



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS  
BIOLOGIA

DETERMINACION DE NIVELES DE CONTA-  
MINACION FECAL EN LA LAGUNA DE  
TERMINOS, CAMPECHE, MEDIANTE LA  
CUANTIFICACION DE BACTERIAS  
COLIFORMES Y COPROSTANOL  
(Dos Métodos Comparativos).

## TESIS PROFESIONAL

Que para Obtener el Título de:

**BIOLOGO**

Presenta:

**Yolanda Pica Granados**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## INDICE

RESUMEN .....	1
ABSTRACT .....	2
INTRODUCCION .....	3
OBJETIVOS .....	10
ANTECEDENTES .....	11
DESCRIPCION DEL AREA DE ESTUDIO .....	13
MATERIAL Y METODO .....	18
RESULTADOS Y DISCUSION .....	26
CONCLUSIONES .....	50
BIBLIOGRAFIA .....	52

## RESUMEN

Se efectuaron colectas de agua, sedimentos y ostiones de la Laguna de Terminos, en 10 localidades durante los meses de mayo y agosto de 1985, en 13 estaciones para enero y 4 muestras colectadas en mar abierto en abril de 1986, con objeto de evaluar los niveles de contaminación fecal a través del método tradicional de Enumeración de Bacterias Coliformes y del contenido de Coprostanol (5 µ colestan 3 µ -ol).

Las muestras bacteriológicas fueron procesadas de acuerdo a la Técnica de Tubos de Fermentación, especificada por la American Public Health Association (1970 y 1980), y el análisis del Coprostanol en sedimentos se llevo a cabo siguiendo la técnica utilizada por Murtaugh y Bunch (1967), modificada por Cortéz y Botello.

En las tres épocas muestreadas, las bacterias coliformes señalaron niveles que exceden las normas de calidad. En agua, de 88 a 380 CT/100ml y por arriba de 20 CF/100ml, así como 40 CT y de 21 a 240 CF en agosto y enero. En ostiones, se registraron 3600 CF en el Banco de Palizada Vieja durante agosto, que se relacionan con la abundancia de las bacterias en agua, y en enero con 400 CF/ 100ml en el Banco de Atasta, asociadas a las evaluadas en sedimento.

En sedimentos la distribución de estos microorganismos estuvo restringida a las proximidades de la Isla del Carmen en agosto, mientras que en enero se localizaron distribuidas en todas las localidades muestreadas en ámbitos de 200 a 2400 CT/100ml y de 22 a 3800 CF/100ml.

El Coprostanol no se detectó en mar abierto, sin embargo estuvo presente en la mayor parte de los sedimentos lagunares analizados, con niveles promedio de 0.197ppm para mayo, 0.289ppm en agosto y de 0.165 para enero, que delimitaron las principales zonas de aporte fecal así como regiones en las que por diversos fenómenos hidrodinámicos el compuesto fue acumulado.

No se observo relación alguna entre el Coprostanol y los parámetros ambientales o las bacterias coliformes, las cuales contrariamente mostraron una marcada influencia con la salinidad.

Los niveles bacteriológicos obtenidos, fueron semejantes a aquellos encontrados en 1981, lo cual sugiere que a pesar de la capacidad autodepuradora del sistema, los continuos aportes fecales ponen en peligro la salud del sistema.

## ABSTRACT

There were made water, sediments and oyster collects from the Terminos Lagoon in 10 localities during the months of may and august of 1985, in 13 stations in january and 4 samples collected in open sea in april of 1986, with the objective of evaluating the faecal contamination levels using the traditional method of Coliform Bacteria Enumeration, and the amount of Coprostanol.

The bacteriological samples were procesed in agreement with the Fermentation Tubes Technic especificated by the American Public Health Association (1970 & 1980), and the analysis of Coprostanol in sediment were done following the technic used by Murthaugh and Bunch (1967), modifided by Cortex and Botello.

In the three seasons sampling, the coliform bacteria showed the exceding quality specifications levels. In the water, from 88 to 380 TC/ 100ml and more than 20 FC/100ml, the same as 40 TC and from 21 to 240 FC/100ml in august and january. In the oysters, there were registrated 3600 FC/100ml in the Palizada Vieja Bank during august, which are related with the amount of bacterias in water, and in january with 400 FC/100ml in the Atasta Bank, associated with the evaluated ones in sediment.

In sediments, the microorganisms distribution were limited nearby the Carmen Island in august, while in january there were located in all the sampling sites, in ranges of 200 to 2400 TC/100ml and from 22 to 3800 FC/100ml.

The Coprostanol wasn't detected in open sea, although it was in the greatest part of the lagoon sediments with the average levels of 0.197 ppm for may, 0.289 ppm in august and 0.165 ppm in january, which delimitedated the main zones of faecal runoffs, such as the regions on which for different hidrodinamics fenomena the compound was acumulated.

It wasn't observed any relation between Coprostanol levels and the environmental parameters or the coliform bacteria, which on the contrary showed a hard influence of salinity.

The bacteria levels obtained were the same to those found in 1981, which suggest that although of the auto-depuration capacity of the lagoon, the faecal runoffs frecuency affects the health of the system dangerously.

## INTRODUCCION.

Desde el inicio de la historia, el hombre ha elegido la zona costera como un sitio preferente para establecerse y es en ella donde han surgido las más importantes civilizaciones del occidente.

En la actualidad el 90 % de las grandes metrópolis están ubicadas en los litorales de todo el mundo, algunas construidas sobre lagunas costeras, o a lo largo de extensas bahías. La Ciudad de México cabe dentro de las excepciones, pero a pesar de esto, gran parte de las actividades industriales y productivas del país tienen lugar en las costas de ambos litorales, que favorecen al desarrollo de enormes ciudades.

La problemática que esta situación presenta son los riesgos de contaminación de los ecosistemas acuáticos asociados, ya sean ríos o sistemas marinos a los cuales frecuentemente son llevadas las aguas de desecho resultantes de todas las actividades humanas.

Los metales pesados, hidrocarburos, plaguicidas, detergentes y bacterias, virus y hongos patógenos suelen ser parte importante del contenido de estas aguas (Brown y Wade, 1984). Su acción en el ambiente es muy variada y puede, en algunos casos ser letal para los organismos o bioacumularse en ellos, ya sea en sus tejidos, como lo hacen los compuestos orgánicos e inorgánicos, o en sus tractos digestivos, como los microorganismos patógenos. De modo que la presencia de estos compuestos en los ambientes acuáticos demeritan la calidad de las aguas y consecuentemente la de los recursos pesqueros que en ellas viven, convirtiéndose en riesgosos para la salud humana.

Las 125 lagunas costeras con las que cuenta México (Lankford, 1977) representan una enorme fuente de reservas biológicas, ya que son sistemas altamente productivos y ofrecen diversidad de ecosistemas, utilizados por innumerables especies, algunas de ellas de importancia comercial, que requieren de esta variabilidad de ambientes para realizar parte o todo su ciclo de vida.

Sin embargo y a pesar de su importancia económica y ecológica, las lagunas costeras, así como el resto de los sistemas acuáticos, no han sido adecuadamente protegidos del deterioro que pueden sufrir a consecuencia de los desechos que a ellas llegan.

La Laguna de Términos es un ejemplo de esta situación. Es la segunda laguna costera más grande del país y de gran importancia pesquera en la región sureste. En sus alrededores a partir de la última década, las actividades petroleras han adquirido mayor relevancia y han favorecido al desarrollo de la

Ciudad del Carmen y el establecimiento de nuevos asentamientos en áreas cercanas a la laguna, incrementándose las necesidades urbanas y el aporte de desechos resultantes de diversas fuentes.

A partir de lo anterior se hace necesario establecer un marco de referencia actual sobre las condiciones ambientales de este ecosistema, para los cual el ICMYL - CONACYT realizó el proyecto "INTERACCIONES ECOLOGICAS ESTUARIO-MAR EN LA REGION DE LA LAGUNA DE TERMINOS, CAMPECHE. Físicoquímica, Contaminación, Ecología Trófica, Modelos Matemáticos y análisis del sistema y sus recursos bióticos" del cual forma parte esta investigación sobre contaminación fecal.

### **Bacterias Coliformes.**

Durante los pasados 100 años, la calidad sanitaria del agua, dentro de sus diferentes usos, había sido determinada a través del método de enumeración de microorganismos intestinales, particularmente del grupo coliforme, sin embargo en la actualidad, aún cuando se continua empleando, su uso ha sido seriamente cuestionado ( Dutka *et al.*, 1974; Loh *et al.*, 1976; Goyal *et al.*, 1978; Goodfellow *et al.*, 1977).

La valoración mediante este método da un indicio de la posibilidad de encuentro de microorganismos patógenos, los cuales no son originados en el ambiente acuático, sino en el tracto intestinal humano, pero pueden llegar a este por medio de los desechos fecales diseminándose de esta forma, bacterias y virus patógenos. Estos microorganismos son difícilmente detectados por su bajo contenido en las heces fecales sumado a la dilución en el agua, por lo que ha sido necesaria la utilización de métodos indirectos de valoración a través de la cuantificación de bacterias coliformes, que contrariamente, son muy abundantes en el intestino humano, sobre todo Escherichia coli la cual se encuentra en cantidades de hasta 50 - 400 mil millones de bacterias/ 100 ml, y que aún cuando sean ampliamente diluidas ( 5 - 40 millones de m<sup>3</sup> ) permanecen en concentraciones detectables (10 bact/l), ( McCalley *et al.*, 1980; Branco, 1984).

A pesar de su abundancia, las bacterias coliformes son muy susceptibles a diversos compuestos contaminantes, que con frecuencia estan en el medio acuático, provenientes de efluentes residuales (Murtaugh y Bunch, 1967; Kirchmer, 1971; Delaat, 1983), sin embargo, los virus patógenos que comunmente las acompañan son más resistentes a estas sustancias entre las que pueden permanecer viables por largos períodos (Dutka *et al.*, 1974).

La calidad bacteriológica del ambiente de la Laguna de Terminos es basicamente importante desde el punto de vista recreacional y como medio de cultivo para el desarrollo de grandes bancos ostrícolas de Crassostrea virginica, los cuales son considerados como los más productivos del Golfo de México,

razones por las que sus aguas y sedimentos requieren de un estricto control.

Los sedimentos se han considerado como importantes reservorios de materiales de origen orgánico a los cuales, dada su afinidad química, suelen agregarse algunos compuestos considerados contaminantes, que se presentan en cantidades mayores a las detectadas en agua. De forma similar las bacterias se integran a el y constituyen poblaciones mas abundantes y estables que las presentes en suspensión (Goyal et al., 1978; Romero et al., en prensa).

Las bacterias coliformes llegan a los sedimentos, inicialmente captadas por las particulas orgánicas suspendidas, las cuales, para estos microorganismos representan una posibilidad de vida dentro de un medio adverso, ya que al acoplarse a estos materiales quedan protegidos del ambiente y tienen a su disposición nutrientes necesarios para persistir por lapsos mayores en el medio marino hasta que por sedimentación son acarreadas al fondo.

La cuantificación de coliformes en agua y sedimentos ha sido utilizada para demarcar áreas afectadas por aguas de desecho doméstico dentro de un sistema acuático (Ayes, 1977); Babinchak et al., 1977), a partir de lo cual se ha observado que su contenido decrece conforme la distancia de la fuente de aporte es mayor a causa probablemente de la mortalidad de estas, en aguas marinas o por efecto de dilución (Yde et al., 1980).

A pesar de su utilidad los riesgos que ofrece este método al ser empleado en sistemas de alto dinamismo como lo es el ambiente marino son elevados, ya que son muchos los factores que al no ser tomados en consideración pueden llevar a conclusiones erroneas (Yde y Maeyer-Cleempoel, 1980).

#### Indicadores Químicos.

A partir de esto se ha intentado el uso de diversos compuestos que evidencien y den conclusiones mas certeras del grado de contaminación fecal, algunos de ellos son: los nitritos, amonio, cloruros, pruebas de DBO y DQO, sin embargo, no son lo suficientemente especificos para indicar su verdadera fuente.

El acido úrico fué utilizado por ser un compuesto principal de la excreción de reptiles y aves, además del producto final del metabolismo de las proteínas en el hombre, sin embargo es degradado rapidamente en el ambiente marino por la biota, que lo toma como fuente de nitrógeno (O'Shea y Bunch, 1965).



Los esteroides, como el coprostanol (5 $\beta$  - colestano 3 $\alpha$  ol y colesterol, han sido empleados para este fin, con buenos resultados (Murtaugh y Bunch, 1967; Smith y Gouron, 1969; Tabak, 1972 citado por Walker et al., 1982).

### Características del Coprostanol.

El coprostanol es el esteroide más abundante de las excretas humanas (Eneroth et al., 1964) y estas representan la fuente más rica de este compuesto. Otros animales superiores como el cerdo y las vacas lo contienen pero en cantidades de 17 y 175 veces menores que el hombre respectivamente (Rosenfeld y Gallager, 1964) y en pequeñas cantidades, algunas aves de corral (Subbiah et al., 1972)

El coprostanol fue obtenido por primera vez por Marcet, a mediados del siglo XIX, quien obtuvo un compuesto denominado excretina por medio de la cristalización de extractos alcohólicos de heces humanas (Walker et al., 1982).

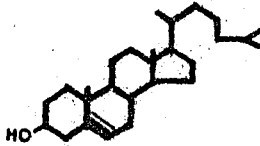
Durante 1896 Bondzynski aisló y caracterizó a este compuesto y atribuyó su formación a la reducción del colesterol por acción de la microflora intestinal (Cortéz y Botello, en prensa), lo cual fue demostrado por Snoj-Kjaer, et al. (1956), mediante investigaciones in vitro de contenidos intestinales.

### Estructura Química.

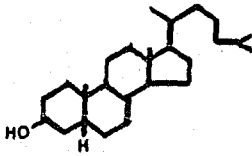
Los esteroides son constituyentes menores de las membranas celulares de plantas y animales (Ikan et al., 1975). Están configurados por un esqueleto base de ciclopentano perhidrofenantreno (Lehninger, 1974).

La estabilidad química que los caracteriza, su diversidad estructural y actividad óptica los hacen útiles como indicadores del tipo de actividad biológica dentro de la compleja mezcla de materiales orgánicos suspendidos o sedimentados en los sistemas acuáticos (Gagossian, 1975).

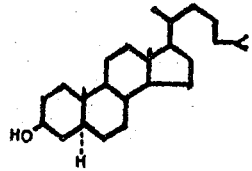
El colesterol es el precursor del coprostanol por lo que sus estructuras son muy semejantes, diferenciándose por una doble ligadura entre el C5 y C6.



A) colesterol.



B) coprostanol



C) colestanol

FIG 1. ESTRUCTURA QUIMICA DE LOS ISOMEROS DEL COLESTEROL.

La hidrogenación de esta ligadura puede producir dos isómeros en el C5, uno de ellos con configuración *cis* conocido como coprostanol y el otro en posición *trans* llamado colestanol (Fig. 1)

Los esteroides saturados normalmente son del tipo 5 $\alpha$  siendo la única excepción el coprostanol que es 5 $\beta$  (Walker *et al.*, 1982).

A temperatura ambiente, el coprostanol es un sólido cristalino de color blanco, el cual puede mezclarse a 110 °C y es altamente soluble en solventes como el etanol, benceno, eter, cloroformo y principalmente en metanol (Kirchmer, 1971).

Su solubilidad en el agua no ha sido reportada, sin embargo, Saad y Higuchi (1965), determinan que es de 19ppb a 30 °C, por otro lado Walker y Wun (1977) establecieron la solubilidad del colesterol y colestanol en agua destilada y de mar, donde en la primera es de 19 ppb y 26 ppb, mientras que para la segunda de 0.6 y 0.2 ppb (citado por Walker *et al.*, 1982).

## Formación del Coprostanol.

La microflora intestinal es la principal responsable de la formación de este compuesto, ya que se ha observado que la modificación de su población se traduce en la reducción de la concentración de coprostanol en las excretas (Rosenfeld y Hellman, 1971).

Amplias discusiones se han establecido para lograr determinar la secuencia de la transformación del colesterol a coprostanol.

Rosenfeld *et al.* (1954), demostraron la reducción directa de la doble ligadura del colesterol, lo cual más tarde fue comprobado por Snoj-Kjaer *et al.* (1956), quienes lo atribuyeron a la acción de bacterias del tipo de Clostridium, Aerobacter y Escherichia coli.

Paralelamente a esto, Anchel y Schoenheimer (1938), sustentaron su propia teoría mostrando a la colestano y coprostanona como productos intermedios de la transformación (citado por Cortez y Botello, en prensa).

Recientemente y en apoyo a los antiguos estudios sobre la vía en dos pasos, han sido aislados microorganismos Gram +, anaeróbicos, capaces de hidrogenar la doble ligadura del colesterol y se les ha reconocido como Eubacterium ATCC-21 408, los cuales modifican la molécula de coprostanona para dar como producto final el coprostanol (Parmentier y Eyssen, 1974).

## Estabilidad del Coprostanol en el Mar.

La distribución de la concentración del coprostanol, ha mostrado un comportamiento semejante al descrito por las bacterias coliformes con tendencia a disminuir en función del aumento de la distancia de la fuente de aporte (Smith y Gouron, 1969; Dutka, *et al.*, 1974; Wum *et al.*, 1976; Goodfellow *et al.*, 1977). Sin embargo esta condición no es constante para todos los sistemas afectados por descargas y en algunos casos se ha observado que la distribución del coprostanol está estrechamente asociada a la de la materia orgánica y sedimentos finos, los cuales frecuentemente son afectados por las corrientes y vientos (Hatcher y McGillivray, 1979; Brown y Wade, 1984).

Hasta el momento los motivos por los cuales el coprostanol puede desaparecer del ambiente no han sido plenamente establecidos, pero en este proceso la intervención de aspectos físicos, químicos y biológicos deben estar relacionados.

En tratamientos eficientes de aguas de desecho se ha podido obtener un afluente bajo en coprostanol, que se atribuye a mecanismos físicos de remoción (Murtaugh y Bunch, 1967; Smith

y Gouron, 1969) sumados a la biodegradación bacteriana (Kirchmer, 1971).

La descomposición de este compuesto por microorganismos se observo en el ambiente natural, pero no han podido ser aisladas las bacterias responsables de esto (Kirchmer, 1971; Hasset y Lee, 1977). Trabajos en laboratorio mostraron que este alcohol puede ser empleado como fuente de carbono por bacterias del género Pseudomonas y Bacillus (Druilhet et al., 1968).

A pesar de estos argumentos y de modo contrario los esteroides han sido encontrados en materiales muy antiguos. Estuvieron presentes en coprolitos humanos que datan de 200 años, en los cuales fue identificado el coprostanol, (Lin et al., 1978) y en sedimentos pertenecientes al Pleistoceno que contenian cantidades sustanciales de estigmasterol y colesterol (Henderson et al., 1971). Esta clase de pruebas demuestran que son compuestos que persisten por largos períodos, y pueden ser utilizados para determinar los procesos geoquímicos biológicos y de contaminación (Attaway y Parker, 1970; Rhead et al., 1971).

#### Coprostanol como un Indicador de Contaminación Fecal.

El coprostanol como un indicador de contaminación fecal, ofrece muchas ventajas, enumeradas por Dutka et al (1974), entre las que destacan las siguientes:

A) Auxilia en la identificación de las aguas de desecho que se encuentran mezcladas, en los afluentes de algunas industrias que requieren de separarlas para someterlas a tratamientos adecuados.

B) Proporciona la posibilidad de determinar la magnitud de los aportes fecales en zonas contaminadas por otros productos químicos, lo cual no podría ser realizado mediante la detección de bacterias coliformes ya que mueren al contacto con estas aguas.

C) La persistencia del compuesto da la posibilidad de detectar la fuente contaminante, sobre todo en comunidades ribereñas situadas río abajo de las descargas.

D) Puede ser empleado para vigilar la eficiencia de los tratamientos de aguas residuales domésticas (Kirchmer, 1971).

E) Aporta un medio más certero de valorar el riesgo de salud que representa el consumo de productos que aún cuando no contienen bacterias coliformes si pueden retener virus patógenos capaces de sobrevivir a los tratamientos de clorinación o a la acción bactericida del agua de mar (Dutka y El-Shaarawi, 1975; Loh et al., 1979).

## OBJETIVOS.

Este trabajo tiene como principal objetivo determinar los niveles de contaminación fecal en la Laguna de Términos, mediante el empleo de dos métodos distintos de evaluación.

- 1.- Evaluar el contenido de bacterias coliformes en agua, sedimentos y ostiones de la especie Crassostrea virgínica.
- 2.- Establecer la relación existente entre el contenido de bacterias coliformes en el agua y sedimento de los bancos ostrícolas con aquel presente en el interior de los ostiones.
- 3.- Evaluar el contenido de Coprostanol en sedimentos.
- 4.- Establecer, mediante herramientas estadísticas las relaciones entre los parámetros hidrológicos ( OD, Salinidad, Temperatura, Materia orgánica, Granulometría y Profundidad) y los indicadores (bacterias coliformes y coprostanol).
- 5.- Conocer las variaciones estacionales de los parámetros ambientales y de la abundancia de los indicadores, a fin de determinar la influencia de los primeros en su distribución y abundancia.
- 6.- Determinar la relación existente entre los niveles bacterianos y el contenido de coprostanol.
- 7.- Realizar comparaciones respecto a los trabajos bacteriológicos de naturaleza semejante dentro de la Laguna de Terminos, a fin de conocer cómo los niveles se han modificado y establecer una línea base para el contenido de coprostanol en este sistema, el cual pueda ser empleado en subsecuentes trabajos de modo comparativo.

## ANTECEDENTES

A pesar de las ventajas que ofrece la utilización del coprostanol en el monitoreo de contaminación fecal en áreas afectadas por desechos domésticos, pocos han sido los trabajos en que se halla empleado este compuesto.

Murtaugh y Bunch (1967), fueron los primeros en proponer a esta sustancia como un indicador de contaminación fecal para el que establecieron los niveles permisibles de su concentración en agua. A partir de ese año se llevaron a cabo algunas investigaciones al respecto, en aguas de zonas costeras cercanas a centros urbanos.

Smith y Gourdon (1969), buscaron coprostanol en la Bahía de Galveston, en donde el contenido de este estuvo por debajo de los niveles detectables.

En 1971, Kirchmer realizó estudios más intensivos acerca de la facilidad de preservación y análisis de las muestras que apoyaron la idea del empleo de este nuevo indicador, lo cual a través de subsecuentes trabajos se ha reafirmado.

Dutka et al. (1974) y Dutka y El-Shaarawi (1975), analizaron las aguas de los Ríos Ottawa y Rideau y de la Bahía de Burlington donde determinaron la abundancia del coprostanol y su relación con el contenido de bacterias coliformes.

Dos años después, la idea de la determinación del compuesto en sedimentos fue llevada a cabo por Goodfellow et al. (1977), quienes realizaron los primeros análisis de este tipo en el Estuario Clyde, Escocia donde se observó que es más abundante en el sustrato que en el agua.

Al retomar los estudios de Goodfellow, Hatcher et al. (1977) y Hatcher y McGillivray (1979), hicieron un monitoreo de las concentraciones de coprostanol en los sedimentos de la Bahía de Nueva York y observaron que estas mantienen una estrecha relación con el contenido de materia orgánica.

En Asia, Kanazawa y Teshima (1971 y 1978), lo emplearon para conocer el grado de contaminación fecal en el agua y sedimento de los Ríos Kautsuki, Anraku y del Mar Ariak.

Recientemente en los trabajos de McCalley et al. (1980), en la Bahía de Swansea y Estuario Severn, de Yde et al. (1982), en el estuario Scheidt, Wade et al. (1983), en la Bahía de Chesapeake, Brown y Wade (1984), en Virginia, Pierce y Brown (1984), en la Bahía de Sarasota, Florida y en México los realizados por Escalona et al. (1980), en el puerto de Veracruz y Maxatlán así como el de Cortez y Botello (en prensa), en el Río Coatzacoalcos y Laguna del Ostión, se ha evidenciado la eficacia del coprostanol como un indicador de contaminación fecal, que puede ser evitado alternativamente al análisis bacteriológico del ambiente acuático, especialmente el marino. Sin embargo, el

método de cuantificación de bacterias coliformes es aún ampliamente utilizado para establecer el criterio de calidad de aguas, tanto marinas como dulces.

Las aguas de la Laguna de Términos y los sistemas lagunares asociados, han sido evaluados bacteriológicamente por Rodríguez y Romero (1981), quienes reportaron la existencia de niveles elevados de bacterias coliformes, que exceden la norma de calidad establecida para aguas de cultivo ostrícola, y una marcada influencia de la salinidad cuyas variaciones están relacionadas con la abundancia de estos microorganismos a lo largo del año (Romero et al., en prensa)

La evaluación de bacterias coliformes dentro de los ostiones no se ha realizado en la Laguna de Términos, sin embargo Rosas et al. (1985), lo llevó a cabo en otras lagunas del Golfo de México como son; la Laguna El Conchal y Tamiagua, Ver. donde encontró una íntima relación entre los niveles de estos microorganismos en agua y los del interior de los moluscos.

## DESCRIPCION DEL AREA DE ESTUDIO.

La Laguna de Términos es la segunda más importante por su extensión en México, es muy somera, con 3.5m de profundidad promedio y una área aproximada que incluye las lagunas interiores y los ríos tributarios de 2400 km. Su forma es oval con 60 km de longitud máxima y 28 km de ancho.

Geográficamente se ubica dentro del estado de Campeche, en los 91° 15' a 92° 00' Oeste y 18° 27' a 18° 50' Norte (Mandelli y Botello, 1978). (Fig. 2)

Esta laguna se encuentra separada del mar abierto por una isla arenosa denominada Isla del Carmen, a cuyos lados se localizan un par de bocas abiertas permanentemente, la de Puerto Real y la Boca del Carmen.

El clima del área es tropical-húmedo con vientos dominantes del NNE y ESE y describe tres períodos; el primero de ellos comprende del mes de febrero a mayo, denominado como "Secas". El segundo, caracterizado por sus constantes lluvias y abarca los meses de junio a octubre, durante este primer mes y noviembre que corresponde al período siguiente (Nortes), se han detectado las máximas precipitaciones con 1100 y 2000mm (Botello, 1978; Yañez- Arancibia, 1982).

La época de "Nortes" corresponde a los meses de octubre y febrero. Durante esta temporada, el cambio del patrón de vientos provenientes del NO y la formación de tormentas tropicales y huracanes generan modificaciones importantes en la circulación de la laguna, la cual comúnmente tiene un flujo entrante a través de la boca de Puerto Real que sale por la Boca del Carmen y que en presencia de estos fenómenos climáticos invierte su dirección (Yañez- Arancibia et al, 1983).

Las mareas son mixtas- diurnas y su amplitud esta en función de la intensidad de los vientos. La onda mareal regularmente penetra por ambas bocas para encontrarse en el interior de la laguna (Mancilla y Vargas, 1980).

La planicie costera del área de la Laguna de Terminos esta drenada por cuatro ríos principales, todos ellos a excepción del Río Candelaria cuya cuenca se localiza dentro de la Península de Yucatán, pertenecen al sistema fluvial tabasqueño.

El Río Usumacinta se abre en dos ramas denominadas Río San Antonio y Río del Este; a su vez este último, en su cauce hacia la Laguna de Términos, da lugar a la formación de las Lagunas de Atasta, Pom, Puerto Rico y otras de menor magnitud, que estan asociadas a extensos manglares y en algunas de ellas se han constituido sistemas pantanosos. La desembocadura de este río ubicada hacia el Oeste de la laguna es conocida como Boca Atasta.



El Río Palizada llega a la Laguna de Terminos por la desembocadura de Boca Chica, y acarrea sedimentos terrigenos que contienen importantes cantidades de materia orgánica (Yañez, 1963).

Ambos rios, el Este y Palizada, son el mayor recurso de agua dulce que penetra a la laguna por la parte Suroeste. Su aporte no se conoce con certeza, pero se estima superior a  $6 \times 10^9 \text{ m}^3 \times \text{año}$  (Phleger y Ayala-Castañares, 1971) y en sus desembocaduras se constituyen los bancos ostrícolas más importantes de Crassostrea virginica del área.

El Río Chumpán, se origina de los Rios San Joaquín y Salsipuedes, que al unirse en la laguna forman el estero de Balchacáh, el cual tiene un escurrimiento calculado en  $1.4 \times 10^3 \text{ m}^3 \times \text{año}$ .

El Río Candelaria, es el más importante, alimentador de agua dulce de la porción Sureste con un gasto estimado de  $16 \times 10^9 \text{ m}^3 \times \text{año}$ , que desembocan en la Boca de Pargos (Yañez, 1963).

Estos factores dentro de la laguna muestran una gran variación, tanto espacial como temporal que resulta de la diversidad de ambientes generados a partir de la mezcla de agua dulce provenientes de los rios y la entrante agua marina (Botello, 1978; Yañez- Arancibia et al., 1983).

La salinidad en promedio se presenta con valores de 33 ‰ (26- 38 ‰) durante la época de secas, en los meses lluviosos, se abate hasta 26 ‰ (4- 35 ‰) y se reduce aún más durante los nortes mostrando 19 ‰ (0.2- 27 ‰).

La salinidad y la temperatura de la laguna, a pesar de sus cambios estacionales, evidencian una importante influencia marina en su porción Norte y centro, mientras que al Oeste y Este es característicamente estuarina.

Las temperaturas mas elevadas se observan en el verano, con  $30 \text{ }^\circ\text{C}$  (28-  $31 \text{ }^\circ\text{C}$ ) reduciendose ligeramente en las lluvias a  $29 \text{ }^\circ\text{C}$  (28-  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ ) y en la época de Nortes alcanza  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  (23-  $27 \text{ }^\circ\text{C}$ ) como consecuencia de las relativamente bajas temperaturas invernales (Mandelli y Botello, 1978).

Los sedimentos de la laguna tienen un arreglo textural casi ordenado, con un gradiente que va desde su centro, constituido principalmente de arenas, las cuales se van mezclando con sedimentos más finos, hasta alcanzar el borde lagunar en el que los limos y arcillas predominan.

En el Canal del Carmen, al Noreste y Oeste de la laguna, la tendencia de distribución de sedimentos es alterada, como consecuencia del aporte fluvial de sedimentos, de la topografía del fondo y de la circulación del agua.

En el Noreste se localizan dos fuentes potenciales de aporte sedimentario, las arenas provenientes de la corriente entrante que se combinan con los limos y arcillas del Río Candelaria. En esta sección los sedimentos más finos quedan confinados a las áreas protegidas del paso de la corriente y los más gruesos, que acarrean trozos de conchas y caracoles, se distribuyen a lo largo de esta sobre el paso de Puerto Real.

El Oeste, comprendido desde el Río Palizada hasta Boca del Carmen, muestra una distribución en manchas de las distintas clases de sedimentos, con una mezcla gradual de los materiales finos aportados por los ríos y la arena proveniente de la Isla del Carmen. Este modo de reparto está determinado por las corrientes fluviales y lagunares generadas cuando baja la marea en dirección al mar abierto a través de la Boca del Carmen que coloca a las arcillas y limos a los lados de estas corrientes.

Hacia la boca Oeste, la mezcla de sedimentos no es gradual y se delimitan dos unidades como consecuencia del marcado declive que hace el relieve en este canal, una de sedimentos limo - arcillosos y otra, profunda, que se extiende mar adentro con materiales muy gruesos y arenas (Yañez, 1963; Yañez- Arancibia et al., 1983).

La parte Este de la Laguna de Terminos pertenece a la provincia carbonatada de la Península de Yucatán (Carranza et al., 1975), razón por que los sedimentos de esta zona alcanzan hasta un 70% en el contenido de carbonatos, el cual decrece paulatinamente hacia el Oeste hasta adquirir valores menores al 40% (Yañez- Arancibia et al., 1983).

La vegetación en los márgenes de la laguna es muy exuberante, del tipo selva tropical con abundantes manglares de Rhizophora mangle, Avicenia germinans, Leguncularia racemosa y Conocarpus erectus.

La vegetación sumergida predominantemente está formada por praderas de Thalassia testudinum que se extienden a todo lo largo del litoral interno de la Isla del Carmen y en menor escala puede encontrarse ejemplares de Syringodium y Halodule (Tapia, 1984).

### *Selección de las áreas de muestreo.*

*Se establecieron 13 sitios de colecta dentro de la laguna, ubicados en los diversos microambientes caracterizados ampliamente por Yañez y Day (1982) y Yañez et al. (1983), los cuales han sido delimitados, a partir de subsecuentes estudios realizados durante la última década, en función de las interacciones entre los distintos parámetros hidrológicos, el tipo de sedimento y la biota y la variación temporal de estas. Además se contemplo como áreas importantes de colecta a los bancos ostrícolas (est. 9 y 10) y regiones que de acuerdo a Rodríguez y Romero (1981) y Romero et al. (en prensa), se encuentran altamente impactadas por aportes fecales (est. 11 y 12) (Fig. 2a).*

*En mar abierto fueron tomadas muestras con el fin de obtener datos comparativos entre ambos sistemas marinos. Las localidades se ubicaron en 92° 00' y 18° 54', 92° 00' y 19° 00', 91° 59.9' y 19° 10.2' y 92° 3.6' y 19° 28.2' de longitud y latitud respectivamente (Fig. 2b).*

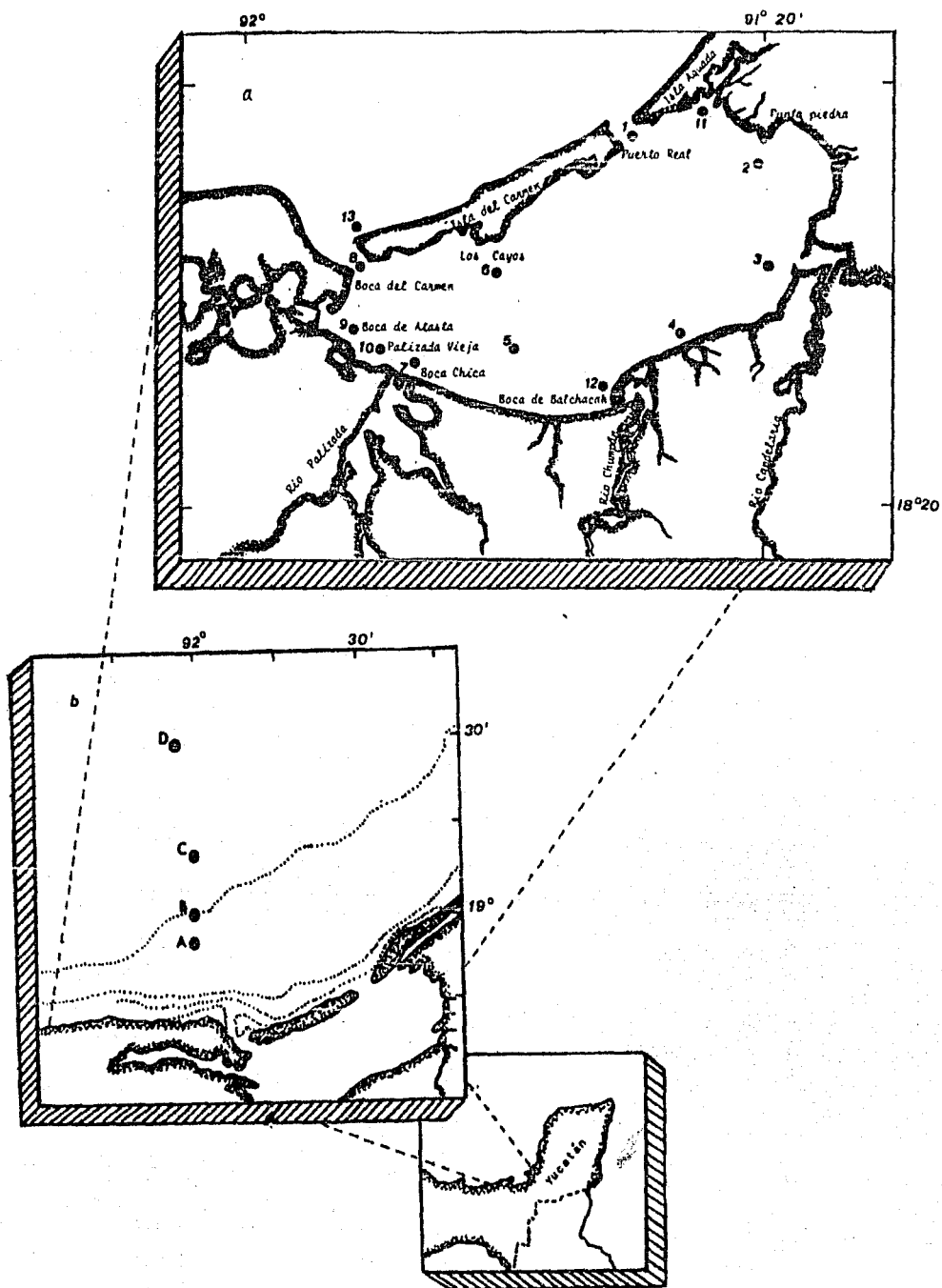


FIG. 2. AREA DE ESTUDIO Y LOCALIDADES DE MUESTREO.

## **MATERIAL Y METODOS.**

Fueron llevados a cabo tres muestreos en la Laguna de Terminos en los meses de mayo y agosto de 1985 y enero de 1986, además de uno realizado mar adentro durante abril de este año.

Las muestras de agua extraídas fueron destinadas a la toma de datos hidrológicos (salinidad, oxígeno disuelto y temperatura) y bacteriológicos, los cuales también se obtuvieron del sedimento junto con aquellos correspondientes al coprostanol y materia orgánica, y en el interior de ostiones.

### **Muestras de Agua.**

Cada muestra fue tomada a 20cm de profundidad mediante una botella Niskin; una parte de ella se destino al análisis bacteriológico, almacenada en una botella esteril de 250ml llena al 80% de su capacidad. El resto de la muestra se preservó para la posterior evaluación de oxígeno disuelto en frascos esmerilados de 75ml color ambar y de la salinidad en botellas plásticas selladas hermeticamente.

### **Mediciones de Campo.**

La temperatura fue tomada in situ por medio de un termómetro marca Taylor de escala  $-10 +200$  °C.

El oxígeno disuelto se valoró mediante el empleo del método Winkler modificado con azida (Am. Pub. Health Assoc., 1980).

La salinidad se determinó con ayuda de un conductímetro portátil de inducción marca Beckman modelo RS- 7B.

### **Muestras de Sedimento.**

Estas se extrajeron con una draga Van Veen, en la laguna, y una Van-Leo en mar abierto, de donde una pequeña fracción se colocó en frascos de 250ml de boca ancha esterilizados y llenos al 50% de su capacidad, para el análisis de bacterias coliformes, el resto del sedimento fue depositado en bolsas plásticas y preservado en congelación para su posterior análisis en laboratorio.

### **Muestras de Organismos.**

Los ostiones se colectaron manualmente guardandose en bolsas plásticas y preservados en refrigeración.

## **ANALISIS BACTERIOLOGICO.**

El examen de bacterias coliformes en agua, sedimento y ostión se realizó inmediatamente después del muestreo, mediante la técnica de tubos de fermentación o número más probable (NMP) especificado por la American Public Health Association (1970 y 1980), utilizándose como medios de cultivo el caldo lactosado y el verde bilis brillante indicados para la cuantificación de coliformes totales (CT) y fecales (CF) respectivamente.

Las muestras de agua se agitaron vigorosamente después de lo cual, se sembraron en tubos de fermentación. Para el muestreo de mayo el agua fue diluida en proporción 1:10 mientras que para los siguientes muestreos este paso se omitió.

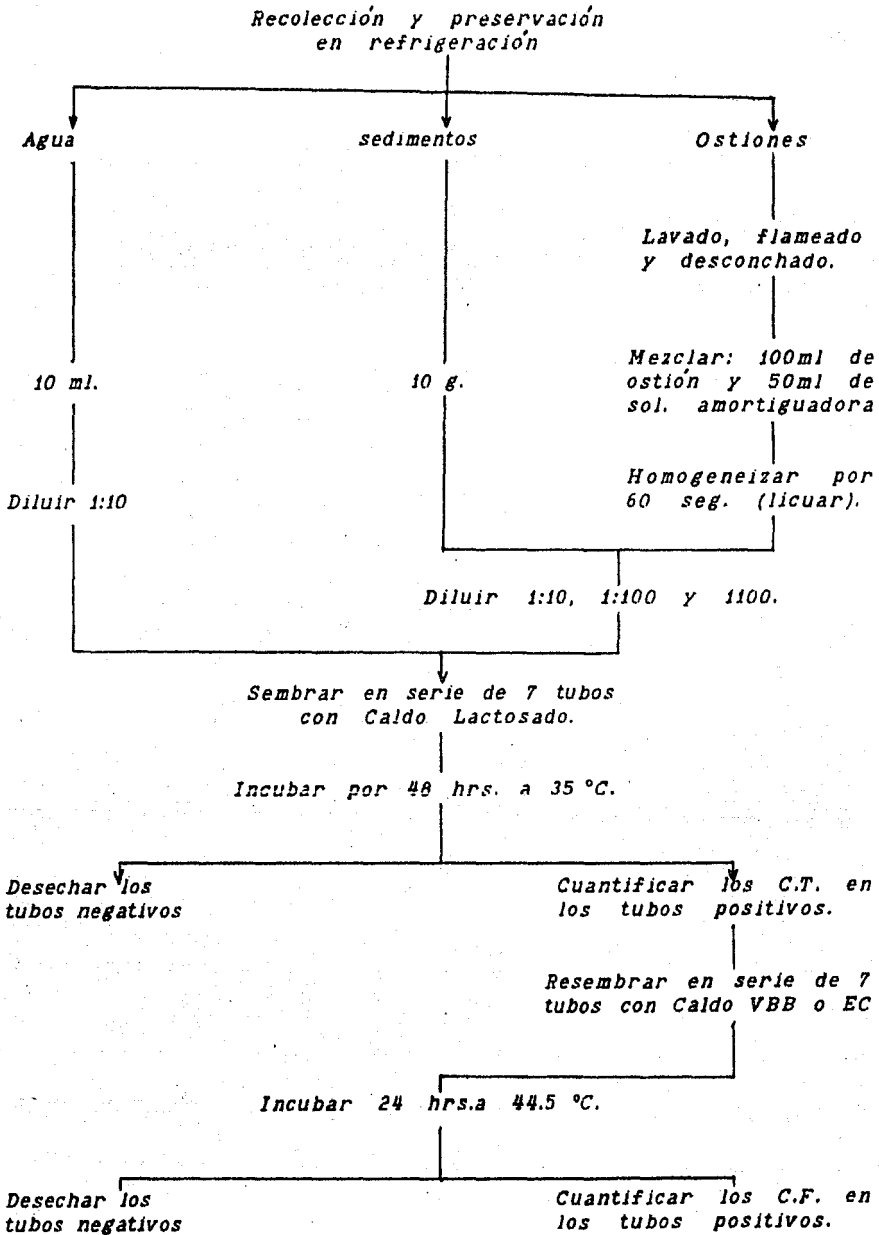
De los sedimentos, fueron tomados, 10gr de cada muestra los cuales se pesaron en una balanza granataria Ohaus de triple barra, para con ellos hacer las diluciones 1:10, 1:100 y 1:1000 durante el primer muestreo, mientras que en los subsecuentes solo las dos primeras.

Los organismos se lavaron y esterilizaron cuando aún estaban cerrados, para evitar la contaminación de su interior en el momento de ser abiertos. Ya desconchados, 100ml de carne y líquido intersticial fueron homogeneizados en una licuadora por 60 seg. con 50ml de solución amortiguadora de fosfatos de pH 7. A partir de esta mezcla, se hicieron las diluciones 1:10, 1:100 y 1:1000 para el mes de mayo y solo la primera para agosto y enero. (Fig.4).

## **ANALISIS DE ESTEROLES.**

Las muestras de sedimento destinadas para este análisis se dejaron secar por 24hrs a 60 °C y posteriormente se molieron y tamizaron con una malla No. 60 (0.25mm).

El procedimiento de rutina para la obtención de los esterolees consiste de una extracción con solventes, limpieza de la muestra mediante columnas de alúmina y el subsecuente análisis por cromatografía de gases (Murtaugh y Bunch, 1967) (Fig.5).



**FIG. 4. METODO DE ANALISIS BACTERIOLOGICO.**

## **Extracción.**

Homogeneizado el sedimento, fueron empaquetados 50 g de este con papel filtro y colocado dentro de un sistema de extracción puesto a reflujo durante 4 hrs, con una mezcla de solventes benceno-metanol en proporción 1:1, después de las cuales se desecho el sedimento y los solventes que contienen la muestra fueron evaporados con ayuda de un rotovapor Ika-Werk hasta alcanzar un volumen de 5ml que se transvasaron a un matraz de bola de menor capacidad (75ml), en el que nuevamente fue rotoevaporada hasta el volumen de 1ml.

## **Limpieza de la Muestra.**

El procedimiento de limpieza es el recomendado por Dutka (1974), en el que se emplea alumina reactivada a 80 °C por 24hrs.

## **Columna de Alumina.**

Para la elaboración de las columnas de alúmina se utilizaron columnas de vidrio en forma de copa en cuya parte terminal se colocó un poco de lana de vidrio previamente humedecida en benceno, sobre la que se depositó una capa de 1cm de sulfato de sodio anhidro y finalmente la alúmina, que fue empacada con una mezcla de solventes eter- hexano en proporción 2:1.

La muestra fue removida del matraz de bola con 25ml de esta mezcla de solventes haciendose pasar paulatinamente a través de la columna. Al terminarse esta operación, se le agrego un poco de metanol a la alúmina de modo que este empuja el resto de la muestra que aún se encuentre contenida dentro de la columna.

El producto es colectado en un matraz Erlen-Mayer de 50ml donde se dejo evaporar a temperatura ambiente.

Es frecuente que las muestras de sedimentos de zonas ricas en materia orgánica como lo son la mayor parte de las lagunas costeras, contengan cantidades importantes de sulfuros que no son retenidos en la alúmina. Estos compuestos sulfurados producen una alta interferencia en la lectura cromatográfica, por lo que deben ser eliminados mediante la limpieza por columna de cobre (Cortez y Botello, en prensa).



## Columna de Cobre

Para su elaboración fue necesario el empleo de cobre granulado, el cual se limpio con agua acidulada con HCl al 10% para después empacarse con hexano dentro de las columnas.

La muestra se eluyó con 25ml del solvente empacador y se recolectó en otro matraz Erlen-Maeyer de igual capacidad.

Finalmente la muestra fue transferida y evaporada a sequedad en tubos viales expuestos a calor moderado sobre una parrilla.

## ANALISIS CROMATOGRAFICO.

El equipo utilizado fue un cromatógrafo de gases Hewlett Packard modelo 5840.

Se empleo una columna capilar de sílica fundida (D.I. 0.2mm) de 10m de longitud con 0.33  $\mu$ m de grosor de película y fase estacionaria de fenil metil-silicón al 5%

El hidrógeno fue empleado como gas acarreador, con una presión de 70 psi y flujo de 30 ml/min. en el detector. La columna trabajo en condiciones isotérmicas cuya temperatura fue la misma que la del puerto de inyección y del detector de ionización de flama, con 280 °C.

Las muestras se restituyeron a un volumen de 100 o 200 $\mu$ l con hexano inyectandose de 2 a 3  $\mu$ l.

La identificación y cuantificación de los compuestos esteroides se realizo con base en los tiempos de retención y la altura de los picos comparados con el patrón establecido por los estandares de concentración conocida. (Técnica del estandar externo) (Murtaugh y Bunch, 1967). Los compuestos que fueron determinados mediante la preparación de su solución estandar fueron: coprostanol, colesterol, colestanol, desmosterol, ergosterol, estigmasterol y lanosterol, diluidos en cloroformo (Fig. 6).

Anexo al análisis cromatográfico, la presencia del coprostanol en las muestras, fue corroborada mediante Espectrometría de Masas, con un Sistema Acoplado Gases-Masas, Hewlett Packard modelo 5988 A.

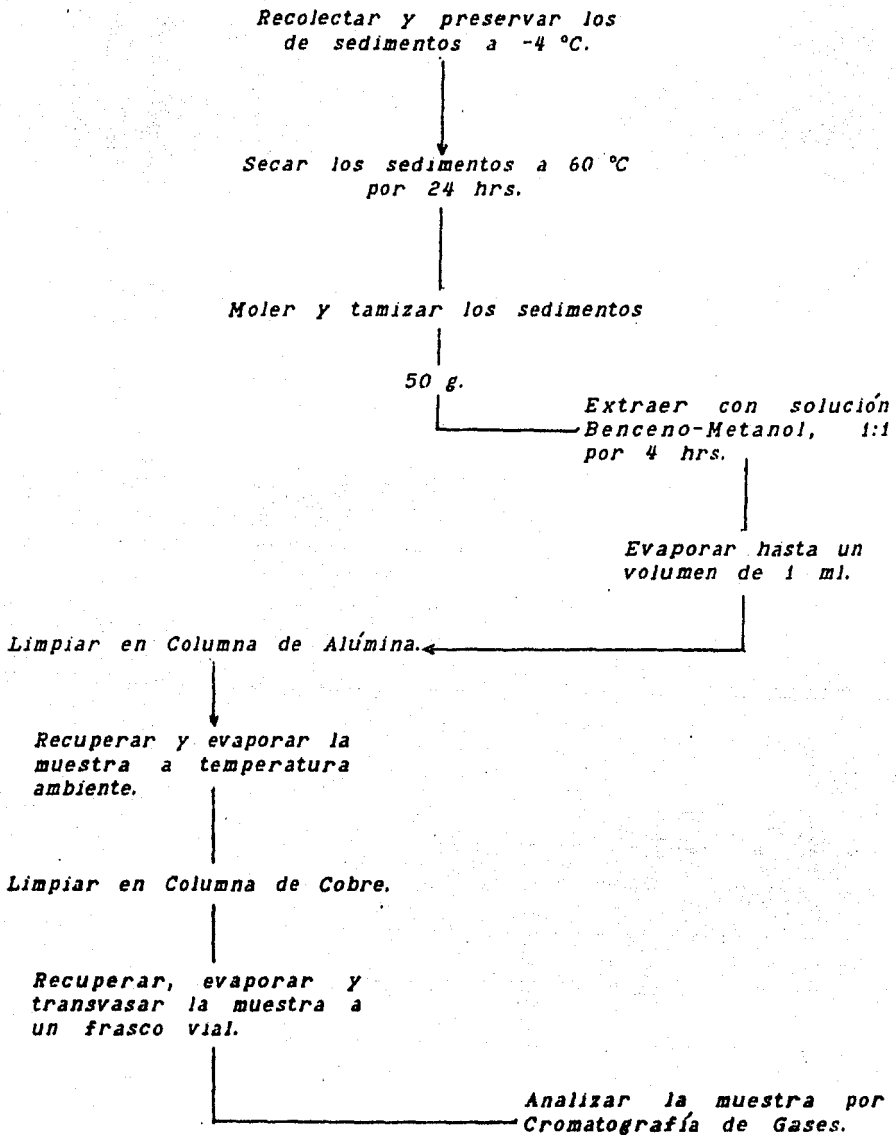


FIG. 5. METODOLOGIA DEL ANALISIS QUIMICO DE ESTEROLES.

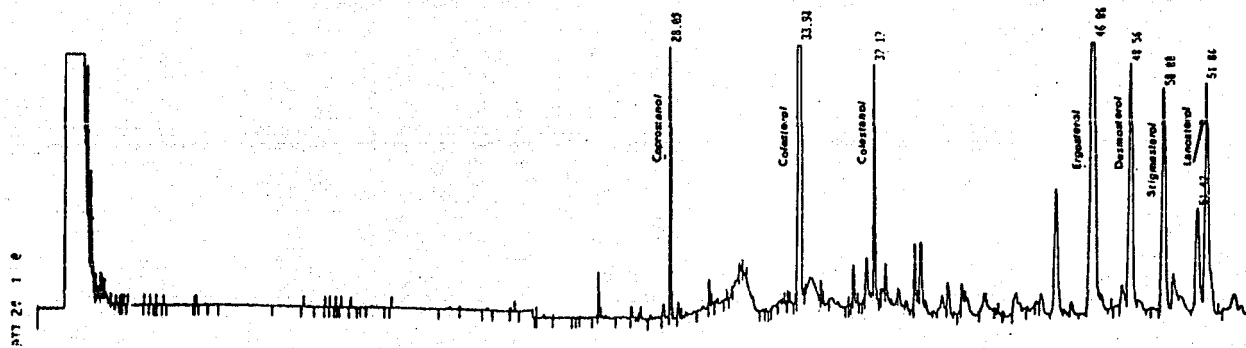


FIG. 6. CROMATOGRAMA DE ESTANDARES DE ESTEROLES

### **Materia Orgánica.**

El porcentaje de carbono orgánico se evaluó con la técnica de análisis por titulación del exceso de dicromato de potasio que oxida la materia orgánica con una solución 0.5N de sulfato ferroso (Gaudette *et al.*, 1974), en la que se utilizaron sedimentos molidos y tamizados de cada una de las muestras en cantidades de 0.5 g para sedimentos arenosos y 0.2 g para los de tipo limo o arcilloso, de acuerdo al análisis granulométrico realizado por Ponce (1988).

## RESULTADOS Y DISCUSION

### HIDROLOGIA

Los parámetros hidrológicos fueron cuantificados con el objeto de determinar cuales y en que medida pueden estos afectar en la distribución de las bacterias coliformes y del coprostanol.

La profundidad máxima detectada fue de 3.5 a 5.0m, durante mayo, en las regiones centrales y en ambas bocas de la laguna, la cual se hace más somera hacia las orillas y los bancos ostrícolas donde alcanza 0.5m de profundidad registrada para enero.

La salinidad y temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) son factores que fluctuaron estacionalmente de manera notable. Para la primavera (mayo), se describió un patrón homogéneo de marcada influencia marina donde en el 100% de las localidades la salinidad fue mayor a 28 ‰ encontrándose las más elevadas en las estaciones cercanas a las bocas e Isla del Carmen, sobre todo en la Boca de Puerto Real con 38.64 ‰. La temperatura fluctuó de 30 a 32  $^{\circ}\text{C}$  con la más elevada en el Banco de Atasta (est. 9)(Tabla 1).

Durante agosto, la salinidad continuó con su valor más alto en Puerto Real ( 35.1 ‰ ), sin embargo , el incremento en el aporte de los rios se hizo patente a través de la reducción de este parámetro en el 30% de las localidades muestreadas, en las que se alcanzaron hasta 16.93 y 15.18 ‰. La temperatura global se mantuvo por arriba de los 30  $^{\circ}\text{C}$  a excepción de las estaciones cercanas a la Isla del Carmen y Boca Chica donde fueron menores con 29 y 29.5  $^{\circ}\text{C}$  (Tabla 2). A partir del comportamiento de estos factores se estableció una relación estadística del 95% de confiabilidad ( $r = -0.82981$  y  $\alpha < 0.05$ ) que sugiere a las aguas marinas como de menor temperatura respecto a aquellas de origen fluvial.

En enero, los vientos y las continuas lluvias causadas por los "nortes" modificaron marcadamente el comportamiento de estos factores. La salinidad se abatió y estableció un gradiente, anteriormente reportado por Amezcua y Yañez-Arancibia (1980), como permanente para todo el ciclo anual, en el cual solo el 23 % de las muestras tuvieron valores superiores a 28 ‰ y que corresponden a aquellas de marcada influencia marina (est. 1,6,13), con un valor máximo de 31.5 ‰ y en el resto de la laguna prevalecieron las bajas salinidades, desde 10.2 a 27.3 ‰ con los mínimos, localizados en los efluentes de rios. La temperatura fue menor a la de las otras épocas con valores de 21 a 23.5  $^{\circ}\text{C}$  (Tabla 3).

**TABLA 1. MEDICIONES HIDROLOGICAS DE LAS ESTACIONES  
MUESTREADAS EN LA LAGUNA DE TERMINOS  
DURANTE MAYO DE 1985.**

No.	Temperatura (°C)	Profundidad (m.)	Oxigeno Disuelto (mg/l)	Salinidad ( ‰ )
1	30.5	4.0	3.82	38.64
2	31.0	3.0	4.45	30.17
3	30.5	2.0	4.28	29.06
4	31.5	3.0	3.81	32.35
5	31.5	3.5	3.81	28.00
6	30.0	2.5	3.81	37.34
7	31.0	2.0	4.26	31.90
8	31.0	5.0	3.84	37.20
9	32.0	2.0	4.45	34.04
10	31.0	5.0	Nd	29.70

Nd= No determinado.

**TABLA 2 . MEDICIONES HIDROLOGICAS DE LAS ESTACIONES  
MUESTREADAS EN LA LAGUNA DE TERMINOS  
DURANTE AGOSTO DE 1985.**

No.	Temperatura (°C)	Profundidad (m.)	Oxigeno Disuelto (mg/l)	Salinidad ( ‰ )
1	29.5	2.0	3.9	36.1
2	30.0	2.0	4.2	24.11
3	30.5	1.0	3.6	29.07
4	30.0	2.0	4.2	32.51
5	30.0	3.0	4.2	33.8
6	29.0	2.0	3.6	34.01
7	29.5	1.0	4.2	30.8
8	30.0	1.0	4.2	31.63
9	31.0	1.0	5.4	15.18
10	31.0	0.5	5.1	16.93

**TABLA 3 . MEDICIONES HIDROLOGICAS DE LAS ESTACIONES  
MUESTREADAS EN LA LAGUNA DE TERMINOS  
DURANTE ENERO DE 1966.**

<i>No.</i>	<i>Temperatura (°C)</i>	<i>Profundidad (m.)</i>	<i>Oxigeno Disuelto (mg/l)</i>	<i>Salinidad ( ‰ )</i>
1	22.0	1.0	2.22	31.5
2	23.0	3.0	3.13	24.8
3	24.0	2.0	3.22	17.3
4	23.5	2.5	3.24	23.8
5	23.0	4.0	3.13	26.0
6	21.0	2.5	4.0	28.6
7	<i>Nd</i>	<i>Nd</i>	<i>Nd</i>	<i>Nd</i>
8	22.0	1.5	3.14	20.6
9	23.0	0.5	2.92	11.9
10	23.0	1.0	3.4	12.4
11	23.0	2.0	3.0	27.3
12	23.5	1.0	2.1	10.2
13	22.0	1.5	3.0	31.4

*Nd= No determinado.*



El oxígeno disuelto (OD) fluctuó de 3.81 a 4.45 mg/l durante mayo, encontrándose sus valores mínimos en aquellas regiones que en su mayor parte se ubican al Este de la laguna, y los niveles más altos, relacionados con ambientes fluviales (Tabla 1).

Este comportamiento se mantuvo para agosto, en el que el oxígeno disuelto estableció una relación estadística con la salinidad del 95% de confiabilidad ( $r = -0.8487$   $\alpha < 0.05$ ) y para ese mes mostró valores desde 3.6 (est. 3) hasta 5.1 y 5.4 mg/l en las estaciones de los Bancos de Atasta y Palizada Vieja (9 y 10) (Tabla 2).

El OD en enero siguió un patrón singular, ya que de manera opuesta a la relación anteriormente mencionada, la dominancia de aguas dulces presentes en esa temporada produjeron una drástica reducción en los niveles de oxígeno disuelto, los cuales en el 92% de los casos fueron de 2.1 a 3.4 mg/l y solo la estación 6 (Los Cayos) mantuvo niveles semejantes a las épocas anteriores con 4.0 mg/l (Tabla 3). Esta condición, puede encontrar justificación en el aumento de materiales orgánicos acarreados a consecuencia de las intensas lluvias registradas durante esta época de "Nortes" y que requieren de ser oxidados vía microbiana.

La Materia Orgánica (%C) siguió un patrón similar durante los dos primeros muestreos, en los que las bocas de los ríos y Punta Piedra (est.2) se consideraron, por su abundancia, como regiones ricas en estos materiales con niveles desde 1.23 a 1.92 %C. Estas zonas, a partir de la relación estadística de 99% de confiabilidad ( $\alpha < 0.01$ ) entre las variables, estuvieron contempladas en regiones con aportes de agua dulce ( $r = -0.69467$  y  $-0.681$ ) y sedimentos finos de tipo limo-arcillosos muy abundantes ( $r = -0.76$  y  $-0.74$ ).

Para el mes de enero el esquema anterior se modificó notablemente. Las relaciones anteriormente mencionadas desaparecieron y algunas zonas, como las del centro de la laguna y aquellas cercanas a la isla, de ambientes típicamente marinos pobres en materiales orgánicos, incrementaron sus valores hasta ser estos semejantes a los de zonas donde fueron característicamente abundantes, con 1.015 y 1.16 %C (est. 5 y 8), mientras que, en localidades como en el Banco de Atasta, los niveles de material orgánico se redujeron a 0.44 %C. Dichos cambios, pueden ser producto de la incidencia de intensas lluvias y vientos huracanados en fechas cercanas al muestreo que favorecieron al transporte de abundantes materiales provenientes de los ríos y de aquellos resuspendidos en regiones poco profundas del interior de la laguna (est. 9), los cuales fueron depositados en zonas cercanas a la Isla del Carmen (Tabla 4), gracias al patrón de circulación, que de acuerdo a Graham *et al.* (1981), tiene una tendencia a ser dominado por la dirección de los vientos, los cuales lo invierten hacia el

**TABLA 4 . CONTENIDO DE MATERIA ORGANICA (% C.O.) EN LAS  
DISTINTAS CLASES DE SEDIMENTO DE LA LAGUNA DE  
TERMINOS DURANTE LAS EPOCAS DE MUESTREO.**

No.	Clase	Mayo 85'	Agosto 85'	Enero 86'
1	arenas >.63 $\mu$	0.210	0.832	0.484
2	limo-arcilla <.63 $\mu$	1.380	1.230	1.206
3	arenas >.63 $\mu$	1.320	1.570	1.620
4	arenas >.63 $\mu$	0.424	0.990	0.595
5	arenas >.63 $\mu$	0.990	0.890	1.160
6	arenas >.63 $\mu$	0.467	0.160	0.750
7	limo-arcilla <.63 $\mu$	1.400	1.920	Nd
8	arenas >.63 $\mu$	0.800	0.600	1.015
9	arcillas <.63 $\mu$	1.320	1.900	0.440
10	arcillas <.63 $\mu$	1.500	1.700	1.600
11	limos <.63 $\mu$	Nd	Nd	1.510
12	arenas >.63 $\mu$	Nd	Nd	0.130
13	arenas >.63 $\mu$	Nd	Nd	0.190

Nd = No determinado

noreste durante los "Nortes" y favorecen la influencia fluvial y el aumento de materiales en suspensión en la mayor parte de la laguna

## MICROBIOLOGIA

### Bacterias en Agua y Sedimentos

Los resultados bacteriológicos estuvieron determinados por la influencia que las bacterias, como seres vivos, reciben del ambiente marino, en especial de la salinidad, la cual ha sido considerada como factor principal del efecto letal que el agua de mar tiene sobre de ellas (Erkenbrecher, 1981; Romero y Rodríguez, 1982; Rosas *et al.*, 1985), aún cuando la temperatura, pH, disponibilidad de nutrientes y luz también pueden restringir la permanencia de las bacterias de origen terrestre en el ambiente (McCalley *et al.*, 1980), en el cual tienen un promedio de vida de tan solo una hora, mientras que las patógenas, que comúnmente les acompañan pueden resistir por lapsos mayores (Goyal *et al.*, 1978; Loh *et al.*, 1979).

En la Laguna de Terminos el efecto que la variación estacional de la salinidad tiene sobre las poblaciones de bacterias coliformes, fué más marcado en aquellas presentes en sedimentos, donde la abundancia de los microorganismos se limitó por la mortalidad de los coliformes suspendidos en la columna de agua indicada por niveles elevados de la salinidad, sin embargo, la relación existente entre estas variables no fue comprobable estadísticamente ya que aún cuando la salinidad sea el principal factor limitante, los cambios climáticos y fenómenos hidrológicos locales que surgen a lo largo del año y la ubicación de las fuentes de aporte afectan al comportamiento linealizado de la relación.

Durante mayo los niveles de salinidad  $>30$  ‰ dominantes, restringieron la abundancia y permanencia de las bacterias coliformes en el ambiente marino. En el agua se encontraron en un ámbito de 22 a 50 bact. CT/100 ml, y las bacterias coliformes fecales (CF) para la mayor parte de las localidades estuvieron ausentes, a excepción de las estaciones 3,7 y 10 en las que se excedieron los límites de calidad permisibles de 70 CT/100 ml con 88 y 380 bact/100 ml respectivamente, y de 14 CF/100 ml, en la 8 y 10 con 22 bact/100 ml (Tabla 5).

En agosto aún cuando prevaleció la alta salinidad en la mayoría de las localidades muestreadas, en gran parte de ellas (80%) se cuantificaron niveles excedidos de coliformes totales con 240 bact CT/100ml, y solo en las estaciones del Río Candelaria y Palizada Vieja fueron detectados coliformes fecales, con 21 y 240 bact/100ml respectivamente. Este aumento en el contenido bacteriano del agua ya ha sido reportado en esta época (lluvias) para la Laguna de Terminos por Romero *et al.* (en prensa), quienes lo atribuyen a escurrimientos de las zonas

**TABLA 5 . CONTENIDO DE BACTERIAS COLIFORMES EN EL AGUA  
 DE LA LAGUNA DE TERMINOS (Bact/100ml) DURANTE  
 LOS MESES DE MUESTREO.**

No.	MAYO 85'		AGOSTO 85'		ENERO 86'	
	C.T.	C.F.	C.T.	C.F.	C.T.	C.F.
1	<u>380</u>	0	<u>240</u>	5	20	2.2
2	22	0	<u>240</u>	2.2	38	<u>20</u>
3	<u>88</u>	0	<u>240</u>	<u>21</u>	38	2.2
4	22	0	<u>240</u>	8.8	20	8.8
5	22	0	21	0	20	<u>20</u>
6	50	0	<u>240</u>	5	<u>240</u>	<u>38</u>
7	<u>88</u>	0	<u>240</u>	2.2	Nd	Nd
8	50	<u>22</u>	38	0	<u>240</u>	<u>38</u>
9	0	0	<u>240</u>	0	5	5
10	<u>380</u>	<u>22</u>	<u>240</u>	<u>240</u>	38	0
11	Nd	Nd	Nd	Nd	21	<u>21</u>
12	Nd	Nd	Nd	Nd	<u>240</u>	<u>240</u>
13	Nd	Nd	Nd	Nd	5	0

Nd = No determinado.

C.T.= Bacterias Coliformes Totales.

C.F.= Bacterias Coliformes Fecales.

X = Excede límites permisibles

urbanas del norte de la laguna y al incrementó en el caudal de los rios, lo cual se hace evidente en el presente trabajo a través de la reducción de los valores de salinidad en la región del Rio Chumpan y las Bocas de Atasta y Palizada Vieja.

Durante mayo, el análisis de sedimentos mostro la ausencia de bacterias coliformes, al igual que en gran parte de las localidades muestreadas para agosto, mes en el que solo estuvieron presentes en la Boca de Puerto Real y el centro de la laguna con 500CT/ 100ml y en los Cayos (est. 6) con 2400 CT/ 100ml, mientras que los coliformes fecales alcanzaron 220 bact/ 100ml en zonas de elevada salinidad cercanas a la Isla del Carmen, y cuya presencia dentro de ese ambiente el cual les es adverso, sugiere fuertemente la existencia en estas localidades de fuentes crónicas de aportes antropogénicos (Tabla 6).

Estadísticamente el registro bacteriano obtenido en sedimentos para agosto, mostro una relación inversa entre CT, CF y la materia orgánica del 99% de confiabilidad ( $r = -0.62$  y  $-0.61$  con  $\alpha < 0.01$ ), la cual no representa la existencia de una interacción real entre las variables, y solo fue útil en apoyo a la detección de áreas de mayor afectación por aportes fecales.

En enero la presencia de un gradiente salino con valores  $< 24$  ‰ permitió la llegada y establecimiento de las bacterias coliformes en los sedimentos, donde se acumularon y alcanzaron valores por arriba de 220 CT/ 100ml y hasta 3800 CT/ 100ml en el 50% de los casos, entre los que sobresalió la región de Balchacah (est. 12) con niveles superiores a 24000 CT/ 100ml que ya han sido anteriormente reportados para agua y sedimentos, razón por la que Romero *et al.*, (en prensa) la han considerado como una zona altamente impactada por aportes fecales.

Durante este mes los coliformes fecales fueron notoriamente más abundantes, con valores desde 220 hasta 3800 bact./ 100ml en las regiones de Boca de Atasta, del Carmen y en el centro de la laguna (Tabla 6).

A pesar de su contenido en los sedimentos, las bacterias coliformes totales en el agua fueron escasas, con valores promedio menores a los de la temporada anterior con 5- 38 CT/100ml, y solo en la Boca del Carmen, Los Cayos (est. 6) y Balchacah se observaron 240 CT/ 100ml. Una situación similar fue encontrada por Loh *et al.* (1979), quienes sugirieron que esto sucede como resultado del desplazamiento de la capa superficial de agua durante la mezcla causada por el viento, el cual en la Laguna de Terminos, previo al muestreo, fue detectado con intensidad considerable.

Los coliformes fecales en el agua excedieron el límite de calidad en un mayor número de localidades, respecto a los anteriores muestreos, entre las que se encuentran las mismas zonas excedidas para coliformes totales además de aquella del centro de la laguna, (est. 5), Punta Piedra (est. 2) e Isla

TABLA 6 . CONTENIDO DE BACTERIAS COLIFORMES EN SEDIMENTOS  
DE LA LAGUNA DE TERMINOS (Bact/100ml) DURANTE  
LOS MESES DE MUESTREO.

No.	MAYO 85'		AGOSTO 85'		ENERO 86'	
	C.T.	C.F.	C.T.	C.F.	C.T.	C.F.
1	0	0	500	220	<u>2400</u>	22
2	0	0	0	0	<u>2400</u>	44
3	0	0	0	0	200	22
4	0	0	0	0	<u>2400</u>	0
5	0	0	500	0	440	220
6	0	0	<u>2400</u>	220	220	0
7	0	0	0	0	Nd	Nd
8	0	0	0	0	<u>3800</u>	<u>3800</u>
9	0	0	0	0	<u>2000</u>	<u>880</u>
10	0	0	0	0	0	0
11	Nd	Nd	Nd	Nd	<u>2400</u>	0
12	Nd	Nd	Nd	Nd	<u>24000</u>	0
13	Nd	Nd	Nd	Nd	880	0

Nd = No determinado.

C.T.= Bacterias Coliformes Totales.

C.F.= Bacterias Coliformes Fecales.

X = > a 2000 Bacterias.

Aguada (est. 11) con valores de 20-38 bact/100ml y de 240 bact/100ml en Balchacah.

El contenido de bacterias CT y CF en agua se relacionaron estadísticamente con confiabilidad del 99% ( $r = 0.65155 \ll 0.01$ ) manteniendo la correspondencia entre la abundancia de bacterias coliformes totales y una parte proporcional de coliformes fecales (Tabla 5).

Microbiológicamente fué posible delimitar como zonas de afectación por aportes fecales a las regiones muestreadas que circundan la Isla del Carmen, Punta Piedra (est.2), Balchacah, Laguna de Panlau y Palizada Vieja, aún cuando las condiciones de alta salinidad que persistieron durante gran parte del año limitando a las poblaciones de bacterias coliformes enmascararon la ubicación de las fuentes de aporte y el verdadero grado de afectación del sistema, sobre el cual y en base a este criterio es riesgoso concluir.

Las fuentes de aporte no fueron identificadas a partir de la distribución de los microorganismos, ya que aún cuando su abundancia debería estar relacionada con la ubicación de regiones urbanizadas, niveles altos fueron encontrados en el centro de la laguna, y en aquellas localidades cercanas a posibles fuentes de aporte, los valores encontrados en agua respecto a los de sedimentos carecían de concordancia y se modificaban de una temporada a otra, incrementándose, como en la Boca de Atasta y del Carmen, o reduciéndose, como en Palizada Vieja, durante enero.

Loh *et al.* (1976) y De la Lanza (1986), sugieren que el comportamiento de los niveles de bacterias coliformes es afectado por modificaciones en las corrientes y flujo mareal lagunar de cuerpos someros, que a su vez alteran la circulación de las aguas y el reparto de sedimentos provocando que regiones muy alejadas a la fuente de aporte sean afectadas por este tipo de contaminación.

Los niveles bacterianos aún cuando en muchos casos sobrepasaron los límites de calidad de agua durante agosto y enero con niveles de  $10^4$  (240 bact/100ml) y aquellas registradas en sedimentos de enero fueron también sobresalientes con  $10^3$  (2000- 24000 bact/100ml), es importante remarcar que trabajos de naturaleza semejante realizados en esta misma localidad durante 1981 y 1982 mostraron valores de  $10^3$  que están por arriba de los aquí mostrados, especialmente durante los meses de junio a septiembre donde son reportadas las mínimas salinidades y no durante los meses de nortes como en el presente trabajo (Romero *et al.*, en prensa), lo anterior permite observar que la variación en los niveles bacteriológicos es tan continua como la del ambiente, e impide considerar a los datos aquí analizados como un patrón general para la Laguna de Terminos.

## Bacterias en Ostión

Los ostiones colectados fueron identificados por personal del laboratorio de Malacología del ICMYL de la UNAM, como pertenecientes a la especie Crassostrea virginica (Gmelin, 1791) la cual esta clasificada de la siguiente forma (Abbot, 1974):

Phylum	Mollusca	Cuvier, 1797.
Clase	Bivalvia	Linneo, 1758.
Orden	Ostreina	Rafinesque, 1815.
Familia	Ostreidae	Rafinesque, 1815.
Género	<u>Crassostrea</u>	Sacio, 1897.
Especie	<u>Crassostrea virginica</u>	Gmelin, 1791.

Estos moluscos como resultado de sus hábitos alimenticios filtradores, captan la materia orgánica suspendida, la cual en aquellas zonas evidentemente contaminadas contiene compuestos orgánicos e inorgánicos provenientes de fuentes antropogénicas que son acumulados en sus tejidos, además de una gran variedad de microorganismos de origen fecal entre los que se encuentran bacterias patógenas causantes de severas gastroenteritis y virus responsables de la hepatitis infecciosa y poliometitis, además de algunos protozoarios como amibas y giardias (Smith et al., 1973).

Diversas especies del género Salmonella han sido encontrados en ostiones, sin embargo la presencia de patógenas es más frecuente en aquellos en los que los niveles de bacterias coliformes fecales son superiores a 230 bact/100ml, como en algunos casos dentro de la Laguna de Terminos (Hood et al., 1983).

Durante mayo las bacterias coliformes en los ostiones de las regiones del Banco de Atasta (est. 9) y Fallada Vieja (est. 10) estuvieron ausentes a excepción de los CT de la última, donde se detectó un valor de 3300 bact/ 100ml y cuyo consumo no representó un riesgo para la salud. Esta condición, seguramente estuvo asociada a la carencia de microorganismos en las aguas y sedimentos del banco (est. 9) sumada a la capacidad de estos organismos para reducir su tasa de filtración como un mecanismo de protección a las elevadas salinidades (est. 10) (Vernberg y Vernberg, 1972), lo cual contribuyo en reducir aún más la posibilidad de acceso bacteriano al intestino de los moluscos (Tabla 7).

En agosto los CF en agua determinaron la abundancia de ellas dentro de los ostiones, estableciéndose una relación del 95% de confiabilidad ( $r = 0.99 < 0.05$ ) que ha sido anteriormente



TABLA 7 . BACTERIAS COLIFORMES EN TEJIDOS DE OSTION  
*Crassostrea virginica* (bact/ 100ml) EN LOS  
 BANCOS DE ATASTA Y PALIZADA VIEJA, EN LA  
 LAGUNA DE TERMINOS DURANTE LOS MESES DE  
 MUESTREO.

Lugar	Mayo 85'		Agosto 85'		Enero 86'	
	C.T.	C.F.	C.T.	C.F.	C.T.	C.F.
No. 9 Atasta	3300	0	570	0	4800	400
No. 10 Palizada Vieja	0	0	3600	3600	760	176

C.T.: Bacterias Coliformes Totales.

C.F.: Bacterias Coliformes Fecales.

señalada por Rosas et al. (1985), para los ostiones de la Laguna El Conchal (Ver.).

Los ostiones de Boca de Atasta registraron 570 CT y ausencia de CF que se asocia a la carencia en aguas, mientras que en Palizada Vieja, donde los niveles en agua fueron de 240 CF/100ml, los coliformes fecales en el interior de los moluscos alcanzaron valores excedidos para el límite de calidad permitido por la Environmental Protection Agency (1973) y la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos (SARH) de 230 CF, con 3600 bact/100ml.

Hacia enero las aguas de los bancos fueron bacteriológicamente adecuadas para la ostricultura, sin embargo los niveles dentro de los moluscos fueron elevados. Esta situación evidenció la existencia de otra fuente de microorganismos distinta del agua, constituida por los sedimentos, respecto a los cuales las bacterias CT y CF establecieron una relación de 99% de confiabilidad ( $r = 0.99$  y  $< 0.01$ ). Los sedimentos para esa época, en el Banco de Atasta funcionaron como sustrato a abundantes bacterias coliformes, las que en esta región, dada su poca profundidad (0.05m), fácilmente pudieron ser resuspendidas por efecto de los intensos vientos característicos de la época (Botello, 1978; Yañez-Arancibia, 1982) registrados previo y durante el muestreo y por el continuo tránsito de lanchas, para quedar a disposición de los filtradores y acumularse en ellos hasta alcanzar 4800CT/100ml y 400CF/100ml y cuyos niveles representan un riesgo para la salud.

En el Banco de Palizada Vieja la ausencia de bacterias coliformes en los sedimentos y los bajos niveles en agua favorecieron la reducción de estos en el interior de los ostiones los cuales fueron menores al muestreo anterior con 760 CT y 176 CF.

La explotación ostrícola es una actividad económicamente importante, en especial la enfocada a Crassostrea virgínica, por ser la especie más abundante en el Golfo de México. A pesar de esto se ha visto que la mayoría de las lagunas costeras y estuarios en que esta se desarrolla, como son los bancos de las Lagunas El Conchal (Ver.), Carmen y Machona (Tabs.) y en reportes previos de la Laguna de Terminos en las localidades de Puerto Rico, Boca de Atasta y Balchacah, no cumplen con las normas de calidad (Tabla 8).

Por otro lado, a través del análisis previamente descrito, se hace patente que no solo la calidad bacteriológica del agua es importante sino también la de los sedimentos, los cuales juegan un papel primordial en la dinámica ecológica de los sistemas lagunares dentro de los cuales se ubica a los bancos ostrícolas.

TABLA. 8 COMPARACION DE CONCENTRACIONES DE BACTERIAS COLIFORMES (bact/100ml) EN AGUAS DE ALGUNOS BANCOS OSTRICOLAS DE *Crassostrea virginica* DEL GOLFO DE MEXICO.

Localidad	CT	CF	Referencia
Laguna de Términos, Camp.	$2.4 \times 10^2$	$2.4 \times 10^2$	Rodríguez y Romero, 1981.
Laguna del Carmen-Machona (Tabasco).	$2.4 \times 10^2$	$2.4 \times 10^2$	Romero y Rodríguez, 1982.
Laguna El Conchal, Ver.	$9.8 \times 10^3$	$3.7 \times 10^2$	Rosas <u>et al.</u> , 1986
Laguna de Términos, Camp.			
Boca de Atasta	$2.4 \times 10^2$	2	Este estudio
Boca Palizada Vieja	$3.8 \times 10^2$	$2.4 \times 10^2$	Este estudio

CT = Bacterias Coliformes Totales.

CF = Bacterias Coliformes Fecales.

Los ostiones de los Bancos de Palizada Vieja y Atasta mostraron diferencias temporales de afectación, donde en el primero, el consumo en crudo de los moluscos represento, un riesgo para la salud durante agosto y en menor medida en enero, mes en el cual lo fue para los de la región de Atasta. Sin embargo, aún cuando existieron en valores excedidos a la norma de calidad, estos son menores a los encontrados en ostiones de esta misma especie en las Lagunas El Conchal, Ver., Mecoacán y del Carmen, Tabs. donde de se alcanzan niveles de  $10^4$  y  $10^5$  CT, de  $10^3$  CF (bact/100ml) (Rosas et al., 1985).

#### COPROSTANOL

El criterio bacteriológico como se ha visto hasta el momento, aún cuando puede delimitar zonas de impacto, sus registros varían notablemente en función de la dinámica lagunar, lo que dificulta concluir, sobre el grado de afectación del sistema. Esta limitante convierte al método bacteriológico en poco adecuado para sistemas tan dinámicos como la Laguna de Términos y quizás también para cualquier otro ecosistema marino (Loh et al., 1979).

Al buscar una alternativa a este problema se ha recurrido al empleo del coprostanol como una nueva opción en el estudio de la contaminación fecal de la Laguna de Términos por las características de especificidad y estabilidad química que el compuesto ofrece, ya que elimina las desventajas que a este respecto muestra la cuantificación bacteriana. Durante los últimos 15 años la eficacia del coprostanol como un indicador de contaminación fecal ha sido probada en diversas investigaciones y cuyos resultados han servido de apoyo a esta nueva técnica, para la cual aun no existe reglamentación (Murtaugh y Bunch, 1967; Smith y Gouron, 1969; Kirchmer, 1971; Dutka, 1974; 1975; Goodfellow y Teshima., 1977; Hatcher et al., 1977; Kanazawa et al., 1978; Hatcher y McGillivray, 1979; McCalley et al., 1980; Yde et al., 1982; Walker et al., 1982; Wade et al., 1983; Brown y Wade, 1984; Pierce y Brown, 1984).

Murtaugh y Bunch (1967), en un intento por establecer los límites permisibles del compuesto en el ambiente, determinaron a partir de la idea de la existencia de una relación proporcional entre ambos indicadores, que la máxima sensibilidad del método de valoración del coprostanol en agua es de 0.02 ppb, lo cual es comparable al límite de cuantificación en la enumeración bacteriana que es de 2bac/100ml.

Al tomar en cuenta este razonamiento Kirchmer (1971), propuso los límites de 2 ppb para aguas de contacto primario, para las que se recomiendan niveles bacterianos no mayores a 2000 CF en las que 20 ppb de coprostanol es el máximo permisible.

En las aguas de áreas ostrícolas las bacterias coliformes no deben exceder 70 CT y 14 CF/ 100ml, respecto a las cuales la detección de 0.14 y 0.46 ppb del compuesto hacen a las aguas medianamente e inadecuadas para este uso. Sin embargo, el establecimiento de límites de su contenido en sedimento no ha sido tomado en cuenta a pesar de su importancia.

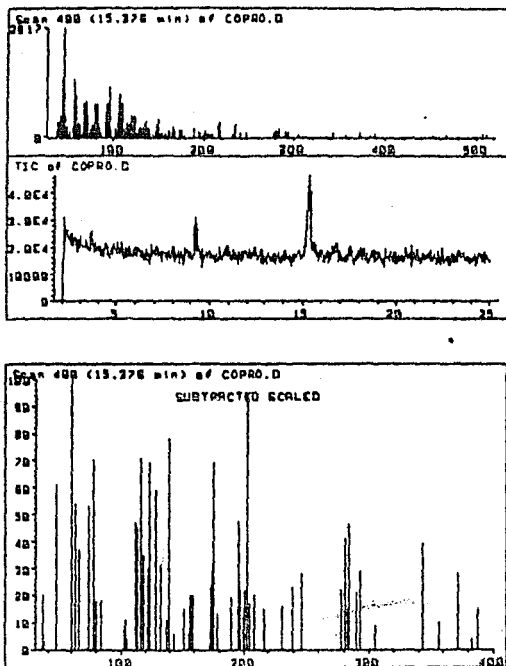
En la actualidad el análisis cromatográfico es el método de cuantificación más utilizado en la evaluación de contaminantes y/o indicadores orgánicos como es el caso del Coprostanol, ya que permite la separación y registro de los compuestos contenidos en cada muestra entre los que figuran otras clases de esteroides de origen natural que forman parte de la compleja mezcla de materiales orgánicos. En el presente trabajo, a través de la cromatografía de gases, fueron encontrados Colesterol, Estigmasterol y Desmosterol tanto en las muestras de mar abierto como en aquellas del interior de la laguna, sin embargo el Coprostanol solo se detectó en estas últimas donde para algunas muestras fue muy abundante, en especial la de la localidad de Punta Piedra (est. 2) en el mes de agosto en la que fue comprobada su presencia mediante la identificación del compuesto por Espectrometría de Masas (Fig. 7 y 8B).

El comportamiento seguido por el coprostanol está de acuerdo con lo encontrado a lo largo de diversas investigaciones en las que ha sido buscado en mar abierto sin éxito alguno, detectándose en su lugar esteroides como el Colesterol, Estigmasterol y Sitosterol, entre los principales, (Mattheus y Smith, 1968 citado por Hatcher *et al.*, 1977; Attaway y Parker, 1970; Gagossian, 1975). Sin embargo en aguas y sedimentos de regiones costeras cercanas a centros urbanos ha sido fácilmente identificado (Goodfellow *et al.*, 1977; Hatcher *et al.*, 1977; McCalley *et al.*, 1980; Pierce y Brown, 1984), e incluso se ha encontrado, a pesar de ser un compuesto de origen exclusivamente humano, en el intestino de organismos detritívoros y filtradores que viven en ambientes contaminados por aguas de desecho, de donde probablemente lo toman (O' Rouke, 1980).

Dentro de la Laguna de Términos el coprostanol fue detectado en el 77.7% de las muestras obtenidas durante el ciclo muestreado, a lo largo del cual, la estación 4 mantuvo niveles no detectables del compuesto (Tabla y Fig. 9)

En mayo los niveles observados fueron de 0.064 - 0.44 ppm, con un valor promedio de 0.197 ppm, representado en un 45.5% por aquellas zonas cercanas a las Islas del Carmen y Aguada (est. 1,6, 2), el 40.5% por regiones de descarga fluvial (est. 3,7,10) y el resto se encontró depositado en concentraciones menores en las estaciones 9, 8 y 5 (Fig. 8A).

En agosto, el contenido total de coprostanol en la laguna se incrementó en casi 1 ppm y alcanzó el valor medio más alto



Scan 400 (15.376 min) of COPRO.D  
 ESTANDAR DE COPROSTANOL

m/z	abund.	m/z	abund.	m/z	abund.	m/z	abund.
35.00	20	116.00	71	174.00	29	281.00	41
36.00	3	118.00	35	175.00	59	283.00	15
46.00	61	122.00	30	178.00	13	284.00	46
59.00	59	123.00	69	189.00	19	290.00	21
60.00	100	128.00	59	195.00	47	293.00	29
63.00	54	132.00	31	196.00	23	305.00	9
66.00	37	137.00	11	199.00	12	343.00	39
74.00	53	139.00	78	200.00	22	356.00	10
78.00	70	143.00	6	202.00	95	372.00	28
80.00	18	151.00	15	204.00	17	383.00	4
84.00	18	155.00	6	208.00	20	<u>388.00</u>	15
102.00	7	156.00	20	217.00	15	453.00	5
103.00	11	157.00	13	231.00	16	467.00	6
104.00	4	158.00	20	239.00	23	507.00	15
112.00	47	172.00	2	246.00	28	511.00	11
113.00	45	173.00	23	278.00	22		

FIG. 7. ESPECTRO DE MASA DEL COPROSTANOL

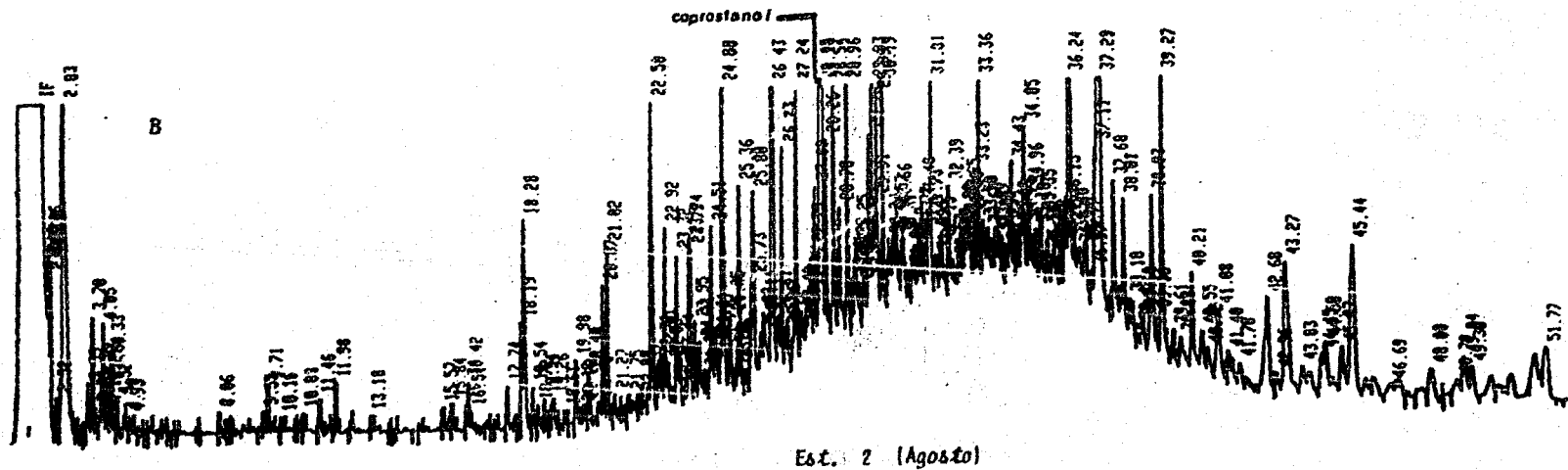
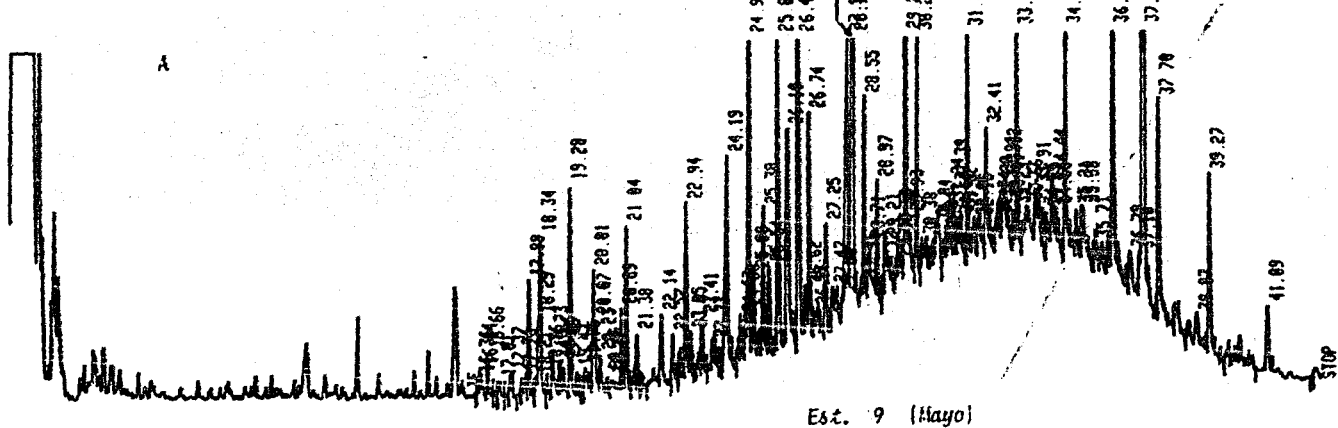


FIG. 8. CROMATOGRAMAS PARA LA IDENTIFICACION DEL COPROSTANOL EN SEDIMENTOS.

**TABLA 9 . CONTENIDO DE COPROSTANOL EN LOS SEDIMENTOS  
 DE LA LAGUNA DE TERMINOS ( $\mu\text{g/g}$ ) DURANTE LOS  
 MUESTREOS DE 1985 Y 1986.**

<i>No.</i>	<i>Mayo</i>	<i>Agosto</i>	<i>Enero</i>
1	0.212	0.468	0.163
2	0.44	0.868	0.140
3	0.238	0.136	0.022
4	N.D	N.D	N.D
5	0.132	0.817	0.051
6	0.244	0.318	0.244
7	0.265	N.D	Nd
8	0.08	N.D	0.191
9	0.064	0.283	0.063
10	0.296	N.D	0.829
11	Nd	Nd	0.059
12	Nd	Nd	0.223
13	Nd	Nd	N.D
<i>Promedio</i>	0.197	0.289	0.165

N.D= No Detectable  
 Nd = No determinado



para el ciclo muestreado con 0.289 ppm. Este aumento, también observado a través del análisis bacteriológico de agua, se dio principalmente en respuesta al incremento de los escurrimientos urbanos cerca de los cuales los niveles son más elevados, y en menor medida al del caudal de los ríos.

El coprostanol durante esta época se distribuyó en el 60% de las localidades muestreadas con niveles que van de 0.136 ppm (est. 3) hasta 0.868 ppm (est. 2) (Fig. 9A), donde la mayor parte del compuesto (57%) se localizó en las mismas regiones en las que durante mayo fue más abundante, el 14.5% se ubicó en las localidades muestreadas asociadas a la influencia fluvial y el 28.35 % se localizó en la estación 5, central a la laguna con 0.817 ppm hasta la cual el coprostanol fue transportado, proviniendo probablemente de las cercanías de las Islas del Carmen y Aguada, a través de la corriente lagunar.

Para enero se estableció un patrón ambiental particular, con cambios notables en los parámetros hidrologicos y de la materia orgánica, ocasionados probablemente por variación en el clima y consecuentemente en la circulación lagunar, que afecto al contenido normal de coprostanol, al reducir sus niveles en la mayor parte de las localidades donde estuvo presente (83% est.) con 0.220 - 0.244 y un valor medio de 0.096 ppm. a excepción de las localidades de Boca de Palizada Vieja (est. 10), que fue excluida del promedio, ya que en ella estos se incrementaron hasta 0.829 ppm que constituye el 41.8% del contenido total de la laguna y la de Boca del Carmen (est. 8), la cual para las épocas anteriores oscilo entre niveles no detectables y de 0.08ppm y que durante este mes se elevaron a 0.191 ppm (9.6%), en respuesta al establecimiento temporal de estas regiones como puntos de depositación.

A pesar de la casi general reducción de coprostanol, su distribución fue similar a la de los meses anteriores, en la que en aquellos sitios cercanos a las Islas y Punta Piedra, se registraron las mayores proporciones del compuesto representadas por el 30.5% y los de influencia fluvial las menores con 10.3%.

La presencia del coprostanol se extendió a lo largo del ciclo muestreado en la mayor parte de las localidades analizadas en el interior de la laguna, lo cual sugiere que el fecalismo es un problema que a pesar de tener su principal origen en los centro urbanos de la Ciudad del Carmen e Isla Aguada y en menor grado en las regiones de Balchacah y Boca de Atasta, se ha generalizado afectando a áreas muy alejadas del interior de la laguna a través de diversos fenómenos involucrados en la dinámica sedimentaria e hidrológica del sistema (Fig. 9).

La estación 2 a pesar de que en ella se encontraron niveles muy elevados de coprostanol en los primeros muestreos (Fig. 8B), el cambio en las condiciones hidrológicas y climáticas los afectó severamente, lo que sugiere la posibilidad de que esta no sea una región de aportes fecales continuos, sino una área de depositación al igual que las estaciones 5, para agosto y 8 y 10

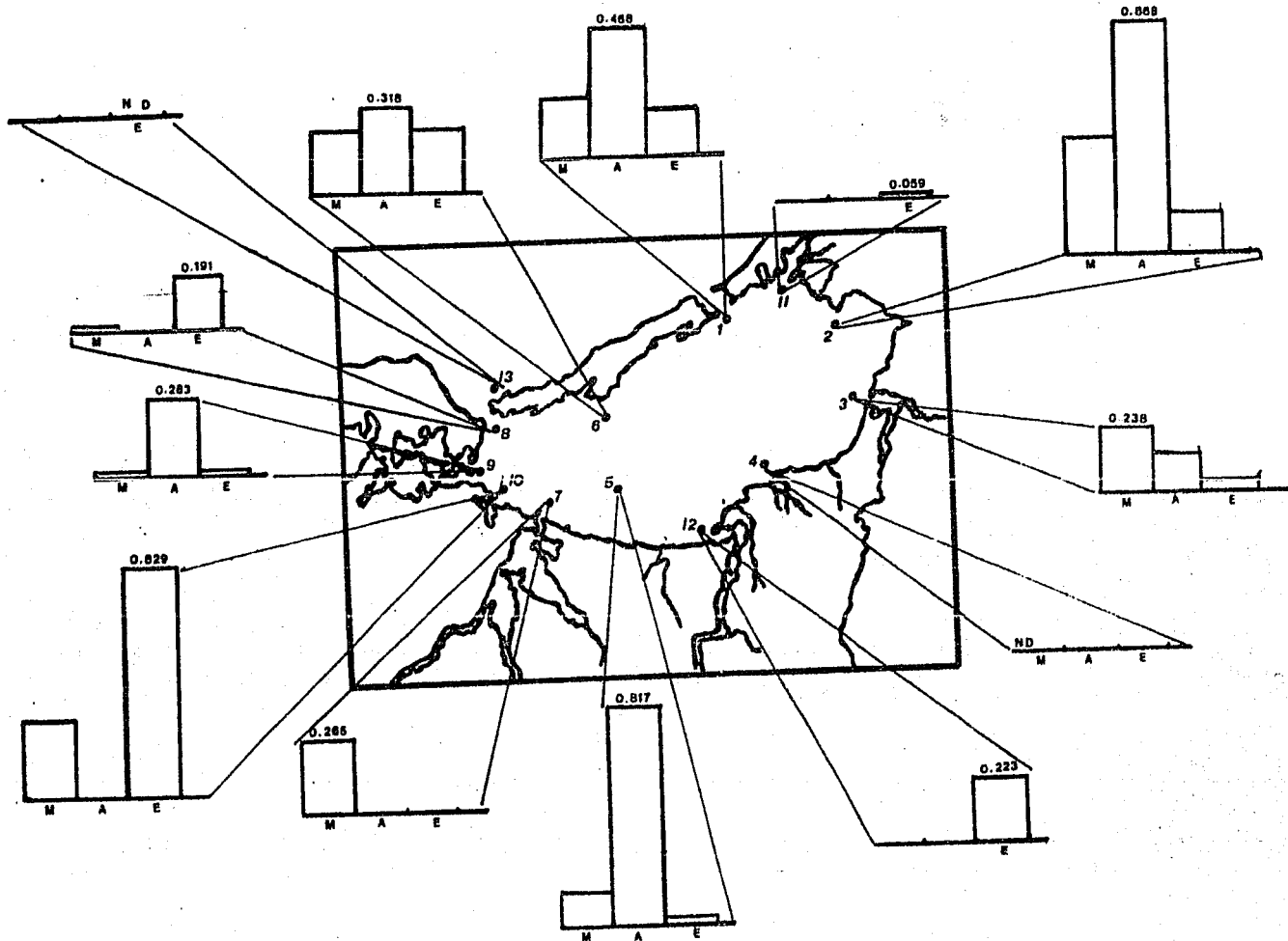


FIG. 9 DISTRIBUCION DE LOS NIVELES DE COPROSTANOL (ppm) EN SEDIMENTO, A LO LARGO DEL CICLO MUESTREADO.

para enero, las cuales surgen en zonas delimitadas de circulación restringida que resultan de la asociación del flujo de aguas saladas con agua dulce, hasta adquirir un determinado balance (est. 5) , o al perder energía por la acción de flujos opuestos (est. 8, 10) que llegan a producir una relativa estabilidad en dichas áreas (Yañez, 1963).

El origen común de las Bacterias Coliformes, especialmente las fecales, y el Coprostanol posibilita de modo importante la existencia de una relación estadística entre los valores encontrados para ambos en el ambiente marino la cual fue comprobada por Goodfellow *et al.* (1977), sin embargo esta no siempre se ha hallado presente (Dutka, 1974; Dutka y El-Shaarawi, 1975; Yde *et al.*, 1982).

La no relación entre los indicadores ha sido observada por Walker *et al.* (1982), quienes sugieren que algunos factores ambientales como la clorinación de las aguas de desecho, calentamiento y descargas industriales tóxicas hacen desaparecer a las bacterias coliformes sin tener influencia alguna sobre el coprostanol.

En la Laguna de Términos, un efecto similar puede tener la salinidad que limita notablemente la persistencia de los coliformes sin afectar al coprostanol, lo cual impide el establecimiento de una relación con los niveles de este compuesto que pueda ser estadísticamente comprobable. Sin embargo la detección de este esteroide en el ambiente, es indicativo de la posible presencia de parásitos entéricos, virus y bacterias patógenas (Walker *et al.*, 1982).

El contenido del coprostanol no se relacionó con ninguno de los parámetros evaluados , lo cual sugiere que los únicos factores que podrían restringir su presencia son, la carencia de aportes fecales o la remoción de los sedimentos que los contienen, por efecto de resuspensión y/o transporte.

Las concentraciones del Coprostanol detectadas en el presente estudio han sido comparadas con las obtenidas para otras regiones, las cuales fueron semejantes a las encontradas en la ciudad de Virginia por Brown y Wade (1984), y mayores a las reportadas para Mazatlán, Veracruz (Escalona *et al.*, 1980) y Río Coatzacoalcos (Cortez y Botello, en prensa) (Tabla 10).

TABLA. 10 COMPARACION DE LAS CONCENTRACIONES DE COPROSTANOL (ppm) EN SEDIMENTOS DE DISTINTAS REGIONES DEL MUNDO.

Localidad	Concentracion (ppm)	Referencia.
Estuario Clyde, Escosia.	0.1 - 14	Godfellow, 1977.
Bahia de New York, E.U.	4.8 - 5.2	Hatcher <i>et al.</i> , 1977
Asia.	0.02 - 1.77	Kanazawa <i>et al.</i> , 1978.
Bahia Swansea, Inglaterra	1.6 - 2.8	McCalley, 1980
Estuario Severn, Inglaterra.	0.9 - 3.1	McCalley, 1980.
Veracruz, México.	0.006 - 0.44	Escalona y Rosales, 1980.
Mazatlán, México.	0.020 - 0.2	Escalona y Rosales, 1980.
Virginia, E.U.	0.019 - 0.45	Brown y Wade, 1984.
Bahia Sarasota, Florida.	2.5	Pierce y Brown, 1984.
Rio Coatzacoalcos, México.	0.013 - 0.634	Cortez y Botello, 1987.
Laguna del Ostion, Ver.	0.013 - 2.284	Cortez y Botello, 1987
Laguna de Términos, Camp.		
mayo	0.064 - 0.44	Este estudio
agosto	ND - 0.868	Este estudio
enero	0.022 - 0.829	Este estudio

ND = No Detectable.

## CONCLUSIONES

Con base a los objetivos planteados y de acuerdo a los datos obtenidos, se emiten las siguientes conclusiones:

1.- Los niveles de bacterias coliformes (bact./ 100ml) encontrados en agua de las localidades de Puerto Real, Rio Candelaria, Boca Chica y Palizada Vieja, excedieron la norma de calidad con valores desde 88 a 380 CT y 22 CF para mayo; en 80% de la regiones muestreadas en agosto, y en enero en Punta Piedra, Los Cayos, Boca el Carmen, Balchacah, Isla Aguada y el centro de la laguna con 240 CT y de 21 a 240 CF.

2.- En sedimentos las bacterias coliformes se encontraron durante agosto en las proximidades de la Isla del Carmen con 500 a 2400 CT/100ml y 220 CF/100ml, y en enero fueron registradas en todas las localidades en ámbitos de 200 a >24000 CT y de 22 a 3800 CF.

3.- El contenido de bacterias coliformes en los ostiones de la Laguna de Términos sobrepasó los límites de calidad con 3600 CF/100ml en el Banco de Palizada Vieja durante agosto, y en enero con 400 CF/100ml el de Atasta.

4.- El contenido de coliformes fecales dentro de los ostiones y aquellos presentes en el agua establecieron para agosto una relación estadística del 95% de confiabilidad (  $r=0.99 \llcorner < 0.05$  ), y para enero existió una correspondencia entre CT Y CF en los moluscos con aquellos presentes en sedimento con el 99% de confiabilidad (  $r=0.99 \llcorner < 0.01$  ).

5.- El Coprostanol, no fue detectado en mar abierto , mientras que en la mayor parte de la laguna se mantuvo presente a lo largo de los tres muestreos en ámbitos de 0.064 - 0.44 ppm para mayo, ND - 0.868ppm en agosto y de 0.022 - 0.829 ppm durante enero.

6.- La salinidad, a pesar de ser un factor limitante en la persistencia de las bacterias coliformes en el ambiente lagunar no registro efecto alguno sobre el coprostanol.

7.- Los niveles de coprostanol detectados y el cambio de estos a los largo del ciclo muestreado evidenciaron la existencia de zonas impactadas por aportes directos de materiales fecales en las áreas de Puerto Real y Los Cayos, que circundan a la Isla del Carmen, e indicaron zonas a las que el compuesto es acarreado y acumulado como en Punta Piedra para mayo y agosto, además de la zona centro de la laguna, y las Bocas de Atasta y del Carmen para enero.

8.- El coprostanol no estableció relación con ninguno de los parámetros evaluados, y su distribución obedeció no solo a la ubicación de las fuentes de aporte, si no también al efecto de los fenómenos hidrodinámicos, el cual requiere de ser analizado.

9.- Los niveles bacteriológicos en el sedimento y agua se han mantenido sin cambios importantes desde 1981, año en el que fueron reportados por Rodríguez y Romero contenidos de 240 CT y CF/ 100ml, semejantes a los aquí obtenidos, los cuales hacen notar que a pesar de la capacidad de autodepuración del sistema, los aportes fecales continuos demeritan desde el punto de vista salud pública, la calidad del ambiente lagunar y ponen en peligro la de los recursos pesqueros que de ella se obtienen.

## BIBLIOGRAFIA.

- Abbot R.T., (1974) *AMERICAN SEASHELLS. The Marine Mollusca of the Atlantic and Pacific Coast of North America.* Van Nostrand Reinhold Co., New York. 2a. Ed., 666 pp.
- American Pub. Health Assoc.,(1970). *Recomended procedures for the bacteriological examination of water and shellfish*, 4th Ed. Am. Pub. Healt Assoc. New York, pp 105.
- American Pub. Health Assoc., (1980). *Standard methods for the examination of water and wastewater*, 15th Ed. Am. Pub. Healt Assoc., New York pag. 747- 925.
- Amezcua L. F. y Yañez- Arancibia, (1980). *Ecología de los sistemas fluvio-lagunares asociados a la Laguna de Términos. El habitat y la estructura de las comunidades de peces.* An. Centr. Cienc. del Mar y Limnol. UNAM, 7 (1): 70- 118.
- Attaway D. y P.L. Parker , (1970). *Sterols in recent marin sediments.* Science 169: 674- 676.
- Ayres P.A., (1977). *The use of faecal bacteria as a tracer for sewage sludge disposal in the sea.* Mar. Pollution. Bull. 8: 283-285.
- Babinchak J.A., Graikoski J.T.,Dudley S. y M.F. Nitkowski, (1977). *Distribution of faecal coliforms in botton sediments from the New York Bight.* Mar. Poll. Bull. 8: 150-153.
- Branco M.S., (1984). *LIMNOLOGIA SANITARIA, Estudio de la polución de aguas continentales.* Sec. Gral. de la Org. de Est. Am., Programa de Desarrollo Científico y Tecnológico. Washington D.C., pp. 120.
- Brown C.R. y T.L. Wade, (1984). *Sedimentary coprostanol and hydrocarbon distribution adjacent to a sewage outfall.* Water. Res. 18: 621-632.
- Botello V.A., (1978). *Variación de los parámetros Hidrológicos en la época de sequía y lluvias (mayo y noviembre de 1974) en la Laguna de Términos, Campeche, Mexico.* An. Centr. de Cienc. del Mar y Limnol., UNAM., 5(1).
- Carranza E., Gutierrez E.M. y T.R. Rodriguez, (1975). *Unidades morfotectónicas continentales de las costas mexicanas.* An. Centr. Cienc. Mar y Limnol. UNAM., 2(1): 81- 88.
- Cortez V.J. y A.V. Botello, ( en prensa). *Determinación de metabolitos del colesterol en el Rio Coatzacoalcos, Ver., por el método de cromatografía en fase de vapor.*

- De la Lanza Espino, G., (1986). Calidad ambiental de la Laguna de Mezcaltitán, Nayarit, México, durante el estiaje. An. Inst. Cienc. del Mar y Limnol. UNAM., 13 (2): 315-328.
- DeJaat A.N.C., (1983). MICROBIOLOGIA. 2th Ed. Interamericana, México. pp. 429.
- Dutka B.J., Chaw A.S.Y. y J. Coburn, (1974). Relationship between bacterial indicators of water pollution and fecal sterols. Water Res. 8: 1047-1055.
- Dutka B.J. y A. El-Shaarawi, (1975). Relationship between various bacterial populations and coprostanol and cholesterol. Can. J. Microbiol., 21: 1386-1398.
- Druilhet R.E., Trazler R.W. y J.M. Sobek, (1968). Bacterial utilization of cholesterol. Antoine van Leewenhoeck. J. Microb. 34: 315.
- Eneroth P., Hellstrom K., R. Ryhage, (1964). Identification and quantification of neutral fecal esterooids by gas liquid chromatography and mass spectrometry: studies of human excretion during two dietary regimens. J. Lipid Res. 5: 245-262.
- Enviromental Protection Agency, (1973). WATER QUALITY CRITERIA, Ecological Research Series, Washington, D.C. 594 pp.
- Escalona R.L., Rosales M.T.L. y E.F. Mandelli, (1980). On the presence of fecal steroids in sediments from two Mexican harbors. Bull. Environm. Contam. Toxicol. 24: 289-295.
- Erkénbrecher C.W., (1981). Sediment bacterial indicators in an urban shellfish subestuary of the lower Chesapeake Bay. Appl. Environm. Microb., 42: 484- 492.
- Gaudette H.E., Flight W. R., Toner L. y D. W. Folger (1974). An. Inexpensive titration method for the determination of organic carbon in recent sediments. J. Sediment. Petrol., 44(1): 249- 253.
- Gagossian B.R., (1975). Sterols in the western North Atlantic Ocean. Geoch. et Cosmoch. Acta. 39: 1443-1454.
- Goodfellow R.M., Cardoso J., Eglinton G., Dawson J.P., G.A. Best, (1977). A faecal sterol survey in the Clyde Estuary. Mar. Pollut. Bull. 8: 272-276.
- Goyal M.S., Charles P.G., L.J. Melnick, (1978). Prevalence of human enteric viruses in coastal canal communities. J. Wat. Poll. Contr. Fed. 56: 2247-2256.



- Graham S. T., Daniels P. J., Hill M. J. y Day W. J. (1981). A preliminary model of the circulation of Laguna de Términos, Campeche, México. *An. Inst. Cienc. del Mar y Limnol. UNAM. Mexico*, 8(1): 51-62.
- Hasset J.P. y F.G. Lee, (1977). Sterols in natural water and sediment. *Water Res.* 11: 983-989.
- Hatcher G.P., Keister E.L. y A.P. McGillivray, (1977). Steroids as sewage specific indicators in New York Bight sediments. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 17: 491- 498.
- Hatcher G.P. y A.P. McGillivray, (1979). Sewage contamination in the New York Bight: Coprostanol as an indicator. *Environm. Science and Tech.* 13: 1225-1229.
- Henderson W., Reed E.W., Steel G. y M. Calvin, (1971). Isolation and identification of sterols from a Pleistocene sediment. *Nature.* 231: 308-309.
- Hood A.M., Ness E.G. y N.J. Blake, (1983). Relationship among fecal coliforms. Escherichia coli and Salmonella spp in shellfish. *Appl. Env. Microbiol.* 45: 122-126.
- Ikan R., Baedecker M.J. y I.R. Kaplan, (1975). Thermal alteration experiments on organic matter in recent marine sediment III. Aliphatic and steroidal alcohols. *Geochim. et Cosmochim. Acta.* 39: 195-203.
- Kanazawa A. y S. Teshima, (1971). Sterols of the suspended matters in sea water. *J. of Ocean Soc. Japan.* 27: 207-212.
- Kanazawa A. y S. Teshima (1978). Ocurrence of Coprostanol, 2, 4-Ethylcoprostanol and 5  $\beta$ -stanols in the marine sediments. *J. of Ocean. Soc. Japan.* 34: 85- 92.
- Kirchner C.J., (1971). 5  $\beta$ -cholestan- $\beta$ 3 ol: an indicator of fecal pollution, Ph. D. Thesis. University of Florida, Gainesville.
- Lankford R.R., (1977). Coastal lagoons of Mexico: Their origin and clasifacion. In: Wiley M.E. *Estuarine Process, Circulation, sedimentes and transfer of material in the estuary.* Acad. Press. Inc., New York, 2: 182-215.
- Lehninger A. L., (1974). *BIOQUIMICA.* Ed. Omega, Mexico, 1117 pp.
- Lin S.D., Connor E.W., Napton K.L. y F.R. Herizer, (1978). The steroids of 2000 year-old human coprolites. *J. of Lipid Res.*, 19: 215-221.
- Loh P.C., Rogers S., Fujioka y L. Stephenlau, (1979). *Water Air and Soil Pollution.* 12: 197- 217.

- Mancilla P.M. y M.F. Vargas, (1980). Los primeros estudios sobre la circulación y el flujo neto de agua a través de la Laguna de Términos, Campeche. An. Centro Cienc. Mar y Limnol. UNAM., 7(2): 1- 12.
- Mandelli F.E. y V.A. Botello, (1978). Informe final sobre el estudio de las variables relacionadas con la calidad de las aguas de la Laguna de Términos y áreas costeras adyacentes, Campeche, México. ICMYL. UNAM.
- McCalley V.D., Cook M. y G. Nickless, (1980). Coprostanol in Severn Estuary sediments. Bull. Environm. Contam. Toxicol., 23: 374-381.
- Murtaugh J.J. y R.L. Bunch, (1967). Sterols as a measure of fecal pollution. J. Water Pollut. Cont. Fed., 39: 404-409.
- O'Rourke J.C., (1980). A survey of lower animals for the presence of coprostanol. M.S. Thesis. University of Massachusetts, Amherst.
- O' Shea J. y R.L. Bunch, (1965). Uric acid as a pollution indicator. J. Watt. Poll. Cont. Fed., 37: 1444- 1446.
- Parmentier G. y H. Eyssen, (1974). Mechanism of biohydrogenation of cholesterol to coprostanol by Eubacterium ATCC- 21 408. Biochem. Biophysc. Acta, 348: 279- 284.
- Phleger F.B. y A. Ayala-Castañares, (1971). Proceses and history of Terminos lagoon, Mexico. An. Assoc. Petroleum Geologist. Bull. 55: 2130- 2140.
- Pierce R.H. y R.C. Brown, (1984). Coprostanol distribution from sewage discharge into Sarasota Bay, Florida. Bull Environm. Contam. Toxicol., 32: 75-79.
- Ponce V.M.G., (1988). Evaluación de metales pesados en sedimentos recientes y tejidos del ostión Crassostrea virginica (Gmelin, 1791) de la Laguna de Términos, Campeche, México. Tesis Profesional de la Facultad de Ciencias . UNAM.
- Rhead M.M., Eglinton G. y G.H. Draffman, (1971). Hydrocarbons produced by the thermal alteration of cholesterol under conditions simulating the maturation of sediments. Chemical Geology, 8: 277- 297.
- Rodríguez S.H. y Romero J.J., (1981). Niveles de contaminación bacteriana en dos sistemas fluviolagunares asociados a la Laguna de Términos, Campeche. An. Inst. Cienc. del Mar y Limnol.. UNAM . 8(1): 63- 68.
- Romero J. y H. Rodríguez, (1982). Niveles actuales de contaminación coliforme en el sistema lagunar del Carmen-Machona, Tabasco. An. Inst. Cienc. del Mar y Limnol. UNAM., 9: 121- 126.

- Romero J., Ferrara-Guerrero J., Lizárraga P.L. y S.H. Rodríguez (en prensa). Variación estacional de las poblaciones de enterobacterias en la Laguna de Términos, Campeche.
- Rosas I., Yela A. y A. Baez, (1985). Bacterias indicadoras de contaminación fecal en ostión (Crassostrea virginica) durante su desarrollo y procesamiento en el mercado. *Contaminación Ambiental. UNAM.*, México, 1: 51- 64.
- Rosenfeld R.S., Fukushima K.D., Hellman L. y T.F. Gallager, (1954). The transformation of cholesterol to coprostanol. *J. Biol. Chem.*, 211: 301- 311.
- Rosenfeld R.S. y T.F. Gallager, (1964). Further studies of the biotransformation of cholesterol to coprostanol. *Steroids* 4: 515- 520.
- Rosenfeld R.S., (1964). The isolation of coprostanol from sterol esters of human faeces. *Arch. Biochem. and Biophys.*, 108: 384- 385.
- Rosenfeld R.S. y L. Hellman, (1971). Reduction and esterification of cholesterol and sitosterol by homogenates of faeces. *J. Lipid. Res.*, 12: 192.
- Saad H.Y. y W.I. Higuchi, (1965). Cholesterol particle growth and dissolution rates II. Retardation effects of cholate. *J. Pharm. Sci.*, 54: 1303.
- Smith L.L. y E.R. Gouron, (1969). Sterol metabolism- VI. Detection of 5 $\beta$ - cholestan 3 $\alpha$ ol in polluted waters. *Wat. Res. Pergamon. Press.*, 3: 141-148.
- Smith R., Twedt R. y L. Krusel, (1973). Relationship of indicator and pathogenic bacteria in stream waters. *J. Wat. Pollut. Control Fed.*, 45: 1736- 1745.
- Snoj-Kjaer A., Prange I. y H. Dam, (1956). Conversion of cholesterol into coprostanol by bacteria in vitro. *J. Gen. Microbiol.*, 14: 256- 260.
- Subiah M. T.R., Kottke B.A. y P.E. Zollmann, (1972). Fecal sterols of some avian species. *Comp. Biochem. Physiol.*, 41 B: 695.
- Tapia B.N.C., (1984). Determinación de los niveles de hidrocarburos en el ostión Crassostrea virginica de la Laguna de Términos, Campeche, México. Tesis, Facultad de Ciencias. UNAM.
- Volterra L., Alicino F., Tost E. y M. Zicarelli, (1980). Bacteriological monitoring of pollution in shellfish: methodological evaluation. *Water, Air and soil Pollut.* 13: 399- 410.

- Vernberg, W. B. y F. J. Vernberg, (1972). *ENVIRONMENTAL PHYSIOLOGY OF MARINE ANIMALS*. Springer-Verlag, New York. 315 pp.
- Wade T.L., Oertel G.F. y R.C. Brown, (1983). Particulate hydrocarbon and coprostanol concentration in shelf waters adjacent to Chesapeake Bay. *Canadian J. of Fish. Aquatic Sciences*, 440: 34- 40.
- Walker W.R., Chun W.K. y W. Litsky, (1982). Coprostanol as an indicator of fecal pollution. *Cit. Rev In: Env. Cont.* pp 91-112.
- Wum C.K., Walker R.W. y W. Litsky, (1976). The use of XAD-2 resin for the analysis of coprostanol in water. *Water Res.*, 10: 955.
- Yañez A. A. y J. W. Day, (1982). Ecological characterization of Terminos Lagoon. estuarine system in the Southern Gulf of Mexico. 431- 440. In: Lasserre, P. y H. Postma (Eds.) *Coastal Lagoons. Oceanologica Acta. Vol. Spec.*, 5(4): 462p.
- Yañez-Arancibia A., Dominguez L.L., Chavance P. y F.D. Hernandez, (1983). Environmental behavior of Terminos Lagoon. Ecological system Campeche, Mexico. *An. Inst. Cienc. del Mar y Limnol. UNAM.*, 10: 137- 176.
- Yañez C.A., (1963). Batimetria, salinidad, temperatura y distribucion de los sedimentos recientes de la Laguna de Terminos, Campeche, Mexico. *Inst. de Geologia. UNAM, Bol.* 63/1.
- Yde M. y S. Maeyer-Cleempoel, (1980). Faecal pollution of Belgian Coastal. *Water Mar. Pollut. Bull.*, 11: 106- 110.
- Yde M., De Wulf E., Maeyaer-Cleempoel S. y D. Quaghebeur, (1982). Coprostanol and bacterial indicators of faecal pollution in the Scheldt Estuary. *Bull. Environm. Contam. Toxicol.*, 28: 129-134.