



*UNIVERSIDAD MICHOACANA DE
SAN NICOLÁS DE HIDALGO*



FACULTAD DE BIOLOGIA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

“DINÁMICA POBLACIONAL BACTERIANA DEL LAGO DE CUITZEO, MICHOACÁN, MÉXICO.”

TESIS

que como requisito para obtener el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS
en Conservación y Manejo de Recursos Naturales

PRESENTA:

BIOL. IRIS PEDRAZA AGUSTIN

DIRECTORES:

M.C.A. RUTH ALFARO CUEVAS VILLANUEVA (IIQB-UMSNH).
D. en C. RODOLFO FARÍAS RODRIGUEZ (IIQB-UMSNH).

Morelia, Mich., Agosto de 2007

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Ecología Microbiana, del Instituto de Investigaciones Químico- Biológicas, de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, bajo la asesoría de la M.C.A Ruth Alfaro Cuevas Villanueva y el D.C. Rodolfo Farías Rodríguez.

Esta investigación fue financiada por el proyecto de Fondos Mixtos CONACYT - Gobierno del Estado de Michoacán 12445 "Contenido de metales pesados y contaminantes orgánicos en agua y sedimentos en el lago de Cuitzeo y estudio de su tratamiento".

Agradezco a las instituciones involucradas las facilidades brindadas para la realización de esta tesis.

DEDICATORIA

*Esta tesis va dedicada a mi esposo Gustavo, a mi
pequeño hijo Gustavito y en memoria de mi hermana
Magali.*

AGRADECIMIENTOS

A la M.C.A. Ruth Alfaro Cuevas Villanueva, que más que ser asesora es una gran amiga, por sus consejos, su disponibilidad y su amistad. Por todos los apoyos que me brindó y por creer tanto en mí y en mi capacidad para realizar este trabajo. Gracias también a su esposo el D.C. Raúl Cortés Martínez por todo su apoyo durante los muestreos y por su amistad.

Al D.C. Rodolfo Farías Rodríguez por haberme permitido continuar en su laboratorio y seguir compartiendo conmigo sus conocimientos, por su amistad y su accesibilidad a pesar de su carga de trabajo, por todas las facilidades otorgadas para la realización de esta tesis.

Muchas gracias a la comisión revisora: M.C. Reyna Alvarado Villanueva, Dra. Isabel Israde Alcántara, M.C. Ma. Del Rosario Ortega Murillo, M.C.A. Ruth Alfaro Cuevas Villanueva, y D.C. Rodolfo Farías Rodríguez, por su gran apoyo y sugerencias en la elaboración de este documento.

A la CNA por su participación en la determinación de los parámetros fisicoquímicos.

A la Coordinación de la Investigación Científica de la UMSNH, por el apoyo económico recibido en el periodo 2005-2006.

Gracias a la Facultad de Biología y a los profesores que me apoyaron durante la maestría.

A la Q.F.B. Gloria A. Figueroa Aguilar, jefe del Laboratorio de Regulación Sanitaria de la Secretaría de Salud de Morelia, así como a las Q.F.B. Dora Lemus Olivares y Josefina A. Espinoza Navarrete, por su colaboración, comentarios y observaciones en algunos parámetros bacteriológicos, así como por la disponibilidad del laboratorio.

A mi compañero Benjamín Villalobos Castañeda por su ayuda durante los muestreos

Gracias a los pescadores Don Rodrigo y Don Martín por las facilidades otorgadas con sus lanchas en los muestreos realizados.

Gracias a Dios por seguirme dando vida para lograr mis objetivos.

Gracias Gustavo por todo tu apoyo durante el curso de la maestría, por desvelarte y estudiar junto conmigo, por cuidar a nuestro bebé mientras yo cumplía mi deseo por lograr un postgrado, gracias por tu apoyo, comprensión y querernos tanto.

A mi hijo Gustavo, por regalarme todos los días una sonrisa que me alegra el día y me da ánimos para seguir echándole ganas.

Muchas gracias a mi familia, a mi abuelita, mamá Lena, papá Chagüe, tía Lupe, Lupita y Cheli, por seguir al pendiente de mi y ahora también de mi niño, por todo su apoyo, sus consejos y sus porras.

Gracias a mi suegra Ma. Salud, por su apoyo y todas sus atenciones.

Gracias a la china Mexicano (Estela), gran compañera del laboratorio y amiga, por hacer los ratos muy amenos, y por compartir tantas cosas y momentos.

No puedo dejar a un lado a mis compañeros de maestría con quienes compartí tantos buenos momentos así como algo amargos por las tareas que a veces nos dejaban: Greta, Irene, Rita, Daniel y Asdrúbal.

Finalmente muchas gracias a todas aquellas personas que de alguna manera participaron y compartieron conmigo durante todo este tiempo.

.....Muchas Gracias!!!!

CONTENIDO	Página
RESUMEN.	viii
ABSTRACT.	ix
I. INTRODUCCIÓN.	1
II. GENERALIDADES.	3
II.1 Importancia del agua.	3
II.2 Contaminación del agua.	3
II.3 Ecología microbiana.	4
II.3.1 Factores que influyen en la dinámica poblacional bacteriana.	4
II.3.1.1. Temperatura.	5
II.3.1.2. pH.	6
II.3.1.3. Salinidad.	6
II.4. Importancia de las bacterias en el agua.	7
II.5. Organismos patógenos transmitidos por el agua.	10
II.6. Descripción de géneros bacterianos patógenos de interés particular.	11
<i>Pseudomonas.</i>	11
<i>Escherichia.</i>	12
<i>Vibrio.</i>	12
<i>Salmonella.</i>	13
III. HIPÓTESIS.	15
IV. OBJETIVOS.	15
V. MATERIAL Y METODOS.	16
V.1 LOCALIZACION DE LA ZONA DE ESTUDIO.	16
V.1.1 SUELOS.	16
V.1.2 CLIMA.	18
V.1.3 FLORA Y FAUNA.	19
V.1.4 HIDROLOGIA.	19
V.1.5 PESCA.	19
V.2. TRABAJO DE CAMPO.	21
V.2.1 Sitios de muestreo.	21
V.2.2 Toma de muestras.	22

V.2.3 Trabajo de laboratorio.	22
V.2.3.1 Determinación de parámetros bacteriológicos	22
V.2.3.1.1 Determinación de la densidad poblacional total	22
V.2.3.1.2 Cuantificación de los diferentes géneros bacterianos	23
V.2.3.1.3 Identificación y cuantificación de coliformes totales y <i>E. coli</i> .	23
V.2.3.1.4 Determinación de parámetros fisicoquímicos.	24
V.2.4 Análisis estadístico.	25
VI. RESULTADOS	26
Densidad poblacional bacteriana total, y de los géneros <i>Pseudomonas, Vibrio y Salmonella</i>	27
Densidad poblacional de coliformes totales y <i>Escherichia coli</i>	51
Influencia de los parámetros fisicoquímicos sobre la densidad poblacional bacteriana del lago de Cuitzeo	53
VII. DISCUSIÓN	58
VIII. CONCLUSIONES	63
IX. BIBLIOGRAFIA	64
ANEXOS	71

INDICE DE GRÁFICAS	Página
Gráfica 1. Densidad poblacional bacteriana total en el sitio de Mariano Escobedo.	28
Gráfica 2. Densidad poblacional del género <i>Pseudomonas</i> en el sitio Mariano Escobedo.	28
Gráfica 3. Densidad poblacional del género <i>Vibrio</i> en el sitio Mariano Escobedo.	29
Gráfica 4. Densidad poblacional del género <i>Salmonella</i> en el sitio Mariano Escobedo.	29
Gráfica 5. Densidad poblacional bacteriana total en el sitio San Agustín del Pulque.	31
Gráfica 6. Densidad poblacional del género <i>Pseudomonas</i> en el sitio San Agustín del Pulque.	31
Gráfica 7. Densidad poblacional del género <i>Vibrio</i> en el sitio San Agustín del Pulque.	32
Gráfica 8. Densidad poblacional del género <i>Salmonella</i> en el sitio San Agustín del Pulque.	32
Gráfica 9. Densidad poblacional bacteriana total en el sitio Cuitzeo.	34
Gráfica 10. Densidad poblacional del género <i>Pseudomonas</i> en el sitio Cuitzeo.	34
Gráfica 11. Densidad poblacional del género <i>Vibrio</i> en el sitio Cuitzeo.	35

Gráfica 12. Densidad poblacional del género <i>Salmonella</i> en el sitio Cuitzeo.	35
Gráfica 13. Densidad poblacional bacteriana total en el sitio Capacho.	37
Gráfica 14. Densidad poblacional del género <i>Pseudomonas</i> .	37
Gráfica 15. Densidad poblacional del género <i>Vibrio</i> en el sitio Capacho.	38
Gráfica 16. Densidad poblacional del género <i>Salmonella</i> en el sitio Capacho.	38
Gráfica 17. Densidad poblacional bacteriana total en el sitio Copándaro.	40
Gráfica 18. Densidad poblacional del género <i>Pseudomonas</i> .	40
Gráfica 19. Densidad poblacional del género <i>Vibrio</i> en el sitio Copándaro.	41
Gráfica 20. Densidad poblacional del género <i>Salmonella</i> en el sitio Copándaro.	41
Gráfica 21. Densidad poblacional bacteriana total en el sitio Coro.	43
Gráfica 22. Densidad poblacional del género <i>Pseudomonas</i> en el sitio Coro.	43
Gráfica 23. Densidad poblacional del género <i>Vibrio</i> en el sitio Coro.	44
Gráfica 24. Densidad poblacional del género <i>Salmonella</i> en el sitio Coro.	44

Gráfica 25. Densidad poblacional bacteriana total en el sitio Estación Queréndaro.	46
Gráfica 26. Densidad poblacional del género <i>Pseudomonas</i> en el sitio Estación Queréndaro.	46
Gráfica 27. Densidad poblacional del género <i>Vibrio</i> en el sitio Estación Queréndaro.	47
Gráfica 28. Densidad poblacional del género <i>Salmonella</i> en el sitio Estación Queréndaro.	47
Gráfica 29. Densidad poblacional bacteriana total en el sitio Río Grande.	49
Gráfica 30. Densidad poblacional del género <i>Pseudomonas</i> en el sitio Río Grande.	49
Gráfica 31. Densidad poblacional del género <i>Vibrio</i> en el sitio Río Grande.	50
Gráfica 32. Densidad poblacional del género <i>Salmonella</i> en el sitio Río Grande.	50
Gráfica 33. Densidad poblacional de <i>Escherichia coli</i> por sitios.	52
Gráfica 34. Densidad poblacional de <i>Escherichia coli</i> por muestreos.	52
Gráfica 35. Análisis de componentes principales del muestreo de noviembre de 2006.	54
Gráfica 36. Análisis de componentes principales del muestreo de diciembre de 2006.	55

Gráfica 37. Análisis de componentes principales del muestreo de febrero de 2007	56
Gráfica 38. Análisis de componentes principales del muestreo de marzo 2007.	57

INDICE DE CUADROS	PÁGINA
Cuadro 1. Coordenadas de los sitios de colecta.	21
Cuadro 2. Interpretación de resultados para Colilert®.	24
Cuadro 3. Método de análisis de los parámetros fisicoquímicos.	24
Cuadro 4. Resultados de los análisis bacteriológicos.	26
Cuadro 5. Parámetros fisicoquímicos determinados en el mes de Noviembre de 2006.	73
Cuadro 6. Parámetros fisicoquímicos determinados en el mes de Diciembre de 2006.	73
Cuadro 7. Parámetros fisicoquímicos determinados en el mes de Febrero de 2007.	74
Cuadro 8. Parámetros fisicoquímicos determinados en el mes de Marzo de 2007.	74

RESUMEN.

En este trabajo se analizó la dinámica poblacional bacteriana total, coliformes totales, *Escherichia coli* y los géneros *Pseudomonas*, *Vibrio* y *Salmonella*. Se realizaron cuatro muestreos de agua en ocho sitios distribuidos en el lago de Cuitzeo, determinando algunos parámetros fisicoquímicos para analizar la influencia de éstos sobre las poblaciones bacterianas mencionadas. El período de muestreos comprendió los meses de noviembre y diciembre de 2006, y febrero y marzo de 2007. La densidad total bacteriana varió durante los muestreos, destacando por su alta densidad los sitios de Cuitzeo en diciembre y Río Grande en noviembre. No se encontró un patrón de comportamiento pues fue fluctuante en casi todos los sitios. Además se observó que la población de coliformes totales se mantuvo constante en todos los sitios. Respecto a coliformes fecales se encontró una variación en la población, pero el sitio que siempre presentó los valores más altos fue Río Grande. Por otra parte, la población del género *Pseudomonas*, fue más alta en 6 de los 8 sitios de muestreo durante el mes de febrero. El género *Vibrio* mostró la mayor densidad en el mes de marzo. La población de *Salmonella* fue más alta durante noviembre en la mayoría de los sitios y en algunos no se detectó. La presencia de *Pseudomonas* fue más abundante que los géneros *Vibrio* y *Salmonella*. Se observó también, una relación inversa entre las poblaciones bacterianas de *Pseudomonas* y *E. coli*, encontrando que en donde hay más organismos del género *Pseudomonas* hay una concentración menor de *E. coli*. En los diferentes muestreos realizados se halló una asociación entre ciertas variables y la densidad bacteriana, por ejemplo, en los sitios en donde se detectó la mayor población total bacteriana y de *E. coli*, se encontró menor concentración de *Pseudomonas* y *Vibrio*, son los sitios que tienen la menor conductividad, salinidad y oxígeno disuelto. Además, se observó que dependiendo de la fecha de muestreo hubo influencia de ciertos parámetros.

ABSTRACT

The total bacterial population dynamics, total coliforms, *Escherichia coli* and *Pseudomonas*, *Vibrio* and *Salmonella* genre were studied. Four sampling campaigns were performed between November 2006 and March 2007, taking samples from eight sites into the lake. Some water physicochemical parameters were analyzed in order to determine their influence on the bacterial population. The bacterial total density changed during the studied period, standing out the sites Cuitzeo in December and Río Grande in November. It was not found a behavior pattern since it was varying at almost each site. The total coliform population was stable at all sites. A variation of faecal coliform density was found along the study but Río Grande was always the site with the highest values. Otherwise, *Pseudomonas* population showed almost the highest concentrations in February. *Vibrio* genre had the highest density in March. *Salmonella* population had the greatest values in November in almost all sites but it was not found in some other sites. The presence of *Pseudomonas* was more representative than *Vibrio* and *Salmonella*. It was also observed an inverse relationship between *Pseudomonas* density and *E. coli*, finding less *E. coli* presence at the sites where *Pseudomonas* showed high density. An association between some environmental characteristics and the bacterial density was detected; for example, the sites where the highest bacterial total population and *E.coli* were detected are the sites with the lowest electrical conductivity, salinity, dissolved oxygen values and the lowest *Pseudomonas* and *Vibrio* concentrations. Moreover, it was observed an influence in some parameters depending on the sampling campaign.

I. INTRODUCCIÓN

La hidrosfera es un hábitat más adecuado para el crecimiento microbiano. El agua proporciona un ambiente que favorece la existencia de muchos tipos de microorganismos. La diversidad microbiana depende de diferentes factores como la disponibilidad y concentración de nutrientes, las transiciones de zonas aeróbicas a anaeróbicas, y la mezcla de oxidantes y reductores de este ambiente dinámico (Prescott *et al.*, 2004; Atlas y Bartha, 2002; Brock, 1999; Pelczar, 1997).

Los ambientes acuáticos tienen numerosas ventajas potenciales sobre la vida terrestre. Estos incluyen apoyo físico, accesibilidad de espacio tridimensional, movimiento pasivo por corrientes de agua, dispersión de gametos móviles en un medio líquido, mínima pérdida de agua (sistemas de agua dulce), extremos inferiores de temperatura y radiación solar, y una lista disponible de nutrientes solubles orgánicos e inorgánicos (Sigeo, 2005).

La ciencia de la ecología microbiana tiene dos amplios objetivos: (1) apreciar la biodiversidad de los microorganismos en la naturaleza y entender la interacción existente entre los diferentes gremios que componen las comunidades microbianas; y (2) medir la actividad de los microorganismos en la naturaleza. Se sabe relativamente poco sobre la diversidad de los organismos que llevan a cabo distintas reacciones. Hay muchos microorganismos por descubrir y esa es una de las principales finalidades de la ecología microbiana (Brock, 1999).

A pesar de la considerable atención en años recientes, la composición y dinámica de las comunidades bacterianas de lagos son pobremente entendidas. Estas comunidades están registradas como “cajas negras” en estudios ecológicos, aunque la importancia de las bacterias en los procesos de ciclaje de nutrientes está bien reconocida (Yannarell *et al.*, 2003). Existe un vasto número de investigaciones sobre ecología de poblaciones de fitoplancton y zooplancton, mientras que las investigaciones de bacterioplancton son escasas (Weinbauer y Höfle, 1998).

Mientras que enormes esfuerzos se hacen para explorar la diversidad bacteriana, poco se entiende de los factores que dirigen la composición actual de dicha comunidad (Lindström *et al.*, 2005). Se han hecho pocos estudios para relacionar la composición de la comunidad a parámetros biológicos, químicos y físicos en los lagos.

Por esto, es de suma importancia realizar estudios sobre ecología microbiana en los cuerpos de agua del país dada la importancia que tienen, como es el caso del lago de Cuitzeo. Este lago es importante, no sólo por las actividades ecológicas que desempeña como son el almacenamiento de agua o la preservación de especies, entre otras, o por las actividades que ahí se realizan como la caza y la pesca, sino porque además de ocupar el segundo lugar de extensión en México, representa un modelo interesante para este tipo de estudios.

En este trabajo se analizó la dinámica de la población total bacteriana, de coliformes totales y fecales. Así como de los géneros *Pseudomonas*, *Salmonella* y *Vibrio*, además se estableció una posible relación entre la presencia y abundancia de éstos géneros y los parámetros fisicoquímicos más representativos del agua.

II. GENERALIDADES

II.1. Importancia del agua

La vida se originó en el agua, y en cualquier parte de la Tierra donde exista agua líquida es probable que se encuentren microorganismos. La hidrosfera es un hábitat más adecuado para el crecimiento microbiano ya que no presenta cambios tan drásticos como el suelo. Los microorganismos del agua pueden crecer a baja concentración de nutrientes. En el medio acuático, la mayoría presenta movilidad por flagelos u otros mecanismos (Atlas y Bartha, 2002).

Cerca del 70 al 90 % del peso de las células microbianas es agua y todas las reacciones químicas que ocurren en el citoplasma de una célula tienen lugar en un ambiente acuoso. Todos los microorganismos requieren agua y su disponibilidad es un factor importante para su crecimiento en la naturaleza, y depende de la concentración de solutos en ella (Brock, 1999).

El agua proporciona un ambiente que favorece la existencia de muchos tipos de microorganismos. La diversidad microbiana depende de diferentes factores, como la disponibilidad y concentración de nutrientes, las transiciones de zonas aeróbicas a anaeróbicas, y la mezcla de oxidantes y reductores en este ambiente dinámico. Además, la penetración de la luz en muchas zonas anaeróbicas crea ambientes propicios para ciertos tipos de microorganismos (Prescott *et al.*, 2004; Pelczar, 1997).

II.2. Contaminación del agua

Los lagos, corrientes superficiales, ríos y océanos representan el agua superficial susceptible de ser colonizada por los microorganismos que arrastra el agua de lluvia a su paso y por todos los desechos que le son arrojados deliberadamente. La población bacteriana varía tanto en número como en clase de acuerdo al origen del agua (Pelczar, 1997).

De acuerdo con Lau Dou (1988), hay tres fuentes primarias de contaminación ambiental que afectan la calidad del agua potable: manejo impropio de desechos de sustancias sintéticas peligrosas, el imprudente uso de plaguicidas y herbicidas por agricultores y el deterioro del sistema de conducción de agua. La contaminación del agua superficial por materia fecal constituye una seria amenaza ambiental y de salud pública. Esta contaminación se puede introducir de varias maneras, incluyendo el desbordamiento de aguas residuales, agua proveniente del escurrimiento de suelos agrícolas y agua pluvial urbana (McLellan, 2004).

II.3. Ecología Microbiana

Hay un vasto número de estudios sobre ecología de poblaciones de fitoplancton y zooplancton, mientras que las investigaciones de poblaciones de bacterioplancton son escasas y a pesar de la considerable atención en años recientes, la composición y dinámica de comunidades bacterianas sobre escalas de tiempo anual es poco entendida (Humayoun *et al.*, 2003; Yannarell *et al.*, 2003; Lindström *et al.*, 2005). Comparando las investigaciones realizadas en el fondo marino y en ambientes de agua dulce, relativamente poco se conoce acerca de la ecología microbiana de lagos salinos (Humayoun *et al.*, 2003).

Las bacterias son los microorganismos más numerosos que cualquier otra clase y constituyen probablemente el componente mayor de la biomasa terrestre. Todo el ecosistema depende de sus actividades e influyen en la sociedad humana de formas innumerables (Prescott *et al.*, 2004).

II.3.1 Factores que influyen en la dinámica poblacional bacteriana

Los seres vivos interactúan con su hábitat, los cuales difieren mucho en cuanto a características físicas y químicas. Los microorganismos son extremadamente abundantes, proliferan rápidamente y se dispersan fácilmente. La distribución de las bacterias y otros microorganismos está determinado por

condiciones ambientales locales (Langenheder *et al.*, 2005), y un hábitat favorable para el crecimiento de una población puede resultar nocivo para otra (Brock, 1999).

La influencia ambiental sobre los microorganismos ayuda a explicar su distribución en la naturaleza y a diseñar métodos para su control, así como para su destrucción si fuese necesaria. No todos los microorganismos responden igualmente a un factor ambiental determinado (Brock, 1999).

La población microbiana en un cuerpo de agua natural está, en gran parte, determinada por las condiciones físicas y químicas que prevalecen en ese hábitat (Pelczar, 1997, Lindström *et al.*, 2005, Muylaert *et al.*, 2002; Moreno *et al.*, 1998).

II.3.1.1. Temperatura

La temperatura es uno de los factores ambientales más importantes que afectan al crecimiento y a la supervivencia microbiana. Puede afectar a los microorganismos vivos de dos formas diferentes. A medida que la temperatura aumenta, las reacciones enzimáticas son más rápidas y el crecimiento incrementa. Los microorganismos son especialmente susceptibles porque son unicelulares y su temperatura varía con la ambiental. Por estas razones, la temperatura de la célula microbiana refleja directamente la de su ambiente (Prescott *et al.*, 2004). Sin embargo, por encima de cierta temperatura, las proteínas, ácidos nucleicos y otros componentes celulares pueden dañarse irreversiblemente (Brock, 1999; Moreno *et al.* 1998). Todos los microorganismos poseen una temperatura óptima de crecimiento que los caracteriza; a dicha temperatura muestran las tasas más elevadas de crecimiento y de reproducción (Atlas y Bartha, 2002). Para cada microorganismo existe una temperatura mínima por debajo de la cual no existe crecimiento, una temperatura óptima a la cual el crecimiento es el más rápido posible y una temperatura máxima, rebasada en la cual, no existe crecimiento (Brock, 1999).

La temperatura de los lagos y estuarios depende de las estaciones y en algunos sectores por los manantiales hidrotermales dentro del lago, por lo mismo, ésta repercute en las variaciones de la microbiota (Pelczar, 1997).

II.3.1.2. pH

Generalmente, los microorganismos no pueden tolerar valores extremos de pH. En condiciones muy alcalinas o ácidas, se hidrolizan algunos componentes microbianos o se desnaturalizan algunas enzimas (Atlas y Bartha, 2002).

No es sorprendente que el pH afecte al crecimiento microbiano (Prescott *et al.*, 2004), cada organismo tiene un rango de pH dentro del cual es posible el crecimiento y normalmente posee un pH óptimo muy bien definido (Brock 1999, Tortora *et al.*, 2001).

Algunos de los valores de pH resultarán óptimos para la actividad de enzimas específicas. Estos valores óptimos pueden depender de otros factores, como la concentración de sal. Los valores extremos de pH desnaturalizan la mayoría de las proteínas de forma irreversible.

II.3.1.3 Salinidad

En la naturaleza, los efectos osmóticos son de interés principalmente en hábitats con elevadas concentraciones salinas. El agua de mar contiene alrededor del 3 % de cloruro de sodio, mas pequeñas cantidades de muchos otros minerales y elementos. Las sales principales son los cloruros, sulfatos y carbonatos de sodio, potasio, calcio y magnesio (Pelczar, 1997). Los microorganismos que se aislan en el mar, tienen normalmente requerimientos específicos para el sodio. Tales organismos son llamados halófilos (Atlas y Bartha, 2002; Moreno *et al.* 1998).

Además de afectar a la presión osmótica, la concentración elevada de sal suele desnaturalizar las proteínas. También se produce la deshidratación de las células. Relativamente pocos microorganismos pueden crecer en aguas muy saladas y la biota de los lagos salados suele restringirse a unas pocas especies de algas y bacterias halófilas y halotolerantes (Brock, 1999).

En diferentes investigaciones realizadas independientemente con coliformes y concentración de sal, se ha observado que hay una relación inversa

entre ambas variables, pues conforme aumenta la concentración de sal disminuye la densidad poblacional de organismos indicadores. Concluyendo que la concentración de sal afecta el crecimiento microbiano de dichas bacterias (Goyal *et al.*, 1977; Crump *et al.*, 2004).

II.4 Importancia de las bacterias en el agua

Los mares, estuarios, marismas, lagos, estanques, ríos y manantiales constituyen los hábitats acuáticos típicos. Los medios acuáticos difieren considerablemente de cualquier otro en sus propiedades fisicoquímicas y no es sorprendente que también sea distinta la composición de especies microbianas que los habitan.

La mayoría de las bacterias acuáticas son Gram-negativas, con relativamente pocos representantes Gram-positivos (p.ej., *Bacillus pituitans*). El tamaño de las bacterias varía con la especie, y las formas incluyen la forma de bacilo, helicoidal, vibrioides, y cocoides. La movilidad proporciona otro rasgo de distinción, algunas bacterias (p.ej., *Thiopedia*) pueden ser completamente inmóviles, mientras otras son móviles vía los flagelos que pueden tener sobre la superficie de la célula entera o estar presentes como grupos polares (p.ej., *Pseudomonas*, *Spirillum*) (Sigeo, 2004).

Las poblaciones microbianas de los lagos han sido estudiadas más profundamente que las de los ríos. Los miembros de los géneros *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Brevibacterium*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Nocardia*, *Streptomyces*, *Micromonospora*, *Cytophaga*, *Spirillum*, y *Vibrio* son organismos que se distribuyen ampliamente en los lagos. Las bacterias autótrofas son miembros autóctonos de la microbiota de los lagos y desempeñan una función trascendental en el reciclado de los nutrientes (Brock, 1999).

La vida acuática es un sistema complejo muy amplio de interacciones entre los microorganismos y de éstos con los macroorganismos, tanto plantas como animales. Muchas especies bacterianas realizan cambios bioquímicos en distintos sustratos, cambios que permiten la reutilización cíclica de elementos y nutrientes. La

actividad bioquímica principal de la flora bacteriana es el catabolismo y la mineralización de la materia orgánica; es decir, el catabolismo de los compuestos orgánicos hasta dióxido de carbono, agua y sales inorgánicas. Bajo condiciones aeróbicas, los productos principales que resultan del catabolismo de los compuestos orgánicos son amoníaco, sulfatos y fosfatos. Éstos son los alimentos que aseguran el desarrollo de las plantas, incluso el fitoplancton. De la degradación anaeróbica resultan productos más reducidos como el metano, hidrógeno y ácido sulfhídrico además de amoníaco, dióxido de carbono y fosfatos. Entre los procesos cíclicos mejor conocidos están: el ciclo del nitrógeno, del carbono, del azufre y del fósforo (Pelczar, 1997; Giorgio y Cole 1998).

El agua que se utiliza para consumo humano puede servir como vehículo para transmitir patógenos entéricos humanos que causan enfermedades. La detección de agentes patógenos en el agua es difícil, costosa y poco práctica en análisis rutinarios del agua. En su lugar el agua se valora empleando un sustituto que actúa como indicador de contaminación fecal. Por ejemplo la presencia de coliformes totales y fecales se considera indicio de contaminación por heces fecales y se usa para valorar la calidad del agua (Henry y Heinke, 1999).

Existe una variedad de estudios en donde utilizan a las bacterias coliformes como indicadores de contaminación fecal.

Sandhu y colaboradores (1979) analizaron coliformes totales (de 980,000 a 10,740,000 bacterias/100 mL) y *Escherichia coli* (de 16,000 a 1,390,000 bacterias/100 mL). Se encontraron niveles significativos de estos organismos indicadores de contaminación en todas las muestras. Los coliformes totales son los más comunes, y sólo el 7.5 % de las muestras de agua no tuvieron *E. coli*, considerado como un indicador confiable de contaminación reciente y peligrosa.

En la costa de Texas (Goyal *et al.*, 1977) evaluaron la cantidad de coliformes totales (de 52 a 10,910 NMP/100 mL), coliformes fecales (de 10 a 2,382 NMP/100 mL) y *Salmonella* (< 3) por la influencia de la construcción de canales y su uso para

actividades recreativas, además de que en algunos de estos canales hay descargas directa de aguas residuales y fosas sépticas cercanas, la gran cantidad de lluvia incrementa el número de organismos, debido al efecto de dilución de salinidad, por lo que existe una relación inversa entre la densidad poblacional y la salinidad, coliformes totales (de 240 a 35,000 NMP/ 100 mL) coliformes fecales (de 40 a 24,000 NMP/100 mL).

Beltrán (1993) realizó un estudio en el lago de Cuitzeo sobre coliformes totales y fecales en diferentes sitios de la zona este (El Dren, Queréndaro, Isla las Palmas, Andocutín, Irámuco orilla e Irámuco centro). Respecto a la población de coliformes totales se encontraron los valores más altos a la orilla de Irámuco (96,790 NMP/mL) y el Dren (62,556 NMP/mL). En cuanto a coliformes fecales, se registró la presencia de estos organismos durante todos los meses del año en el Dren y a la orilla de Irámuco. En el resto de las estaciones hubo ausencia de coliformes fecales en algunos meses y en el caso de la Isla y Andocutín en la mayor parte del año están ausentes estos organismos.

Santos (1995) estudió también a las bacterias coliformes como indicadoras de contaminación fecal en el Lago de Zirahuén en 7 sitios de muestreo (Rincón de Agua Verde, Jaulas, Arroyo, Río, Copándaro, Zirahuén y Centro). La mayor población de coliformes totales se encontró en la estación Copándaro y el Río (28 NMP/100 mL, en ambos sitios), lo cual se explica por los desechos provenientes de la descarga de un restaurante y por las descargas de las viviendas de los pueblos y rancherías respectivamente. Las muestras de Rincón de Agua Verde, Jaulas y Centro presentaron valores bajos de coliformes (2, 2 y 0.32 NMP/100 mL respectivamente), debida a la poca influencia de actividades humanas. En cuanto a la cuantificación de coliformes fecales se encontró una mayor población en las estaciones Copándaro (25 NMP/mL) y Río (9 NMP/mL) al igual que las coliformes totales, mientras que el Rincón de Agua Verde y el Centro prácticamente carecen de contaminación fecal pues sus valores son muy bajos (0.65 y 0.32 NMP/100 mL respectivamente).

II.5 Organismos patógenos transmitidos por el agua

Se sabe que los microorganismos patógenos que llegan a los depósitos de agua, proceden de los desechos intestinales de hombres y animales. Además, ciertas especies de bacterias, particularmente *Escherichia coli*, y varios microorganismos similares, denominados *coliformes*, estreptococos fecales (como *Streptococcus fecalis*) y *Clostridium perfringens*, son habitantes normales del intestino grueso de los hombres y animales, en consecuencia siempre están en la materia fecal. Así pues, la presencia de cualquiera de estas especies en el agua es evidencia de contaminación fecal (Pelczar, 1997).

Probablemente, las bacterias patógenas más importantes transmitidas por el agua son *Salmonella typhi*, el agente etiológico de la fiebre tifoidea y *Vibrio cholerae*, el agente etiológico del cólera (Brock, 1999).

El agua contaminada causa aproximadamente de 6 a 60 mil millones de casos de enfermedades gastrointestinales anualmente en todo el mundo. La mayoría ocurre en áreas rurales de naciones en desarrollo en donde los abastecimientos de agua están contaminados con una gran variedad de microorganismos incluyendo virus, coliformes fecales y protozoarios (Caslake *et al.*, 2004). Durante los años sesenta, en Carolina del Sur se reportaron 130 brotes de enfermedades infecciosas y envenenamiento químico asociado con la contaminación de fuentes de agua potable, de 46 374 enfermedades transmitidas, hubo 20 individuos muertos (Sandhu *et al.*, 1979). El reporte anual de la Organización Mundial de la Salud en el período del 2000-2003, notificaron al menos 11 399 muertos en todo el mundo (96 % en África) debido al cólera. Del 2003 al 2004, se reportaron al menos 15 000 nuevos casos de cólera en África, principalmente en Mali, Mozambique y Zambia (Thompson, *et al.* 2004).

II.6. Descripción de géneros bacterianos patógenos de interés particular

Pseudomonas. Es el género más importante del orden Pseudomonadales, familia *Pseudomonaceae* (Prescott *et al.*, 2004). Todos los géneros de este grupo son bacilos rectos o ligeramente curvos pero no vibroides, con un tamaño de 0.5-1.0 μm por 1.5-4.0 μm , sin esporas, son Gram negativos, con un único flagelo polar o múltiples, no posee vainas, apéndices ni yemas, no muestran nunca metabolismo fermentativo, pero puede producir aeróbicamente pequeñas cantidades de ácido procedente de la glucosa, utiliza compuestos orgánicos de bajo peso molecular (Brock, 1999).

Las *Pseudomonas* tienen requerimientos nutritivos muy sencillos y crecen quimiorganotróficamente a pH neutro y a temperaturas en la zona de la mesofilia. Una propiedad sorprendente de este grupo es la gran variedad de compuestos orgánicos que usa como fuente de carbono y como donadores de electrones para la producción de energía. Son organismos ecológicamente importantes en suelos y agua, y es probable que causen la degradación de muchos compuestos solubles derivados de la degradación de materiales de plantas y animales en hábitats exóticos (Brock, 1999). Las pseudomonadales tienen un gran impacto práctico en diversos aspectos, muchas de ellas pueden degradar gran variedad de moléculas orgánicas. De esta forma, son muy importantes en el proceso de mineralización en la naturaleza y en el tratamiento de aguas residuales. Varias especies (por ejemplo, *P. aeruginosa*) son importantes pues son objetos de experimentación y muchos avances en bioquímica y fisiología microbiana provienen de su estudio (Prescott *et al.*, 2004).

Algunas *Pseudomonas* son patógenas. Entre las fluorescentes, la especie *Pseudomonas aeruginosa* se asocia frecuentemente a infecciones de los tractos urinario y respiratorio de la especie humana. Las infecciones de *P. aeruginosa* también son comunes en pacientes que reciben tratamientos contra quemaduras graves u otras afecciones traumáticas de la piel. Sin embargo, no es un parásito estricto, porque puede aislarse directamente del suelo; como desnitrificante

desempeña una función destacada en el ciclo del nitrógeno en la naturaleza (Brock, 1999).

Algunas pseudomonadales, como *P. fluorescens*, están implicadas en el deterioro de leche, carne, huevos y mariscos refrigerados, dado que crece a 4°C y degrada lípidos y proteínas (Prescott *et al.*, 2004).

Escherichia. Los miembros de este género son habitantes casi universales del tracto intestinal de los humanos y de algunos animales homeotermos, aunque no son de ninguna manera los organismos más abundantes en dichos hábitats (Brock 1999). Este grupo de bacterias comprende todos los bacilos aerobios y anaerobios facultativos, gram negativos, no esporulados que producen ácido y gas al fermentar lactosa (Pelczar, 1997). *Escherichia* puede desempeñar una función nutricional en el tracto intestinal mediante la síntesis de vitaminas, especialmente de vitamina K. Como aerobio facultativo, este organismo probablemente también ayuda a consumir oxígeno, convirtiendo el intestino grueso en anóxico. Las cepas silvestres de *Escherichia coli* casi nunca muestran requerimientos de ningún factor nutritivo y pueden crecer a partir de una gran variedad de fuentes de carbono y de energía, como azúcares, aminoácidos, ácidos orgánicos, etc. Existen cepas patógenas; algunas pueden causar diarreas infantiles, que alcanzan proporciones epidémicas en guarderías o en departamentos de obstetricia. *Escherichia* causa también infecciones en el tracto urinario en personas de edad avanzada o en aquellas cuya resistencia se encuentra debilitada por tratamientos quirúrgicos o por la exposición a radiaciones ionizantes. Cada vez es más frecuente la aparición de cepas enteropatógenas de *E. coli* en infecciones parecidas a las disenterías y en fiebres generalizadas. Como se ha indicado, estas cepas forman el antígeno K, que permite la adherencia y la colonización del intestino delgado, y una enterotoxina responsable de los síntomas de la diarrea (Brock, 1999).

Vibrio. El grupo *Vibrio* comprende bacilos rectos y curvados, Gram negativos y aeróbicos facultativos, que poseen un metabolismo fermentativo. Los miembros del grupo *Vibrio* tienen en su mayor parte flagelación polar, aunque algunos son

peritricos. Una característica clave que los distingue de las bacterias entéricas es que éstas son oxidasa *negativa*, mientras que los organismos del grupo *Vibrio* son oxidasa *positiva*. Son mesofílicos y quimioorganotróficos. Los vibrios y bacterias relacionadas son en su mayoría acuáticos y están en asociación con eucariotes, se encuentran en aguas dulces o en hábitats marinos, aunque un importante organismo, *Vibrio cholerae*, es patógeno para los humanos (Brock, 1999; Thompson *et al.*, 2004).

V. cholerae es el causante específico del cólera en los humanos: el organismo no suele infectar otros hospederos. El organismo se transmite casi exclusivamente a través del agua y los estudios de su distribución en el siglo XIX contribuyeron a demostrar la importancia de la purificación del agua en áreas urbanas. Este microorganismo puede crecer bien a pH superior a 9 y esta característica suele emplearse para su identificación y aislamiento selectivo (Brock, 1999).

Salmonella. Son bacilos gram negativos e incluye mas de 2300 serotipos, *Salmonella* y *Escherichia coli* tienen un parentesco muy próximo; los dos géneros comparten aproximadamente del 40 al 50 % de las secuencias de su DNA. Sin embargo, a diferencia de *Escherichia*, los miembros del género *Salmonella* suelen ser patógenos para los humanos o para otros animales homeotermos. Las enfermedades más comunes que causa *Salmonella* en los humanos son la fiebre tifoidea y la gastroenteritis (Brock, 1999). Las especies de *Salmonella* son detectadas en aguas negras, agua dulce, agua costera que sirven como reservorios y pueden ayudar a transmitirla en los huéspedes. *Salmonella spp.* puede sobrevivir por períodos grandes en aguas naturales y comparado con *E. coli* resiste una amplia variedad de condiciones adversas, y la persistencia de cepas específicas y epidémicas es de gran interés para la salud pública, sin embargo la diversidad de especies establecidas en ambientes naturales permanece desconocida (Baudart *et al.*, 2000; Winfield y Groisman, 2003).

De todo lo anterior, es evidente pues la importante necesidad de realizar estudios relacionados con la ecología microbiana de los cuerpos de agua. Sobre todo

se debe recopilar información sobre la dinámica poblacional de los microorganismos que ahí habitan. No obstante se han realizado algunas investigaciones a nivel mundial sobre la ecología de los cuerpos de agua, en nuestro país casi no existen estudios relacionados con lo microorganismos que habitan en el agua. Cuitzeo representa un modelo interesante para estudiar que géneros bacterianos se encuentran ahí, ya que ocupa el segundo lugar en extensión en México. Además, de que el lago es importante por sus funciones ecológicas como almacenamiento de agua, preservación de especies y por las actividades económicas como la pesca y la caza, entre otras que ahí se realizan.

III. HIPÓTESIS

La dinámica poblacional bacteriana del lago está influenciada por factores ambientales como son temperatura, pH, y salinidad, entre otros.

IV. OBJETIVOS

Objetivo General

Determinar la dinámica poblacional bacteriana total y de los géneros *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Vibrio*, coliformes totales y *Escherichia coli*, en el lago de Cuitzeo, así como su relación con factores ambientales.

Objetivos Particulares

- Determinar la dinámica poblacional bacteriana total y de los géneros *Pseudomona*, *Vibrio*, *Salmonella*, coliformes totales y coliformes fecales.
- Analizar la influencia de parámetros fisicoquímicos (temperatura, pH, salinidad, entre otros) sobre estos grupos bacterianos.
- Realizar un análisis estadístico para entender el efecto que ejercen los factores ambientales sobre las poblaciones así como la interacción entre éstas.

V. MATERIAL Y MÉTODOS

V.1 LOCALIZACIÓN DE LA ZONA DE ESTUDIO

El lago de Cuitzeo está localizado al noreste de Michoacán y sureste de Guanajuato. Se ubica entre los paralelos 20° 05' 13" y 19° 52' 48" N y 100° 50' 08" y los meridianos 101° 19' 40" W (Figura 1). Comprende parte de los municipios de Huandacareo, Cuitzeo, Chucándiro, Copándaro de Galeana, Santa Ana Maya, Zinapécuaro y Álvaro Obregón, en Michoacán y Acámbaro en Guanajuato (Figura 1).

La actual cuenca está limitada al oriente por productos basálticos calcoalcalinos pliocuaternarios de la región de Queréndaro y el sistema geotérmico que conforma la caldera de los Azufres; al oeste está limitada por el volcán Quinceo, en el sur lo limita la secuencia volcánica de Mil Cumbres (Israde *et al.*, 2002).

En este momento el lago de Cuitzeo es un lago fuertemente eutrofizado, ya que este cuerpo de agua se usa como receptor de residuos con un continuo aporte de fosfatos y nitratos producto de detergentes, desechos industriales y urbanos, no permitiendo la recuperación del ciclo biológico de estas aguas. Si a esto aunamos la deforestación (a pesar de que ésta no se da en los alrededores del lago), los procesos de erosión tanto eólica como fluvial de los ríos y que acarrear el material terrígeno (derivado de la erosión de las sierras taladas clandestinamente) aceleran el asolve y reducirá el nivel de las aguas (Israde *et al.*, 2002).

V.1.1 SUELOS

En las áreas de llanura y de sierra con pendiente suave, cercanas al lago de Cuitzeo existen suelos conocidos como vertisoles y feozem. Algunos de ellos pedregosos y salinos con un alto contenido de arcilla por lo que son poco permeables y de drenaje lento, estos suelos son de alta fertilidad con contenido de materia orgánica de moderado a alto. De la misma manera, estos suelos se

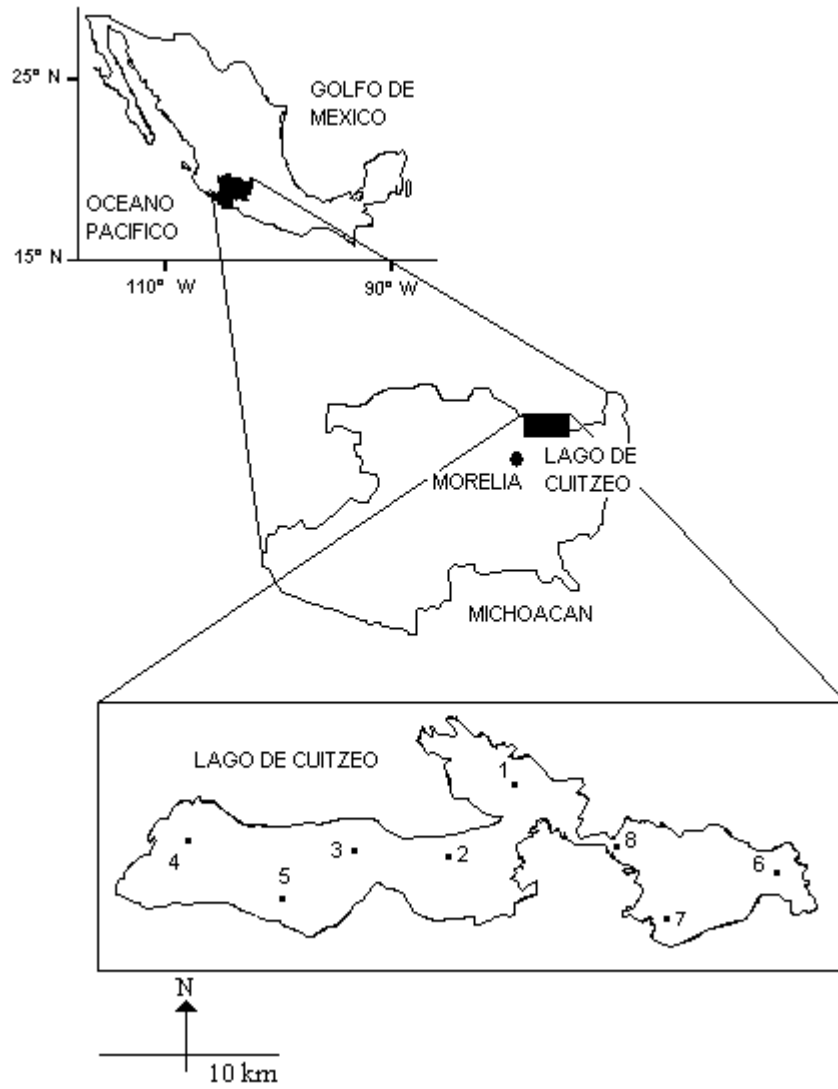


Figura 1. Localización del área de estudio

presentan en terrenos de consistencia débil y cuando están húmedos son tierras pegajosas y plásticas. Lo anterior ocasiona que los suelos sean poco permeables y de un drenaje lento. A esta composición se agrega la gran cantidad de sal (cloruro de sodio), “tequesquite” (mezcla de carbonato y bicarbonato de sodio), “salmuera” (mezcla de sulfato y cloruro de sodio), potasa y caliza de que están impregnados los suelos, tanto los adyacentes al lago como los de la región y que son el origen de su salinidad.

En el lago se presenta una porción de suelo lacustre que inicia en San Pedro de los Sauces, Tájaro, Alvaro Obregón y Cupatio, hasta llegar a la ribera del lago por la zona sureste y este del sistema lacustre. Una pequeña porción de este tipo de suelos se localiza también al norte de Cuitzeo del Porvenir, al sur del lago desde Chehuayo Grande hasta San Juan Tarameo, parte de San Agustín del Maíz, Copándaro, Santa Rita y Congosio, también al oeste desde el Gavilán, Marijo y al norte de Chucándiro.

En la ribera se encuentran grandes porciones del tipo Solonchaks de textura fina en una franja que corre del oeste hacia el este y después al norte y en una pequeña porción del sur; por otro lado el suelo de tipo vertisol pélico y litosol de textura fina tienen una dominancia significativa en la ribera del lago. El litosol con feozem háplico de textura media se presenta en una pequeña porción del lado sur del lago en la localidad de Chehuayo Grande y Chehuayo Chico, al norte aflora al noreste de Capacho (Chacón *et al.*, 2002).

V.1.2 CLIMA

Como resultado de la revisión de 16 estaciones climatológicas localizadas en diferentes puntos y poblaciones de la cuenca, y siguiendo los criterios establecidos para los climas de México por García (1973 y 1987), en el lago se encuentran dos tipos de clima templado: el primero es $Cw_0(w)$, que es el más seco de los templado subhúmedo; con lluvias en verano, el coeficiente $P/T < 43$ y lluvias invernales con respecto al anual $< 5\%$; con veranos frescos y largos, y se localiza en la región

centro-norte del lago, abarcando parte de los municipios de Cuitzeo, Santa Ana Maya, Copándaro, Tarímbaro, Álvaro Obregón y Huandacareo. Para la región este y oeste, se encuentra un clima $Cw_1(w)$, el más húmedo de los templado subhúmedo, con lluvias en verano, y porcentaje de lluvia invernal $<5\%$; se localiza en parte de los municipios de Zinapécuaro, Álvaro Obregón y Acámbaro en la región este; para la región oeste se encuentra Copándaro, Huandacareo, Chucándiro y Cuitzeo.

De acuerdo al sistema de clasificación de climas de Köppen modificado por García (1988), el clima de la cuenca de Cuitzeo es: $Cb(w_o)(w)(e)g$; que corresponde a un clima templado subhúmedo con lluvias en verano, verano fresco y largo (temperatura del mes más caliente entre 6.5 y $22^\circ C$); cociente P/T menor de 43.2 ; porcentaje de lluvia invernal menor de 5% anual, con oscilación extremosa entre 7 y $14^\circ C$; la marcha de temperatura es del tipo Ganges, es decir, el mes más caliente antes del solsticio de verano (Ortega, 2002).

V.1.3 FLORA Y FAUNA

La alta salinidad que presentan las aguas es una limitante para el establecimiento de plantas acuáticas típicas de agua dulce; sin embargo, la desembocadura de afluentes, la ribera sur, así como extensas áreas del vaso, son habitadas por varias especies de plantas acuáticas, entre las que destacan: *Potamogeton pectinatum*, *Potamogetum filiformis*, *Ceratophyllum demersum*, *Typha dominguensis*, *T. aungustifolia*, *Lemna gibba*, *Polygonum sp.*, *scirpus cubensis*, *Sagitaria latifolia*, *Sagitaria macrophylla* y el lirio acuático *Eichornia crassipes*.

La avifauna del lago de Cuitzeo comprende 38 familias con 157 especies, lo que representa 31.12% de las especies registradas en el Estado de Michoacán. De éstas 81 especies de aves son residentes (51.6%), mientras que 75 son migratorias, (47.8%) y sólo una especie es estacional (veraneante) (0.6%). En lo que se refiere al tipo de hábitat donde se encuentran las aves existen 106 especies terrestres que representan el 67.5% , 17 acuáticas (10.8%), 14 ribereñas (8.9%), 14

ribereñas/acuáticas y una sola especie es reportada en los tres hábitats (0.6 %) (Chacón *et al.*, 2002).

V.1.4 HIDROLOGIA

La cuenca de Cuitzeo no tiene salida al mar y se encuentra ubicada a una altitud de 1820 m. El área de captación de la cuenca es de 3,675 km², en donde se localizan los valles de Morelia, Zinapécuaro, Indaparapeo y Queréndaro, con actividades principalmente agrícolas.

La ribera sur del lago de Cuitzeo recibe las aguas de sus principales afluentes: río Grande de Morelia y Queréndaro. Existen además manantiales pequeños de aguas termales en las orillas del vaso lacustre que alimentan al lago, como son los manantiales de Huandacareo, Copándaro, Santa Rita, San Juan Tararameo y Araró (Chacón *et al.*, 2002).

V.1.5 PESCA

Las diez especies de peces nativos del lago de Cuitzeo, tienen dos orígenes: la acúmara o sardinita (*Algansea tincella*) es de invasión Neártica, es decir, llegó del norte a través de sus ancestros. Los charales, con dos especies *Chirostoma jordani* y *Ch. compressum* (ésta última ya extinta) y los godeidos o chehuas; son considerados especies que se formaron en esta región y su origen se encuentra ligado a los ancestros marinos que hace millones de años habitaban el gran canal que comunicaba al Golfo de México con el Océano Pacífico. Hay tres especies introducidas: la tilapia *Oreochromis niloticus*, la carpa dorada *Carassius auratus* y la carpa común *Cyprinus carpio* (Chacón *et al.* 2002).

V.2 TRABAJO DE CAMPO

V.2.1 Sitios de muestreo

Se seleccionaron 8 sitios en el lago (Figura 2), usando un geoposicionador (Garmin® GPS 72). La ubicación de cada sitio se presenta en el Cuadro 1.

Se seleccionaron cuatro fechas de colecta, y se llevaron a cabo en los meses de noviembre y diciembre de 2006 y febrero y marzo de 2007.

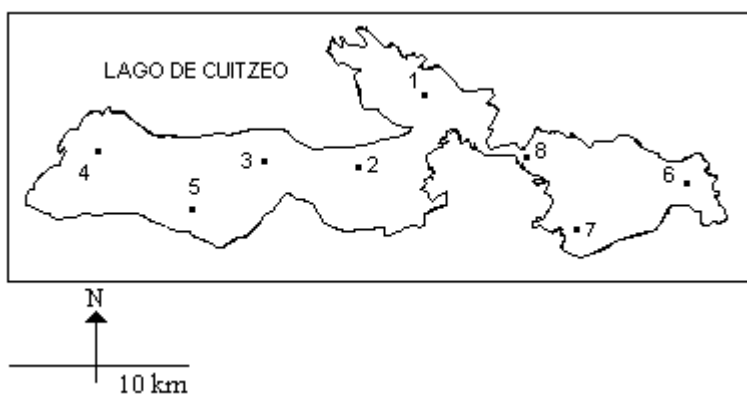


Figura 2. Sitios de colecta.

Cuadro 1. Coordenadas de los sitios de colecta.

SITIO	COORDENADAS		POBLACIÓN MAS CERCANA
1	19° 58' 37" N	101° 03' 63" W	Mariano Escobedo.
2	19° 56' 96" N	101° 05' 04" W	San Agustín del Pulque.
3	19° 56' 53" N	101° 08' 51" W	Cuitzeo.
4	19° 57' 13" N	101° 13' 52" W	Capacho.
5	19° 54' 80" N	101° 12' 59" W	Copándaro.
6	19° 55' 16" N	100° 54' 25" W	Coro.
7	19° 53' 12" N	100° 56' 30" W	Estación Queréndaro.
8	19° 56' 25" N	100° 58' 65" W	Río Grande.

V.2.2 Toma de muestras

Para la toma de muestras de agua se utilizó un muestreador horizontal (botella de Van-Dorn) con capacidad de 1 L.

Las muestras se colectaron a 75 cm de profundidad, y se vaciaron a frascos de cristal previamente esterilizados.

Todas las muestras se conservaron a una temperatura de 4°C durante su traslado al laboratorio para su análisis como se indica más adelante.

Se determinaron los siguientes parámetros fisicoquímicos *in situ* con un potenciómetro Corning Checkmate II: oxígeno disuelto, pH, conductividad eléctrica, sólidos disueltos y para la temperatura se utilizó un termómetro de inmersión Branam. Los parámetros fisicoquímicos determinados en laboratorio fueron: dureza total, alcalinidad total, Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ , K^+ , SO_4^{2-} , HCO_3^- , CO_3^{2-} , Cl^- , PO_4^{3-} , DBO y DQO.

V.2.3 Trabajo de laboratorio

V.2.3.1 Determinación de parámetros bacteriológicos

V.2.3.1.1 Determinación de la densidad poblacional total

Para determinar la densidad poblacional total de los diferentes sitios de muestreo, se empleó la técnica de diluciones: se colocó 1 tubo de ensayo con 9 mL de agua destilada estéril por cada sitio, al tubo se le adicionó 1 mL de la muestra, éste se agitó en un vortex y luego se tomó 1 mL y se colocó en cajas Petri estériles. Finalmente se adicionó agar de soya tripticasa (Anexo 1) a las placas y éstas se agitaron manualmente para homogenizar la muestra en el interior del medio. Posteriormente las cajas se incubaron a 30°C durante 24 h (Cerrato, 2002).

El número de colonias se cuantificó con la ayuda de un contador de colonias (Quebec), y se reportaron como Unidades Formadoras de Colonias (UFC /100 mL). Cada una de las muestras colectadas fue analizada por triplicado.

V.2.3.1.2 Cuantificación de los diferentes géneros bacterianos.

Para el género *Pseudomonas* el medio recomendado para su aislamiento fue el medio S1 (Anexo 1).

Para aislar el género *Vibrio* se usó el medio TCBS (Anexo 1).

De igual manera todas las placas se agitaron manualmente para homogenizar y se incubaron de 48 a 72 h a una temperatura de 30°C, y trascurrido el tiempo se procedió a cuantificar las colonias y se reportaron como UFC/100 mL.

Para aislar el género *Salmonella* se usó el BBL CHROMagar *salmonella* (Anexo 1). En este caso el medio se adquirió en placas preparadas y se sembró la muestra, tomando 1 mL de la muestra y colocándola en la placa para dispersar con una varilla de vidrio y se incubó a 35°C durante 24 h para posteriormente hacer el conteo de las colonias.

Los cultivos se realizaron por triplicado para cada género en cada uno de los muestreos.

V.2.3.1.3 Identificación y cuantificación de coliformes totales y *E. coli*

Los frascos para identificar coliformes totales y *E. coli*, se trataron de la siguiente manera:

Se utilizó el método Colilert® Kit de IDEXX para detectar simultáneamente coliformes totales y *E. coli* en el agua.

- Se añadió el contenido de la ampolleta y 100 mL de muestra en un recipiente estéril con tiosulfato de sodio.
- Se tapó y se agitó el recipiente hasta disolver.
- Se vertió la mezcla de muestra/reactivo en una charola (Quanta-Tray/2000) y se selló.
- Se colocó la charola sellada en una incubadora (Precision Scientific) a $35\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas.
- Finalmente se leyeron los resultados de acuerdo con el cuadro 2 de interpretación de resultados, se contaron los pocillos positivos y se refieren al cuadro NMP/100 mL proporcionado con las charolas para obtener el número más probable.

Cuadro 2. Interpretación de resultados

Aspecto	Resultado
Amarillo	Positivo para coliformes totales
Flourescencia con luz UV	Positivo para <i>E. coli</i>

V.2.3.1.4 Determinación de parámetros fisicoquímicos

Los parámetros fisicoquímicos determinados en laboratorio fueron analizados por las técnicas de espectrofotometría y volumetría como se indica en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Métodos de análisis de los parámetros fisicoquímicos.

Parámetro	Método	Técnica
Dureza total	Tritrimétrico	DOF, 2001a
Alcalinidad total	Tritrimétrico	DOF, 2001b
Sodio y potasio	Espectrofotometría de Absorción atómica	(APHA-AWWA-WPCF, 1995)
Calcio y magnesio	Espectrofotometría de Absorción atómica	(APHA-AWWA-WPCF, 1995)

Sulfatos	Espectrometría UV	DOF, 2001c
Cloruros	Tritrimétrico	DOF, 2001d
DBO	Tritrimétrico	DOF, 2001e
DQO	Tritrimétrico	DOF, 2001f
Carbonatos y bicarbonatos	Cálculo matemático a partir de los valores de pH y alcalinidad.	Rodier, 1998

V.2.4 Análisis estadístico

Para analizar el comportamiento de la población bacteriana total así como de los diferentes géneros, se realizó para cada muestreo y por géneros un Anova de una vía y una prueba no paramétrica de Wilcoxon. Para los datos de *E. coli* se hizo una prueba de correlación simple con J_i^2 . A todos los datos obtenidos tanto de los parámetros fisicoquímicos como del NMP/100 mL y UFC/100 mL de bacterias se les aplicó un Análisis de Componentes Principales (ACP), para determinar la relación entre estos parámetros y la densidad poblacional de los diferentes géneros cuantificados.

VI. RESULTADOS

En el cuadro 4 se presentan los resultados bacteriológicos obtenidos, en los sitios de estudio, en cada uno de los diferentes muestreos realizados.

Cuadro 4. Resultados de los análisis bacteriológicos.

		Población total (UFC/100 mL)	<i>Pseudomonas</i> (UFC/100 mL)	<i>Salmonella</i> (UFC/100 mL)	<i>Vibrio</i> (UFC/100 mL)	Coliformes totales (NMP/100 mL)	<i>Escherichia coli</i> (NMP/100 mL)
Mariano Escobedo	Noviembre	1680	56.13	1256.7	3	2419.6	23.3
	Diciembre	2448.3	29.7	0	31.7	2419.6	5.2
	Febrero	2329.2	587.9	0.3	1.3	2419.6	1
	Marzo	1787.5	12.3	2.7	5	2419.6	17.1
San Agustín del Pulque	Noviembre	656.7	87.7	1381.25	5.7	2419.6	4.1
	Diciembre	3472	47.7	0	64.7	2419.6	37.3
	Febrero	2266.7	1148.2	0	17.3	2419.6	45
	Marzo	4663.7	1153.7	1	931.7	2419.6	12.2
Cuitzeo	Noviembre	2782	46.5	1960.8	3.7	2419.6	16
	Diciembre	30712.5	39	1.7	9	2419.6	30.5
	Febrero	3933.3	5	0	7	2419.6	12.2
	Marzo	1435.4	39.7	2	19	2419.6	0.9
Capacho	Noviembre	1672.7	55	0	5.3	2419.6	0
	Diciembre	8271	70	220	6.7	2419.6	3
	Febrero	13920.7	1722.5	13	2.3	2419.6	0
	Marzo	2973.7	23.7	1.7	18.7	2419.6	0.9
Copándaro	Noviembre	1283.7	70.3	0	5.7	2419.6	272.3
	Diciembre	7610.4	23.3	27	4	2419.6	3
	Febrero	3133.3	917.5	1	5.7	2419.6	6.3
	Marzo	2134.2	36.3	0.3	17.7	2419.6	0.9
Coro	Noviembre	3783	39.7	0	2.3	2419.6	7.5
	Diciembre	3000	46.7	0	1.7	2419.6	4.1
	Febrero	2133.3	132	0	21	2419.6	5.2
	Marzo	931.7	29.7	3.3	10.3	2419.6	0.9
Estación Queréndaro	Noviembre	3494.8	53	268.3	8.7	2419.6	5.2
	Diciembre	8673.3	63.3	23	4.7	2419.6	101.7
	Febrero	1866.7	1083.3	0.3	1.3	2419.6	25.9
	Marzo	1847.1	167.3	34.7	4.7	2419.6	55.6
Río Grande	Noviembre	35316.7	27.2	238.3	1.3	2419.6	2419.6
	Diciembre	7610.5	23.3	26.3	3	2419.6	123.4
	Febrero	20475	66.7	13.3	23	2419.6	866.4
	Marzo	3103.7	137.3	28	6	2419.6	35

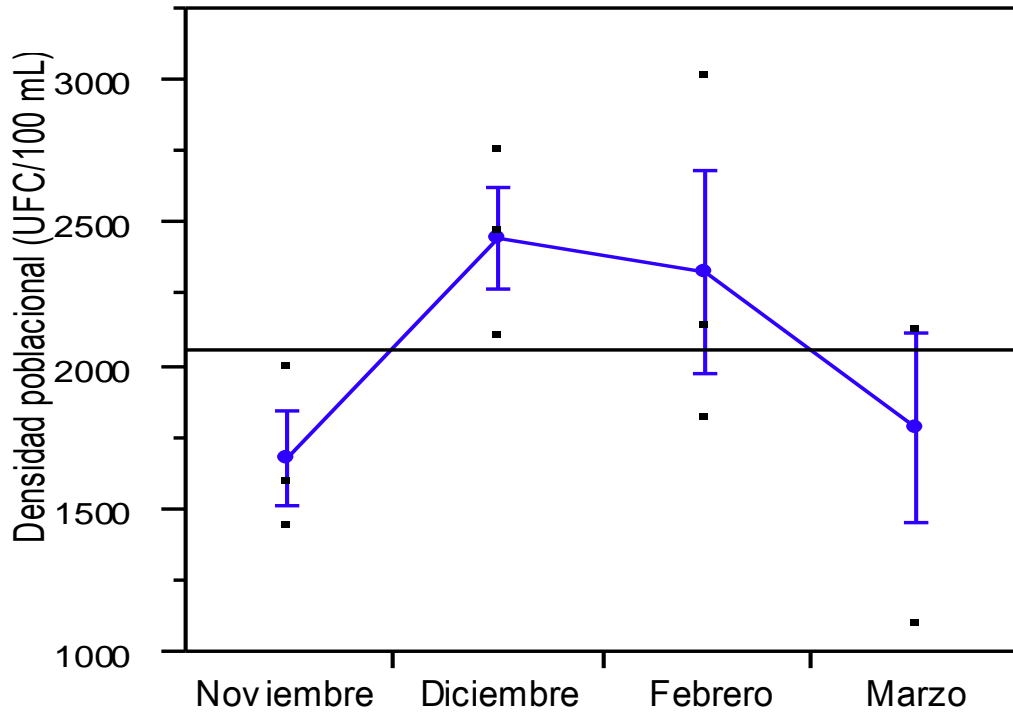
Densidad poblacional bacteriana total, y de los géneros Pseudomonas, Vibrio y Salmonella

La densidad poblacional bacteriana total que corresponde a Mariano Escobedo, (Gráfica 1) mostró en diciembre y febrero que la población es mayor (2448.3 UFC/100 mL y 1359.6 UFC/100 mL) que la de noviembre y marzo (1680 UFC/100 mL y 1787.5 UFC/100 mL). En noviembre y diciembre la población aumentó casi el doble representando esto una diferencia significativa. Por otra parte de diciembre a febrero la población disminuyó poco, sin que esto representara una diferencia entre los muestreos. Para el mes de marzo la población bacteriana total siguió disminuyendo (1680 UFC/100 mL), aunque la densidad poblacional cuantificada no fue tan baja como la del mes de noviembre.

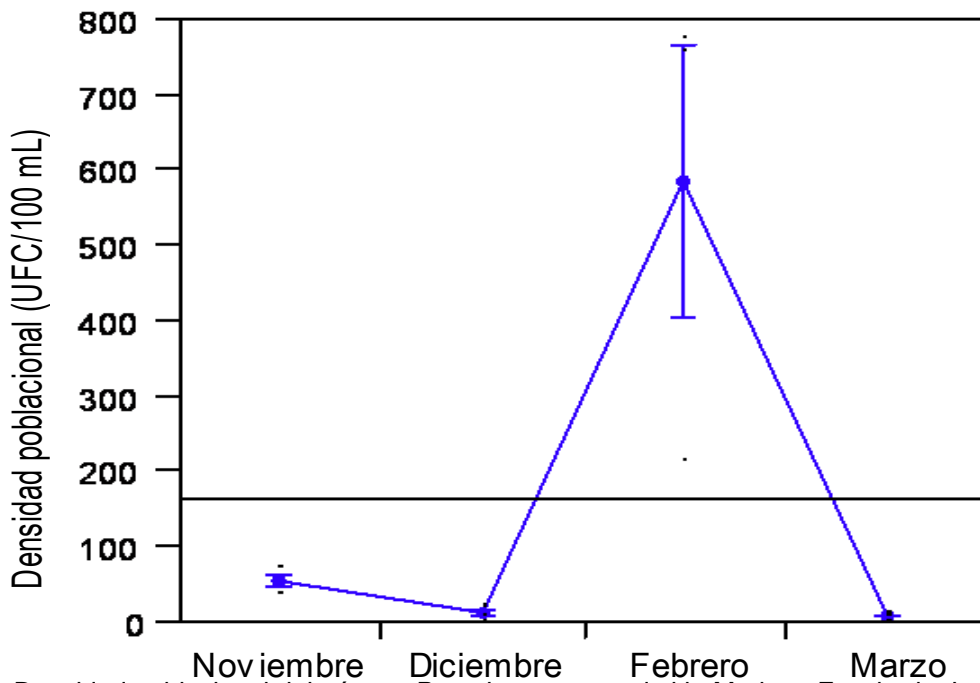
Con relación a la población de *Pseudomonas* se observó una fluctuación más notable en los diferentes muestreos existiendo entre éstos diferencia estadística (Gráfica 2). De noviembre a diciembre la población disminuyó casi tres veces (de 56.1 UFC/100 mL a 16.3 UFC/100 mL). Para el mes de febrero la densidad poblacional aumentó notablemente de 16.3 UFC/100 mL a 587.9 UFC/100 mL. Sin embargo, nuevamente la población de *Pseudomonas* disminuyó hasta llegar a 12.3 UFC/100 mL.

En relación con la población de *Vibrio* en el sitio 1 (Mariano Escobedo), se observó que fue más o menos constante (3 UFC/100 mL en noviembre, 1.3 UFC/100 mL en febrero y 5 UFC/100 mL en marzo) a excepción de diciembre donde se observó que la población aumentó hasta 31.7 UFC/100 mL, aunque no hay diferencia estadística de noviembre a diciembre, ni de diciembre a febrero. En el muestreo de marzo la población aumentó ligeramente (Gráfica 3).

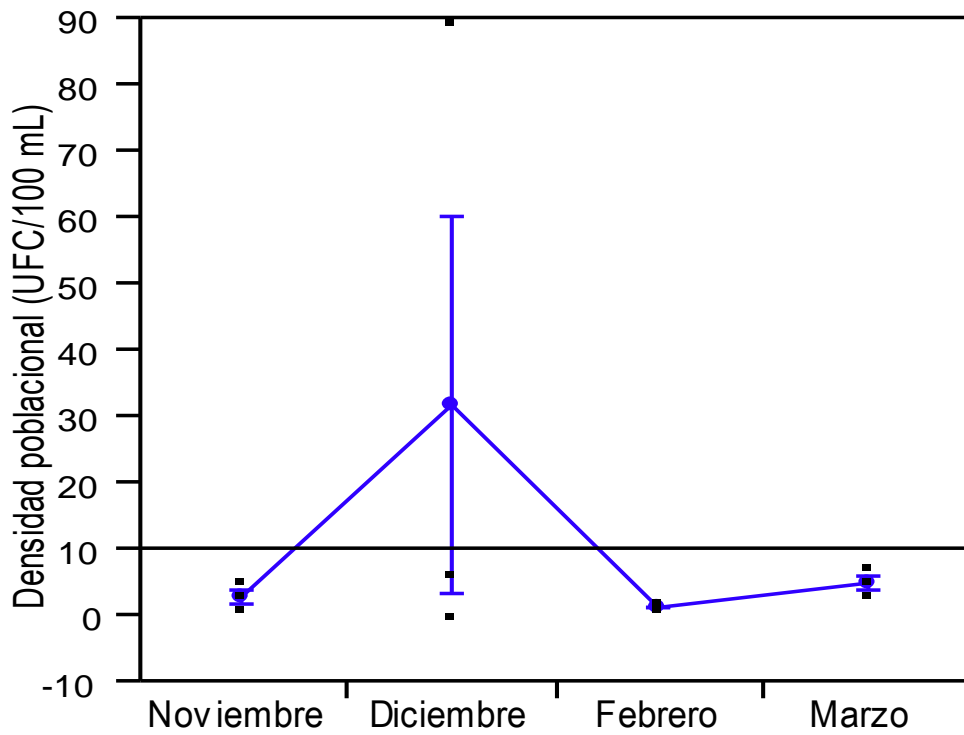
La población del género *Salmonella* (Gráfica 4), solamente se detectó en el mes de noviembre (1256.67 UFC/100 mL), mientras que en los meses de diciembre, febrero y marzo fue de 0 UFC/100 mL.



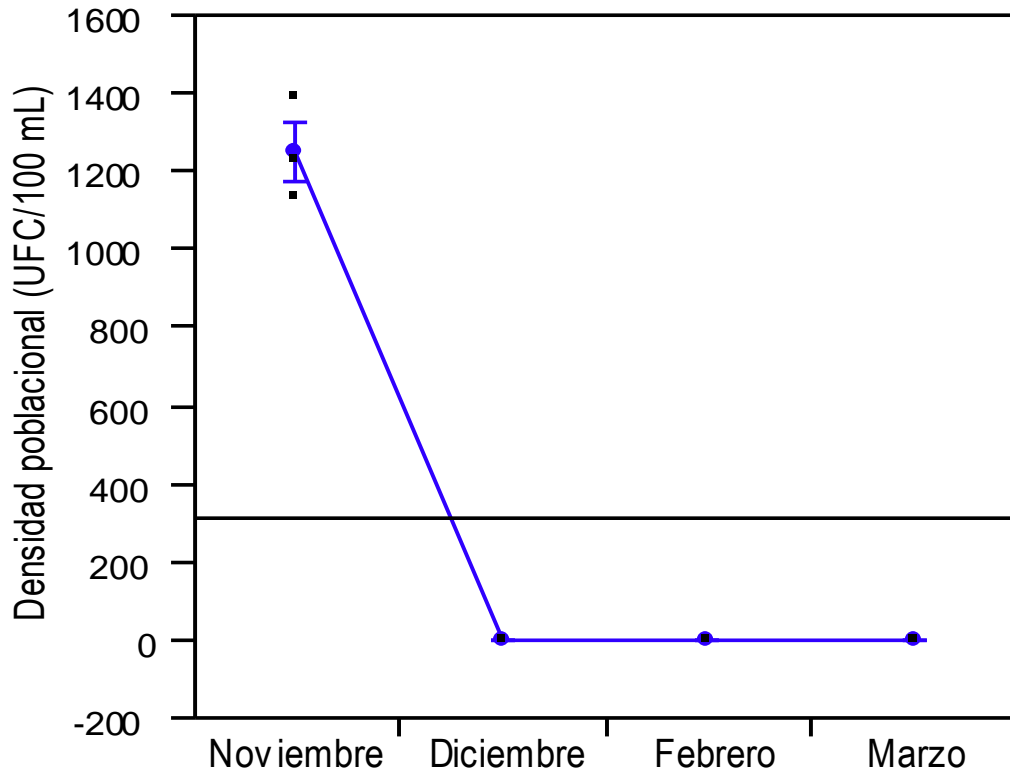
Gráfica 1. Densidad poblacional bacteriana total en el sitio de Mariano Escobedo. La densidad se determina por cuenta viable en placa. Cada punto representa el promedio de tres repeticiones \pm DE.



Gráfica 2. Densidad poblacional del género *Pseudomonas* en el sitio Mariano Escobedo. La densidad se determina por cuenta viable en placa. Cada punto representa el promedio de tres repeticiones \pm DE.



Gráfica 3. Densidad poblacional del género *Vibrio* en el sitio Mariano Escobedo. La densidad se determinó por cuenta viable en placa. Cada punto representa el promedio de tres repeticiones \pm DE.



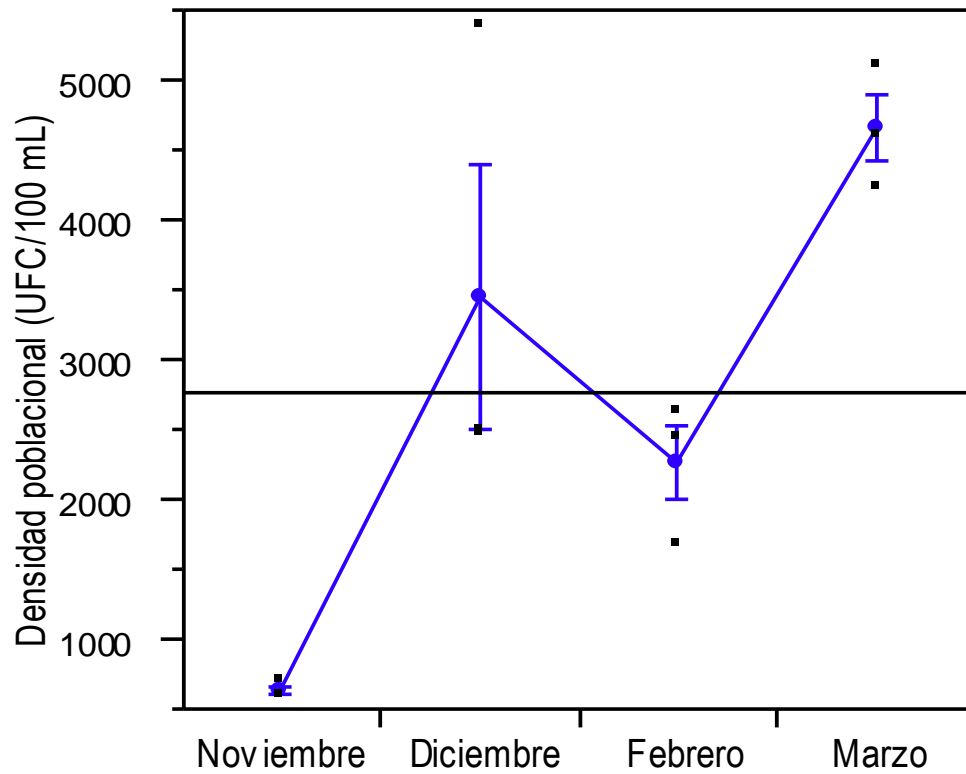
Gráfica 4. Densidad poblacional del género *Salmonella* en el sitio Mariano Escobedo. La densidad se determinó por cuenta viable en placa. Cada punto representa el promedio de tres repeticiones \pm DE.

La población bacteriana total en el sitio de San Agustín del Pulque (Gráfica 5) presentó una diferencia significativa entre los dos primeros muestreos en el mes de noviembre el promedio que fue de 656.6/100 mL, mientras que la población en el mes de diciembre aumento a 3472.1 UFC/100 mL. En el mes de febrero se presentó una disminución en la población, aunque no fue estadísticamente significativa. La población total nuevamente aumentó el doble en el mes de marzo (de 2266.6 UFC/100 mL a 4663.7 UFC/100 mL).

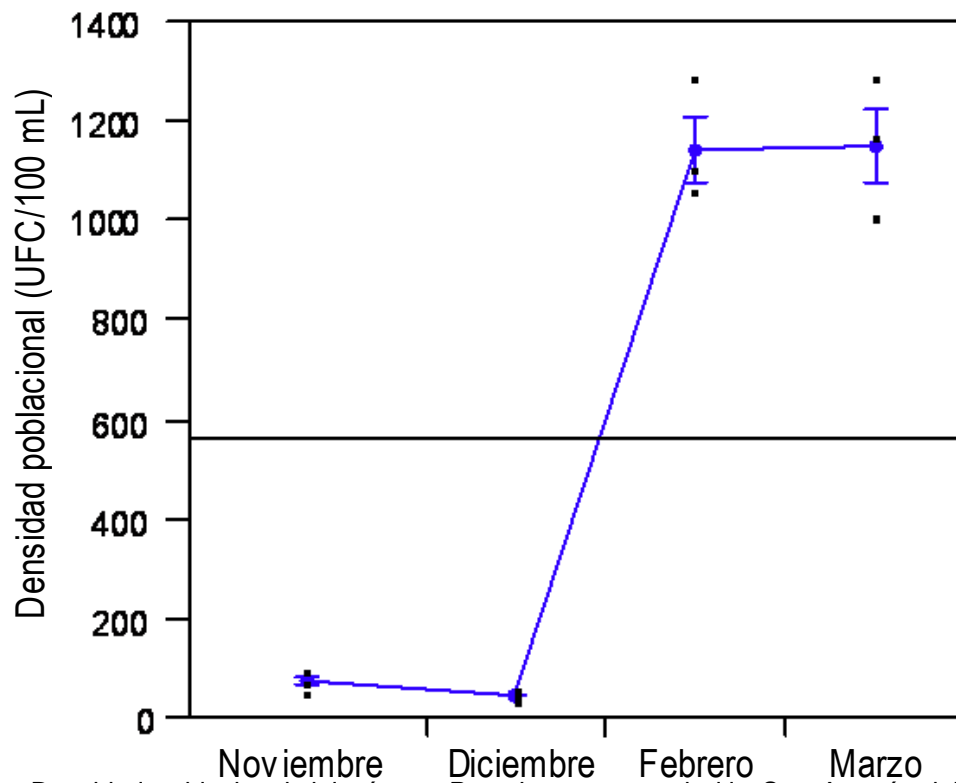
La población de *Pseudomonas* en el sitio 2 (San Agustín del Pulque) disminuyó de noviembre a diciembre obteniendo 87.74 UFC/100 mL y 47.66 UFC/100 mL respectivamente (Gráfica 6). En el tercer muestreo correspondiente al mes de febrero la población aumentó (1148.17 UFC/100 mL) alrededor de 20 veces respecto al mes de diciembre, y se mantuvo casi igual en el mes de marzo (1153.75/100 mL), con una mínima disminución en la población.

La densidad poblacional de *Vibrio* del sitio 2 (Gráfica 7) aumentó de diciembre a noviembre (de 5.66 UFC/100mL a 64.7 UFC/100 mL). De acuerdo al análisis estadístico, este crecimiento es poco significativo, sin embargo para el muestreo posterior la población cuantificada fue 4 veces menor al muestreo anterior. Nuevamente la población se recuperó a partir de febrero y marzo, (de 17.3 UFC/100 mL a 931.6 UFC/100 mL).

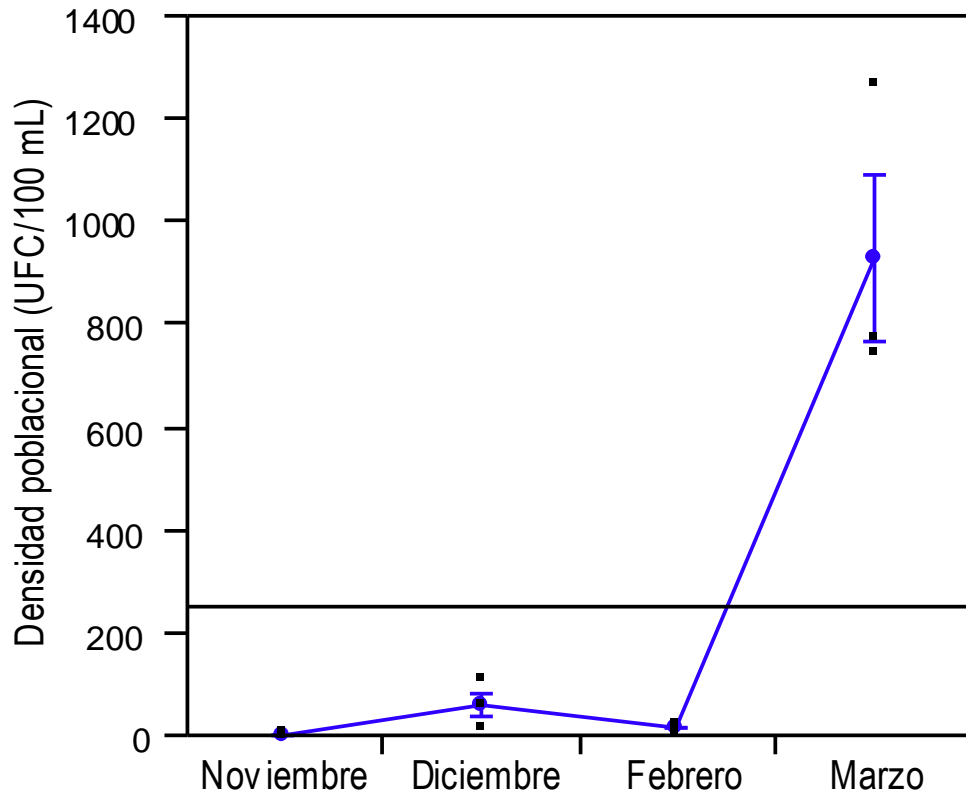
La población de *Salmonella* solo se detectó en el mes de noviembre con una densidad poblacional de 1381.25 UFC/100 mL (Gráfica 8). En diciembre, febrero y marzo no se detectó densidad poblacional.



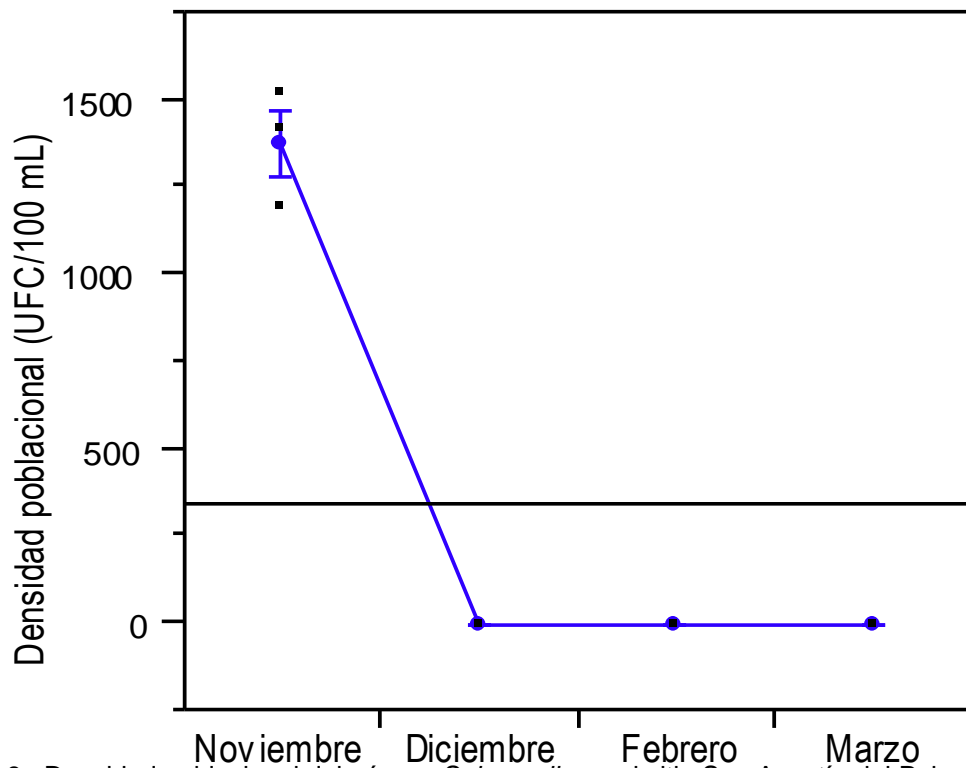
Gráfica 5. Densidad poblacional bacteriana total en el sitio San Agustín del Pulque. La densidad se determinó por cuenta viable en placa. Cada punto representa el promedio de tres repeticiones \pm DE.



Gráfica 6. Densidad poblacional del género *Pseudomonas* en el sitio San Agustín del Pulque. La densidad se determinó por cuenta viable en placa. Cada punto representa el promedio de tres repeticiones \pm DE.



Gráfica 7. Densidad poblacional del género *Vibrio* en el sitio San Agustín del Pulque. La densidad se determinó por cuenta viable en placa, cada punto representa el promedio de tres repeticiones \pm DS.



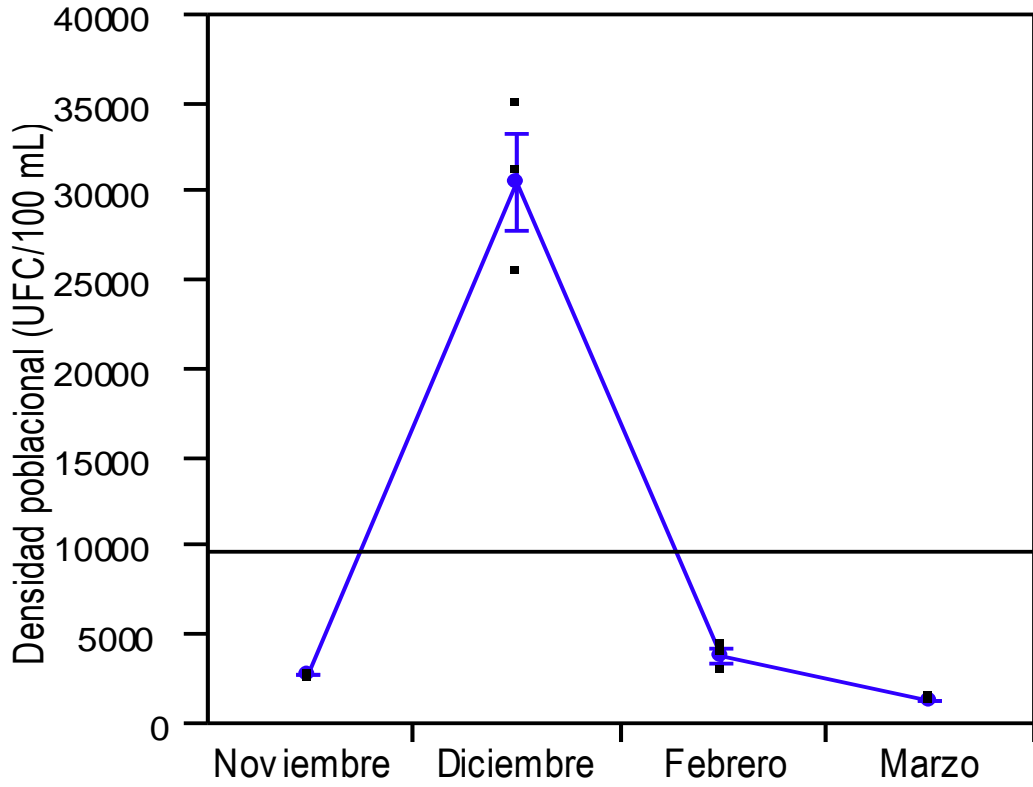
Gráfica 8. Densidad poblacional del género *Salmonella* en el sitio San Agustín del Pulque, durante los muestreos realizados, por medio de cuenta viable en placa. Cada punto representa el promedio de tres repeticiones \pm DE.

En lo que respecta al sitio de Cuitzeo, la densidad poblacional bacteriana total para el mes de noviembre se observaron 2782 UFC/100 mL y para el muestreo de diciembre el valor de la densidad poblacional aumentó mas de 10 veces obteniendo 30712.5 UFC/100 mL (Gráfica 9). En el mes de febrero la densidad poblacional volvió a disminuir (3933.33 UFC/100 mL). En marzo llegó a 1435.42 UFC/100 mL, a pesar de que es ligera la disminución es estadísticamente significativa.

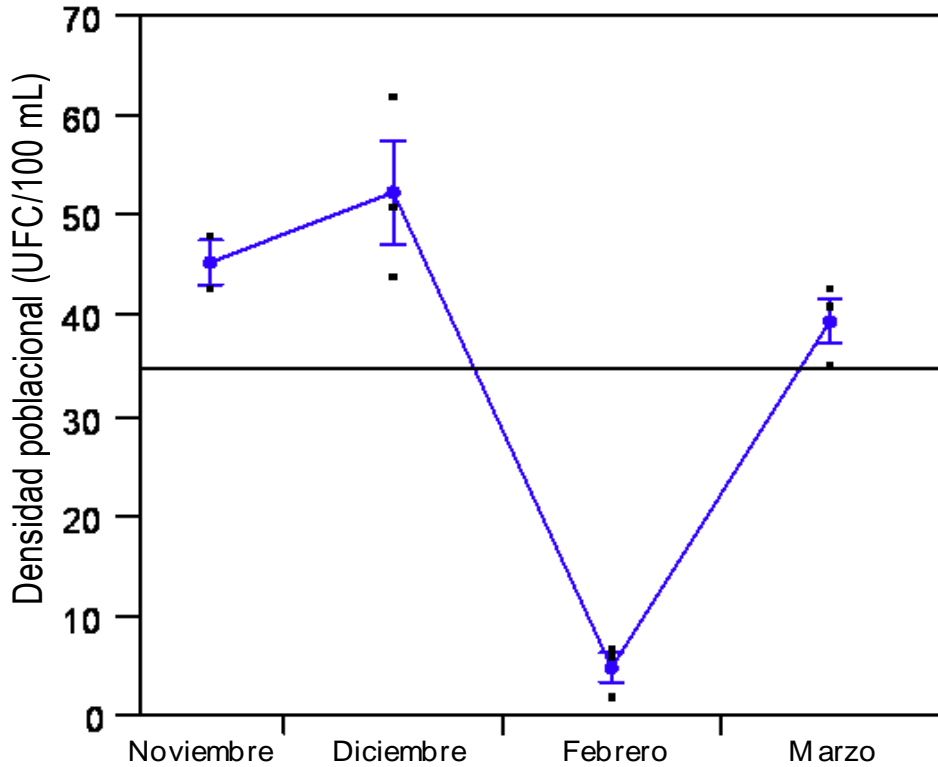
La gráfica 10 muestra la densidad poblacional del género *Pseudomonas* en el sitio 3 (Cuitzeo), la densidad poblacional es muy similar en noviembre y diciembre, teniendo un promedio de 46.6 UFC/100 mL y 52.3 UFC/100 mL respectivamente. Sin embargo, en el muestreo de febrero la población disminuyó hasta alcanzar un valor de 5 UFC/100 mL de densidad poblacional, aumentando nuevamente en el mes de marzo donde llegó a 39.6 UFC/100 mL, siendo estadísticamente significativo.

Al medir la densidad poblacional de *Vibrio* en al sitio 3 (gráfica 11) se detectó que la población se mantuvo casi estable en los meses de noviembre, diciembre y febrero, en los cuales se obtuvieron 3.6, 9 y 7 UFC/100 mL respectivamente. En el caso del muestreo de marzo, la población presentó un aumento significativo (19 UFC/100 mL).

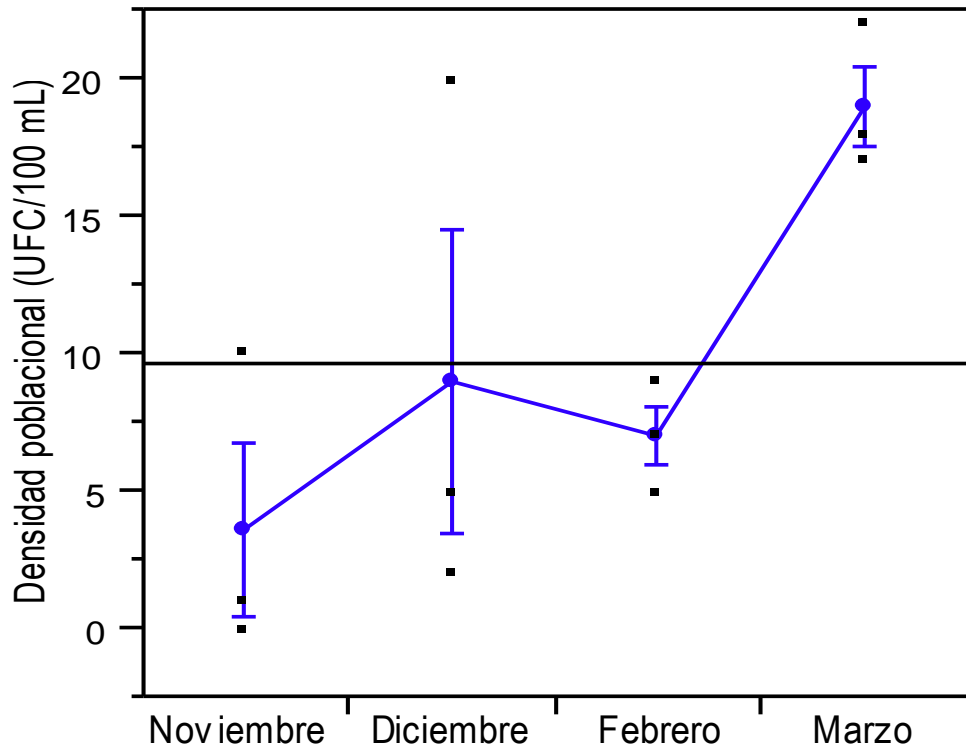
La densidad poblacional del género *Salmonella* (Gráfica 12), solamente se detectó en el mes de noviembre (1960.83 UFC) disminuyendo en el mes de diciembre hasta ser indetectable y permaneciendo así en los muestreos de febrero y marzo.



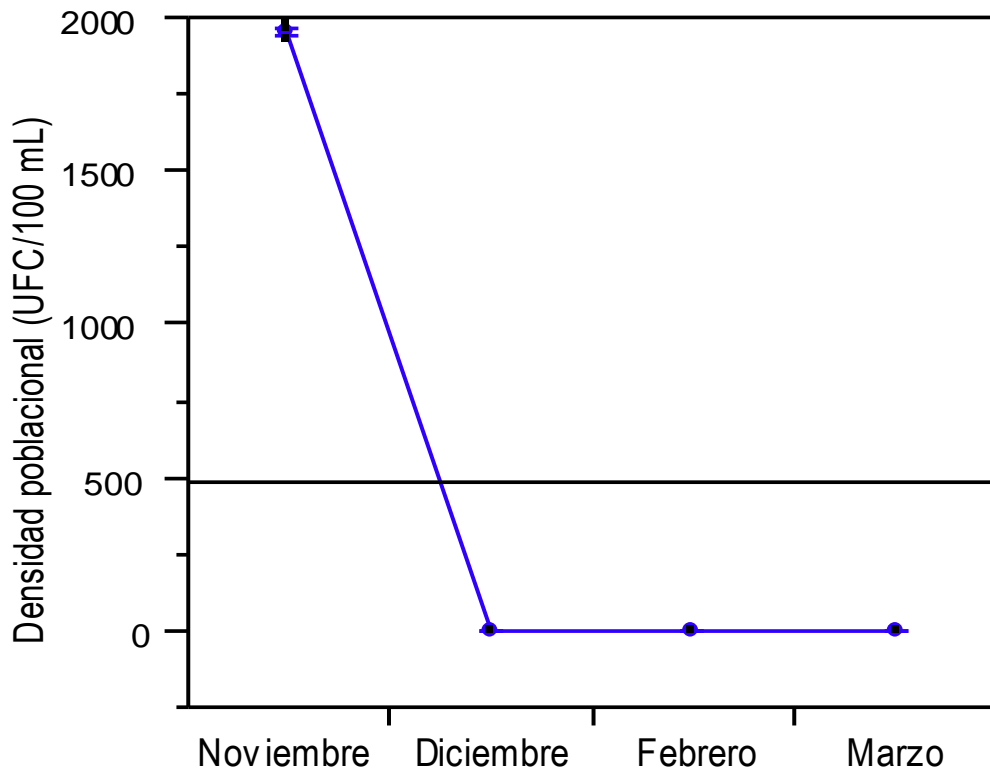
Gráfica 9. Densidad poblacional bacteriana total en el sitio Cuitzeo. La densidad se determinó por cuenta viable en placa. Cada punto representa el promedio de tres repeticiones \pm DE.



Gráfica 10. Densidad poblacional del género *Pseudomonas* en el sitio Cuitzeo. La densidad se determinó por cuenta viable en placa. Cada punto representa el promedio de tres repeticiones \pm DE.



Gráfica 11. Densidad poblacional del género *Vibrio* en el sitio Cuitzeo. La densidad se determinó por cuenta viable en placa. Cada punto representa el promedio de tres repeticiones \pm DE.



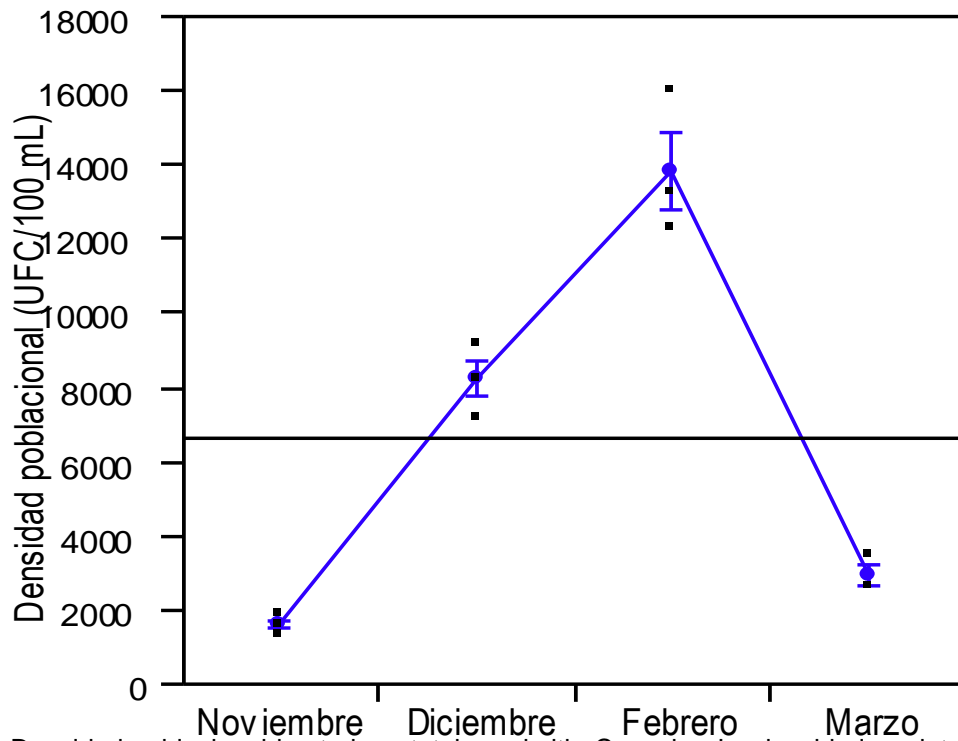
Gráfica 12. Densidad poblacional del género *Salmonella* en el sitio Cuitzeo. La densidad se determinó por cuenta viable en placa. Cada punto representa el promedio de tres repeticiones \pm DE.

En el sitio 4 (Capacho), la densidad de la población aumentó en el mes de diciembre respecto a noviembre, obteniendo 1672 UFC/100 mL y 8271 UFC/100 mL respectivamente (Gráfica 13). La población continuó aumentando hasta el mes de febrero llegando a cuantificar 13920.7 UFC/100 mL, pero disminuyó drásticamente en marzo llegando a 2473.7 UFC/100 mL.

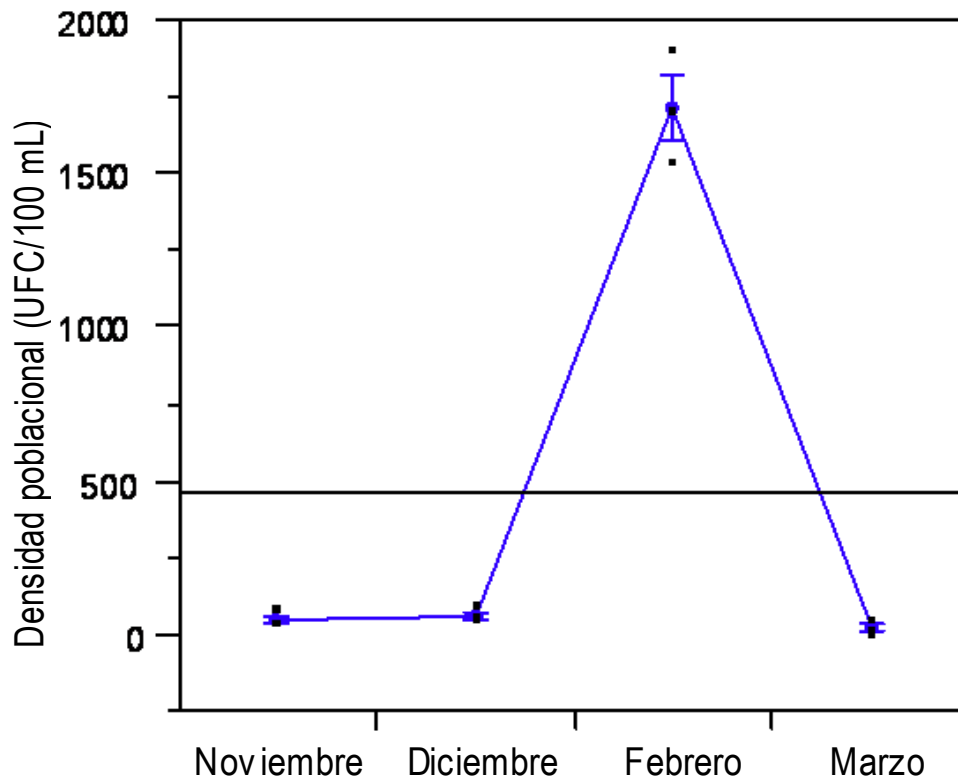
La población de *Pseudomonas*, en este mismo sitio, se mantuvo casi sin aumento de noviembre a diciembre, obteniendo de densidad poblacional 55 UFC/100mL y 70 UFC/100mL para cada uno de los muestreos (Gráfica 14). En el mes de febrero la población de *Pseudomonas* aumentó notablemente (1722.5 UFC/100 mL) aunque decreció nuevamente en marzo (23.67 UFC/100 mL).

En lo que se refiere a la densidad poblacional de *Vibrio* (Gráfica 15) en el sitio denominado Capacho se encontró un aumento ligero pero no estadísticamente significativo de noviembre a diciembre (5.3 UFC/100 mL y 6.7 UFC/100 mL respectivamente). Posteriormente disminuyó la población en el mes de febrero (2.3 UFC/100 mL), con una diferencia significativa de 0.0463 respecto a la población de diciembre, y la población otra vez aumento significativamente para el muestreo de marzo llegando a 18.6 UFC/100 mL.

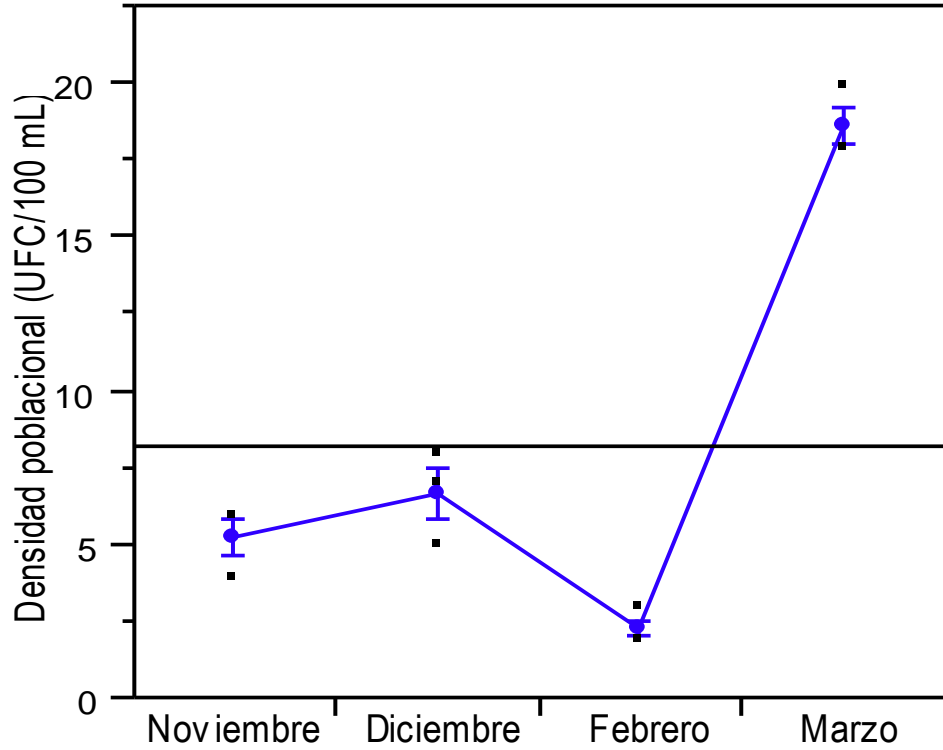
La densidad poblacional del género *Salmonella* (Gráfica 16), fluctuó en los diferentes muestreos, en el mes de noviembre no se detectaron los miembros de éste género, sin embargo para el mes de diciembre aumentó considerablemente (220 UFC/100 mL), y nuevamente decayó la población en febrero (13 UFC/100 mL) hasta llegar a 1.66 UFC/100 mL en marzo.



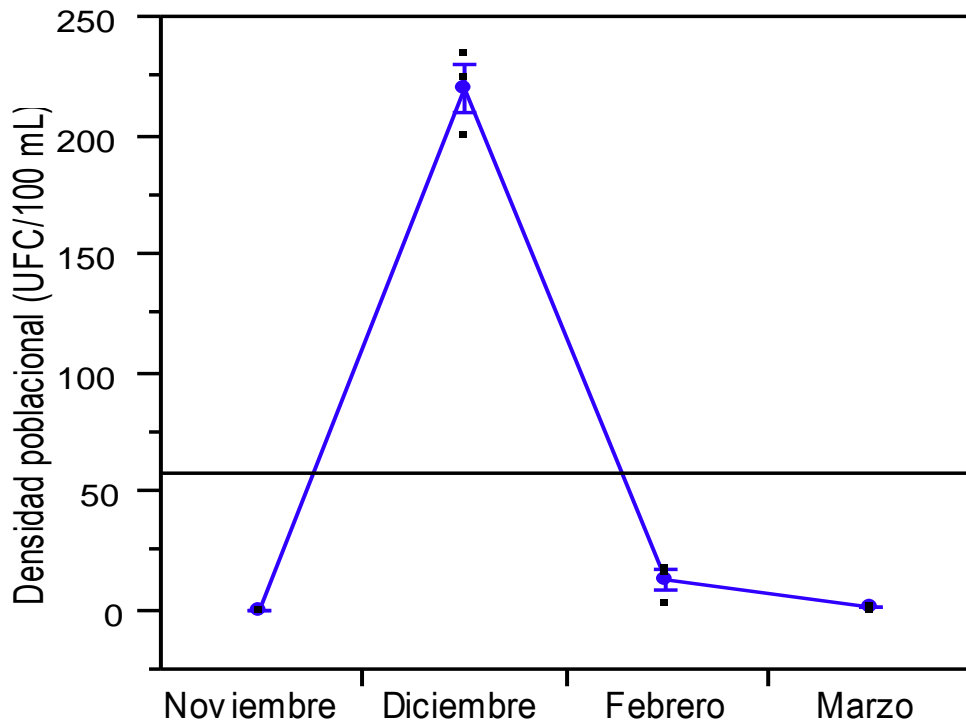
Gráfica 13. Densidad poblacional bacteriana total en el sitio Capacho. La densidad se determinó por cuenta viable en placa. Cada punto representa el promedio de tres repeticiones \pm DE.



Gráfica 14. Densidad poblacional del género *Pseudomonas* en el sitio Capacho. La densidad se determinó por cuenta viable en placa. Cada punto representa el promedio de tres repeticiones \pm DE.



Gráfica 15. Densidad poblacional del género *Vibrio* en el sitio Capacho. La densidad se determinó por cuenta viable en placa. Cada punto representa el promedio de tres repeticiones \pm DE.



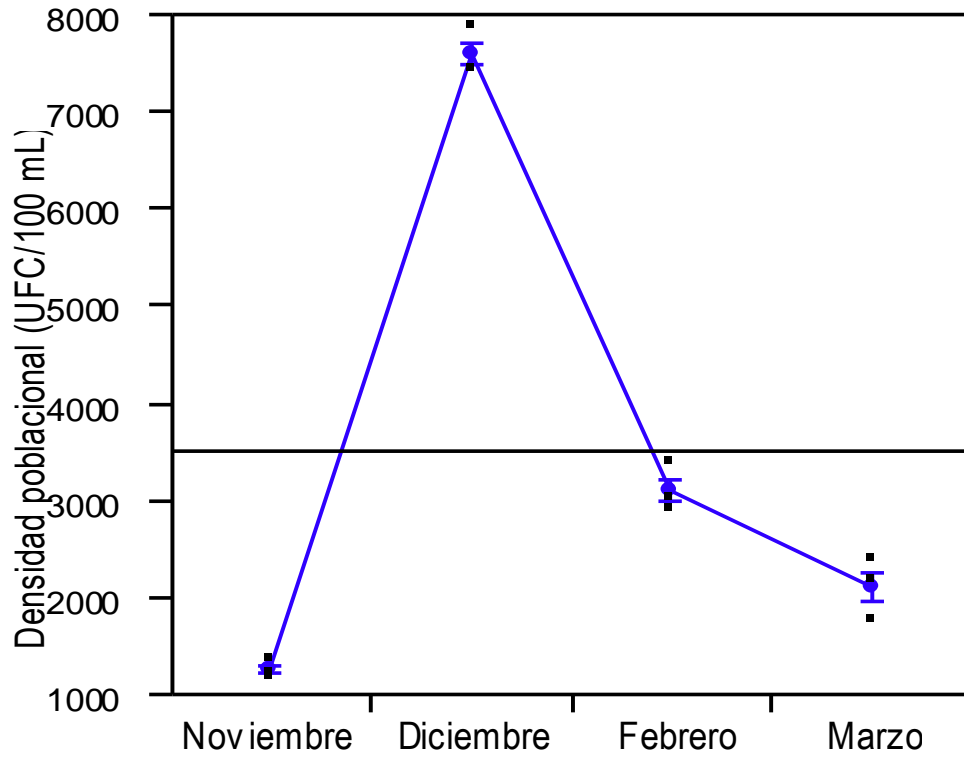
Gráfica 16. Densidad poblacional del género *Salmonella* en el sitio Capacho. La densidad se determinó por cuenta viable en placa. Cada punto representa el promedio de tres repeticiones \pm DE.

La gráfica 17 muestra la densidad poblacional bacteriana total en el sitio 5 que se encuentra cercano a la población de Copándaro. La densidad poblacional en noviembre fue 1283 UFC/100 mL, mientras que en diciembre aumentó a 7610.4 UFC/100 mL. En febrero, la población presentó una disminución ligeramente significativa hasta llegar a 3133.3 UFC/100 mL, y continuó disminuyendo hasta el último muestreo, en el cual fue 2134.2 UFC/100 mL.

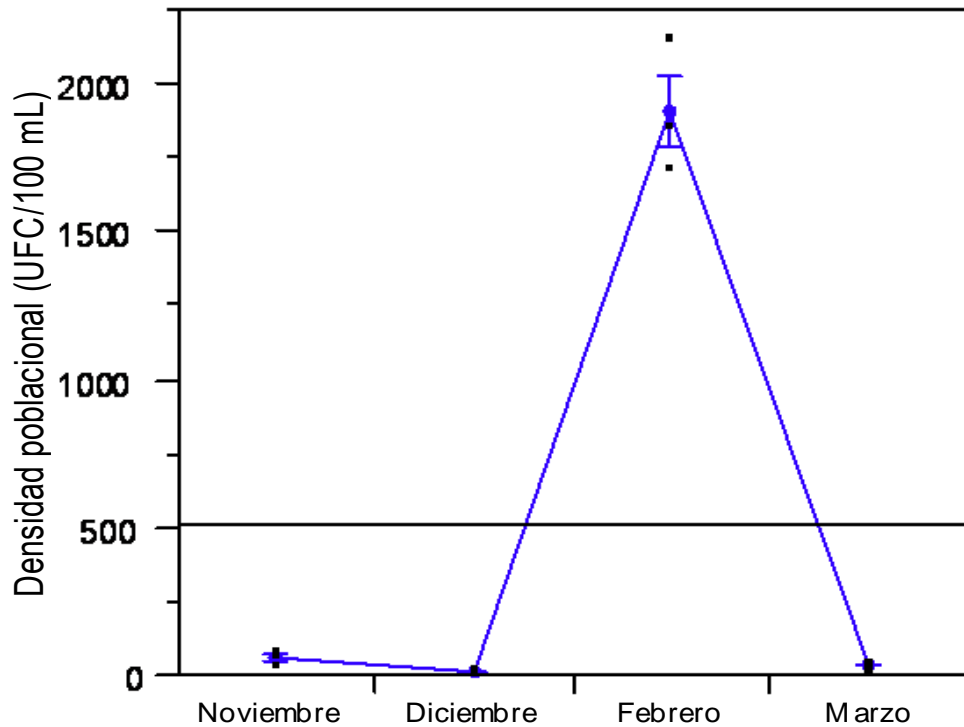
La población de *Pseudomonas* disminuyó para el mes de diciembre, esta reducción es muy significativa y es de aproximadamente 3 veces respecto al muestreo de noviembre (de 70.3 UFC/100 mL a y 23.3/100 mL) (Gráfica 18). En febrero la población aumento de manera notable (1917.6 UFC/100 mL), y en marzo nuevamente disminuyó teniendo una densidad poblacional de 36.3 UFC/100 mL.

La gráfica 19 muestra la densidad poblacional del género *Vibrio* en el sitio 5 (Copándaro), en donde se puede apreciar que en los tres primeros muestreos la población permanece casi igual, en noviembre y febrero la densidad poblacional fue igual (5.6 UFC/100 mL), por lo que no hay diferencia significativa en cuando a la densidad poblacional en los diferentes muestreos, En diciembre se obtuvo un promedio de 4 UFC/100 mL, y en marzo 17.7 UFC/100 mL, donde la población aumentó alrededor de 3 veces respecto al muestreo de febrero indicando este crecimiento que si hubo diferencia significativa en los muestreos ya mencionados.

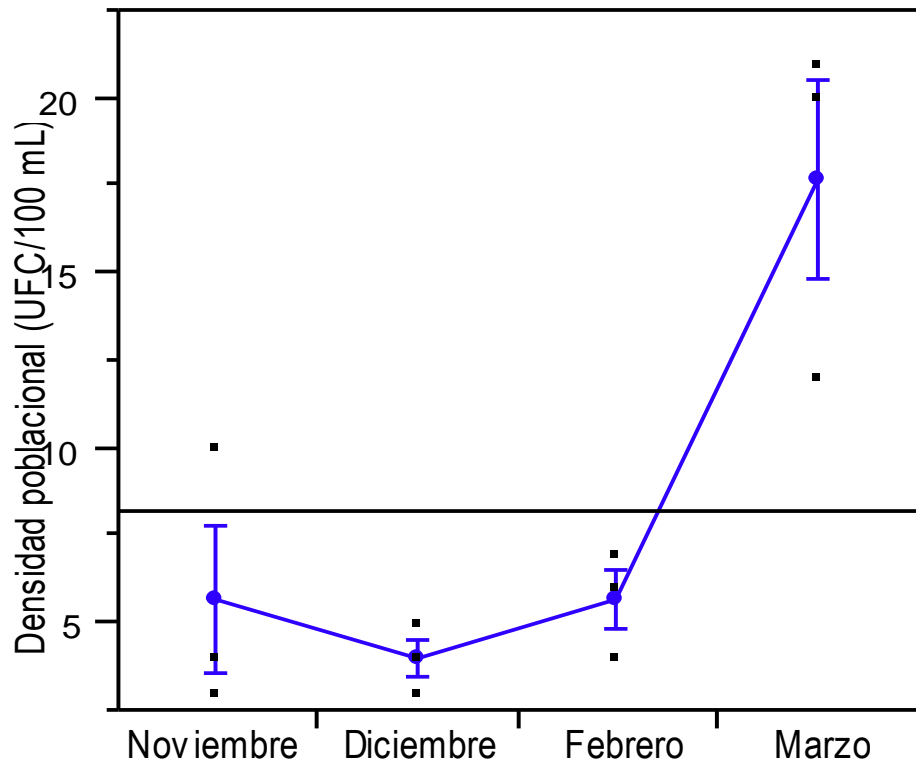
La población de *Salmonella* (Gráfica 20) en este sitio de muestreo fue poca o nula su presencia. En noviembre no se detectó este género, mientras que en diciembre la población aumentó hasta 27 UFC/100 mL. En febrero solo se determinó 1 UFC/100 mL y en marzo la población casi fué indetectable (0.33 UFC/100 mL).



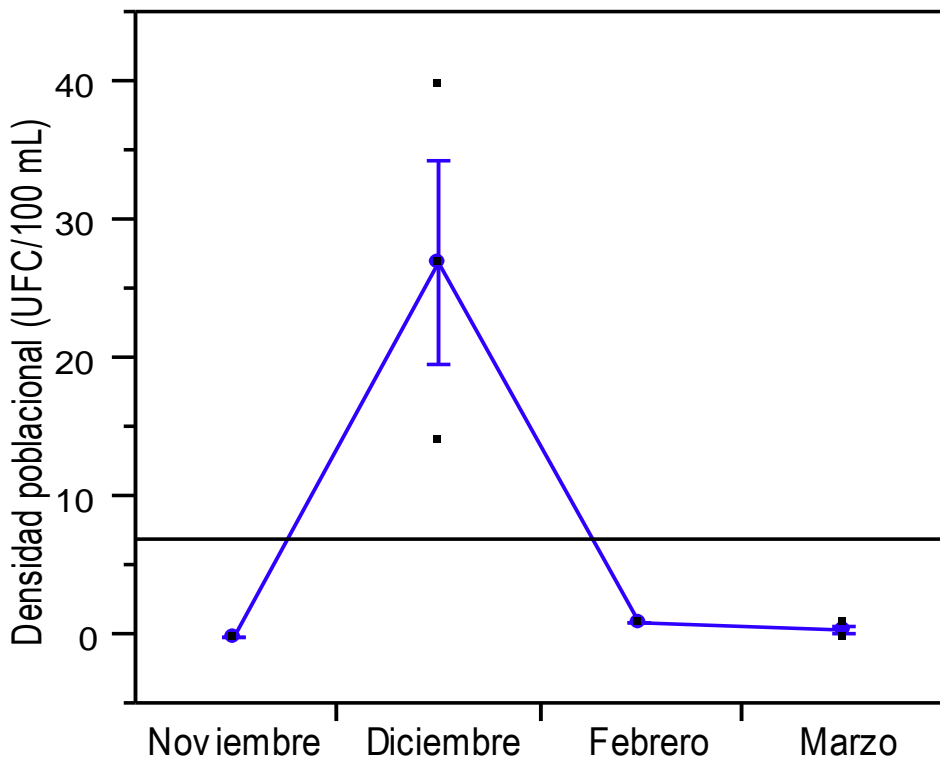
Gráfica 17. Densidad poblacional bacteriana total en el sitio Copándaro. La densidad se determinó por cuenta viable en placa. Cada punto representa el promedio de tres repeticiones \pm DE.



Gráfica 18. Densidad poblacional del género *Pseudomonas* en el sitio Copándaro. La densidad se determinó por cuenta viable en placa. Cada punto representa el promedio de tres repeticiones \pm DE.



Gráfica 19. Densidad poblacional del género *Vibrio* en el sitio Copándaro. La densidad se determinó por cuenta viable en placa. Cada punto representa el promedio de tres repeticiones \pm DE.



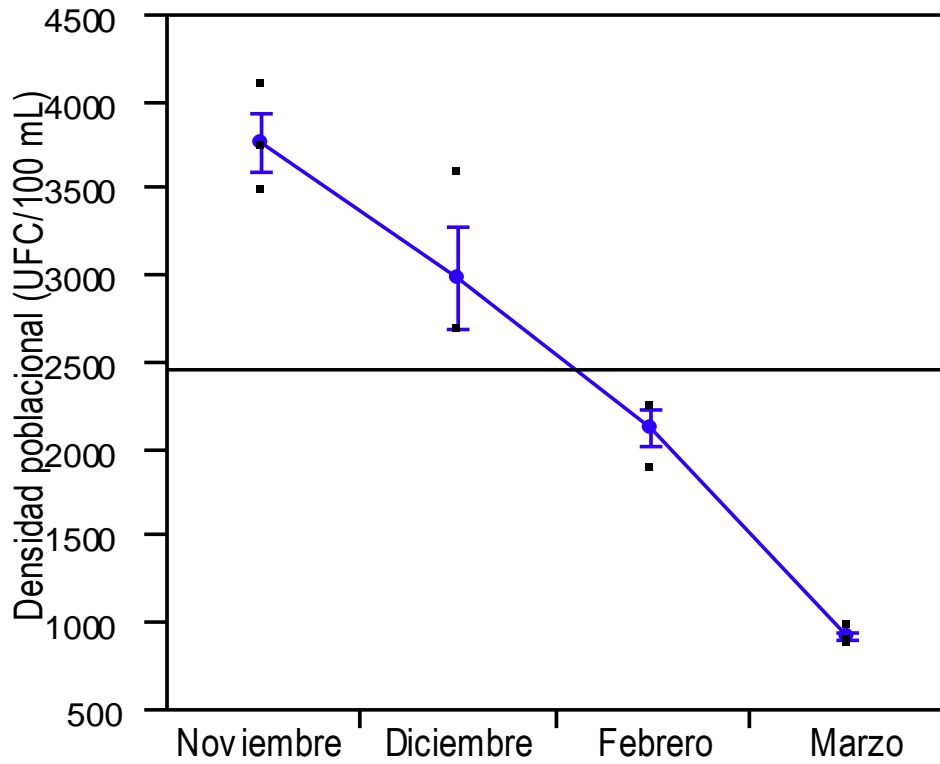
Gráfica 20. Densidad poblacional del género *Salmonella* en el sitio Copándaro. La densidad se determinó por cuenta viable en placa. Cada punto representa el promedio de tres repeticiones \pm DE.

En el sitio 6 (Coro), se encontró que aunque la población total disminuye poco, esto no representa una diferencia significativa, por lo que se considera que la densidad poblacional se mantuvo sin cambio notable (Gráfica 21). En noviembre se encontró una densidad poblacional de 3783.3 UFC/100 mL, y en diciembre 3000 UFC/100 mL. La población continuó disminuyendo, en febrero se cuantificaron 2133.3 UFC/100 mL y en marzo 931.7 UFC/100 mL, encontrando entre éstos sitios diferencia significativa.

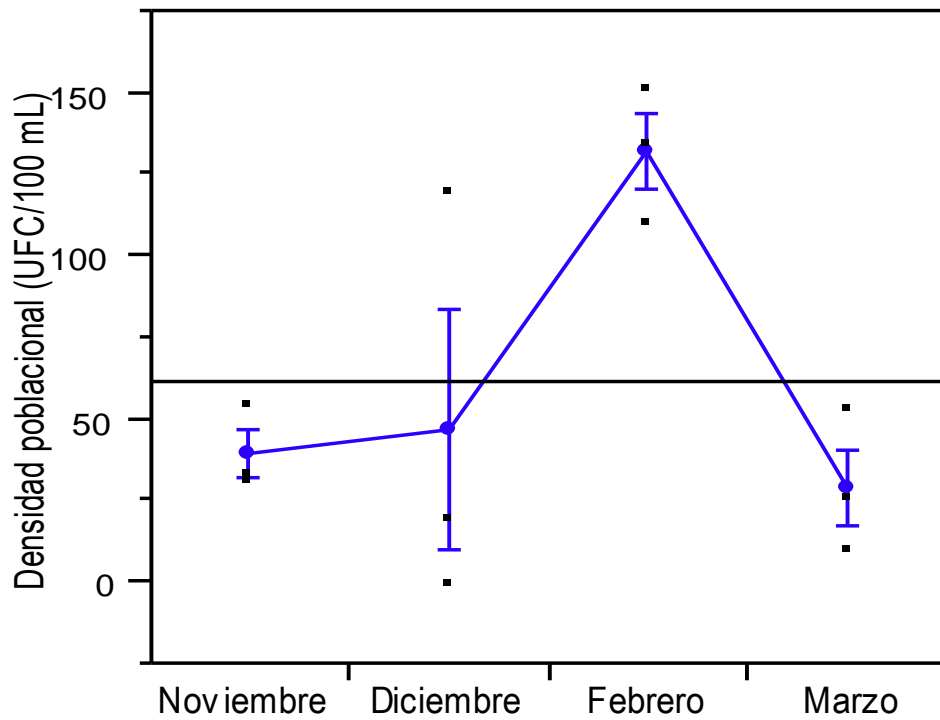
La densidad poblacional de *Pseudomonas* en los muestreos de noviembre, diciembre y marzo permaneció muy estable (39.7 UFC/100 mL, 46.6 UFC/100 mL y 29.7/100 mL respectivamente). Sin embargo en febrero la población aumentó 3 veces su densidad (132 UFC/100 mL) respecto a diciembre, representando este aumento una diferencia estadística. Por otra parte en el muestreo de marzo la población de nueva cuenta disminuye notablemente llegando a 29.6 UFC/100 mL (Gráfica 22).

La población del género *Vibrio* (Gráfica 23), en noviembre se obtuvo una población de 2.3 UFC/100 mL, y disminuyó para el muestreo de diciembre, siendo su población de 1.7 UFC/100 mL. En febrero la presencia de estos organismos aumentó a 21 UFC/100 mL, y para marzo nuevamente la población disminuye a la mitad (10.3 UFC/100 mL). Tanto el aumento de la población en febrero como la disminución de la densidad en marzo son estadísticamente diferentes (Gráfica 23).

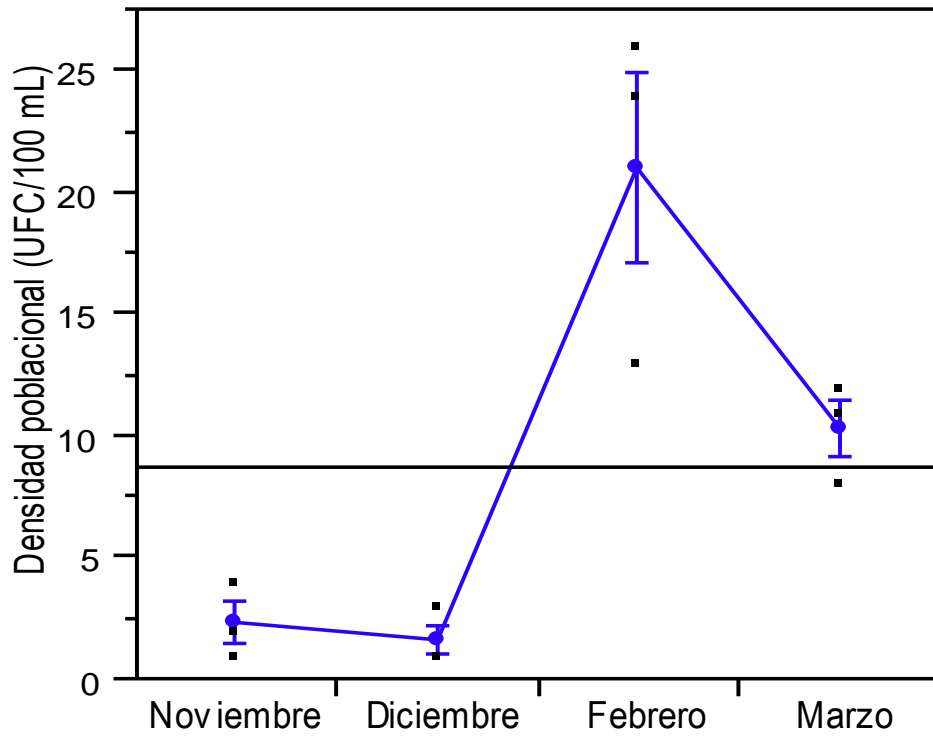
La presencia de organismos del Género *Salmonella* fue nula o baja en este sitio, en los muestreos de noviembre, diciembre y febrero no se detectó este género, mientras que en marzo solamente se cuantificaron 3.3 UFC/100 mL (Gráfica 24).



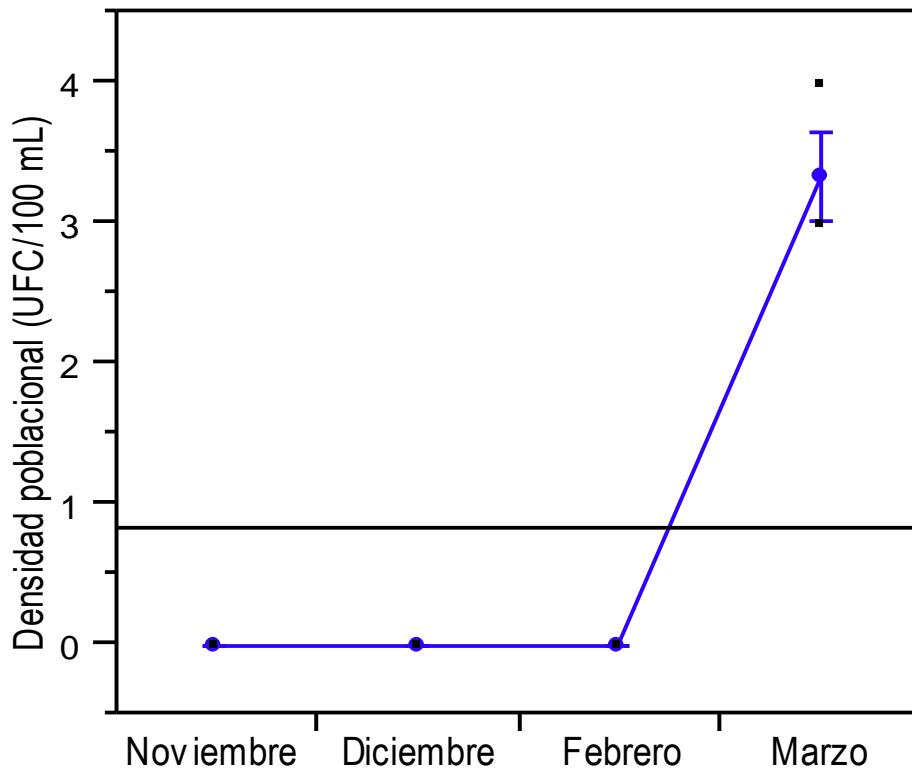
Gráfica 21. Densidad poblacional bacteriana total en el sitio Coro. La densidad se determinó por cuenta viable en placa. Cada punto representa el promedio de tres repeticiones \pm DE.



Gráfica 22. Densidad poblacional del género *Pseudomonas* en el sitio Coro. La densidad se determinó por cuenta viable en placa. Cada punto representa el promedio de tres repeticiones \pm DE.



Gráfica 23. Densidad poblacional del género *Vibrio* en el sitio Coro. La densidad se determinó por cuenta viable en placa. Cada punto representa el promedio de tres repeticiones \pm DE.



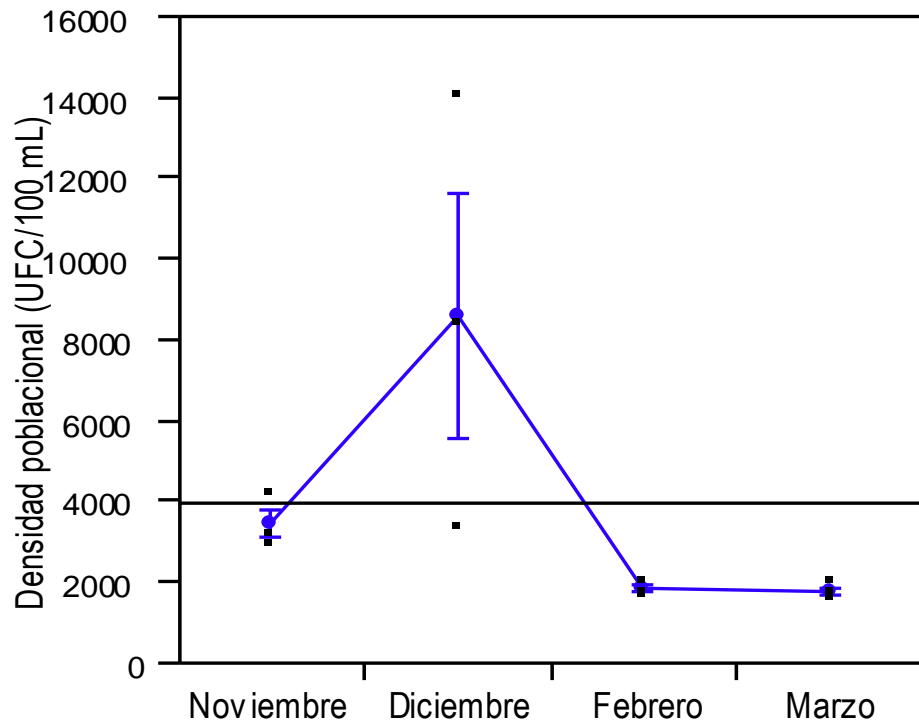
Gráfica 24. Densidad poblacional del género *Salmonella* en el sitio Coro. La densidad se determinó por cuenta viable en placa. Cada punto representa el promedio de tres repeticiones \pm DE.

La densidad poblacional total de los muestreos para el sitio Estación Queréndaro (Gráfica 25), se obtuvieron 3494 UFC/100 mL en noviembre y 8673.3 UFC/100 mL en diciembre, representando entre estos muestreos diferencia estadísticamente significativa. En febrero la población disminuyó de manera significativa (1866.7 UFC/100 mL) y se mantuvo casi igual en marzo (1847.1 UFC/100 mL).

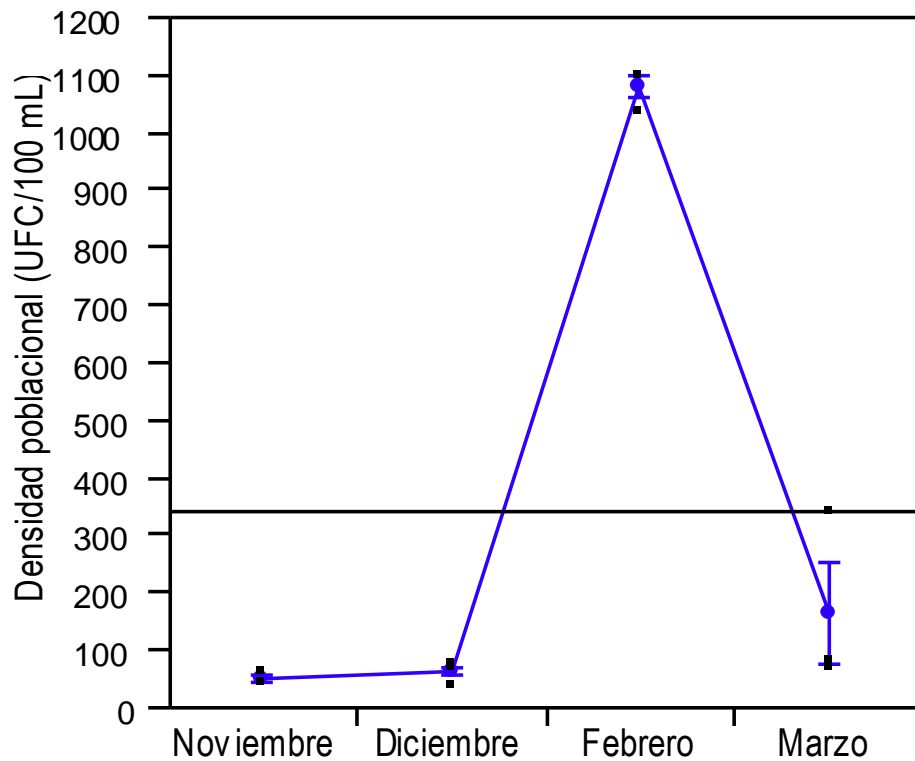
La población de *Pseudomonas* se mantuvo estable en los muestreos de noviembre y diciembre (53 UFC/100 mL y 63.3 UFC/100 mL respectivamente), elevándose de manera significativa en febrero (1088.33 UFC/100 mL). En el muestreo de marzo la densidad poblacional disminuyó de 1083.3 UFC/100 mL a 167.3 UFC/100 mL, con una diferencia significativa de 0.0463 (Gráfica 26).

La densidad poblacional del género *Vibrio* (Gráfica 27) fue la más fluctuante en los diferentes sitios y muestreos en el sitio Estación Queréndaro. En los tres primeros muestres la población fue disminuyendo, obteniendo así en noviembre una población de 8.67 UFC/100 mL, 4.67 UFC/100 mL en diciembre y en febrero una población de 1.33 UFC/100 mL. En marzo la población aumento poco pero de manera significativa a 4.67 UFC/100 mL.

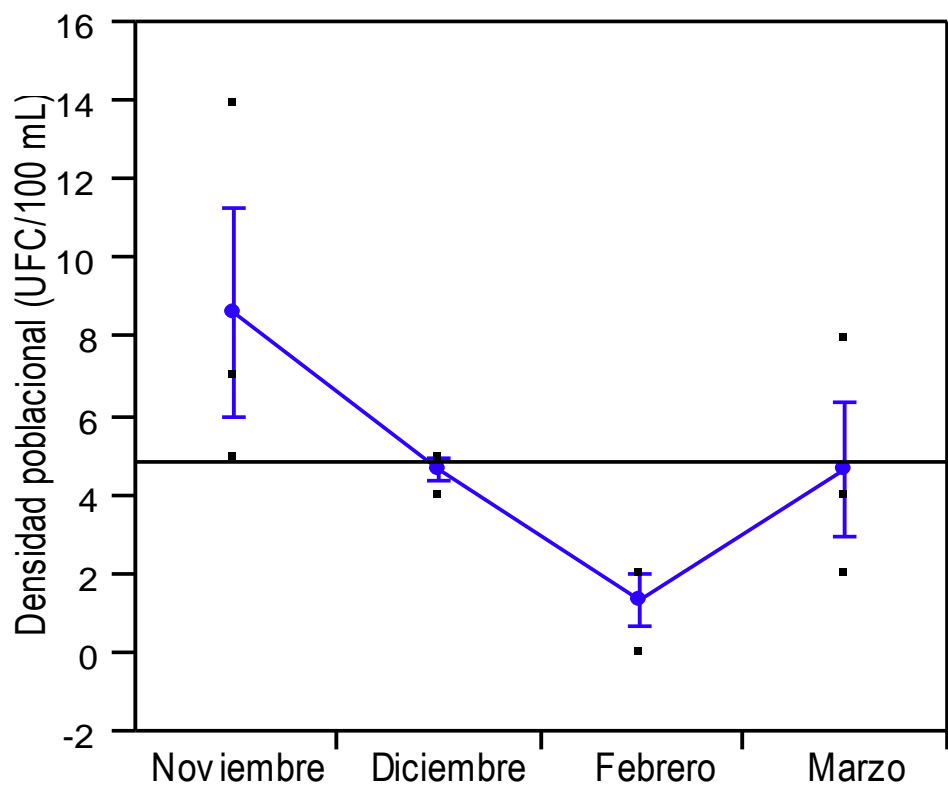
Respecto a la población del género *Salmonella* (Gráfica 28), en el primer muestreo (noviembre) fué en donde se obtuvo la mayor densidad poblacional en este sitio, cuantificando 268.3 UFC/100 mL, en diciembre y febrero la población presentó una disminución (23 UFC/100 mL y 0.3 UFC/100 mL). En el último muestreo nuevamente la población aumento de manera significativa a 34.7 UFC/100 mL.



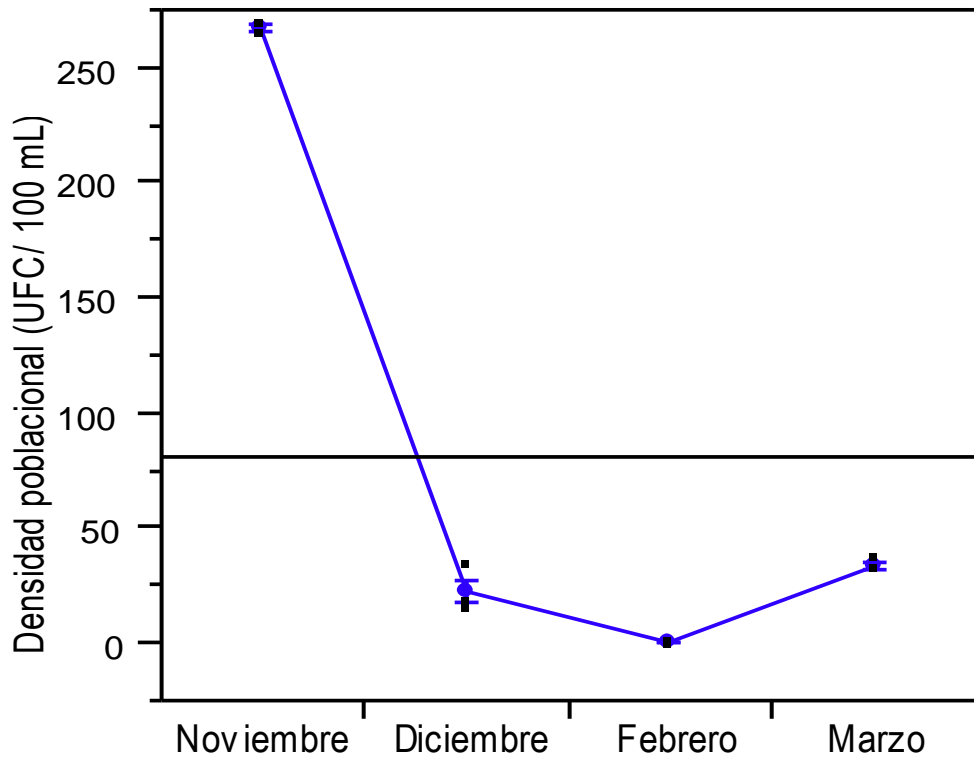
Gráfica 25. Densidad poblacional bacteriana total en el sitio Estación Queréndaro. La densidad se determinó por cuenta viable en placa. Cada punto representa el promedio de tres repeticiones \pm DE.



Gráfica 26. Densidad poblacional del género *Pseudomonas* en el sitio Estación Queréndaro. La densidad se determinó por cuenta viable en placa. Cada punto representa el promedio de tres repeticiones \pm DE.



Gráfica 27. Densidad poblacional del género *Vibrio* en el sitio Estación Queréndaro. La densidad se determinó por cuenta viable en placa. Cada punto representa el promedio de tres repeticiones \pm DE.



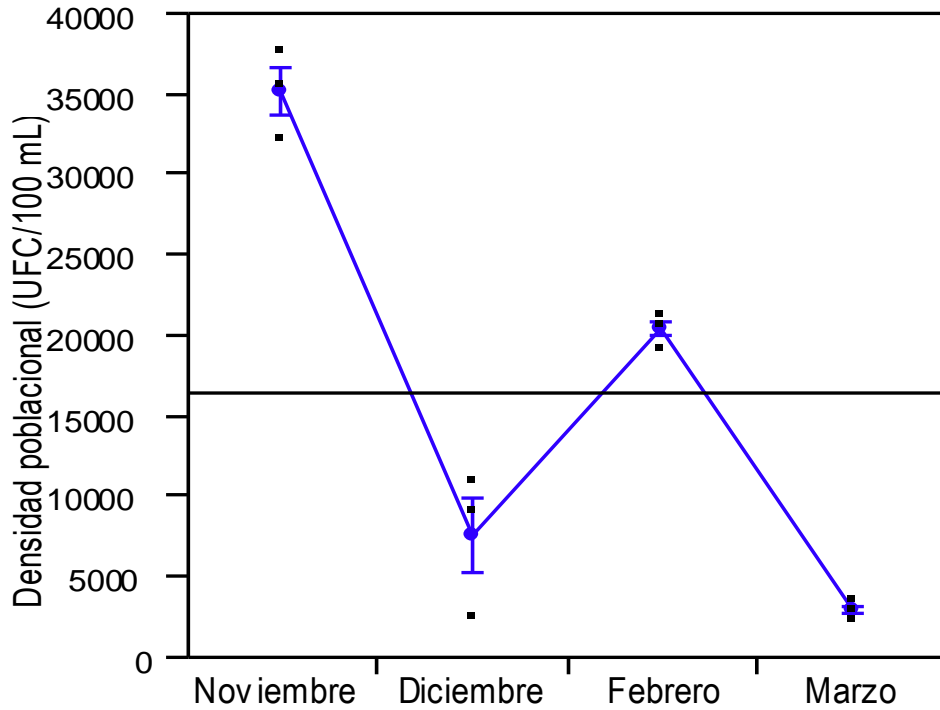
Gráfica 28. Densidad poblacional del género *Salmonella* en el sitio Estación Queréndaro. La densidad se determinó por cuenta viable en placa. Cada punto representa el promedio de tres repeticiones \pm DE.

Finalmente la densidad poblacional total en el sitio 8 (Río Grande), en el mes de noviembre se obtuvo una población de 35316.7 UFC/100 mL, mientras que el muestreo posterior disminuye notablemente a 7610.5 UFC/100 mL. En febrero la población incrementó (20475 UFC/100 mL) más del doble de lo que estaba en diciembre. Sin embargo, para marzo la población redujo su número a 3103.7 UFC/100 mL. Encontrando diferencia estadística entre todos los muestreos (Gráfica 29).

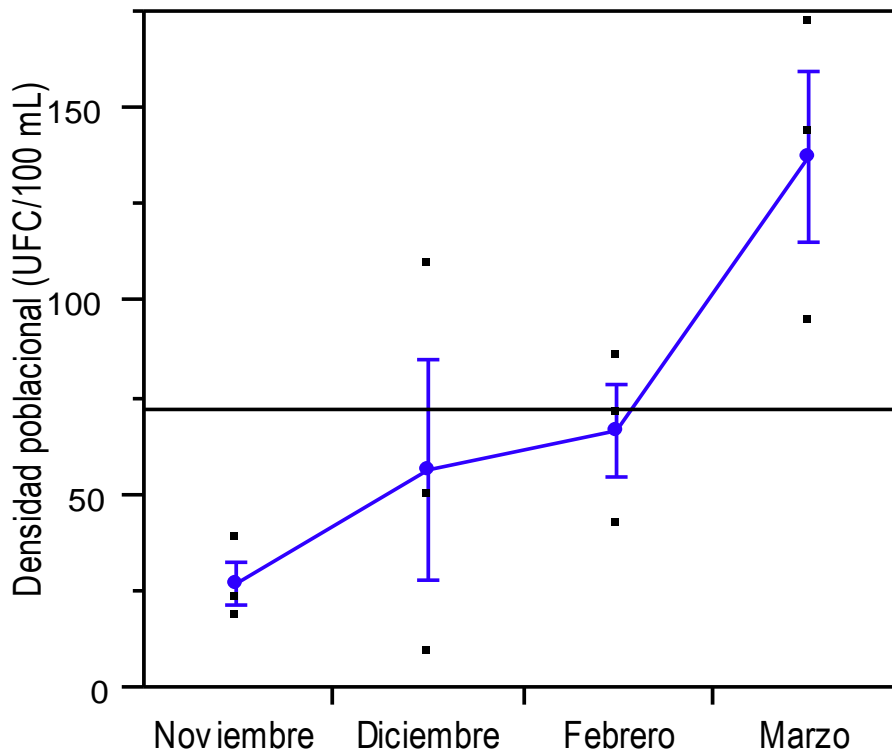
El género *Pseudomonas* en general presentó un incremento constante aunque no fue significativo en los meses de noviembre, diciembre y febrero obteniendo densidades de 27.1 UFC/100 mL, 56.7 UFC/100 mL y 66.6 UFC mL respectivamente. En el muestreo de marzo el aumento de la población (137.3 UFC/100 mL) fue estadísticamente significativo elevándose mas del doble respecto al muestreo de febrero (Gráfica 30).

Para el sitio 8 (Río Grande) la población de *Vibrio* (Gráfica 31) estuvo presente en todos los muestreos. En noviembre la población fue de 1.3 UFC/100 mL, mientras que en diciembre se obtuvieron 3 UFC/100. En donde sí hubo crecimiento significativo fue de diciembre a febrero, pues en este último mes se cuantificaron 23 UFC/100 mL aumentado casi 8 veces la población. Finalmente, marzo otra vez la población disminuyó, determinando para este muestreo 6 UFC/100 mL, existiendo diferencia estadística.

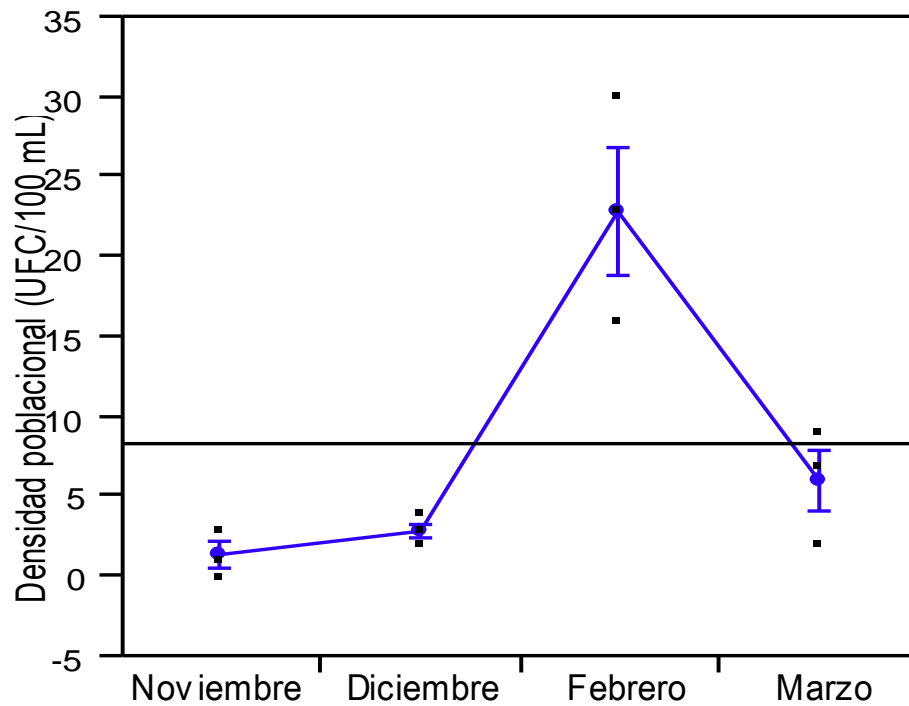
La densidad poblacional de *Salmonella* (Gráfica 32) en el sitio Río Grande, en noviembre presentó una densidad poblacional alta a diferencia de los muestreos posteriores. En la primera colecta se cuantificaron 238.3 UFC/100 mL, mientras que en diciembre la población se redujo a 26.3 UFC/100 mL, lo cual es estadísticamente significativo. En febrero disminuyó por mitad la población a 13.3 UFC/100 mL, y en marzo presentó un incremento en la densidad población (28 UFC/100 mL).



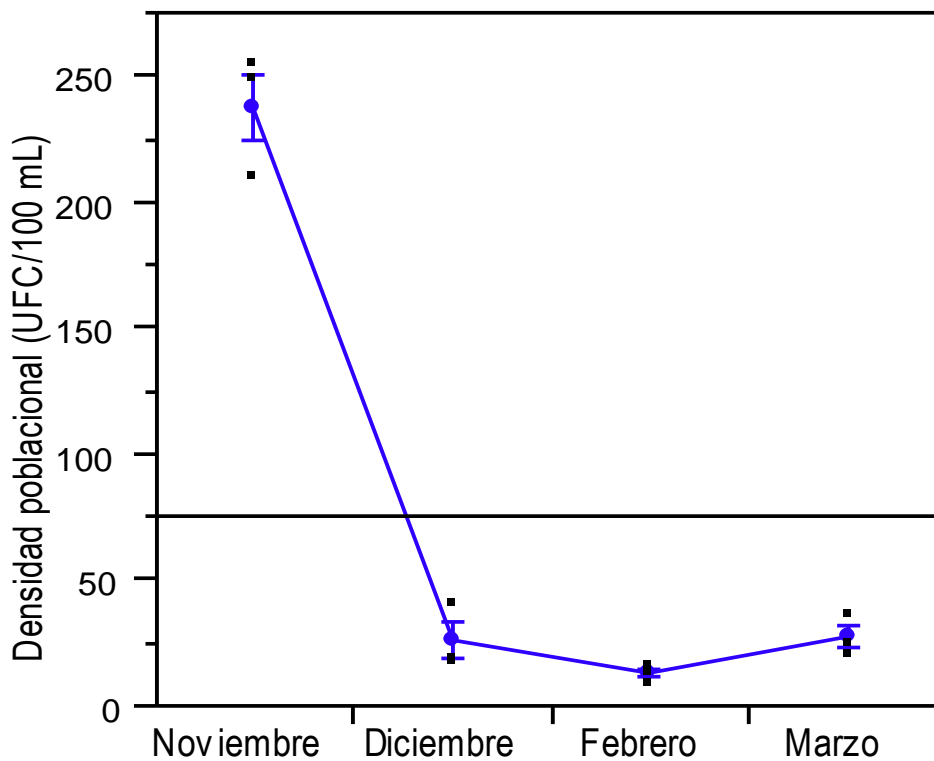
Gráfica 29. Densidad poblacional bacteriana total en el sitio Río Grande. La densidad se determinó por cuenta viable en placa. Cada punto representa el promedio de tres repeticiones \pm DE.



Gráfica 30. Densidad poblacional del género *Pseudomonas* en el sitio Río Grande. La densidad se determinó por cuenta viable en placa. Cada punto representa el promedio de tres repeticiones \pm DE.



Gráfica 31. Densidad poblacional del género *Vibrio* en el sitio Río Grande. La densidad se determinó por cuenta viable en placa. Cada punto representa el promedio de tres repeticiones \pm DE.



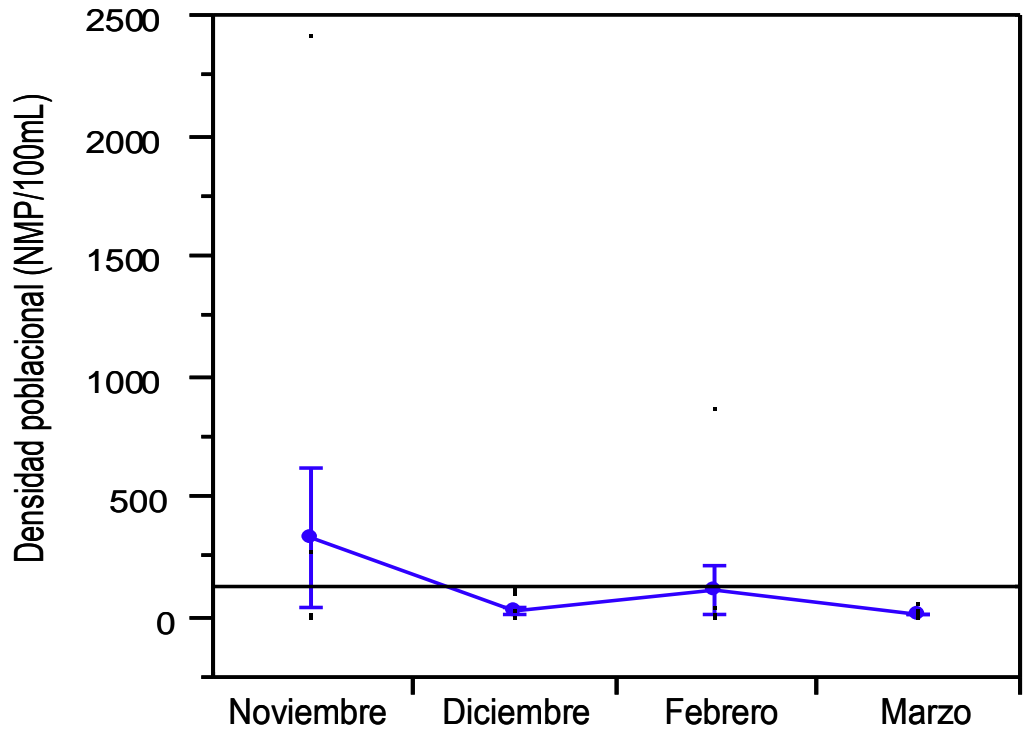
Gráfica 32. Densidad poblacional del género *Salmonella* en el sitio Río Grande. La densidad se determinó por cuenta viable en placa. Cada punto representa el promedio de tres repeticiones \pm DE.

Densidad poblacional de coliformes totales y Escherichia coli.

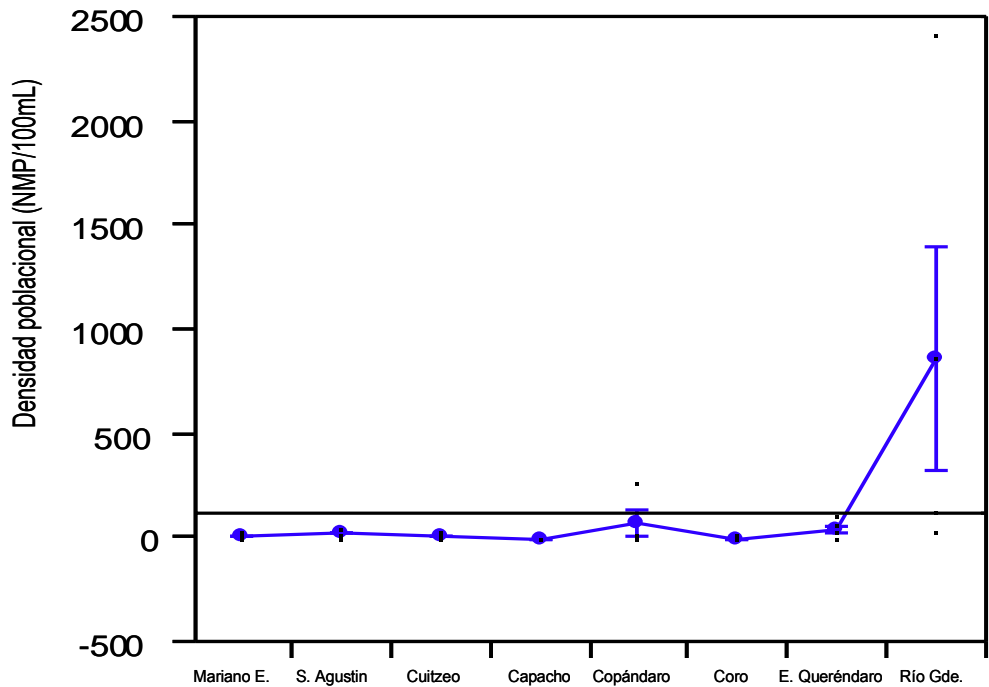
En lo que se refiere a la densidad poblacional de coliformes totales, las pruebas de laboratorio indicaron concentraciones superiores a 2419.16 NMP/100 mL, en todos los sitios a lo largo del período de estudio.

En cuanto a la población de *Escherichia coli*, se aplicó la prueba de Ji cuadrada para observar la diferencia entre los muestreos así como entre los sitios, en la gráfica 33 se observa la densidad poblacional de *E. coli* en los diferentes muestreos realizados, en el mes de noviembre la población de esta especie fue más alta que en diciembre y enero, destacando el sitio de Río Grande, que fue en donde se encontró mayor concentración de estos organismos, en diciembre y febrero la población se mantuvo sin presentar cambios notables en cada uno de los sitios, sin embargo el sitio 8 (Río Grande) continúa presentando la mayor densidad poblacional de coliformes fecales, concluyendo que no hay diferencia significativa entre los muestreos realizados.

Al aplicar la prueba de Ji cuadrada entre los sitios (Gráfica 34), se observó que la población de *E. coli* en los sitios de Mariano Escobedo, San Agustín del Pulque, Cuitzeo, Coro Capacho y la población es muy similar, los sitios de Copándaro y Estación Queréndaro presentan un aumento en la población, comparada con los sitios ya mencionados, teniendo en el muestreo de noviembre la mayor concentración de coliformes fecales (272.30 NMP/100mL), en el sitio Copándaro y la menor en marzo (0.9 NMP/100mL). Por otra parte el sitio Estación Queréndaro en el muestreo de diciembre obtuvo la mayor densidad poblacional (101.7 NMP/100mL) y la menor población en noviembre (5.2 NMP/100mL). El sitio denominado Río Grande presentó fluctuaciones en cada uno de los muestreos, en noviembre fue en donde se encontró mayor concentración de *E. coli* (mas de 2419.16 NMP/100mL), y en diciembre disminuyó a 123.4 NMP/100mL, posteriormente en el muestreo de febrero aumenta (866.40 NMP/100mL), para finalmente en marzo reducir su población a 35 NMP/100mL.



Gráfica 33. Densidad poblacional de *Escherichia coli* durante los muestreos realizados. Cada punto representa cada uno de los ocho sitios de estudio, \pm DE.

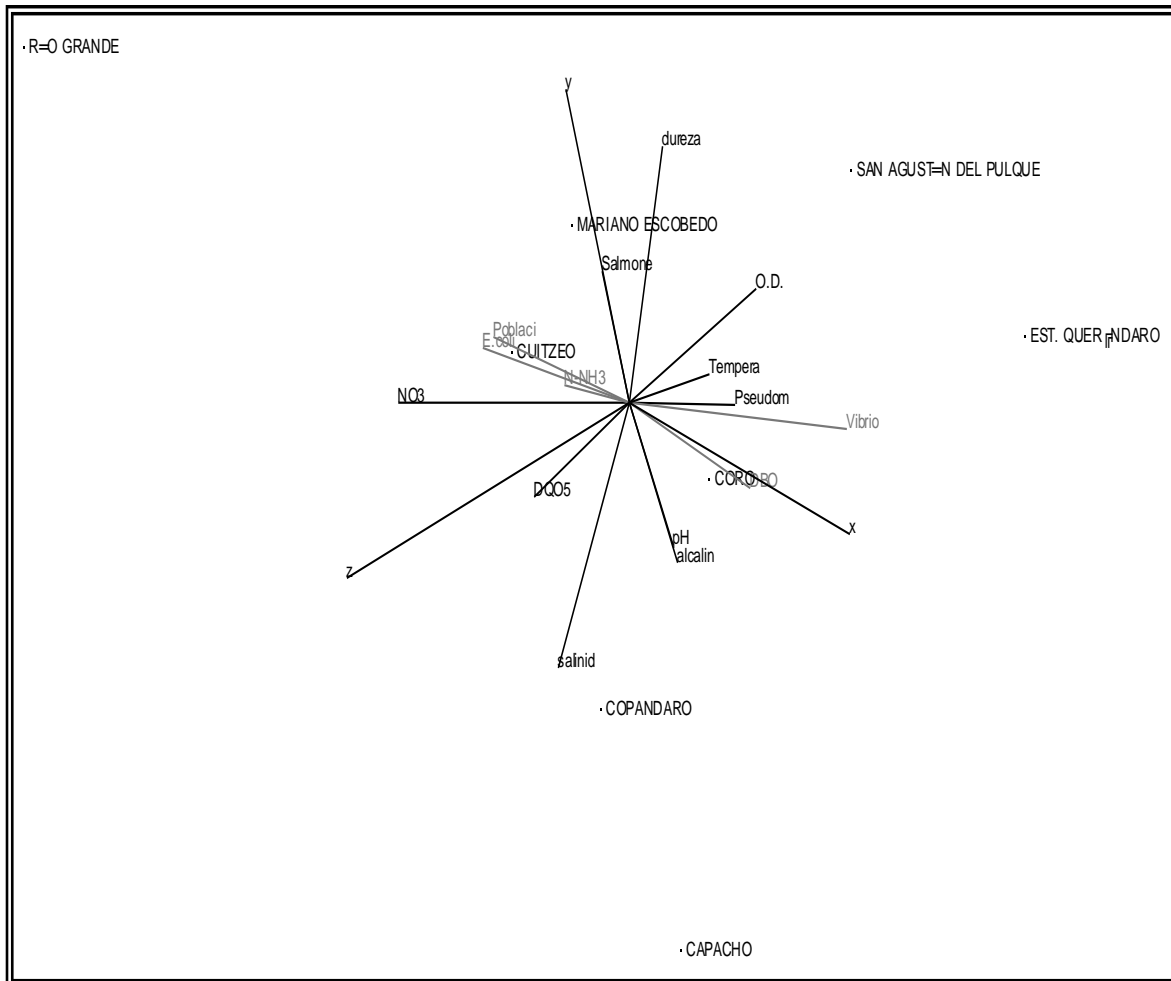


Gráfica 34. Densidad poblacional de *Escherichia coli*. Cada punto representa cada uno de los muestreos realizados, \pm DE.

Influencia de los parámetros fisicoquímicos sobre la densidad poblacional bacteriana del lago de Cuitzeo.

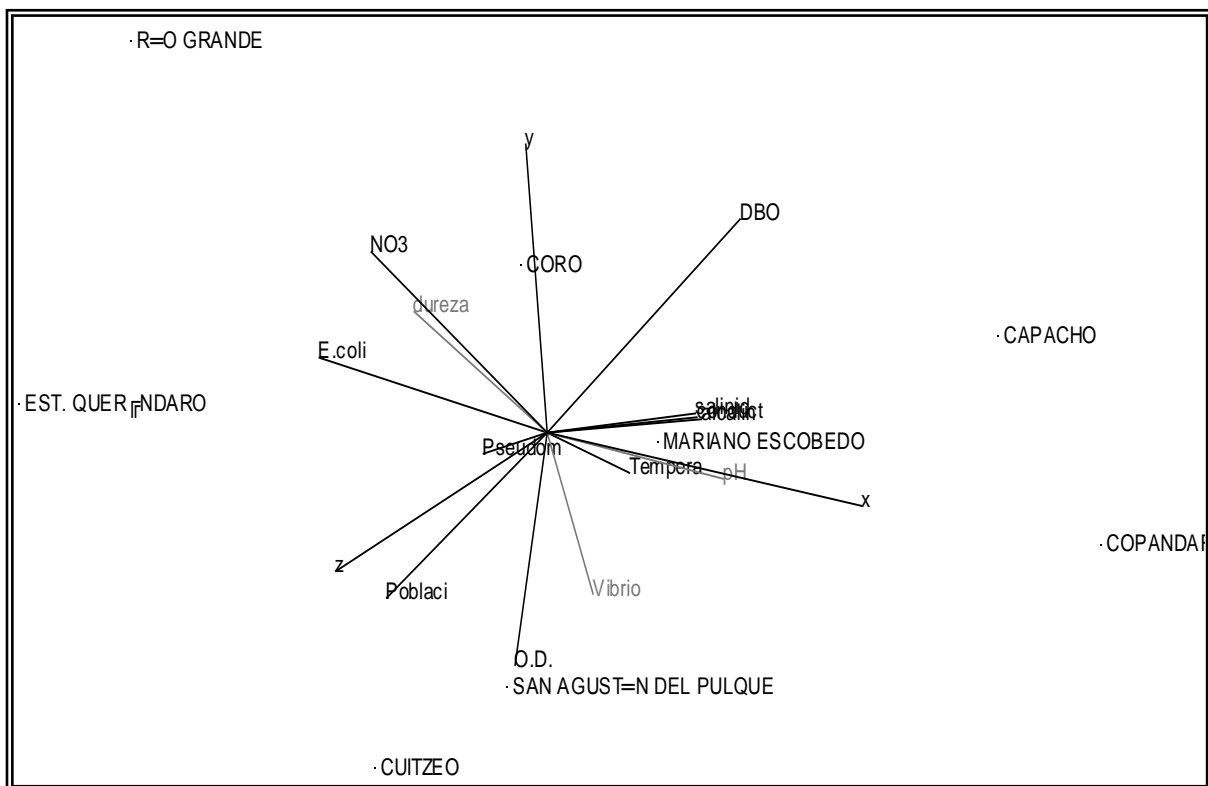
Los resultados de la medición de los parámetros fisicoquímicos se muestran en el Anexo 2.

En la gráfica 35 se observa la influencia de los parámetros fisicoquímicos sobre las diferentes poblaciones bacterianas analizadas. Así se ve que en el sitio 8 (Río Grande), se encontró la mayor densidad poblacional bacteriana total, así como *E. coli*, pero una menor cantidad de *Vibrio* y *Pseudomonas*. Relacionando esto con los parámetros fisicoquímicos, se observó que en el punto Río Grande es donde hay una menor salinidad y los valores más bajos de pH y temperatura. Por otra parte, en este punto se encontró mayor cantidad de *Salmonella*, aunque en las localidades como Capacho, Copándaro y Coro no se detectaron éstos organismos. En el sitio de Cuitzeo fue donde se obtuvo una mayor concentración de miembros del género *Salmonella*, pero hay poca relación directa respecto a los parámetros fisicoquímicos, encontrando solamente que la concentración de DBO_5 y NO_3 son las más bajas en este sector. Por otra parte, hay sitios que se agrupan de acuerdo sólo a sus propiedades fisicoquímicas únicamente sin tomar en cuenta la presencia y la cantidad de microorganismos, como es el caso de Capacho y Copándaro, en donde son muy semejantes en cuanto a *Salmonella*, pH, sólidos disueltos, conductividad, salinidad, DBO_5 , Cl^- , N-NH_3 . Así mismo ocurre con los lugares de muestreo de San Agustín del Pulque y Estación Queréndaro, ambos presentan los menores valores de *E. coli* y sólidos disueltos, y la mayor concentración de oxígeno disuelto.



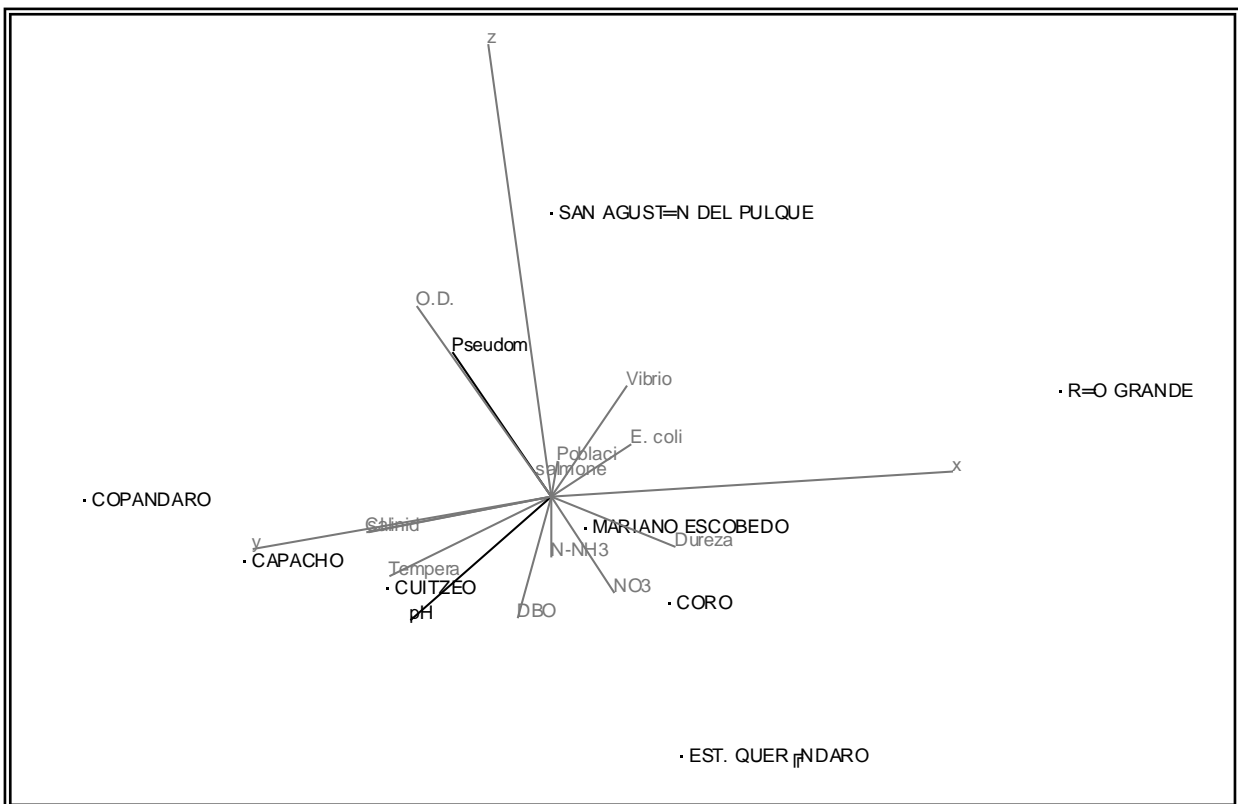
Gráfica 35. Análisis de componentes principales del muestreo de noviembre de 2006.

En el muestreo de diciembre, se formó un grupo de acuerdo a la temperatura entre los sitios de Capacho, Copándaro, Coro y Mariano Escobedo. Respecto a los organismos cuantificados, el sitio en donde se encontró mayor concentración de *E. coli* nuevamente fue Río Grande, y una mayor cantidad de *Pseudomonas*, el cual tiene el menor valor de oxígeno disuelto, DBO₅, salinidad y miembros del género *Vibrio*. Por otra parte, presentaron un comportamiento semejante los parámetros de conductividad eléctrica, alcalinidad total y salinidad. Capacho y Copándaro se encuentran muy cercanos en la gráfica ya que presentaron valores semejantes en los parámetros de pH, sólidos disueltos, conductividad eléctrica, salinidad, alcalinidad total y concentración de Cl⁻ (Gráfica 36). En Estación Queréndaro fue en donde la población bacteriana total fué mayor en este muestreo (8840 UFC/100 mL) y se encontraron valores menores de temperatura, salinidad y alcalinidad total.



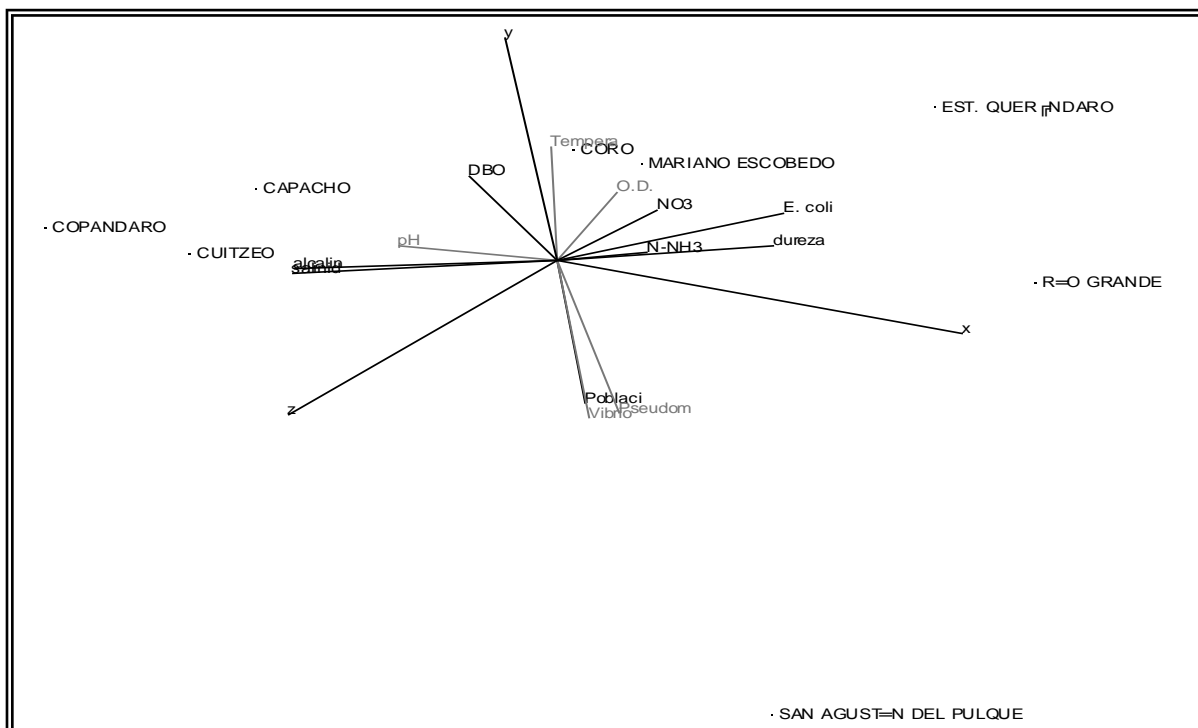
Gráfica 36. Análisis de componentes principales del muestreo de diciembre de 2006.

En febrero, se observó que el sitio denominado Río Grande mostró la mayor población total (20475 UFC/100 mL) así como de *E. coli* (866 NMP/100 mL), presentando además la menor cantidad de sales presentes y un valor de oxígeno disuelto bajo. Otro sitio que también tuvo uno de los valores mas altos de densidad poblacional total fue Capacho (13930.6 UFC/100 mL). Por el contrario los sitios que tuvieron la menor densidad poblacional total fueron Mariano Escobedo (2329.1 UFC/100 mL) y San Agustín del Pulque (2266.6 UFC/100 mL). En el sitio Copándaro fue en donde se obtuvo la mayor cantidad de *Pseudomonas* (1917.5 UFC/100 mL), así mismo fue el sitio que en éste muestreo obtuvo los valores mas altos de temperatura, pH y alcalinidad total, y el agua es menos dura, además de ser uno de los sitios que menor concentración de *Salmonella* presentó (1 UFC/100 mL). Respecto al género *Vibrio* no se encontró relación directa de su densidad poblacional con los parámetros fisicoquímicos analizados, al igual que el resto de los sitios, tienen valores intermedios tanto de los géneros como de los factores ambientales analizados, sin existir una relación directa.



Gráfica 37. Análisis de componentes principales del muestreo de febrero de 2007.

En el muestreo de marzo, se encontró que en donde hay menor cantidad de *Pseudomonas* también lo hay de *Vibrio* pero una mayor cantidad de *E. coli*, siendo el sitio de Río Grande en donde se aislan más organismos coliformes y con mayor dureza del agua, así como donde hay una menor concentración de salinidad, conductividad eléctrica y sólidos disueltos. El sitio en donde se encontró una mayor cantidad de *Pseudomonas* y *Vibrio* fue San Agustín del Pulque (1153.7 UFC/100 mL y 931.7 UFC/100 mL), fué además en donde se encontró la mayor población se presentó ninguna relación. Por otra parte el sitio llamado Mariano Escobedo fue en donde en esta ocasión se determinó el valores mínimo de *Pseudomonas* y *Vibrio* (12.5 UFC/100 mL y 5 UFC/100 mL), presentando este sitio el pH es más alto. Hubo sitios que se agruparon por sus semejanzas en cuanto a los parámetros fisicoquímicos como fué Capacho y Copándaro, que presentaron valores semejantes de sólidos disueltos, conductividad eléctrica, salinidad, DQO, alcalinidad y CF. San Agustín del Pulque y Coro tuvieron concentraciones semejantes en conductividad y Estación Queréndaro y San Agustín del Pulque en salinidad.



Gráfica 38. Análisis de componentes principales del muestreo de marzo 2007.

VII. DISCUSIÓN

En el presente estudio la densidad poblacional total presentó variaciones en cada uno de los muestreos, mientras en un sitio aumentaba la población total en otro se observaba una disminución. Las localidades de Cuitzeo y Copándaro fueron las que tuvieron un comportamiento similar, pues la población de noviembre a diciembre aumentó, aunque para los meses de febrero y marzo disminuyó. Además cabe mencionar que no se encontró relación con las poblaciones del resto de los géneros analizados.

Se observó que las poblaciones de coliformes totales se mantuvieron constante durante todo el período de estudio, obteniendo un promedio de 2419.6 NMP/100 mL durante el estudio. Respecto a coliformes fecales, se notó una variación en la densidad poblacional, pero el sitio que siempre presentó los valores más altos fue Río Grande, lo cual indica la probable relación con la constante descarga de aguas residuales conteniendo materia fecal. Se sabe que este río transporta las aguas residuales de la ciudad de Morelia y la zona industrial, además de que durante su trayecto recibe a su paso las descargas de pequeños arroyos y canales provenientes de terrenos agrícolas. La mayoría de los estudios que se han realizado para cuantificar coliformes totales y fecales son principalmente para determinar la calidad del agua, ya que estos organismos se usan como indicadores de contaminación fecal reciente (Byamukama *et al.*, 2005; McLellan 2004; Winfield y Groisman, 2003; Gordon 2001; Santos 1995; Beltrán 1993; Hood y Ness 1982; Sayler *et al.*, 1975),

Se encontró además, una relación inversa entre las poblaciones de *Pseudomonas* y *E. coli*; pues en donde había más organismos del género *Pseudomonas* se presentaba una concentración menor de *E. coli*. En otros estudios se ha encontrado esta misma relación, específicamente con *Pseudomonas aeruginosa* (Marchand, 2002). Lo anterior aparentemente se debe a un efecto

bactericida de *Pseudomonas* sobre *E. coli*. El dominio del género *Pseudomonas* sobre *E. coli* además de su efecto bactericida, en este cuerpo de agua probablemente se debe a las características tan particulares de *Pseudomonas*, como son el resistir ambientes extremos, por ejemplo temperaturas extremas y altas concentraciones de salinidad, así lo demostraron estudios realizados en laboratorio, en donde se sometieron diferentes especies de *Pseudomonas* a diferentes condiciones de temperatura y

a diferentes concentraciones de salinidad y se observó que la mayoría de las cepas sobreviven y continúan su crecimiento mucho mejor a temperaturas de 35 y 40°C que a 30°C que es la temperatura óptima para la mayoría de las bacterias, en cuanto a las concentraciones de salinidad también se desarrollan mejor en medio de cultivo con sal que en uno que no contiene NaCl (Pedraza, 2003); además su gran capacidad de utilizar varios compuestos como fuente de carbono, entre otras, que a diferencia de *E. coli* que sobrevive poco tiempo fuera de su ambiente y es sensible a concentraciones elevadas de sal, como se observó en el sitio Río Grande en donde el promedio de la concentración de salinidad fue de 0.5, siendo el menor valor de todos los sitios al igual que Mariano Escobedo.

También se observó que generalmente en donde había mayor presencia de *Pseudomonas* lo había del género *Vibrio* como fue en la mayoría de los sitios durante los muestreos de febrero y marzo; sin embargo es necesario continuar este tipo de estudios para definir la relación entre estos dos géneros. En un estudio previo realizado por Hood y Ness (1892) se analizó la relación entre los niveles de *Vibrio cholerae* y coliformes fecales encontrando una respuesta negativa pues *Vibrio* sobrevive en ambientes marinos. La sobrevivencia de *Vibrio* indicó estar relacionada con la temperatura, el pH, la concentración de sal, la cantidad de materia orgánica y el grado de contaminación bacteriana. En este estudio se sugirió que medir los niveles de coliformes fecales en la columna de agua no es adecuado para monitorear la presencia de *Vibrio cholerae*. En la presente investigación se encontró esta variación que se refiere a las densidades poblacionales de *Vibrio* y *E. coli* en la

mayoría de los casos, más notablemente en el sitio Río Grande en donde hubo mayor cantidad de *E. coli*, la densidad de *Vibrio* fue menor, por el contrario el San Agustín del Pulque en diciembre y marzo se presentaron los valores más altos de *Vibrio* y, aunque no fueron los más bajos de *E. coli*, si fueron de los menores.

Salmonella es un género que junto con otras bacterias entéricas puede multiplicarse en riveras de aguas contaminadas a temperaturas tan bajas como 10 °C, y la variación de lluvia, temperatura y pH influyen en su densidad poblacional (Henry y Morrison en Cherry *et al.*, 1972). El género *Salmonella* fue el que menor concentración de organismos presentó, existiendo sitios como Mariano Escobedo, San Agustín del Pulque y Cuitzeo en donde no se detectaron organismos durante diciembre, febrero y marzo, solamente en noviembre se presentaron, Mientras que en Coro solamente se detectaron en marzo. En Capacho y Copándaro la densidad poblacional de *Salmonella* fue muy parecida, en noviembre se reportaron 0 UFC/100 mL, y en diciembre la población aumentó a 220 UFC/100 mL y 27 UFC/100 mL respectivamente, para febrero (13 UFC/100 mL y 1 UFC/100 mL) y marzo (1.7 UFC/100 mL y 0.3 UFC/100 mL) nuevamente disminuyeron. Los sitios Estación Queréndaro y Río Grande también tuvieron un comportamiento similar. Quizá estos patrones encontrados se deban a la cercanía de los sitios muestreados que en algunos casos poseen características ambientales similares, como son la conductividad eléctrica, los sólidos disueltos y la salinidad, principalmente.

De las pocas investigaciones que se han realizado para observar la relación de algunas especies bacterianas con parámetros fisicoquímicos se encuentra la de Goyal y colaboradores (1977). En estos estudios se concluyó, que no existió significancia estadística entre la concentración de coliformes totales, coliformes fecales y *Salmonella*, al igual con la temperatura, el pH, la turbidez y los sólidos disueltos, pero sí una relación inversa entre organismos indicadores y salinidad. Otros investigadores como Sayler y colaboradores, (1975) menciona que los organismos indicadores se distribuyen independientemente de la temperatura y salinidad. En este estudio se encontró esta relación en cuanto a la concentración de

coliformes y la salinidad. En los sitios en donde se observó mayor densidad de *E. coli* se detectó menor concentración de sal, principalmente en Río Grande.

Las variables ambientales que se observaron que influían directamente sobre algunas poblaciones, fueron temperatura, salinidad y pH. Las poblaciones que en este caso se rigieron por estas variables fueron la población bacteriana total, *Escherichia coli* y *Pseudomonas*. La mayor concentración de *E. coli* que fue en Noviembre en el sitio Río Grande, corresponde al punto en donde la salinidad (0.4), el pH (7.3), la temperatura (19.6 °C) y el oxígeno disuelto (1.18 mg/L) son más bajos, mientras que en el caso de los géneros *Salmonella* y *Vibrio* los valores de estos factores y otros que se midieron se encontraban entre los valores intermedios de todos los obtenidos, sin notar ninguna relación directa sobre las poblaciones mencionadas.

Yannarell y Triplett (2005) encontraron que en los lagos de Wisconsin hay una influencia de la temperatura y el clima sobre la composición de la comunidad bacteriana de agua dulce. En este trabajo se observaron ciertas relaciones de los géneros analizados con los parámetros fisicoquímicos. Por ejemplo, la concentración de coliformes fecales más alta se encontró en el mes de noviembre en Río Grande, cuando iniciaba la temporada de estiaje. Sin embargo, en estas fechas todavía se alcanza a ver el efecto de las lluvias.

Los parámetros fisicoquímicos de conductividad eléctrica, salinidad y sólidos disueltos presentaron el mismo comportamiento, ya que éstos tres indican la presencia de iones en solución capaces de formar sales.

Respecto a la diversidad de bacterias, como era de esperarse hay una gran variedad en la que también influyen las diferentes descargas de los pueblos circundantes que recibe el lago y las actividades agrícolas existentes. Aunque suponemos que hay una gran diversidad es necesario conocer además en que cantidad se encuentran, cómo están distribuidos y que es lo que les favorece o

inhibe su crecimiento, por lo que es necesario realizar más estudios sobre ecología microbiana en medios acuáticos dada la escasez de éste tipo de investigaciones en nuestro País y en general en todo el mundo. Es difícil en un solo estudio saber la infinidad de especies que en el lago de Cuitzeo se encuentran por diferentes situaciones, llámese recursos económicos, metodológicos, instrumentales, etc. y sobre todo recordando la importancia que tiene este cuerpo de agua y de las actividades que en él se realizan, consideremos además la oportunidad de trabajar en él la mayor cantidad de aspectos posibles para un mejor manejo y aprovechamiento.

VIII. CONCLUSIONES.

- Este estudio reveló que sobre la densidad bacteriana total, no hubo influencia de parámetros ambientales, pues fue muy variante en todos los sitios durante el periodo de estudio, sin verse afectada o favorecida por estos factores.
- Las poblaciones de *Vibrio* y *Salmonella* no se vieron influenciadas por los parámetros fisicoquímicos analizados, pues el desarrollo de estas poblaciones fue independiente.
- La concentración de coliformes totales siempre fue alta y frecuente, lo cual indicó una contaminación de residuos fecales reciente y constante.
- *Escherichia coli* fue más abundante en Río Grande en el período de estudio que en el resto de los sitios, debido a que desemboca este río en el lago, el cual arrastra las aguas negras de Morelia y otros arroyos que desembocan en él durante su trayecto.
- Se ha reportado anteriormente que el género *Pseudomonas* actúa como bactericida sobre *E. coli*. En este trabajo se comprobó este efecto inhibitorio.
- Dado que el agua es el medio más favorable para el desarrollo de los microorganismos, es necesario conocer además en qué cantidad se encuentran, cómo están distribuidos y qué factores les favorecen o inhiben su crecimiento, por lo que es necesario realizar más investigaciones sobre ecología microbiana en medios acuáticos.

IX. BIBLIOGRAFIA.

Atlas, R. M. y R. Bartha, 2002. Ecología microbiana y Microbiología ambiental. PEARSON EDUCACION, S. A. Madrid. 696 pp.

APHA-AWWA-WPCF. (1995). *Methods for the examination of water*, 19ª edición, American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA), Water Pollution Control Federation (WPCF), Washington.

Baudart J., K. Lemarchand, A. Brisabois and P. Lebaron. 2000. Diversity of *Salmonella* strains from the aquatic environment as determined by serotyping and amplification of the ribosomal DNA spacer regions. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 1544-1552.

Beltrán, N. Ma. de los A. 1993. Estudio de contaminación fecal de la subcuenca del lago de Cuitzeo, utilizando como indicadoras a las bacterias coliformes. Tesis de Licenciatura. Facultad de Biología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia. 74 pp.

Brock. 1999. Biología de los microorganismos. Octava edición. PRENTICE HALL IBERIA. Madrid. 579 pp.

Byamukama, D. Mach, L. Robert, F. Kasiime, M. Manafi, and H.A. Farleintner. 2005. Discrimination efficacy of fecal pollution detection in different aquatic habitats of a high-altitude tropical country, using presumptive coliforms, *Escherichia coli*; and *Clostridium perfringens* spores. *Appl. Environ. Microbiol.* 71: 65-71.

Caslake, L.F., D. J. Connolly, V. Menon, C.M. Duncanson, R. Rojas and J. Tavakoli. 2004. Disinfection of contaminated water by using solar irradiation. *Appl. Environ. Microbiol.* 70: 1145-1150.

Cerrato, R. M. 2001. Dinámica poblacional bacteriana en suelo rizosférico de un ecosistema tropical estacional. Tesis de maestría. Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia. 78 pp.

Chacón, T.A., M.C. Rosas, y C.J. Alvarado, en De la Lanza-Espino, G. y J.L. García Calderón. 2002. Lagos y Presas de México. (Eds) Segunda Edición, AGT Editor, México 680 pp.

Cherry W.B., J.B. Hanks, B.M. Thomanson, A.M. Murlin, J.W. Biddle, y J.M. Croom. 1972. *Salmonellae* as an index of pollution in surface waters. *Appl. Microbiol.* 24: 334-340.

Del Giorgio P.A, y J.J. Cole 1998. Bacterial growth efficiency in natural aquatic systems. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 29 :503-541.

DOF. 2001a. Diario Oficial de la Federación. NMX-AA-072-2001. Determinación de la dureza total. México.

DOF. 2001b. Diario Oficial de la Federación NMX-AA-036-2001. Determinación de la acidez total y de la alcalinidad total. México.

DOF. 2001c. Diario Oficial de la Federación NMX-AA-074-2001. Determinación del ion sulfato. México.

DOF. 2001d. Diario Oficial de la Federación NMX-AA-073-2001. Determinación del ion cloruro. México.

DOF. 2001e. Diario Oficial de la Federación NMX-AA-028-SCFI-2001. Análisis de agua - Determinación de la demanda bioquímica de oxígeno en aguas naturales, residuales (DBO₅) y residuales tratadas - Método de prueba. México.

DOF. 2001f. NMX-AA-030-SCFI-2001. Análisis de agua - Determinación de la demanda química de oxígeno en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - Método de prueba. México.

Freeman K. 2001. The future of fresh water. Environ. Health Perspec. 109:158.

Gordon D.M. 2001. Geographical structure and host specificity in bacteria and the implications for tracing the source of coliform contamination. Microbiology. 147 : 1079-1085.

Goyal, S.M., Ch. P Gerba, and J.L. Melnick. 1977. Occurrence and distribution of bacterial indicators and pathogens in canal communities along the Texas Coast. Appl. Environ. Microbiol. 34: 139-149.

Henry, J. G. y G. W Heinke. 1999. Ingeniería ambiental. PRENTICE HALL. México. 800 pp.

Hood M.A. y G.E. Ness. 1982. Survival of *Vibrio cholerae* and *Escherichia coli* in estuarine waters and sediments. Appl. Environ. Microbiol. 43(3) : 578-584.

Humayoun S.B., N. Bano, y J.T. Hollibaugh. 2003. Depth distribution of microbial diversity in Mono lake a meromictic soda lake in California. *Appl. Environ. Microbiol.* 69: 1030-1042.

Israde Alcántara, I., V. H. Garduño-Monroy y R. Ortega Murillo. 2002. Paleoambiente lacustre del cuaternario tardío en el centro del lago de Cuitzeo. *Hidrobiológica* 12:61-78.

Konopka A., T. Bercot, y C. Nakatsu. 1999. Bacterioplankton community diversity in a series of thermally stratified lakes. *Microbial ecol.* 38 : 126-135.

Langenheder, S., E.S. Lindström, and L.J. Tranvik. 2005. Weak coupling between community composition and functioning of aquatic bacteria. *Limnol. Oceanogr.* 50: 957-967.

Lau Dou J. 1998. The clinical significance of water pollution [medical Staff Conference. *West J. Med.* 148: 192-196.

Lindström E. S. 2000. Bacterioplankton community composition in five lakes differing in trophic status and humic content. *Microbial Ecol.* 40 : 104-113.

Lindström, S. E., A. M. P. Kamst-Van, and G. Zwart. 2005. Distribution of typical freshwater bacterial groups is associated with pH, temperature, and lake water retention time. *Appl. Environ. Microbiol.* 71: 8201-8206.

Marchand P.E.O. 2002. Microorganismos indicadores de la calidad del agua de consumo humano en Lima Metropolitana. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 69 pp.

McLellan L. S., 2004. Genetic diversity of *Escherichia coli* isolated from urban rivers and beach water. *Appl. Environ. Microbiol.* 70: 4658-4665.

Methé B.A., W.D. Hiorns, and J.P. Zehr. 1998. Contrast between marine and freshwater bacterial community composition: analyses of communities in Lake George and six other Adirondack lakes. *Limnol. Oceanogr.* 43: 368-374.

Moreno, M.L., M.P. Navarrete, y S.L. Virgós. 1998. Conceptos básicos de microbiología de las aguas subterráneas. p.c. 1-60.

Muyllaert K., K. Van der Gucht, N. Vloemans, L. De Meester, M. Gillis and W. Vyerman. 2002. Relationships between bacterial community composition and bottom-up versus top-down variables in four eutrophic shallow lakes. *Appl. Environ. Microbiol.* 68:4740-4750.

Pelczar, J.M. 1997. Microbiología. 2da. Edición. Mc Graw-Hill. España. 826 pp.

Prescott, M. L., P.J. Harley, and A.D Klein. 2004. Microbiología. 5ta. Edición. España. 1240 pp.

Ortega M. M. del R. 2002. Evaluación del lago de Cuitzeo en los últimos Ca 18,000 años A.P. con base en el análisis de las diatomeas del presente y pasado. Tesis de Maestría. Facultad de Biología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia. 101 pp.

Rodier, J. (1998). *Análisis de las aguas. Aguas naturales, aguas residuales, agua de mar*. Editorial Omega, España.

Sandhu S.S., J. W. Warren y P. Nelson. 1979. Magnitude of pollution indicator organism in rural potable water. *Appl. Environ. Microbiol.* 37:744-749.

Santos, M. A. R. 1995. Estudio de contaminación por materia fecal, utilizando como indicadores a las bacterias coliformes en el lago de Zirahuén, Michoacán. Tesis de Licenciatura. Facultad de Biología. Universidad Michoacana de san Nicolás de Hidalgo. Morelia. 66 pp.

Sayler G.S., J. D. Nelson Jr., A. Justice, y R.R. Colwell. 1975. Distribution and significance of fecal indicator organisms in the upper chesapeake Bay. *Appl. Microbiol.* 30: 625-638.

Sigee, D. C. 2004. *Freshwater microbiology*. Wiley. Inglaterra. 524 pp.

Smoll, J. P. 2002. *Pollution of lakes and rivers*. Arnold publishers. New York. 280 pp.

Thompson L.F., T. Lida, y J. Swings. 2004. Biodiversity of Vibrios. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 68:403-431.

Tortora, J.G., F.R Berderell, y L.C. Case. 2001. *Microbiology an introduction*. 7a. Edición Editorial Addison Wesley Longman, Inc. 887 pp.

Weinbauer G. M. y G. M. Höfle. 1998. Distribution and life strategies of two bacterial populations in eutrophic lake. *Appl. Environ. Microbiol.* 64: 3776-3783.

Winfield M.D. y E.A Groisman. 2003. Role of nonhost environments in the lifestyles of *salmonella* and *Esherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.* 69: 3687-3694.

Yannarell, A.C., A.D. Kent, , T.K. Kratz, and E.W. Triplett. 2003. Temporal patterns in bacterial communities in three temperate lakes of different trophic status. *Microb. Ecol.* 46 :391-405.

Yannarell, A.C. y W. Triplett. 2005. Within-and between lake variability in the composition of bacterioplankton communities: Investigations using multiple spatial scales. *Appl. Environ. Microbiol.* 70 : 214-223.

¹ <http://www.britanialab.com.ar/esp/productos/b02/tcbsmedio.htm> fecha de acceso : 03/04/2007.

² <http://www.britanialab.com.ar/esp/productos/b02/hektoen.htm> fecha de acceso : 03/04/2007.

ANEXOS

Anexo 1. Medios de cultivo

Agar de soya tripticasa (Bioxon)

Se utilizaron 40 g/L de medio comercial agar de soya tripticasa (Bioxon), siendo posteriormente esterilizado. Este medio rico se utilizo para estimar la población bacteriana heterótrofa total de los distintos hábitats.

Medio S1

El medio S1 de Gould *et al.* (1985) para el aislamiento de bacterias del género *Pseudomonas*, tiene la siguiente composición química fue: sacarosa, 10.0 g/L (Bioxon); glicerol, 10.0 ml (Fermont); casaminoácidos, 5.0 g/L (Sigma); NaHCO₃, 1.0 g/L (Merck); MgSO₄·H₂O, 1.0 g/L (Baker); K₂HPO₄, 2.3 g/L (Productos químicos Monterrey) ; trimetoprim, 0.020 g/L; laurilsarcosinato de sodio, 1.2 g/L (Sigma); agar, 1.8 g/L (Bioxon). Es importante mencionar que para este medio, el antibiótico trimetoprim es adicionado antes de ser vaciado a las cajas petri una vez que el resto de los componentes son esterilizados en forma convencional.

Medio TCBS (tiosulfato, citrato, sales biliares, sacarosa) (Bioxon).

Medio selectivo para el aislamiento y cultivo de *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahemolyticus* y otras especies de *Vibrio* a partir de heces, agua y alimentos contaminados. También es conocido como Agar Tiosulfato Citrato Bilis Sacarosa, o como Agar Selectivo para Vibrios¹. La composición química del medio fue: extracto de levadura, 5.0 g/L; peptona de caseína, 5.0 g/L; peptona de carne, 5.0 g/L; citrato de sodio, 10.0 g/L; tiosulfato de sodio, 10.0 g/L; bilis de buey, 5.0 g/L; colato de sodio, 3.0 g/L; sacarosa, 20.0 g/L; cloruro de sodio, 10.0 g/L; citrato férrico, 1.0 g/L; azul de timol, 0.04 g/L; azul de bromotimol, 0.04 g/L; agar, 14.0 g/L. Ajustar el pH a 8.6.

BBL CHROMagar Salmonella (Becton Dickinson).

Es un medio de cultivo específico para aislar cepas del género Salmonella, la presentación viene en placas con el medio ya preparado. La composición química del medio fue: cromopeptona, 22.0 g/L; mezcla cromogénica, 0.34 g/L; agentes inhibidores, 0.02 g/L y agar, 15.0 g/L.

Anexo 2. Resultados de los parámetros fisicoquímicos medidos en los diferentes muestreos.

Noviembre de 2006.

Cuadro 5. Parámetros fisicoquímicos determinados en el mes de noviembre 2006.

sitios	TEMP (°C)	O.D.(mg/L)	pH	solí. Disueltos (mg/L)	Conductividad (µS/cm)	salinidad	DBO ₅ (mg/L)	DQO (mg/L)	Dureza (mg/L)	Alcalinidad (mg/L)	Cl (mg/L)	NO ₃ (mg/L)	N-NH ₃ (mg/L)
MARIANO ESCOBEDO	22.00	9.18	9.50	763.00	1437.00	0.70	1.00	208.00	138.46	88.73	114.34	1.560	0.009
SAN AGUSTÍN DEL PULQUE	22.20	6.41	9.04	686.00	1290.00	0.60	4.78	100.00	147.01	88.73	107.46	1.220	0.900
CUITZEO	20.00	3.82	9.17	927.00	1749.00	0.90	1.00	113.00	84.62	95.55	144.42	0.890	1.040
CAPACHO	21.20	2.75	9.52	2080.00	3920.00	2.00	5.07	145.00	29.06	186.55	338.71	0.900	0.900
COPANDARO	20.50	4.19	9.58	2000.00	3710.00	2.00	5.37	134.00	54.70	54.70	335.27	1.360	0.900
CORO	21.20	5.62	9.33	754.00	1417.00	0.70	7.02	137.00	96.58	96.58	128.95	0.720	0.160
ESTACIÓN QUERÉNDARO	20.70	7.38	8.83	494.00	928.00	0.50	5.22	86.00	102.56	102.56	72.21	0.080	0.900
RÍO GRANDE	19.60	1.18	7.30	398.00	744.00	0.40	3.88	66.00	117.09	47.78	61.04	1.550	2.050

Cuadro 6. Parámetros fisicoquímicos determinados en el mes de diciembre 2006.

sitios	TEMP (°C)	O.D.(mg/L)	pH	solí. Disueltos (mg/L)	Conductividad (µS/cm)	salinidad	DBO ₅ (mg/L)	DQO (mg/L)	Dureza (mg/L)	Alcalinidad (mg/L)	Cl (mg/L)	NO ₃ (mg/L)	N-NH ₃ (mg/L)
MARIANO ESCOBEDO	16.9	5.34	9.32	663	1257	0.6	38.5	65	126	450	125.96	0.009	0.392
SAN AGUSTÍN DEL PULQUE	18.5	6.38	8.76	669	1259	0.6	33	50	88.2	440	121.96	0.036	0.448
CUITZEO	18.4	7.43	8.93	974	1786	0.9	31	50	77.7	600	171.94	0.108	0.392
CAPACHO	19.3	6.39	9.41	2010	3740	2	42	70	77.7	1060	379.87	0.270	0.840
COPANDARO	18.7	7.09	9.43	2030	3790	2	38	65	48.3	1080	389.857	0.025	0.168
CORO	16.8	2.87	9.25	747	1406	0.7	36	60	130.2	480	124.95	0.160	0.336
ESTACIÓN QUERÉNDARO	16.2	7.79	8.96	564	1065	0.5	31.5	50	149.1	345	100.967	0.340	0.560
RÍO GRANDE	18.0	1.71	8.18	543	1023	0.5	38	60	130.2	403	95.97	0.360	0.896

Cuadro 7. Parámetros fisicoquímicos determinados en el mes de febrero 2007.

sitios	TEMP (°C)	O.D.(mg/L)	pH	soli. Disueltos (mg/L)	Conductividad (µS/cm)	salinidad	DBO ₅ (mg/L)	DQO (mg/L)	Dureza (mg/L)	Alcalinidad (mg/L)	Cl (mg/L)	NO ₃ (mg/L)	N-NH ₃ (mg/L)
MARIANO ESCOBEDO	17.9	4.90	9.09	472	887	0.4	27.50	41.60	75.20	315.00	86.97	0.018	0.360
SAN AGUSTÍN DEL PULQUE	17.8	6.14	8.82	759	1430	0.7	21.50	36.40	86.00	485.00	141.95	0.045	0.360
CUITZEO	18.6	5.39	9.16	1547	2870	1.5	37.00	57.20	62.30	900.00	309.90	0.117	0.360
CAPACHO	19.3	5.74	9.43	2140	4020	2.2	40.00	65.70	80.10	1160.00	429.84	0.270	0.630
COPANDARO	20.8	5.82	9.28	2110	3970	2.1	36.00	63.00	53.90	1170.00	429.85	0.025	0.112
CORO	18.7	3.11	9.05	702	1322	0.7	34.00	57.60	86.00	460.00	125.95	0.150	0.112
ESTACION QUERÉNDARO	18.6	2.40	9.12	873	1643	0.8	33.00	57.60	122.50	655.00	163.94	0.300	0.540
RÍO GRANDE	17.7	4.63	7.63	590	1111	0.6	43.00	67.60	141.90	425.00	109.96	0.430	0.450

Cuadro 8. Parámetros fisicoquímicos determinados en el mes de marzo 2007.

sitios	TEMP (°C)	O.D.(mg/L)	pH	soli. Disueltos (mg/L)	Conductividad (µS/cm)	salinidad	DBO ₅ (mg/L)	DQO (mg/L)	Dureza (mg/L)	Alcalinidad (mg/L)	Cl (mg/L)	NO ₃ (mg/L)	N-NH ₃ (mg/L)
MARIANO ESCOBEDO	20.7	7.72	9.40	562	1050	0.5	29.00	46.80	68.80	375	105.96	0.016	0.394
SAN AGUSTÍN DEL PULQUE	18.3	4.43	8.85	793	1488	0.8	25.00	41.60	96.75	505	147.95	0.045	0.450
CUITZEO	18.6	2.44	9.25	1724	3240	1.7	39.60	57.60	61.60	1040	354.87	0.106	0.396
CAPACHO	20.2	6.56	9.38	2290	4300	2.3	39.80	61.60	83.65	1240	454.83	0.250	0.720
COPANDARO	19.9	4.25	9.30	2270	4250	2.3	39.40	61.60	55.80	1220	449.83	0.108	0.169
CORO	20.0	4.89	8.93	755	1422	0.7	37.00	57.20	98.80	480	132.94	0.170	0.340
ESTACION QUERÉNDARO	20.5	5.25	8.59	863	1624	0.8	38.80	61.40	139.75	580	173.94	0.330	0.550
RÍO GRANDE	17.3	2.44	7.06	592	1102	0.6	42.00	67.40	154.80	460	114.96	0.450	0.540

