- β 24	1.393	0.975	1.58	114	3482.5
27- β 28	0.565	0.394	1.61	45	1412.5
27- β 29	1.5	1.037	1.6	127	3750
27- β 31	0.183	0.127	1.68	14	457.5
27- β 32	0.148	0.104	1.62	12	370
27- β 33	1.23	0.802	1.62	113	3075
27- β 35	0.426	0.266	1.66	40	1065
27- α 11	0.042	0.035	1.31	3	105
27- α 12	0.546	0.364	1.57	50	1365
30- β 38	0.27	0.176	1.59	25	675
30- β 40	0.048	0.036	1.45	4	120
31- β 43	0.301	0.175	1.91	26	752.5

"Estudio de la diversidad de las bacterias aerotransportadas en la atmósfera baja de la Zona Metropolitana del Valle de México."

31-β44	0.12	0.069	1.78	12	300
31-β46	0.667	0.389	1.78	63	3335
37-β47	0.029	0.022	1.58	2	145
40-β48	0.449	0.238	1.93	44	1122.5
40-β49	0.034	0.026	1.74	2	85
41-β50	0.023	0.022	1.17	1	57.5
43-β52	0.035	0.023	1.53	3	87.5
43-β54	0.033	0.024	1.39	3	82.5
44-β55	0.148	0.087	1.72	15	370
44-β56	0.281	0.179	1.6	27	702.5
44-β57	1.96	1.285	1.61	179	4900
44-α19	0.436	0.291	1.53	42	1090
45-β58	0.105	0.064	1.97	8	262.5
45-β59	0.079	0.051	1.89	6	197.5
45-β62	0.023	0.019	1.59	1	57.5
46-β63	0.03	0.025	1.84	1	75
46-β64	0.037	0.021	1.79	4	92.5
46-β66	0.168	0.095	1.92	14	420
46-β67	0.347	0.198	1.79	34	867.5
46-β68	0.099	0.083	1.67	4	247.5
46-β70	0.013	0.004	3.34	1	32.5
46-β71	1.169	0.74	1.67	107	2922.5
46-β72	0.173	0.122	1.63	13	432.5
46-α20	0.552	0.333	1.74	51	1380
46-α21	0.076	0.066	1.56	3	190
46-Υ3	1.189	0.714	1.74	112	2972.5
47-β73	0.1	0.075	1.68	6	250
47-β74	0.135	0.102	1.53	10	337.5

Todas las muestras se almacenaron a -4° C

La última columna se cálculo de la siguiente manera: se multiplico la a260nm por 50 porque la muestra se diluyo 1:50 y el resultado se multiplico nuevamente por 50 por ser un valor ya conocido de a260nm.

Para las muestras del mes de julio se realizaron 158 extracciones de ADN (Tabla 7) y se comprobaron con una electroforesis (Figura 22).

Tabla 7. Resultados de las extracciones de ADN para el mes de julio 2012					
Muestra	absorbancia a 260 nm	absorbancia a 280 nm	260nm /280nm	lectura ng/mL	µg/mL
1-β1	0.037	0.026	1.43	4	92.5
1-β2	0.055	0.037	1.56	5	137.5
1-β3	0.095	0.072	1.67	6	237.5
2-α1	0.085	0.061	1.5	7	212.5
3-α2	0.269	0.17	1.66	25	672.5
3-α3	0.043	0.031	1.62	3	107.5

“Estudio de la diversidad de las bacterias aerotransportadas en la atmósfera baja de la Zona Metropolitana del Valle de México.”

3- α 4	0.833	0.585	1.48	76	2082.5
3- α 5	0.058	0.041	1.64	4	145
3- α 6	0.067	0.046	1.51	6	167.5
3- β 5	0.265	0.169	1.81	21	662.5
3- β 6	0.097	0.072	1.49	8	242.5
3- β 7	0.501	0.33	1.62	44	1252.5
3- β 8	0.255	0.166	1.64	23	637.5
3- β 9	0.075	0.052	1.6	6	307.5
5- α 7	0.123	0.091	1.55	9	37.5
5- β 10	0.015	0.008	1.96	1	1240
6- α 8	0.496	0.428	1.48	22	147.5
6- α 9	0.059	0.045	1.51	4	1370
6- α 10	0.548	0.372	1.76	41	1370
6- β 11	0.19	0.117	1.69	18	475
6- β 12	0.044	0.033	1.41	4	110
6- β 13	0.154	0.109	1.68	11	385
6- β 14	0.177	0.15	1.53	8	442.5
6- β 15	0.198	0.121	1.71	19	495
6- β 16	0.389	0.302	1.42	29	972.5
6- β 17	0.137	0.087	1.79	12	342.5
6- β 18	0.082	0.062	1.45	7	205
7- α 11	0.248	0.161	1.64	22	620
7- α 12	0.106	0.079	1.72	7	265
11- α 13	0.14	0.08	1.82	13	350
11- α 14	0.373	0.266	1.5	32	932.5
11- α 15	0.218	0.148	1.53	20	545
11- α 16	0.524	0.362	1.56	45	1310
11- α 17	0.514	0.357	1.51	47	1285
11- α 18	0.595	0.38	1.62	56	1487.5
11- β 19	0.136	0.078	1.64	13	340
11- β 20	0.044	0.034	1.88	2	110
12- α 19	0.259	0.16	1.7	24	647.5
12- α 20	0.395	0.245	1.7	36	987.5
12- α 21	0.575	0.345	1.73	54	1437.5
12- α 22	0.517	0.326	1.68	47	1292.5
13- α 23	0.049	0.043	1.98	1	122.5
13- α 24	0.086	0.067	1.38	7	215
13- α 26	1.252	0.797	1.64	117	3130
13- α 28	0.31	0.184	1.77	29	775
13- β 21	0.224	0.141	1.74	19	560
14- α 29	0.514	0.389	1.45	41	1285
14- α 30	0.48	0.376	1.42	35	1200
15- β 22	0.156	0.088	1.88	15	390
15- β 23	0.183	0.07	1.92	16	457.5
16- α 31	0.033	0.023	2.18	2	82.5
16- α 32	0.031	0.022	1.9	2	77.5

“Estudio de la diversidad de las bacterias aerotransportadas en la atmósfera baja de la Zona Metropolitana del Valle de México.”

16-β24	0.029	0.022	1.98	2	72.5
18-α64	1.304	0.808	1.67	123	3260
19-β25	0.03	0.024	1.59	2	75
19-β26	0.035	0.025	1.48	3	87.5
19-β27	0.035	0.027	1.39	3	87.5
19-β28	0.052	0.04	1.48	4	130
20-β29	0.037	0.03	1.44	3	92.5
20-α33	0.04	0.031	1.75	2	100
20-β30	0.178	0.115	1.7	15	445
20-β31	0.038	0.029	1.51	3	95
21-α34	0.053	0.039	1.59	4	132.5
21-β32	0.043	0.033	1.43	3	107.5
21-β33	0.19	0.109	1.73	19	475
23-α35	0.113	0.071	1.71	10	282.5
23-α36	0.029	0.022	1.91	2	72.5
23-α37	0.035	0.023	1.83	3	87.5
23-β34	1.801	1.104	1.65	177	4502.5
23-β35	2.144	1.318	1.65	210	5360
23-β36	0.036	0.024	1.91	3	90
23-B37	0.03	0.02	2.26	2	75
23-β38	1.052	0.659	1.63	102	2630
23-β39	0.029	0.019	1.88	2	72.5
23-β40	0.031	0.023	1.96	2	77.5
26-α39	0.524	0.362	1.51	48	1310
26-α40	0.035	0.024	1.94	2	87.5
26-α42	0.059	0.043	1.59	4	147.5
27-β41	0.041	0.026	2.04	3	102.5
27-β42	0.402	0.349	1.46	17	1005
30-β43	0.088	0.058	1.76	7	220
30-β44	2.236	1.526	1.68	176	5590
30-β45	0.046	0.034	1.77	3	115
30-α41	0.024	0.017	1.88	2	60
30-α42	0.027	0.017	2.25	2	67.5
30-α43	0.025	0.015	2.07	2	62.5
33-α44 (b)	0.031	0.019	1.99	2	77.5
33-β46	0.06	0.04	1.48	6	150
33-β47	0.096	0.063	1.61	9	240
33-β48	0.113	0.074	1.68	10	282.5
34-α45	0.124	0.09	1.47	11	310
34-β49	0.043	0.032	1.47	3	107.5
35-α47	1.334	0.842	1.06	130	3335
35-α48	0.051	0.038	1.68	3	127.5
35-α49	0.078	0.056	1.57	6	195
38-α50	1.124	0.703	1.62	110	2810
38-α51	1.243	0.893	1.58	95	3107.5

“Estudio de la diversidad de las bacterias aerotransportadas en la atmósfera baja de la Zona Metropolitana del Valle de México.”

38-α52	0.377	0.272	1.51	31	942.5
38-β50	0.032	0.021	1.77	3	80
38-β51	0.054	0.039	1.81	3	135
40-α54	0.048	0.036	1.86	3	120
40-α55	0.656	0.469	1.51	55	1640
40-β52	0.173	0.127	1.77	11	432.5
40-β53	0.045	0.031	1.92	3	112.5
40-β54	0.063	0.046	1.77	4	157.5
41-α56	0.04	0.027	1.9	3	100
41-β55	1.28	0.844	1.63	113	3200
41-β56	0.101	0.074	1.73	9	252.5
42-β57	0.038	0.027	1.8	2	95
42-β58	1.47	0.031	1.99	3	3675
42-β59	0.046	0.035	1.71	3	115
42-β60	0.049	0.032	1.93	3	122.5
42-β61	0.133	0.081	1.83	11	332.5
42-β62	0.061	0.04	1.85	4	152.5
42-β63	0.087	0.059	1.85	6	217.5
42-β64	0.054	0.036	1.8	4	135
42-β65	2.802	1.81	1.57	274	7005
42-β67	1.553	0.95	1.68	148	3882.5
42-β68	0.065	0.044	1.77	5	162.5
42-β69	0.055	0.038	1.85	4	137.5
42-β70	0.092	0.059	1.78	8	230
42-β71	0.057	0.042	1.84	3	142.5
42-β72	0.73	0.514	1.52	63	1825
42-β73	0.834	0.589	1.57	68	2085
42-β74	0.098	0.072	1.72	6	245
42-β75	0.206	0.127	1.83	17	515
42-β76	0.067	0.046	1.77	5	167.5
42-β77	0.045	0.028	1.74	4	112.5
43-β79	0.023	0.016	2.1	1	57.5
43-β80	0.042	0.029	1.86	3	105
44-α57	0.038	0.029	1.86	2	95
44-α58	0.39	0.334	1.51	16	975
44-α59	2.141	1.356	1.63	203	5352.5
44-α60	0.067	0.046	1.86	5	167.5
44-α61	0.349	0.246	1.63	27	872.5
44-α62	0.095	0.064	1.75	7	237.5
44-β81	0.027	0.016	2.01	2	67.5
44-β82	0.075	0.046	1.87	6	187.5
44-β83	0.491	0.43	1.42	21	1227.5
44-β84	0.049	0.03	1.86	4	122.5
44-β85	0.099	0.071	1.68	7	247.5
44-β86	0.08	0.058	1.67	5	200
44-b87 (B)	1.059	0.7	1.58	98	2647.5

44-β87 (A)	0.749	0.649	1.54	29	1872.5
44-β88	0.163	0.118	1.57	12	407.5
45-β89	0.076	0.05	1.94	5	190
45-β91	0.079	0.056	1.94	5	197.5
45-β92	0.229	0.186	1.65	11	572.5
45-β93	0.071	0.051	2	4	177.5
45-β94	0.068	0.052	2.1	3	170
45-β95	0.066	0.049	2.07	3	165
45-β96	2.59	1.642	1.6	252	6475
45-β97	1.77	1.18	1.66	15	4425
45-β98	0.137	0.088	1.73	11	342.5
45-β99	0.11	0.072	1.8	9	275
45-β100	0.074	0.05	1.97	5	185
45-β101	0.082	0.056	1.92	5	205

Las muestras se almacenaron a -4° C

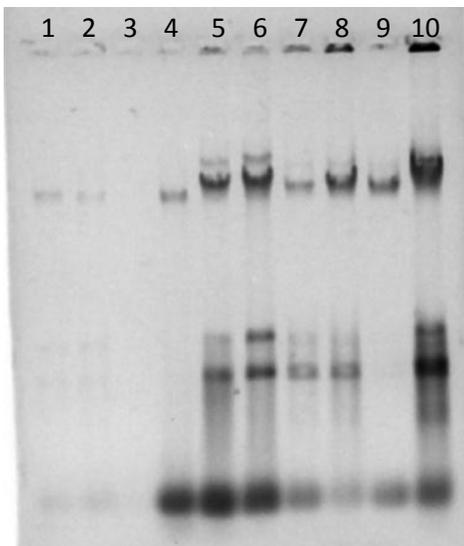


Figura 21. Gel de agarosa al 0.5 % para comprobar las extracciones de ADN de junio, donde se cargaron 1 μL de ADN en cada pozo (1) 43β52, (2) 43β54, (3) 44β55, (4) 44β56, (5) 44β57, (6) 44α19, (7) 27β32, (8) 27β31, (9) 11β2 y (10) 27β29.

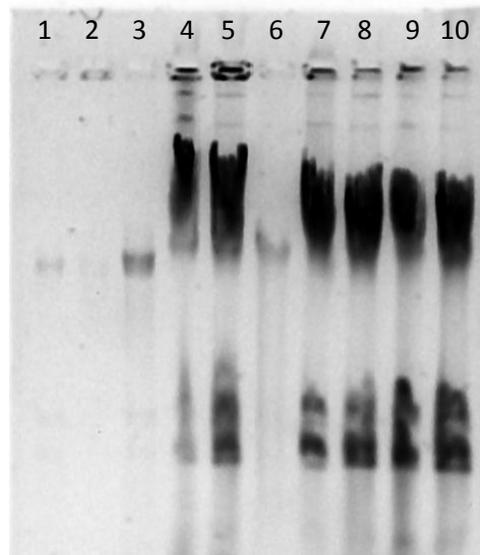


Figura 22. Un ejemplo de los gels de agarosa al 0.5 %, para las extracciones de julio, donde se cargaron 1 μL de ADN en cada pozo (1) 3α5, (2) 5α7, (3) 6β12, (4) 6β13, (5) 6β16, (6) 6β18, (7) 11α14, (8) 11α15, (9) 11α16 y (10) 11α17.

Amplificación del 16S

Después de cada amplificación los productos de la PCR se corrieron en un gel de agarosa al 1 % para comprobar que el resultado da un peso molecular de 1,355 pb (Figura 23 y 24).

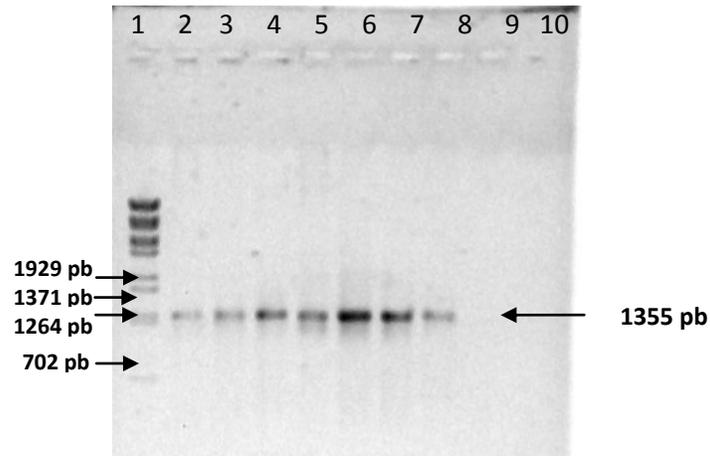


Figura 23. Gel de agarosa al 1 % donde se cargaron 2 μ L del producto de la PCR en cada uno de los pozos. Las muestras corresponden al mes de junio (1) marcador de peso molecular, (2) 43 β 52, (3) 43 β 54, (4) 44 β 55, (5) 44 β 56, (6) 44 β 57, (7) 44 α 19, (8) control positivo, (9) control negativo y (10) pozo vacio).

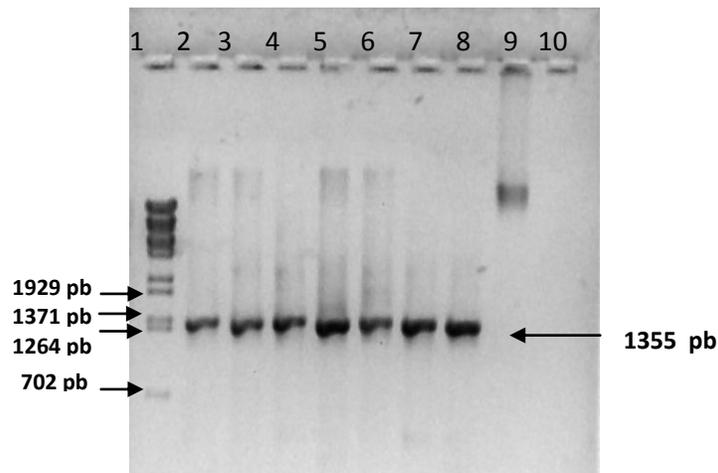


Figura 24. Gel de agarosa al 1 % donde se cargaron 2 μ L del producto de la PCR en cada uno de los pozos. Las muestras corresponden al mes de julio (1) marcador de peso molecular, (2) 11 β 20, (3) 12 α 19, (4) 12 α 20, (5) 12 α 21, (6) 12 α 22, (7) 13 α 23, (8) 13 α 24, (9) 13 α 2 y (10) pozo vacio.

En total se realizaron 225 extracciones de ADN (el 100 % de las muestras), 225 amplificaciones del gen 16S y 100 secuenciamientos (que representan el 44.4 % de las muestras) de la región 3 y 4 del gen 16S ribosomal. Es importante aclarar que: 1) no fue posible secuenciar las 225 muestras por falta de tiempo, debido a la carga de trabajo con la que cuenta la unidad de ácidos nucleicos del CINVESTAV Zacatenco solo permite la entrega de 5 muestras por semana y 2) no todos los secuenciamientos realizados tuvieron un resultado óptimo, pues 26 de los electroferogramas analizados (Figura 25), al momento de realizar los alineamientos no cumplían con un mínimo del 95 % de identidad (Tabla 8), por lo que no era conveniente utilizarlos para seguir con el procesamiento de los datos, al final de los 100 secuenciamientos realizados se logro obtener datos para la construcción del dendograma de 74 muestras (74 %) y se puede decir que es un resultado eficiente y representativo.

Tabla 8. Recomendaciones para la utilización del análisis del ARNr 16S en la identificación bacteriana (tomada de BOU, 2011)	
Cepas por secuenciar	Nuevos patógenos, Bacterias de difícil cultivo
Análisis del 16S	Mínimo >98.5 % de similitud para 1500 pb secuenciadas
Criterio para identificación de especie	Mínimo >98.5 % de similitud, ideal >99 %. Para diferencias < 0.5 % a la especie más cercana, se deben tomar en cuenta otras propiedades.
Criterio para identificación de género	Rango de similitud 95 -100%
Criterio para identificación de familia	Similitud <95 %

A

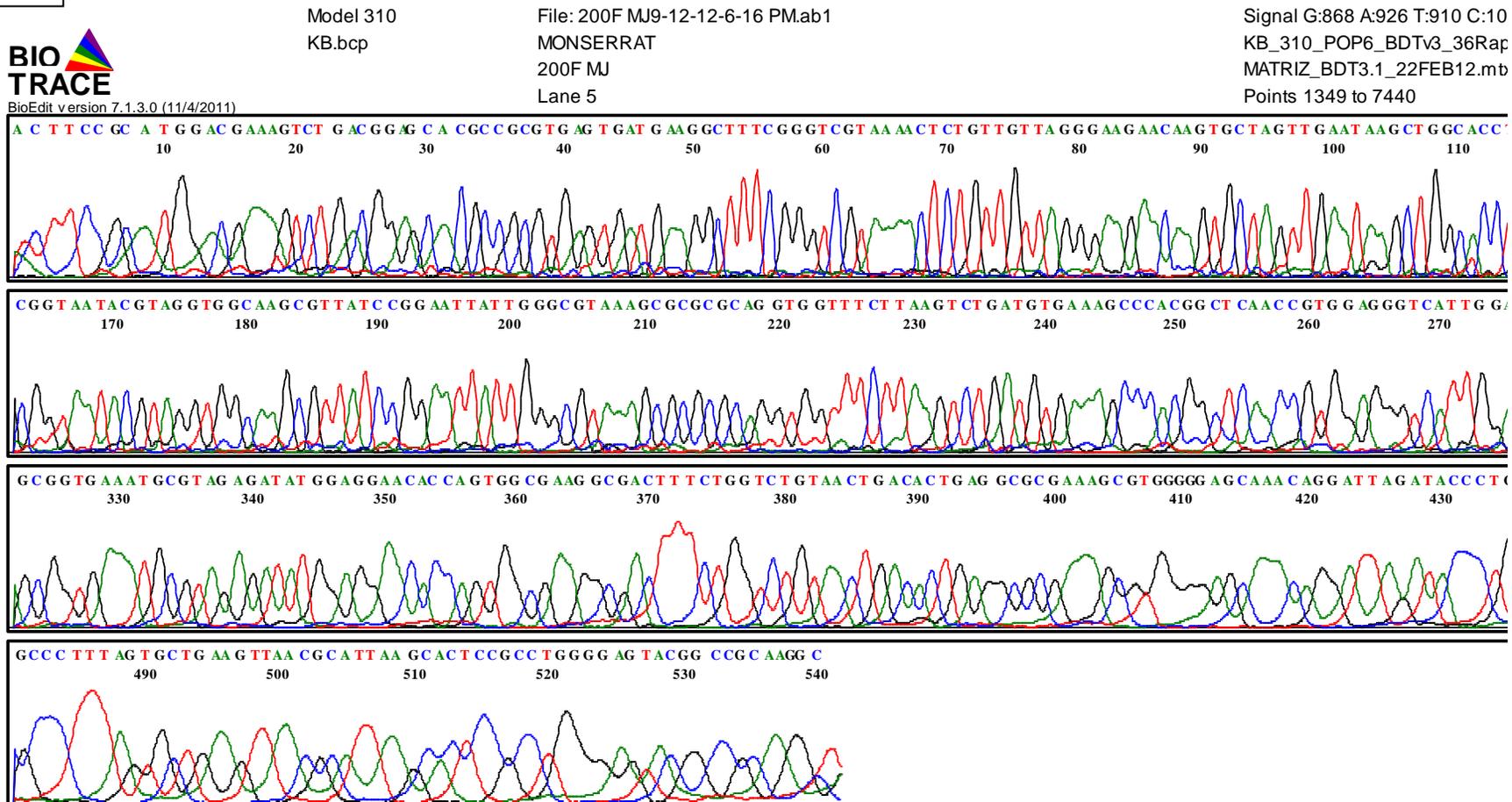


Figura 25. (A) Electroferograma con el cebador que va de 5' a 3' de la muestra 42-β74, una de las muestras analizadas que en el alineamiento tiene un 99 % de identidad.

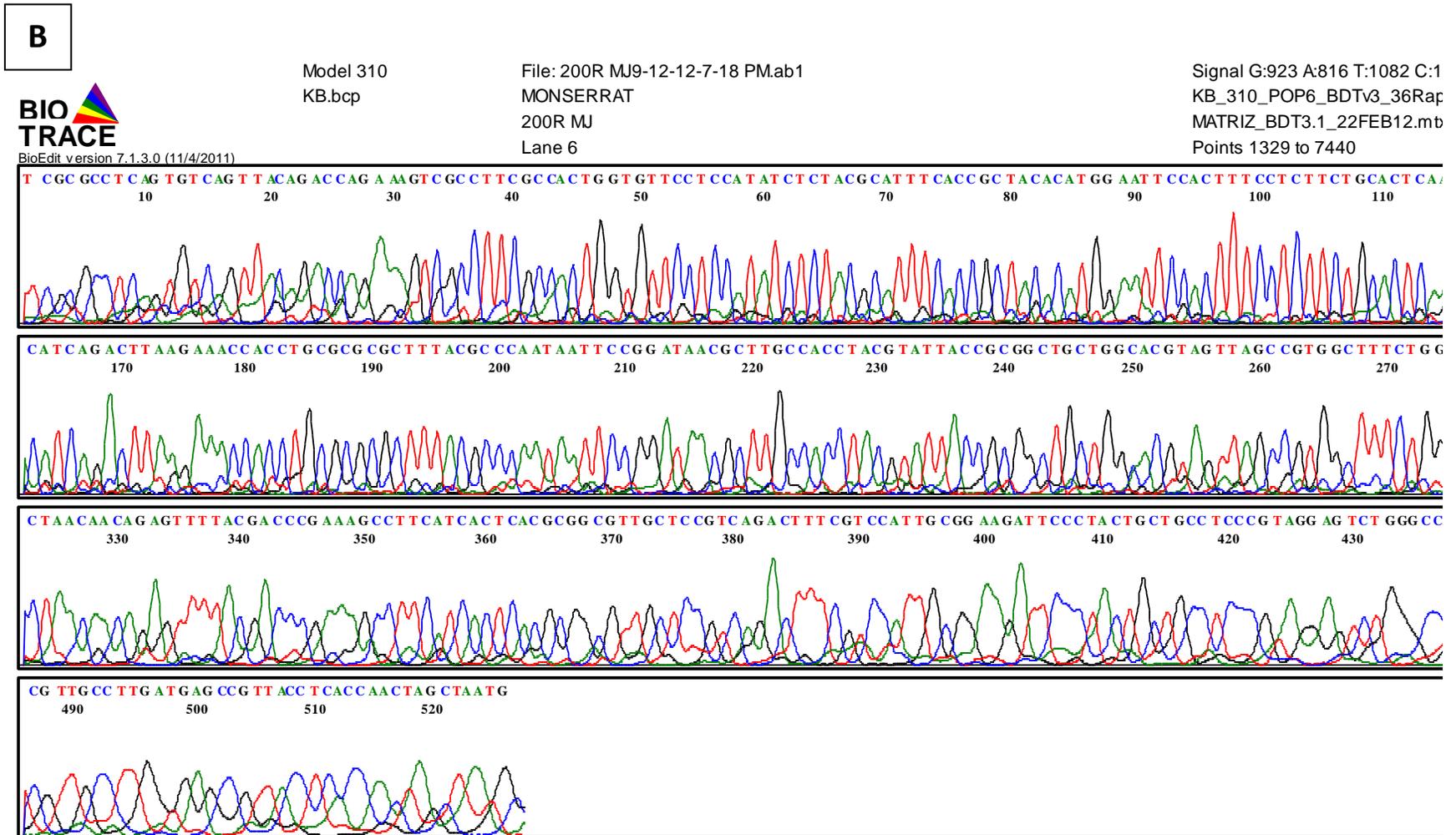


Figura 25. (B) Electroferograma con el cebador que va de 3' a 5' de la muestra 42-β74, una de las muestras analizadas que en el alineamiento tiene un 99 % de identidad

Secuencias depuradas y obtención del dendograma.

De acuerdo a la metodología antes mencionada se obtuvieron las secuencias de las UFC aisladas. Estas secuencias tienen un tamaño de 465 pb y junto con los datos que se obtuvieron de la base de datos del BLAS del NCBI, mediante el programa MEGA 5.1, se genero un dendograma de los microorganismos colectados, en los muestreos de sedimentación por gravedad (Figura 26 y 27). Donde, el género *Bacillus* fue el que se presento con mayor frecuencia, seguido de los géneros *Acinetobacter* y *Entorobacter*.

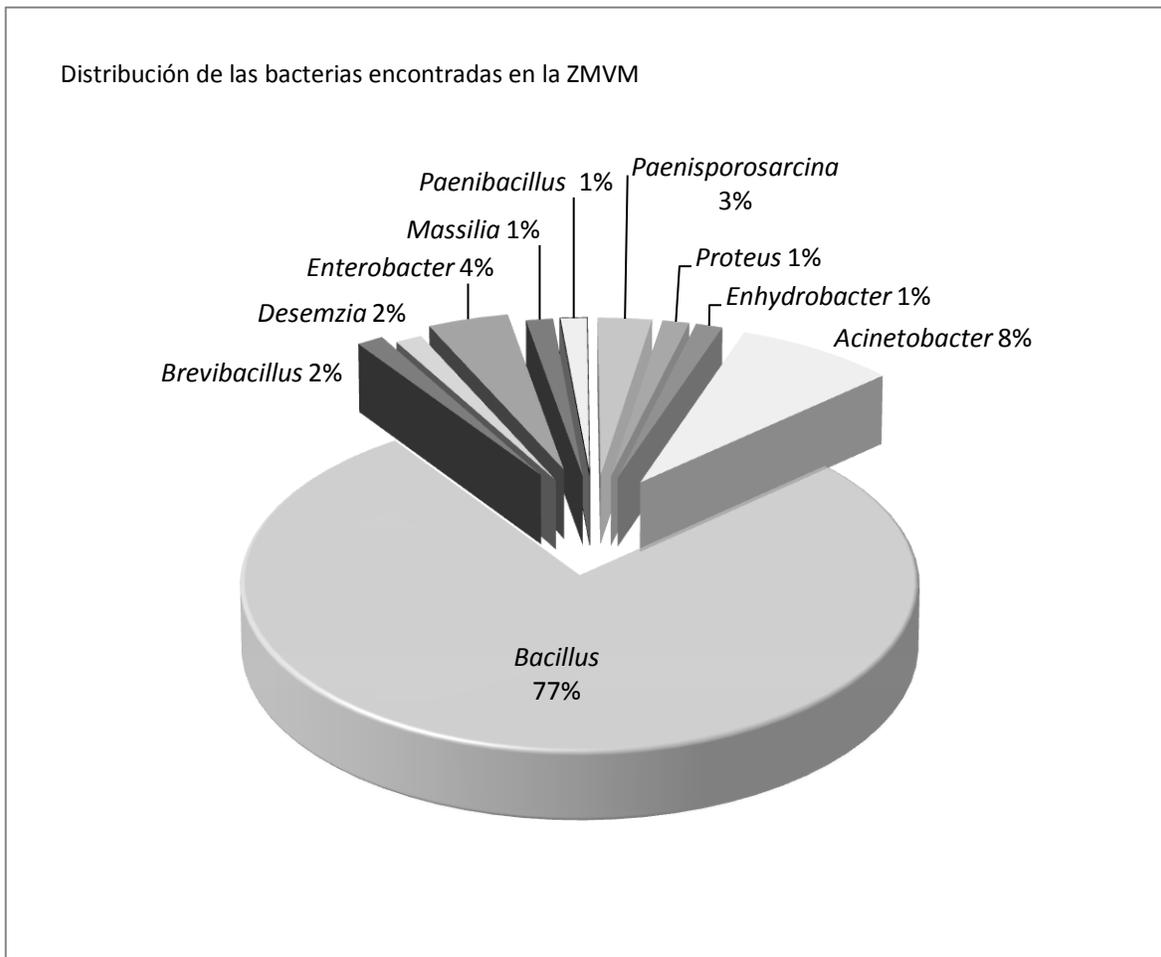
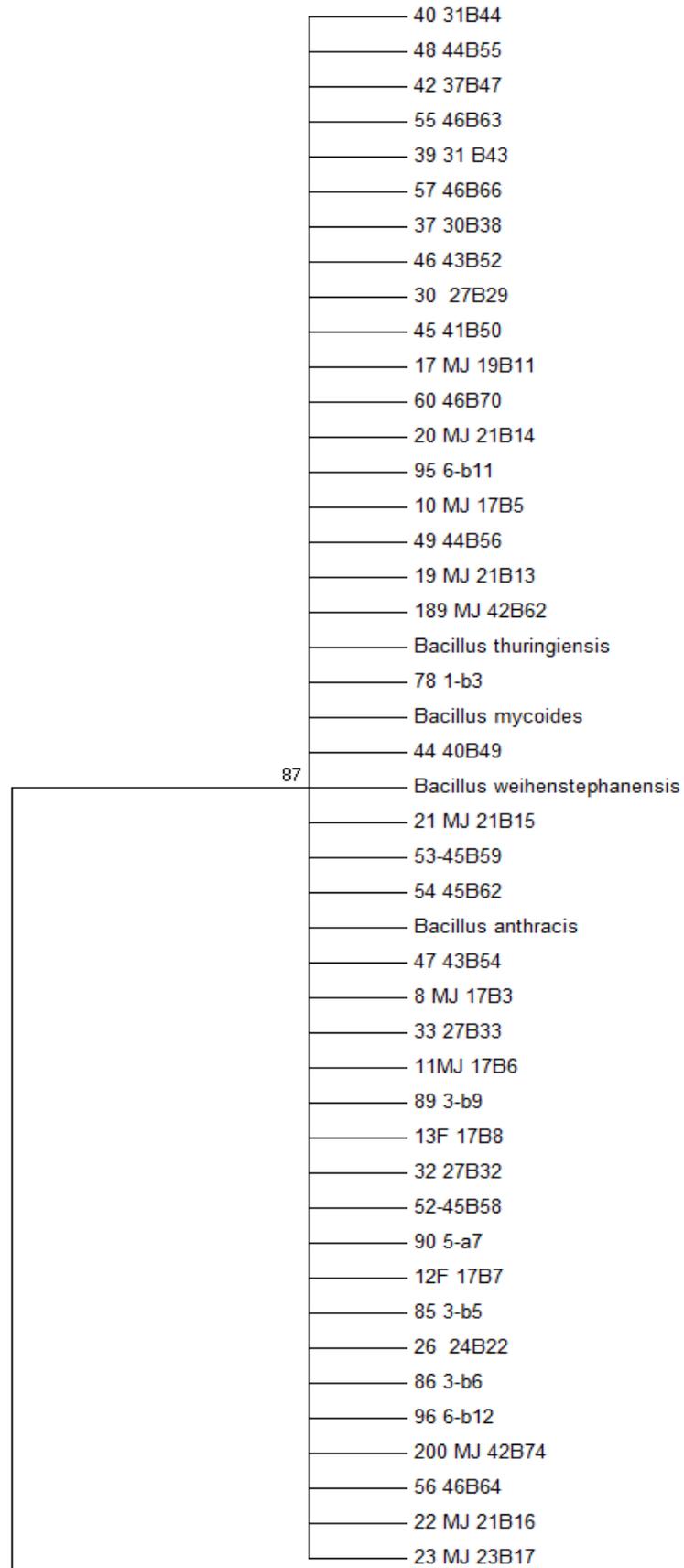
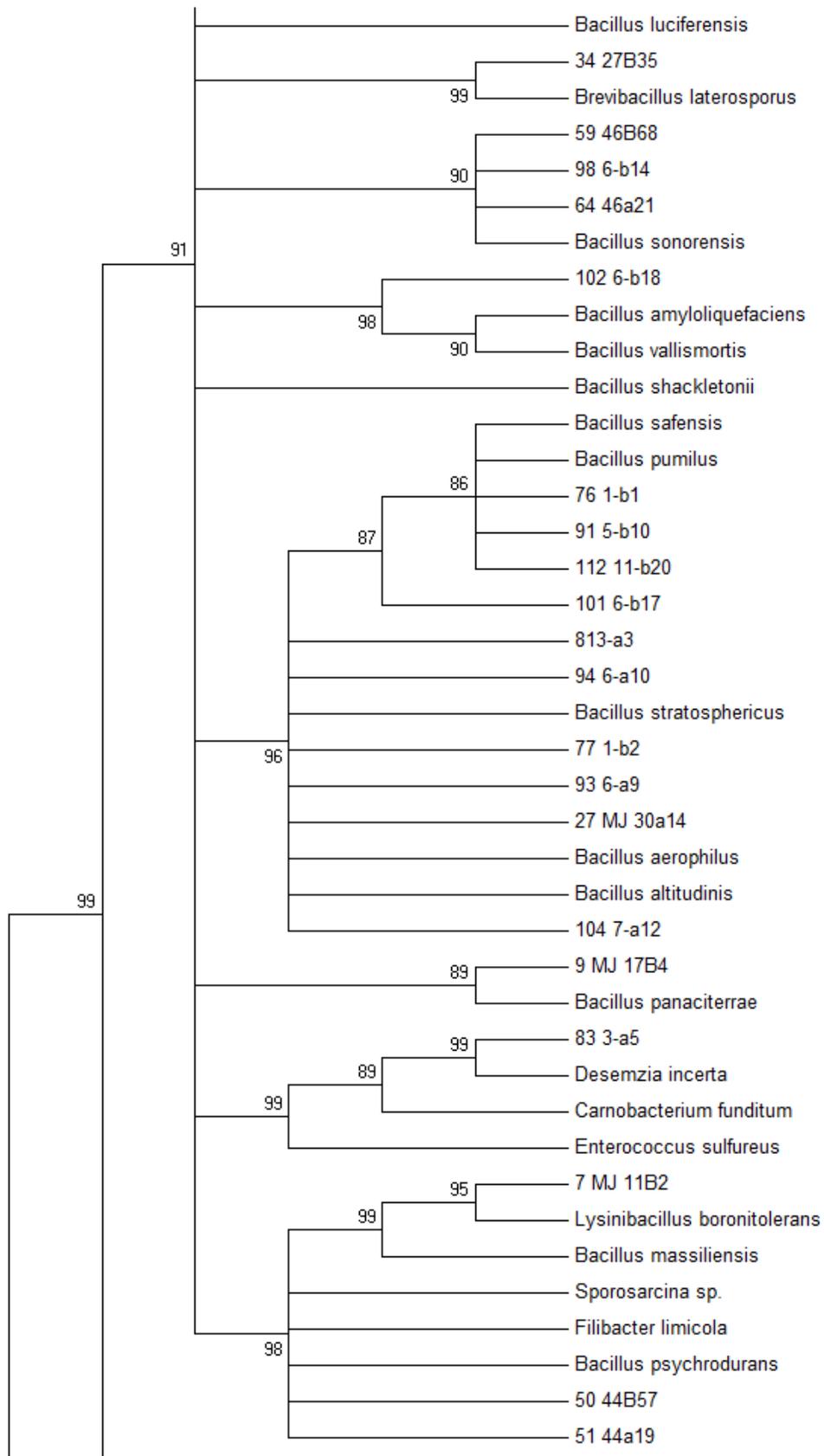


Figura 26. Géneros de las bacterias y la frecuencia con la que se encontraron.





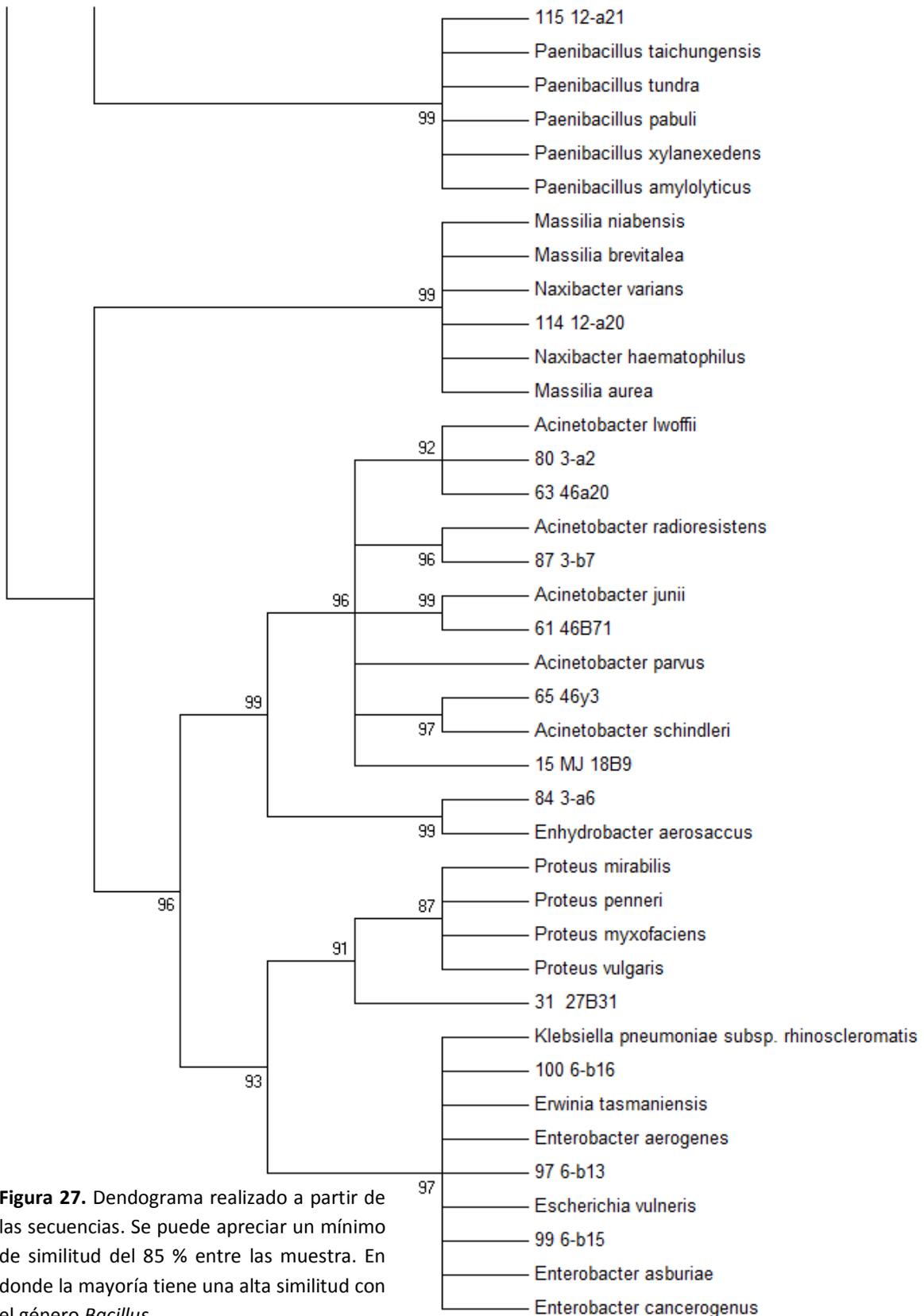


Figura 27. Dendrograma realizado a partir de las secuencias. Se puede apreciar un mínimo de similitud del 85 % entre las muestra. En donde la mayoría tiene una alta similitud con el género *Bacillus*.

11. DISCUSIÓN

No existe un método ideal para el muestreo del aire, por lo que para elegir uno se debe considerar qué queremos investigar y en función a esto se elige el adecuado. En este trabajo se han utilizado dos métodos, el de gravedad y el de impacto. El de gravedad a pesar de haber sido empleado por primera vez hace 26 años sigue siendo de gran utilidad, ya que permite identificar los microorganismos viables. Sin embargo no es cualitativa ni cuantitativamente exacto porque detecta, principalmente, los microorganismos que más persisten en el aire y de mayor tamaño (De la Rosa *et al.*, 2000).

Es importante señalar que uno de los avances realizados en la última década ha sido la identificación de las bacterias por métodos de biología molecular, el análisis de las secuencias de nucleótidos del gen del ARN ribosómico 16S (ADNr 16S), que ha surgido como el mejor método para la identificación de diversas muestras, pues permite establecer las relaciones filogenéticas existentes y clasificar un aislado de manera rápida y precisa (Rodicio y Mendoza, 2004; Fahlgren *et al.*, 2010).

El secuenciamiento del gen 16S o de algunas de sus regiones variables es una técnica fácil de realizar aunque esta no reemplaza los métodos de identificación bioquímica las cuales son muy útiles para la descripción de las especies, ofrece la oportunidad de identificar de una forma rápida y precisa las muestras de diversos organismos incluyendo microorganismos no cultivables, y la elucidación de sus relaciones naturales, en este caso nos referimos a las bacterias. Aunque uno de sus mayores inconvenientes tiene que ver con el costo, el 16S se ha convertido en el patrón de referencia de la taxonomía bacteriana, tiene unos 1,500 nucleótidos de longitud, y en su secuencia existen unas porciones conservadas y otras variables y específicas de cada especie (Clarridge, 2004).

Hoy día, la taxonomía bacteriana utiliza métodos de biología molecular y al aplicarlos algunas de las especies admitidas hasta ahora por sus características fenotípicas (morfología y fisiología) están siendo clasificadas de nuevo en *taxa* distintos, al demostrarse que la secuencia del 16S no correspondía con la de su grupo taxonómico. El elevado grado de conservación evolutiva del 16S lo hace muy útil para realizar estudios genéticos a nivel de especie, o por encima de este nivel

(géneros o familias). Sin embargo, no se pueden identificar adecuadamente subespecies o tipos (biotipos o serotipos). A veces, incluso, puede darse el caso de que dos especies admitidas actualmente no puedan diferenciarse por su 16S (por ejemplo *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli*), en cuyo caso debe recurrirse a realizar pruebas adicionales de diferenciación bioquímica, pruebas de catalasa, de reducción de nitratos entre otros (Clarridge, 2004).

La identificación de los microorganismos en el presente estudio se considera una aportación importante, ya que actualmente no se cuenta con la información sobre el tipo de bacterias presentes en la ZMVM y los estudios realizados en México sobre este tema son muy escasos, la mayoría se centran en fábricas donde los bioaerosoles pueden afectar a los trabajadores por su exposición constante en un ambiente cerrado, como el estudio de Castañeda *et al.* que en el 2006 identificaron los bioaerosoles presentes en una fábrica de zapatos localizada en Puebla.

El aire ha sido reconocido como una vía importante para el movimiento de organismos de un punto geográfico a otro. Sin embargo, se suele suponer que la atmósfera no es un hábitat en sí misma, sino simplemente un medio de transporte para la vida terrestre y acuática por lo que cientos de miles de células microbianas individuales pueden existir en un metro cúbico de aire, representando quizás cientos de taxones únicos (Womack *et al.*, 2010). La presencia de uno u otro tipo depende de su supervivencia y su origen (suelo, agua y seres vivos). En el presente trabajo se logro demostrar que en la atmósfera de la ZMVM se pueden encontrar diferentes géneros de bacterias aerotransportadas.

En los muestreos que se realizaron en los meses de febrero a principios de junio por “solubilización en líquido” utilizando el equipo BioSampler SKC con solución salina, se pensaba que al ser un medio isotónico las bacterias lograrían mantenerse en mejor condición y con un menor estrés que al que estarían con el agua destilada estéril, ya que este provocaría que la célula se hinchara y se lisara pero en realidad eso no paso y tal vez se deba al poco tiempo que las muestras pasaban en el medio que era de 1 h, en lo que se trasladaban al laboratorio para seguir con el procedimiento. Con lo que respecta al tiempo de recolección los 60 min parecen ser los adecuados, dado que a los 30 min el equipo no tiene el tiempo suficiente para coleccionar suficientes bacterias y el extender el muestreo a los 90 min provoca una baja total de los microorganismos

colectados y esto tal vez se deba al estrés al cual se someten dentro del equipo a causa del impacto y el movimiento, además de que la temperatura conforme pasa el tiempo comienza a descender y a los 90 min el equipo alcanza una temperatura de 17 a 15° C, 10° C menos de la temperatura promedio que se registraba en la hora del muestreo.

Sin embargo no fue suficiente el número de bacterias colectadas para lograr una extracción de ADN y esto se debe a que las zonas muestreadas no resultaron ser las indicadas. Puesto que el equipo solo se ha utilizado en lugares con mayor contaminación como en el estudio realizado por Heinonen et al. en 2009 donde se logró determinar las concentraciones de microorganismos cultivables en 7 plantas de tratamiento de aguas residuales en Finlandia con dos muestreadores: el BioSampler y el impactador en 6 etapas Andersen. Sin embargo, aunque en el presente estudio se implementaron las mismas condiciones de uso del BioSampler no nos fue posible obtener ADN del medio de recolección y podemos concluir que no fue por mal manejo del equipo o de la técnica de extracción de los ácidos nucleicos, este resultado se debe a que la zona muestreada no fue la ideal ya que se requiere un sitio en el que se concentren una mayor cantidad de bacterias, pero anteriormente ya se explicó la razón por la cual estas zonas fueron elegidas.

Otro punto a destacar es que de los únicos estudios como el de Heinonen *et al.* en el 2009, donde se ha utilizado el equipo para el muestreo de bioaerosoles, no muestran resultados de extracciones de ADN directo del BioSampler, lo que en ellos realiza es la siembra del medio sobre medio de cultivo y de ahí extraen el ADN. Hecho que es importante resaltar, pues lo que se trato de hacer en este trabajo, fue lograr la extracción directo del medio y sin ayuda de ningún otro método. Un aspecto favorable a pesar de que no se logro la obtención de los ácidos nucleídos, si se obtuvieron las condiciones para futuros muestreos en una zona diferente, con los cuales muy probablemente se logre el objetivo de identificar a los microorganismos sin necesidad de tener que sembrar el medio de recolección en algún medio de cultivo.

Entre los meses de junio y julio se muestrearon 50 puntos de la ZMVM por el método de sedimentación por gravedad en medio GS y se realizaron 250 aislamientos y tinciones de Gram. Por lo que respecta a la morfología y Gram de las bacterias procesadas, era de esperar que las Gram positivas prevalecieran sobre las Gram negativas. Debido, seguramente, a que son muy sensibles a la desecación y a la temperatura, contrario a las Gram positivas que cuentan con una

pared celular más gruesa y esto les permite resistir mejor el estrés al que se encuentran sometidas en las corrientes de aire (De la Rosa *et al.*, 2002). Esto coincide con lo reportado por De la Rosa *et al.* en el 2000, Fahlgren *et al.* en el 2010, Okten y Asan en el 2012 y Aydogdu *et al.* en el 2010, donde los bacilos Gram positivas fueron los más abundantes en más de 95 % de sus muestras en exteriores.

Con base a los resultados del trabajo realizado se puede establecer que de los microorganismos seleccionados han predominado los bacilos Gram positivas, si bien entre ellos se encuentran algunos de los patógenos más agresivos para el ser humano, la gran mayoría de las especies bacterianas de este grupo no son patógenos primarios y muchos forman parte de la flora normal del cuerpo humano (piel, tracto gastrointestinal, cavidad oral) que se encuentran ampliamente distribuidos en el ambiente (Fang *et al.*, 1996).

A pesar de haber descartado 26 de los 100 secuenciamientos que se realizaron, es muy probable que dentro de estas muestras que no fueron tomadas en cuenta para formar parte del dendograma, estuvieran dentro de algunos de los géneros que se encontraron, pues como se vio en el dendograma de las 74 muestras que se utilizaron, varias de ellas formaron parte de un mismo grupo.

De los resultados que se lograron obtener, el 77 % pertenece al género *Bacillus*, el 6 % al *Acinetobacter*, el 4 % al *Enterobacter*, el 3 % al *Paenisporsarcina* y el 1 % para cada uno de los siguientes géneros: *Brevibacillus*, *Desemzia*, *Massilia*, *Paenibacillus*, *Proteus* y *Enhydrobacter*, estas son bacterias que forman parte de la micropoblación normal del hombre y que pueden pasar fácilmente a la atmósfera (De la Rosa *et al.*, 2002). Estos datos coinciden con los reportados en el verano del 2007 por Domínguez *et al.* Donde se encontró que en la Ciudad de México la mayoría de las bacterias del aire pertenecían a los géneros *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Planococcus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Pantotea* y *Enterobacter* y con los reportados por Pérez M. en el 2012, quien logro identificar algunas bacterias que son aerotransportadas dentro de la ZMVM, donde el género *Bacillus*, representa la mayoría de las muestras analizadas, seguido por los géneros *Enterococcus*, *Lysinibacillus* y *Mycobacterium*.

Los dos estudios mencionados anteriormente, junto con los datos del presente trabajo, forman parte de un conjunto de datos que se han colectado desde el año 2007 en el Laboratorio de Genómica Ambiental del Departamento de Genética y Biología Molecular del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Unidad Zacatenco. Algunos de los puntos de muestreo se han mantenido pero también se han establecido nuevos sitios para tratar de cubrir de una mejor forma la ZMVM.

Un punto a destacar es que se presentaron lluvias en la mayor parte de la ZMVM un día antes del muestreo de junio y a esto se le atribuye la disminución de bacterias colectadas en un 26.64 %, en comparación con los resultados obtenidos en el mes de junio, esto se debe al lavado de la atmósfera el cual constituye el método de limpieza más eficaz del cual dispone la naturaleza, ya que al caer una gota de agua o copo de nieve, barren un cierto volumen de aire mediante su disolución o adherencia a las gotas o copos en el momento de su caída y así eliminan los contaminantes de la atmósfera y los deposita sobre el suelo, mares, estructuras o seres vivos (Puigcerver y Carrascal, 2008). Por lo que se puede decir que en épocas secas, la presencia de inversiones térmicas propician la acumulación de contaminantes, pero en la época de lluvias se presenta el lavado de la atmósfera que provoca una disminución considerable de los contaminantes (SIMAT, 2013).

El haber encontrado bacterias en el aire no tiene porque causar temor pues la mayoría de estas no son consideradas patógenas para el ser humano y de hecho a diario estamos expuestos a ellas, los bacilos esporulados detectados pertenecen al género *Bacillus* que se presentó con frecuencia en los tres estudios realizados en la ZMVM y fue el que predominó sobre las demás bacterias identificadas. Estas bacterias proceden del suelo y se encuentran frecuentemente en el aire exterior (De la Rosa *et al.*, 2000), la presencia de estos microorganismos indican una mayor expectativa de supervivencia en condiciones extremas, es decir, las esporas son las formas de vida con mayor supervivencia y tienen varias propiedades que contribuyen a su capacidad para sobrevivir en la atmósfera, principalmente su metabolismo bajo, por lo que no requieren nutrientes externos ni agua para mantenerse durante largos períodos de tiempo, algunas son muy ligeras e incluso contienen vacuolas de gas y otras tienen formas aerodinámicas que les permite viajar por la atmósfera (Izzeddin *et al.*, 2011), además de contar con una gran tolerancia a la radiación de luz ultravioleta (UV), a la desecación y a temperaturas elevadas. Son características

que justifican la gran cantidad de especies de este género que se encuentran en diversos hábitats (Bergey's, 1994).

Con lo que respecta a la baja presencia de los géneros *Proteus* y *Enterobacter* indicadoras de contaminación fecal que pueden constituir un riesgo significativo para la salud, posiblemente se deba a su sensibilidad a la luz ultravioleta, lo que reduce al mínimo su densidad (Setlow, 1988).

Resultados similares a este estudio, fueron reportados por Mancinelli y Shulls en las zonas urbanas de Colorado en 1978, por Fahlgren *et al*, cerca de la costa del Mar Báltico en el 2010, por Aydogdu *et al*, en la ciudad de Turquía en el mismo año, por Dybwad *et al*. en el 2012, en el trabajo de Fang *et al* en el 2007 en tres sitios urbanos de Beijing y por último los descubrimientos de Okten y Asan en el 2012 a las afueras de un hospital de pediatría en Turquía, donde revelaron que los géneros frecuentemente aislados en el aire exterior son *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, así como la presencia de *Pseudomonas*.

En los estudios realizados en interiores por De la Rosa *et al* en el 2000 en España, por Aydogdu *et al* en el 2010 en Turquía y por Rodríguez *et al* en el 2005 en Yucatán, se han encontrado bacterias donde han predominando los cocos sobre los bacilos, contrario a lo reportado para los exteriores, como es el caso del presente estudio, sin embargo las bacterias Gram positivas siguen siendo más frecuentes que las Gram negativas. Los géneros bacterianos aislados, al igual que en los exteriores han sido: *Staphylococcus* seguido por, *Micrococcus*, *Corynebacterium* y los *Bacillus*, solo que en los interiores la proporción de microorganismos esporulados ha sido baja siendo este el género usualmente encontrado en exteriores.

Muchos de los microorganismos que viven en la hidrosfera y litosfera pueden encontrarse en el aire, son microorganismos alóctonos que a causa de las corrientes de aire las sitúan en la atmósfera. El género *Bacillus* debido a su amplia versatilidad metabólica y la presencia de su estructura de resistencia, que les permite resistir las condiciones atmosféricas desfavorables para ellas (Foster, 2001; Starr, 1981), se puede encontrar en el aire y era de esperar que dicho género predominara dentro de nuestras muestras, pues de acuerdo a la hipótesis establecida la mayoría de las bacterias muestreadas pertenecerían a este género.

Estos microorganismos se han estudiado desde hace muchos años con fines industriales y agrícolas (Tejera *et al.*, 2011) y la mayoría de ellos no son considerados patógenos para el humano. Dentro del género *Bacillus*, las más importantes para el hombre desde el punto de vista clínico, son *B. anthracis* y *B. cereus*. Otros bacilos que pueden producir diferentes cuadros clínicos, dependiendo del estado inmunitario del huésped son: *B. subtilis*, *B. coagulans*, *B. megaterium* y *B. mecerans*. Pero en general no son patógenas para el ser humano y prueba de ello es que algunas de las especies de este género se han utilizado en la industria como plaguicida biológico (Granados *et al.*, 2003).

Los organismos pertenecientes al género *Acinetobacter* no son habitualmente un microorganismo peligroso, incluso las cepas hospitalarias más agresivas pueden vivir sobre nuestra piel sin producirnos la más mínima molestia. Las especies de *Acinetobacter* se encuentran ampliamente diseminadas en la naturaleza, siendo sus principales hábitats el agua y el suelo, también se ha encontrado en la comida congelada y en piel (Fang *et al.*, 1996; Baumann, 1968).

Por otro lado tenemos a las Enterobacteriaceae que son una familia de bacterias Gram negativas, no formadoras de esporas que forman parte de la microbiota del intestino (coliformes) y en algunas ocasiones podrían comportarse como patógenos, siempre y cuando aparecieran factores debilitantes en el huésped (Granados *et al.*, 2003). Algunas especies pueden vivir en tierra, en plantas o en animales acuáticos. Sucumben con relativa facilidad a desinfectantes comunes, incluido el cloro (Bright y Gerba).

Los resultados de este trabajo indican que en la atmósfera de la ZMVM, es posible atrapar una variedad de bacterias con un fenotipo de α y β -hemólítico generalmente asociado a bacterias patógenas para los humanos, sin embargo esto no representa un riesgo a la salud, dado que para el desarrollo de una enfermedad están involucrados diversos factores como el sistema inmune del individuo, la virulencia del microorganismo y la concentración de bacterias que se encuentran en la zona.

12. CONCLUSIONES

De los dos muestreos realizados con el método de sedimentación por gravedad, se obtuvieron 8,429 UFC y en junio se obtuvo una menor cantidad, este hecho se lo atribuimos a las lluvias que se presentaron un día anterior al muestreo en la mayor parte de los puntos seleccionados y por lo tanto al lavado de la atmósfera.

La mayor cantidad de las bacterias secuenciadas que se obtuvieron durante los muestreos realizados en junio y julio son del género de *Bacillus* con el 77 % del total de las muestras.

A pesar de haber encontrado una gran cantidad de bacterias en el aire, esto no representa un problema para la salud del hombre, puesto que los géneros colectados no son considerados patógenos en individuos clínicamente sanos.

Con lo que respecta al muestreo con el BioSampler se necesitan realizar más muestreos en zonas con un mayor índice de contaminación, pero con los resultados obtenidos durante el desarrollo del trabajo se puede concluir que el agua destilada estéril es un buen medio de recolección pues no monstro diferencia con el medio LB y por lo que respecta a costos el agua es la mejor opción y en cuanto al tiempo de muestreo es preferible que este no exceda los 60 min, puesto que la temperatura del medio de recolección baja muy rápidamente y entre más dure el muestreo, las bacterias estarán sometidas a un mayor estrés.

13. RECOMENDACIONES

1. Utilizar el BioSampler SKC en alguna zona donde los niveles de contaminación sean elevados con las mismas condiciones en las que se trabajaron para poder obtener ADN directo del medio de recolección.
2. Terminar de secuenciar las muestras y realizar un dendograma de todas las muestras procesadas y compararlas con los estudios anteriormente realizados en el laboratorio de Genómica Ambiental.

14. REFERENCIAS

- An H, Mainelis G, Yao M. (2004). Evaluation of a high-volume portable bioaerosol sampler in laboratory and field environments. *The International Journal of Indoor Environment and Health*. *Indoor Air* 14(6): 385–393.
- Angenent L, Kelley S, Amand A, Pace N, Hernandez M. (2005). Molecular identification of potential pathogens in water and air of a hospital therapy pool. *Proceedings of the National Academy of Science* 102(13): 4860–4865.
- Avila J T, de Vera A M, Hernández C, Vasallo P M. (1995). *Biología Molecular en Nefrología Análisis del DNA. II: Clonar, secuenciar y PCR*. *Nefrología* 15(2): 31-43.
- Aydogdu H, Asan A, Tatman O M. (2010). Indoor and outdoor airborne bacteria in child day-care centers in Edirne City (Turkey), seasonal distribution and influence of meteorological factors. *Environmental Monitoring and Assessment* 164(1): 53-66.
- Baker G C, Smith J J, Cowan D A. (2003). Review and re-analysis of domain-specific 16S primers. *Journal of Microbiological Methods* 55(3): 541– 555.
- Baumann P. (1968). Isolation of *Acinetobacter* from soil and water. *Journal Bacteriol* 96(1): 39-42.
- Bergey's. (1994). *Manual of Systematic Bacteriology*. 9na edición. Ed Baltimore London. 1105-39.
- Bou G, Olmos A, García C, Sáez Nieto J, Valdezate S. (2011). Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 29(8): 601–608.
- Bright K y Gerba C. La participación de la descarga del inodoro en la distribución de patógenos y su contribución en el incremento del riesgo de enfermedades. *The University of Arizona*.

- Caballero S B, Romero G E, Reyes G L. (2008). Bioaerosoles transportados por agua de lluvia en el valle de Toluca caracterizados por microscopía electrónica de barrido. XI Congreso Nacional de Microscopía en Guanajuato, Guanajuato.
- Clarridge J E. (2004). Impact of 16S rRNA Gene Sequence Analysis for Identification of Bacteria on Clinical Microbiology and Infectious Diseases. *Clinical Microbiology* 17(4): 840–862.
- Castañeda R E, Morales P M, Avelino F F, Chávez B E, Espinosa T A, Morales T E. (2006). Cuantificación de bioaerosoles en las áreas de proceso de una industria zapatera poblana y su relación con la salud de los trabajadores. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología* 26(1).
- COESPO, Consejo Estatal de Población. Zonas Metropolitanas del Estado de México. 2010. <http://portal2.edomex.gob.mx/coespo/index.htm>. Revisada el 28 de noviembre del 2012.
- Costa J. (2004). Real-time PCR. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica* 22(5): 299-304.
- De la Rosa M C, Ullán C, Prieto M P, Mosso O. (2000). Calidad microbiológica del aire de una zona limpia en una industria farmacéutica. *Anales de la Real Academia de Farmacia* 66(2): 1-15.
- De la Rosa M, Mosso O, Ullán C. (2002). El aire: hábitat y medio de transmisión de microorganismos. *Observatorio Medioambiental* 5: 375-402.
- Domínguez M L, Cervantes G E, Garcia R J, Torre M A, Rojas A N, García M J. Study of the microbial diversity of outdoor bioaerosoles of México City. *Progress in Environmental Science and Technology, Proceedings of the 2007 International Symposium on Environmental Science and Technology Beijing China, November 13-16, 2007*.
- Dungan R, Leytem A. (2009). Qualitative and quantitative methodologies for determination of airborne microorganisms at concentrated animal-feeding operations. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 25(9): 1505–1518.

- Dybwad M, Granum P E, Bruheim P, Blatny JM. (2012). Characterization of Airborne Bacteria at an underground subway station. *Applied and Environmental Microbiology* 78(6): 1917–1929.
- Fabian M, Miller S, Reponen T, Hernandez M (2005) Ambient bioaerosol indices for indoor air quality assessments of flood reclamation. *Journal of Aerosol Science* 36(5): 763–783.
- Fahlgren C, Hagstrom A, Nilsson D, Zweifel U L. (2010). Annual Variations in the Diversity, Viability, and Origin of Airborne Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 76(9): 3015-3025.
- Fang F C, Madinger E N. (1996). Resistant nosocomial gram-negative bacillary pathogens: *Acinetobacter baumannii*, *Xanthomonas maltophilia* and *Pseudomonas cepacia*. *Current clinical topics in infectious diseases* 16(1): 52-83.
- Fang Z, OuyangZ, Zheng H, Wang X, Hu L. (2007). Culturable Airborne Bacteria in Outdoor Environments in Beijing, China. *Microbial Ecology* 54(3): 487-496.
- Foster A. (2001). Magazine: Analysis of the role of bacterial endospore cortex structure in resistance properties and demonstration of its conservation amongst species. Department of Molecular Biology and Biotechnology, University of Sheffield, UK 91(2): 364-72.
- Frioni L. (1999). Procesos Microbianos. Fundación Universidad Nacional de Río Cuarto. Argentina.
- García M J. (2012). Las bacterias aerotransportadas de la región más transparente del aire. Muestra de proyectos ambientales de tu ciudad. Instituto de Ciencia y Tecnología del Distrito Federal.
- Granados P R, Villaverde P M. (2003). Microbiología, Bacteriología, características y clasificación bacteriana, Virología características y técnicas bioquímicas. Pararaninfo. España. 351-353.
- Heinonen T H, Reponen T, Koivunen J. (2009). Airborne enteric coliphages and bacteria in sewage treatment plants. *Water Research* 43(9): 2558-2566.

Hernández L R, Velázquez S I, Solís G G, Martínez T M, Santoyo G. (2010). Actividades hemolíticas en una biblioteca metagenómica de rizósfera de trigo (*Triticum aestivum* L.). *Biológicas* 12(1): 28-32.

ICAVM, Informe climatológico ambiental del valle de México. (2003). Gobierno del Distrito Federal, Secretaria del Medio Ambiente. México, D.F.

ICAVM, Informe climatológico ambiental del valle de México. (2006). Gobierno del Distrito Federal, Secretaria del Medio Ambiente. México, D.F.

Izzeddin A. N, Rojas F. T, Medina T L. (2011). Evaluación de bioaerosoles en ambientes de centros de salud de la ciudad de Valencia, Venezuela. *Kasmera* 39(1): 59-67.

Lezama J, Graizbord B. (2010). Los grandes problemas de México; Medio ambiente. El Colegio de México. México, D.F. 427-430.

Licdo O C. (2007). La tinción de Gram como herramienta de uso diario en el diagnóstico precoz de algunos patógenos. *Revista del Hospital del niño* 23(2): 140-146.

Lin X, Reponen T, Willeke K, Wang Z, Grinshpun S, Trunov M. (2000). Survival of airborne microorganisms during swirling aerosol collection. *Aerosol Science and Technology*. 32(3): 184-196.

Mancinelli R L, Shulls W A. (1978). Airborne bacteria in an urban environment. *Applied and Environmental Microbiology* 35(6): 1095-1101.

Martínez A E, Díaz de Mera M Y. (2004). Contaminación atmosférica. Universidad de Castilla La Mancha. España. 15.

Monedero S M, Aguilar M I, Fenoll R y Roig A. (2007). Generación de bioaerosoles en estaciones depuradoras de aguas residuales *Ingeniería* 11 (1): 37-42.

- Okten S, Asan A. (2012). Airborne fungi and bacteria in indoor and outdoor environment of the Pediatric Unit of Edirne Government Hospital. *Environmental Monitoring and Assessment* 184(3): 1739-1751.
- Pérez Muñoz A A. (2012). “Identificación de la Diversidad Bacteriana en Bioaerosoles de la Atmósfera Baja en Zona Metropolitana del Valle de México”. Tesis de Licenciatura. Instituto Tecnológico de Celaya departamento de Ingeniería Bioquímica. Impresa.
- Puigcerver M, Carrascal M D. (2008). *El Medio Atmosférico: Meteorología y Contaminación*. Universidad de Barcelona. 31-32.
- Rodicio M, Mendoza M. (2004). Identificación bacteriana mediante secuenciación del ARN 16S: fundamento, metodología y aplicaciones en microbiología clínica. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* 22(4):238-245.
- Rodríguez S, Sauri M, Peniche I, Pacheco J, Ramírez J. (2005). Bioaerosols in the municipal solid waste treatment and disposal area of Merida, Yucatan. *Ingeniería* 9(3):19-29.
- Rosas I, Cravioto A, Ezcurra E. (2004). *Microbiología ambiental*, México D.F, Secretaría de Medio Ambiente y Recursos naturales, Instituto Nacional de Ecología. 1-42.
- Sánchez M M, Roig A, Cayuela M, Stentiford E. (2006). Emisión de bioaerosoles asociada a la gestión de residuos orgánicos. *Ingeniería Revista Académica* 10(1):39-47.
- Sánchez M M, Aguilar M, Fenoll R, Roig A. (2007). Generación de bioaerosoles en estaciones depuradoras de aguas residuales. *Ingeniería Revista Académica* 11(1):37-42.
- Sauka H D, Benintende B G. (2008). *Bacillus thuringiensis*: generalidades. Un acercamiento a su empleo en el biocontrol de insectos lepidópteros que son plagas agrícolas. *Revista Argentina de Microbiología* 40(2):124-140.

- Setlow, P. 1988. Resistance of bacterial spores to ultraviolet light. *Comments Mol. Cell. Biophys.* 5: 253-264.
- SIMAT. Sistema de Monitoreo Atmosferico, Ciudad de Mexico. 2013. www.calidadaire.df.gob.mx
- Smith L, Sandlers J, Kaiser R, Hughes P, Dodd C, Connell C, Heiner C, Kent S, Hood L. (1986). Fluorescence detection in automated DNA sequence analysis. *Nature* 321(1):64-69.
- Soumitesh C J. (2007). A detailed analysis of 16S ribosomal RNA gene segments for the diagnosis of pathogenic bacteria. *Microbiological Methods* 69(2):330–339.
- Srikanth P, Sudharsanam S, Steinberg R. (2008). Bio-aerosols in indoor environment: Composition, health effects and analysis. *Indian Journal of Medical Microbiology* 26(4):302-12.
- Stanier R Y, Ingraham J L, Wheelis M L, Painter P R. (1988). *Microbiología*. 2da Edición. Ed. Reverté. España.
- Starr M. (1981). *The Prokaryotes*. 2da edición. Springer-Verlag, Berlín Heidelberg. 1106-2284.
- Tejera H B, Rojas B M, Heydrich P M. (2011). Potencialidades del género *Bacillus* en la promoción del crecimiento vegetal y el control biológico de hongos fitopatógenos. *CENIC Ciencias Biológicas* 42(3):131-138.
- Tellier R. (2009). Aerosol transmission of influenza A virus: a review of new studies. *Journal of the Royal Society Interface* 9(6):783–790.
- Brown T. (2008). *Genomas*. Médica Panamericana. 3ª edición. Buenos aires. 106-135.
- Thomas R, Webber D, Sellors W, Collinge A, Frost A, Stagg A, Bailey S, Jayasekera P. (2008). Characterization and deposition of respirable large- and small-particle bioaerosols. *Applied and Environmental Microbiology* 74(20):6437–6443.

Tortora J, Funke B, Case B. (2007). Introducción a la microbiología. Médica Panamericana. Buenos aires 9na ed. 313-338.

Vélez P A, Camargo C Y. (2008). Comportamiento aerodinámico y viabilidad de las partículas biológicas. RE´TAKVN 1(1):44-56.

Womack A M, Bohannan B J, Green J L. (2010). Biodiversity and biogeography of the atmosphere. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences. 365, 3645–3653.

15. APÉNDICE

Apéndice 1

Aquí se presentan las secuencias depuradas con un tamaño de 465 pb, de las muestras que se colectaron durante el verano del 2012 y que fueron utilizadas para la generación del dendograma.

>7 MJ 11B2

```
CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGGCGAAAGCCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTCGG
ATCGTAAAACCTCTGTTGTAAGGGAAGAACAAGTACAGTAGTAAGTGGCTGTACCTTGACGGTACCTTATTAGAAAGCCACGGCTAAC
TACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTTCTTAAAG
TCTGATGTGAAAGCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCACTTGGAAACTGGGGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGAATTCCAA
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATTTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCCGCGAAA
GCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG
```

>8 MJ 17B3

```
CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTCGG
GTCGTAAAACCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACCCAGAAAGCCACGGCTAA
CTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGTGGTTTTCTTAA
GTCTGATGTGAAAGCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCACTTGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGAATTCCAT
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCCGCGAAA
GCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG
```

>9 MJ 17B4

```
CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTCGG
GTCGTAAAACCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACCCAGAAAGCCACGGCTAA
TACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGTGGTTTTCTTAA
TCTGATGTGAAAGCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCACTTGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGAATTCCAT
TGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTTTTTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCCGCGAAA
GCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG
```

>10 MJ 17B5

```
CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTCGG
GTCGTAAAACCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACCCAGAAAGCCACGGCTAA
CTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGTGGTTTTCTTAA
GTCTGATGTGAAAGCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCACTTGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGAATTCCAT
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCCGCGAAA
GCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG
```

>11 MJ 17B6

```
CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTCGG
GTCGTAAAACCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACCCAGAAAGCCACGGCTAA
CTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGTGGTTTTCTTAA
GTCTGATGTGAAAGCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCACTTGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGAATTCCAT
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCCGCGAAA
GCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG
```

>12 F 17B7

```
CTCCTACGGGAGGCAGCAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTCGG
GTCGTAAAACCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACCCAGAAAGCCACGGCTAA
CTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGTGGTTTTCTTAA
GTCTGATGTGAAAGCACACGGCTCAACCGTGGAGGGTCACTTGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGAATTCCAT
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCCGCGAAA
GCGGGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG
```

“Estudio de la diversidad de las bacterias aerotransportadas en la atmósfera baja de la Zona Metropolitana del Valle de México.”

>13F 17B8

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTCCG
GTCGTAAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACAGAAAGCCACGGCTAAC
TACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCAGGTGGTTTCTTAAG
TCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCAATTGAAAAGTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGAATCCATG
TGAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACTGAGGCGCGAA
GCGTGGGAGCAAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>15 MJ 18B9

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGGGAAACTTGATCCAACCATGCCGCGTGTGTAAGAAGGCTTTTG
GTTGTAAAGCACTCTAAGCGAGGAGGAGGCTACCGAGATTAATACTCTGGATAGTGGACGTTACTCGCAGAATAAGCACCGGCTAA
CTCTGTGCCAGCAGCCGCGTAATACAGAGGGTCAAGCGTTAATCGGATTTACTGGCGTAAAGCGCGCAGGCGGCAATTA
GTCAAATGTGAAATCCCGAGCTTAACCTGGGAATTGCATTGATGACTGGCGGCTAGAGTATGGGAGAGGAAAGTGAATCCAG
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGATGGCGAAGGCGCCATCTGGCCAAAGACTGACTCTGACGTGCGAG
AGCGTGGAGAGCAAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>17 MJ 19B11

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTCCG
GTCGTAAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACAGAAAGCCACGGCTAA
CTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCAGGTGGTTTCTTAA
GTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCAATTGAAAAGTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGAATCCAT
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACTGAGGCGCGAA
GCGTGGGAGCAAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>19 MJ 21B13

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTCCG
GTCGTAAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACAGAAAGCCACGGCTAA
CTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCAGGTGGTTTCTTAA
GTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCAATTGAAAAGTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGAATCCAT
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACTGAGGCGCGAA
GCGTGGGAGCAAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>20 MJ 21B14

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCCAATGGACGAAGTCTGACGGAGCACGCCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTCCGG
TCGTAAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACAGAAAGCCACGGCTAA
TACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCAGGTGGTTTCTTAA
TCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCAATTGAAAAGTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGAATCCATG
TGAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACTGAGGCGCGAAAG
CGTGGGAGCAAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>21 MJ 21B15

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTCCG
GTCGTAAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACAGAAAGCCACGGCTAA
CTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCAGGTGGTTTCTTAA
GTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCAATTGAAAAGTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGAATCCAT
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACTGAGGCGCGAA
GCGTGGGAGCAAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>22 MJ 21B16

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAAGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTCCGG
TCGTAAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACAGAAAGCCACGGCTAA
CTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCAGGTGGTTTCTTAA
GTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCAATTGAAAAGTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGAATCCAT
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTTTGGTCTGTAAGTACTGAGGCGCGAA
GCGTGGGAGCAAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

**“Estudio de la diversidad de las bacterias aerotransportadas en la atmósfera baja de la Zona
Metropolitana del Valle de México.”**

>23 MJ 23B17

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTCGG
GTCGTA AAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACAGAAAAGCCACGGCTAA
CTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTAGGCGTAAAGCGCGCAGATGGTTCTCTAA
GTCTGATGTGAATCAACTCGGCTCAACCTGTAGCACCATTGGTACCTGGGAGACCTGAGTGTAAGAATAAGCGGAACCTCTGGG
GTGGTGGCAACTGTGTAGTGATACGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACTGAGGCGCGAAAGC
GTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>26 24B22

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGGCACGCCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTCGGGT
CGTAAAACCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACAGAAAAGCCACGGCTAACT
ACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCAGGTGGTTCTTAAAGT
CTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCTTGGAACTGGGAGACTTGAGTGACAGAAGAGGAAAAGTGAATTCCATGT
GTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACTGAGGCGCGAAAG
CGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>27 MJ 30a14

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGG
ATCGTAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGAAGAGTAAGTCTGACCTTGACGGTACCTAACAGAAAAGCCACGGCTAAC
TACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTCTTAAAG
TCTGATGTGAAAGCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCAATTGGAACTGGGAACTTGAGTGACAGAAGAGGAGAGTGGAATCCAC
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGACTCTCTGGTCTGTAAGTACTGAGGAGCGAA
AGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>30 27B29

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTCGG
GTCGTA AAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACAGAAAAGCCACGGCTAA
CTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCAGGTGGTTCTTAA
GTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCAATTGGAACTGGGAGACTTGAGTGACAGAAGAGGAAAAGTGAATCCAT
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACTGAGGCGCGAA
GCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>31 27B31

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATTATTGCCAATGGGGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGATATAAGAAGGCCTTAG
GGTTGTAAGTACTTTACGCGGGGAGGAAGGTGATAAGGTTAATACCCTTCAATTGACGTTACCCGACAGAAGAAGCCCCGGCTAA
CTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGTCAAGCGTTATCCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGAGGCGGTCAATTA
GTCAGATGTGAAAGCCCCGAGCTTAACCTGGGAATGGCATCTGAAACTGGTAGGCTAGAGTGTAGTAGAGGGGGTGAATCCAT
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAA
AGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>32 27B32

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAGCCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTCGGGT
CGTAAAACCTCTTTCTTAGGGAAGAACAAGTACTAGTTGAATAACCTGGCCCTTGACGGTACCTAACAGAAAAGCCCGGCTAACT
CGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCAGGTGGTTTCTTAAAGT
AGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCAATTGGAACTGGGAGACTAGAGTGACAGAAGAGGAAAAGTGAATCCATGT
GTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAAGGGGGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAACGGACACTGAGGCGCGAA
GCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>33 27B33

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAGCCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTCGGGT
CGTAAAACCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACAGAAAAGCCACGGCTAACT
ACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCAGGTGGTTTCTTAAAGT
CTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCAATTGGAACTGGGAGACTTGAGTGACAGAAGAGGAAAAGTGAATCCATGT
GTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACTGAGGCGCGAAAG
CGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>34 27B35

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATTTCCACAATGGACGAAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAACGATGAAGGCTTTCCGG
GTCGTAAAAGTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTCTAGTTAAATAAGGTAGCACCTTGACGGTACCTAACGAGAAAGCCACGGCTAA
CTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGTGGCTATGTAA
GTCTGATGTTAAAGCCGAGGCTCAACCTCGTTTCGATTGAAACTGTGTAGCTTGTAGTGCAGGAGAGGAAAGTGGTATTCCACGT
GTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGCTGTAAGTACACTGAGGCGCGAAAG
CGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>37 30B38

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAAGTGAAGGCTTTCCGG
GTCGTAAAAGTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACGAGAAAGCCACGGCTAA
CTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGTGGTTCCTAA
GTCTGATGTGAAAGCCACGGCTCAACCTGGAGGGTCAATGGAACTGGGAGACTTGTAGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAAATCCAT
GTGTAGCGGTGAAANGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACACTGAGGCGCGAA
AGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>39 31 B43

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAAGTGAAGGCTTTCCGG
GTCGTAAAAGTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACGAGAAAGCCACGGCTAA
CTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGTGGTTCCTAA
GTCTGATGTGAAAGCCACGGCTCAACCTGGAGGGTCAATGGAACTGGGAGACTTGTAGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAAATCCAT
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACACTGAGGCGCGAA
GCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>40 31B44

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAAGTGAAGGCTTTCCGG
GTCGTAAAAGTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACGAGAAAGCCACGGCTAA
CTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGTGGTTCCTAA
GTCTGATGTGAAAGCCACGGCTCAACCTGGAGGGTCAATGGAACTGGGAGACTTGTAGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAAATCCAT
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACACTGAGGCGCGAA
GCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>42 37B47

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAAGTGAAGGCTTTCCGG
GTCGTAAAAGTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACGAGAAAGCCACGGCTAA
CTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGTGGTTCCTAA
GTCTGATGTGAAAGCCACGGCTCAACCTGGAGGGTCAATGGAACTGGGAGACTTGTAGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAAATCCAT
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACACTGAGGCGCGAA
GCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>44 40B49

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAAGTGAAGGCTTTCCGG
GTCGTAAAAGTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACGAGAAAGCCACGGCTAA
CTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGTGGTTCCTAA
GTCTGATGTGAAAGCCACGGCTCAACCTGGAGGGTCAATGGAACTGGGAGACTTGTAGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAAATCCAT
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACACTGAGGCGCGAA
GCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>45 41B50

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGAATGGACGATAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAAGTGAAGGCTTTCCGG
GTCGTAAAAGTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACGAGAAAGCCACGGCTAA
CTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGTGGTTCCTAA
GTCTGATGTGAAAGCCACGGCTCAACCTGGAGGGTCAATGGAACTGGGAGACTTGTAGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAAATCCAT
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACACTGAGGCGCGAA
GCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

**“Estudio de la diversidad de las bacterias aerotransportadas en la atmósfera baja de la Zona
Metropolitana del Valle de México.”**

>46 43B52

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTCGG
GTCGTAAAACCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACCCAGAAAGCCACGGCTAA
CTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCAGGTGGTTTCTTAA
GTCTGATGTGAAAGCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCACTGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGAATTCCAT
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGCCGAAGGCCACTTTCTGGTCTGTAAGTACACTGAGGCGCGAAA
GCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>47 43B54

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTCGG
GTCGTAAAACCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACCCAGAAAGCCACGGCTAA
CTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCAGGTGGTTTCTTAA
GTCTGATGTGAAAGCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCACTGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGAATTCCAT
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGCCGAAGGCCACTTTCTGGTCTGTAAGTACACTGAGGCGCGAAA
GCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>48 44B55

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTCGG
GTCGTAAAACCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACCCAGAAAGCCACGGCTAA
CTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCAGGTGGTTTCTTAA
GTCTGATGTGAAAGCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCACTGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGAATTCCAT
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGCCGAAGGCCACTTTCTGGTCTGTAAGTACACTGAGGCGCGAAA
GCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>49 44B56

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTCGG
GTCGTAAAACCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACCCAGAAAGCCACGGCTAA
CTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCAGGTGGTTTCTTAA
GTCTGATGTGAAAGCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCACTGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGAATTCCAT
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGCCGAAGGCCACTTTCTGGTCTGTAAGTACACTGAGGCGCGAAA
AGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>50 44B57

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTCCACAATGGACGAAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTTCGG
TCGTAAAACCTCTGTTGTGAGGGAAGAACAAGTACCGGAGTAACTGCCGTTACCTTGACGGTACCTCATTAGAAAGCCACGGCTAAC
ACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATCATTGGGCGTAAAGCGCGCAGGTGGTTTCTTAA
CTGATGTGAAAGCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCACTGGAAACTGGGGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGCGGAATTCCAAG
TGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATTTGGAGGAACACCAGTGCCGAAGGCCGCTTTCTGGTCTGTAAGTACACTGAGGCGCGAAA
CGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>51 44a19

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGAAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTCGG
ATCGTAAAACCTCTGTTGTGAGGGAAGAACAAGTACGAGAGTAACTGCCGTTACCTTGACGGTACCTCATTAGAAAGCCACGGCTAAC
TACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATCATTGGGCGTAAAGCGCGCAGGTGGTTTCTTAA
TCTGATGTGAAAGCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCACTGGAAACTGGGGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGCGGAATTCCA
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATTTGGAGGAACACCAGTGCCGAAGGCCGCTTTCTGGTCTGTAAGTACACTGAGGCGCGAAA
AGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>52-45B58

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTCGG
GTCGTAAAACCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACCCAGAAAGCCACGGCTAA
CTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCAGGTGGTTTCTTAA
GTCTGATGTGAAAGCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCACTGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGAATTCCAT
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGCCGAAGGCCAATTCTGGTCTGTAAGTACACTGAGGCGCGAAA
GCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

**“Estudio de la diversidad de las bacterias aerotransportadas en la atmósfera baja de la Zona
Metropolitana del Valle de México.”**

>53-45B59

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAATCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTTCGGG
TCGTAAAACCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACAGAAAGCCACGGCTAAC
TACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCAGGTGGTTTCTTAAG
TCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGAATCCATG
TGAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCCACTTTCTGGTCTGTAAGTACTGAGGCGCGAAAG
CGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>54 45B62

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTTCGG
GTCGTAAAACCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACAGAAAGCCACGGCTAAC
CTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCAGGTGGTTTCTTAAG
GTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGAATCCAT
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCCACTTTCTGGTCTGTAAGTACTGAGGCGCGAAAG
GCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>55 46B63

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTTCGG
GTCGTAAAACCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACAGAAAGCCACGGCTAAC
TACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCAGGTGGTTTCTTAAG
TCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGAATCCATG
TGAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCCACTTTCTGGTCTGTAAGTACTGAGGCGCGAAAG
CGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>56 46B64

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGTGCAGAAAGTCTGACGGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTTCGG
GTCGTAAAACCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACAGAAAGCCACGGCTAT
CTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCAGGTGGTTTCTTAAG
GTCTGATGTGAAAGCACACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGAATCCAT
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCCACTTTCTGGTCTGTAAGTACTGAGGCGCGAAAG
GCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>57 46B66

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTTCGG
GTCGTAAAACCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACAGAAAGCCACGGCTAAC
CTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCAGGTGGTTTCTTAAG
GTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGAATCCAT
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCCACTTTCTGGTCTGTAAGTACTGAGGCGCGAAAG
GCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>59 46B68

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGG
TCGTAAAACCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTACCGTTCGAATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACAGAAAGCCACGGCTAAC
TACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCAGGTGGTTTCTTAAG
TCTGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGAAACTGGGAACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGAATCCAC
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCCACTCTCTGGTCTGTAAGTACTGAGGCGCGAAAG
AGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>60 46B70

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTTCGG
GTCGTAAAACCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACAGAAAGCCACGGCTAAC
CTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCAGGTGGTTTCTTAAG
GTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGAATCCAT
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCCACTTTCTGGTCTGTAAGTACTGAGGCGCGAAAG
GCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>61 46B71

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGGGAAACCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTATG
GTTGTAAAGCACTTTAAGCGAGGAGGAGGCTACTGAGACTAATACTCTTGATAGTGGACGTTACTCGCAGAATAAGCACCGGCTAA
CTCTGTGCCAGCAGCCGCGTAATACAGAGGGTGCAGCGTTAATCGGATTTACTGGGCGTAAAGCGTGCCTAGGCGGCTTTTAA
GTCGGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACCTGGGAATTGCATTGATACTGGGAAGCTAGAGTATGGGAGAGGATGGTAGAATCCAG
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATCCCGATGGCGAAGGCAGCATCTGGCCTAATACTGACGCTGAGGTACGAAA
GCATGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>63 46a20

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGGGAAACCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTTTG
GTTGTAAAGCACTTTAAGCGAGGAGGAGGCTACCGAGATTAATACTCTTGATAGTGGACGTTACTCGCAGAATAAGCACCGGCTAA
CTCTGTGCCAGCAGCCGCGTAATACAGAGGGTGCAGCGTTAATCGGATTTACTGGGCGTAAAGCGCGCTAGGTGGCCAATTA
GTCAAATGTGAAATCCCCGAGCTTAACCTGGGAATTGCATTGATACTGGTTGGCTAGAGTATGGGAGAGGATGGTAGAATCCAGG
TGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGATGGCGAAGGCAGCCATCTGGCCTAATACTGACACTGAGGCGCGAAA
GCATGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>64 46a21

CTCCTACGGAAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCGCGTGTGATGAAGGTTTTCGGA
TCGTAAAACCTCTGTTGTTAGGAAGAACAAGTACCGTTTCAATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACAGAAAAGCCACGGCTA
ACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTTTTCTAAGT
CTGATGTGAAAGCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCAATTGGAACTGGGGAACCTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAAATCCACG
TGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACAGTGGCGAAGGCGACTCTCTGGTCCGTAACCTGACGCTGAGGCGCGAAA
CGGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>65 46y3

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGGAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTTTG
GTTGTAAAGCACTTTAAGCGAGGAGGAGGCTCCTTTAGTTAATACTAAAGAGAGTGGACGTTACTCGCAGAATAAGCACCGGCTAA
CTCTGTGCCAGCAGCCGCGTAATACAGAGGGTGCAGCGTTAATCGGATTTACTGGGCGTAAAGCGTGCCTAGGCGGCTTTTAA
GTCGGATGTGAAATCCCTGAGCTTAACCTAGGAATTGCATTGATACTGGAAAGCTAGAGTATGGGAGAGGATGGTAGAATCCAG
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGATGCGAAGGCAACGATCTGGCCTAACACGGACGCTGAGGTACGAAA
GCATGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>76 1-b1

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGTGATGAAGGTTTTCGG
ATCGTAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCAGAGTAAGTCTGACACCTTGACGGTACCTAACAGAAAAGCCACGGCTAAC
TACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTTCTAAG
TCTGATGTGAAAGCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCAATTGGAACTGGGAACTTGAAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAAATCCAC
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACAGTGGCGAAGGCGACTCTCTGGTCTGTAACGACGCTGAGGAGCGAA
AGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>77 1-b2

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGTGATGAAGGTTTTCGG
ATCGTAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCAGAGTAAGTCTGACACCTTGACGGTACCTAACAGAAAAGCCACGGCTAAC
TACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTTCTAAG
TCTGATGTGAAAGCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCAATTGGAACTGGGAACTTGAAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAAATCCAC
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACAGTGGCGAAGGCGACTCTCTGGTCTGTAACGACGCTGAGGAGCGAA
AGCGTGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>78 1-b3

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATAGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGTGATGAAGGCTTTTCGG
GTCGTAAAACCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACAGAAAAGCCACGGCTAA
CTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTAATCGGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGTGGTTTTCTA
GTCTGATGTGAAAGCCCCAGGCTCAACCGTGGAGGGTCAATTGGAACTGGGAGACTTGAAGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAAATCCAT
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAACGACACTGAGGCGCGAAA
CGGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

“Estudio de la diversidad de las bacterias aerotransportadas en la atmósfera baja de la Zona Metropolitana del Valle de México.”

>80 3-a2

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATTTTGACAATGGGGGACCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTTTGGT
TGTAAGCACTTTAAGCAGGAGGAGGCTACCGAGATTAATACTTTGGATAGTGGACGTTACTCGCAGAATAAGCACCGGCTAACT
CTGTGCCAGCAGCCGCGTAATACAGAGGGTGAAGCGTTAATCGGATTTACTGGGCGTAAAGCGCGCTAGGTGGCCAATTAAGT
CAAATGTGAAATCCCGAGCTTAACCTGGGAATTGCATTGATACTGGTTGGCTAGAGTATGGGAGAGGATGGTAGAATCCAGGTG
TAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGATGGCGAAGGCAGCCATCTGGCCTAATACTGACACTGAGGTGCGAAAGCA
TGGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>813-a3

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGTGAGTCTGCCGGCAGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTCGGAT
CGTAAAGCTCTGTTGTTAGGGAGAACAAGTGCAAGAGTAACTGCTTGACCTTGACGGTACCTAACCCAGAAAGCCACGGCTAGCTAC
GTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCGGAAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCT
GATGTGAAAGCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCAATTGGAACTGGGAACTTGAAGTGCAGAAAGAGAGATGGAATCCACGT
GTAGCGGTGAAATGCGTAGAGGTGTGGAGACCCAGTGGCGAAGGCGCTTCTTGTCTGTAAGTACCGGTGAGGAGCGAAAGC
GTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>83 3-a5

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTCGG
ATCGTAAACTCTGTTGTTAGAGAAGAACAAGGATGAGAGTAACTGCTCGTCCCTTGACGGTATCTAACCCAGAAAGCCATGGCTAAC
TACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGATGGCAAGCGTTGTCGGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTCTTTAAG
TCTGATGTGAAAGCCCTGGCTCAACCCAGGGAGGGTCAATTGGAACTGGGAACTTGAAGTGCAGAAAGAGGAAAGTGGAAATCCATG
TGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACCGGTGAGGCTCGAAAG
CATGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>84 3-a6

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGGGCAACCTTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTTTG
GTTGTAAAGCACTTTAAGCAGGGAGGAGAGGCTAATGGTTAATACCCATTAGATTAGACGTTACCTGCAGAATAAGCACCGGCTAAC
TCTGTGCCAGCAGCCGCGTAATACAGAGGGTGCAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGAGTGTAGGTGGCTCATTAAAG
TCACATGTGAAATCCCGGGCTTAACCTGGGAACTGCATGTGATACTGGTGGTCTAGAATATGTGAGAGGGAAGTAGAATCCAG
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGATGGCGAAGGCGACTTCTGGTCTGTAAGTACCGGTGAGGCTCGAAAG
GCGTGGGTAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>85 3-b5

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGAAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTGGG
TCGTAAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACCCAGAAAGCCACGGCTAAC
TACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCAGGTGGTTTCTTAAG
TCTGATGTGAAAGCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCAATTGGAACTGGGAGACTTGAAGTGCAGAAAGAGGAAAGTGGAAATCCATG
TGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTCTGGTCTGTAAGTACCGGTGAGGCGCGAAAG
CGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>86 3-b6

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGAAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTGGG
GTCGTAAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACCCAGAAAGCCACGGCTAAC
CTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGTGGTTTCTTAA
GTCTGATGTGAAAGCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCAATTGGAACTGGGAGACTTGAAGTGCAGAAAGAGGAAAGTGGAAATCCAT
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTCTGGTCTGTAAGTACCGGTGAGGCGCGAAAG
GCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>87 3-b7

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGGGAAACCTTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTTTG
GTTGTAAAGCACTTTAAGCAGGAGGAGGCTACCTAGATTAATACTTTAGGATAGTGGACGTTACTCGCAGAATAAGCACCGGCTAAC
CTCTGTGCCAGCAGCCGCGTAATACAGAGGGTGCAGCGTTAATCGGATTTACTGGGCGTAAAGCGTGCCTAGGCGGCCAATTA
GTCAAATGTGAAATCCCGAGCTTAACCTGGGAATTGCATTGATACTGGTTGGCTAGAGTATGGGAGAGGATGGTAGAATCCAG
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATCCCGATGGCGAAGGCGACTTCTGGTCTGTAAGTACCGGTGAGGCTCGAAAG
GCATGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

**“Estudio de la diversidad de las bacterias aerotransportadas en la atmósfera baja de la Zona
Metropolitana del Valle de México.”**

>89 3-b9

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTCGG
GTCGTAAAACCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACCCAGAAAGCCACGGCTAA
CTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCAGGTGGTTTCTTAA
GTCTGATGTGAAAGCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCACTGGAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGAATTCCAT
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGCCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAACCTGACACTGAGGCGCGAA
GCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>90 5-a7

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTCGG
GTCGTAAAACCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACCCAGAAAGCCACGGCTAA
CTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCAGGTGGTTTCTTAA
GTCTGATGTGAAAGCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCACTGGAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGAATTCCAT
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGCCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAACCGACACTGAGGCGCGAA
AGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>91 5-b10

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGG
ATCGTAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCAGAGTAAGTCTGCGCACCTTGACGGTACCTAACCCAGAAAGCCACGGCTAAC
TACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTTCTTAA
TCTGATGTGAAAGCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCACTGGAACTGGGAACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGAATTCCAC
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGCCGAAGGCGACTCTCTGGTCTGTAACCTGACGCTGAGGAGCGAA
AGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>93 6-a9

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGG
ATCGTAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCAGAGTAAGTCTGCGCACCTTGACGGTACCTAACCCAGAAAGCCACGGCTAAC
TACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTTCTTAA
TCTGATGTGAAAGCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCACTGGAACTGGGAACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGAATTCCAC
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGCCGAAGGCGACTCTCTGGTCTGTAACCTGACGCTGAGGAGCGAA
AGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>94 6-a10

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGTGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACAGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCG
GATCGTAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCAGAGTAAGTCTGCGCACCTTGACGGTACCTAACCCAGAAAGCCACGGCTAA
CTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTTCTTAA
GTCTGATGTGAAAGCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCACTGGAACTGGGAACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGAATTCCA
CGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGACGTGGAGGAACACCAGTGCCGAAGGCGACTCTCTGGTCTGTAACCTGACGCTGAGGAGCGA
AAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>95 6-b11

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTCGG
GGTCTGAAAACCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCAGAGTAAGTCTGCGCACCTTGACGGTACCTAACCCAGAAAGCCACGGCTAA
ACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCAGGTGGTTTTCTTAA
AGTCTGATGTGAAAGCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCACTGGAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGAATTCC
ATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGCCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAACCTGACACTGAGGCGCGA
AAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>96 6-b12

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTCGG
GTCGTAAAACCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACCCAGAAAGCCACGGCTAA
CTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCAGGTGGTTTTCTTAA
GTCTGATGTGAAAGCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCACTGGAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGAATTCCAT
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGCCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAACCTGACACTGAGGCGCGAA
GCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>97 6-b13

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGATGAAGAAGGCCTTCGG
GTTGTAAAGTACTTTTCAGCGGGGAGGAAGGCGATAAAGTTAATAACCCTGTCGATTGACGTTACCCGCAGAAGAAGCACCGGCTAA
CTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGTGAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTCTGTCAA
GTCGGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGAACTGCATTGAACTGGCAGGCTAGAGTCTCGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAG
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAA
AGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCTGGTAG

>98 6-b14

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGG
ATCGTAAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTACCGTTCAATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACAGAAAGCCACGGCTAA
CTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCAGGCGGTTTTCTTAA
GTCTGATGTGAAAGCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCAATTGGAACTGGGAACTTGAAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAATTCCA
CGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACAGTGGCGAAGGCGACTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCGCGA
AAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCTGGTAG

>99 6-b15

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGATGAAGAAGGCCTTCGG
GTTGTAAAGTACTTTTCAGCGGGGAGGAAGGCGATAAAGTTAATAACCCTGTCGATTGACGTTACCCGCAGAAGAAGCACCGGCTAA
CTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGTGAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTCTGTCAA
GTCGGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGAACTGCATTGAACTGGCAGGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAG
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTTAGGTGCGAA
AGCGTGGGGAAGAAACAGGATTAGATACCTGGTAG

>100 6-b16

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATTTTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGATGAAGAAGGCTTCGGG
TTGTAAAGTACTTTTCAGCGGGGAGGAAGTGCACAGGGTTAATAACCCTGTCGATTGACGTTACCCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACT
CCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGTGAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTCTGTCAA
CGGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGAAACGGCATTGAACTGGCAGGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGT
GTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAG
CGTGGGAGCAAACAGGATTAGATACCTGGTAG

>101 6-b17

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCATCGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGG
ATCGTAAAGTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTCCGAGAGTAAGTCTGACACCTTGACGGTACCTAACAGAAAGCCACGGCTAAC
TACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTTCTTAA
GTCTGATGTGAAAGCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCAATTGGAACTGGGAACTTGAAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAATTCCA
CGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACAGTGGCGAAGGCGACTCTCTGGTCAAAAAGTACGCTGAGCAGCGA
AAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCTGGTAG

>102 6-b18

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGG
ATCGTAAAGTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTCCGTTCAATAGGGCGGCACCTTGACGGTACCTAACAGAAAGCCACGGCTAT
CTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTATCTTAA
GTCTGATGTGAAAGCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCAATTGGAACTGGGAACTTGAAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAATTCCA
CGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACAGTGGCGAAGGCGACTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGAGCGA
AAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCTGGTAG

>104 7-a12

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGG
ATCGTAAAGTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGAAGAGTAAGTCTGACACCTTGACGGTACCTAACAGAAAGCCACGGCTAAC
TACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTTCTTAA
TCTGATGTGAAAGCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCAATTGGAACTGGGAACTTGAAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAATTCCAC
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACAGTGGCGAAGGCGACTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGAGCGAA
AGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCTGGTAG

“Estudio de la diversidad de las bacterias aerotransportadas en la atmósfera baja de la Zona Metropolitana del Valle de México.”

>112 11-b20

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGG
ATCGTAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCAGAGTAAGTCTGACGCTTACCTAACAGAAAGCCACGGCTAAC
TACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTTCTAAG
TCTGATGTGAAAGCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGAAACTGGGAACTTGAAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAATCCAC
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGAGCGAA
AGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>114 12-a20

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATTTGCAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCAATGCCGCGTGAGTGAAGAAGGCCCTTCGG
GTTGTAAAGCTCTTTGTAGGGAAGAACAAGTGGGGCTAATATCCTTTGCTAATGACGGTACCTGAAGAATAAGCACCGGCTAAC
TACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCAGGCGGTTTTGTAAG
TCTGTCGTAAAGCCCCGGCTCAACCTGGGAATTGCGATGGAGACTGCAAGGCTTGAATCTGGCAGAGGGGGGTAGAATCCACG
TGTAGCAGTGAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCGATGGCGAAGGCGACTCCCTGGGTCAAGATTGACGCTCATGCACGAAA
GCGTGGGGAGCAAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>115 12-a21

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGGAGCAATGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGG
ATCGTAAAGCTCTGTTGCCAGGGAAGAACGCTTGGGAGAGTAAGTCTCAAGGTGACGGTACCTGAGAAGAAAGCCCCGGCTAA
CTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGTCAATTA
GTCTGGTGTAAATCCCAGGGCTCAACCCGGATCGCACTGGAACTGGGTGACTTGAAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAATCCACG
TGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTCTCTGGGTGTAAGTACGCTGAGGCGCGAAA
GCGTGGGGAGCAAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>189 MJ 42B62

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGG
GTCGTAAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTACCGGTACCTAACAGAAAGCCACGGCTAA
CTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGTGGTTTTCTAA
GTCTGATGTGAAAGCCCCAGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGAAACTGGGAGACTTGAAGTGCAGAAGAGGAAAGTGAATCCAT
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACACTGAGGCGCGAAA
GCGTGGGGAGCAAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

>200 MJ 42B74

CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGG
GTCGTAAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTACCGGTACCTAACAGAAAGCCACGGCTAA
CTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGTGGTTTTCTAA
GTCTGATGTGAAAGCCCCAGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGAAACTGGGAGACTTGAAGTGCAGAAGAGGAAAGTGAATCCAT
GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACACTGAGGCGCGAAA
GCGTGGGGAGCAAAACAGGATTAGATACCCTGGTAG

Apéndice 2

A continuación se muestran los datos que se obtuvieron de la base de datos del BLAST del NCBI a partir de los cuales se realizó el dendograma.

Lista de las secuencias									
Numero	Muestra		descripción	Max score	Total score	Query coverage (%)	E value	Max ident (%)	Fecha de la búsqueda
7	11-β2	NR_043092.1	Bacillus massiliensis	825	825	100%	0	99%	27-oct-12
		NR_025258.1	Bacillus odysseyi	821	821	100%	0	99%	27-oct-12
		NR_041276.1	Lysinibacillus boronitolerans	816	816	100%	0	99%	27-oct-12
		NR_044607.1	Acetobacter pasteurianus	794	794	100%	0	98%	27-oct-12
		NR_042073.1	Lysinibacillus sphaericus	794	794	100%	0	98%	27-oct-12
8	17-β3	NR_041248.1	Bacillus anthracis	841	841	100%	0	100%	27-oct-12
		NR_024697.1	Bacillus weihenstephanensis	841	841	100%	0	100%	27-oct-12
		NR_036880.1	Bacillus mycoides	841	841	100%	0	100%	27-oct-12
		NR_043403.1	Bacillus thuringiensis	841	841	100%	0	100%	27-oct-12
		NR_025511.1	Bacillus luciferensis	791	791	100%	0	98%	27-oct-12
9	17-β4	NR_024691.1	Bacillus flexus	830	830	100%	0	99%	27-oct-12
		NR_043401.1	Bacillus megaterium	830	830	100%	0	99%	27-oct-12
		NR_043084.1	Bacillus koreensis	807	807	100%	0	98%	27-oct-12
		NR_041379.1	Bacillus panaciterrae	803	803	100%	0	98%	27-oct-12
		NR_044828.1	Bacillus benzoovorans	791	791	100%	0	98%	27-oct-12
10	17-β5	NR_041248.1	Bacillus anthracis	841	841	100%	0	100%	27-oct-12
		NR_024697.1	Bacillus weihenstephanensis	841	841	100%	0	100%	27-oct-12
		NR_036880.1	Bacillus mycoides	841	841	100%	0	100%	27-oct-12
		NR_043403.1	Bacillus thuringiensis	841	841	100%	0	100%	27-oct-12
		NR_025511.1	Bacillus luciferensis	791	791	100%	0	98%	27-oct-12
11	17-β6	NR_041248.1	Bacillus anthracis	841	841	100%	0	100%	27-oct-12
		NR_024697.1	Bacillus weihenstephanensis	841	841	100%	0	100%	27-oct-12
		NR_036880.1	Bacillus mycoides	841	841	100%	0	100%	27-oct-12
		NR_043403.1	Bacillus thuringiensis	841	841	100%	0	100%	27-oct-12
		NR_025511.1	Bacillus luciferensis	791	791	100%	0	98%	27-oct-12
12	17-β7	NR_041248.1	Bacillus anthracis	796	796	100%	0	98%	03-nov-12
		NR_024697.1	Bacillus weihenstephanensis	796	796	100%	0	98%	03-nov-12
		NR_036880.1	Bacillus mycoides	796	796	100%	0	98%	03-nov-12
		NR_043403.1	Bacillus thuringiensis	796	796	100%	0	98%	03-nov-12
		NR_025511.1	Bacillus luciferensis	746	746	100%	0	96%	03-nov-12
13	17-β8	NR_041248.1	Bacillus anthracis	818	818	100%	0	99%	03-nov-12
		NR_024697.1	Bacillus weihenstephanensis	818	818	100%	0	99%	03-nov-12
		NR_036880.1	Bacillus mycoides	818	818	100%	0	99%	03-nov-12

“Estudio de la diversidad de las bacterias aerotransportadas en la atmósfera baja de la Zona Metropolitana del Valle de México.”

		NR_043403.1	Bacillus thuringiensis	818	818	100%	0	99%	03-nov-12
		NR_025511.1	Bacillus luciferensis	773	773	100%	0	97%	03-nov-12
15	18-β9	NR_026209.1	Acinetobacter lwoffii	764	764	100%	0	96%	27-oct-12
		NR_026210.1	Acinetobacter radioresistens	742	742	100%	0	95%	27-oct-12
		NR_042049.1	Acinetobacter venetianus	719	719	100%	0	94%	27-oct-12
		NR_026208.1	Acinetobacter junii	715	715	100%	0	94%	27-oct-12
		NR_044454.1	Acinetobacter soli	706	706	100%	0	94%	27-oct-12
17	19-β11	NR_041248.1	Bacillus anthracis	841	841	100%	0	100%	27-oct-12
		NR_024697.1	Bacillus weihenstephanensis	841	841	100%	0	100%	27-oct-12
		NR_036880.1	Bacillus mycoides strain	841	841	100%	0	100%	27-oct-12
		NR_043403.1	Bacillus thuringiensis	841	841	100%	0	100%	27-oct-12
		NR_025511.1	Bacillus luciferensis	791	791	100%	0	98%	27-oct-12
19	21-β13	NR_041248.1	Bacillus anthracis	841	841	100%	0	100%	27-oct-12
		NR_024697.1	Bacillus weihenstephanensis	841	841	100%	0	100%	27-oct-12
		NR_036880.1	Bacillus mycoides	841	841	100%	0	100%	27-oct-12
		NR_043403.1	Bacillus thuringiensis	841	841	100%	0	100%	27-oct-12
		NR_025511.1	Bacillus luciferensis	791	791	100%	0	98%	27-oct-12
20	21-β14	NR_041248.1	Bacillus anthracis strain	818	818	100%	0	99%	27-oct-12
		NR_024697.1	Bacillus weihenstephanensis	818	818	100%	0	99%	27-oct-12
		NR_036880.1	Bacillus mycoides	818	818	100%	0	99%	27-oct-12
		NR_043403.1	Bacillus thuringiensis	818	818	100%	0	99%	27-oct-12
		NR_025511.1	Bacillus luciferensis	769	769	100%	0	97%	27-oct-12
21	21-β15	NR_041248.1	Bacillus anthracis	841	841	100%	0	100%	27-oct-12
		NR_024697.1	Bacillus weihenstephanensis	841	841	100%	0	100%	27-oct-12
		NR_036880.1	Bacillus mycoides	841	841	100%	0	100%	27-oct-12
		NR_043403.1	Bacillus thuringiensis	841	841	100%	0	100%	27-oct-12
		NR_025511.1	Bacillus luciferensis	791	791	100%	0	98%	27-oct-12
22	21-β16	NR_041248.1	Bacillus anthracis	805	805	100%	0	99%	27-oct-12
		NR_024697.1	Bacillus weihenstephanensis	805	805	100%	0	99%	27-oct-12
		NR_036880.1	Bacillus mycoides	805	805	100%	0	99%	27-oct-12
		NR_043403.1	Bacillus thuringiensis	805	805	100%	0	99%	27-oct-12
		NR_025511.1	Bacillus luciferensis	755	755	100%	0	96%	27-oct-12
23	23-β17	NR_041248.1	Bacillus anthracis	684	684	100%	0	93%	27-oct-12
		NR_024697.1	Bacillus weihenstephanensis	684	684	100%	0	93%	27-oct-12
		NR_036880.1	Bacillus mycoides	684	684	100%	0	93%	27-oct-12
		NR_043403.1	Bacillus thuringiensis partial sequence	684	684	100%	0	93%	27-oct-12
		NR_025511.1	Bacillus luciferensis	643	643	100%	0	91%	27-oct-12
26	24-β22	NR_041248.1	Bacillus anthracis	818	818	100%	0	99%	03-nov-12
		NR_024697.1	Bacillus weihenstephanensis	818	818	100%	0	99%	03-nov-12
		NR_036880.1	Bacillus mycoides	818	818	100%	0	99%	03-nov-12
		NR_043403.1	Bacillus thuringiensis partial	818	818	100%	0	99%	03-nov-12

“Estudio de la diversidad de las bacterias aerotransportadas en la atmósfera baja de la Zona Metropolitana del Valle de México.”

		NR_025511.1	Bacillus luciferensis	769	769	100%	0	97%	03-nov-12
27	30-α14	NR_042339.1	Bacillus aerophilus	839	839	100%	0	100%	27-oct-12
		NR_042336.1	Bacillus stratosphericus	839	839	100%	0	100%	27-oct-12
		NR_042337.1	Bacillus altitudinis	839	839	100%	0	100%	27-oct-12
		NR_041794.1	Bacillus safensis	830	830	100%	0	99%	27-oct-12
		NR_043242.1	Bacillus pumilus	830	830	100%	0	99%	27-oct-12
30	27-β29	NR_041248.1	Bacillus anthracis	832	832	100%	0	99%	03-nov-12
		NR_024697.1	Bacillus weihenstephanensis	832	832	100%	0	99%	03-nov-12
		NR_036880.1	Bacillus mycoides	832	832	100%	0	99%	03-nov-12
		NR_043403.1	Bacillus thuringiensis	832	832	100%	0	99%	03-nov-12
		NR_025511.1	Bacillus luciferensis	783	783	100%	0	97%	03-nov-12
31	27-β31	NR_043997.1	Proteus mirabilis	765	765	99%	0	97%	03-nov-12
		NR_043998.1	Proteus penneri	762	762	100%	0	97%	03-nov-12
		NR_025336.1	Proteus vulgaris	756	756	100%	0	96%	03-nov-12
		NR_043999.1	Proteus myxofaciens	744	744	100%	0	96%	03-nov-12
		NR_041974.1	Erwinia mallotivora	711	711	100%	0	94%	03-nov-12
32	27-β32	NR_041248.1	Bacillus anthracis	776	776	100%	0	97%	03-nov-12
		NR_024697.1	Bacillus weihenstephanensis	776	776	100%	0	97%	03-nov-12
		NR_036880.1	Bacillus mycoides	776	776	100%	0	97%	03-nov-12
		NR_043403.1	Bacillus thuringiensis	776	776	100%	0	97%	03-nov-12
		NR_025511.1	Bacillus luciferensis	726	726	100%	0	95%	03-nov-12
33	27-β33	NR_041248.1	Bacillus anthracis	818	818	100%	0	99%	03-nov-12
		NR_024697.1	Bacillus weihenstephanensis	818	818	100%	0	99%	03-nov-12
		NR_036880.1	Bacillus mycoides	818	818	100%	0	99%	03-nov-12
		NR_043403.1	Bacillus thuringiensis	818	818	100%	0	99%	03-nov-12
		NR_025511.1	Bacillus luciferensis	769	769	100%	0	97%	03-nov-12
34	27-β35	NR_037005.1	Brevibacillus laterosporus	834	834	100%	0	99%	03-nov-12
		NR_041376.1	Brevibacillus ginsengisoli	744	744	100%	0	95%	03-nov-12
		NR_041836.1	Brevibacillus invocatus	715	715	100%	0	94%	03-nov-12
		NR_044485.1	Brevibacillus panacihumi	713	713	100%	0	94%	03-nov-12
		NR_041524.1	Brevibacillus brevis	713	713	100%	0	94%	03-nov-12
37	30-β38	NR_041248.1	Bacillus anthracis	829	829	100%	0	99%	07-nov-12
		NR_024697.1	Bacillus weihenstephanensis	829	829	100%	0	99%	07-nov-12
		NR_036880.1	Bacillus mycoides	829	829	100%	0	99%	07-nov-12
		NR_043403.1	Bacillus thuringiensis	829	829	100%	0	99%	07-nov-12
		NR_025511.1	Bacillus luciferensis s	780	780	100%	0	97%	07-nov-12
39	31-β43	NR_041248.1	Bacillus anthracis	832	832	100%	0	99%	07-nov-12
		NR_024697.1	Bacillus weihenstephanensis	832	832	100%	0	99%	07-nov-12
		NR_036880.1	Bacillus mycoides	832	832	100%	0	99%	07-nov-12
		NR_043403.1	Bacillus thuringiensis	832	832	100%	0	99%	07-nov-12
		NR_025511.1	Bacillus luciferensis	783	783	100%	0	97%	07-nov-12

“Estudio de la diversidad de las bacterias aerotransportadas en la atmósfera baja de la Zona Metropolitana del Valle de México.”

40	31-β44	NR_041248.1	Bacillus anthracis	829	829	100%	0	99%	07-nov-12
		NR_024697.1	Bacillus weihenstephanensis	829	829	100%	0	99%	07-nov-12
		NR_036880.1	Bacillus mycoides	829	829	100%	0	99%	07-nov-12
		NR_043403.1	Bacillus thuringiensis	829	829	100%	0	99%	07-nov-12
		NR_025511.1	Bacillus luciferensis	778	778	100%	0	97%	07-nov-12
42	37-β47	NR_041248.1	Bacillus anthracis	841	841	100%	0	100%	07-nov-12
		NR_024697.1	Bacillus weihenstephanensis	841	841	100%	0	100%	07-nov-12
		NR_036880.1	Bacillus mycoides	841	841	100%	0	100%	07-nov-12
		NR_043403.1	Bacillus thuringiensis	841	841	100%	0	100%	07-nov-12
		NR_025511.1	Bacillus luciferensis	791	791	100%	0	98%	07-nov-12
44	40-β49	NR_041248.1	Bacillus anthracis	841	841	100%	0	100%	07-nov-12
		NR_024697.1	Bacillus weihenstephanensis	841	841	100%	0	100%	07-nov-12
		NR_036880.1	Bacillus mycoides	841	841	100%	0	100%	07-nov-12
		NR_043403.1	Bacillus thuringiensis	841	841	100%	0	100%	07-nov-12
		NR_025511.1	Bacillus luciferensis	791	791	100%	0	98%	07-nov-12
45	41-β50	NR_041248.1	Bacillus anthracis	836	836	100%	0	99%	07-nov-12
		NR_024697.1	Bacillus weihenstephanensis	836	836	100%	0	99%	07-nov-12
		NR_036880.1	Bacillus mycoides	836	836	100%	0	99%	07-nov-12
		NR_043403.1	Bacillus thuringiensis	836	836	100%	0	99%	07-nov-12
		NR_025511.1	Bacillus luciferensis	787	787	100%	0	97%	07-nov-12
46	43-β52	NR_041248.1	Bacillus anthracis	841	841	100%	0	100%	07-nov-12
		NR_024697.1	Bacillus weihenstephanensis	841	841	100%	0	100%	07-nov-12
		NR_036880.1	Bacillus mycoides	841	841	100%	0	100%	07-nov-12
		NR_043403.1	Bacillus thuringiensis	841	841	100%	0	100%	07-nov-12
		NR_025511.1	Bacillus luciferensis	791	791	100%	0	98%	07-nov-12
47	43-β54	NR_041248.1	Bacillus anthracis	841	841	100%	0	100%	26-nov-12
		NR_024697.1	Bacillus weihenstephanensis	841	841	100%	0	100%	26-nov-12
		NR_036880.1	Bacillus mycoides s	841	841	100%	0	100%	26-nov-12
		NR_043403.1	Bacillus thuringiensis	841	841	100%	0	100%	26-nov-12
		NR_025511.1	Bacillus luciferensis	791	791	100%	0	98%	26-nov-12
48	44-β55	NR_041248.1	Bacillus anthracis	832	832	100%	0	99%	26-nov-12
		NR_024697.1	Bacillus weihenstephanensis	832	832	100%	0	99%	26-nov-12
		NR_036880.1	Bacillus mycoides	832	832	100%	0	99%	26-nov-12
		NR_043403.1	Bacillus thuringiensis	832	832	100%	0	99%	26-nov-12
		NR_025511.1	Bacillus luciferensis	783	783	100%	0	97%	26-nov-12
49	44-β56	NR_041248.1	Bacillus anthracis	834	834	100%	0	99%	26-nov-12
		NR_024697.1	Bacillus weihenstephanensis	834	834	100%	0	99%	26-nov-12
		NR_036880.1	Bacillus mycoides	834	834	100%	0	99%	26-nov-12
		NR_043403.1	Bacillus thuringiensis	834	834	100%	0	99%	26-nov-12
		NR_025511.1	Bacillus luciferensis	785	785	100%	0	97%	26-nov-12
50	44-β57	NR_043720.1	Paenisporosarcina quisquiliarum	785	785	100%	0	98%	26-nov-12

“Estudio de la diversidad de las bacterias aerotransportadas en la atmósfera baja de la Zona Metropolitana del Valle de México.”

		NR_044122.1	Sporosarcina sp. N-05	773	773	100%	0	97%	26-nov-12
		NR_042024.1	Filibacter limicola	773	773	100%	0	97%	26-nov-12
		NR_025409.1	Bacillus psychrodurans	773	773	100%	0	97%	26-nov-12
		NR_025258.1	Bacillus odysseyi	767	767	100%	0	97%	26-nov-12
51	44-α19	NR_043720.1	Paenisporosarcina quisquiliarum	798	798	100%	0	98%	26-nov-12
		NR_025409.1	Bacillus psychrodurans	794	794	100%	0	98%	26-nov-12
		NR_044122.1	Sporosarcina sp. N-05	785	785	100%	0	97%	26-nov-12
		NR_042024.1	Filibacter limicola	785	785	100%	0	97%	26-nov-12
		NR_025408.1	Bacillus psychrotolerans	785	785	100%	0	97%	26-nov-12
52	45-β58	NR_041248.1	Bacillus anthracis	823	823	100%	0	99%	26-nov-12
		NR_024697.1	Bacillus weihenstephanensis	823	823	100%	0	99%	26-nov-12
		NR_036880.1	Bacillus mycoides	823	823	100%	0	99%	26-nov-12
		NR_043403.1	Bacillus thuringiensis	823	823	100%	0	99%	26-nov-12
		NR_025511.1	Bacillus luciferensis	774	774	100%	0	97%	26-nov-12
53	45-β59	NR_041248.1	Bacillus anthracis	832	832	100%	0	99%	26-nov-12
		NR_024697.1	Bacillus weihenstephanensis	832	832	100%	0	99%	26-nov-12
		NR_036880.1	Bacillus mycoides	832	832	100%	0	99%	26-nov-12
		NR_043403.1	Bacillus thuringiensis	832	832	100%	0	99%	26-nov-12
		NR_025511.1	Bacillus luciferensis	783	783	100%	0	97%	26-nov-12
54	45-β62	NR_041248.1	Bacillus anthracis	841	841	100%	0	100%	26-nov-12
		NR_024697.1	Bacillus weihenstephanensis	841	841	100%	0	100%	26-nov-12
		NR_036880.1	Bacillus mycoides	841	841	100%	0	100%	26-nov-12
		NR_043403.1	Bacillus thuringiensis	841	841	100%	0	100%	26-nov-12
		NR_025511.1	Bacillus luciferensis	791	791	100%	0	98%	26-nov-12
55	46-β63	NR_041248.1	Bacillus anthracis	832	832	100%	0	99%	26-nov-12
		NR_024697.1	Bacillus weihenstephanensis	832	832	100%	0	99%	26-nov-12
		NR_036880.1	Bacillus mycoides	832	832	100%	0	99%	26-nov-12
		NR_043403.1	Bacillus thuringiensis	832	832	100%	0	99%	26-nov-12
		NR_025511.1	Bacillus luciferensis	783	783	100%	0	97%	26-nov-12
56	46-β64	NR_041248.1	Bacillus anthracis	805	805	100%	0	99%	26-nov-12
		NR_024697.1	Bacillus weihenstephanensis	805	805	100%	0	99%	26-nov-12
		NR_036880.1	Bacillus mycoides	805	805	100%	0	99%	26-nov-12
		NR_043403.1	Bacillus thuringiensis	805	805	100%	0	99%	26-nov-12
		NR_025511.1	Bacillus luciferensis	755	755	100%	0	96%	26-nov-12
57	46-β66	NR_041248.1	Bacillus anthracis	832	832	100%	0	99%	26-nov-12
		NR_024697.1	Bacillus weihenstephanensis	832	832	100%	0	99%	26-nov-12
		NR_036880.1	Bacillus mycoides	832	832	100%	0	99%	26-nov-12
		NR_043403.1	Bacillus thuringiensis	832	832	100%	0	99%	26-nov-12
		NR_025511.1	Bacillus luciferensis	783	783	100%	0	97%	26-nov-12
59	46-β68	NR_025130.1	Bacillus sonorensis	823	823	100%	0	99%	26-nov-12
		NR_027552.1	Bacillus subtilis subsp. subtilis	814	814	100%	0	99%	26-nov-12

“Estudio de la diversidad de las bacterias aerotransportadas en la atmósfera baja de la Zona Metropolitana del Valle de México.”

		NR_024931.1	Bacillus subtilis subsp. Spizizenii	814	814	100%	0	99%	26-nov-12
		NR_025373.1	Bacillus shackletonii	812	812	100%	0	99%	26-nov-12
		NR_042638.1	[Brevibacterium] halotolerans	810	810	100%	0	99%	26-nov-12
60	46-β70	NR_041248.1	Bacillus anthracis	841	841	100%	0	100%	26-nov-12
		NR_024697.1	Bacillus weihenstephanensis	841	841	100%	0	100%	26-nov-12
		NR_036880.1	Bacillus mycoides	841	841	100%	0	100%	26-nov-12
		NR_043403.1	Bacillus thuringiensis	841	841	100%	0	100%	26-nov-12
		NR_025511.1	Bacillus luciferensis	791	791	100%	0	98%	26-nov-12
61	46-β71	NR_026208.1	Acinetobacter junii	829	829	100%	0	99%	26-nov-12
		NR_042026.1	Acinetobacter gyllenbergii	792	792	100%	0	98%	26-nov-12
		NR_044975.1	Acinetobacter johnsonii	787	787	100%	0	98%	26-nov-12
		NR_026206.1	Acinetobacter baumannii	773	773	100%	0	97%	26-nov-12
		NR_042234.1	Acinetobacter beijerinckii	769	769	100%	0	97%	26-nov-12
63	46-α20	NR_026209.1	Acinetobacter lwoffii	836	836	100%	0	99%	26-nov-12
		NR_026210.1	Acinetobacter radioresistens	800	800	100%	0	98%	26-nov-12
		NR_042049.1	Acinetobacter venetianus	773	773	100%	0	97%	26-nov-12
		NR_026208.1	Acinetobacter junii	764	764	100%	0	96%	26-nov-12
		NR_044454.1	Acinetobacter soli	760	760	100%	0	96%	26-nov-12
64	46-α21	NR_025130.1	Bacillus sonorensis	800	800	100%	0	99%	26-nov-12
		NR_027552.1	Bacillus subtilis subsp. subtilis	791	791	100%	0	98%	26-nov-12
		NR_024931.1	Bacillus subtilis subsp. spizizenii	791	791	100%	0	98%	26-nov-12
		NR_025373.1	Bacillus shackletonii	789	789	100%	0	98%	26-nov-12
		NR_042638.1	[Brevibacterium] halotolerans	787	787	100%	0	98%	26-nov-12
65	46-γ3	NR_025412.1	Acinetobacter schindleri	814	814	100%	0	99%	26-nov-12
		NR_026207.1	Acinetobacter haemolyticus	771	771	100%	0	97%	26-nov-12
		NR_044975.1	Acinetobacter johnsonii	769	769	100%	0	97%	26-nov-12
		NR_026206.1	Acinetobacter baumannii	765	765	100%	0	97%	26-nov-12
		NR_042026.1	Acinetobacter gyllenbergii	749	749	100%	0	96%	26-nov-12
76	1-β1	NR_041794.1	Bacillus safensis	839	839	100%	0	100%	22-dic-12
		NR_043242.1	Bacillus pumilus	839	839	100%	0	100%	22-dic-12
		NR_042336.1	Bacillus stratosphericus	830	830	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_042339.1	Bacillus aerophilus	830	830	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_042337.1	Bacillus altitudinis	830	830	100%	0	99%	22-dic-12
77	1-β2	NR_042336.1	Bacillus stratosphericus	830	830	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_042339.1	Bacillus aerophilus	830	830	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_042337.1	Bacillus altitudinis	830	830	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_041794.1	Bacillus safensis	821	821	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_043242.1	Bacillus pumilus	821	821	100%	0	99%	22-dic-12
78	1-β3	NR_041248.1	Bacillus anthracis	836	836	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_024697.1	Bacillus weihenstephanensis	836	836	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_036880.1	Bacillus mycoides	836	836	100%	0	99%	22-dic-12

“Estudio de la diversidad de las bacterias aerotransportadas en la atmósfera baja de la Zona Metropolitana del Valle de México.”

		NR_043403.1	Bacillus thuringiensis	836	836	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_025511.1	Bacillus luciferensis	787	787	100%	0	97%	22-dic-12
80	3-α2	NR_026209.1	Acinetobacter lwoffii	814	814	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_026210.1	Acinetobacter radioresistens	778	778	100%	0	97%	22-dic-12
		NR_042049.1	Acinetobacter venetianus	751	751	100%	0	96%	22-dic-12
		NR_026208.1	Acinetobacter junii	742	742	100%	0	96%	22-dic-12
		NR_044454.1	Acinetobacter soli	737	737	100%	0	96%	22-dic-12
81	3-α3	NR_042336.1	Bacillus stratosphericus	747	747	99%	0	97%	22-dic-12
		NR_042339.1	Bacillus aerophilus	747	747	99%	0	97%	22-dic-12
		NR_042337.1	Bacillus altitudinis	747	747	99%	0	97%	22-dic-12
		NR_041794.1	Bacillus safensis	738	738	99%	0	96%	22-dic-12
		NR_043242.1	Bacillus pumilus	738	738	99%	0	96%	22-dic-12
83	3-α5	NR_044938.1	Desemzia incerta	839	839	100%	0	100%	22-dic-12
		NR_025197.1	Carnobacterium viridans	785	785	100%	0	97%	22-dic-12
		NR_036895.1	Carnobacterium inhibens	785	785	100%	0	97%	22-dic-12
		NR_025946.1	Carnobacterium funditum	778	778	100%	0	97%	22-dic-12
		NR_041706.1	Enterococcus sulfureus	778	778	100%	0	97%	22-dic-12
84	3-α6	NR_029005.1	Enhydrobacter aerosaccus	836	836	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_028671.1	Moraxella caviae	706	706	100%	0	94%	22-dic-12
		NR_025457.1	Psychrobacter submarinus	693	693	100%	0	93%	22-dic-12
		NR_042666.1	Moraxella pluranimalium	688	688	100%	0	93%	22-dic-12
		NR_043225.1	Psychrobacter celer	688	688	100%	0	93%	22-dic-12
85	3-β5	NR_041248.1	Bacillus anthracis	832	832	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_024697.1	Bacillus weihenstephanensis	832	832	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_036880.1	Bacillus mycoides	832	832	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_043403.1	Bacillus thuringiensis	832	832	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_025511.1	Bacillus luciferensis	783	783	100%	0	97%	22-dic-12
86	3-β6	NR_041248.1	Bacillus anthracis	830	830	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_024697.1	Bacillus weihenstephanensis	830	830	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_036880.1	Bacillus mycoides	830	830	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_043403.1	Bacillus thuringiensis	830	830	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_025511.1	Bacillus luciferensis	780	780	100%	0	97%	22-dic-12
87	3-β7	NR_026210.1	Acinetobacter radioresistens	820	820	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_026209.1	Acinetobacter lwoffii	783	783	100%	0	97%	22-dic-12
		NR_042049.1	Acinetobacter venetianus	778	778	100%	0	97%	22-dic-12
		NR_025425.1	Acinetobacter parvus	762	762	100%	0	96%	22-dic-12
		NR_026208.1	Acinetobacter junii	756	756	100%	0	96%	22-dic-12
89	3-β9	NR_041248.1	Bacillus anthracis	841	841	100%	0	100%	22-dic-12
		NR_024697.1	Bacillus weihenstephanensis	841	841	100%	0	100%	22-dic-12
		NR_036880.1	Bacillus mycoides	841	841	100%	0	100%	22-dic-12
		NR_043403.1	Bacillus thuringiensis	841	841	100%	0	100%	22-dic-12

“Estudio de la diversidad de las bacterias aerotransportadas en la atmósfera baja de la Zona Metropolitana del Valle de México.”

		NR_025511.1	Bacillus luciferensis	791	791	100%	0	98%	22-dic-12
90	5-α7	NR_041248.1	Bacillus anthracis	829	829	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_024697.1	Bacillus weihenstephanensis	829	829	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_036880.1	Bacillus mycoides	829	829	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_043403.1	Bacillus thuringiensis	829	829	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_025511.1	Bacillus luciferensis	778	778	100%	0	97%	22-dic-12
91	5-β10	NR_041794.1	Bacillus safensis	839	839	100%	0	100%	22-dic-12
		NR_043242.1	Bacillus pumilus	839	839	100%	0	100%	22-dic-12
		NR_042336.1	Bacillus stratosphericus	830	830	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_042339.1	Bacillus aerophilus	830	830	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_042337.1	Bacillus altitudinis	830	830	100%	0	99%	22-dic-12
93	6-α9	NR_042336.1	Bacillus stratosphericus	839	839	100%	0	100%	22-dic-12
		NR_042339.1	Bacillus aerophilus	839	839	100%	0	100%	22-dic-12
		NR_042337.1	Bacillus altitudinis	839	839	100%	0	100%	22-dic-12
		NR_041794.1	Bacillus safensis	830	830	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_043242.1	Bacillus pumilus	830	830	100%	0	99%	22-dic-12
94	6-α10	NR_042336.1	Bacillus stratosphericus	814	814	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_042339.1	Bacillus aerophilus	814	814	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_042337.1	Bacillus altitudinis	814	814	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_041794.1	Bacillus safensis	805	805	100%	0	98%	22-dic-12
		NR_043242.1	Bacillus pumilus	805	805	100%	0	98%	22-dic-12
95	6-β11	NR_041248.1	Bacillus anthracis	834	834	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_024697.1	Bacillus weihenstephanensis	834	834	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_036880.1	Bacillus mycoides	834	834	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_043403.1	Bacillus thuringiensis	834	834	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_025511.1	Bacillus luciferensis	785	785	100%	0	97%	22-dic-12
96	6-β12	NR_041248.1	Bacillus anthracis	834	834	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_024697.1	Bacillus weihenstephanensis	834	834	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_036880.1	Bacillus mycoides	834	834	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_043403.1	Bacillus thuringiensis	834	834	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_025511.1	Bacillus luciferensis	785	785	100%	0	97%	22-dic-12
97	6-β13	NR_024640.1	Enterobacter asburiae	825	825	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_044977.1	Enterobacter cancerogenus	820	820	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_041927.1	Escherichia vulneris	816	816	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_037084.1	Klebsiella pneumoniae subsp. rhinoscleromatis	816	816	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_024643.1	Enterobacter aerogenes	807	807	100%	0	98%	22-dic-12
98	6-β14	NR_025130.1	Bacillus sonorensis	825	825	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_027552.1	Bacillus subtilis subsp. Subtilis	816	816	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_024931.1	Bacillus subtilis subsp. spizizenii	816	816	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_025373.1	Bacillus shackletonii	814	814	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_042638.1	[Brevibacterium] halotolerans	812	812	100%	0	99%	22-dic-12

“Estudio de la diversidad de las bacterias aerotransportadas en la atmósfera baja de la Zona Metropolitana del Valle de México.”

99	6-β15	NR_024640.1	<i>Enterobacter asburiae</i>	825	825	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_044977.1	<i>Enterobacter cancerogenus</i>	820	820	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_037084.1	<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>rhinoscleromatis</i>	816	816	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_041927.1	<i>Escherichia vulneris</i>	812	812	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_024643.1	<i>Enterobacter aerogenes</i>	807	807	100%	0	98%	22-dic-12
100	6-β16	NR_024640.1	<i>Enterobacter asburiae</i>	803	803	100%	0	98%	22-dic-12
		NR_041927.1	<i>Escherichia vulneris</i>	800	800	100%	0	98%	22-dic-12
		NR_044977.1	<i>Enterobacter cancerogenus</i>	798	798	100%	0	98%	22-dic-12
		NR_037084.1	<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>Rhinoscleromatis</i>	794	794	100%	0	98%	22-dic-12
		NR_042422.1	<i>Erwinia tasmaniensis</i>	791	791	100%	0	98%	22-dic-12
101	6-β17	NR_041794.1	<i>Bacillus safensis</i>	796	796	100%	0	98%	22-dic-12
		NR_043242.1	<i>Bacillus pumilus</i>	796	796	100%	0	98%	22-dic-12
		NR_042336.1	<i>Bacillus stratosphericus</i>	787	787	100%	0	98%	22-dic-12
		NR_042339.1	<i>Bacillus aerophilus</i>	787	787	100%	0	98%	22-dic-12
		NR_042337.1	<i>Bacillus altitudinis</i>	787	787	100%	0	98%	22-dic-12
102	6-β18	NR_041455.1	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	832	832	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_024696.1	<i>Bacillus vallismortis</i>	832	832	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_024689.1	<i>Bacillus atrophaeus</i>	832	832	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_027552.1	<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>Subtilis</i>	818	818	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_024931.1	<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>spizizenii</i>	818	818	100%	0	99%	22-dic-12
104	7-α12	NR_042336.1	<i>Bacillus stratosphericus</i>	839	839	100%	0	100%	22-dic-12
		NR_042339.1	<i>Bacillus aerophilus</i>	839	839	100%	0	100%	22-dic-12
		NR_042337.1	<i>Bacillus altitudinis</i>	839	839	100%	0	100%	22-dic-12
		NR_041794.1	<i>Bacillus safensis</i>	830	830	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_043242.1	<i>Bacillus pumilus</i>	830	830	100%	0	99%	22-dic-12
112	11-β20	NR_041794.1	<i>Bacillus safensis</i>	839	839	100%	0	100%	22-dic-12
		NR_043242.1	<i>Bacillus pumilus</i>	839	839	100%	0	100%	22-dic-12
		NR_042336.1	<i>Bacillus stratosphericus</i>	830	830	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_042339.1	<i>Bacillus aerophilus</i>	830	830	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_042337.1	<i>Bacillus altitudinis</i>	830	830	100%	0	99%	22-dic-12
114	12-α20	NR_044571.1	<i>Massilia niabensis</i>	812	812	100%	0	99%	22-dic-12
		NR_044274.1	<i>Massilia brevitalea</i>	805	805	100%	0	98%	22-dic-12
		NR_042652.1	<i>Naxibacter varians</i>	792	792	100%	0	98%	22-dic-12
		NR_042653.1	<i>Naxibacter haematophilus</i>	787	787	100%	0	98%	22-dic-12
		NR_042502.1	<i>Massilia aurea</i>	787	787	100%	0	98%	22-dic-12
115	12-α21	NR_044525.1	<i>Paenibacillus tundrae</i>	838	838	100%	0	100%	22-dic-12
		NR_044524.1	<i>Paenibacillus xylanexedens</i>	838	838	100%	0	100%	22-dic-12
		NR_044428.1	<i>Paenibacillus taichungensis</i>	838	838	100%	0	100%	22-dic-12
		NR_040853.1	<i>Paenibacillus pabuli</i>	838	838	100%	0	100%	22-dic-12
		NR_025882.1	<i>Paenibacillus amyolyticus</i>	830	830	100%	0	99%	22-dic-12
189	42-β62	NR_041248.1	<i>Bacillus anthracis</i>	832	832	100%	0	99%	27-oct-212

“Estudio de la diversidad de las bacterias aerotransportadas en la atmósfera baja de la Zona Metropolitana del Valle de México.”

		NR_024697.1	Bacillus weihenstephanensis	832	832	100%	0	99%	27-oct-212
		NR_036880.1	Bacillus mycoides	832	832	100%	0	99%	27-oct-212
		NR_043403.1	Bacillus thuringiensis	832	832	100%	0	99%	27-oct-212
		NR_025511.1	Bacillus luciferensis	783	783	100%	0	97%	27-oct-212
200	42-β74	NR_041248.1	Bacillus anthracis	827	827	100%	0	99%	27-oct-212
		NR_024697.1	Bacillus weihenstephanensis	827	827	100%	0	99%	27-oct-212
		NR_036880.1	Bacillus mycoides	827	827	100%	0	99%	27-oct-212
		NR_043403.1	Bacillus thuringiensis	827	827	100%	0	99%	27-oct-212
		NR_025511.1	Bacillus luciferensis	776	776	100%	0	97%	27-oct-212