



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO**

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

INFORME FINAL DE SERVICIO SOCIAL

“Evaluación de la calidad bacteriológica y fisicoquímica del agua y sedimento de la laguna Mecoacán, Tabasco durante la temporada de lluvias 2018 y nortes 2019”

QUE PRESENTA EL ALUMNO

Alejandro Polo Hernández

**Matrícula
2143060102**

ASESORES

**M. en C. Alfonso Esquivel Herrera
(Asesor interno)**

**M. M. S. Ruth Soto Castor
(Asesor interno)**

Ciudad de México

Octubre 2019

Índice

Introducción	4
Revisión de Literatura	5
Objetivo general del proyecto	7
Objetivos particulares.....	7
Marco teórico	7
Las Lagunas Costeras	7
Bacterias heterótrofas	8
Enterobacteriaceae	10
<i>Escherichia</i>	10
<i>Salmonella</i>	10
<i>Enterobacter</i>	10
<i>Shigella</i>	11
<i>Serratia</i>	11
<i>Yersinia</i>	11
<i>Proteus, Providencia y Morganella</i>	11
Vibrionaceae.....	12
Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias:.....	12
Fermentación de carbohidratos	12
Catalasa	13
Oxidasa.....	13
Citrato.....	13
Indol	13
Ornitina y Lisina.....	13
Licuefacción de gelatina.....	14
Material y Método.....	15
Área de estudio.....	15
Trabajo de campo	16
Trabajo de Laboratorio.....	16
Interpretacion de las pruebas bioquímicas:	17
Kligler (KIA) Y Triple Azúcar (TSI)	17
Catalasa.	17
Oxidasa.....	18

Medio MIO (Movilidad Indol Ornitina).....	18
Medio SIM	18
Prueba Rojo de Metilo y Voges-Proskauer	18
Citrato de Simmons	18
Licuefacción de la Gelatina.....	19
Lisina de hierro.....	19
Fermentación de hidratos de carbono.....	19
Análisis de datos.....	19
Objetivos y metas alcanzados	20
Resultados	21
Discusión.....	32
Conclusiones	36

Introducción

Las lagunas costeras son depresiones que tienen una conexión efímera o permanente con el mar, en ellas se encuentran dos masas de agua con diferentes características físicas y químicas que contienen cantidades considerables de nutrientes y por consiguiente una elevada productividad (Carbajal, 2009). Debido a esto, su conformación estructural resulta de la interacción de varios ecosistemas como manglares, ríos, manantiales y vegetación acuática, entre otros, otorgándoles una gran variabilidad ambiental que a su vez se traduce en una alta biodiversidad y productividad biológica (Herrera-Silveira y Morales, 2010).

En México el desarrollo y la expansión de centros urbanos en las zonas costeras representan un serio problema para resguardar las condiciones sanitarias y ambientales de los sistemas acuáticos (Becerra-Tapia y Botello, 1995). Debido a que el agua contenida en los ríos y lagos se encuentra sometida a una contaminación periódica mediante las descargas de aguas negras, desechos y residuos, convirtiendo a las lagunas costeras en reservorios de agentes patógenos, lo cual genera riesgos potenciales para la salud humana y efectos adversos en los ecosistemas (Barrera-Escorcía *et al.*, 1999; Ehrhardt *et al.*, 2016).

Las comunidades bacterianas dentro de las lagunas costeras pueden encontrarse desde la superficie, hasta los sedimentos y su composición y distribución puede ser influenciadas por diversos parámetros como la temperatura, niveles de oxígeno, pH, concentraciones de nutrientes y los patrones de lluvia (Atlas, 1990). Así como el aporte de comunidades bacterianas mediante el arrastre de sedimentos, dentro del tracto digestivo de organismos y por fuentes antropogénicas como aguas residuales y desechos (Malecka & Donderski, 2006; Kenar & Altindis, 2001).

Tanto las bacterias heterótrofas, como los coliformes y enterococos (los cuales están asociados a la contaminación por aguas servidas), son considerados bioindicadores de la calidad del agua de mar en cuanto a contenidos de materia fecal, materia orgánica y nutrientes minerales (Herrera y Suárez, 2005), además las bacterias heterótrofas tienden a ser más inestables ante los cambios y fluctuaciones de los factores abióticos de un sistema (Bastardo *et al.*, 2007). Por esta razón, la identificación y cuantificación de bacterias ha sido un instrumento ampliamente utilizado para conocer la calidad sanitaria de los recursos acuáticos como son calidad de los alimentos, sedimentos y aguas destinadas al consumo humano, agricultura, industria y recreación (Bachoon *et al.*, 2010).

Debido a esto, en las últimas décadas, la comunidad bacteriana ha tenido gran interés en los cuerpos de agua, ya que son consideradas indicadores de calidad sanitaria; la presencia de algunos géneros en sistemas acuáticos es evidencia de contaminación (APHA, 1989), y representan un riesgo para la salud mediante la propagación de enfermedades infecciosas (James, 1979 en Wong y Barrera, 1996).

Por lo mencionado anteriormente, el objetivo general de este trabajo fue cuantificar, identificar y caracterizar las bacterias heterótrofas presentes en agua, sedimento y ostión para poder evaluar la calidad del agua según los géneros encontrados, además de su relación con las variables ambientales en la laguna Mecocacán, Tabasco en dos distintas temporadas climáticas.

Revisión de Literatura

Las lagunas costeras han sido objeto de estudio de diversas investigaciones debido a su alta productividad y al ser fuente de gran parte de los recursos pesqueros, la importancia del estudio de la comunidad bacteriana de estas zonas radica en la que son consideradas como indicadores de la calidad sanitaria de estos cuerpos de agua.

Contreras (1985) indicó que la laguna de Mecocacán es una de las lagunas costeras del estado de Tabasco con mayor importancia económica debido a que cerca del 3% del área estuarino-lagunar lo ocupan bancos ostrícolas, siendo la principal actividad la captura de ostión (*Crassostrea virginica*).

Romero (1989) mediante el análisis microbiológico de la laguna de Tampamachoco, Veracruz, demostró la contaminación fecal y el riesgo sanitario que representa para la comunidad antrópica identificando géneros como *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Shigella* y *Escherichia*.

Becerra-Tapia y Botello (1995), utilizaron la técnica de tubos de fermentación o NMP (Numero Mas Probable) para cuantificar los niveles de bacterias coliformes totales, fecales y enteropatógenos en agua y sedimento del Sistema Lagunar Chantuto-Panzacola, Chiapas, México durante 1992-1993. Además, señalaron la existencia de variaciones estacionales que permitían la existencia de un proceso de auto purificación natural por temporadas. Además, identificaron bacterias patógenas con base en morfología colonial en medios de cultivo, los géneros identificados fueron *Shigella sp.*, *Salmonella tiphy*, *S. parathypi*, *Escherichia coli*, *Klebsiella sp.*, y *Enterobacter aerogenes*.

Wong Chang y Barrera Escorcía (1996), realizaron un estudio de la contaminación microbiológica en la Zona Costero-Marina del Golfo de México y sus implicaciones ecológicas debido a la importancia de los microorganismos en el equilibrio ecológico, así como el uso de especies bacterianas patógenas que son utilizadas como indicadores de contaminación mediante aportes de aguas negras y desechos.

Montaño (1997), caracterizó bacterias heterótrofas en la laguna de Chautengo, Guerrero y cuantificó las bacterias mediante el método de conteo indirecto, observando que la temperatura y

salinidad son factores limitantes para el desarrollo de bacterias heterótrofas, así como la exposición a diversas fuentes de contaminación y la distribución de bacterias en agua y sedimento, la cual difiere debido a la concentración de nutrientes orgánicos.

Barrera-Escorcia *et al.*, (1999), evaluaron la contaminación en la laguna de Tamiahua, Veracruz, en agua, sedimento y ostión durante dos épocas (Septiembre 1994 y Marzo 1995), durante estos muestreos de utilizaron las bacterias coliformes y estreptococos fecales como indicadores y se relacionaron con las variables como pH, oxígeno disuelto, salinidad y temperatura, se encontraron altos niveles de contaminación en la zona centro de la laguna y calidad sanitaria inadecuada para la extracción de moluscos, recreación y protección de la vida acuática.

Rosales-Peña (2002), comparó bacterias heterótrofas procedentes de la laguna de Chautengo, Guerrero en dos temporadas de lluvia correspondientes a 1996 y 1997, durante la investigación se utilizaron diferentes pruebas bioquímicas para la identificación de géneros y especies de enterobacterias, identificándose *Arizona*, *Proteus*, *Salmonella*, *Enterobacter* y *Serratia*.

Pérez (2007), realizó en la laguna de Mecoacán un recuento total de las bacterias planctónicas (cocos y bacilos), determinando su variación espacio temporal y su relación con los parámetros ambientales, indicando presencia bacteriana alta y calidad del agua que va de contaminada a muy contaminada, además ubicaron la escala trófica que corresponde a los sistemas eutróficos y parámetros ambientales irregulares y temporalmente estratificados.

Cisneros (2010), caracterizó bacterias heterótrofas en dos ecosistemas lagunares de Veracruz (Catemaco y Sontecomapan) en las temporadas de invierno y primavera 2010, en las que describe la relación de las bacterias heterótrofas con la urbanización, debido a la contaminación proveniente de casas, escuelas y ganado. De igual manera fueron encontrados los géneros *Enterobacter*, *Escherichia*, *Serratia*, *Salmonella*, *Proteus*, *Arizona*, *Aeromonas* y *Vibrio*.

Medellín *et al.* (2013), describieron la influencia de la marea en la hidrodinámica del sistema Mecoacán-Rio Gonzales demostrando la importancia de la marea en la regulación de los flujos y las condiciones termohalinas en el sistema lagunar de Mecoacán y el río Gonzales, de igual manera, describe la influencia de la laguna sobre los ríos adyacentes, como son el Río Hondo, cuyo flujo llega a detenerse e incluso revertirse en algunas temporadas.

Objetivo general del proyecto

- Evaluar la calidad bacteriológica y fisicoquímica del agua y sedimento de la laguna Mecoacán, Tabasco durante la temporada de lluvias 2018 y nortes 2019

Objetivos particulares

- Cuantificar las bacterias heterótrofas en agua, sedimento y ostión por conteo de UFC's en placa
- Caracterizar morfológica y bioquímicamente los cultivos bacterianos aislados presentes en agua, sedimento.
- Comparar bacterias heterótrofas presentes según su sitio de muestreo, sustrato y temporada de colecta.
- Analizar la relación que existe entre los géneros de bacterias presentes y los parámetros fisicoquímicos y ambientales durante los muestreos mencionados.
- Comparar la calidad del agua y ostión según los requisitos sanitarios establecidos en la NOM-242-SSA1-2009.

Marco teórico

Las Lagunas Costeras

Las zonas costeras presentan dinámicas extraordinarias e interacciones complejas en los procesos naturales de intercambio entre tierra, océano y la atmosfera (Crossland *et al.*, 2005), lo cual les provee una alta productividad primaria, así como una alta biodiversidad y producción pesquera (Fan *et al.*, 2017). Estas características han transformado las zonas costeras en centros socioeconómicos globales, los cuales albergan cerca del 50 % de la población global en aproximadamente el 12 % de la superficie terrestre (Crossland *et al.*, 2005).

La República Mexicana posee cerca de 11 600 kilómetros de línea costera, de los cuales 8 475 corresponden al margen costero del Pacífico y 3 117 al Golfo de México y mar Caribe, además cuenta con aproximadamente 130 lagunas costeras que exhiben diferentes tamaños, regímenes hidrológicos, biota y flujos de energía (Navarro-Rodríguez *et al.*, 2006; Castañeda y Contreras, 1997).

Las lagunas costeras son depresiones que poseen una conexión con el mar de forma efímera o permanente, en ellas se encuentran dos masas de agua con diferentes características, fenómeno

mejor conocido como estuarinidad, lo que causa peculiares fenómenos en su comportamiento físico, químico, y biológico con las consecuentes pautas ecológicas (Contreras y Castañeda, 2004).

Estas características las vuelve zonas de conservación de la biodiversidad y particularmente sensibles a la perturbación antrópica al ubicarse al final de las cuencas de drenaje, de igual manera la descarga de agua continental, la influencia de las mareas y su característica de ser sistemas someros ocasionan que estos cuerpos de agua sean particularmente sensibles, se pueden identificar cuatro fuentes de variabilidad que actúan en diferentes escalas temporales: Resuspensión de sedimentos, régimen hídrico, estacionalidad y los impactos antrópicos y cambios naturales a mediano y largo plazo (Aubriot *et al.*, 2005).

Los sistemas costeros del Golfo de México pueden ser oligohalinos, denominados por escurrimientos dulceacuícolas asociadas a caudales. Estuarinos, con aporte de agua dulce o fluvial como la laguna de Alvarado, los pantanos de Centla entre otros, y los eurihalinos con mayor aporte de agua marina como Chetumal, Rio Lagartos y las Bahías Ascención (Lara-Lara *et al.*, 2008).

Bacterias heterótrofas

Los microorganismos desempeñan funciones primordiales dentro de los ecosistemas, las poblaciones biológicas y en los factores abióticos que constituyen la biosfera global, estos influyen directamente sobre la calidad de vida humana debido a su participación dentro de las actividades biogeoquímicas cíclicas sin las que las formas de vida superiores no podrían existir (Atlas, 1990).

Las comunidades bacterianas son un índice del estado de los ecosistemas debido a la rápida respuesta a los cambios ambientales de estas, las bacterias heterótrofas son las más inestables a las fluctuaciones, además de cumplir funciones como contribuir al reciclaje de substratos inorgánicos y consumir materia orgánica disuelta (Bastardo *et al.*, 2007).

Además de la materia orgánica aportada por el arrastre de sedimentos y mediante la incorporación por actividades antrópicas, las condiciones ambientales que predominan permitirán la coexistencia de diferentes comunidades al mismo tiempo y el predominio de un grupo se dará de acuerdo a las condiciones de cada momento (Kirchman y Williams, 2000). Los factores que tienen mayor impacto en la distribución y abundancia de las comunidades bacterianas marinas son: la luz, la temperatura, la salinidad, el oxígeno disuelto, los nutrientes, el pH y el movimiento de las aguas.

La luz es un factor de suma importancia tanto en la tierra como en los sistemas marinos, en el mar, a medida que la luz atraviesa la columna de agua, disminuye su intensidad y depende del grado de turbidez. Como muchos otros parámetros ambientales, la respuesta de un organismo a los cambios

en la intensidad de la luz dependerá de la adaptación de los organismos (Madigan *et al.*, 1999; Miravet, 2003).

La salinidad ejerce una presión sobre los organismos debido al efecto de la presión osmótica, la solubilidad de los gases y a la desnaturalización de proteínas que afectan las actividades enzimáticas de los organismos. Los organismos halófilos obligados necesitan sodio para todo el sistema de transporte de membrana y crecerán únicamente dentro de un estrecho intervalo de salinidades y se les conocen como estenohalinos, mientras que en los organismos eurihalinos el transporte sodio-dependiente solo se necesita en casos específicos de algunos metabolitos no esenciales. (Atlas y Bartha, 1997; Campbell, 1987).

La temperatura influye en las reacciones químicas y en la configuración tridimensional de las proteínas, lo cual afecta los índices de actividad enzimática de los organismos. A temperaturas bajas, las moléculas no siempre tienen la suficiente energía para llevar a cabo sus respectivas reacciones, sin embargo, las proteínas de los microorganismos que se encuentren a temperaturas muy elevadas se desnaturalizan debido a la ruptura de su estructura tridimensional y provocan que la actividad enzimática decline, debido a esto, se establece un intervalo de temperatura de crecimiento, dentro de la cual ocurrirá la velocidad máxima de reproducción de los organismos (Madigan *et al.*, 1999; Atlas, 1990).

El oxígeno disuelto, entre otros gases, se encuentra en pequeñas cantidades en el agua de mar y proviene principalmente de la difusión de la interfase aire-océano y la producción mediante fotosíntesis, debido a esto, la concentración máxima de oxígeno se encuentra limitada a una zona conocida como la “picnoclina”, debajo de esta zona su concentración disminuye conforme aumenta la profundidad. Existen formas como el oxígeno simple, el superóxido y el ozono que poseen distintos grados de toxicidad, sin embargo, los microorganismos han desarrollado enzimas que los protegen de estas formas de oxígeno como son la catalasa y el superoxidodismutasa (Atlas y Bartha, 1997; Pinet, 1998).

Las variaciones en la cantidad de nutrientes y sus fuentes juegan un papel primordial en los ecosistemas acuáticos ya que determina la productividad primaria de los sistemas, lo cual, es la base sustancial de la trama trófica acuática, muchos compuestos inorgánicos son nutrientes esenciales para los microorganismos y resultan necesarios algunos gases como el oxígeno, dióxido y el monóxido de carbono, de igual manera el nitrógeno, el azufre, los cationes de amonio, hierro ferroso, magnesio, calcio, potasio, además de los fosfatos, carbonatos, sulfuros, nitritos, nitratos, cloruros y fluoruros. Todos estos compuestos están presentes en distintas cantidades y en los ecosistemas costeros tropicales superan sus concentraciones a los ecosistemas en otras latitudes (Smith y Smith, 2006; Contreras 1993).

El pH influye en las comunidades microbianas debido a la inactivación de enzimas a pH muy alto o bajo, a la solubilidad de moléculas relacionadas con la vida microbiana y a la velocidad del proceso de fotosíntesis, en las lagunas costeras las variaciones de pH son causadas por variantes estacionales, los valores cercanos a 7.0 se asocian principalmente a flujos de agua provenientes de agua continental, mientras que los valores 8.2 son asociados a flujos de agua proveniente del mar (Atlas y Bartha, 1997; Caso *et al.*, 2004).

Enterobacteriaceae

La familia de las enterobacterias son bacilos gram negativos, no formadores de esporas, son anaerobios facultativos y comúnmente catalasa positivos, su movilidad es variable mediante flagelos peritricos cuando es positiva y su temperatura óptima de crecimiento es de 37°C. Estas bacterias pueden ser utilizadas como indicadores debido a que se encuentran ampliamente distribuidas en el suelo, el agua y el intestino de los animales como comensales inofensivas, sin embargo, otras pueden ser clasificadas como bacterias patógenas como *Salmonella*, *Yersinia*, *Escherichia coli* patógena, *Shigella*, *Cronobacter* y otros conocidos como patógenos oportunistas como *Klebsiella*, *Serratia* y *Citrobacter*.

Escherichia

Es un bacilo gram negativo, anaerobio facultativo y móvil mediante flagelos peritricos que rodean su cuerpo, no forma esporas y es capaz de fermentar la glucosa y la lactosa. Habita en el intestino de todos los animales y ejerce una función útil a los organismos suprimiendo la fijación y desarrollo de especies bacterianas perjudiciales en el tracto intestinal además de sintetizar importantes cantidades de vitaminas. Solo una minoría de cepas de *E.coli* es capaz de causar enfermedades en el hombre.

Salmonella

Se trata de un género de enterobacterias no formadoras de esporas, anaerobias facultativas y móviles. Son oxidasa y lactosa negativas. Se encuentra principalmente en el tracto intestinal del hombre, de los animales de sangre caliente y raramente en peces moluscos y crustáceos. La principal fuente de contaminación son los animales domésticos y deposiciones humanas. Representan un riesgo sanitario debido a que causa fiebre tifoidea, que es una enfermedad sistémica causada por *S. typhi*, *S. paratyphi* ocasionalmente. Cabe destacar que algunas especies han sido incluidas dentro de la lista OMS de patógenos prioritarios para la I+D (Investigación y Desarrollo) de nuevos antibióticos (Puerta-García y Mateos-Rodríguez, 2010).

Enterobacter

Son bacilos móviles con flagelos peritricos. Pueden utilizar como fuente única de carbono el citrato y acetato. Generalmente son positivos durante pruebas Voges-Proskauer y negativos al rojo de

metilo. Las especies pertenecientes al género *Enterobacter* se encuentran en el intestino como comensales y con frecuencia se aíslan en el suelo y el agua. Suelen colonizar a los pacientes hospitalizados, en particular a los tratados con antibióticos y han sido asociados con infecciones de quemaduras, heridas, vías respiratorias y urinarias (Puerta-García y Mateos-Rodríguez, 2010).

Shigella

Son bacilos gram negativos, inmóviles y no formadores de esporas. Su reservorio es el hombre y debido a esto es un indicador frecuente en aguas contaminadas con heces humanas. Las características que le facilitan la invasión a esta bacteria son la producción de sustancias tóxicas, factores antigénicos y plásmidos. Todas las especies de este género son patógenas para el hombre y la infección inicia por una contaminación fecal-oral y las principales causas de contaminación son agua contaminada con deyecciones y los hábitos no sanitarios de los manipuladores de alimentos (Puerta-García y Mateos-Rodríguez, 2010).

Serratia

Se trata de gérmenes oportunistas, móviles y que fermentan la lactosa con reacciones tardías. La mayoría de las especies de *Serratia* son saprofitas de vida libre y se pueden aislar de agua, suelo y el intestino de diversos vertebrados. Esporádicamente se encuentran en el intestino humano y son capaces de causar infecciones graves en algunas circunstancias y se les considera patógenas oportunistas. Suelen estar implicadas en infecciones del tracto respiratorio, urinario y endocarpio, además de ser resistentes a múltiples antibióticos (Freeman, 1989; Atlas, 1990).

Yersinia

El género *Yersinia* pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, posee 3 especies patógenas para el hombre: *Y. pestis*, *Y. enterocolitica* y *Y. pseudotuberculosis*. Se desarrollan de forma aerobia en la mayoría de los medios y no fermenta la lactosa.

Frecuentemente se aíslan en muestras clínicas como heridas, heces y linfáticos mesentéricos, sin embargo, no forma parte de la microbiota humana natural. La fuente de contaminación es la materia fecal del ganado, animales domésticos y salvajes, siendo el ser humano un huésped accidental de la infección.

Proteus, Providencia y Morganella

Son géneros lactosa negativos y móviles, suelen producir H₂S y se diferencian de los bacilos enterobacterianos típicos al expresar flagelos que los translocan con rapidez a través de la superficie de las placas de agar.

Providencia stuartii rara vez se aísla en clínica, excepto a partir de la orina de enfermos con catéteres urinarios insertados durante largo plazo. *Morganella morganii* es el único miembro de su género, es aislado nosocomial poco común y en general presente en orina y heridas (Puerta-García y Mateos-Rodríguez, 2010).

Vibrionaceae

Son bacilos gram negativos, anaerobios facultativos, oxidasa positivos, son capaces de reducir los nitratos a nitritos y fermentar la D-glucosa y utilizarla como su fuente principal de carbono. Poseen movilidad debido a un flagelo polar. Habitan ambientes marinos, salobres y estuarios además de presentarse en grandes concentraciones.

En humanos, suelen causar infecciones en heridas e infecciones intestinales, esto convierte a los humanos y animales en sus principales hospederos y determinantes para su distribución

Vibrio

Son bacilos gram negativos, anaerobios facultativos y oxidasa positiva, son cortos, esporulantes y poseen motilidad gracias a un flagelo polar. Normalmente se encuentra en ambientes marinos y necesita cierta salinidad para sobrevivir y su abundancia suele estar ligada a temperaturas cálidas. *V. vulnificus* y *V. parahaemolyticus* suelen causar heridas, gastroenteritis y septicemia primaria y esta logado a la ingesta de alimentos crudos contaminados (Spicer, 2009).

Aeromonas

Son bacilos gram negativos, aerobios facultativos, oxidasa y catalasa positivos. Se distribuyen ampliamente y se han aislado e identificado en humanos, animales, agua y alimentos. Se ha comprobado que factores como la temperatura y contenido de materia orgánica afectan el tamaño y la distribución de las poblaciones. Se han asociado infecciones en heridas con suelos contaminados y con actividades que expongan a agua contaminada, estas infecciones de heridas pueden generar meningitis, infecciones en conjuntivas, mucosas y bacteriemia, de ahí que hayan sido consideradas como un problema de salud pública para la población humana (Castro *et al.*, 2003; Fernández *et al.*, 2008).

Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias:

Fermentación de carbohidratos

La fermentación es un proceso metabólico anaerobio de oxidación-reducción, en el cual un sustrato orgánico actúa como el aceptor final de hidrogeno en lugar del oxígeno. De igual manera los productos finales de la fermentación dependerán de factores como al microorganismo que lleva a cabo el proceso, el sustrato fermentado, factores ambientales como la temperatura. Los procesos de fermentación por lo general son característicos para los grupos bacterianos específicos o especies

No todos los monosacáridos son degradados por todas las especies bacterianas, sus patrones de fermentación difieren, lo que ayuda a la identificación de grupos, géneros o especies. La manera y

la magnitud por las cuales un sustrato es catabolizado depende de las especies bacterianas y de las condiciones del cultivo, (Mac Faddin, 2003).

Catalasa

Muestra la actividad catalítica debido a la presencia de catalasa. Se utiliza esta prueba para mostrar la actividad catalítica debido a la presencia de catalasa, la cual es fundamental en la defensa biológica contra la toxicidad del oxígeno en compuestos como el H₂O₂, el cual, es un producto final oxidativo de la degradación aerobia de los azúcares, (Mac Faddin, 2003).

Oxidasa

La prueba se basa en la presencia o ausencia de una enzima oxidasa intracelular conocida como citocromo, la cual participa en la cadena respiratoria de las bacterias y son las principales responsables de la mayor parte de captación de O₂ y la producción de H₂O₂. Está presente en la mayoría de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas, (Mac Faddin, 2003).

Citrato

La prueba es parte del grupo de pruebas Indol-Rojo de Metilio- Voges-Proskauer-Citrato para la identificación de la familia *Enterobacteriaceae*, de microorganismos gramnegativos relacionados y de bacterias no fermentadoras. Determina si un microorganismo es capaz de utilizar el citrato como única fuente de carbono para el metabolismo y el crecimiento con alcalinidad resultante, (Mac Faddin, 2003).

Indol

El triptófano es un aminoácido que puede ser oxidado por ciertas bacterias para formar tres metabolitos principales: indol, escatol y ácido indolacético, las diversas enzimas intracelulares involucradas se denominan colectivamente triptofanasa, un término general usado para designar al sistema completo de enzimas que median la producción de indol por actividad hidrolítica sobre el sustrato de triptófano. El ácido indol pirúvico es el principal intermediario en la degradación del triptófano y mediante este puede formarse indol por desaminación y escatol por descarboxilación, (Mac Faddin, 2003).

Ornitina y Lisina

La descarboxilación es el proceso mediante el cual las bacterias que poseen enzimas descarboxilasas específicas atacan los aminoácidos en su carboxilo terminal para formar una amina o una diamina y dióxido de carbono, (Mac Faddin, 2003).

Existen numerosas enzimas descarboxilasas, cada una específica para un sustrato dado, las más importantes dentro de un laboratorio de bacteriología son lisina, ornitina y arginina.

La lisina ayuda a diferenciar entre géneros *Edwardsiella* (+) y *Salmonella* (+) de *Citrobacter* (-). Mientras que la ornitina ayuda a diferenciar entre los géneros *Enterobacter* (V comúnmente +) de *Klebsiella* (-), (Mac Faddin, 2003).

Licuefacción de gelatina

La gelatina es una proteína derivada del colágeno animal, se incorpora en distintos medios para determinar la capacidad de un microorganismo de producir enzimas proteolíticas (proteinasas), detectadas por la digestión o licuefacción de la gelatina. Estas enzimas se denominan gelatinasas y son importantes factores de virulencia de algunos microorganismos, (Mac Faddin, 2003).

Material y Método

Área de estudio

La laguna costera Mecoacán se localiza en la parte norte del estado de Tabasco en el litoral del Golfo de México entre los meridianos $93^{\circ}04'$ y $93^{\circ}14'$ y los paralelos $18^{\circ}16'$ y $18^{\circ}28'$ (Contreras, 2010). Forma parte del cuerpo deltaico de los ríos Grijalva y Usumacinta y cuenta con una extensión aproximada de 5,168 ha y una profundidad que varía entre los 0.3 y 2.3 m (George-Zamora *et al.*, 2003). Presenta un clima Am(f)(i) cálido húmedo con lluvias durante todo el año, una precipitación pluvial de 1,800 mm/año y una temperatura que oscila entre los 24.1 y 30.2 °C (Contreras, 2010). Tiene un piso lagunar llano con abundantes bancos orgánicos (George-Zamora *et al.*, 2003) y sedimentos terrígenos, la mayoría areno-limosos con cantidades menores de arcilla y su distribución litológica se relaciona con la dinámica del agua y con la existencia de bancos ostrícolas (Díaz-González *et al.*, 1994).

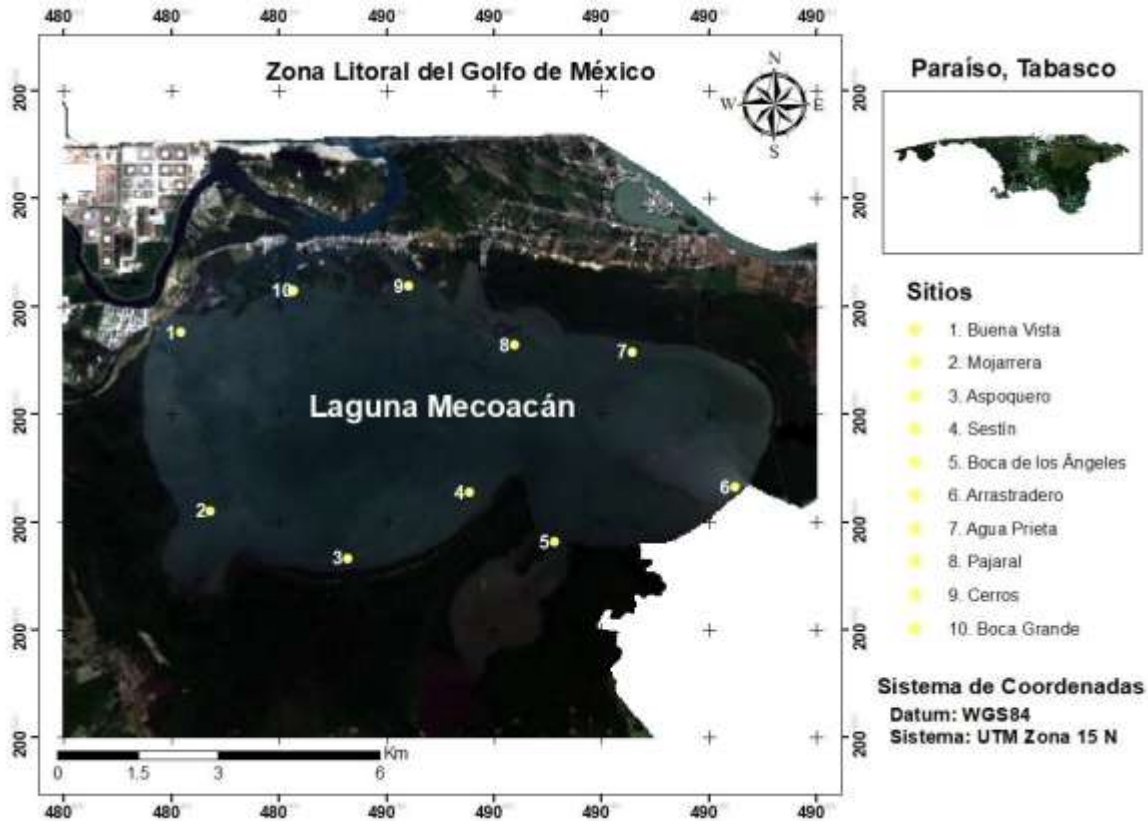


Figura 1. Ubicación de los sitios de muestreo en la laguna Mecoacán.

Trabajo de campo

Los muestreos se llevaron a cabo durante las épocas de Secas, los días 16 y 17 de octubre del 2018 y durante la época de Lluvias, los días 4 y 5 de junio de 2019. Las estaciones de muestreo ya se encontraban geolocalizadas, ya que fueron asignadas con anterioridad.

Para el muestreo del agua superficial y de fondo se utilizaron botellas transparentes estériles de 150 ml, con solución de tiosulfato sódico, el cual evita la acción bactericida del cloro residual; las muestras obtenidas se mantuvieron en refrigeración hasta su procesamiento, el cual fue antes de transcurrir las 4 horas (Montaño, 1997).

Para las muestras de sedimento fue utilizada una draga tipo Van Veen y jeringas estériles despuntadas, Se removió la capa superficial del sedimento antes de extraer la muestra con la jeringa, obteniendo 10 mL de muestra.

Las muestras de agua superficial se colocaron en frascos estériles, mientras que las de fondo y sedimento se colocaron en frascos estériles con 90 mL de agua peptonada, preservadas en la oscuridad a 4 °C para su transporte y procesamiento.

Simultáneamente se registraron parámetros fisicoquímicos y ambientales en superficie y fondo como temperatura, transparencia, profundidad, oxígeno disuelto, pH, conductividad, sólidos disueltos, saturación de oxígeno, Clorofila- *a*, y concentración de nitratos, nitritos y amonio, esto se realizó antes de utilizar la draga para evitar perturbaciones de la columna de agua.

Trabajo de Laboratorio

Para el aislamiento de *Salmonella* y *Shigella* las muestras originales fueron inoculadas en caldo tetracionato por 12 horas en baño maría para su posterior resiembra de 0.1 mL en cajas Petri con agar *Salmonella – Shigella* (S-S). Simultáneamente se sembró 0.1 mL de muestra en cajas Petri con agar Mc Conkey, las cuales se dejaron incubar por 24 horas.

Las colonias observadas en el agar Mc Conkey y S-S fueron caracterizadas y agrupadas con base en su morfología colonial Las colonias observadas fueron caracterizadas y agrupadas con base en su morfología colonial según lo propuesto por Forbes *et al.*, (2004). Posteriormente se resembraron para la obtención de aislados bacterianos y mediante una tinción de Gram se seleccionaron para su conservación en agar nutritivo e identificación mediante pruebas Bioquímicas.

Para la cuantificación de bacterias se realizaron diluciones 1:10, 1:100, 1:000 diluciones 1:10000 para las muestras de agua y 1:00000 para las de sedimento. Se tomaron alícuotas de 0.1 ml y se sembraron por triplicado en cajas petri con medio ZoBell (Bianchi, 1973), las cuales fueron incubadas durante 48 horas a 30 °C.

Se hicieron lecturas de las placas de 24 a 72 horas después de la incubación, para obtenerse una cuantificación indirecta del número de UFC (Unidades Formadoras de Colonias) de las poblaciones bacterianas para obtener un conteo de las bacterias diferentes existentes.

A partir de las cajas Petri utilizadas para la cuantificación se realizó el aislamiento de las colonias según las características morfológicas coloniales, como lo son el color, textura y superficie. Se llevó a cabo una purificación de las colonias realizando resiembras hasta obtener aislados bacterianos, estos fueron conservados en agar nutritivo para su posterior identificación mediante pruebas bioquímicas.

- Para la identificación de los géneros de bacterias heterótrofas se tomaron en cuenta: Características morfológicas coloniales: Tamaño, superficie, consistencia, transparencia y coloración.
- Morfología celular realizando frotis de los cultivos puros y utilizando tinción de gram para seleccionar cepas para su posterior identificación mediante pruebas bioquímicas.
- Características bioquímicas se utilizaron algunas pruebas entre las que se encuentran: Indol, Rojo de Metilo, Vogues-Proskauer y Citrato. Además, se seleccionaron algunas colonias para detectar el crecimiento fermentativo, resemebradas en medio Kligler con dos azúcares (Kligler Iron o KIA) o en medio TSI (Triple Sugar Iron Agar), lactosa, sacarosa, dextrosa, glucosa, los cuales permiten obtener cultivos puros y a su vez determinar algunos caracteres bioquímicos. (Mac Faddin, 2003).
- Además de la utilización de los carbohidratos se realizaron otras pruebas bioquímicas para la utilización de aminoácidos (lisina y ornitina), alcoholes (manitol y sorbitol), enzimas (oxidasa y catalasa), entre otros, ácido sulfhídrico, gelatina, reducción de nitratos y nitritos, (Mac Faddin, 2003).

Interpretación de las pruebas bioquímicas:

Kligler (KIA) Y Triple Azúcar (TSI)

Se inocularon los cultivos bacterianos dentro de tubos de ensayo con Kligler y TSI, se dejaron incubar durante 24 horas y se procedió a la interpretación de los resultados, siendo el viraje del medio a un amarillo resultado de una reacción ácida y el viraje a color rosa una reacción alcalina. De igual manera se observó la producción de H₂S mediante la presencia de precipitado de color negro, y la formación de gas mediante la presencia de burbujas en el medio, (BIOXÓN, 1983).

Catalasa.

Se llevó a cabo incubando un cultivo bacteriano durante 24 horas para posteriormente colocarlo sobre un portaobjetos estéril, al cual se le agregó una gota de peróxido de Hidrogeno (H_2O_2). La prueba positiva se indica mediante la producción de burbujeo, la cual indica presencia de catalasa.

Oxidasa.

La prueba de oxidasa se llevó a cabo con un cultivo bacteriano que se dejó incubando 24 horas, el cual se utilizó para colocarse en papel filtro estéril, posteriormente se le agregó a la muestra reactivo de Kovacs y se observó el cambio de color. Una prueba oxidasa positiva se indica mediante un color azul-morado, mientras que la oxidasa negativa no presenta cambio en su coloración.

Medio MIO (Movilidad Indol Ornitina)

Para la prueba, se inocularon mediante punción los cultivos bacterianos en medio SIM y se dejaron incubando durante 24 horas, posteriormente se le agregó el reactivo de Kovacs para observar la formación de un anillo en la parte superior del medio, el cual puede ser rojo para una reacción positiva y amarilla o incolora para una reacción negativa. De igual manera, se observó la motilidad, representada como turbidez en el medio más allá de la línea de siembra.

Por último, la ornitina se identificó mediante el cambio en la coloración del medio, siendo pruebas positivas aquellas que presentaban un color morado y negativa aquellas que no presentaron cambio alguno.

Medio SIM

Se inocularon los cultivos bacterianos mediante punción y se dejaron incubando durante 24 horas. Al igual que en el medio MIO el indol es identificado al agregar reactivo de Kovac, observando la formación de los anillos, siendo rojo el positivo y amarillo o incoloro el negativo. Además, se observó la formación de sulfuro, el cual se distinguió por su coloración negruzca dentro del medio y la movilidad, la cual se observó mediante turbidez más allá de la línea de siembra.

Prueba Rojo de Metilo y Voges-Proskauer

Para esta prueba los cultivos bacterianos fueron inoculados en tubos con medio MR-VP, estos se dejaron incubando 5 días a 37 °C. Posteriormente se le agregó 5 gotas de solución rojo de metilo para observar el color, siendo positivos aquellos que presentaron coloración roja y negativo para amarillo.

Para la prueba de Voges Proskauer se le añadió 5 gotas de reactivo y se dejaron reposar durante 15 minutos. Se observó el cambio de coloración en la superficie del medio interpretándose como positivo la presencia de coloración rojiza y negativo la coloración amarilla.

Citrato de Simmons

Se inocularon los cultivos bacterianos en medio Citrato de Simmons con tubos inclinados y se incubaron durante 24 horas a 37° C, posteriormente se observó el cambio en el medio de verde a azul para pruebas positivas y coloración verde para las negativas.

Licuefacción de la Gelatina

Se inocularon los cultivos bacterianos en tubos de ensaye con gelatina y se incubaron 24 horas a 37 ° C, las pruebas positivas para la licuefacción de la gelatina se identifican siendo aquellas que hidrolizan la gelatina evitando su solidificación, mientras que los resultados negativos vuelven a estado sólido.

Lisina de hierro

Para la prueba se inocularon los cultivos bacterianos en tubos inclinados con medio Lisina de Hierro, se dejaron incubar durante 24 horas y se observó el cambio en la coloración del medio siendo la coloración morada indicadora de prueba positiva.

Fermentación de hidratos de carbono

Para la fermentación de hidratos de carbono (Lactosa, Sacarosa, Glucosa y Dextrosa) se prepararon tubos con rojo de fenol y el azúcar al 5% con campana de Durham, se inocularon los cultivos bacterianos y se dejaron incubando durante 24 horas, posteriormente se observó el cambio de color del medio siendo amarillo para pH ácido y la formación de burbujas dentro de la campana de Durham.

Análisis de datos

Se generó una matriz de abundancia con los géneros presentes por sitio y una matriz de presencia-ausencia de las reacciones de pruebas bioquímicas y los géneros encontrados, para detectar la presencia de ellos.

Se realizó un análisis de varianza para observar las diferencias entre los sitios respecto al conjunto de variables ambientales que fueron medidas y los géneros de bacterias presentes (Legendre y Legendre, 1984).

Se elaboró un análisis de conglomerados (Clúster) entre los sitios de muestreo para determinar su similitud con respecto a los géneros presentes por temporada, con base en el índice cualitativo de Jaccard.

Se comparó la calidad del agua y los géneros de bacterias encontrados conforme a las normas sanitarias establecidas en la NOM-242-SSA1-2009.

Objetivos y metas alcanzados

Se lograron registrar las variables fisicoquímicas y obtener muestras para el análisis microbiológico en las 10 estaciones de muestreo establecidas durante los dos muestreos, estas se lograron inocular en cajas Petri para proceder a un conteo de placa.

Se realizó un conteo de las bacterias heterótrofas obtenidas durante los muestreos en agua y sedimento para posteriormente realizar una caracterización morfológica y establecer una clasificación preliminar, de cual se obtuvieron cultivos bacterianos puros para realizar pruebas bioquímicas que determinaron de manera precisa los géneros presentes en las muestras.

Se generó un análisis Clúster y de componentes principales para determinar relaciones entre los factores fisicoquímicos, los sitios de muestro y los géneros obtenidos durante el análisis bioquímico.

Por último, se compararon los resultados con los requisitos sanitarios establecidos en la NOM-242-SSA1-2009, así como consultar las publicaciones de la Organización Mundial de la Salud para identificar aquellos géneros que se encuentren registrados como riesgo sanitario según los establecidos por dicha organización.

Resultados

En la tabla 1 y 2 se muestran los promedios de las variables obtenidas durante ambos muestreos. La temperatura en superficie y fondo osciló entre los 29.2 °C a los 30.01 °C y su profundidad entre 1.77 y 1.5 metros. Además, se registró una fluctuación considerable en la salinidad entre ambas temporadas de muestreo, registrándose entre 0.94 a 8.17 para superficie y de 1.14 a 11.27 en fondo. Otras variables como el pH, oxígeno disuelto en superficie y fondo no registraron cambios

Tabla 1. Variables fisicoquímicas registradas en campo durante los dos muestreos.

Muestreo	Temperatura Ambiental. (°C)	Temperatura Superficie. (°C)	Temperatura Fondo. (°C)	Profundidad (metros)
Octubre 2018	29.1 ± 2.28	29.2 ± 1.34	29.3 ± 3.8	1.77 ± 0.64
Junio 2019	29.82 ± 1.42	30.01 ± 1.16	30.01 ± 10.2	1.5 ± 0.39

Tabla 2. Variables Fisicoquímicas registradas en campo durante los dos muestreos

Muestreo	Salinidad Superficie. (UPS)	Salinidad Fondo. (UPS)	Oxígeno Disuelto Superficie.	Oxígeno Disuelto Fondo.	pH
Octubre 2018	0.94 ± 0.3	1.14 ± 0.29	6.09 ± 3.90	6.59 ± 4.10	7.91 ± 1.51
Junio 2019	8.17 ± 3.38	11.27 ± 3.19	1.05 ± 0.22	1.38 ± 0.17	6.93 ± 0.35

En la tabla 3 se pueden observar los promedios en los nutrientes estimados para ambos muestreos. En ellos se registró una fluctuación en sus concentraciones. Siendo significativamente menor durante el muestreo de junio y mayor en el muestreo de octubre, siendo la concentración de nitritos la que presento la mayor fluctuación entre ambos muestreos con valores de 0.004 para el muestreo de junio y 13.10 para el muestreo de octubre.

Tabla 3. Nutrientes estimados en campo durante los dos muestreos.

Muestreo	NO ₂ - (mg/L)	NO ₃ - (mg/L)	P (mg/L)	NH ₄ - (mg/L)
Octubre 2018	13.10 ± 10.18	2.46 ± 4.47	3.34 ± 5.71	4.83 ± 7.07
Junio 2019	0.004 ± 0.002	1.10 ± .63	0.69 ± 0.39	0.10 ± 0.11

En las figuras 2 y 3 se observa la estimación de UFC/ml en agua durante ambos muestreos, así como la comparación entre los distintos medios de cultivo utilizados para el conteo. Las concentraciones más elevadas de UFC/ml encontraron en el muestreo de octubre 2018, siendo los sitios 1, 2, 4, 5 y 8 los que presentaron conteos más altos.

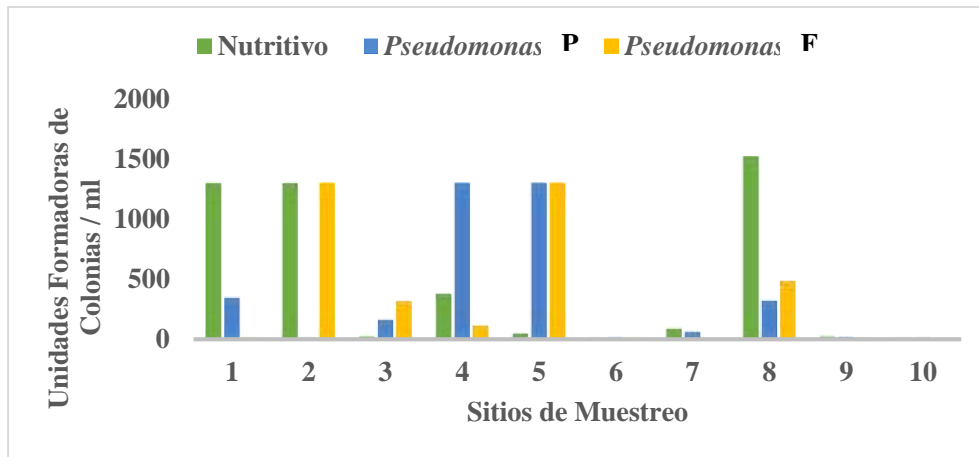


Figura 2. Concentración de UFC/ml en agua, muestreo octubre 2018.

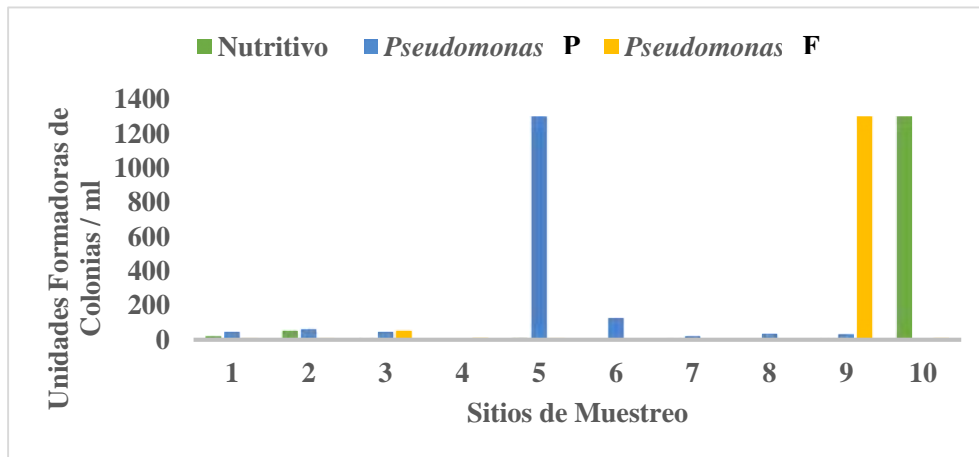


Figura 3. Concentración de UFC/ml en agua, muestreo junio 2019.

En las figuras 4 y 5 se observa la estimación de UFC/ml en sedimento en ambos muestreos, así como la comparación entre los distintos medios de cultivo utilizados. Las concentraciones más elevadas pertenecen al muestreo de octubre 2018, siendo los sitios 1,3, y 10 los que registraron las mayores concentraciones.

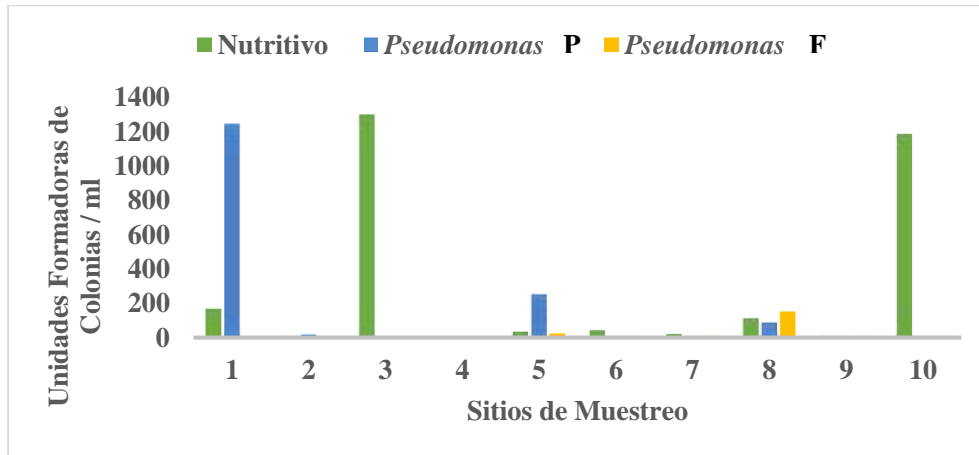


Figura 4. Concentración de UFC/ml en sedimento, muestreo octubre 2018

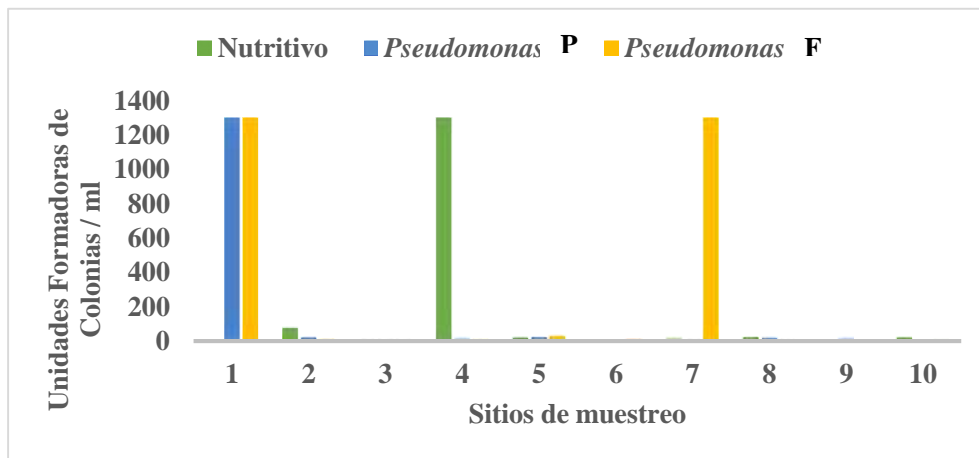


Figura 5 Concentración de UFC/ml en sedimento, muestreo junio 2019

Como se puede observar en la figura 6 se registraron géneros en las muestras de agua durante los muestreos de octubre 2018 y junio 2019. Las especies que presentaron mayor frecuencia en el muestreo de octubre fueron *Morganella morganii* y *Proteus mirabilis*, mientras que en el muestreo de junio fueron *Morganella morganii* y *Enterobacter aerogenes*. *Shigella*, *Enterobacter aerogenes*, *Serratia liquefaciens*, *Serratia*, *Proteus mirabilis* y *Aeromonas* se encontraron ausentes en el muestreo de octubre.

En cuanto a las muestras de sedimento, se registraron 12 géneros. Como se muestra en la figura 7 la especie con mayor frecuencia relativa durante el muestreo de octubre fue *Morganella morganii*, mientras que para el muestreo de junio fue el género *Vibrio*. Los géneros *Klebsiella*, *Enterobacter aerogenes*, *Hafnia* y *Serratia liquefaciens* estuvieron ausentes durante el muestreo de junio.

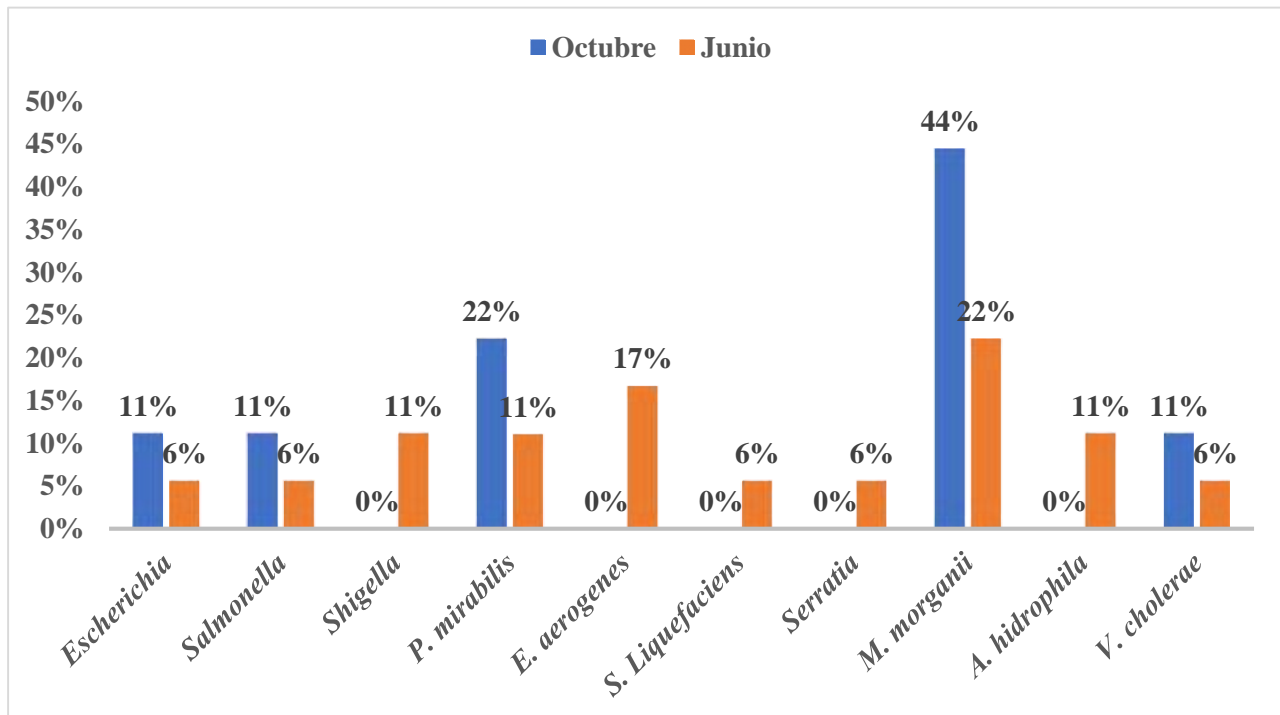


Figura 6. Frecuencia de los géneros bacterianos presentes en las muestras de agua durante los muestreos de octubre y junio.

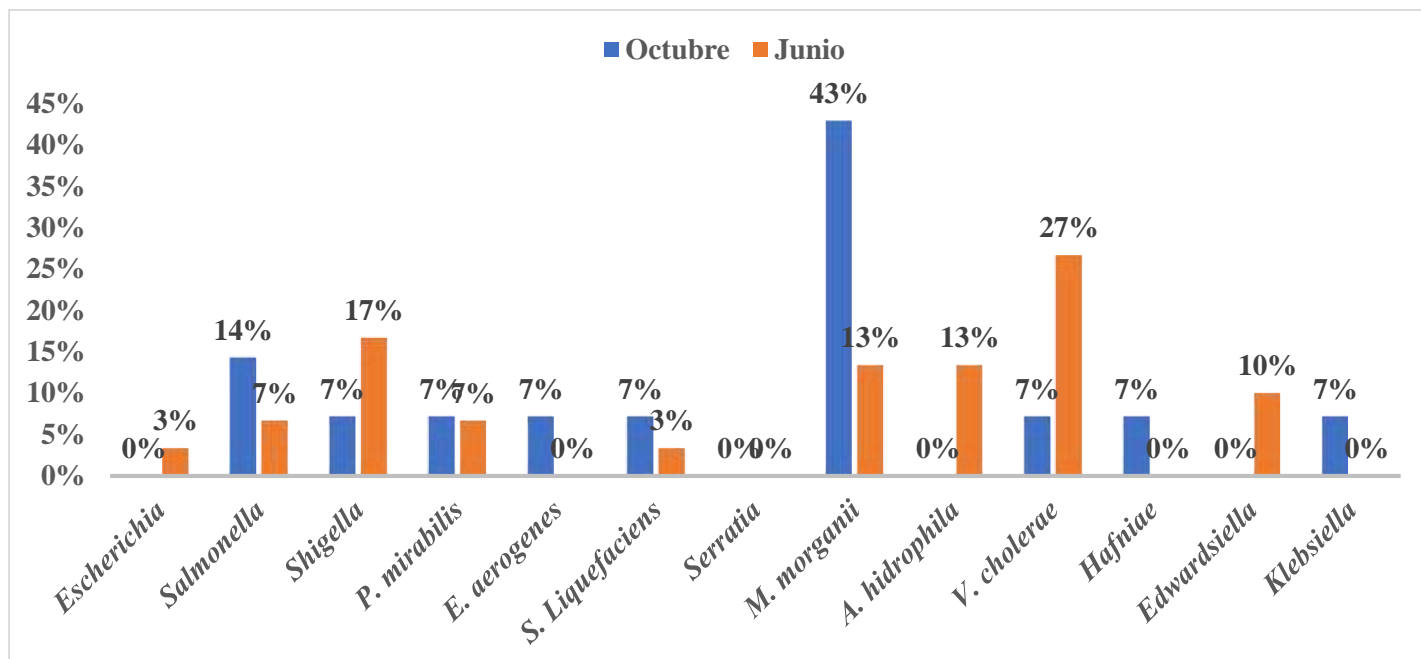


Figura 7. Frecuencia de los géneros bacterianos presentes en las muestras de sedimento durante los muestreos de octubre y junio.

El análisis de componentes principales (Figura 8) muestra una estrecha relación entre algunas variables fisicoquímicas y la presencia de géneros durante el muestreo de octubre 2018. Entre las relaciones más significativas se encontraron: La relación entre la presencia de *P. mirabilis* en agua con la temperatura ambiental y la profundidad de los muestreos, de igual manera se observa una relación positiva entre la presencia de *P. mirabilis* en sedimento y el Oxígeno Disuelto en superficie y fondo, así como su relación negativa con el pH y las concentraciones de Amonio. Cabe mencionar que otras relaciones negativas encontradas fueron la presencia de *Salmonella* y *S. liquefaciens* en sedimento con la temperatura de fondo y la relación negativa entre la presencia de *Escherichia* en agua y la salinidad en superficie y la cantidad de fosfatos.

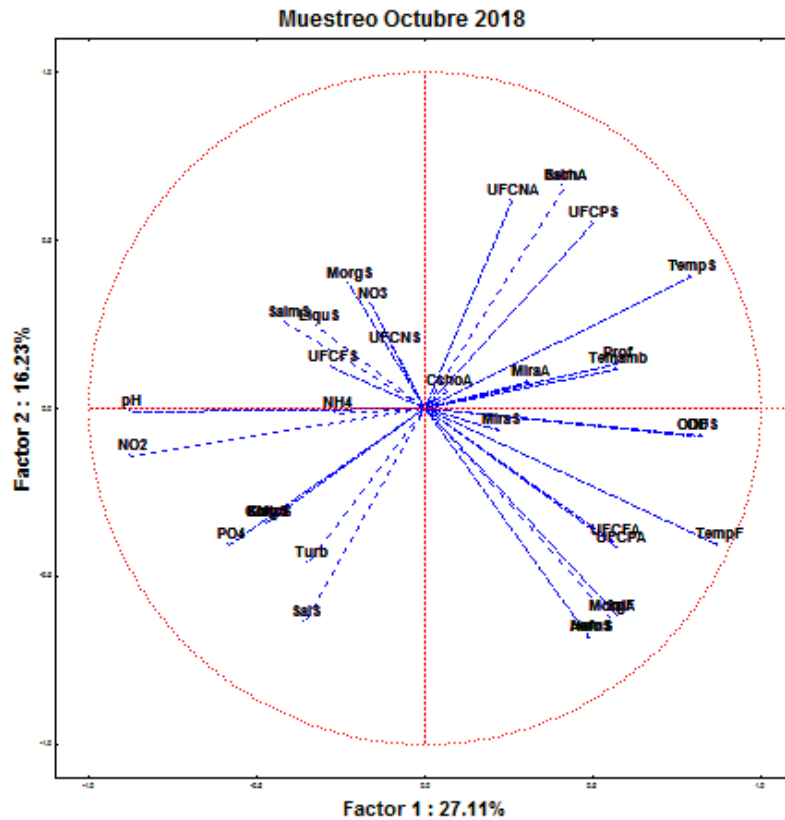


Figura 8 Análisis de Componentes Principales entre los sitios de muestreo respecto a las variables fisicoquímicas, nutrientes y géneros presentes en cada estación. Donde: TempF = Temperatura de Fondo, TempS = Temperatura de Superficie, Temamb = Temperatura ambiental, Turb = Turbidez, SalF = Salinidad de Fondo, SalS = Salinidad de Superficie, ODF = Oxígeno disuelto en Fondo, ODS = Oxígeno Disuelto en Superficie, pH = pH, Prof = Profundidad, NitoS = Nitritos de Superficie, NitoF = Nitritos de Fondo, NatoS = Nitratos de Superficie, NatoF = Nitratos de Fondo, FosfS = Fosfatos Superficie, FosfF = Fosfatos de Fondo, AmonS = Amonio de Superficie, AmonF = Amonio de Fondo, UFCNA = Conteo Agar Nutritivo en Agua, UFCPA = Conteo *Pseudomonas* P en Agua, UFCFA = Conteo *Pseudomonas* F, UFCNS = Conteo Agar Nutritivo en Sedimento, UFCPS = Conteo *Pseudomonas* P en Sedimento, UFCFS = Conteo *Pseudomonas* F en Sedimento, EschA = *Escherichia* en Agua, SalmA = *Salmonella* en Agua, MiraA = *P. mirabillis* en Agua, MorgA = *M. morganii* en Agua, CchoA = *Vibrio cholerae* en Agua, ShigS = *Shigella* en Sedimento, SalmS = *Salmonella* en Sedimento, KlebS = *Klebsiella* en Sedimento, AeroS = *E. aerogenes* en Sedimento, HafnS = *Hafnia* en Sedimento, LiquS = *S. liquefaciens* en Sedimento, MiraS = *P. mirabillis* en Sedimento, MorgS = *M. morganii* en Sedimento, CchoS = *Vibrio cholerae* en Sedimento.

El análisis de componentes principales (Figura 9) muestra la relación que existe entre las variables, los sitios y los géneros de bacteria encontrados, entre las que destaca la presencia De *Salmonella* en agua y sedimento, así como de *M. morganii* en sedimento con la concentración de nitritos, De igual manera se relacionan la presencia de *E. aerogenes* en agua y *P. mirabillis* en sedimento con las concentraciones de nitritos y amonio. Por último, se observan correlaciones negativas entre la presencia de *Salmonella* y *M. morganii* en agua con la concentración de Oxígeno Disuelto y Saturación de Oxígeno. Se registró también una correlación negativa entre la especie *V. cholerae* y el pH de los sitios muestreados. (Figura 9).

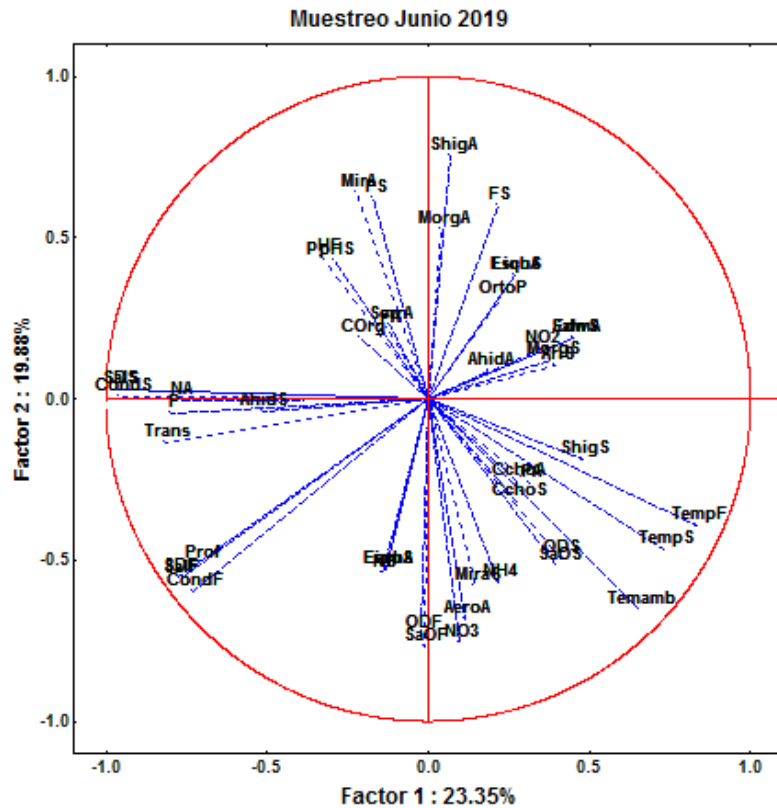


Figura 9. Análisis de Componentes Principales entre los sitios de muestreo respecto a las variables fisicoquímicas, nutrientes y géneros presentes en cada estación. Donde: TempS = Temperatura superficial, TempF = Temperatura de Fondo, Tempamb = Temperatura ambiental, CondS = Conductividad en Superficie, CondF = Conductividad en Fondo, SDS = Solidos Disueltos en Superficie, SDF = Solidos Disueltos en Fondo, SalS = Salinidad en superficie, SalF = Salinidad en Fondo, SaOS = Saturación de Oxígeno en superficie, SaOF = Saturación de Oxígeno en Fondo, ODS = Oxígeno Disuelto en Superficie, ODF = Oxígeno disuelto en Fondo, pHs = pH en Superficie, PhF = pH en Fondo, NO₂ = Nitritos, NO₃ = Nitratos, P = Fosfato, NH₄ = Amonio, OrtoP = Ortofosfatos, % C Org = Porcentaje de Carbono Orgánico, NA = Agar Nutritivo en Agua, PA = *Pseudomonas P* en agua, FA = *Pseudomonas F* en agua, NS = Agar Nutritivo Sedimento, PS = *Pseudomonas P* Sedimento, FS = *Pseudomonas F* Sedimento, EschA = *Escherichia* en Agua, ShigA = *Shigella* en agua, SalmA = *Salmonella* en Agua, AeroA = *P. aerogenes* en Agua, LiqueA = *S. liquefaciens* en Agua, SerraA = *Serratia* en Agua, MiraA = *P. mirabilis* en Agua, MergA = *M. morganii* en Agua, AhidA = *Aeromonas hidrophila* en Agua, ChoA = *Vibrio cholerae*, EschS = *Escherichia* en Sedimento, ShigS = *Shigella* en Sedimento, EdwaS = *Edwardsiella* en Sedimento, ArizS = *Arizona* en Sedimento, LiqueS = *S. liquefaciens* en Sedimento, MiraS = *P. mirabilis* en sedimento, MergS = *M. morganii* en Sedimento, AhidS = *Aeromonas hydrophilla* en Sedimento, ChoS = *Vibrio cholerae* en sedimento

En la figura 10 se muestra el dendrograma que se muestra en la figura 10 que confirma la relación existente entre los sitios de muestreo, según las variables fisicoquímicas obtenidas en campo y los géneros bacterianos encontrados durante el muestreo de octubre, se pueden distinguir dos grupos mediante los cuales se obtienen dos zonas en la laguna, siendo los sitios 1, 2, 3, 4 y 5 los correspondientes a la zona sur de la laguna y los sitios 6, 7, 8, 9 y 10 los que corresponden a la zona norte.

De igual manera en la figura 11 se muestra el dendrograma que representa la relación de los géneros encontrados y las variables fisicoquímicas obtenidas en campo correspondientes al muestreo de junio, se obtuvieron 5 grupos, el grupo 3 incluye a *Vibrio cholerae* en agua y *Salmonella* en sedimento, nitritos, nitratos, fosfatos y amonio. Por otra parte, el grupo 5 relaciona a *M. morganii* en Agua, *P. mirabilis* en agua con variables como Temperatura ambiental, Temperatura en Superficie, Temperatura en Fondo y Oxígeno Disuelto en agua y sedimento.

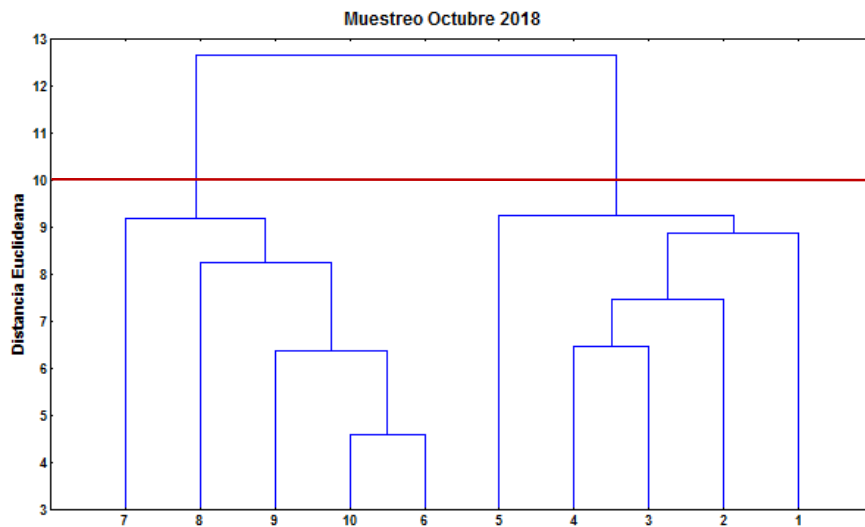


Figura 10. Dendrograma mostrando las relaciones existentes entre los sitios de muestreo según las variables fisicoquímicas y los géneros registrados durante el muestreo de octubre 2018.

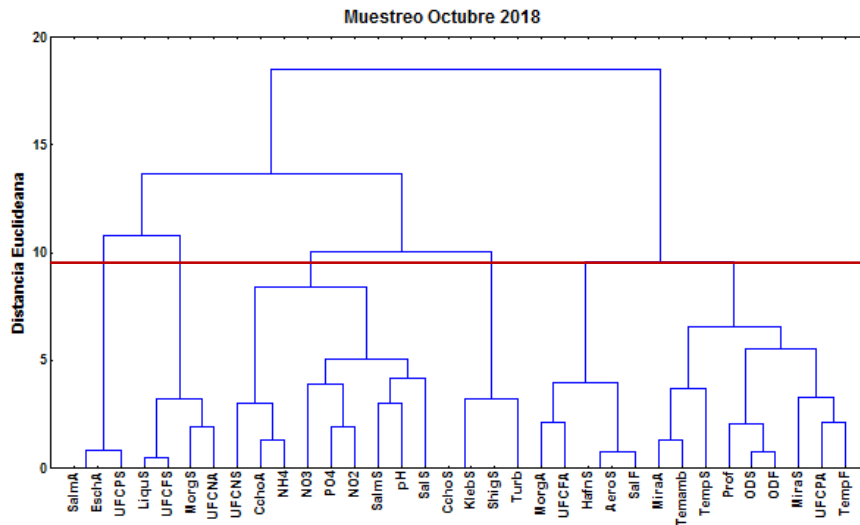


Figura 11. Dendrograma mostrando las relaciones existentes entre los géneros encontrados, las variables fisicoquímicas y los conteos de UFCs durante el muestreo de octubre 2018.

En el dendrograma que se muestra en la figura 12 correspondiente al muestreo de junio se confirma la relación existente entre los sitios de muestreo, según las variables fisicoquímicas obtenidas en campo y los géneros bacterianos encontrados. Se pueden distinguir 3 grupos mediante los cuales se obtienen dos zonas en la laguna y una estación aislada que corresponde con el sitio 10. Los grupos observados están conformados por los sitios 1, 7, 8 y 9 ubicados al norte de la laguna y los sitios 2, 3, 4, 5 y 6 que corresponden a la zona sur.

De igual manera en la figura 13 se muestra el dendrograma correspondiente al muestreo de junio, el cual representa la relación de los géneros encontrados y las variables fisicoquímicas obtenidas en campo, se obtuvieron 7 grupos. El grupo 1 compuesto por los géneros *Edwardsiella*, *Salmonella* en agua y *M. morganii* en agua, el grupo 2 compuesto por los géneros *Arizona* y *Vibrio*, así como la concentración de Ortofosfatos y amonio, el grupo 3 compuesto por *P. mirabillis*, *Serratia* *E. aeromonas* y la concentración de nitritos y pH, el grupo 4 conformado por los géneros *Escherichia*, *S. liquefaciens*, *Shigella* en agua y la cantidad de C orgánico y nitritos, el grupo 5 compuesto por los géneros *Shigella*, *P. mirabillis* y su relación con la cantidad de oxígeno disuelto y la temperatura. Por último, el grupo 6 compuesto por las variables de salinidad, solidos disueltos y transparencia.

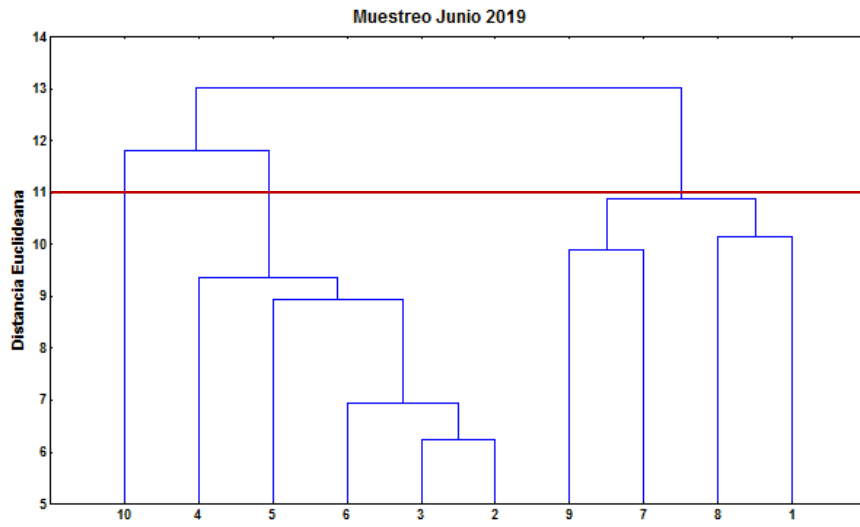


Figura 12. Dendrograma mostrando las relaciones existentes entre los sitios de muestreo según las variables fisicoquímicas y los géneros bacterianos registrados durante el muestreo de junio 2019.

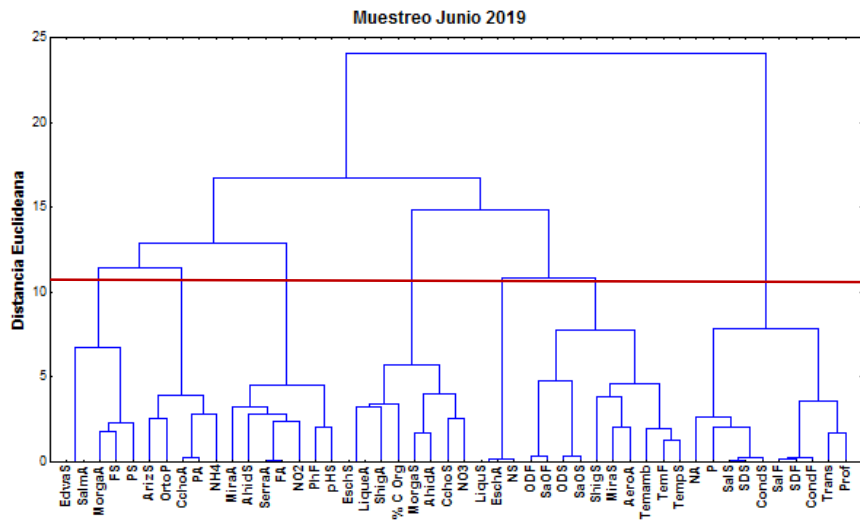


Figura 13. Dendrograma mostrando las relaciones existentes entre los géneros encontrados, las variables fisicoquímicas y los conteos de UFC durante el muestreo de junio 2019.

La Norma Oficial Mexicana NOM-242-SSA1-2009. Para productos de la pesca frescos, refrigerados, congelados y procesados. Clasifica las zonas de pesca y captura del ostión según sus características en tres zonas:

Tabla 4. Zonas de pesca y captura de ostión según la NOM-242-SSA1-2009		
Área aprobada	Área restringida	Área prohibida
<ul style="list-style-type: none"> • La mediana o el promedio geométrico del NMP del agua, no excede de 14 NMP/100 ml y no más del 10% de las muestras excede de 43 NMP/100mL para la prueba de dilución decimal de 5 tubos. El promedio geométrico deberá realizarse mediante un muestreo anual de 30 muestras de cada uno de los puntos de monitoreo. • No deben estar contaminadas con aguas residuales, domésticas, municipales, industriales, agrícolas, de embarcaciones, plataformas u otras instalaciones lacustres o marinas. • No deben afectadas por derrames de materiales que contengan sustancias tóxicas como consecuencias de contingencias. • No deben estar afectadas con residuos de material radiactivo. • No deben estar afectadas por marea roja o biotoxinas naturales, diferentes a las presentes en marea roja. 	<ul style="list-style-type: none"> • La mediana o el promedio geométrico del NMP del agua, no excede de 88 NMP/100 ml y no más del 10% de las muestras excede de 260 NMP/100mL para la prueba de dilución decimal de 5 tubos. El promedio geométrico deberá realizarse mediante un muestreo anual de 30 muestras de cada uno de los puntos de monitoreo. • No deben estar contaminadas con aguas residuales, domésticas, municipales, industriales, agrícolas, de embarcaciones, plataformas u otras instalaciones lacustres o marinas. • No deben afectadas por derrames de materiales que contengan sustancias tóxicas como consecuencias de contingencias. • No deben estar afectadas con residuos de material radiactivo. • No deben estar afectadas por marea roja o biotoxinas naturales, diferentes a las presentes en marea roja. 	<ul style="list-style-type: none"> • Aquella en la cual la calidad del agua rebasa los límites máximos establecidos para el área restringida y en los siguientes casos • Contaminada con aguas residuales, domésticas, municipales, industriales, agrícolas, de embarcaciones, plataformas u otras instalaciones lacustres o marinas. • Afectada por derrames de materiales que contengan sustancias tóxicas como consecuencias de contingencias. • Afectada con residuos de material radiactivo. • Afectada por marea roja o biotoxinas naturales, diferentes a las presentes en marea roja.

Discusión.

En muestreos de octubre 2018 y junio 2019 para las muestras de agua y sedimento se registraron variaciones espacio temporales en las variables fisicoquímicas y contenido de nutrientes. La precipitación acumulada mensual registrada según el Servicio Meteorológico Nacional (Consultado: <https://smn.conagua.gob.mx/es/climatologia/pronostico-climatico/precipitacion-form>) para el estado de tabasco durante el muestreo de octubre 2018 fue de 200 a 300 mm, durante este muestreo el promedio en la profundidad registrada fue de 1.77 metros, mientras que la precipitación acumulada mensual para el muestreo de junio fue de 400 mm, siendo la profundidad promedio registrada para este muestreo de 1.5 metros.

Los valores de salinidad obtenidos 1.14 UPS durante octubre 2018 y 11.27 UPS para junio 2019 reflejan la influencia de los regímenes climáticos de estiaje según lo describe Contreras (1993), los cuales pueden producir cambios drásticos en la salinidad entre los muestreos. Los valores obtenidos durante el muestreo de junio se encuentran por debajo de los reportados por Aguilar (2002) con valores de 14.04 mg/L a 22.25 mg/L dentro de la laguna de Mecoacán y únicamente durante el mes de junio alcanzo los rangos descritos por De la Lanza *et al.* (2010) que van de <5 a 34 mg/L. Los patrones de salinidad registrados coinciden con los descritos por Aguilar (2002) ubicando las concentraciones más elevadas cerca de la desembocadura al Golfo 16.09 y los valores más bajos en la desembocadura del río Escarbado que fue de 4.86 mg/L.

El oxígeno disuelto durante el muestreo de octubre de 2018 obtuvo valores dentro del rango descrito por Pérez (2007) cuyos valores están entre 1.6 mg/L y 7.6 mg/L y superiores a los descritos por Aguilar (2002) y por De la Lanza *et al.*, (2010). Sin embargo, durante el muestreo de junio de 2019 se registraron valores promedio de 1.38 mg/L el cual es inferior al límite en el que se ejerce presión sobre los organismos acuáticos y al ámbito crítico para la supervivencia de los peces descrito por Ramírez *et al.*, (1995) de entre 3 a 4 mg/L. La variación entre los muestreos puede deberse a la relación que existe entre la solubilidad del oxígeno y su reducción con el aumento de temperatura y salinidad Wetzel (1981), así como a la estratificación del agua descrita por Pérez (2007), donde el movimiento vertical de los solutos y gases a lo largo de la termoclina se llevan a cabo de manera lenta.

Los valores promedio de pH obtenidos durante ambos muestreos corresponden con lo descrito por Pérez (2007), quien describe a la laguna de Mecoacán con un pH ligeramente ácido y cercano a la neutralidad registrando el aumento más notorio en los periodos de abril y junio con promedio máximo de 8.7 y un descenso máximo hasta 7.6 durante noviembre, siendo este comportamiento opuesto al observado durante los muestreos realizados en esta investigación. Según Malaver *et al.*

(2014), las variaciones en el pH dependerán de las características locales, en las que intervienen factores como la cantidad de agua de mar, calidad de los escurrimientos, la lluvia, la circulación deficiente de agua, presencia de detritus orgánico y actividad metabólica de los microorganismos, por ende, tiene gran influencia en la vida acuática y las condiciones del sedimento.

Pérez (2007), describe a la laguna de Mecoacán como un sistema con una elevada productividad que está sujeta a diversas presiones derivadas de las actividades acuícolas, pesqueras y de recreación y que a su vez es regulado por la cantidad de nutrientes disponibles. En las concentraciones de nutrientes se observó un cambio drástico entre los muestreos de octubre 2018 que obtuvo mayores concentraciones NO₂, NO₃, P y NH₄ con respecto a las registradas en junio 2019. Felip *et al.*, (1996) indica que el crecimiento bacteriano además de condiciones ambientales adecuadas requiere de grandes cantidades de carbono orgánico y nutrientes como nitrógeno y fosforo, por consiguiente, el crecimiento bacteriano será directamente estimulado por la adición de P inorgánico y otros nutrientes.

En cuanto al conteo de UFC, las concentraciones bacterianas para el muestro de junio 2019 fueron relativamente bajos en comparación con las registradas durante el muestreo de octubre 2018, esto corresponde probablemente a los cambios en las concentraciones de oxígeno disuelto y nutrientes, así como a la salinidad registrada durante los muestreos. Sin embargo, las concentraciones registradas durante el muestreo de octubre fueron superiores a las registradas por Pérez (2007), las cuales oscilaron entre 1.04×10^4 y 3.68×10^6 . Los sitios que obtuvieron mayores concentraciones de bacterias fueron los sitios 1, 2, 4, 5, y 7 para agua y 1, 7 y 10 para sedimento durante el muestreo de octubre 2018 y 5, 9 y 10 para agua y 1, 4 y 7 en sedimento durante el muestreo de junio 2019. A pesar de que los sitios 1, 9 y 10 se encuentran cercanos a la boca de la laguna y por ende tienen como rasgo común la frecuente mezcla de sus aguas por distintos afluentes como las aguas de mar presentaron concentraciones bacterianas elevadas, a diferencia de lo registrado por Pérez (2007), esto puede explicarse debido a la presencia de poblados pequeños de la periferia carentes de infraestructura sanitaria como lo encontrado por Esquivel *et al.*, (2009) en el Lago de Catemaco en Veracruz, así como la presencia de elevada actividad comercial y turística que provee contaminantes como detergentes, componentes de petróleo y materia fecal Pérez (2007). Por su parte, los sitios 5 y 7 ubicados lejos de puntos de vertimiento pueden estar bajo la influencia de movimientos de agua derivados de las corrientes y mareas como lo mencionan Paul *et al.*, (1995). Según Atlas y Bartha (1997) las concentraciones de nutrientes inorgánicos, especialmente los que contienen nitrógeno y fosforo, contribuyen a determinar la capacidad del hábitat para favorecer el crecimiento y metabolismo microbiano, esta condición coincide con los patrones observados en esta investigación, siendo el muestreo de octubre 2018 en el que se registraron las mayores concentraciones de nutrientes y, por ende, las mayores concentraciones bacterianas.

El género que presentó la mayor frecuencia durante ambos muestreos pertenece a *Morganella morganii*, Lee *et al.*, 2009 la describe como parte natural de la flora intestinal y debido a esto se

puede encontrar comúnmente en el ambiente y en el tracto intestinal de los humanos, mamíferos y reptiles. La resistencia a antibióticos según Seija *et al.*, (2015), se ha incrementado en los años recientes, siendo cada vez más comunes las infecciones multirresistentes que resultan frecuentemente en la falla del tratamiento clínico. Se encuentra ampliamente distribuida según lo descrito por Ghosh y LaPra (2007), debido a su gran capacidad adaptativa. A pesar de no haber sido de interés durante algunos años, actualmente según H. Liu *et al.*, (2016), su importancia ha ido en aumento debido a su alta mortalidad registrada en los casos reportados y a su resistencia a los antibióticos betalactámicos.

El género *Aeromonas* según lo mencionado por Janda y Abbott (2010), tiene una distribución global en el hombre y es causante de diversas manifestaciones intestinales, fundamentalmente de diarreas y casos aislados de síndrome urémico asociados a enterocolitis por *A. hydrophila*. Castro-Escarpulli *et al.*, (2002), mencionan que el contacto directo del agua con heridas está considerado como una fuente clásica de infecciones cutáneas y gastrointestinales y su concentración en muestras de agua depende de factores como la concentración de materia orgánica, el oxígeno disuelto y la salinidad. Dias *et al.*, (2016), atribuye su patogenicidad a diversas enzimas extracelulares como pueden ser lipasas, quitinasas, amilasas, gelatinasas, hemolisinas y enterotoxinas.

Según Becerra-Tapia y Botello (1995), géneros como *Shigella*, *Salmonella* y *Vibrio* registrados durante los 2 muestreos son fuentes potenciales de infecciones severas de forma directa mediante el contacto con el agua, usualmente con fines de recreación o indirecta mediante el consumo de alimentos como peces, crustáceos y moluscos. Clemente *et al.*, (2014), mencionan que una de las preocupaciones actuales relacionadas con el género *Salmonella* es el aumento de su resistencia a antibióticos como el ácido nalidixico, sulfafurazol y la penicilina. Martínez (2002), relacionó la variación en las concentraciones del género *Vibrio* con las interacciones entre las bacterias y presencia de bacterívoros más que con los factores fisicoquímicos afirmando que las bacterias del tamaño de *V. cholerae* son eliminadas eficientemente causando su reducción dentro de los cuerpos de agua contaminados. Además, la Organización Mundial de la Salud (2017) relaciona cierto número de especies de *Vibrio* con enfermedades por consumo de moluscos, entre los que destaca *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio vulnificus*, los cuales indica que se encuentran de manera natural en medios costeros y estuarios y no se relacionan con contaminación fecal, mientras que otros tipos como *Vibrio cholerae* que provoca el cólera epidémico está relacionado a contaminación fecal de humanos. Otros géneros como *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Escherichia* de acuerdo con lo descrito por Chiroles *et al.*, (2007), pueden tener su origen fecal o no, además de considerar a *Escherichia* como un indicador de la presencia de patógenos bacterianos debido a su presencia natural en la flora intestinal del hombre y animales de sangre caliente.

La similitud entre las agrupaciones obtenidas de los análisis clúster y las relaciones que se pudieron observar mediante el análisis de componentes principales demuestran la fiabilidad de ambos análisis realizados, debido a que se obtuvo una agrupación en los sitios muestreados en la zona norte y los sitios de la zona sur, esto de acuerdo a sus variables fisicoquímicas y concentración de bacterias heterótrofas. Se encontraron patrones similares a los descritos por Pérez (2007), con respecto a las salinidades más altas y temperaturas frías en los sitios ubicados en la zona norte, los cuales se encuentran más cercanos a la desembocadura al mar. Sin embargo, una característica especial a resaltar en el sitio 10, ubicado cerca de la desembocadura, fue diferente en los valores registrados para salinidad, conductividad y sólidos disueltos, esto debido a la cercanía con una línea de asentamientos humanos que posiblemente no cuenten con un sistema de drenaje o tratamiento de desechos adecuado.

Los grupos resultantes del análisis clúster en el que se tomaron en cuenta los géneros encontrados, las variables fisicoquímicas y las concentraciones bacterianas dieron como resultado para el muestreo de octubre 5 grupos entre los que destacan: El grupo 3 en cual incluye a *Vibrio cholerae* en agua y *Salmonella* en sedimento relacionadas con las concentraciones de nitritos, nitratos, fosfatos y amonio. Por otra parte, el grupo 5 relacionando a *M. morgani* en agua, *P. mirabilis* en agua con variables como temperatura ambiental, temperatura en superficie, temperatura en fondo y oxígeno disuelto en agua y sedimento. Para el muestreo de junio se obtuvieron 7 grupos entre los que destacan: El grupo 2 compuesto por los géneros *Arizona* y *Vibrio*, así como la concentración de ortofosfatos y amonio, el grupo 3 compuesto por *P. mirabilis*, *Serratia*, *Aeromonas* y la concentración de nitritos y pH, el grupo 4 conformado por los géneros *Escherichia*, *S. liquefaciens*, *Shigella* en agua y la cantidad de C orgánico y nitritos, el grupo 5 compuesto por los géneros *Shigella*, *P. mirabilis* y su relación con la cantidad de oxígeno disuelto y la temperatura. Por último, el grupo 6 compuesto por las variables de salinidad, sólidos disueltos y transparencia.

Dentro de los análisis de componentes principales realizados para ambos muestreos se observa la relación existente entre el oxígeno disuelto y diversas variables como lo son la temperatura, el pH, la salinidad y la cantidad de NO₂ registrada. Ramírez *et al.*, (1995), indica que el oxígeno disuelto se ve relacionado con la temperatura debido a que modifica notablemente la solubilidad del gas en la columna de agua, de igual manera, otros factores como la salinidad y el pH afectan la solubilidad y desprendimiento de la interfase agua-atmosfera. Durante ambos muestreos se observa una relación negativa entre la presencia de géneros como *Escherichia* y el aumento en la salinidad, esto coincide con lo mencionado por Solic y Krstulovic (1992), quienes afirman que la relación inversa entre la salinidad y las bacterias coliformes fecales ha sido demostrada para los ambientes con la influencia del agua de mar.

Navas *et al.* (2003) indica que las altas concentraciones de nutrientes son una de las características principales de las lagunas costeras, debido a que su área se encuentra circundada por manglar lo

cual se traduce en una alta disponibilidad de nutrientes. Además, la cercanía con asentamientos humanos que según Alonso-Rodríguez *et al.* (2000) con sus actividades pueden alterar los ciclos biogeoquímicos contribuyendo en el aumento de las concentraciones naturales de nitrógeno y fósforo proveniente de actividades agrícolas. Esta introducción de nutrientes, como lo indica Evison (1988), puede estimular el crecimiento de bacterias de origen fecal o prolongar su supervivencia en el medio. Explicando así la relación positiva entre la presencia de algunos géneros bacterianos como *Salmonella*, *P. mirabilis*, *Serratia*, *Aeromonas* y *Vibrio* con respecto a las concentraciones en nitritos y ortofosfatos. De igual manera, esto puede deberse según Mallin *et al.* (1997), a que tanto los géneros bacterianos, como los nutrientes provienen de la misma fuente como puede ser de desechos de drenaje o en heces de animales, y en otros casos la introducción de nutrientes se realiza mediante fertilizantes depositados por arrastre.

Debido a que la captura de ostión es una de las actividades con mayor importancia dentro de la laguna de Mecoaacán y a que la evaluación bacteriológica fue uno de los objetivos planteados dentro de esta investigación, se deben tomar en cuenta los límites permisibles para los contaminantes microbiológicos establecidos en la “Norma Oficial Mexicana NOM-242-SSA1-2009. Para productos de la pesca frescos, refrigerados, congelados y procesados. La cual establece los límites para ciertos organismos como son: 230 NMP/100ml para coliformes fecales y *E. coli*, ausente en 50 g para *Vibrio cholerae* y ausente en 50g para *Salmonella* spp., Indicando que las cantidades encontradas rebasan los números permisibles para el producto ostión.

De igual manera, la NOM-242SSA1-2009 establece clasificaciones para los sitios de captura, recolección y cultivo de moluscos y bivalvos, haciendo énfasis en los factores que deben tomarse en cuenta para llevar a cabo dichas actividades. Entre las que destacan la debido a las necesidades para brindar productos inocuos y de calidad se encuentran la ausencia de vertimiento de aguas residuales, domésticas, municipales, industriales y agrícolas, así como sustancias tóxicas como consecuencias de contingencias o biotoxinas naturales.

Conclusiones

Los regímenes climáticos se hicieron evidentes mostrados cambios en las variables fisicoquímicas en ambos muestreos, principalmente en aquellas que se pueden considerar como reguladoras de las concentraciones de coliformes como lo son salinidad, materia orgánica y oxígeno disuelto, existen zonas de la laguna en las que el impacto de esta variación es reducida debido a que el origen de la contaminación corresponde a asentamientos y construcciones cuya infraestructura no cuenta con una buena forma de manejo de desechos como es el caso de las estaciones 1, 9 y 10.

Algunos de los géneros encontrados, como *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Proteus* y *Morganella*, están relacionados con enfermedades que representan un riesgo sanitario latente, además de presentar resistencia a algunos antibióticos según

la lista publicada por la OMS en el 2017. De igual manera la presencia del género *Shigella* indica la contaminación por desechos de origen humano.

El patrón encontrado para la distribución de los géneros encontrados indica que si bien, parte de los contaminantes corresponde a asentamientos cercanos, esta no es la fuente exclusiva, siendo responsables de la contaminación diferentes procesos como las mareas, escurrimientos y corrientes de los ríos cercanos.

Debido a que una de las principales actividades dentro de la laguna es la captura y el cultivo del ostión, es necesario cumplir con lo establecido dentro de la NOM-242-SSA1-2009. Para productos de la pesca frescos, refrigerados, congelados y procesados, apartado 8.0 “Clasificación de Áreas” para la captura y cultivo de ostión

Referencias

- Aguilar I. 2002. Estudio bacteriológico y fisicoquímico de la calidad del agua de la laguna de Mecoacán, Tabasco, México. Tesis para obtener el título de Biólogo. Universidad Nacional Autónoma de México. 41-77 p.
- Alonso-Rodríguez R., Páez-Osuna E. F., y Cortés-Altamirano R. 2000. Trophic conditions and stoichiometric Nutrient balanced in Subtropical Waters influenced by municipal sewage effluents in Mazatlán Bay. *Marine Pollutions Bulletin*.
- APHA (American Public Health Association). 1989. Standard methods for the examination of water and wastewater. 17a. ed, Washington, DC: APHA. 1220 p.
- Atlas R. M. 1990. Microbiología: Fundamentos y aplicaciones. Editorial Continental: México, D.F. pp 705-754
- Atlas R. y Bartha C. 1997. Microbial Ecology. Fundamentals and Applications. 4th Ed. Addison-Wesly. Massachusetts, 569 p
- Aubriot L., Conde D., Bonilla S., Hein V., y Britos A. 2005. Vulnerabilidad de una laguna costera en una Reserva de Biosfera: Indicios recuentes de eutrofización. Atlas R. M. 1990, Microbiología: Fundamentos y aplicaciones. Editorial Continental
- Bachoon DS, Markand S, Otero E, Perry G y Ramsubaugh A. 2010. Assessment of non-point sources of fecal pollution in coastal waters of Puerto Rico and Trinidad. *Marine Pollution Bulletin*. 60: 1117–1121.
- Barrera-Escorcia G., Wong-Chang I., Sobrino-Figueroa A. S., Guzmán-García X., Hernández-Galindo F y Saavedra-Villeda F. 1999. Evaluación microbiológica de la laguna Tamiahua, Veracruz en el ciclo 1994-1995. *Hidrobiológica* 9(2):125-134
- Bastardo A., Bastardo H., y Rosales J. 2007. Diversidad funcional de las bacterias heterótrofas del Bajo Rio Orinoco, Venezuela. *Ecotrópicos* 20(1):15:23.
- Becerra-Tapia, N. y A. V. Botello, 1995. Bacterias coliformes totales, fecales y patógenas en el sistema Lagunar Chantuto-Panzacola, Chiapas, México. *Hidrobiológica* 5 (1-2): 87-94
- Bianchi A. J. M. 1973. Variations de la concentration bacterienne dans les eaux et les sediments littoraux. *Marine Biology*. (22) 23-29
- BIOXÓN. 1983 Manual BIOXÓN. Medios, Agares y Caldos para Cultivo Bacteriológico. 87p.

Campbell R. 1987. Ecología microbiana. Primera edición. Editorial Limusa. México. 268 pp.

Carbajal R. F., Figueroa T. M. G., Ferrara G. M. J. 2009. Diatomeas de la Laguna de Sontecomapan, Veracruz y su importancia como indicadores biológicos. PLANCTOLOGIA (XV Reunión Nacional de la Sociedad Mexicana de Planctología A.e. y VIII International Meeting of the Mexican Society of Planktology)

Castañeda López, O. y F. Contreras Espinosa 1997. “Problemática sobre las lagunas costeras mexicanas IV. Pautas para el aprovechamiento sustentable de áreas costeras en México”, *Contactos*, 3ª Época, núm. 24, pp. 25-38.

Caso M., Pisanty I. y Ezcurra E. 2004. Diagnóstico ambiental del golfo de México. Instituto Nacional de Ecología (INE-SEMARNAT) pp 642

Castro E. G., Aguilera A. M. G., Hernández R. C. H., Arteaga G. R. I., Carmona M. A. A., Pérez V. A., Giono C. S., Figueras S. M. J. y Aparicio O. G. 2003. La identificación genética de *Aeromonas*, una realidad y una necesidad para la microbiología diagnóstica. *Bioquímica*. Diciembre, año/volumen 28. Número 004.

Castro-Escapulli G., Aguilera-Arreola M. G., Giono S., Hernández-Rodríguez C. H., Rodríguez M., Soler L., Aparicio G. y Figueras M. J. 2002 El género *Aeromonas* ¿Un patógeno importante en México? *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Vol 22 (4): 206-216*

Clemente L., Correia L., Themudo P., Neto I., Canica M. y Bernardo F. 2014 Antimicrobial susceptibility of *Salmonella enteric* isolates from healthy breeder and broiler flocks in Portugal. *Vet J.* 2014 pp 276-281

Chiroles R. S., M. I. Gonzales T., Torres M. Valdez M., Domínguez I. 2007. Bacterias indicadoras de contaminación fecal en aguas del río Almendares (Cuba) *Hig. Sanid. Ambient. 7: 222-227*

Crossland C. J., Kremer H. H., Lindeboom H., Crossland J. I. M. y Le Tissier M. D. A. 2005. Coastal fluxes in the Anthropocene: The land-ocean interactions in the coastal zone Project of the International Geosphere Biosphere Programme. Springer-Verlag, Berlin Germany. 217 pp.

Cifuentes J. L., Rodríguez R. y Zarur A. 1972. Panorama general de la contaminación de las aguas en México. En: M. Ruivo (Ed). *Marine Pollution and Sea Life*. FAO, Fishing News Books, Roma. 100-106.

Cisneros Z. F. 2010. Caracterización de bacterias heterótrofas en dos ecosistemas lagunares: Catemaco y Sontecomapan, Veracruz, durante dos temporadas climáticas invierno y primavera 2010. Informe de Servicio Social Licenciatura en Biología. UAM Xochimilco. 64 pp.

Contreras E. F. 2010. Ecosistemas costeros mexicanos una actualización. ed. México, D.F.: Universidad Autónoma Metropolitana (UAM). Unidad Iztapalapa. 514 p.

Contreras E.F. 1985. Las lagunas costeras mexicanas. Centro de ecodesarrollo. México pp:17-45.

Contreras E. F. 1993. Ecosistemas costeros mexicanos. México UAM Iztapalapa, 415 pp.

Contreras E. F, Castañeda L. O. 2004 La biodiversidad de las lagunas costeras. Revista científica de América Latina y el Caribe, España y Portugal. Número 076.

De la Lanza E. G., Gómez J. C. y Hernández S. 2010. Vulnerabilidad de la zona costera. Fisicoquímica, 15-36. En: A.V. Botello, S. Villanueva-Fragoso, J. Gutiérrez, y J.L. Rojas Galaviz (eds.). Vulnerabilidad de las zonas costeras mexicanas ante el cambio climático. Semarnat-ine, unam-icmyl, Universidad Autónoma de Campeche. 514 p.

Dias M. K. R., Sampaio L. S., Proietti-Junior A. A., Oshioka E. T. O., Rodrigues D.P., Rodríguez F.R., Ribeiro R.A., Faria F, Ozório R. O. A. y Tavares-Dias M. 2016. Lethal dose and clinical signs of *Aeromonas hydrophila* in *Arapaima gigas* (Arapaimidae), the giant fish from Amazon. Veterinary Microbiology. 188: 12-15.

Díaz-González G, Vázquez-Botello A y Ponce-Vélez G. 1994. Contaminación por hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP'S) disueltos en la laguna Mecoacán, Tabasco, México. *Hidrobiológica*, 4(1-2): 21-27.

Ehrhardt J, Alabi A. S., Kremsner P. G., Rabsch W, Becker K, Foguim F. T., Kuczius T., Esen M., Schaumburg F, 2016. Bacterial contamination of water samples in Gabon, 2013. Journal of Microbiology, Immunology and Infection (2016), doi: 10.1016/j.jmii.2016.03.009.

Esquivel H. A., Soto C. R., Figueroa T. G., Moreno R. J. L. y Torres-Orozco B. R. 2009. Diagnóstico del Estado trófico y de la calidad bacteriológica del agua, sedimento y caracol (*Pomacea patula catemacensis*) del Lago de Catemaco, Veracruz. *In*. Contribuciones al conocimiento de los Recursos Naturales (71-83).

Evison, L. M. 1998. Comparative studies on the survival of indicator organisms and pathogens in fresh and sea water. Water Science and Technology 20:309–315.

Fan D., Wu Y., Zhang Y., Burr G., Huo M. y Li J. 2017. Shouth Flank of the Yangtze Delta: Past, present and future. *Mar Geol.* 392; 78- 93.

Felip M., Cole J.J. y Peace L. M. 1996 Regulation of planktonic bacterial growth rates: the effects of the temperatur and resources. *Microbial Ecology* Pp. 15-28

Fernández A. A., Bravo F. L., Ramírez A. M., Fernández A. C., Ledo G. Y., Correa M. Y., Gómez R. N., y Cruz I. Y. 2008. Aislamiento e identificación de *Aeromonas* y *Plesiomonas* en el embalse “Niña Bonita”, Ciudad de La Habana, Cuba *Rev. Cubana Med. Trop.* Volumen 20 numero 2.

Freeman B. A. 1989. *Microbiología de Burrows*. 22.a edición en español. México, Interamericana, 1989: 1078.

Forbes B. A., Sahm D, Weissfeld A. 2004. *Bailey & Scott’s Diagnóstico Microbiológico*. 11^a ed. Médica Panamericana, Buenos Aires, Argentina. 1134 p.

Fuentes, N. M. 1996. Determinación de los Niveles de Contaminación Fecal en la Bahía de Akumal, Quintana Roo. S. S. Universidad Autónoma Metropolitana, México, D. F.

George-Zamora A, Sevilla-Hernández M. L. y Aldana-Aranda D. 2003. Ciclo gonádico del ostión americano *Crassostrea virginica* (Lamellibranchia:Ostreidae) en Mecoacán, Tabasco, México. *Revista de Biología Tropical*, 51(4): 109-11.

Ghosh S, LaPara T. M. 2007. The effects of subtherapeutic antibiotic use in farm animals on the proliferation and persistence of antibiotic resistance among soil bacteria. *ISME J* 2007;1:191–203.

Herrera Silveira J y Morales Ojeda S. 2010. Lagunas Costeras de Yucatán. *En* Durán R. y M. Méndez (Eds). *Biodiversidad y Desarrollo Humano en Yucatán*. CICY, PPD-FMAM, CONABIO, SEDUMA. 496 p.

Herrera, A., y Suárez, P. 2005. Indicadores bacterianos como herramientas para medir la calidad ambiental del agua costera. *Interciencia*, 30(3), 171-176. Recuperado en 12 de septiembre de 2018

Janda J. M., Abbott L. S. 2010. The Genus *Aeromonas*: Taxonomy, Pathogenicity, and Infection. *Clinical Microbiology Reviews* , 23 (1) 35-73; DOI: 10.1128/CMR.00039-09

Kenar, B. & M. Altindis. 2001. Hygenic quality investigation of both drinking and tap-waters in Afyon. *The Medical Journal of Kocatepe* 2: 269-274. DOI:10.18229/ktd.54525

Kirchman, D. L. y Williams, J. Le B. 2000. Cap. I. Introduction . En: *Microbial Ecology of the Oceans*. D.L. Kirchman (eds.), Wiley-Liss Inc. 542 p.

Lara-Lara J. R., Arreola Lizárraga J. A., Calderón Aguilera L. E., Camacho Ibar V. F., de la Lanza Espino G., Escofet Giansone A., Espejel Carbajal M. I., Guzmán Arroyo M., Ladah L. B., López Hernández M., Meling López E. A., Casasola Barceló P. M., Reyes Bonilla H., Ríos Jara E. y Zertuche González J. A. 2008. Los ecosistemas costeros, insulares y epicontinentales, en *Capital natural de México*, vol. I : *Conocimiento actual de la biodiversidad*. Conabio, México, pp. 109-134.

Lara-Domínguez A. L., Contreras-Espinosa F, Castañeda-López O, Barba-Macías E y Pérez-Hernández M. A. 2011. Lagunas costeras y estuarios. La biodiversidad en Veracruz: Estudio de caso. Comisión para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO), Gobierno del Estado de Veracruz, Universidad Veracruzana (UV), Instituto de Ecología AC (INECOL), 301-317.

Legendre, L., Legendre, P. 1984. *Écologie Numérique*. 2éme ed. Masson et Cie. - Presses de l'Université du Québec, Tomes 1 and 2, 260+335 pp.

Lee C. Y., Lee H.F., Huang F.L., Chen P.Y.. 2009. *Haemorrhagic* bullae associated with a chicken scratch. *Ann Trop Paediatr* 2009; 29:309–11.

Liu H., Zhu J., Hu Q. y Rao X. 2016. *Morganella morganii*, a non-negligent opportunistic pathogen. *International Journal of Infectious Diseases*. Department of Microbiology, College of Basic Medical Sciences, Third Military Medical University, China.

Mac Faddin, J. F., 2003. *Pruebas bioquímicas para la identificación de Bacterias de Importancia Clínica*. 3ra edición, 1ª Reimpresión. Editorial Médica Panamericana, México. pp. 54-421.

Madigan T. M., Martinko M. J y Parker J. 1999. *Biología de los microorganismos*. Prentice Hall Iberia, Madrid. pp 708-712

Malaver N., Rodríguez M., Montero R., Aguilar V. y Salas M. 2014. Cambios espaciales y temporales en las características fisicoquímicas y microbiológicas del agua de la laguna de Tacarigua, Estado, Venezuela. *Acta Biol Venezue*. 34. 117-151.

Małecka, M. & W. Donderski. 2006. Heterotrophic bacteria inhibiting water of the river Brda on the Bydgoszcz town section. *Baltic Coastal Zone* 10: 31-46. ISSN 1643-0115.

Mallin, M. A., J. M. Burkholder, M. R. McIver, G. C. Shank, H. B. Glasgow, Jr., B. W. Touchette, and J. Springer. 1997. Comparative effects of poultry and swine waste lagoon spills on the quality of receiving streamwaters. *Journal of Environmental Quality* 26:1622–1631.

Martínez P. M. E. 2002. Reducción de *Vibrio cholerae* por bacterivoría de protozooplancton en el medio acuático. Tesis Maestría. Biología de sistemas y recursos acuáticos, Fac. Cienc., UNAM 87 pp.

Medellín G., Mariño-Tapia I., Pedrozo-Acuña A., Enríquez C. y González-Villarreal F. 2013. Influencia de la marea en la hidrodinámica del sistema Mecoacán-río González, México. *Tecnología y ciencias del agua*, 4(2), 71-90.

Michael J. J. y Abbott S. L. 2010 The Genus *Aeromonas*: Taxonomy, Pathogenicity, and Infection *Clinical Microbiology Reviews* , 23 (1) 35-73;

Miravet M. E. 2003. Abundancia, actividad y diversidad de las bacterias heterótrofas en el Golfo de Batabanó y su uso como indicadores ambientales. Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente. Instituto de Oceanología. Departamento de Biología Marina. Habana Cuba.

Montaño Hernández A. M. E. 1997. Caracterización de bacterias heterótrofas en la Laguna de Chautengo, Guerrero, México. Informe Final de Servicio Social Licenciatura en Biología. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. 52 pp.

Navarro-Rodríguez M. C., González G. L. F., Flores Vargas R., González R. M. E., y Carrillo G. F M. 2006 Composición y variabilidad del ictioplancton de la laguna El Quelele. Nayarit, México; *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 41(1):35-43.

Navas S. G. R., Zea S. y Campos N. H. 2003. Flujo de nitrógeno y fosforo en la interfase agua – sedimento en una laguna costera tropical (Ciénaga Grande de Santa Marta, Caribe Colombiano). *CICIMAR Oceanides*, 18(2):45-67.

Norma Oficial Mexicana NOM-242-SSA1-2009. 2009. Productos de la pesca frescos, refrigerados, congelados y procesados. Especificaciones sanitarias y métodos de prueba. En: Diario Oficial de la Federación (DOF) (publicado en 2011). [En línea] Disponible:http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5177531&fecha=10/02/2011 1 [Consultado: 22 Septiembre 2019].

Organización Mundial de la Salud (OMS). 2017. Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. [En

línea] Disponible: <http://www.who.int/medicines/publications/global-priority-list-antibiotic-resistant-bacteria/en/> [Consultado: 22 Septiembre 2019].

Puerta-García A., Mateos-Rodríguez E. 2010. Enterobacterias. Unidad de Enfermedades Infecciosas. Servicio de Medicina Interna. Complejo Hospitalario Universitario de Albacete. España.

Paul J. H., Rose J. B., Jiang S, Kellog C. H. y Shinn E. A. 1995. Ocurrence of fecal indicator bacteria in surface waters and the subsurface aquifer in Key Largo, Florida. *Appl. Environ. Microbiol*, 61: 2235-2241.

Pérez Quirino E. 2007. Variación temporal y estacional de las bacterias Planctónicas de la laguna de Mecoacán, Tabasco. Tesis para obtener el título de Bióloga. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Iztacala. 47 pp.

Pinet P. R. 1998 Invitation to Oceanography. Ed. Web Enhanced [http:// www.jbpub.com](http://www.jbpub.com) Jones y Bartlett Publ. London, UK 439 pp.

Ramírez G. P., Cortes Muñoz J. E., Sánchez C. J. J., y Carlos H. G. 1995. Nicho ecológico de *Vibrio cholerae* en el ambiente acuático vs un estudio experimental. México Instituto Mexicano de Tecnología del Agua, 117 pp.

Romero J. J. 1989. Significado de la distribución estacional de coliformes totales, fecales y enterobacterias patógenas en la laguna de Tampamachoco, Ver. Resumen del Coloquio Investigación Hidrobiología Tampamachoco. UAM-X

Rosales P. M. 2002. Comparación de bacterias heterótrofas de la laguna de Chautengo, Guerrero en dos temporadas de lluvias. Informe de Servicio Social Licenciatura en Biología. UAM Xochimilco. 92 pp.

Sardiñas Peña O, Chiroles Rubalcaba S, Fernández Novo M, Hernández Rodríguez Y y Pérez Cabrera A. 2006. Evaluación físico-química y microbiológica del agua de la presa El Cacao (Cotorro, Cuba). *Higiene y Sanidad Ambiental*. 6: 202-206.

Seija V, Medina Presentado J. C., Bado I, Papa Ezdra R, Batista N, Gutierrez C, Guirado M, Vidal M, Nin M, Vignoli R. 2015. Sepsis caused by New Delhi metallo-beta-lactamase (blaNDM-1) and qnrD-producing *Morganella morganii*, treated successfully with fosfomicin and meropenem: case report and literature review. *Int J Infect Dis* 30:20–6.

Smith R.L., y Smith T. M. 2006. Ecología. Cuarta edición. Editorial Pearson Addison Wesley. España. 42 pp..

Solic M y Krstulovic N. 1992. Separate and combined effects of solar radiation, temperature, salinity, and pH on the survival of faecal coliforms in seawater. *Marine Pollution Bulletin* 24(8): 411-416.

Spicer J. W. 2009 Microbiología clínica y enfermedades infecciosas. Segunda edición. Editorial Elsevier España. 50pp

UAM. 2018. Universidad Autónoma Metropolitana unidad Xochimilco. Acerca de la unidad. Disponible en: <http://www.xoc.uam.mx/uam-x/acerca/>. Obtenido en abril del 2018.

Wetzel R. G. 1981 Limnologia. Omega Barcelona. Pp 519-521

Wong Chang I y Barrera Escorcía G. 1996. Niveles de contaminación microbiológica en el Golfo de México. Golfo de México, Contaminación e Impacto Ambiental: Diagnóstico y Tendencias. 383-397 p.