



UNIVERSIDAD DE QUINTANA ROO

División de Ciencias e Ingenierías

**CARACTERIZACIÓN DE LA FLORA
BACTERIANA Y FÚNGICA EN LA COLUMNA DE
AGUA DEL SISTEMA LAGUNAR BACALAR**

TESIS RECEPCIONAL
Para obtener el grado de
Ingeniero Ambiental

PRESENTA
Adriana Arminda Carrillo Ruiz

DIRECTOR DE TESIS
Biol. Alberto Pereira Corona

Chetumal, Quintana Roo, Mayo 2003


Ø43752



UNIVERSIDAD DE QUINTANA ROO
DIVISIÓN DE CIENCIAS E INGENIERÍAS

Tesis elaborada bajo la supervisión del comité de asesoría y aprobada como requisito parcial, para obtener el grado de:

INGENIERO AMBIENTAL

COMITÉ

DIRECTOR:


BIOL. ALBERTO PEREIRA CORONA

ASESOR:


M.C. BENITO PREZAS HERNÁNDEZ

ASESOR:


Dr. FRANCISCO MONTES DE OCA GARRO

Chetumal, Quintana Roo, Mayo de 2003

A mi padre, por llevarme de la mano e iluminar siempre mi camino.

*A mi madre, por inculcarme el valor que tienen los estudios,
Y por ser mi fortaleza.*

A mis primos Juan Pedro y Alfredito...siempre en mi corazón.

A mis dos hermanas Avri y Ara...por el apoyo y mutua comprensión.

A Yang, por los sabios consejos de la vida.

Agradecimientos:

Al maestro Alberto por transmitirme conocimientos básicos e interesantes cada día, además por la paciencia y dedicación a lo largo de mi carrera;

A mi maestros Benito y Héctor, por dejarme estar en el equipo;

A Marco (el Che) y a mi amigo Omar, por la ayuda sin reniegos.

A Max y a Juan Pablo, por el desgaste en el trabajo de campo.

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

ÍNDICE DE MAPAS

1. INTRODUCCIÓN	7
2. ANTECEDENTES	11
3. JUSTIFICACIÓN	12
4. OBJETIVOS	
Objetivos Generales	13
Objetivos Particulares	13
5. ÁREA DE ESTUDIO	14
6. METODOLOGÍA	
Materiales	16
Del muestreo en el Sistema Lagunar	16
Del Laboratorio	17
7. RESULTADOS	20
8. DISCUSIÓN	32
9. CONCLUSIONES	35
10. ANEXOS	
Anexo (A)	37
Anexo (B)	38
Anexo (C)	39
Anexo (D)	44
Anexo (E)	45
Anexo (F)	51
11. BIBLIOGRAFÍA	59

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Valor promedio de parámetros fisicoquímicos	23
Tabla 2. Correlación de Spearman	25
Tabla 3. Especies encontradas por sitio	27
Tabla 4. Diversidad Alfa	29
Tabla 5. Sitios con mayor Diversidad (General)	29
Tabla 6. Sitios con mayor Diversidad (Bacterias Entéricas)	30
Tabla 7. Semimatriz de comunidades para obtener índice Beta	31

INDICE DE FOTOGRAFÍAS

Fig. 1. Muestreo en la laguna	45
Fig. 2. Fotografía de campo	45
Fig. 3. El GPS	46
Fig. 4. Equipo de la Sonda Multiparamétrica	46
Fig. 5. Sonda Multiparamétrica en uso	47
Fig. 6. Medios de cultivo (lactosa)	47
Fig. 7. Pruebas Bioquímicas (citrato)	48
Fig. 8. Fotografía bacteriana (Staphylococcus aureus)	48
Fig. 9. Fotografía bacteriana (T. Gram negativa)	49
Fig. 10. Fotografía bacteriana (T. Gram positiva)	49

ÍNDICE DE MAPAS

Mapa 1. Estado de Quintana Roo en un contexto geográfico	50
Mapa 2. Sistema Lagunar Bacalar en un contexto geográfico	51
Mapa 3. Red de Muestreo	52
Mapa 4. Comportamiento Temperatura	53
Mapa 5. Comportamiento pH	54
Mapa 6. Comportamiento Sólidos Disueltos Totales	55
Mapa 7. Comportamiento Bacteriano	56
Mapa 8. Comportamiento Fúngico	57

INTRODUCCIÓN

La Microbiología se puede definir, sobre la base de su etimología, como la ciencia que trata de los seres vivos muy pequeños, concretamente de aquellos cuyo tamaño se encuentra por debajo del poder resolutivo del ojo humano.

Precisamente, el origen tardío de la microbiología con relación a otras ciencias biológicas, y el reconocimiento de las múltiples actividades desplegadas por los microorganismos, hay que atribuirlos a la carencia, durante mucho tiempo de los instrumentos y técnicas pertinentes para el estudio de organismos que en muchos casos no son aparentes.

La microbiología demuestra que los microorganismos tienen muchas características que los hacen sujetos ideales para la investigación de los fenómenos biológicos, ya que constituyen sistemas específicos para la investigación de la fisiología, la genética y las reacciones bioquímicas, que son la base de la vida; también se ocupa de las modificaciones a su medio que puedan alterar sus actividades metabólicas, regular su desarrollo o cambiar su patrón genético sin destruirlas (Pelczar, 1991).

Podemos definir, pues, a los microorganismos como seres de tamaño microscópico dotados de individualidad, con una organización biológica sencilla, bien sea acelular o celular, y en este último caso pudiendo presentarse como unicelulares, cenocíticos, coloniales o pluricelulares, pero sin diferenciación en tejidos u órganos, y que necesitan para su estudio una metodología propia y adecuada a sus pequeñas dimensiones.

El estudio de los microorganismos incluye las bacterias, hongos, protozoarios y algas cuyo intervalo de tamaño es de menos de una micra (10^6) a unas cuantas decenas de micra, muestran gran diversidad en cuanto a requerimientos para la vida y su tolerancia a condiciones desfavorables, son particularmente susceptibles a cambios en los niveles de temperatura, luz, pH, nutrientes orgánicos e inorgánicos, agua, etc., esto implica que cualquier perturbación del equilibrio existente de factores bióticos y abióticos, puede ocasionar un cambio temporal en sus poblaciones.

Los microorganismos se encuentran en todas partes. Son transportados por las corrientes de aire desde la superficie de la tierra a las partes más altas de la atmósfera (Pelczar, 1991), se encuentran también en los sedimentos de aguas superficiales a pequeñas y grandes profundidades, abundan en el suelo y son acarreados por los arroyos y los ríos a los lagos y a otros grandes depósitos de agua. Abundan donde encuentran alimento, humedad y una temperatura adecuada para su desarrollo y multiplicación.

Entre las principales características de las bacterias figuran su tamaño, su forma, su estructura y su tipo de agrupación, constituyendo la morfología de la célula y la colonia; el tamaño de una bacteria es mensurable, no obstante sus dimensiones son microscópicas; según su especie, estos microorganismos individuales tienen una de las tres formas generales siguientes: oval o esférica, cilíndrica o en forma de bastón, y en espiral o helicoidal.

En algunas especies, las bacterias se organizan en grupos, siendo los más comunes de ellos pares, racimos, cadenas y filamentos (conviene conocer estas formas de agrupación porque con frecuencia son características de un grupo

taxonómico, por ejemplo, un género). Algunas especies de bacterias poseen también apéndices que se ponen de manifiesto gracias a las técnicas especiales de tinción.

Es posible dividir a las bacterias en muchos grupos tomando como base sus requerimientos nutricionales, ya que todas las formas de vida, tienen en común determinadas necesidades nutricionales en términos de necesidades químicas para llevar a cabo su crecimiento y sus funciones normales (Pelczar, 1991).

Todo organismo vivo requiere de una fuente de energía, tal vez la radiante, si no, se valen de la oxidación de compuestos químicos; también necesitan obtener carbono y nitrógeno al igual que el azufre y el fósforo de alguna manera.

En cuanto a los hongos, éstos constituyen un grupo de microorganismos de gran interés, se definen como organismos heterótrofos que están integrados por filamentos conocidos como hifas, éstas en conjunto forman el micelio, éste puede ser cenocítico si no presenta tabicaciones o septos, o puede ser micelio con tabicaciones, dichas características son fundamentales y válidas para ubicar la posición del hongo, también tienen muchas manifestaciones morfológicas y pueden ser micro o macroscópicos.

Los hongos por ser heterótrofos, requieren para su nutrición carbono en forma combinada como polisacárido, proteínas y grasas, además necesitan oxígeno, hidrógeno, azufre entre otros elementos.

Los ecosistemas nunca son estáticos, sino que están en un estado de equilibrio dinámico que refleja los complejos mecanismos de alimentación que controlan el número o la actividad de los individuos, o bien la población puede cambiar en una forma que refleje los cambios en los niveles de materia y energía dentro del medio. "Generalmente en la cadena trófica de detritus¹, la bacterias y los hongos son responsables del 90% del flujo de energía" (Campbell, 1987).

La realización de un análisis microbiológico, nos permite conocer la fisiología (es decir, los procesos físicos y químicos en virtud de los cuales se benefician y responden al ambiente estos organismos), la morfología (nos aporta las variaciones en forma y tamaño de sus colonias, las cuales son particulares ya de géneros, grupos o especies en algunos casos), su forma de vida (terrestre, acuática o en interfases), y sus efectos al ecosistema en general y sobre todo la relación directa con el hombre.

Los microorganismos pueden observarse directamente en el microscopio o bien cultivarse para poder observarlos en colonias macroscópicas; existen tres métodos principales de estudiar poblaciones microbianas en la naturaleza: examen directo, diversos métodos de cultivo y evaluación de la actividad metabólica (Campbell, 1987).

El método para estudiar a las bacterias y los hongos, se basa fundamentalmente en el establecimiento de cultivos, que son una mezcla equilibrada de nutrientes, los cuales se pueden lograr por medio de líquidos naturales o creando medios artificiales sintéticos sometidos a esterilización previa, que en concentraciones adecuadas y con las condiciones físicas óptimas permiten un buen crecimiento de los microorganismos, sin embargo, un medio de cultivo no es un duplicado del ambiente natural, ya que se obtienen poblaciones mucho mayores que las que se encuentran en la naturaleza.

¹ CTD: esta cadena está almacenada mayormente en el ambiente, depende de la producción primaria y representa las interrelaciones entre los organismos por los cuales los materiales son recirculados en el ambiente (Pelczar, 1989).

Para determinar el tipo de crecimiento producido por los organismos, así como la capacidad para producir cambios químicos, se utiliza de manera convencional una amplia variedad de medios de cultivo.

Cada medio está elaborado para propósitos especiales que facilitan la identificación, el aislamiento y cuantificación de ciertos tipos de bacterias y hongos.

La realización de estos análisis microbiológicos en algún lugar determinado; suelo, aire, agua, permite encontrar las ventajas y desventajas de las funciones de estos microorganismos en ese ambiente para la utilización del mismo por parte de las personas, ya sea en proyectos ambientales; o en estudios sanitarios, entre otras aplicaciones de esta índole.

Enfocándonos en los análisis microbiológicos del agua, éstos tienen por objeto determinar la presencia ausencia de bacterias u hongos que modifican la aptitud del agua para usos determinados.

Estas modificaciones son frecuentemente complejas y las variaciones de aptitudes pueden ser simultáneamente favorables o desfavorables, según la utilización pretendida.

Es evidente que no existe un organismo ideal indicador de contaminación en el sistema acuático, sin embargo, la presencia de coliformes totales, coliformes fecales, estreptococos fecales y *Clostridium perfringens* se considera como indicio de contaminación por heces, y por muchos años se ha empleado para valorar la calidad del agua.

Es en esta parte donde relacionamos al hombre y a los microorganismos en estudio (los hongos y las bacterias), pues durante toda nuestra vida estamos en contacto con éstos y muchas clases de los mismos colonizan nuestras superficies corporales, el intestino y los orificios, ejemplo, es que la biota bacteriana normal (también llamada flora) de la parte baja de nuestro intestino es tan abundante que casi la mitad del peso seco de las materias fecales son bacterias, y se reconoce, que muchos microbios que generalmente no se consideran patógenos tienen la capacidad de producir infección y enfermedad, por tanto debemos tomar en cuenta que nuestra salud y bienestar están influidos por la presencia o ausencia de microorganismos de nuestro ambiente.

Los agentes de enfermedades infecciosas son los patógenos, éstos han logrado una amplia variedad de estrategias para penetrar en los huéspedes (pondremos al ser humano como tal), multiplicarse y lograr su transmisión, ejemplo, es que los patógenos entéricos como *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*, *Klebsiella sp.*, *Staphylococcus aureus* entre otros de este grupo, producen enfermedades gastrointestinales cuya vía principal de transmisión al huésped es el agua y en segundo caso los alimentos.

Las enfermedades y los parásitos influyen sobre la magnitud de la población por causar mortandad directa, por reducir la natalidad y por obstruir la obtención de una óptima condición física (Farnworth, et-al, 1977).

Por todo esto, es muy importante, analizar la calidad de nuestras aguas continentales y siempre considerarlas como un recurso esencial en la vida del ser humano.

La microbiología se ocupa entonces, de las distintas especies microbianas en relación con los intereses humanos, tanto las que pueden acarrear consecuencias perjudiciales (y en este caso estudia los nichos ecológicos de los correspondientes

agentes, sus modos de transmisión, los diversos aspectos de la microbiota patógena en sus interacciones con el hospedero, los mecanismos de defensa de éste, así como los métodos desarrollados para combatirlos y controlarlos), como de las que reportan beneficios (ocupándose del estudio de los procesos microbianos que suponen la obtención de materias primas o elaboradas, y de su modificación y mejora racional con vista a su imbricación en los flujos productivos de las sociedades).

ANTECEDENTES

En Quintana Roo el estudio de los cuerpos de agua continentales superficiales y subterráneos es limitado y disperso, a pesar que la mayor parte de ellos son ecosistemas sometidos a la presión continua de la actividad antrópica y frecuentemente constituyen receptáculos de desechos urbanos, agrícolas e industriales.

El Sistema Lagunar Bacalar es un cuerpo de agua importante para la capital del estado ya que por su belleza natural podría utilizarse como un valioso recurso en el sector turístico, sin embargo, para este cuerpo de agua existen pocos estudios que nos den información sobre su estructura, características y función, faltando desde los más importantes que comúnmente son la base, ejemplo, estudios biológicos, químicos, físicos y un poco más complejos como una caracterización de flora y fauna.

La investigación de Flores (1996) sobre calidad del agua del sistema lagunario Bacalar y Bahía de Chetumal, se basa fundamentalmente en la comparación de ciertos parámetros fisicoquímicos y la utilización del grupo coliforme como bioindicador de contaminación fecal.

Existen trabajos como el de Gamboa (1997) sobre la distribución de las mojarra en el embalse de la laguna de Bacalar, Península de Yucatán.

En cuanto a la microbiología del sistema lagunar e específicamente de su flora bacteriana y fúngica, no se cuenta con ningún estudio o investigación, existen documentos que mencionan la calidad del agua de ciertos puntos del sistema en donde toman en cuenta al grupo de coliformes como indicadores biológicos, pero no nos dan información más completa acerca del cuerpo de agua.

Existen también análisis por parte de la Secretaría de Salud (SESA) del estado, en cuanto a las enfermedades más comunes y transmitidas por el agua (principalmente la potable). Entre las enfermedades están la salmonelosis, la hepatitis, el cólera y otras más. Sin embargo toda esta información no es disponible al público en general.

JUSTIFICACIÓN

El sistema lagunar Bacalar esta localizado al sur de Quintana Roo, México y es el cuerpo de agua superficial expuesto y más extenso de toda la Península de Yucatán; su orientación y la estructura interna está definida por una falla geológica (Gamboa,1997).

Es el vaso regulador en conjunto con la Bahía de Chetumal de todos los sistemas de humedales que se encuentran entre estos dos cuerpos de agua, es refugio para gran cantidad de aves migratorias, se caracteriza por la presencia de muchas especies endémicas y otras marinas que penetran en las aguas dulces (Miller, 1982), sin embargo, los estudios hechos hasta ahora son insuficientes en cuanto al conocimiento de sus características hidrológicas, geológicas, edafológicas, climatológicas, ecológicas, microbiológicas; y sanitarias entre otras, que en sí forman este gran sistema lagunar.

Este trabajo pretende contribuir a un conocimiento en cuanto a la flora microbiana acuática presente en el sistema lagunar Bacalar.

Los análisis microbiológicos abarcan la caracterización general de su flora bacteriana y fúngica determinando de manera general las interacciones entre estos grupos microbiológicos y el ambiente abiótico que provee dicho sistema, al mismo tiempo ponen de manifiesto la presencia de bacterias u hongos que modifican la calidad del cuerpo de agua permitiendo conocer la fragilidad del mismo ante las perturbaciones microbianas originadas por actividades antrópicas, y también determinan los principales microorganismos representantes de importantes riesgos sanitarios a los que están expuestos las poblaciones cercanas a esta laguna.

El estudio microbiológico del sistema podrá utilizarse como una base fundamentada para estudios posteriores, ya sea como simple conocimiento general de caracterización microbiana y la relación de estos microorganismos con el hombre; o bien para continuar alguna investigación o estudio científico; también puede contribuir en la planeación del uso de este cuerpo de agua como un importante recurso natural y servirá como información en instrumentos legales, ya sean ordenamientos ecológicos territoriales y estudios de impacto ambiental entre otros.

OBJETIVOS

- ✓ Incrementar el conocimiento sobre la flora bacteriana y fúngica del sistema lagunar Bacalar.
- ✓ Determinar cuáles son los principales organismos representantes de riesgos sanitarios habitantes de la columna de agua de los cuerpos lagunares estudiados.

OBJETIVOS PARTICULARES

- ✓ Determinar los principales grupos bacterianos y fúngicos existentes en la columna de agua del sistema lagunar.
- ✓ Determinar los grupos bacterianos que representen un riesgo sanitario.
- ✓ Determinar la distribución de los diferentes grupos bacterianos y fúngicos en los cuerpos lagunares.

ÁREA DE ESTUDIO

Quintana Roo es el más oriental de los estados de la República Mexicana, limita al norte con el Golfo de México, al este con el Mar Caribe, al sur con Belice y Guatemala y al oeste con los estados de Campeche y Yucatán (Mapa 1).

La temperatura media anual para el estado de Quintana Roo en su conjunto es superior a los 26° C, debido a su relieve plano (altura media de 10m sobre el nivel del mar), su localización entre los 18 y 20 grados de latitud al norte del Ecuador y la influencia húmeda del Mar Caribe. El mes de enero es el menos cálido y los meses de abril y mayo son los más calurosos.

El área de estudio se localiza en dicho estado a (19° 00', 18° 30'N) y (88° 15', 88° 30'O) y está a 1.5 metros sobre el nivel del mar (CNA, 1990), dentro de los límites del municipio de Othón Pompeyo Blanco, y fisiográficamente la limitan al oriente la Bahía de Chetumal, al norte los humedales de la reserva de la biosfera de Sian ka'an, aproximadamente en el límite municipal de Felipe Carrillo Puerto, al poniente las estribaciones primeras de la Sierra de Yucatán y al sur el Río Hondo (UQROO, 2003) (Mapa 2).

Las características climáticas de la zona, a partir de la información de las estaciones climatológicas del municipio, presentan, climas catalogados como subhúmedos intermedios y húmedos, isotermales o muy cercanos a la isothermalidad; no obstante lo anterior, no es raro encontrar que dada la cercanía de la zona costera, encontremos en lo más avanzado del invierno temperaturas extremas que pueden descender hasta los 13 y 14 grados Celsius ó en los meses de verano temperaturas que alcanzan los 42 grados Celsius (UQROO, 2003).

Considerando la ubicación de la zona de estudio debemos tomar en cuenta que el paso repetido de grandes masas de aire húmedo provenientes tanto del Mar Caribe como del Océano Pacífico, proporcionan un aporte de humedad considerable que se ve reflejado en una muy alta precipitación con una media anual de 1200mm (UQROO, 2003).

La estructura de fondo del sistema lagunar Bacalar se corresponde con la estructura supuesta de una fractura, sin embargo, los indicios que tenemos muestran una fractura producida por basculamiento a lo largo de una línea de debilidad en la masa caliza principal que se corresponde de manera muy cercana con una línea que podemos trazar a lo largo del centroide de los grupos de cenotes y cuerpos de agua asociados a la formación actual (UQROO, 2003).

Es entonces, un cuerpo de agua con un vaso de naturaleza cárstica como producto de su geomorfología, prevalecen condiciones oligotróficas y profundidades variables.

Los cuerpos de agua más importantes por su volumen de esta región son: laguna Bacalar, laguna San Felipe, laguna Guerrero, la Virtud, San Antonio, laguna Salada y Chile Verde (UQROO, 2003).

En cuanto a la flora de la región Bacalar, tenemos la distribución de dos tipos de asociaciones vegetales, la selva mediana subperennifolia y la selva baja perennifolia (inundable).

La selva mediana subperennifolia presenta como elementos dominantes a las especies: *Manilkara zapota* (chicozapote), *Vitex gaumeri* (yaxnik), *Lysiloma latisiliquum* (tzalam) y *Brosimum alicastrum* (ramón) (UQROO, 2003).

En el caso de la selva baja perennifolia (inundable), los elementos principales son el palo de tinte (*Haematoxylon campechianum*), pucte (*Bucida buceras*), chechem (*Metopium brownei*) y chechem blanco (*Cameraria latifolia*), entre muchas otras más (UQROO, 2003).

La fauna terrestre de la región Bacalar está dominada por las aves, las cuales tienen el mayor número de especies, seguido por los mamíferos y por último los reptiles y los anfibios (UQROO, 2003).

Entre los animales más característicos de la región se encuentran, el Gavilán, el zopilote Rey, las musarañas, los murciélagos, mono araña, tortugas y cocodrilos.

La ictiofauna se ubica a lo largo del sistema lagunar, canales de comunicación y humedales que determinan mucho de la dinámica hidrológica que a la vez determina algunos de los procesos significativos de la región (UQROO, 2003)

La ictiofauna la conforma en su mayoría la mojarra, los bagres, las sardinas, los dormilones, los sábalos y los gupis.

METODOLOGÍA

Material:

El presente trabajo se desarrolló en cuanto al muestreo, en la segunda quincena del mes de junio (final época de secas) de 2002 y la primera quincena de septiembre (época de lluvias) de 2002, procediendo de la siguiente forma:

- Un GPS (Global Positioning System por sus siglas en inglés) diferencial, para georeferenciar los puntos de muestreo.
- Una sonda multiparamétrica YSI 6600, ésta realiza pruebas por medio de sensores que leen datos de la calidad del agua a estudiar. Los parámetros medidos por la sonda fueron: Oxígeno disuelto, temperatura, pH, profundidad, salinidad y sólidos totales disueltos.
- Para la toma de muestra en los cenotes y en lugares con profundidades mayores a 10 metros se utilizó como herramienta característica la botella de Van Dorn diseñada para toma de muestras a grandes profundidades.
- Botes de plástico con capacidad de un litro completamente esterilizados.
- Material de cristalería para el cultivo de los microorganismos (cajas de Petri, matraces, pipetas, cubre y portaobjetos, tubos de ensaye, asas bacteriológicas, etc.); los reactivos utilizados fueron diferentes clases de agar comercial, sustancias específicas para pruebas bioquímicas y colorantes; autoclave, incubadora, microscopio y computadora.

El equipo de trabajo fue usado para tomar los parámetros fisicoquímicos del lugar de muestreo, tomar la muestra en la columna de agua, identificar a los microorganismos encontrados y analizar los datos obtenidos.

El material bibliográfico para la identificación de los microorganismos fue tomado de la biblioteca de la Universidad de Quintana Roo y otra parte estuvo disponible en el departamento de Ciencias de la UQROO.

Se utilizó el software Ecowatch para el análisis de los datos fisicoquímicos obtenidos con la sonda multiparamétrica y el software Systat para los análisis estadísticos.

Del muestreo en el Sistema Lagunar

El trabajo de campo consistió en recorridos a lo largo del sistema lagunar Bacalar (se incluyen las lagunas asociadas a dicho sistema), tomando en cada punto, según la red de muestreo, las coordenadas geográficas, los parámetros fisicoquímicos con la sonda multiparamétrica y la muestra de agua en su botella colocándola posteriormente a baja temperatura para disminuir la actividad metabólica de los microorganismos.

La red de muestreo consistió en 34 puntos abarcando todo el sistema lagunar Bacalar, tomando en cuenta sus lagunas asociadas (Chile verde, Agua Salada, Laguna Guerrero, San Felipe, La virtud, San Antonio y Teresita) en el caso de los

cenotes se tomaron 3 muestras para el cenote Azul y el cenote de la Normal a 5, 10 y 15 metros de profundidad, para los demás cenotes: Cocalitos y Hotel, fueron muestreados solo a 5 y 10 metros, a barcando un total de 40 muestras de agua en todos los puntos de la red.

Se hizo un recorrido en lancha en el sistema lagunar comenzando desde Xul-há como primer punto de la red de muestreo, pasando después por una conexión llamada Mariscal, entrando otra vez al sistema haciendo el recorrido a lo largo de toda la costera Bacalar, incluyendo los cenotes, pasando casi a la mitad del sistema lagunar incluyendo lugares muy someros como Xtomoc y Buenavista entre otros, hasta llegar al final de la laguna posterior a Pedro Antonio de los Santos.

Este recorrido se hizo en dos días debido al tiempo que determina el manual APHA (American Public Health Association por sus siglas en inglés) para muestreo de microorganismos, ya que no se recomienda el análisis de laboratorio después de seis horas tomada la muestra.

El recorrido para las lagunas asociadas se hizo en otros dos días, uno para las de la parte Noreste que la componen Laguna Guerrero, Raudales, Chile Verde y Agua Salada, y el día segundo para las de la parte Noroeste que son, la Virtud, Teresita y San Antonio.

Todo el muestreo se realizó cuidadosamente y siguiendo ciertas indicaciones, ya que el trabajar con microorganismos es algo complejo, es decir, desde la toma de los parámetros, cuidando que la sonda multiparamétrica no bajara en lugares con el sedimento extremadamente removido, la utilización adecuada de la botella de Van Dorn en los lugares profundos, la toma de la muestra con la botella bien sellada y esterilizada, el marcado de las alícuotas para no tener posteriores confusiones y el mantener la nevera a muy bajas temperaturas.

Del Laboratorio

Para proceder a identificar y clasificar a un microorganismo, deben determinarse, con cierto grado de precisión, las características del mismo. Entre ellas, las principales son las siguientes:

- ✓ *características de cultivo*, las sustancias nutritivas necesarias para el desarrollo y las condiciones físicas de un medio que lo favorezcan;
- ✓ *características morfológicas*, el tamaño de las células, su forma de agrupación, diferenciación en tinción e identificación de estructuras;
- ✓ *características metabólicas*, la manera por la cual los microorganismos llevan a cabo los procesos químicos biológicos;
- ✓ *características de la composición bioquímica*, la identificación de las principales características de los componentes químicos de la célula (Pelczar, 1982).

Se utilizó como primer medio de cultivo para todas las muestras tomadas, el "simple", aquí fueron dos tipos, el de PDA² (Papa Dextrosa Agar) y el ABP (Agar Base

² Ver ANEXO (A) para la metodología utilizada en la preparación de cada medio de cultivo.

Peptona), éstos permitieron el desarrollo de muchos grupos de microorganismos a partir de la muestra que contenía gran variedad de los mismos, este medio está compuesto por sustancias nutritivas y algunas complementarias para que pueda soportar el crecimiento de microorganismos exigentes (como algunas bacterias heterótrofas).

Posterior al agar PDA, obtenidos ya del mismo diferentes grupos bacterianos y fúngicos, se utilizaron los medios de cultivo "selectivos", que son la adición al agar nutritivo de ciertas sustancias químicas específicas que impiden el desarrollo de cualquier bacteria u hongo que no sea el que este bajo investigación, para esto se emplearon diferentes medios comerciales como son: el Agar de Dextrosa Sabouraud, el Agar para Salmonella y Shigella, el Agar Mueller Hinton, el Caldo Verde Brillante Bilis al 2%, el Agar de Manitol Salado y el Agar Mac Conkey.

La identificación bacteriana y fúngica de las diferentes cepas ya obtenidas en los medios de cultivo, se realizó tras el estudio de las características morfológicas, tintoriales y bioquímicas (solo para bacterias) de dichos microorganismos.

Al contrario del resto de seres vivos, las bacterias son casi imposibles de identificar solo con caracteres morfológicos, se basa para ello no en cómo son dichos microorganismos, sino en sus efectos sobre los medios en los que crecen, como captando sustancias necesarias para su multiplicación y liberando al medio productos de desecho, enzimas, exotoxinas, etc., estableciendo interacciones propias y características con el entorno.

Para el estudio de sus características morfológicas se hicieron observaciones directas en las cajas de Petri, midiendo el tamaño de la colonia que podía ser variado (de milímetros a varios centímetros), se analizaron las formas que presentaban las colonias ya sea esféricas, alargadas, como manchones irregulares, si presentaban algún olor específico ya sea agrio, pútrido o sin olor, el color de las colonias fue otro aspecto muy importante, al mismo tiempo que la estructura, es decir, si habían elevaciones o no, si la consistencia que mantenían era rugosa, chiclosa, completamente dura, entre otras particularidades.

En esta parte se hizo un primer conteo directo de las colonias con la ayuda de un contador de colonias para cada una de las cepas obtenidas en los agares utilizados. Sin embargo no bastó con solo este, ya que todavía no estaban definidas todas las cepas, pero fue necesario para después ir corroborando resultados.

Antes de realizar los métodos de tinción tanto bacterianos como fúngicos, se hizo una resiembra de todas las cepas obtenidas, para de este modo tener en reserva, muestras viables de nuestros microorganismos.

En el estudio de las características tintoriales, la preparación de un frotis o extensión sobre un portaobjetos fue imprescindible, pues con este método quedan inactivadas y adheridas al vidrio, para así poder aplicar posteriormente los métodos habituales de tinción.

El frotis se realizó tomando una pequeña cantidad de cultivo bacteriano o fúngico, extendiéndolo sobre un portaobjetos limpio y fijándolo, esta fijación fue por calentamiento sobre el portaobjetos en una suspensión de una gota de agua destilada, de esta manera no se pierde la muestra de cultivo en los pasos de lavado necesarios para la tinción, sin embargo es sumamente importante no excederse en el proceso de calentamiento para que los microorganismos no se deformen o se rompan.

La mayoría de los microorganismos carecen de coloración, resulta indispensable teñirlos para poder observarles al microscopio y determinar su tamaño, morfología y disposición relativa, para teñirlos se dispone de un gran número de compuestos orgánicos colorantes, una clasificación práctica de acuerdo con el comportamiento químico de estos colorantes es que puede ser ácidos, básicos o neutros, por tanto los colorantes ácidos tiñen a los componentes celulares básicos y los colorantes básicos a los componentes celulares ácidos.

Al tener ya las preparaciones de microorganismos bien fijados, se les aplicó, al grupo de los hongos la coloración simple de Azul Bromocresol³ (Lynch, 1972), en donde el hongo se tiñe de azul intenso y el fondo de azul pálido y después su análisis directo al microscopio y con ayuda de bibliografía se le clasificó; y para el grupo de las bacterias se utilizó la coloración diferencial de Gram⁴, ésta es una técnica de uso muy común en microbiología, ya que este procedimiento pone de manifiesto diferencias entre las células bacterianas o en partes de una célula bacteriana, la técnica de Gram (Lynch, 1972), es algo más elaborada que la técnica simple para hongos en donde las células se someten a una sola solución colorante o reactivo colorante.

Las bacterias sometidas al método de Gram pertenecían a dos grupos: bacterias *grampositivas* o *gramnegativas*, dependiendo de sus estructuras químicas, dándonos una primera división general, con ayuda de bibliografía, su clasificación.

Seguido al procedimiento de tinción se realizó la batería de las pruebas bioquímicas solo en el grupo de las bacterias, estas pruebas se basan en su habilidad de producir enzimas fácilmente detectables, en las características metabólicas de cada microorganismo, etc., estas interacciones producidas por cada tipo bacteriano que establece con el entorno son muy propias y características que finalmente nos dan una identificación más precisa, sin embargo se aplican comúnmente al grupo de las enterobacterias, morfológicamente son bacilos cortos y cocobacilos Gram-negativos y son microorganismos indicadores e índices de higiene sanitaria, entre los representantes de este grupo están *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia C.* y otros más.

Estas pruebas bioquímicas⁵ formaron un conjunto de seis: la prueba de la lactosa, de la catalasa, del citrato, del indol, de la movilidad y la de KIA.

Para cada muestra se corrió cada una de estas pruebas donde alguna de ellas sirvió solamente para confirmar si realmente el agar utilizado fue el correcto, en cambio, hubo muestras que se les corrió las seis pruebas ya que su identificación era bastante confusa.

Los resultados tanto positivos como negativos de las pruebas realizadas para cada muestra, fueron verificados en la tabla de "Características bioquímicas y otras de algunas bacterias intestinales"⁶, donde se desglosan las particularidades de cada una de las especies que conforman la tabla, al mismo tiempo permitiendo hacer la diferenciación entre las especies y acomodándolas en su taxa.

Finalmente se enlistaron los microorganismos encontrados y con ayuda de la bibliografía, los datos morfológicos obtenidos de la observación directa en el

³ Ver ANEXO (B) forma de preparación.

⁴ Ver ANEXO (B) forma de preparación

⁵ Ver ANEXO (C) forma de preparación.

⁶ Ver Tabla en ANEXO (D).

microscopio, los datos de los métodos de tinción y el conjunto de las pruebas bioquímicas, se obtuvieron las familias a las que correspondían.

Después de identificar las especies obtenidas de cada muestra, fue necesario recurrir otra vez a un conteo directo, para rectificar el número de colonias y poder establecer la tabla de especies.

RESULTADOS

De acuerdo a los resultados obtenidos por la sonda multiparamétrica, el sistema lagunar Bacalar mantiene una oscilación termal donde la mínima es de 27° C y la máxima de 31.5° C, teniendo una temperatura de 30° C en la mayor parte del sistema, en cuanto a la escala de pH (potencial de hidrógeno) tenemos como un mínimo de 7.6 y un máximo de 9.1 manteniendo la mayor parte del sistema un pH de 8.4 mas bien tendiendo hacia la alcalinidad.

Para el análisis microbiológico se estructuró una red o distribución de muestreo, donde se marcaron 10 estaciones o sitios, englobando en éstos, un total de 34 puntos de muestreo.

Las estaciones de muestreo fueron:

El SITIO 1 conformado por el punto de muestreo: Xul-há; el SITIO 2 conformado por: Comienzo Bacalar, Los coquitos, Cenote Azul a 5,10 y 15 m, Cenote Coquitos a 5 y 10 mts, Cenote Hotel a 5 y 10 m; el SITIO 3 conformado por: Mariscal E. y Mariscal S. conformando la parte más suroeste del sistema.

El SITIO 4 conformado por: Cenote de la Normal a 5, 10 y 15 m, Club de Vela, La Naval y Balneario Ejidal; el SITIO 5 abarcando la parte central del sistema, conformado por: Punto-A y Punto-B.

El SITIO 6 conformado por: Xtomoc, Punto-C, Buenavista y Punto-D; el SITIO 7 conformado por: Hueco, Brazo, Wild Lagoon y Final Laguna conformando la parte más Noreste del Sistema.

El SITIO 8 conformado por: Laguna Guerrero, Raudales, Agua Salada 1 y Agua Salada 2 y el SITIO 9 conformado por: Chile Norte, Chile Centro y Chile Sur, marcando los cuerpos de agua de la parte noreste.

El SITIO 10 conformado por: Centro Faunístico, La Virtud, El Encanto, Teresita y Pedro Antonio de los Santos, siendo los cuerpos de agua alternos del lado Noroeste.

La distribución de la red de muestreo se basó en características particulares del sistema, como su batimetría, es decir se tomó muestra en los lugares con grandes profundidades y en los lugares someros; también su estructura morfológica, otra característica del sistema, ya que tiene partes angostas que pueden generar un efecto Venturi donde las corrientes tienen mayor velocidad que en la partes anchas del mismo; otra característica que se tomó en consideración fueron los lugares con poblados, ya que se tienen descargas aunque sean mínimas de aguas residuales domésticas, y finalmente algunos puntos fueron escogidos deliberadamente en lugares donde tal vez no se cumplían las características anteriores pero que son parte del

sistema lagunar y completan la red para hacerla representativa de las características del sistema.

Para todos los puntos de muestreo se tomó, en la columna de agua, una alícuota de 1 litro, a excepción los puntos en los cenotes.

En el cenote Coquitos y en el cenote Hotel se tomaron 2 muestras de 1 litro, una a los 5 metros de profundidad y la segunda a los 10 metros de profundidad; en el caso del cenote Normal y el cenote Azul fueron tomadas 3 muestras de 1 litro a 5, 10 y 15 metros de profundidad.

Los microorganismos encontrados por sitio fueron:

Para el Sitio 1, dentro de su flora bacteriana *Salmonella sp.*, *Shigella sp.*, *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis*, *Klebsiella sp.*, *Bacteroides sp.*, *Alcaligenes sp.*, *Micrococcus sp.* y en la flora fúngica tenemos *Ascomycetes sp.* *Domyctes sp.* y los *Ficomycetes sp.*

Para el Sitio 2, dentro de su flora bacteriana tenemos *Escherichia coli*, *Shigella sp.*, *Salmonella sp.*, *Klebsiella sp.*, *Streptococcus faecalis*, *Micrococcus sp.*, *Alcaligenes sp.*, *Bacteroides sp.*, *Sarcina sp.* y *Staphylococcus albus* y en la flora fúngica tenemos *Ascomycetes sp.*, *Domyctes sp.*, *Ficomycetes sp.* y *Deuteromycetes sp.*

Para el Sitio 3, dentro de su flora bacteriana tenemos *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis*, *Micrococcus sp.* y *Bacteroides sp.* y en su flora fúngica *Ficomycetes sp.* y *Domyctes sp.*

En el Sitio 4, en su flora bacteriana se encontró *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Streptococcus faecalis*, *Micrococcus sp.*, *Bacteroides sp.*, *Sarcina sp.* y *Alcaligenes sp.* y en la flora fúngica tenemos *Ficomycetes sp.*, *Actinomycetes sp.* y *Domyctes sp.*

En el Sitio 5 dentro de su flora bacteriana tenemos *Escherichia coli*, *Staphylococcus albus*, *Micrococcus sp.*, *Bacteroides sp.* y *Sarcina sp.* y para la flora fúngica *Ficomycetes sp.*, *Actinomycetes sp.* y *Domyctes sp.*

En el Sitio 6, dentro de la flora bacteriana *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*, *Shigella sp.*, *Klebsiella sp.*, *Streptococcus faecalis*, *Bacteroides sp.*, *Sarcina sp.*, *Micrococcus sp.* y *Alcaligenes sp.* y en la flora fúngica *Ficomycetes sp.*, *Actinomycetes sp.* y *Domyctes sp.*

En el Sitio 7 se encontró en la flora bacteriana *Salmonella sp.*, *Shigella sp.*, *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis*, *Bacteroides sp.*, *Sarcina sp.*, *Micrococcus sp.* y *Staphylococcus albus* y en la flora fúngica tenemos *Ficomycetes sp.*, *Actinomycetes sp.* y *Domyctes sp.*

En el Sitio 8 tenemos en la flora bacteriana *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*, *Shigella sp.*, *Klebsiella sp.*, *Streptococcus faecalis*, *Bacteroides sp.*, *Sarcina sp.*, *Micrococcus sp.* y en la fúngica tenemos *Ficomycetes sp.*, *Actinomycetes sp.* y *Domyctes sp.*

En el Sitio 9, dentro de su flora bacteriana *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*, *Streptococcus faecalis*, *Bacteroides sp.*, *Sarcina sp.*, *Micrococcus sp.*, *Alcaligenes sp.* y *Staphylococcus albus* y dentro de la flora fúngica tenemos *Ficomycetes sp.*, *Actinomycetes sp.* y *Domyctes sp.*

En el Sitio 10 tenemos dentro de su flora bacteriana *Salmonella sp.*, *Shigella sp.*, *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis*, *Bacteroides sp.*, *Sarcina sp.*, *Micrococcus sp.*,

Alcaligenes sp. y *Staphylococcus aureus* y en su flora fúngica tenemos *Ficomycetes sp.*, *Actinomyces sp.* y *Domyces sp.*

Los organismos encontrados pertenecen a dos de los reinos del mundo de los seres vivos, el Reino Monera que tiene dos subdivisiones, una para las algas azul-verdosas o cianobacterias y otra para las bacterias u organismos procarióticos que no son algas azules verdosas y el Reino Fungi donde se encuentran los hongos y las levaduras.

En cuanto al reino Monera encontramos un total de 5 familias cada una con sus respectivos géneros y especies que se desglosan a continuación:

- Bacilos y Cocos aerobios gramnegativos, clasificación imprecisa en Familia, el Género *Alcaligenes sp.*
- Bacilos aerobios gramnegativos anaerobios facultativos, de la Familia Enterobacteriaceae, los géneros *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*, *Shigella sp.*, *Klebsiella sp.*
- Bacterias anaerobias gramnegativas, de la Familia Bacteroidaceae, el Género *Bacteroides sp.*
- Cocos grampositivos, de la Familia Micrococcaceae, los géneros *Micrococcus sp.*, *Staphylococcus albus*, *Staphylococcus aureus*; de la Familia Streptococcaceae, el Género *Streptococcus faecalis*; de la Familia Peptococcaceae, el Género *Sarcina sp.*

En cuanto al reino Fungi, se encontró:

- De la División Mastigomycota, subdivisión Diplomastigomycotina la especie *Domyces sp.*
- De la División Amastigomycota, subdivisión Ascomycotina, la especie *Ascomycetes sp.* y también de la misma división Amastigomycotina, la Subdivisión Deuteromycotina, la especie *Deuteromycetes sp.*
- La especie *Ficomycetes sp.*

Al tener ya nuestros datos de los organismos obtenidos en el muestreo de campo y ya revisados en el laboratorio, se organizaron y analizaron utilizando la media como primera medida descriptiva básica de uso más frecuente la cual nos interpretó las conclusiones de los datos cualitativos de los organismos.

La tabla 1. Nos muestra los valores promedio de los parámetros fisicoquímicos.

LUGAR	TEMPERATURA (°C)	SALINIDAD (mg/lit)	CONC		pH	STD (gr/lit)
			OD (mg/lit)	PROF (mts)		
Xulhá	29.44	32.93	14.29	1.340	7.840	32.78
Mariscal-entrada	31.71	1.10	17.65	0.298	8.43	1.420
Mariscal-salida	27.21	2.57	25.41	12.642	8.300	3.13
Bacalar 01	29.96	25.620	17.600	0.33	8.20	26.20
Cenote Azul (5mts)	30.46	31.94	15.20	5.127	7.78	31.930
Cenote Azul (10mts)	30.42	31.96	14.70	10.188	7.76	31.950
Cenote Azul (15mts)	30.32	31.970	15.120	15.25	7.73	31.96
Cenote Coquitos (5mts)	29.50	2.44	15.51	5.234	7.61	2.993
Cenote Coquitos (10mts)	29.92	2.04	17.87	10.000	7.795	2.52
Los Coquitos	30.87	2.54	18.73	0.282	8.50	3.11
Cenote Hotel (5mts)	30.26	0.81	21.06	5.855	8.06	1.054
Cenote Hotel(10mts)	29.82	2.16	20.99	10.234	7.99	3.04
C. Normal (5mts)	29.90	2.70	14.49	5.428	7.34	3.29
C. Normal (10mts)	29.37	2.74	13.86	10.807	7.25	3.34
C. Normal (15mts)	29.45	2.75	12.98	15.88	7.260	3.37
Club de Vela	29.89	1.85	9.00	0.54	8.41	2.31
Ejidal	29.62	24.35	21.84	0.295	8.22	25.020
La Naval	29.660	24.480	20.590	0.350	8.220	25.150
Punto-A	29.36	24.61	24.24	0.311	8.35	25.250
Punto-B	29.38	20.02	18.83	0.305	8.33	20.960
Xtomoc	29.24	11.21	10.09	0.387	8.35	23.790
Punto-C	29.27	10.60	6.58	0.277	8.37	11.730
Buenavista	29.11	11.07	-0.97	0.35	8.38	12.14
Punto-D	27.92	10.31	17.03	0.266	8.49	11.410
Brazo	31.033	1.56	24.90	1.551	8.330	1.97
Hueco	28.94	2.54	26.75	0.393	8.44	3.107
Wild lagoon	29.00	1.52	25.89	0.343	8.380	1.91
Final Laguna	29.21	1.53	22.24	0.414	8.330	1.93

Agua Salada-1	31.48	10.47	7.25	0.54	8.340	11.63
Agua Salada-2	31.16	2.820	9.780	0.52	8.42	3.44
Chile norte	29.28	1.76	11.350	0.36	8.420	2.20
Chile centro	30.32	1.89	8.080	0.62	8.430	2.36
Chile sur	29.47	1.81	9.927	0.46	8.393	2.26
Laguna Guerrero	31.53	2.390	9.950	0.38	8.36	3.18
Raudales	30.14	2.19	11.18	0.606	8.21	2.706
Centro Faunístico	31.10	0.07	13.91	0.350	7.96	0.09
El Encanto	31.50	0.12	13.98	0.443	8.33	0.17
La Virtud	30.16	0.14	12.95	0.376	8.20	0.19
San Antonio	30.89	0.14	13.69	0.324	8.76	0.201
Teresita	31.13	0.12	14.01	0.423	9.110	0.17
MEDIA	29.96	8.65	15.46	3.00	8.18	9.43

Como nos lo indica la tabla el valor de la media, que comúnmente es llamado promedio, para el comportamiento de nuestro sistema lagunar Bacalar en la temperatura es de 29.96°C tomando al sistema como isotermal ya que en la mayoría de los puntos se muestra una temperatura muy cercana a la media, a diferencia de sólo dos puntos que baja a 27.5°C marcando el valor mínimo en dicho Sistema.

La salinidad del sistema tiene un valor medio de 8.65 mg/lit, su comparación con la salinidad de las aguas dulces duras con 0.03 mg/lit según Grant (1989) observamos que está muy por encima de dicha cifra .

En cuanto a la concentración de oxígeno disuelto, sabemos, que la solubilidad del mismo en agua pura a 29°C es de 7.64 mg/lit, el comportamiento entonces en nuestro sistema tiene una media de 15.46 mg/lit por arriba de la del agua pura, debido talvez a la presencia de sales en el mismo.

La profundidad media en el sistema es de 3.00 mts; el pH (potencial de Hidrógeno) es de 8.33 modificándolo hacia el lado alcalino de la neutralidad debido a la presencia principalmente de bicarbonatos, carbonatos e hidróxidos.

Finalmente la concentración de sólidos totales disueltos es de 9.43 gr/lit teniendo en algunos puntos una masa de agua turbia a los 32 gr/lit como aparece en Xulhá.

Los sitios L. Guerrero, Raudales, Chile Verde, La virtud, Centro Faunístico, El encanto, Teresita y San Antonio, que se identifican con los números 8, 9 y 10, comprenden los cuerpos de agua secundarios respecto a la laguna Bacalar, analizar su comportamiento por separado es importante.

El sitio 10 nos muestra la salinidad mínima con respecto a todo el sistema lagunar Bacalar con un valor de 0.12 mg/lit haciéndolo la parte con menor salinidad pues está siete unidades por debajo de la media (8.65 mg/lit), también tiene el valor más pequeño en cuanto a la concentración de sólidos totales disueltos con una cantidad de 0.09 gr/lit quedando muy por debajo de la media (9.443 gr/lit), sin embargo tiene el valor de pH más alto con respecto a todo el sistema lagunar con 9.11 rebasando a la media por casi una unidad (8.33) y también la temperatura más alta

con un valor de 31.53°C rebasando a la media por casi dos unidades. Los otros dos sitios el 8 y el 9 marcan mucha similitud respecto a sus valores con la media de todo el sistema lagunar Bacalar.

Las relaciones existentes entre los factores abióticos del sistema lagunar Bacalar y la presencia de las diferentes especies de microorganismos bacterianos y fúngicos encontrados, son determinantes para poder establecer una primera imagen del sistema en cuanto a sus comunidades microbianas.

Para poder esclarecer las relaciones existentes entre los componentes abióticos del sistema se hizo un segundo conjunto de análisis

El análisis de correlación de rangos de Spearman al ser aplicado a los valores registrados de los parámetros ambientales, muestra que hay relaciones que deben ser consideradas como la existente entre TDS (sólidos disueltos totales) y la salinidad o pH y la profundidades.

La tabla 2. Correlación de rangos Spearman.

	<i>TEMP</i>	<i>SAL</i>	<i>DOCONC</i>	<i>PROF</i>	<i>PH</i>	<i>TDS</i>
TEMPERATURA	1.00					
SALINIDAD	-0.35	1.00				
DOCONC	-0.16	0.075	1.00			
PROFUNDIDAD	0.08	0.048	-0.019	1.00		
PH	0.043	-0.361	-0.092	-0.639	1.00	
TDS	0.327	0.997	0.054	0.0470	0.355	1.00

Por tanto, se aplicó un análisis de componentes principales a los sitios de muestreo en el sistema lagunar Bacalar, se obtuvo que hay una marcada homogeneidad en cuanto a sus factores abióticos, siendo sin embargo, la temperatura con (33.245%), la salinidad con (28.468%) y finalmente los sólidos totales disueltos con (20.002%) de la varianza explicada, los factores que determinan las diferencias aparentes entre los sitios.

El análisis de agrupamientos sobre la matriz de distancias euclidianas nos muestra en primera instancia dos grandes grupos, conformados por sitios, que de forma general dividen al sistema por su eje principal en dos regiones, el primer grupo se encuentra al Noreste y el otro al Suroeste, haciendo más minuciosos los análisis de cada grupo existe una marcada diferencia en su similitud, es decir, tenemos una mayor semejanza en características fisicoquímicas para los sitios 4 (excluyendo el cenote de la Normal), 5, 6, 7 y 10 que conforman la parte Noreste del Sistema, donde los componentes principales son la temperatura, la salinidad y la concentración de oxígeno disuelto; y para la parte Suroeste donde se encuentran los sitios 1, 2 y 3 incluyendo además el cenote de la Normal tenemos también mayor similitud en parámetros físicos.

Los componentes principales son temperatura, salinidad y la concentración de oxígeno disuelto pero la diferencia entre ambos grupos de sitios (el noreste y el suroeste) es la salinidad, el primer grupo marca 15.334 mg/lit en promedio y el segundo

disminuye hasta 7.818 mg/lit, debido a la lejanía de la zona costera la cual en el primer grupo es muy cercana.

Este análisis nos da un panorama general del sistema, sin embargo, para darnos una idea más clara, se hicieron análisis en los sitios, agrupándolos en cinco conjuntos, los cuales tienen características propias, el primero que abarca los sitios 1 y 2, este conjunto, tiene como factor principal a la temperatura con un 86.477% de varianza, la salinidad y la concentración de oxígeno disuelto con 10.040 y 3.483% respectivamente, también tiene la media más alta de salinidad con 32.3mg/lit y en temperatura con 30.16oC en comparación con los otros cuatro conjuntos de sitios.

El segundo conjunto abarca los sitios 2 y 4 solamente interesándonos los cenotes que se encuentran en dichos sitios, por tanto, en este conjunto el dato más relevante es la salinidad que disminuye drásticamente en comparación con los otros conjuntos a una media de 2.4843mg/lit.

El tercer conjunto abarca los sitios 4 y 5, este conjunto no tiene una diferencia en cuanto a sus factores principales ya que la salinidad es la que aparece en primer lugar con un 41% de varianza seguido de la temperatura con un 39.879% y la concentración de sólidos totales con 21.6%.

El cuarto conjunto entra el sitio 6 con una marcada disminución en la concentración de oxígeno disuelto en comparación de todos los conjuntos con una media de 5.754mg/lit y una salinidad de 10.791 mg/lit.

El quinto y último conjunto que abarca el sitio 7, mantiene un valor pequeño en salinidad con una media de 1.74mg/lit y marca la mayor concentración de oxígeno disuelto de todo el sistema lagunar incluyendo las lagunas alternas con una media de 24.88mg/lit.

Un tercer conjunto de análisis se hizo con la parte biótica del Sistema lagunar entendiendo conceptos como la biodiversidad o diversidad biológica que se define como "la variabilidad entre los organismos vivos de todas las fuentes, incluyendo, entre otros, los organismos terrestres, marinos y de otros sistemas acuáticos, así como los complejos ecológicos de los que forman parte; esto incluye diversidad dentro de las especies, entre especies y de ecosistemas" (UNEP 1992). El término comprende diferentes escalas, la variabilidad de individuos, poblaciones, conjunto de especies, comunidades completas hasta el conjunto de estas mismas en una región.

Actualmente se han desarrollado una gran cantidad de parámetros para medirla como un indicador del estado de los sistemas ecológicos, con aplicabilidad práctica para fines de conservación, manejo y monitoreo ambiental (Moreno, 2001).

Por tanto, el número de especies es la medida utilizada con mayor frecuencia para medir dicha biodiversidad.

En la siguiente tabla se enlistan las especies encontradas por sitio.

Tabla (3). Especies encontradas por sitio.

NOM. ESPECIES	NÚMERO DE ESPECIES (colonias)										
	SITIO 1	SITIO 2	SITIO 3	SITIO 4	SITIO 5	SITIO 6	SITIO 7	SITIO 8	SITIO 9	SITIO 10	
ENTEROBACTERIACEAE	<i>Escherichia coli</i>	134	348	5	356	26	307	512	37	10	103
	<i>Salmonella sp.</i>	3	11	0	15	0	4	9	9	0	4
	<i>Shigella sp.</i>	3	3	0	1	0	2	1	5	0	2
	<i>Klebsiella sp.</i>	2	3	0	0	0	1	37	2	0	0
STREPTOCOCCACEAE	<i>Streptococcus faecalis</i>	29	60	3	85	0	94	49	11	2	3
	<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
	<i>Staphylococcus albus</i>	0	2	0	0	3	0	7	8	0	3
MICROCOCCACEAE	<i>Micrococcus sp.</i>	4	15	6	18	10	17	14	4	3	11
FAM. IMPRECISA	<i>Alcaligenes sp.</i>	3	7	0	16	0	4	11	7	1	3
PEPTOCOCCACEAE	<i>Sarcina sp.</i>	0	4	0	6	2	23	3	9	0	5
BACTEROIDEACEAE	<i>Bacteroides sp.</i>	4	17	4	17	9	23	15	12	4	23
	<i>Ficomycetes sp.</i>	2	70	5	27	3	21	25	31	6	10
AMASTIGOMYCOTA	<i>Ascomycetes sp.</i>	2	0	0	0	1	12	11	1	3	2
DEUTEROMYCOTA	<i>Deuteromycetes sp.</i>	0	3	0	2	0	0	0	0	0	0
MASTIGOMYCOTA	<i>Dormycetes sp.</i>	2	32	2	14	3	3	3	17	0	1

Los estudios sobre medición de biodiversidad se han centrado en la búsqueda de parámetros para caracterizarla como una propiedad emergente de las comunidades ecológicas (Moreno 2001).

En cada unidad geográfica, en cada paisaje, se encuentra un número variable de comunidades, por ello, la separación de los componentes alfa, beta y gamma puede ser de gran utilidad, principalmente para medir y monitorear los efectos de las actividades humanas (Moreno, 2001).

Aplicando lo antes mencionado, tenemos que la unidad geográfica es nuestro sistema lagunar Bacalar (siempre incluyendo sus lagunas alternas), para el análisis de la biodiversidad se dividió en 8 comunidades aplicando a cada una los tres componentes antes mencionados.

Las 8 comunidades están comprendidos por los 10 sitios en que habíamos dividido nuestro sistema lagunar Bacalar, teniendo entonces:

- ✓ Comunidad 1: Xulhá, Bacalar 01 y los coquitos.
- ✓ Comunidad 2: Mariscal E. y Mariscal S.
- ✓ Comunidad 3: C. azul, C. coquitos, C. hotel y C. normal.
- ✓ Comunidad 4: Punto A, Punto B, Punto C, Punto D, Xtomoc y Buenavista.
- ✓ Comunidad 5: Hueco, Wild lagoon, Brazo, Final laguna.
- ✓ Comunidad 6: Laguna Guerrero, Raudales, Agua salada 1 y Agua salada 2.
- ✓ Comunidad 7: Chile verde norte, Chile verde centro y Chile verde sur.
- ✓ Comunidad 8: Centro Faunístico, El encanto, La virtud, Teresita y San Antonio.

Si entendemos a la **diversidad alfa** como el resultado del proceso evolutivo que se manifiesta en la existencia de diferentes especies dentro de un hábitat particular (Hudson, 1994), entonces, un simple conteo del número de especies de un sitio (índice de riqueza específica) sería suficiente para describirla, sin necesidad de una evaluación del valor de importancia de cada especie dentro de la comunidad (Moreno, 2001).

La principal ventaja de los índices es que resumen mucha información en un solo valor y nos permiten hacer comparaciones rápidas y sujetas a comprobación estadística entre la diversidad de distintos hábitats o la diversidad de un mismo hábitat a través del tiempo (Moreno, 2001).

Existen en la bibliografía varios índices entre los cuales están el de diversidad de Margalef, de Menhinick, de Williams, entre otros.

En este caso se utilizó el índice de diversidad de Menhinick, el cual se basa en la relación entre el número de especies y el número total de individuos observados, teniendo entonces:

$$D_{Mn} = S / \sqrt{N}$$

donde:

S= número de especies

N= número total de individuos

Por lo tanto para cada una de nuestras comunidades se obtuvo:

Tabla 4. Diversidad Alfa.

DIVERSIDAD ALFA	
<i>Comunidad 1</i>	0.423
<i>Comunidad 2</i>	1.2
<i>Comunidad 3</i>	0.545
<i>Comunidad 4</i>	0.545
<i>Comunidad 5</i>	0.574
<i>Comunidad 6</i>	1.05
<i>Comunidad 7</i>	1.299
<i>Comunidad 8</i>	0.988

Para esta diversidad (alfa), se hizo un segundo análisis con el modelo de Sahnnon-Weaver para calcular la diversidad general y la diversidad del grupo de bacterias entéricas para el sistema lagunar, obteniendo los siguientes resultados explicados en las tablas (5 y 6).

Se tomaron en cuenta para la de diversidad general todos aquellos sitios mayores a 2.0 bits/ind y en el caso de la diversidad para el grupo de las bacterias entéricas se tomaron todos aquellos mayores a 1.0 bits/ind.

Tabla 5. Sitios con mayor diversidad (General).

NOMBRE DEL SITIO	DIV. en bits / ind
Raudales	3.162
Cenote Azul (5mts)	2.663
Bacalar 01	2.630
Laguna Guerrero	2.595
Punto-A	2.488
Chile verde centro	2.481
Chile verde sur	2.419
Xtomoc	2.389
Club de Vela	2.358
Mariscal-entrada	2.257

Tabla 6. Sitios con mayor diversidad (Bacterias entéricas).

NOMBRE DEL SITIO	DIV. en bits / ind
Raudales	1.789
Laguna Guerrero	1.614
Centro Faunístico	1.510
Xulhá	1.458
La Virtud	1.427
Bacalar 01	1.309
Cenote Coquitos (5mts)	1.204
Club de Vela	1.202
Cenote Azul (5mts)	1.198
Buenvista	1.092

La **diversidad beta** o diversidad entre hábitats es el grado de reemplazo de especies o cambio biótico a través de gradientes ambientales (Whittaker, 1972) es decir, el cambio de biodiversidad entre distintas comunidades.

Para el análisis de este índice se pueden utilizar datos cualitativos (presencia-ausencia de especies) o cuantitativos (biomasa, densidad, cobertura, etc.).

Para nuestro sistema lagunar se analizó la diversidad beta con el Coeficiente de similitud de Jaccard (Moreno, 2001) expresado por:

$$I_j = c / a + b - c$$

donde:

a= número de especies presentes en la comunidad A

b= número de especies presentes en la comunidad B

c= número de especies presentes en ambos sitios A y B

El intervalo de valores para este índice va de 0 cuando no hay especies compartidas entre ambos sitios, hasta 1 cuando los dos sitios tienen la misma composición de especies.

Se obtuvo entonces una semimatriz con los datos para todas las combinaciones posibles de sitios, obteniendo a la pareja de comunidades C3 y C5 con un índice de 1 representando sitios con una misma composición de especies, seguido por la pareja C3 y C6 con un índice beta de 0.928, después aparecen las parejas C1 y C5, C1 y C6 con un índice beta de 0.923 y por último la pareja C6 y C8 con un índice de 0.733.

La pareja de comunidades en donde no existen especies compartidas es C5 y C6 con un índice 0 seguido por la pareja C1 y C3 con un índice beta de 0.3.

Finalmente esto nos arroja que tenemos especies compartidas en la mayoría de nuestras comunidades y que son pocas comunidades donde no hay especies compartidas considerándolas a partir del índice 0.4 hacia abajo, por tanto el sistema puede comportarse con similitud entre la mayoría de sus comunidades.

Tabla 7. Matriz de comunidades para la obtención de los índices beta.

	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8
C1	1							
C2	0.5	1						
C3	0.3	0.428	1					
C4	0.388	0.727	0.8	1				
C5	0.923	0.461	1	0.444	1			
C6	0.923	0.461	0.928	0.444	0	1		
C7	0.538	0.625	0.5	0.428	0.538	0.428	1	
C8	0.470	0.857	0.8	0.4444	0.857	0.733	0.538	1

La **diversidad gamma** se entiende como la riqueza en especies de un grupo de hábitats (un paisaje, un área geográfica, una isla) que resulta como consecuencia de la diversidad alfa de las comunidades individuales y del grado de diferenciación entre ellas (diversidad beta) (Moreno, 2001).

En sí, la diversidad gamma es la heterogeneidad de un sistema, resultado de las diversidades encontradas en las comunidades del mismo.

Algunos análisis de diversidad gamma se basan en presentar listas de especies de sitios puntuales (diversidad alfa), sin embargo Schluter y Ricklefs (1993) proponen la medición de la diversidad gamma con base en los componentes alfa, beta y la dimensión espacial:

Gamma: (diversidad alfa promedio) (diversidad beta) (dimensión de la muestra)

donde:

diversidad alfa promedio es el número promedio de especies en una comunidad.

diversidad beta es el inverso de la dimensión específica, es decir, 1/número de comunidades ocupadas por una especie

dimensión de la muestra es el número total de comunidades

Por tanto, nuestro sistema está conformado por 8 comunidades, entonces la diversidad gamma de especies fúngicas y bacterianas de acuerdo con esta fórmula sería: $(7.4) (0.2) (8) = 11.84$.

De esta forma, el valor de la diversidad gamma obtenido está expresado en número de especies y considera los elementos biológicos. Su valor suele aproximarse al número total de especies registradas en todas las comunidades.

Por tanto, esta medida al respecto del sistema nos lo arroja como un sistema homogéneo ya que cada comunidad se acerca al número máximo de especies encontradas en todo el sistema lagunar.

Sin embargo, en la actualidad, no es posible realizar una comparación con lagunas oligotróficas de otras regiones del mundo, debido a la escasez de trabajos con

la metodología del presente, así como también , de la manera en que se presentan los resultados en la literatura especializada en bacteriología y micología.

DISCUSIÓN

La variabilidad de los nutrientes orgánicos en un lago puede ser un factor limitante en el crecimiento o desarrollo de ciertas poblaciones microbianas como las de los microorganismos heterótrofos, entonces es importante mencionar que nuestro sistema está conformado por varias especies de microorganismos heterótrofos y que un cambio en las concentraciones de los nutrientes orgánicos podrá llevar a un desequilibrio en su microhábitat.

Los bajos niveles de nutrientes son típicos en los cuerpos de agua dulce no contaminados ya que estos cuerpos no reciben cantidades de nutrientes significativas de fuentes terrestres.

Según Atlas (1981) los ambientes de aguas dulces son muy poco estudiados, sin embargo en el caso de las poblaciones microbianas se tienen datos de especies que representan de forma general estos hábitats entre las cuales están, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Escherichia*, *Bacteroides*, *Alcaligenes*, *Streptococcus*, *Spirillum*, *Nocardia* y *Vibrio.*, nuestro sistema lagunar muestra la presencia de seis de las especies antes mencionadas

Atlas (1981) menciona que las bacterias autótrofas son miembros importantes de la microbiota de los lagos ya que usualmente juegan un papel funcional en el ciclo de nutrientes del mismo, para nuestro sistema hay que enfocar posteriores estudios un poco más en esta clase de microorganismos, sin embargo, la misma oligotrofia reportada en el sistema lagunar nos dice que hay una escasez de estos microorganismos autótrofos.

Según Wiley (1980), el conjunto de poblaciones de bacterias heterótrofas están distribuidas a todo lo largo de la columna de agua, pero principalmente en aquellas partes donde la concentración de materia orgánica es alta, por tanto lugares como Xulhá, los Coquitos, Buenavista, Xtomoc entre otros muestran la presencia de este tipo de bacterias por la mayor concentración de sólidos totales disueltos.

Las levaduras son más bien encontradas en los lagos y en los ríos que en ecosistemas marinos.

Según Atlas (1981) algunas especies fúngicas como los *Fycomicetos* son en su mayoría habitantes en la columna de aguas dulces y son especies saprobias, y que además son importantes en el flujo de estos ecosistemas, por tanto cabe mencionar que nuestro sistema lagunar tiene en las especies fúngicas encontradas a los *Fycomicetos* con un 70% en número de colonias por arriba de todas las demás,

Los *Ascomycetes* según Atlas (1981) son encontrados en ecosistemas de agua dulce y asociados a la flora acuática del lugar, en este punto podemos mencionar que los sitios de nuestro sistema que muestran la más alta cantidad de dichos microorganismos es al final de la laguna Bacalar y a simple vista era la parte con mayor cantidad de flora macroscópica (como *Nymphaea sp.*, *Chara sp.* etc...).

Es importante el estudio de las bacterias en este tipo de ecosistemas oligotróficos ya que son las indicadas según Atlas (1981) para la disolución de los componentes orgánicos que se encuentran en bajas concentraciones ya que aumentan el flujo de estos en niveles posteriores.

También Hobbie en Atlas (1981) describe a los hongos y las bacterias de los ecosistemas de agua dulce mencionando que estos son los responsables de la descomposición de la materia orgánica alóctona.

Según Margalef (1991), la diversidad puede ser considerada como un parámetro descriptor del ecosistema con propiedades interesantes, en este sentido, se puede generalizar en cuanto a que una diversidad baja es común en comunidades transitorias, explotadas o bajo condiciones ambientales muy fluctuantes, por otra parte, considerando que los valores máximos de diversidad rebasan 5bits/ind usando el índice de Shannon-Wiener, la diversidad para el sistema lagunar no se puede describir como baja ya que es un ecosistema estable en sus condiciones ambientales y se presentan diversidades medias ya que hay sitios que llegan a un valor de casi 3 bits/ind.

Begon (1987) menciona que en algunos casos ha sido posible relacionar la riqueza de especies con la heterogeneidad espacial del ambiente abiótico, ya que es casi seguro que una comunidad dada que cubra diversos tipos de microhábitats presentará más especies que una comunidad que ocupe un solo tipo de hábitat, en el caso de nuestro sistema lagunar tenemos similitudes de comunidades en especie y los microhábitats son un tanto homogéneos a lo largo y ancho del sistema.

La contaminación del agua determina un descenso de la diversidad, tanto por establecer condiciones rigurosas que pocas especies pueden resistir, como por estimular el poco desarrollo de unas especies en ambientes altamente fluctuante e inestable (Pearson (1956) en Margalef 1991), aquí tenemos un punto a favor ya que nuestro sistema lagunar no es muy fluctuante, además por ser un lago oligotrófico, sus cambios tienden a ser lentos, esto puede darle una mayor resistencia por su inercia, ante perturbaciones originadas en diferentes formas de contaminación, sin embargo como todo ecosistema tendrá su límite de autodepuración, límite que define en gran medida la fragilidad del mismo.

Según Grant (1989), la población microbiana normal de un curso fluvial "limpio" y de bajo contenido en nutrientes (oligotrófico) está constituida por una gran variedad de especies con un número relativamente escaso de individuos (menores a $10^3 - 10^4$ cel/ml) pertenecientes a cada una, es notable comparar que en la mayoría de las especies encontradas en nuestro sistema lagunar solo dos grupos se disparan con 512

cel/ml (*Escherichia coli*) y 97 cel/ml (*Streptococcus faecalis*), por tanto el sistema se mantiene de normal a bajo en número de los mismos, especies que son de importancia sanitaria y riesgos para la salud.

Para la planeación de uso de cuerpos de agua dulce es necesario considerar las poblaciones de microorganismos presentes, ya que muchos de estos pueden ser patógenos, como el caso del grupo de bacterias entéricas, por tanto, la presencia de éstos tiene que llevar a un análisis mucho más amplio y riguroso antes de una decisión final.

De acuerdo con las normas oficiales mexicanas en cuanto a calidad del agua, mencionan con respecto al grupo coliformes 0 ind/ ml de agua analizado y 0 ind/ml de levaduras y hongos, por tanto nuestro sistema no cumple con esta norma, entonces el uso como agua potable no es recomendable.

Actualmente, el número de publicaciones y de aportaciones conceptuales o basadas en el estudio sistemático de estos recursos naturales han corroborado la heterogeneidad de procesos, tanto abióticos como bióticos, y las particulares interacciones que se dan entre ellos.

CONCLUSIONES

Este estudio realizado en el sistema lagunar Bacalar permite por vez primera un incremento en el conocimiento general de su flora bacteriana y fúngica, y puede tomarse a partir de aquí como una información para continuar estudios de investigación científica; por otro lado contribuye también en la toma de futuras decisiones en cuanto al uso que se le puede dar a dicho sistema lagunar al establecer un primer punto de comparación para estos descriptores de la condición de los cuerpos de agua en la región estudiada.

Es una importante herramienta en los Ordenamiento Ecológicos Territoriales ya que proporciona una fuente importante de información en la etapa de caracterización del ecosistema en conjunto y posteriormente orienta la toma de decisiones en cuanto al destino de dichos recursos hídricos.

El estudio efectuado en el sistema lagunar Bacalar, ha permitido establecer, que la composición de la flora microbiana y fúngica dependen de la variación entre la época de lluvia y la de secas en la región y de los factores fisicoquímicos específicos de cada uno de los cuerpos de agua estudiados en esta área.

La flora microbiana del sistema lagunar Bacalar representa un componente vital del proceso cíclico que suministra material nutritivo para la vida en ese medio.

De acuerdo a los datos obtenidos de los muestreos y en comparación con las fuentes bibliográficas, se encontró que la composición de especies varía a todo lo largo del sistema lagunar, debido a las condiciones particulares que lo conforman, así como el estado trófico que se presenta manifestando la presencia o dominancia de algunos taxos.

Es importante hacer notar que existen algunos indicios de relación entre la presencia de ciertas especies y las variaciones de los factores ambientales como era de esperarse en un sistema oligotrófico como este.

La homogeneidad del sistema desde el punto de vista de los hongos y levaduras es debido en mucho a las condiciones ambientales generales del área.

Las poblaciones saprobias más relevantes se encontraron asociadas a los centros poblacionales como Xulhá, Bacalar, Buenavista, Pedro Antonio de los Santos, por la descarga de algunos materiales orgánicos en el cuerpo de agua.

En cuanto a las bacterias, tenemos la presencia del grupo de bacterias entéricas en todos los sitios muestreados, seguido por la familia *Micrococcaceae* y la *Bacteroidaceae* que también se presentan en la mayoría de estos sitios.

Los grupos bacterianos que representan algún riesgo sanitario para las poblaciones antes mencionadas son las del grupo *Enterobacteriaceae*, el *Streptococcaceae* y el *Micrococcaceae* principalmente para las poblaciones cercanas a la laguna Bacalar como lo son Xulhá, Bacalar, Buenavista, Xtomoc, Wild Lagoon, Pedro A. Santos, Raudales; y también comunidades cercanas a las lagunas como L. Guerrero, el centro Faunístico San Felipe Bacalar y ranchos como el Encanto.

Sin embargo, cada tipo de ecosistema establece sus límites de acuerdo con sus propias características ecológicas, por tanto, falta un gran número de taxones por estudiar, de los cuales, es necesario entender los mecanismos de transporte y colonización, las interacciones y el papel que juegan en dicho ecosistema.

Queda como uno de muchos puntos que en este momento se están evaluando y analizando, el establecer si existen otras relaciones con los factores ambientales por parte de las especies halladas y dado que algunas de ellas son importantes desde el punto de vista sanitario las consecuencias que podría tener para la población local.

Estudios más detallados en bacteriología son necesarios en el área, los cuales contribuirían en la determinación del flujo de energía en el ecosistema así como en la contribución positiva (degradación de contaminantes, depuración del Sistema, entre otras) o negativa (exceso o disminución de la flora bacteriana y fúngica implicando eutrofización) de estos organismos en el metabolismo de la región.

ANEXO (A)

Preparación de Medios de Cultivo.

Para la identificación bacteriana y fúngica se emplearon diferentes medios de cultivos comerciales, desde los simples hasta los enriquecidos. Cada medio tiene características específicas para el aislamiento e identificación de las colonias microbianas.

1. *Agar Base Peptona*

Rehidratar 25.5gr en 1Lt de agua destilada; calentar hasta punto de ebullición para disolver el medio por completo. Esterilizar en autoclave a 121oC por 15 minutos.

2. *Agar de Papa y Dextrosa*

Rehidratar 39gr en 1Lt de agua destilada; remojar de 10 a 15 minutos; calentar hasta el punto de ebullición para disolver el medio. Esterilizar en autoclave a 121oC por 15 minutos.

3. *Caldo Verde Brillante Bilis al 2%*

Rehidratar 40gr del medio en 1Lt de agua destilada; calentar agitando hasta punto de ebullición para disolver el medio completamente. Esterilizar en autoclave a 121oC por 15 minutos.

4. *Agar de Dextrosa Sabouraud*

Suspender 65gr del polvo en 1 lt de agua destilada; mezclar perfectamente, calentar con agitación frecuente y hervir durante un minuto hasta disolución completa. Esterilizar en autoclave a 121oC por 15 minutos.

5. *Agar de Manitol Salado*

Suspender 38gr del polvo en 1Lt de agua destilada; mezclar perfectamente, calentar con agitación frecuente y hervir durante un minuto hasta disolución completa. Esterilizar en autoclave a 121oC por 15 minutos.

6. *Agar Mueller Hinton*

Suspender 38gr del polvo en 1Lt de agua destilada; mezclar perfectamente, calentar con agitación frecuente y hervir durante un minuto hasta disolución completa. Esterilizar en autoclave a 121oC por 15 minutos.

7. *Agar Mc Conkey*

Suspender 50gr del polvo en 1 lt de agua destilada; mezclar perfectamente, calentar con agitación frecuente y hervir durante un minuto hasta disolución completa. Esterilizar en autoclave a 121oC por 15 minutos.

8. Agar para *Salmonella* y *Shigella*

Suspender 60gr de polvo en 1Lt de agua destilada; mezclar bien hasta que se obtenga una suspensión homogénea; calentar agitando frecuentemente y hervir durante 1 minuto. No esterilizar en autoclave.

ANEXO (B)

Preparación métodos de Tinción (Lynch, 1972) .

Los microorganismos no teñidos muestran pocos detalles morfológicos, el diagnóstico se basa en las diferentes afinidades tintoriales de éstos para identificarlos más adecuadamente.

1. De Gram (para bacterias)

Es el más ampliamente utilizado en bacteriología y la mayoría de los microorganismos son clasificados según su reacción a esta tinción.

En este procedimiento, el frote bacteriano teñido se somete a las soluciones siguientes en el orden que se indica: se tiñe con cristal violeta por un minuto, se aplica una solución de yodo por un minuto más, se decolora con alcohol hasta que ya no escurre líquido azul y se vuelve a teñir con safranina o alguna otra solución colorante de contraste conveniente por un minuto y finalmente se lava con agua.

Las bacterias pertenecen a dos grupos, las *gram positivas* que retienen el cristal violeta y aparecen color violeta profundo; las bacterias *gram negativas* que pierden el cristal violeta y por el contraste de la safranina aparecen rojas.

2. Azul de algodón de lactofenol

El colorante más útil para examinar preparaciones de cultivos fúngicos es el azul de algodón de lactofenol, que se prepara con ácido láctico, fenol, glicerina y agua destilada; esta mezcla se calienta ligeramente a baño María para disolver los componentes sólidos y se le añade luego azul bromocresol (0.05gr).

Con una aguja estéril, se recoge del medio una pequeña porción de la colonia, y se pone el material en una gota de colorante sobre la gota. El hongo se tiñe de azul intenso y el fondo es azul pálido.

ANEXO (C)

Pruebas Bioquímicas (Lynch, 1972).

Se realiza toda una batería de pruebas bioquímicas, para lo cual existe en el mercado una gran cantidad de medios de cultivo caracterizados por ser bastante generales -la bacteria ya ha sido aislada y ahora se trata de que crezca en las mejores condiciones- y por estar formulados para detectar o revelar una determinada característica bioquímica del microorganismo.

Por ejemplo, para confirmar la presencia de enterobacterias en un medio se realizan unas pruebas llamadas, en conjunto, IMViC (I=Indol, MV=Rojo de Metilo y Voges-Proskauer, C=Citrato)

La batería de pruebas bioquímicas que se describe es la forma clásica y general de identificación de enterobacterias y cocos Gram positivos, de todas se pueden anular algunas según como se vayan obteniendo los datos, ya que con tan solo la aplicación de una o dos podemos obtener la clasificación del organismo.

1. Lactosa

Esta prueba se usa para diferenciar entre las enterobacterias en general y el grupo de las coliformes.

Una manera sencilla de realizar la prueba de la fermentación de la lactosa en enterobacterias es sembrar el microorganismo en agar McConkey, ya que este medio, además de selectivo frente a bacterias no entéricas, es diferencial ya que contiene lactosa y un indicador de pH (rojo neutro).

En agar McConkey las bacterias Gram positivas ven inhibido su crecimiento debido a la presencia de sales biliares y cristal violeta y sólo crecerán las enterobacterias, pero entre ellas las que fermenten la lactosa (coliformes) liberarán productos ácidos que producirán un cambio de pH que se detectará gracias al rojo neutro.

Las colonias lactosa (+) aparecerán de color rojo o violeta contrastando con la coloración amarillenta de las colonias lactosa (-).

2. Catalasa

Se utiliza para comprobar la presencia del enzima catalasa que se encuentra en la mayoría de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas que contienen citocromo. La principal excepción es *Streptococcus*.

Originalmente, esta prueba era utilizada para diferenciar entre los siguientes géneros:

- *Streptococcus* (-) de *Micrococcus* (+) y/o *Staphylococcus* (+).
- *Bacillus* (+) de *Clostridium* (-).
- *Lysteria monocytogenes* (+) y/o *Corynebacterium* (+, con las excepciones de *C.pyogenes* y *C.haemolyticum*, ambos -) de *Erysipelothrix* (-)

Una prueba de rutina de la catalasa a temperatura ambiente puede hacerse siguiendo la siguiente técnica:

a). Método del portaobjetos (recomendado):

- Con el asa de siembra recoger el centro de una colonia pura de 18-24 horas y colocar sobre un portaobjetos limpio de vidrio.
- Agregar con gotero o pipeta Pasteur una gota de H₂O₂ al 30% sobre el microorganismo sin mezclarlo con el cultivo.
- Observar la formación inmediata de burbujas (resultado positivo).
- Desechar el portaobjetos en un recipiente con desinfectante.

Si se invierte el orden del método (extender la colonia sobre el agua oxigenada) pueden producirse falsos positivos.

3. Citrato

Esta prueba sirve para determinar si un organismo es capaz de utilizar citrato como única fuente de carbono y compuestos amoniacales como única fuente de nitrógeno en su metabolismo, provocando una alcalinización del medio.

Entre las enterobacterias estas características se dan en los siguientes géneros: *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Citrobacter* y algunas especies de *Salmonella*. Sin embargo, *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella typhi* y *Salmonella paratyphi* son incapaces de crecer con esos nutrientes.

Se cultiva el microorganismo en agar citrato de Simmons (no se utilizó el comercial, se preparó en el laboratorio). Este medio contiene citrato de sodio como única fuente de carbono, fosfato de amonio como única fuente de nitrógeno y azul de bromotimol como indicador de pH. Únicamente las bacterias capaces de metabolizar el citrato podrán multiplicarse en este medio y, al hacerlo, liberarán iones amonio.

Esta liberación de iones básicos, junto con la eliminación del citrato (ácido) generará una fuerte basificación del medio que será aparente por un cambio de color del indicador de pH, de verde a azul.

4. Indol

Esta prueba se emplea para detectar la presencia de la enzima triptofanasa en las bacterias. Esta enzima degrada el aminoácido triptófano a indol, que es el compuesto que se detecta en este ensayo.

Para la realización de esta prueba la bacteria se cultiva durante 24-48 horas en un caldo de triptona con NaCl al 0,5% (este digerido de proteínas animales es especialmente rico en triptófano). Para la posterior detección del indol se usa el reactivo de Kovacs que se puede preparar con los siguientes ingredientes:

- Alcohol amílico o isoamílico (puede sustituirse por alc.butílico).....150ml
- p-dimetilamino-benzaldehído.....10g
- HCl (concentrado).....50ml

Se disuelve primero el aldehído en el alcohol y después se agrega lentamente a esta mezcla el ácido. Para el control de calidad del reactivo se pueden utilizar cultivos conocidos. Las más convenientes son *Escherichia coli* (indol+) y todas las especies de *Klebsiella* (indol-).

Si la bacteria posee la enzima triptofanasa, al añadir al medio 5 gotas del reactivo de Kovacs, se producirá un anillo de color rojo en la superficie del caldo y la prueba será considerada positiva. Si esto ocurre después de 24 horas, la prueba se considera completa, pero si es negativo deberá incubarse otras 24 horas y repetirse la prueba.

5. Movilidad

Sirve para determinar si un organismo es móvil o inmóvil. Las bacterias tienen movilidad por medio de sus flagelos que se encuentran principalmente entre los bacilos aunque existen algunas formas de cocos móviles.

El medio manitol movilidad permite la realización de esta prueba gracias a ser semisólido ya que presenta solamente 3,5 g/l de agar. En estas condiciones, las bacterias móviles producirán un enturbiamiento homogéneo del medio debido a la distribución aleatoria de los microorganismos. Por el contrario, las bacterias inmóviles permanecerán en la misma línea de la picadura en que se sembraron.

Entre las enterobacterias, la movilidad nos permite diferenciar el género *Klebsiella* (-) de las restantes que suelen ser movilidad (+).

Dentro del género *Bacillus*, nos permite diferenciar *B.anthraxis* (-) de otras especies generalmente (+).

6. KIA

Este medio diferencial complejo (de color rojo) es muy útil, ya que demuestra varias características enzimáticas de la bacteria.

Está compuesto principalmente por dos azúcares en distinta proporción (glucosa al 0,1% y lactosa al 1%), tiosulfato sódico, citrato férrico y rojo fenol como indicador de pH.

Para estudiar el comportamiento de las bacterias en condiciones de aerobiosis y anaerobiosis, la siembra en este medio de cultivo se realizará tanto en la superficie del agar (aerobiosis) como en la profundidad de éste (anaerobiosis).

La información a obtener es la siguiente:

- a). Fermentación de la glucosa:** viraje a color amarillo en el fondo del tubo de ensaye. Si la bacteria fermenta sólo la glucosa, en la superficie del tubo de ensaye la utilizará por vía respiratoria y, donde la tensión de oxígeno disminuya lo suficiente, empleará una pequeña proporción por vía fermentativa. Esto generará una pequeña cantidad de ácidos que serán neutralizados por las aminas derivadas de la descarboxilación oxidativa de las proteínas (proceso que depende del oxígeno). Como resultado, el medio mantendrá su color rojo en la superficie, al no haber cambio de pH. Por el contrario, las bacterias crecidas en la profundidad del tubo emplearán desde el primer momento la glucosa por vía fermentativa, generando ácidos que no serán neutralizados, provocándose un descenso del pH y el color del medio en el fondo del tubo cambiará a amarillo.
- b). Fermentación de la lactosa:** viraje a color amarillo en la superficie del tubo de ensaye. Si la bacteria fermenta la lactosa, los ácidos producidos modifican el pH de la superficie del medio. En este caso las aminas no son capaces de neutralizar la cantidad de ácidos producidos en esta fermentación, ya que la lactosa se encuentra en el medio a mayor concentración que la glucosa. Como consecuencia, el color del medio en la superficie cambiará a amarillo.
- c). No-fermentación de los azúcares:** el tubo de ensaye no cambia de color. Si la bacteria es aerobia estricta (no fermentadora), como, p.ej., el género *Pseudomonas*, el medio permanecerá de color rojo. En este caso, los azúcares son respirados, degradándose completamente hasta CO_2 , que se elimina y no modifica el pH.
- d). Producción de gas en la fermentación:** aparición de burbujas, rotura o elevación del agar del fondo del tubo.
- e). Producción de ácido sulfhídrico:** aparición de un precipitado de color negro en el fondo del tubo. Algunas bacterias respiradoras anoxibiónticas son capaces de emplear el tiosulfato sódico como aceptor final de electrones en la cadena transportadora. Como consecuencia, este compuesto se reduce a ácido sulfhídrico, que, a su vez, reacciona

con el hierro (Fe^{2+}) presente en el medio formando un precipitado negro de sulfuro de hierro. Los iones Fe^{2+} proceden de los iones Fe^{3+} del citrato férrico y aparecen debido a los cambios en los potenciales redox producidos al someter al autoclave el medio de cultivo.

ANEXO (D)

Tabla 8. Características bioquímicas y otras de algunas bacterias intestinales. (Lynch, 1972).

	INDOL	CITRATO	H ₂ S	UREASA	MOVILIDAD	LACTOSA	GLUCOSA	GELATINA	OTRAS
<i>Escherichia coli</i>	+	-	-	-	+	AG	AG	-	
<i>Citrobacter</i>	-	+	+	-	+	AG	AG	-	
<i>Bethesda-Ballerup</i>	-	+	+	-	+	Lenta/-	AG	-	
<i>Klebsiella</i>	-	+	-	+	-	AG	AG	-	
<i>Enterobacter cloacae</i>	-	+	-	-	+	AG	AG	Muy lenta	
<i>Serratia</i>	-	+	-	-	+	A lenta	A/AG	+	Produce pigmentos a 20oc.
<i>Hafnia</i>	-	+	+	-	+	Lenta/-	AG	-	
<i>B. anitratum</i>	-	+	-	d	-	-	A	d	Fermenta la lactosa al 10 por 100.
<i>Proteus</i>	-	+							Producen desaminasa de fenilalanina
<i>Providencia</i>	+	+	-	-	+	-	d	-	
<i>Ps. Aeruginosa</i>	-	+	-	d	+	-	A	+	Pigmento
<i>Alc. Faecalis</i>	-	d	d	-	+	-	-	-	
<i>Arizona</i>	-	+	+	-	+	A lenta	AG	Muy lenta	Negativa al dulcitol
<i>Salmonella</i>	-	+	+	-	+	-	AG	-	
<i>Shigella</i>	D	-	-	-	-	d	A	-	

ANEXOS (D)

Fig. 1 Muestreo en la laguna



Fig. 2 Fotografías de campo



Fig.3 GPS (Global Positioning System por sus siglas en inglés)



Fig. 4 Equipo de la Sonda Multiparamétrica



Fig. 5 Sonda Multiparamétrica



Fig. 6 Medios de Cultivo (lactosa)

- 1era c. petri testigo
- 2da c. petri (-)
- 3era c. petri (+)



Fig. 7 Pruebas Bioquímicas (citrato)
1er tubo sin inocular.
2do tubo citrato (-)
3er tubo citrato (+)

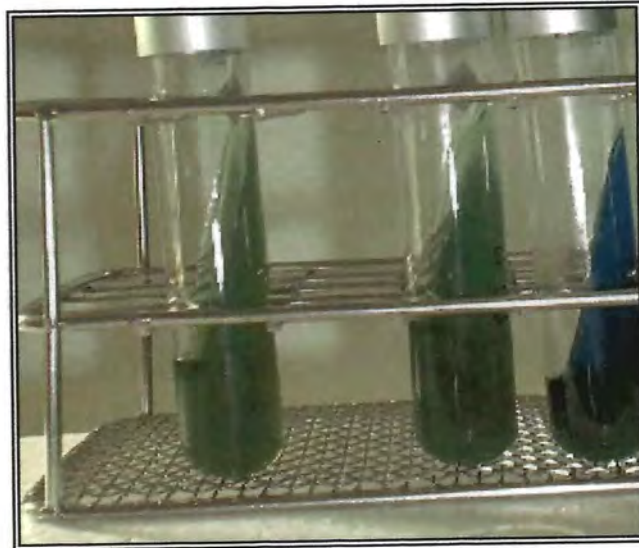


Fig. 8 Fotografías bacterianas (*Staphylococcus aureus*)

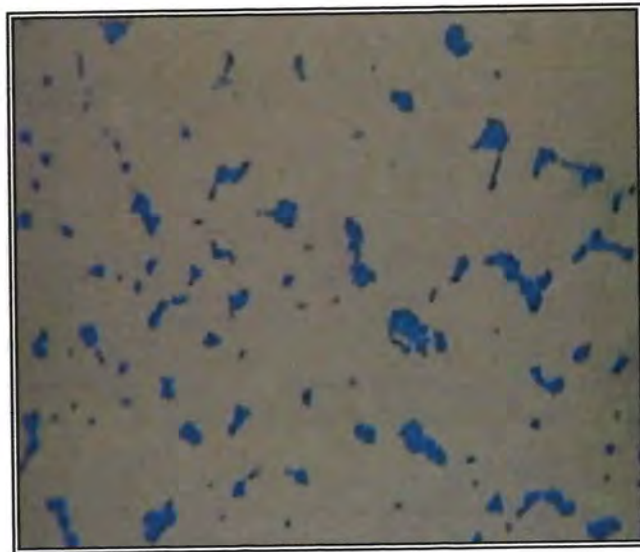


Fig. 9 Fotografías bacterianas (Tinción de Gram negativa)

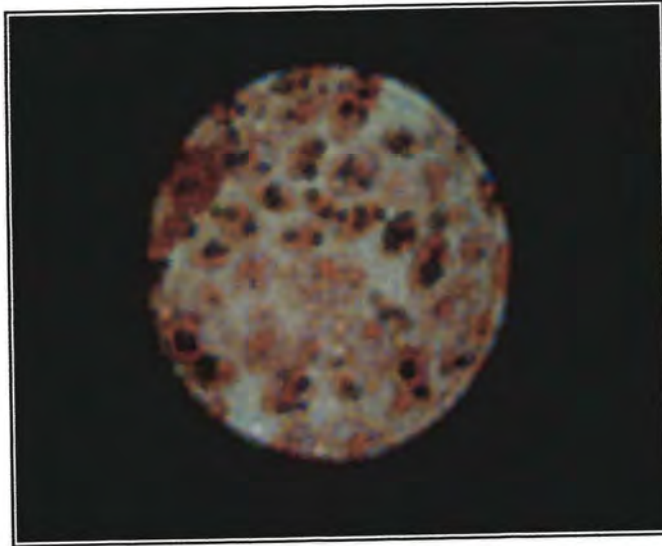
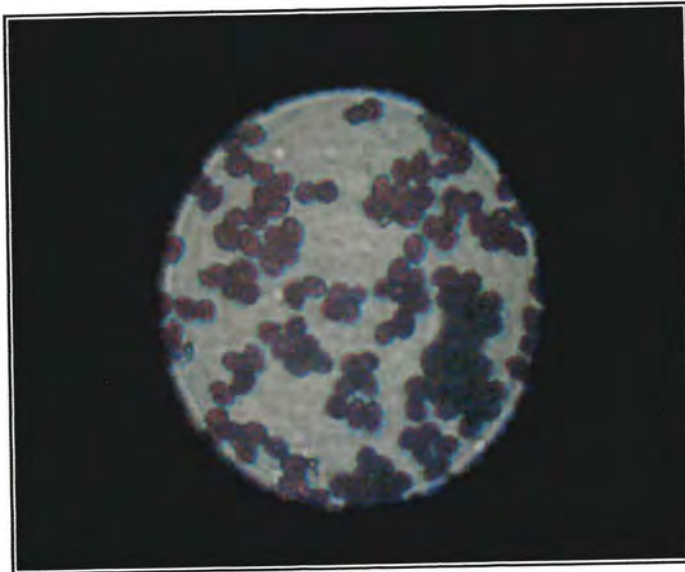
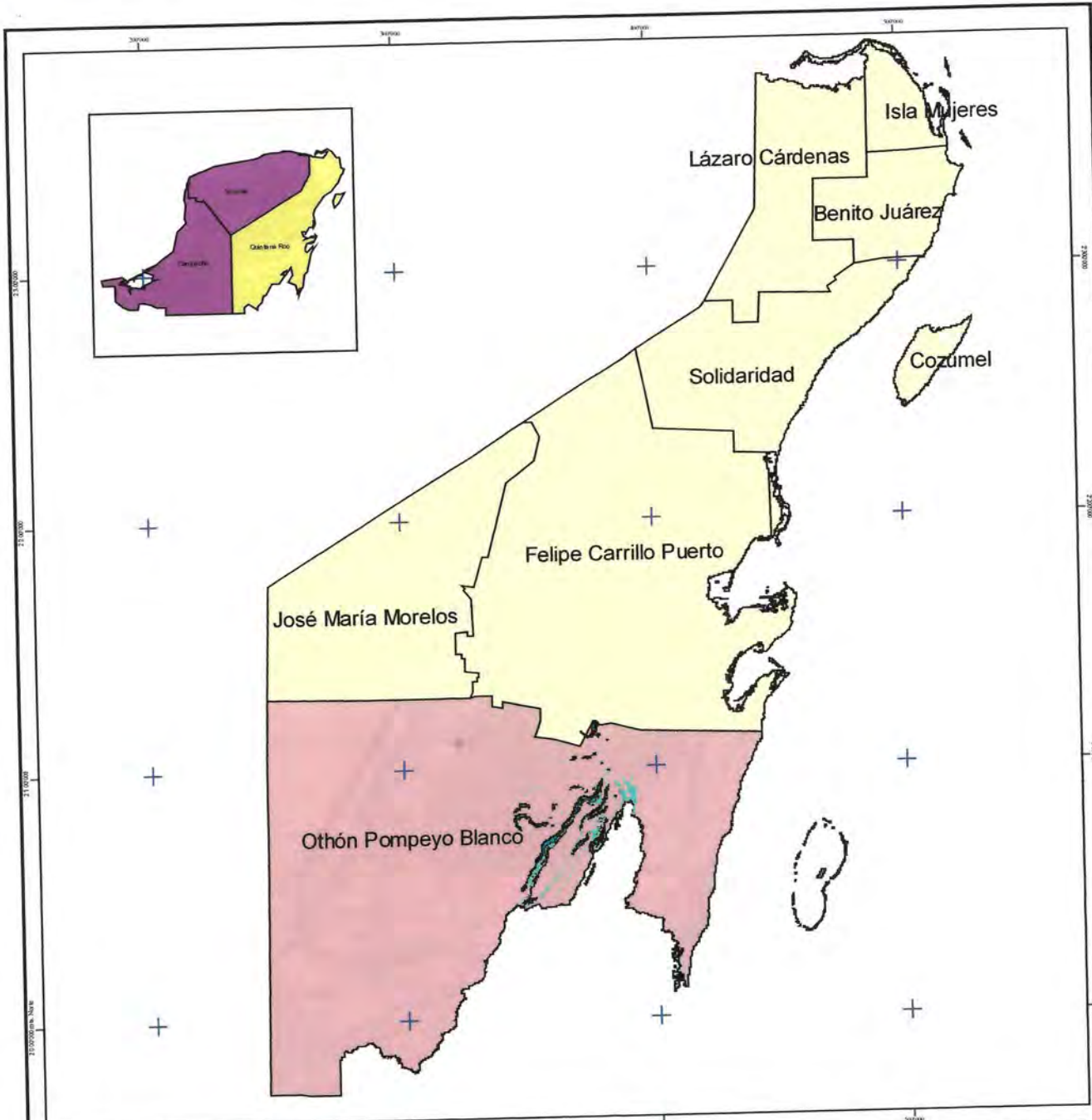


Fig. 10 Fotografías bacterianas (Tinción de Gram positiva)





Universidad de Quintana Roo

"Caracterización de la Flora Bacteriana y Fúngica en la Columna de Agua del Sistema Lagunar Bacalar"

Simbología



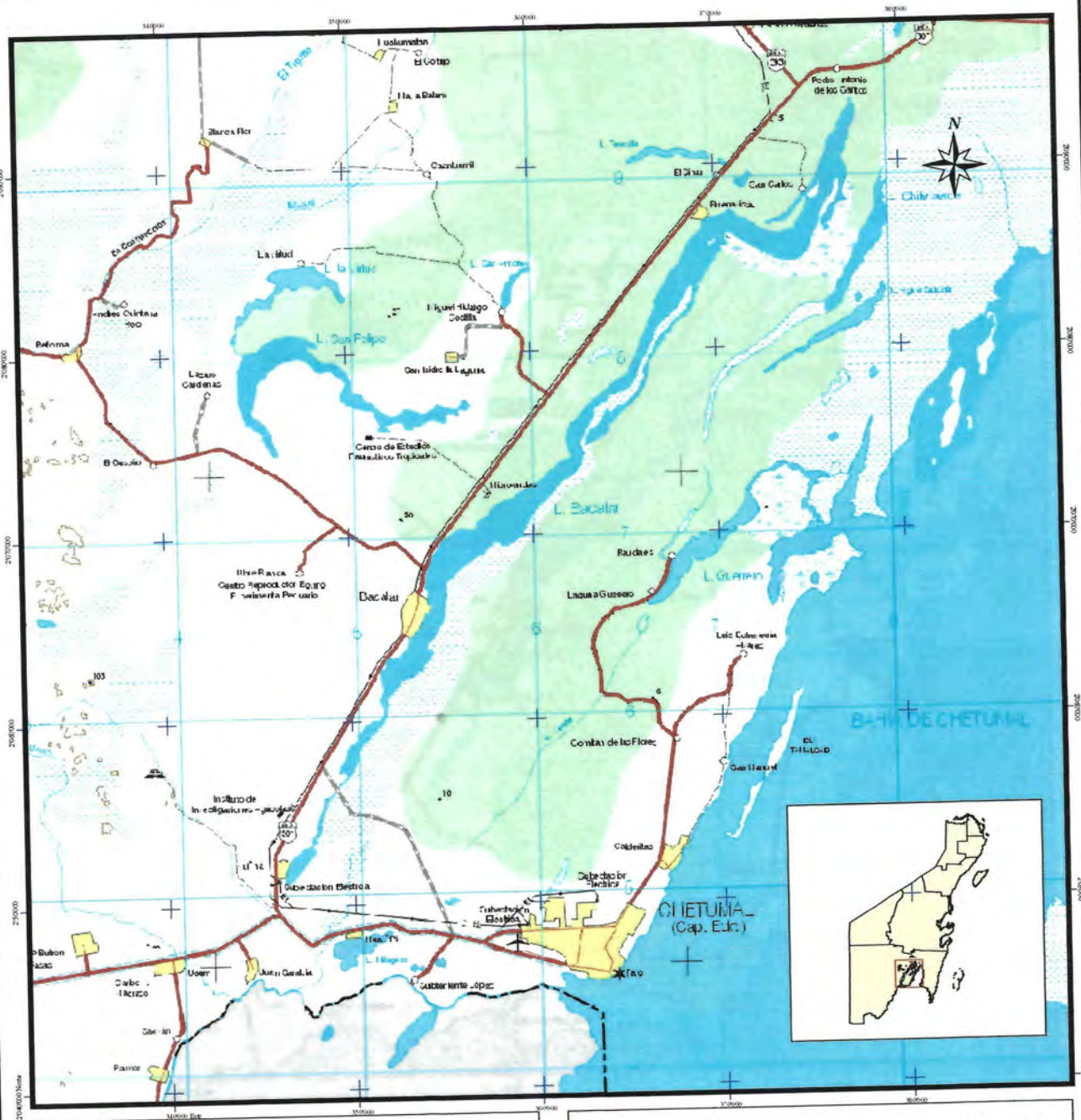
Ubicación del Municipio de Othón P. Blanco en un Contexto Geográfico

PROYECCIÓN: Universal Transversa de Mercator.
Zona 16 Norte. Esteroide Clarke 1866.
Datum NAD 1927

AUTORES: Adriana A. Carrillo Ruiz
Omar King de la Rosa

FECHA DE ELABORACIÓN: Abril de 2003

FUENTE: Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática



Universidad de Quintana Roo

"Caracterización de la Flora Bacteriana y Fúngica en la Columna de Agua del Sistema Lagunar Bacalar"

Simbología



Ubicación del Área de Estudio en un Contexto Geográfico

PROYECCIÓN: Universal Transversa de Mercator.
Zona 16 Norte. Esferoide Clarke 1866.
Datum NAD1927

AUTORES: Adriana A. Carrillo Ruiz
Omar King de la Rosa

FECHA DE ELABORACIÓN: Abril de 2003

FUENTE: Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática



Universidad de Quintana Roo

**"Caracterización de la Flora Bacteriana y Fúngica
en la Columna de Agua del Sistema Lagunar Bacalar"**

Simbología

Temperatura (°C)

0 - 27

27 - 28

28 - 29

29 - 30

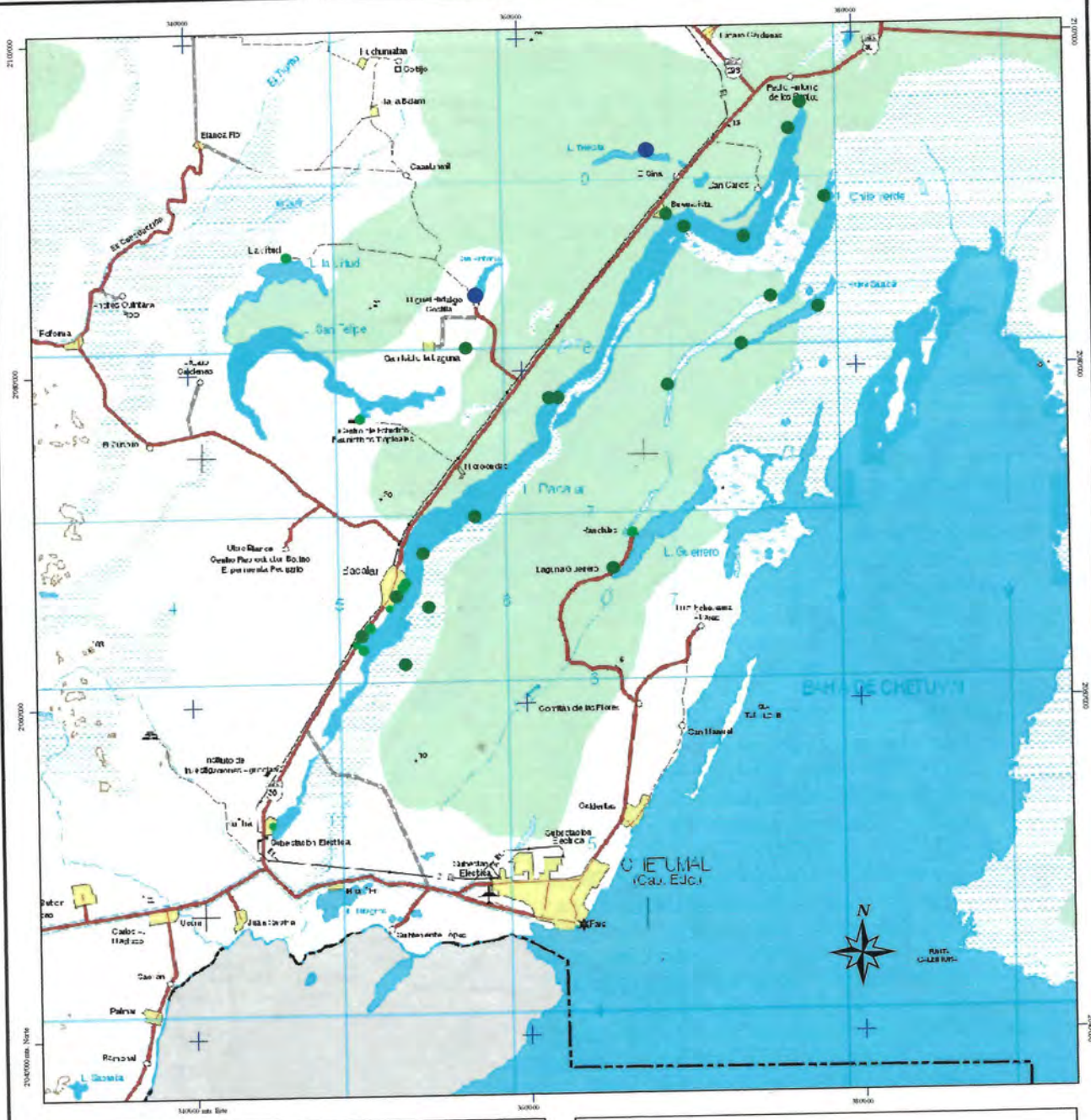
30 - 31

PROYECCIÓN: Universal Transversa de Mercator.
Zona 16 Norte. Esferoide Clarke 1866.
Datum NAD1927

AUTORES: Adriana A. Carrillo Ruiz
Omar King de la Rosa

FECHA DE ELABORACIÓN: Abril de 2003

FUENTE: Muestras de Factores Abióticos en el Sistema Lagunar
Bacalar, realizado por Adriana A. Carrillo Ruiz, para Junio
y Septiembre de 2002.



Universidad de Quintana Roo

"Caracterización de la Flora Bacteriana y Fúngica en la Columna de Agua del Sistema Lagunar Bacalar"

Simbología

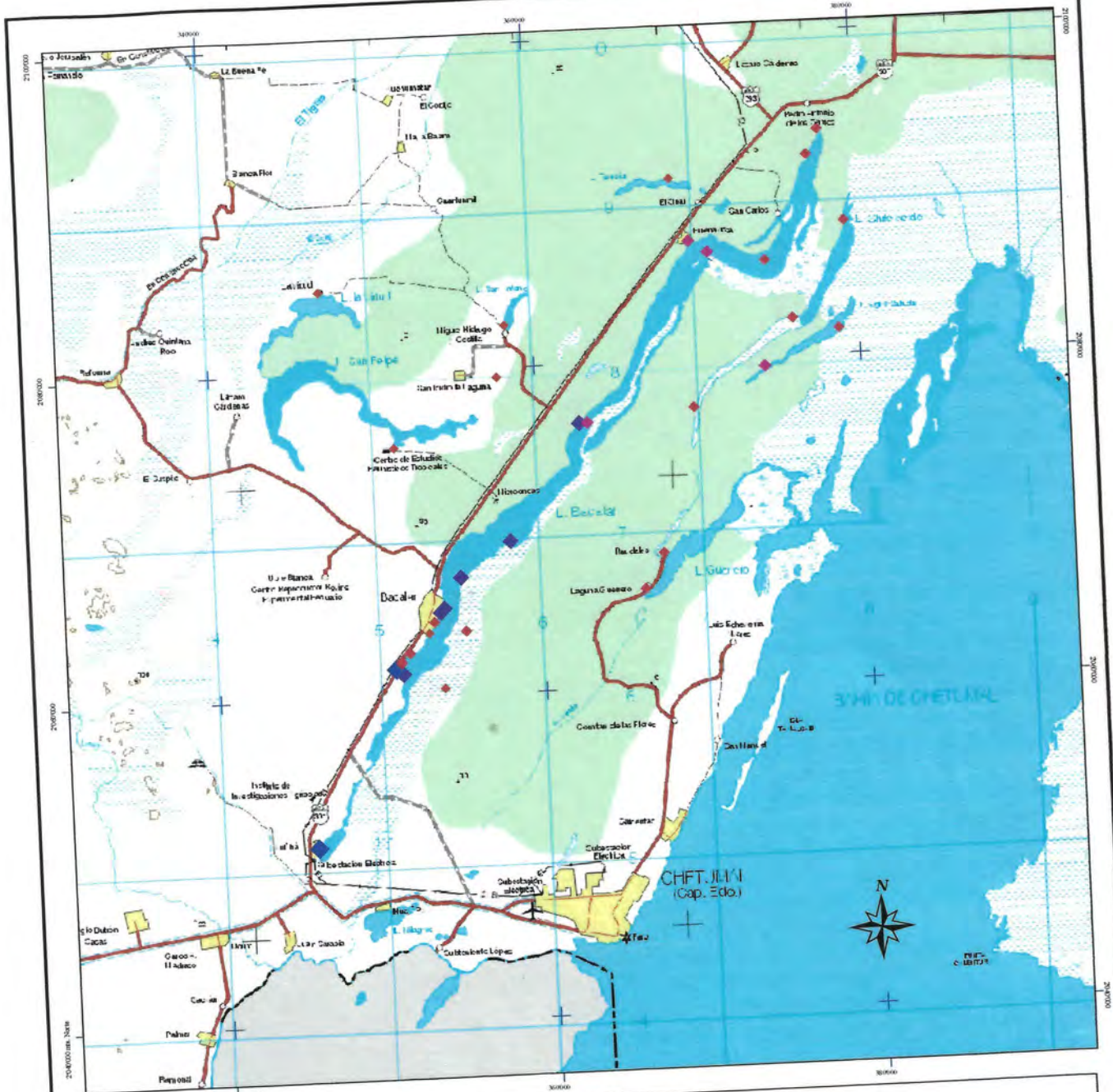
Índice pH	
●	0 - 7.84
●	7.84 - 8.22
●	8.22 - 8.5
●	8.5 - 9.11

PROYECCIÓN: Universal Transversa de Mercator.
Zona 16 Norte. Esferoide Clarke 1866.
Datum NAD1927

AUTORES: Adriana A. Carrillo Ruiz
Omar King de la Rosa

FECHA DE ELABORACIÓN: Abril de 2003

FUENTE: Muestras de Factores Abióticos en el Sistema Lagunar Bacalar, realizado por Adriana A. Carrillo Ruiz, para Junio y Septiembre de 2002.



Universidad de Quintana Roo

"Caracterización de la Flora Bacteriana y Fúngica en la Columna de Agua del Sistema Lagunar Bacalar"

Simbología

Sólidos Disueltos Totales

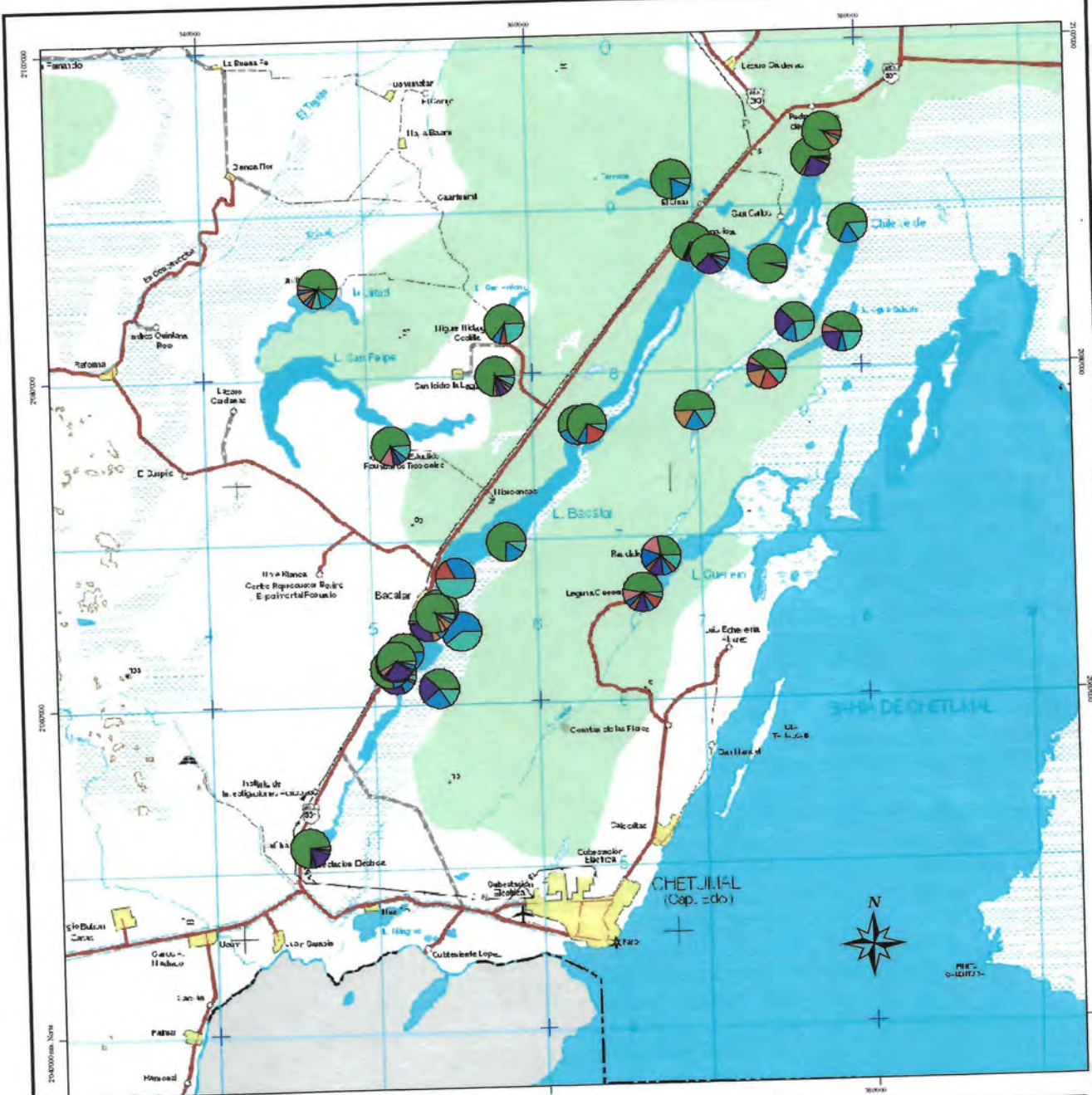
- ◆ 0 - 1
- ◆ 2 - 3
- ◆ 4 - 12
- ◆ 13 - 26
- ◆ 27 - 33

PROYECCIÓN: Universal Transversa de Mercator.
Zona 16 Norte. Esferoide Clarke 1866.
Datum NAD1927

AUTORES: Adriana A. Carrillo Ruiz
Omar King de la Rosa

FECHA DE ELABORACIÓN: Abril de 2003

FUENTE: Muestras de Factores Abióticos en el Sistema Lagunar Bacalar, realizado por Adriana A. Carrillo Ruiz, para Junio y Septiembre de 2002.



Universidad de Quintana Roo

"Caracterización de la Flora Bacteriana y Fúngica en la Columna de Agua del Sistema Lagunar Bacalar"

Simbología

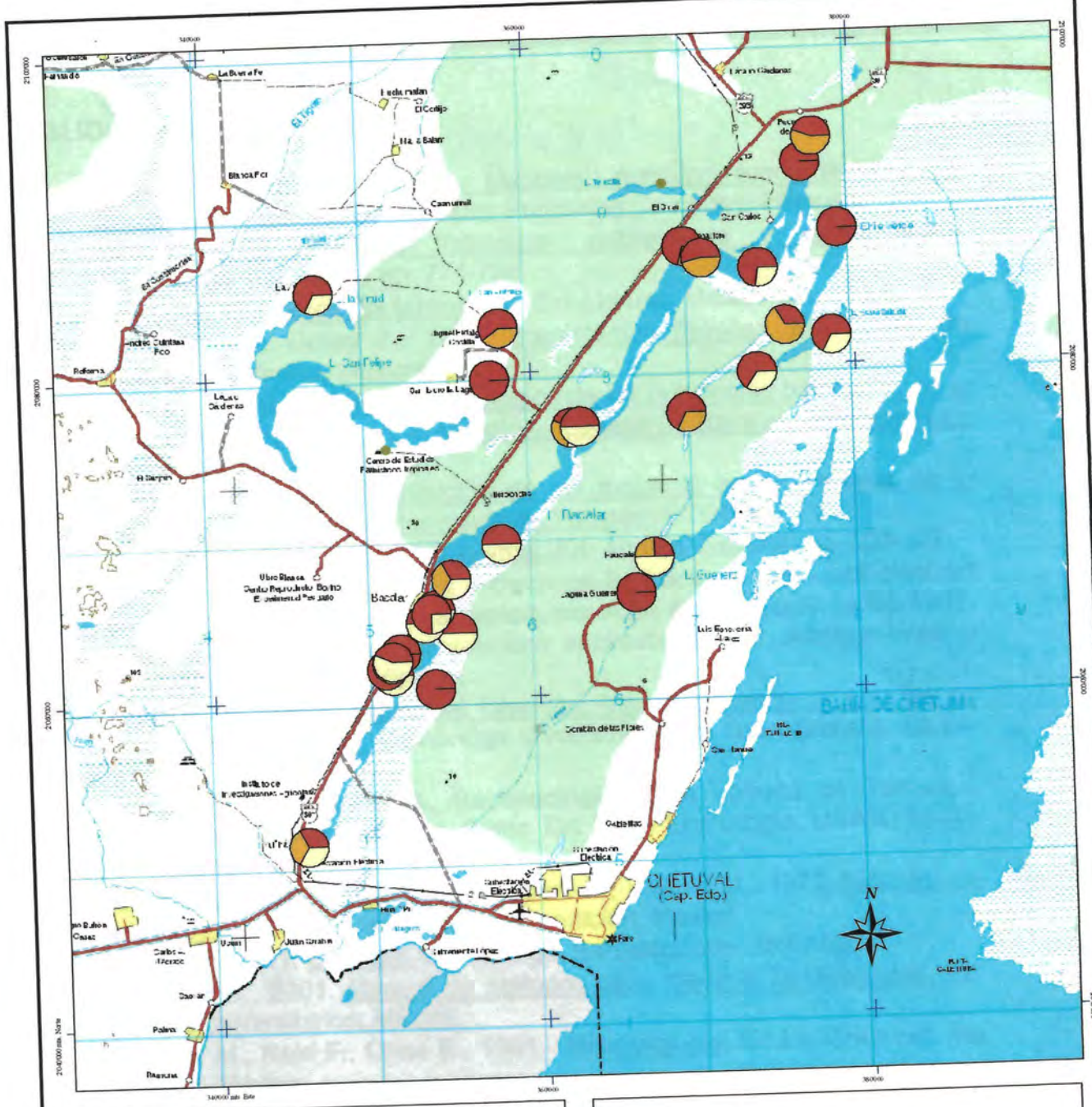
- Grupos Bacterianos**
- E. coli
 - Salmonella sp.
 - Shigella sp.
 - Klebsiella sp.
 - Streptococcus faecalis
 - Alcaligenes sp.
 - Micrococcus sp.
 - Sarcina sp.
 - Bacteroides sp.
 - Staphylococcus albus
 - Staphylococcus aureus

PROYECCIÓN: Universal Transversa de Mercator.
Zona 16 Norte. Esferoide Clarke 1866.
Datum NAD1927

AUTORES: Adriana A. Carrillo Ruiz
Omar King de la Rosa

FECHA DE ELABORACIÓN: Abril de 2003

FUENTE: Muestras de Factores Bióticos en el Sistema Lagunar Bacalar, realizado por Adriana A. Carrillo Ruiz, para Junio y Septiembre de 2002.



Universidad de Quintana Roo

"Caracterización de la Flora Bacteriana y Fúngica en la Columna de Agua del Sistema Lagunar Bacalar"

Simbología

Grupos Fúngicos

- Ficomicetes sp.
- Ascomycetes sp.
- Deuteromycetes sp.
- Domycetes sp.

PROYECCIÓN: Universal Transversa de Mercator.
Zona 16 Norte. Esferoide Clarke 1866.
Datum NAD1927

AUTORES: Adriana A. Carrillo Ruiz
Omar King de la Rosa

FECHA DE ELABORACIÓN: Abril de 2003

FUENTE: Muestras de Factores Bióticos en el Sistema Lagunar Bacalar, realizado por Adriana A. Carrillo Ruiz, para Junio y Septiembre de 2002.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Atlas R., Bartha R., 1981. Microbial ecology: fundamentals and applications, Ed. Addison-Wesley Publishing Company, Filipinas.
- Begon, 1988. Ecología individuos, poblaciones y comunidades, Ed., Omega, Barcelona, pp. 774-796.
- Campbell, 1987. Ecología Microbiana, Ed. Limusa, México. pp. 67-87.
- Farnworth G., Golley F., 1977. Ecosistemas Frágiles, Ed. Fondo de Cultura Económica, México.
- Flores J., 1996. Calidad bacteriológica de los principales balnearios en la Bahía de Chetumal, Laguna Milagros y Laguna de Bacalar, Quintana Roo, Secretaría de Marina.
- Gamboa, H., 1997. Distribución de las mojarras en el embalse de la laguna de Bacalar en la Península de Yucatán, ECOSUR.
- Grant, 1989. Microbiología Ambiental, Ed. Acribia, España, pp. 102-122.
- Hobbie, J., 1977. Respiration corrections for bacterial uptake of dissolved organic compounds in natural waters, en: Atlas R., Bartha R. (eds), 1981. Microbial ecology: fundamentals and applications, Ed. Addison-Wesley Publishing Company, Filipinas.
- Hudson, M., 1994. Biological Diversity; the coexistence of species on changing landscapes. Cambridge university press, Gran Bretaña, pp.64-77.
- Lizarraga M., Carballo R., Bacteriología de la Laguna de Términos, Campeche, México, An. Inst. Cienc. Del Mar y Limnología, UNAM, 14 (1): 97-108, 1987.
- Lynch, J., Raphael, S., Mellor L., Spare P., Inwood M., 1972. Métodos de Laboratorio, Ed. Interamericana, 2da edición, México.
- Margalef, 1991. Ecología, Ed. Omega, Barcelona, pp. 359-383.
- Moreno, C., 2001. Manual de métodos para medir la biodiversidad, Ed. Textos universitarios, México.
- Pelczar M., Reid F., Chan E., 1991. Microbiología, Ed. Mc Graw Hill, 4ta edición, México
- Pearson, A. E.: State Water Pollution Control, Board California, 14: Hidrobiología 14: 154, 1965.
- Schluter, D. y R. E. Ricklefs, 1993. Species diversity in ecological communities: historical and geographical perspectives. The university of Chicago press, Chicago, pp.1-12.
- UNEP, 1992. Convention on biological diversity. United Nations Environmental Program, Environmental Law and Institutions Program Activity Centre, Nairobi.
- UQROO, Programa de Ordenamiento Ecológico Territorial del Sistema Lagunar Bacalar, 2003.
- Whittaker, 1972. Evolution and measurement of species diversity. International Bureau for Plant Taxonomy and nomenclature, Utrecht, The Netherlands.

BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

- Daniel, W., 2002. Bioestadística, Ed. Limusa Wiley, México, pp.400-517.
- Contreras E. F., , 1993. Ecosistemas costeros mexicanos, Ed. CONABIO-UAMI, México, pp. 415.
- Guzmán, G., 1985, Hongos, Ed. Limusa, México, pp.3-23.
- Nixon, W. S., 1992. Between coastal marshes in estuarine productivity and water chemistry, N.Y. , pp. 876.
- Prat, N., 1998. Estado ecológico de los ecosistemas acuáticos en España. Ed. Departamento de Ecología, España.
- Rodier. J., 1990. Análisis de las aguas, Ed. Omega, Barcelona, pp. 667-768.
- Romero J., Negrete, R., 2000, Muestreo Microbiológico, en: Granados B., Solís E. (eds), Métodos de muestreo en la Investigación Oceanográfica. Posgrado en ciencias del mar y limnología, UNAM, México. pp.448.
- Schmitter-Soto, J., Escobar, E., Alcocer, J.: Hydrogeochemical and biological characteristics of cenotes in the Y.P. (SE Mexico), Hidrobiología, 467: 215-228, 2002.
- Vollenweider, Marine coastal eutrophication, Ed. Elsevier , N.Y. pp.1310.
- Weisz P., Keogh R., 1986. La ciencia de la Biología. Ed. Omega, Barcelona.
- Wetzel, R., 1981. Limnología, Ed. Omega, Barcelona.