



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

**Interacción biológica de *Ambystoma
mexicanum* con las bacterias patógenas
presentes en su hábitat**

Limnología

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
BIÓLOGO

PRESENTAN:

JIFKINS LANDERO JANETE

DIRECTOR DE TESIS:

DR. DIEGO DE JESÚS CHAPARO HERERA

ASESOR INTERNO

DRA. BERTHA PEÑA MENDOZA



México, CdMx a 12 de septiembre del 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

“ZARAGOZA”

DIRECCIÓN

**JEFE DE LA UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
P R E S E N T E.**

Comunico a usted que la alumna **JIFKINS LANDERO JANETTE**, con número de cuenta **409016396**, de la carrera de Biología, se le ha fijado el día **12 de septiembre de 2017** a las **09:00 hrs.**, para presentar examen profesional, el cual tendrá lugar en esta Facultad con el siguiente jurado:

- PRESIDENTE** Dr. JOSÉ LUIS GÓMEZ MÁRQUEZ
- VOCAL** Dr. DIEGO DE JESÚS CHAPARRO HERRERA*
- SECRETARIO** Dra. BERTHA PEÑA MENDOZA
- SUPLENTE** Biól. JOSÉ LUIS GUZMÁN SANTIAGO
- SUPLENTE** M. en C. JORGE ANTONIO VALVIDIA ANISTRO

(Handwritten signatures on horizontal lines)

El título de la tesis que presenta es: **Interacción biológica de *Ambystoma mexicanum* con las bacterias patógenas presentes en su hábitat.**

Opción de titulación: Tesis

Agradeceré por anticipado su aceptación y hago propia la ocasión para saludarle.

ATENTAMENTE
“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
 Ciudad de México, a 28 de junio de 2017

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
 ZARAGOZA
 DIRECCIÓN

DR. VÍCTOR MANUEL MENDOZA NÚÑEZ
DIRECTOR

(Handwritten signature of Dr. Víctor Manuel Mendoza Núñez)

RECIBÍ
 OFICINA DE EXÁMENES
 PROFESIONALES Y DE GRADO

(Handwritten signature)
 VO. BO.
 M. en C. ARMANDO CERVANTES SANDOVAL
 JEFE DE CARRERA

Agradecimientos

Al Laboratorio de Microbiología Ambiental del Proyecto CyMA en la UIICSE, de la Facultad de Estudios Superiores “Iztacala”, UNAM por la formación excepcional durante la realización de la tesis de licenciatura, siendo que gracias a los apoyos recibidos se llevaron a cabo asistencias a congresos y foros de investigación, que formaron parte de mi desarrollo como investigadora.

Dr. Diego J. Chaparro Herrera

Dr. Pedro Ramírez García

A los Sinodales del Examen Profesional de la Facultad de Estudios Superiores “Zaragoza”, UNAM por la constante formación y apoyo durante el proceso.

Dra. Bertha Peña Mendoza

Dr. José Luis Gómez Márquez

M. en C. Jorge A. Valdivia Anistro

Biol. José Luis Guzmán Santiago

Al vivario de la Fes Iztacala, UNAM por la colaboración y apoyo con los organismos para llevar a cabo los experimentos en el proceso.

Dr. Felipe Correa Sánchez

M. en C. Sandra F. Arias Balderas

Agradecimientos personales

Una gratitud enorme a mi Familia por su constante apoyo, comprensión, ánimo, colaboración e inspiración recibidos.

Mi Madre, **Alejandra Landero** por el esfuerzo, lucha, paciencia y honestidad que con amor me ayudo a lograr el éxito profesional.

Mi Padre, **Armando Jifkins** por enseñarme el esfuerzo, dedicación y constancia en el trabajo es fundamental para lograr tus metas en la vida.

Mi hermana, **Ruth A. Jifkins Landero** y mi hermano, **Alexander Jifkins Landero** por la constante motivación de cumplir mi sueño y meta de vida, sin su apoyo y cariño fue posible lograrlo.

Mis abuelos **Ruth Sánchez** y **Pedro A. Landero** por la sabiduría, alegría y enseñanzas que me hicieron tomar decisiones importantes para lograr el éxito.

Mi esposo **Reinhard Lang Vélez** por su cariño, amor, amistad, paciencia, responsabilidad, dedicación, apoyo, constancia y hacerme confiar en mis decisiones, que llevaron a cabo el cumplimiento de mi primer éxito a su lado.

Gracias a mis compañeros del Laboratorio de Microbiología Ambiental de la UIICSE de la Fes "Iztacala", UNAM por su amistad, apoyo, esfuerzo, y colaboración en mi proyecto de tesis, en especial a Liliana Robles Rentería, Frida X. Garnica Martínez, Gabriela N. Zavala Torres, Randy S. Llanas Vázquez, Miguel A. Sánchez Gómez y Ricardo A. Gutiérrez Ochoa.

Dr. Pedro Ramírez, por permitirme trabajar en el Laboratorio de Microbiología Ambiental de la UIICSE, gracias por su apoyo, confianza y amabilidad durante el proyecto de tesis.

Dra. Bertha Peña, gracias por orientarme a realizar mi tesis con la persona indicada, por su apoyo y confianza en este paso importante para mí.

En especial a **Dr. Diego J. Chaparro Herrera**, le quiero agradecer, por permitirme trabajar con los organismos que me apasionan, por llegar a la meta a pesar de tantos obstáculos en el camino, que nos tocó enfrentar juntos. Gracias por la confianza de aceptarme y hacerme crecer como persona y profesionalmente, por la paciencia, dedicación y apoyo incondicional. Me siento muy orgullosa de ser tu primer tesista. ¡Muchas gracias!!!

*En la lucha por la supervivencia,
el más fuerte gana a expensas de sus rivales,
debido a que logra adaptarse mejor a su entorno.*

Charles Darwin.

Índice

Resumen	1
Abstract	2
1. Introducción	3
1.1 Declive mundial de los anfibios	3
1.2 Destrucción y alteración del hábitat	4
1.3 Efecto del agua residual en anfibios	5
1.4 Enfermedades bacterianas en anfibios	6
2. Antecedentes	8
3. Hipótesis	10
4. Objetivos	11
4.1 Objetivo General	11
4.2 Objetivos Particulares	11
5. Justificación	12
6. Descripción del Zona de Estudio	13
7. Materiales y Método	15
7.1 Muestreos y análisis en el Lago de Xochimilco	15
7.2 Análisis de bacterias presentes en el Lago de Xochimilco	17
7.2.1 Género <i>Vibrio</i>	17
7.2.2 Género <i>Enterobacter</i>	19
7.2.3 Género <i>Pseudomonas</i>	20
7.3 Análisis de bacterias en el zooplancton presente en el Lago de Xochimilco	21
7.3.1 Género <i>Vibrio</i>	21
7.3.2 Género <i>Pseudomonas</i>	21
7.4 Medios selectivos para identificar bacterias en el agua (técnica de Moore) y en el zooplancton	22
7.4.1 Caldo Lactosado	22
7.4.2 Caldo Verde Brillante Bilis al 2%	22
7.4.3 Caldo EC (<i>Escherichia coli</i>)	22
7.4.4 Caldo Nutritivo	22
7.4.5 Medio de Transporte Cary-Blair	22
7.4.6 Agua Peptonada Alcalina (Enriquecimiento de vibrios)	23
7.4.7 Agar TCBS (Tiosulfato Citrato Sales Biliares de Sacarosa)	23
7.4.8 Agar de Mac Conkey	23

7.4.9 Agar bacteriológico con leche semidescremada al 10%	23
7.4.10 Agar de Dextrosa y Papa	24
7.4.11 Agar TSI (Hierro y Triple azúcar)	24
7.4.12 Agar MIO (Motilidad Indol Ortinina)	24
7.4.13 Agar LIA (Hierro-Lisina)	25
7.5 Mecanismos de Tinción Gram	25
7.6 Técnica de identificación de bacterias API 20E	26
7.7 Experimentos de transporte de bacterias (agua y zooplancton)	28
7.8 Parámetros fisicoquímicos <i>ex situ</i>	28
7.8.1 Demanda Bioquímica de Oxígeno	29
7.8.2 Demanda Química de Oxígeno	30
7.8.3 Nutrientes	30
7.9 Mantenimiento del zooplancton (alimento y experimento)	32
7.10 Mantenimiento de <i>Ambystoma mexicanum</i>	32
7.11 Análisis Estadístico	33
7.11.1 ANOVA	33
7.11.2 Prueba de Tuckey	33
8. Resultados	34
8.1 Resultados bacteriológicos en el agua del Lago de Xochimilco y las presas (zooplancton)	34
8.2 Análisis de Varianza por tres vías de las especies bacterianas	45
8.3 Resultados bacteriológicos en los organismos de <i>Ambystoma mexicanum</i>	48
8.4 Presencia de zooplancton en las zonas de muestreo	50
8.5 Análisis Fisicoquímicos	55
9. Discusión	65
10. Conclusiones	76
11. Bibliografía	78

Índice de Figuras

Figura 1. Mapa del Lago de Xochimilco.	14
Figura 2. Tira reactiva de API 20E.	27
Figura 3. Titulación DBO.	29
Figura 4. Tinciones Gram de la zona Agrícola	37
Figura 5. Tinciones Gram de la zona Urbana	40
Figura 6. Tinciones Gram de la zona Turística	43

Figura 7. Experimentos con organismos de <i>Ambystoma mexicanum</i>	49
---	----

Índice de Tablas

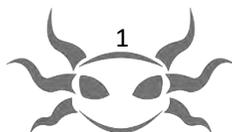
Tabla 1. Coliformes Totales	34
Tabla 2. Especies bacterianas de la zona Agrícola	36
Tabla 3. Especies bacterianas de la zona Urbana.	39
Tabla 4. Especies bacterianas de la zona Turística	42
Tabla 5. Presencia-Ausencia de las bacterias	45
Tabla 6. ANOVA	45
Tabla 7. Prueba de Tuckey por Especies.	46
Tabla 8. Especies bacterianas presentes en los organismos de <i>Ambystoma mexicanum</i>	48
Tabla 9. Presencia de zooplancton en la temporada de invierno	50
Tabla 10. Presencia de zooplancton en la temporada de primavera	51
Tabla 11. Presencia de zooplancton en la temporada de verano	53

Índice de Gráficos

Gráfico 1. Coliformes Totales	34
Gráfico 2. Zooplancton presente en la temporada de invierno	50
Gráfico 3. Zooplancton presente en la temporada de primavera	52
Gráfico 4. Zooplancton presente en la temporada de verano	53
Gráfico 5. Temperatura	55
Gráfico 6. Potencial de Hidrogeno	55
Gráfico 7. Transparencia	56
Gráfico 8. Profundidad	56
Gráfico 9. Conductividad.	58
Gráfico 10. Porcentaje de Oxígeno Disuelto	59
Gráfico 11. Oxígeno Disuelto	59
Gráfico 12. Demanda Bioquímica de Oxígeno	60
Gráfico 13. Demanda Química de Oxígeno Disuelto	60
Gráfico 14. Amonio	62
Gráfico 15. Nitritos	62
Gráfico 16. Nitratos	63
Gráfico 17. Fosfatos	63

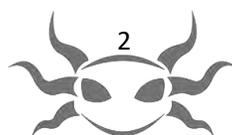
Resumen

Ambystoma mexicanum especie endémica del Lago de Xochimilco, se encuentra bajo protección especial por estar en peligro de extinción (NOM-059-ECOL-2010). La calidad del agua es un factor que contribuye en la degradación del hábitat alterando directamente las estructuras poblacionales de los anfibios, ya que, el vertimiento de aguas residuales contiene patógenos que los hacen susceptibles a una amplia variedad de enfermedades bacterianas. Por lo que, en este trabajo, determinamos los factores o vías desde el punto de vista bacteriano que influye en la supervivencia de *A. mexicanum*. A partir del efecto de las bacterias en el agua y zooplancton (alimento), relacionándolas con las presentes en la boca, cloaca y piel de los Ajolotes. Por medio de análisis bacteriológicos y parámetros fisicoquímicos se determinaron los efectos de la calidad del agua respecto a la presencia de bacterias tanto en el medio, como en el alimento (zooplancton), considerando los géneros patógenos: *Vibrio*, *Pseudomonas* y *Enterobacter*, de los cuales, para su identificación en los organismos de *A. mexicanum* se realizaron exudados de boca, cloaca y piel durante una exposición al agua residual de cuatro semanas. La muestra de agua, se colectó en tres zonas de muestreo en el Lago de Xochimilco (Agrícola, Urbana y Turística), de acuerdo a las temporadas de invierno, primavera y verano, se filtraron 80 L con una malla zooplanctónica de 50 μm de apertura de malla, por triplicado para el análisis bacteriológico, reproducción de alimento y determinación de especies zooplanctónicas. Las bacterias presentes en el medio se analizaron con el método del Hisopo de Moore. El zooplancton se sónico para romper los caparazones y aislar las bacterias, consecutivamente se identificaron por el método de API 20E. Las especies bacterianas encontradas fueron *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella* spp., *Shigella flexneri*, *Proteus mirabilis* y *Saccharomyces cerevisiae*. Los parámetros ideales para la proliferación microbiológica son: Temperatura (9.2-23.6°C), pH (5.9-8.3), Profundidad (10-50 cm), Transparencia (1-20 cm), Porcentaje de Oxígeno Disuelto (2.9- 73.5%), OD (0.21-7.34 mg/L), DBO (293-240.24 mg/L), DQO (1.6-100 mg/L) y la Conductividad (116.4-543 S/m). En cambio, los nutrientes con altas concentraciones de Amonio (0.03-0.73 mg/L), Nitritos (0.02-1.2 mg/L), Nitratos (0.48-3.5 mg/L) y Fosfatos (0.313-3.5 mg/L), los cuales no metabolizan por completo, lo que demanda mayor actividad microbiológica, siendo una condicionante para la vida acuática. Por consiguiente, se observó y analizo el efecto en la supervivencia de *A. mexicanum* a partir de una serie de análisis y experimentos ecológicos que describieron el comportamiento e interacción con el medio. No se registró patologías provocadas por los microorganismos (bacterias) presentes en el agua residual, lo que nos confirma el impacto positivo en la interacción con las comunidades microbiológicas que genera la mucosa y microflora de los anfibios, para combatir los patógenos presentes en el medio.



Abstract

Ambystoma mexicanum an endemic species to Lake Xochimilco is under special protection, for it is an endangered species (NOM-059-ECOL-2010). Water quality is a factor that contributes to habitat degradation by directly altering the amphibian population, as wastewater streams contain pathogens that make them susceptible to a wide variety of bacterial diseases. Therefore, the present work determines the factors or pathways from the bacterial standpoint that influences *A. mexicanum* survival from bacteria and zooplankton (food) effect on water and relating them to those present in the mouth, cloaca and skin of the organisms. Using bacteriological analysis and physicochemical parameters, the effects of water quality on the presence of bacteria in both the environment and the food (zooplankton) were determined, taking into consideration the pathogenic genera (*Vibrio*, *Pseudomonas* and *Enterobacter*) and performing mouth, cloaca and skin exudates for identification of bacteria in *A. mexicanum* organisms via residual water exposure over a 4-week period. Three different samples were collected in three zones at Lake Xochimilco (Agricultural, Urban and Tourist) on the winter, spring and summer seasons, 80 L were filtered with a zooplankton mesh of 50 µm opening, three times for: bacteriological analysis, reproduction of food and determination of zooplankton species. The bacteria present in the medium were analyzed using the Moore method. The zooplankton was sonicated to break the shells and isolate the bacteria, consecutively determined by the API 20E method. Bacterial species found: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella* spp., *Shigella flexneri*, *Proteus mirabilis* and *Saccharomyces cerevisiae*. Microbiological proliferation for the sample in question has ideal parameters for temperature (9.2-23.6°C), pH (5.9-8.3), Depth (10-50 cm), Transparency (1-20 cm), Percent Dissolved Oxygen (2.9- 73.5%), DO (0.21-7.34 mg/L), BOD (293-240.24 mg/L), OCD (1.6-100 mg/L) and Conductivity (116.4-543 S/m), In contrast, nutrients with high concentrations of Ammonium (0.03-0.73 mg/L), Nitrites (0.02-1.2 mg/L), Nitrates (0.48-3.5 mg/L) and phosphates (0.313-3.5 mg/L), the bacteria do not metabolize completely, which demands greater microbiological activity, conditioning aquatic life. Therefore, the survival effect of *A. mexicanum* was observed and analyzed from a series of analyzes and ecological experiments that described behavior and interaction with the environment. There were no pathologies caused by microorganisms (bacteria) present in the residual water, which confirms the positive impact on the interaction with the biofilms generated by the mucous membrane and microflora of the amphibians, to fight the pathogens present in the environment.



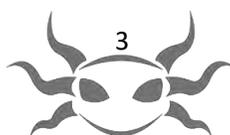
1. Introducción

1.1 Declive mundial de los anfibios

Las poblaciones de muchas especies de anfibios en lugares ampliamente distribuidos parecen haber sufrido declinaciones y reducciones de alcance en los últimos tiempos, con algunas extinciones aparentes (Young *et al.*, 2001). No se ha identificado una sola causa para la disminución de la población de anfibios (Blaustein *et al.*, 2003; Catenazzi, 2015). Actualmente, los anfibios son los que tienen mayores problemas de conservación, de acuerdo a recientes reportes por la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza con 6,620 especies evaluadas, casi un tercio de las especies (32,4%) están amenazadas o extintas a nivel mundial, lo que representa 2,030 especies; las cuáles están experimentando un declive poblacional incontrolado (UICN, 2016), de acuerdo con reportes alarmantes que mencionan su reducción en el número de organismos y en la disminución de sus áreas de distribución (Blaustein *et al.*, 2003; Frost, 2005).

Esta declinación global, constituye un proceso muy complejo de evaluación, ya que los descensos son aleatorios en cuanto a las preferencias ecológicas de las especies, así como de las áreas geográficas y de las asociaciones taxonómicas; sin embargo, los declives poblacionales de los anfibios están relacionados con enfermedades fúngicas y bacterianas, infecciones por parásitos, radiación ultravioleta, contaminantes químicos, depredadores introducidos, destrucción del hábitat y cambio climático. La interacción de estos factores como la alta vulnerabilidad, ha llevado a que este grupo atraviese actualmente una crisis de biodiversidad (Green, 2003; Whitaker, 2013).

Para México, los anfibios, representan uno de los grupos de fauna más diversos del país, ya que ocupa el cuarto lugar a nivel mundial, en cuanto a la diversidad de este grupo con 361 especies con un alto grado de endemismo de especies; de las cuales, 39 se encuentran en peligro crítico de desaparecer (Flores-Villela y Canseco-Márquez, 2004; UICN, 2016).



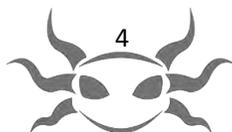
Desde una perspectiva global uno de los principales factores que afectan las poblaciones de anfibios son las alteraciones del hábitat, debido al impacto negativo de las actividades humanas sobre las áreas geográficas de distribución de los organismos, donde las bajas son alarmantes en contra de la conservación de las especies de anfibios.

1.2 Destrucción y alteración del hábitat

Los cambios que surgen por las actividades antropogénicas, han destruido y alterado los hábitats, esto se ve reflejado en el número de especies que experimentan descensos que van en aumento, reduciendo su abundancia y la diversidad de los anfibios en las zonas afectadas (Young *et al.*, 2001).

La desecación de los cuerpos de agua afecta directamente a las poblaciones de anfibios, mediante la eliminación de refugios para su reproducción y alimentación; ocasionando la fragmentación de las poblaciones, lo que aumenta la probabilidad de extinción regional (Alford y Ricchards, 1999; Whitaker, 2013).

Las actividades humanas están relacionadas con la pérdida de los ambientes naturales necesarios para el mantenimiento de las poblaciones de anfibios en condiciones favorables (Flores-Villela y Canseco-Márquez, 2004). Estas actividades impiden la dispersión de anfibios, provocando una disminución en la variabilidad genética de las poblaciones, como sus desplazamientos en las áreas geográficas correspondientes para cada especie (Beebee y Griffiths, 2005). Un problema muy fuerte para los anfibios a causa de las actividades humanas es el vertimiento de aguas residuales a los cuerpos de agua, afectando directamente los parámetros fisicoquímicos y biológicos para una calidad aceptable del agua a las poblaciones de anfibios (Young *et al.*, 2001).

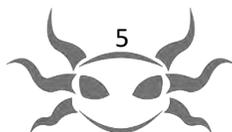


1.3 Efecto del agua residual en anfibios

La generación de aguas residuales es una problemática para la sensibilidad de la salud de los anfibios, porque albergan concentraciones altas de contaminantes orgánicos biodegradables, como son proteínas, carbohidratos, grasas, fenoles; así como contaminantes químicos e industriales, como pesticidas, agentes tenso activos, metales pesados, sustancias tóxicas, sólidos inorgánicos disueltos. Así también, existe la presencia de microorganismos que causan enfermedades (patógenos), incluyendo protozoarios, virus y bacterias (Kelly y Reynolds, 2002).

Las aguas residuales contienen altas concentraciones de contaminantes ocasionando la reducción del pH en las aguas temporales y permanentes, causando severas bajas en las poblaciones de anfibios (Beebee y Griffiths, 2005) y aumentando la proliferación de patógenos (Apella y Araujo, 2005). La reducción del pH afecta principalmente la reproducción de anfibios, reduciendo el número de huevos ovipositados o una rápida eclosión. Los estados larvarios se ven afectados en su desarrollo, volviéndolos más lentos, dando por resultado una reducción en la captura de alimento (presas), en consecuencia, una deficiencia nutricional de los sistemas en los anfibios, llevando a una muerte prematura de las larvas (Alford y Richards, 1999)

En el agua residual hay una presencia elevada de agentes bióticos nocivos para los anfibios, como son las bacterias, de los cuales se denominan como microorganismos unicelulares que pueden diferenciarse en dos tipos: Gram(+), debido a que su pared celular presenta una capa de peptidoglicano externa a su membrana celular, ya que está cargado negativamente (Madigan *et al.*, 2008; Arias *et al.*, 2012); a diferencia de un Gram (-), que posee dos capas celulares, entre las cuales se encuentra el peptidoglicano el cual contiene lípidos (Madigan *et al.*, 2008).



1.4 Enfermedades bacterianas en anfibios

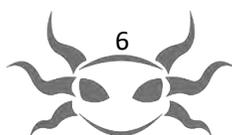
Una constancia de episodios de mortalidad alta en anfibios se le atribuye a una bacteria Gram (-) (*Aeromonas hydrophila*) siendo apuntada como posible causante de enfermedades, ya que tiene una frecuencia alta en el agua, (La'Toya y Klaphake, 2009), algunas enfermedades para los Anfibios son:

Aeromonas hydrophila, responsable de la enfermedad conocida como “pata roja”; la cual, se caracteriza por graves hemorragias internas en miembros, acompañados de inflamaciones, letargo, anorexia, y ascitis. A menudo, se presenta inflamación periocular, ya que el individuo que infectan tuvo una infección previa por hongo o virus; por lo cual, es considerado como un patógeno oportunista (La'Toya y Klaphake, 2009).

Pseudomonas spp., bacterias Gram (-) organismo mesófilo patógeno, se considera oportunista, está presente en el agua, causando infecciones secundarias en anfibios inmunodeprimidos, coloniza las branquias de los individuos, causándoles necrosis e hiperemia. Para los ajolotes está implicada en la enfermedad ulcerosa asociada con descamación de la piel (Carey, 2003;).

Proteus spp.; incluida en las bacterias Gram (-), considerada oportunista, al causar edema subcutáneo, coloniza las branquias provocando necrosis e hiperemia provocando hemorragias internas, inflamaciones; letargo, anorexia, y ascitis; ya que el individuo que infectan tuvo una infección previa por hongo o virus (Pulido-Arcos, 2005)

Escherichia coli, son bacilos Gram (-), anaeróbicos facultativos, fermentadores de lactosa y glucosa, y reduce nitratos a nitritos. Con seis serotipos diferentes de bacterias entéricas (enteropatógena y enterotoxigénica) causan zoonosis en los individuos por contacto directo o indirecto con residuos de otros animales, causa infección ulcerosa en la piel causándoles descamación (Pulido-Arcos, 2005).



Flavobacterium, bacteria Gram (-) que se encuentra en el agua. El organismo se pigmenta naranja amarillento y puede entrar a través de una herida o la abrasión. La enfermedad síndrome del edema puede ocurrir en individuos que no están estresados, se propaga a múltiples órganos, causando finalmente septicemia, afectando al sistema nervioso. Los individuos presentan pérdida de peso, edema, ascitis, petequias, disnea, uveítis, falta de coordinación, ataxia, anorexia, y la opacidad ocular (Green *et al.*, 1999).

El género **Salmonella** se considera una sola especie (*S. choleraesuis*) con siete subespecies, que comprende 2300 serovariedades, es Gram (-). La salmonelosis puede causar enfermedades en muchos vertebrados, incluyendo anfibios. Un medio acuático facilita la transmisión. El organismo coloniza el intestino delgado de los anfibios también puede propagarse a través de la sangre. Los individuos afectados exhiben anemia, letargia, anorexia, diarrea, enteritis y septicemia (Miller y Pegues, 2000).

El género **Vibrio** está integrado por bacilos curvados, anaeróbicos facultativos, halófilos, no formador de esporas. Son Gram (-), están presentes en aguas dulces o marinas. La especie representativa **Vibrio cholerae**, con transmisión casi exclusiva por vía hídrica. Causa enteritis, diarreas, pérdida de peso, petequias, deshidratación y septicemia (Miller y Pegues, 2000).

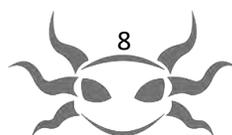


2. Antecedentes

Estudios en *Ambystoma mexicanum* sobre enfermedades por bacterias patógenas fueron realizados en el Centro de Investigaciones Biológicas y Acuícolas de Xochimilco, por Negrete-Redondo y Romero-Jarero en 1999, a partir del aislamiento, purificación e identificación de las bacterias en abscesos con forma de tumor y analizando la calidad del agua, así como del alimento para los organismos en cautiverio. Del análisis Bacteriológico que ellos efectuaron se identificaron 19 especies diferentes de bacterias, de las cuales siete son consideradas bacterias patógenas de organismos acuáticos asociadas con procesos infecciosos, las 12 especies restantes asociadas a humanos y otros animales.

Ruiz *et al.*, en el 2010 estudió anfibios que habitan humedales con vertimiento de aguas residuales. Se generaron una hipótesis de que los renacuajos expuestos a insumos directos de aguas residuales tratadas se desarrollaban lentamente, presentando una mayor frecuencia de anomalías incluyendo edema severo, escoliosis y calcinosis extrema de tejidos blandos, los cuales son más pequeños comparados con renacuajos de estanques de agua no residual.

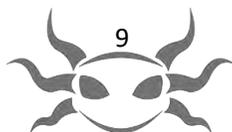
Chaparro-Herrera *et al.* (2011), estudiaron el impacto ecológico del hábitat de *A. mexicanum* (Lago de Xochimilco) en relación con el vertimiento de aguas residuales, así como la introducción de especies invasoras como *Oreochromis niloticus*, especie que tiene un efecto negativo sobre el *A. mexicanum* ya que compiten por el zooplancton, principal alimento en las primeras etapas de desarrollo.



En este trabajo Chaparro-Herrera *et al.* (2013), también se analizó la capacidad de captura de *Ambystoma mexicanum* de acuerdo a su dieta (microcrustáceos); se determinó la capacidad de consumo, con el paso de las semanas los mesocosmos introducidos al Lago, se indicó que prefieren dos: *Moina macrocopa* y *Macrothrix triserialis* en el ambiente contaminado; en el ambiente controlado manifestó cuatro diferentes preferencias de las especies *Moina macrocopa*, *Simocephalus vetulus*, *Heterocypris incongruens* y *Macrothrix triserialis*, en consecuencia, la alimentación de *A. mexicanum* se ve afectada negativamente por la presencia de la especie introducida (*Oreochromis niloticus*).

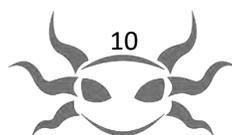
Las investigaciones de Longo y Zamudio en el 2016 se llevaron a cabo las interacciones huésped-patógeno que proporcionan, al patógeno fúngico *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd) bajo condiciones ambientales para la supervivencia al huésped durante el periodo de prueba por estaciones. Ellos observaron que, durante la estación cálida-húmeda, en los anfibios se restringieron las infecciones de Bd, y en la estación fría-seca, las infecciones de Bd aumentaron aleatoriamente, con esto se confirma que las interacciones bióticas entre huésped y comunidad bacteriana se rigen por factores medioambientales.

Bletz *et al.*, en el 2016 estudiaron la dinámica ecológica y las funciones del microbioma de anfibios, donde determinaron que es limitado, ya que las comunidades microbianas que habitan los sistemas digestivos, tanto la piel, presentan condiciones normales. Se realizó un análisis de campo y laboratorio con larvas de salamandra que habitan en dos hábitats diferentes (estanque y arroyo), en específico se demuestra la estructura microbiana intestinal y cutánea, lo que comprueba la transferencia recíproca del microorganismos en el intestino, respondiendo igual respecto al hábitat, ya que los microorganismos de la piel responden diferente al cambio para el anfibio.



3. Hipótesis

El Lago de Xochimilco, hábitat de *Ambystoma mexicanum*, está en constante degradación. Uno de los principales factores que deterioran el ecosistema es el vertimiento de aguas residuales, conteniendo en su gran mayoría bacterias que posiblemente afectarán el sistema digestivo y piel de *A. mexicanum*, ocasionando la infección del tracto digestivo propiciando la declinación de los organismos. Por lo que, la presencia de bacterias, (los géneros patógenos *Vibrio*, *Pseudomonas* y *Enterobacter*), lo que generará un impacto negativo, en la supervivencia de *A. mexicanum*, siendo que se podrá confirmar la presencia de enfermedades como: zoonosis, descamación de la piel, afecciones respiratorias y pulmonares con inflamaciones acompañado de hemorragias, es por esto que se coloca al organismo en una constante desventaja con otras especies tanto en su hábitat , de lo contrario si llegarán a generar un impacto positivo en interacción con su medio, se propondrá su posible reintroducción.



4. Objetivos

4.1 Objetivo General

- Determinar la supervivencia de *Ambystoma mexicanum* del Lago de Xochimilco a partir del efecto de las bacterias de la boca, cloaca y piel.

4.2 Objetivos particulares

- Aislar e identificar las especies bacterianas en la columna de agua en tres zonas de muestreo (Agrícola, Urbana y Turística).
- Caracterizar por medio de API 20E las bacterias presentes en la boca, cloaca y piel de *A. mexicanum*.
- Identificar las bacterias que se presentan en el zooplancton presente en el agua del Lago de Xochimilco ya que constituyen las principales presas en las primeras semanas de desarrollo de *A. mexicanum*.

5. Justificación

El agua del Lago de Xochimilco actualmente proviene de las plantas de tratamiento del “Cerro de la Estrella” y “San Luis Tlaxiátemalco”, en las que se utiliza un tratamiento terciario ineficiente incumpliendo la NMX-AA-045-SCFI-2015, (Análisis de Agua. Enumeración de organismos Coliformes Totales- Método Del Número más Probable (NMP) por tubos múltiples); lo que genera el incremento de enfermedades por bacterias a los organismos que habitan este ecosistema, provocando en ocasiones la muerte de éstos. *Ambystoma mexicanum* anfibio endémico del Lago de Xochimilco actualmente amenazado por la destrucción del hábitat y por la calidad del agua, se pretende analizar el efecto del agua de acuerdo a la presencia de bacterias en boca, cloaca y piel; así como en su alimento para describir la posible transferencia de bacterias por medio de las presas, observando la susceptibilidad a modificaciones estructurales en *A. mexicanum*, considerando los géneros patógenos *Vibrio*, *Pseudomonas* y *Enterobacter*, lo que afectará la supervivencia a partir de una serie de análisis y experimentos ecológicos, para describir su comportamiento e interacción con el medio (agua residual).

6. Descripción de la Zona de Estudio

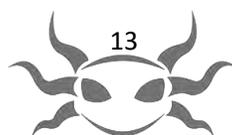
El Lago de Xochimilco considerado como Área Natural Protegida, se encuentra en la parte centro-sur de la Ciudad de México (19°17'6" N, 99°6'7.2" W) a una altitud de 2,200 msnm (Figura 1) (INEGI, 2012).

El Lago de Xochimilco pertenecen a la región del Pánuco, dentro de la cuenca hidrológica del Río Moctezuma y la subcuenca Lago Texcoco-Zumpango (INEGI, 2012). La principal zona de captación se localiza a lo largo de la ladera norte de la Sierra Chichinautzin, en el extremo sur de la Cuenca de México. Toda esta zona pertenece a la región del Balsas en la Cuenca Río Grande de Amacuzac, subcuenca Río Apatlaco (INEGI, 2015). La zona forma un humedal permanente que se encuentra en una cuenca cerrada con 189 Km² de canales que son alimentados por plantas de tratamiento ubicadas en el “Cerro de la Estrella” y en otros puntos cercanos a la región de canales (INEGI, 2015).

El clima que mantiene el Lago de Xochimilco es templado húmedo con lluvias en verano (C(W) wb(e)g), presentando una humedad media (68%), templado húmedo con lluvias en verano de mayor humedad (21%) y templado húmedo con lluvias en verano de menor humedad (8%) considerando lo anterior la precipitación media anual es de 700 mm por año; la temperatura media anual oscila entre 16.2°C, con temperaturas máximas de 31°C (García, 1988).

Los principales tipos de vegetación que presenta el Lago de Xochimilco son: bosque de pino, encino, pastizal, matorral xerófilo. La principal vegetación acuática, como parte del paisaje precolombino en las orillas de las chinampas, se encuentran los árboles *Salís bonplandiana* (ahuejotes) y *Taxodium mucronatum* (ahuehuete) característicos de la zona (Rzedowski *et al*, 2005).

La mayor parte de las especies se encuentran dentro del ANP, siendo las más representativas y por encontrarse en peligro de extinción: el ajolote (*Ambystoma mexicanum*), la rana toro (*Rana tlaloci*), tortugas palustres o casquitos (*Kinosternon hirtipes*), el acocíl (*Cambarellus montezumae*) y el pez “charal” (*Chirostoma jordani*) (Zambrano-González, 2014).



De las especies de peces introducidas al Lago dominan la tilapia (*Oreochromis niloticus*) y la carpa (*Cyprinus carpio*) entre otras (Chaparro-Herrera *et al.*, 2013; INEGI, 2015).

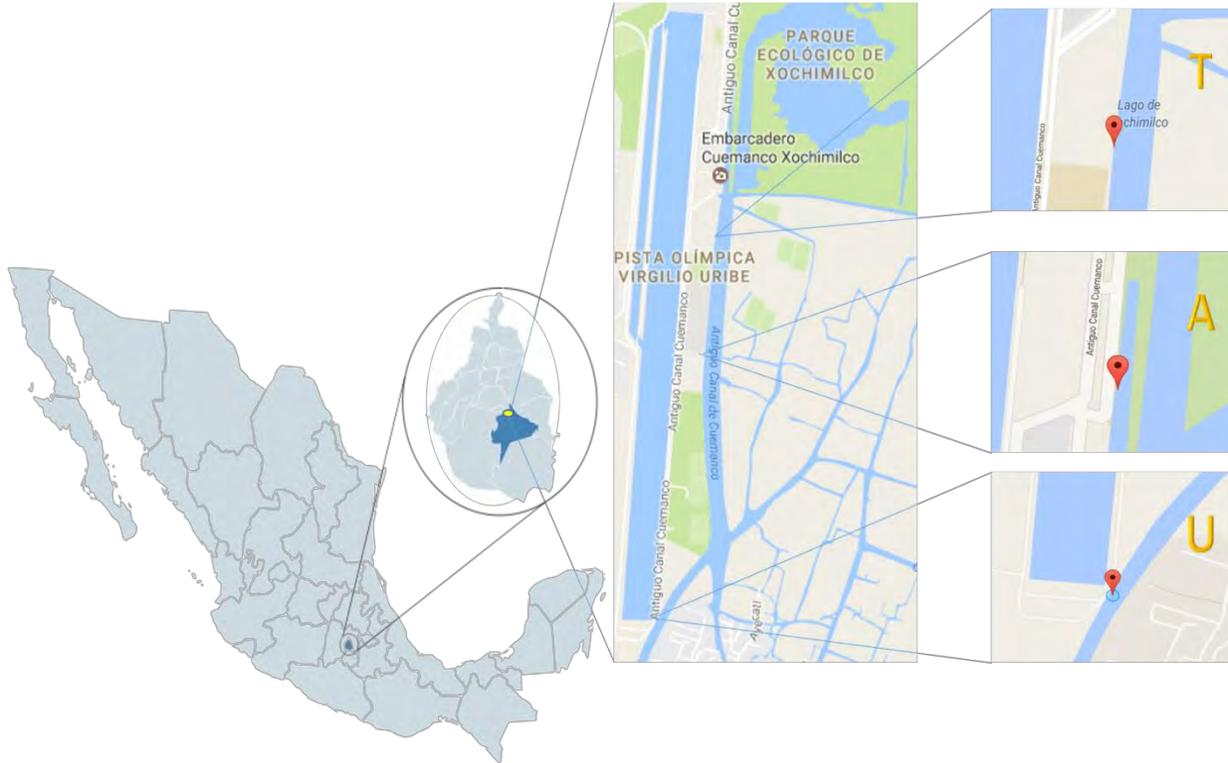
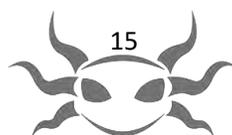


Figura 1. Mapa del Lago de Xochimilco. Ubicación del Lago de Xochimilco al sur de la Ciudad de México en la Delegación Xochimilco (color azul). Zona de muestreo ($19^{\circ} 17' 6''$, N, $99^{\circ} 6' 7.2''$ W) en el Embarcadero de Cuemanco (color amarillo): **T**: zona Turística (N $19^{\circ} 17' 23.6''$, W $99^{\circ} 6' 5.9''$), **A**: zona Agrícola (N $19^{\circ} 16' 5.1''$, W $99^{\circ} 6' 8.3''$) y **U**: zona Urbana (N $19^{\circ} 16' 20''$, W $99^{\circ} 6' 16''$) (Google Maps, 2016).

7. Materiales y Método

7.1 Muestreos y análisis en el Lago de Xochimilco

La selección de las zonas de muestreo se efectuó con base en las actividades antropogénicas que se desarrollan en los canales del Lago de Xochimilco como la zona con actividades agropecuarias (zona Agrícola) y otra con asentamientos humanos y de recreación (zona Urbana y Turística) dentro de su efluente principal como se muestran en la Figura 1; la primera zona de muestreo (**T**) corresponde a la zona Turística, la siguiente pertenece (**A**) a la zona Agrícola y la última (**U**) a la zona Urbana. Siguiendo estos criterios, se ubicaron los canales correspondientes a las zonas en cuestión; los muestreos se realizaron en los meses de febrero, abril y julio del año 2016, correspondientes a las temporadas de invierno, primavera y verano. La toma de las muestras biológicas se hizo con una malla zooplanctónica de 50 μ de abertura de malla, con un diámetro de seis pulgadas, en la parte superficial que comprende una profundidad de menos de 50 cm, ya que la zona Lacustre del Lago de Xochimilco es un cuerpo somero con una profundidad no mayor a 90 cm, la muestra se tomó filtrando 80 L de agua de los canales de Xochimilco (Chaparro-Herrera *et al.*, 2013), por triplicado: a) la primer muestra se concentró en recipientes de 250 ml fijándola con Formalina al 4%, para realizar conteos en un mililitro, sobre una cámara Shedgwick-Rafter, con ayuda del microscopio invertido marca: Nikon, modelo: eclipse TS100, estos conteos se realizaron de acuerdo a la zona de muestreo (Agrícola, Urbana y Turística), con la finalidad de identificar los grupos de zooplancton: Rotífera, Cladóceras, Copépoda y Ostrácoda, con las claves taxonómicas de Gutiérrez *et al.*, (2008), b) la segunda muestra de zooplancton se colectó para reproducir en el laboratorio (en medio EPA, con temperatura y luz controlada), como alimento para *Ambystoma mexicanum* (Chaparro-Herrera *et al.*, 2011); finalmente c) la tercer muestra se colectó para identificar las bacterias presentes en el zooplancton, se agregó el filtrado en bolsas de polietileno estéril con 400 ml del medio de transporte Cary-Blair, la cual se transportó a temperatura ambiente (Negrete-Redondo y Romero-Jarero, 1999; Luna, 2011; Nandini *et al.*, 2005).



La muestra para coliformes totales se tomó de la parte superficial con una bolsa estéril de polietileno con capacidad de 100 ml. Las muestras se conservaron en refrigeración a 4°C (Arredondo y Ponce, 1998). Simultáneamente se tomaron muestras para identificación del género *Vibrio* con la técnica de Moore modificada (Hisopo de gasa): se colocó el hisopo por 24 horas en las tres zonas designadas (Figura1), transcurrido el tiempo se transportó en bolsas de polietileno estéril conteniendo 400 ml del medio de transporte Cary-Blair a temperatura ambiente (Luna, 2011).

Aleatoriamente se midieron los parámetros fisicoquímicos *in situ*, como son: profundidad (cuerda marcada por cada 10 cm), transparencia (Turbidez a disco de *Secchi*), Temperatura, Conductividad eléctrica, Oxígeno Disuelto y Potencial de Hidrógeno por medio de aparatos electrónicos de campo marca: Conductronic digital de mesa (con rango de 0 a 14 pH, \pm -0.01; con 4 rangos de conductividad: de 0 a 199.9 mS y temperatura de -50/150°C, con electrodo combinado de plástico en celda de inmersión C1 y sensor de temperatura 120V, 60Hz). Las muestras para el análisis de los parámetros fisicoquímicos en el laboratorio, se tomaron de la parte superficial en botellas ámbar con capacidad de 1 L, se conservaron en refrigeración a 4°C para su transporte (Arredondo y Ponce, 1998).

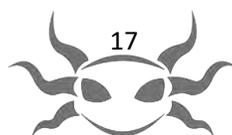
7.2 Análisis de bacterias presentes en el Lago de Xochimilco

La determinación de coliformes totales por el NMP (Numero más Probable, de acuerdo a los criterios de la NMX-AA-42-1987), y con la muestra del hisopo se realizó el aislamiento e identificación del género *Vibrio*, *Pseudomona* y *Enterobacter*.

7.2.1 Género *Vibrio*

El procedimiento de enriquecimiento para el género *Vibrio* se dividió en cuatro días. En el primer día se abrió cuidadosamente la bolsa donde se transportó el hisopo, con una pipeta serológica se transfirieron 10 ml de la muestra previamente homogenizada en un matraz con 50 ml APA (Agua Peptonada Alcalina) a doble concentración, se incubó a 37°C durante seis horas (primer enriquecimiento), en condiciones de asepsia. Sin agitar los matraces para no dañar la biopelícula que se forma en la superficie del medio, se tomó un inóculo, el cual se sembró por estría cruzada en dos placas de TCBS (Tiosulfato, Citrato y Sales Biliares), se incubó en posición invertida a 37°C durante 24 horas. Posteriormente, con una pipeta serológica se tomaron cinco ml de la biopelícula del APA doble concentración, se inóculo en 50 ml de APA concentración sencilla, se incubó a 37°C durante 24 horas (segundo enriquecimiento) (Ramírez *et al.*, 2012).

Se revisó el crecimiento en la placa de TBCS, que se seleccionaran cinco colonias sospechosas (colonias de 1-2 mm, de color amarillo, planas, ligeramente convexa, pegajosas con centro opaco y periferia ligeramente translúcida) por cada placa se sembró por picadura y estriado en tubos con rosca de TSI (Agar Hierro y Triple azúcar) se incubó a 37°C durante 24 horas; para el segundo día, así mismo del inóculo en APA concentración sencilla (segundo enriquecimiento) que se incubó 24 horas, consecutivamente se tomó una asada de la biopelícula, en dos placas de TCBS se sembró por estría cruzada, se incubó a 37°C durante 24 horas. En el tercer día, se revisaron las placas de TBCS, seleccionando cinco colonias presuntivas de *Vibrio* por cada placa, se sembró en medio TSI por picadura y estría sobre la superficie, se incubó a 37°C durante 24 horas (Ramírez *et al.*, 2012).



Las muestras que se sembraron en medio TSI, de las cuales presentaron la parte superior y el fondo amarillo sin producción de gas ni precipitado oscuro (A/A, ácido/ácido) fueron positivas, también se seleccionaron los tubos que no presentaron producción de gas, ni precipitados negros en las cuales se pudiera observar la parte superior roja y la parte inferior amarilla (K/A, alcalino/ácido), si algunos tubos presentaron cualquiera de estas reacciones positivas se resembraron en:

- MIO (Motilidad Indol Ortinina), por picadura hasta el fondo.
- LIA (Lisina-Hierro), por doble picadura hasta el fondo y estriado en la superficie (Luna, 2011).

Se realizó la incubación para todos los cultivos a 37°C durante 24 horas. Después del periodo de incubación, se realizó la lectura de Prueba de Citocromo Oxidasa. Para el procedimiento, se tomó una colonia aislada (última placa de TCBS), se inoculó la tira de reactivo de oxidasa (NNNN-tetra-metil-p-fenil-diamina al 1%), con un aplicador de madera previamente esterilizado. Se observó el color que tomaba la muestra, si el color era azul sobre la tira, la prueba es positiva; por otro lado, si tomaba una coloración amarilla es negativa (Madigan *et al.*, 2008).

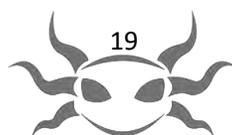
Por último, en el cuarto día, se siguió el mismo procedimiento que en el tercer día para las placas de TCBS sembradas. Después del aislamiento e identificación de *Vibrio* a través de la técnica tradicional, las colonias se pasaron a tubos con agar nutritivo inclinado, alcalino pH 8.5, se sembró por estría en la superficie para su conservación, así mismo para aplicar otras técnicas para su completa identificación (Luna, 2011).

7.2.2 Género *Enterobacter*

La determinación de coliformes totales a partir de las muestras de agua tomadas en campo en una bolsa estéril de polietileno con capacidad de 100 ml, se tomó una alícuota de 1-10 ml donde se realizaron cinco diluciones en Agua de Dilución (solución de fosfatos y sulfato de magnesio 1:3). Posteriormente a una serie de 10 tubos de ensayo con nueve ml de Agua de Dilución, se le adicionó un ml de la muestra tomada en campo por cada tubo, con una pipeta serológica estéril de cinco ml, se agitó para homogenizar la muestra. Por último, a una serie de cinco tubos de ensayo con nueve ml de Caldo Lactosado concentración sencilla se le adicionó un ml de agua tomada de las diluciones seleccionadas (10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8}), por cada tubo con una pipeta serológica estéril y se homogenizó la muestra. Se incubaron los tubos a 37°C por 24 horas (Ramírez *et al.*, 2012).

Se consideraron positivas las muestras cuando después de la incubación los tubos presentaron turbidez y producción de gas, lo que ocasiona el desplazamiento del medio. A partir de estos tubos se procedió a realizar la prueba confirmativa. La ausencia de la producción de gas se consideró negativa. En la prueba confirmativa, con ayuda de un asa bacteriológica, se transfirieron de dos a tres asadas de cada uno de los tubos positivos de la prueba anterior, a un tubo de ensayo con nueve ml de Caldo Bilis Verde Brillante al 2%, en condiciones de asepsia, se etiquetó debidamente la dilución correspondiente del tubo positivo inoculado en la nueva serie de tubos y agitando los tubos para su homogenización. Se incubaron a 37°C por 24 horas (Luna, 2011).

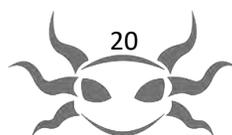
Se consideró como resultado positivo cuando después de la incubación los tubos presentaron turbidez y producción de gas. En la prueba complementaria, se determinó el NMP de microorganismos coliformes fecales, con ayuda de un asa bacteriológica, transfiriendo de dos a tres asadas de cada tubo positivo de la prueba anterior, a otro tubo de ensayo con nueve ml de Caldo EC (*Escherichia coli*) en condiciones de asepsia. Se incubó a 37°C por 24 horas. Se consideró un resultado positivo después de la incubación los tubos presentaron turbidez y producción de gas respectivamente.



Por consiguiente, los cultivos con crecimiento bacteriano, se transfirieron a agar Mck (medio de Mac Conkey) para identificar bacterias del género *Enterobacter*, procedimiento de aislamiento durante tres días; una vez aisladas, se corrió la tinción Gram y tren de pruebas bioquímicas: presencia de ácido por la fermentación de la lactosa, glucosa y lactosa, producción de gas, producción de ácido sulfúrico, descarboxilación y desaminación del medio, movilidad, formación de Indol y Ortinina, por último, la prueba complementaria de Citocromo Oxidasa , para su identificación (Suárez *et al.*, 2015).

7.2.3 Género *Pseudomonas*

El aislamiento de *Pseudomonas* se realizó a través de un enriquecimiento, se abrió cuidadosamente la bolsa donde se transportó el hisopo con la muestra, con una pipeta serológica se transfirieron 10 ml de la muestra previamente homogenizada a un matraz de 125 ml con 50 ml de Caldo Nutritivo, se incubó a 37°C por 18 horas, posteriormente se tomó la biopelícula del matraz sin agitar, se sembró en dos placas de Agar de Leche (agar bacteriológico con 10% de leche semidescremada estéril) y dos placas de agar dextrosa papa por estriado, se incubó de forma invertida a 37°C por 24 horas. Se seleccionó cinco colonias sospechosas (colonias de 1-2 mm, de color crema-blanco, lisas, convexas y periferia como agar verde fosforescente), para el aislamiento se corrió tinción Gram, tren de pruebas bioquímicas y la prueba complementaria de Citocromo Oxidasa (Madigan *et al.*, 2008).



7.3 Análisis de bacterias en el zooplancton presente en el Lago de Xochimilco

La determinación de la tercera muestra de zooplancton colectada en campo, con la finalidad de realizar el aislamiento e identificación del género *Vibrio* y *Pseudomonas*.

7.3.1 Género *Vibrio*

El procedimiento se realizó como se describe en el apartado anterior: 7.2.1; en contraste, la muestra de zooplancton, se colocó en un vaso de precipitados (1 L), para la destrucción de los caparazones, se trituraron con una batidora de inmersión marca: ‘Spiralio’, modelo: DG1, durante tres minutos, después de la trituración, el vaso se tapó con papel aluminio para sonicarla durante 10 minutos, a continuación, se transfirieron 10 ml de muestra, con una pipeta serológica estéril a un matraz con 50 ml APA doble concentración, se incubó a 37°C durante 6 horas (primer enriquecimiento), todo el procedimiento anterior en condiciones de asepsia (Ramírez *et al.*, 2012). La descripción del segundo enriquecimiento se llevó tal como el apartado 7.2.1, así mismo, la revisión del crecimiento de las colonias presuntivas, se les realizó el tren de pruebas bioquímicas y como prueba complementaria el Citocromo Oxidasa, por consiguiente, su conservación se realizó en agar nutritivo inclinado (Madigan *et al.*, 2008; Luna, 2011).

7.3.2 Género *Pseudomonas*

Para el aislamiento e identificación de *Pseudomonas* se realizó un enriquecimiento con Caldo Nutritivo (50 ml), de la muestra de zooplancton que se sónico, en el apartado anterior (7.3.1) se transfirieron 10 ml, la cual se incubó a 37°C por 18 horas, así mismo se realizó el procedimiento que se describió en el apartado (7.2.3) de la técnica de Hisopo de Moore, se aisló e incubó hasta identificar colonias presuntivas, se corrió el tren de pruebas bioquímicas, prueba de Citocromo Oxidasa y su conservación (Madigan *et al.*, 2008; Luna, 2011).

7.4 Medios selectivos para identificar bacterias en el agua (técnica de Moore) y en el zooplancton.

7.4.1 Caldo Lactosado

La peptona y el extracto de carne proporcionan al medio los nutrientes necesarios para el desarrollo de microorganismos fermentadores de lactosa, se demuestra por la formación de gas que se observa en las campanas de Durham, como prueba presuntiva para el género *Enterobacter*, y para la detección y cuenta del NMP, especialmente de *Escherichia coli* (Cavallini, 2005).

7.4.2 Caldo Verde Brillante Bilis al 2%

La bilis y el verde brillante inhiben el desarrollo indeseable de los microorganismos acompañantes de los coliformes totales y fecales, incluso suprimen el crecimiento de los anaerobios fermentadores de la lactosa. (Schlegel y Zaborosch, 1997).

7.4.3 Caldo EC (*Escherichia coli*)

La lactosa es fermentada por los coliformes y *E. coli* con producción de gas. Las sales biliares inhiben el crecimiento de bacterias Gram (+). La peptona de caseína proporciona los nutrientes necesarios para el desarrollo de las bacterias y el cloruro de sodio mantiene el equilibrio osmótico (Schlegel y Zaborosch, 1997).

7.4.4 Caldo Nutritivo

Medio no selectivo, contiene pluripeptona (una mezcla de partes iguales de peptona de carne y caseína) y extracto de carne que constituyen la fuente de carbono y nitrógeno para el desarrollo bacteriano. Puede ser utilizado como pre enriquecimiento en la búsqueda de *Salmonella* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, entre otras (Madigan *et al.*, 2008).

7.4.5 Medio de Transporte Cary-Blair

Los nutrientes están limitados a manera de evitar la multiplicación de los microorganismos. El tioglicolato de sodio proporciona un bajo potencial de óxido-reducción (baja tensión de oxígeno). El pH es relativamente alto, lo que ayuda a evitar la destrucción de las bacterias por la formación de ácido. Es un medio semisólido, no nutritivo que mantiene la viabilidad de los organismos durante su traslado a temperatura ambiente (Madigan *et al.*, 2008).

7.4.6 Agua Peptonada Alcalina (Enriquecimiento de vibrios)

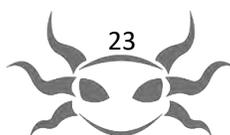
El APA contiene peptona de gelatina, proporciona los nutrientes para la supervivencia y crecimiento abundante de los vibrios. El cloruro de sodio mantiene el equilibrio osmótico en el medio. El pH es elevado, favorece el desarrollo de microorganismos que tienen la capacidad de crecer en este medio, inhibiendo a la flora acompañante (Schlegel y Zaborosch, 1997).

7.4.7 Agar TCBS (Tiosulfato Citrato Sales Biliares de Sacarosa)

El contenido de peptonas y extracto de levadura proporcionan al medio la fuente de nutrientes necesarios para el desarrollo de los microorganismos (crecimiento de *Vibrio cholerae* y *V. parahaemolyticus*); el contenido de sales biliares y el colato de sodio inhiben el desarrollo de bacterias Gram (+). El pH es elevado en el medio, debido a las altas concentración de tiosulfato de sodio y citrato. La sacarosa es el carbohidrato fermentable, utilizando como indicador de la variación de pH, el azul de bromo timol y el azul de timol, se presenta un vire amarillo por la producción de ácido (Schlegel y Zaborosch, 1997).

7.4.8 Agar de Mac Conkey

Las sales biliares y el cristal violeta inhiben el crecimiento de microorganismos Gram (+). La lactosa y el indicador de pH rojo neutro, permiten la diferenciación de las bacterias lactosa (+) (colonias rosas intenso con halo de precipitación), de las no fermentadoras (colonias transparentes o ámbar). Es un medio selectivo para coliformes como: *Salmonella*, *Shigella* y *E. coli* (Cavallini, 2005).



7.4.9 Agar bacteriológico con leche semidescremada al 10%

El extracto de levadura, la peptona de caseína y la leche descremada al 10% proporcionan al medio los nutrientes específicos para el desarrollo de microorganismos como: *E. coli*, *Staphylococcus aureus* y *P. aeruginosa*. Su pH es bajo, presenta un contenido de metales de 0.4% de Sodio, 0.2% de Calcio, 0.1% de Magnesio, 0.001% de Hierro y 0.0005% de Plomo, como máximo (Schlegel y Zaborosch, 1997).

7.4.10 Agar de Dextrosa y Papa

La infusión de papa como fuente de almidones y la dextrosa son la base para el crecimiento de hongos y levaduras. El bajo pH evita el crecimiento de bacterias. Los microorganismos que se pueden desarrollar a partir de una muestra de agua: *Saccharomyces cerevisiae* (colonias crema, lisas) y *P. aeruginosa* (colonias de 1-2 mm, de color crema-blanco, lisas, convexas y periferia como agar verde fosforescente) (Cavallini, 2005).

7.4.11 Agar TSI (Hierro y Triple azúcar)

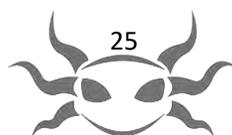
En el medio de cultivo, el extracto de carne y la pluripeptona, aportan los nutrientes adecuados para el desarrollo bacteriano. La lactosa, sacarosa y glucosa son los hidratos de carbono fermentables. El tiosulfato de sodio es el sustrato necesario para la producción de ácido sulfhídrico, el sulfato de hierro y amonio, es la fuente de iones Fe^{3+} , los cuales se combinan con el ácido sulfhídrico y producen sulfuro de hierro, de color negro. El rojo de fenol es el indicador de pH, y el cloruro de sodio mantiene el balance osmótico (como resultados positivos en las lecturas). Por fermentación de azúcares, se producen ácidos, que se detectan por medio del indicador rojo de fenol, el cual vira al color amarillo en medio ácido. El tiosulfato de sodio se reduce a sulfuro de hidrógeno el que reacciona luego con una sal de hierro proporcionando el típico sulfuro de hierro de color negro (Cavallini, 2005).

7.4.12 Agar MIO (Motilidad Indol Ortinina)

Es un medio semisólido, con contenido de peptonas que proporcionan fuentes de nitrógeno y carbono, el extracto de levadura proporciona vitaminas y la dextrosa es la fuente de energía. Exclusivo para la diferenciación de *Enterobacterias*, basándose en las pruebas de movilidad, la cual se pone en manifiesto por la turbidez difusa alrededor de la línea de inoculación. La ortinina descarboxilasa tiene la facultad de formar la amina putrescina y liberando bióxido de carbono (coloración violeta-purpura); el triptófano por acción de la triptofanasa forma Indol, y otros compuestos (escatol e indol-acético), al agregar el Reactivo de Kovacs (p-NN-dimétil-amino benzaldehído), se produce un compuesto color rojo como reacción positiva a la producción de Indol, si se produce un color amarillo, el resultado es negativo (Schlegel y Zaborosch, 1997).

7.4.13 Agar LIA (Hierro-Lisina)

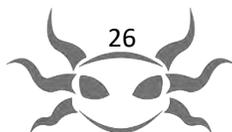
La peptona de gelatina funciona como soporte de crecimiento, el extracto de levadura proporciona la fuente de vitaminas necesarias y la dextrosa es el carbohidrato fermentable. En este medio se observa la fermentación de la glucosa, la producción de ácido sulfhídrico, la descarboxilación y desaminación de la lisina. Los microorganismos que tienen la enzima descarboxilasa, descarboxilan el aminoácido lisina a cadaverina (amina primaria, liberando CO₂), debido a la alcalinidad, el pH se modifica. La desaminación de la lisina a ácido alfa cetocarbónico, forma compuestos pardo-rojizos en la superficie del medio con la sal de hierro y por la acción del oxígeno. La formación de ácido sulfhídrico se observa por una coloración negra debida al sulfuro de hierro producido (Schlegel y Zaborosch, 1997).



7.5 Mecanismo de Tinción Gram

El frotis de los géneros *Vibrio*, *Enterobacter* y *Pseudomonas*, se realizó con la extensión del cultivo aislado en un portaobjetos, previamente se colocó una gota de agua, consecutivamente con el asa se tomó una colonia a caracterizar, mezclando con la gota de agua destilada extendiendo en movimientos circulares, se dejó secar por evaporación al aire en un campo estéril, se sometió a fijación de los microorganismos al portaobjetos por la llama. Se tuvo mucho cuidado de que el calor no fuera excesivo porque alteraría la forma normal y estructura de los microorganismos que se iban a teñir, el portaobjetos debió notarse caliente, sin quemar.

El método se empleó de acuerdo a la tinción de la pared celular de las bacterias dividiéndose en dos grandes grupos, según retengan o no el colorante primario (Gram (+) o Gram (-), respectivamente, tras sufrir la acción de un colorante (Suárez y Reyes, 2002). Conforme a lo anterior se utilizaron cuatro reactivos diferentes para realizar el método de tinción Gram, si se tiñen con el colorante primario se denominaron “Gram (+)” (color violeta); acorde al agente decolorante que se colocó por segundos (alcohol-acetona), después se lavó con agua destilada, hasta evaporación, se le colocó un colorante de contraste (safranina) durante tres minutos, lo que determinó la decoloración de las bacterias, denominadas “Gram (-)” (color rojizo). Después del tiempo establecido se lavó con agua destilada y se secaron con un papel filtro para su observación en un microscopio de contraste de fases (Suárez y Reyes, 2002).



7.6 Técnica de identificación de bacterias API 20E

El método por API 20E consta de tiras reactivas con pruebas de diferentes combinaciones bioquímicas estandarizadas y miniaturizadas que contienen sustratos deshidratados (Bio Mériux, 2009). Las tiras se conservaron en refrigeración (-1.8°C). Se preparó la cámara de incubación, se añadió cinco ml de agua destilada en los alveolos de la base de la cámara, para generar una atmósfera húmeda, se procedió a preparar el inóculo, se tomó una muestra de microorganismos de las colonias no mayor a 18 horas de incubación, se diluyeron homogéneamente en un medio de suspensión (NaCl al 1%) mediante agitación para inocular la tira, con la ayuda de una micropipeta (100 µm) con puntas estériles; se llenaron los microtúbulos de cada prueba bioquímica, evitando la formación de burbujas; se incubó a 37°C por 18 horas. En caso que el resultado sea dudoso se deberá volver a incubar durante 24 horas antes de su lectura.

La lectura de los resultados consistió en ir añadiendo reactivos en las pruebas para el revelado: prueba de TDA (triptófano desaminasa), se agrega una gota del reactivo TDA (percloruro de hierro), se indica la reacción positiva con un vire de color marrón-rojizo; prueba de IND (producción de Indol), se agrega una gota del reactivo JAMES (ácido clorhídrico 1N y componente J 2183 (confidencial)), se indica la reacción positiva con el vire a color rosado; prueba VP (producción de acetoína (Voges-Proskauer)), se agrega una gota VP1 (hidróxido de potasio al 40%) y una gota de VP2 (etanol), se esperó 10 minutos hasta el vire de color rosa-rojo, lo que indica una reacción positiva; por último la prueba de GLU (fermentación/oxidación de glucosa), la reducción de los nitratos en nitritos (NO₂) y en nitrógeno (N₂); se agrega una gota de los reactivos NIT1 (ácido sulfanílico y ácido acético) y NIT2 (N,N-dimetil-1-naftilamina y ácido acético), se espera de dos a cinco minutos, un color rojo, indica la reacción positiva (NO₂), después de cinco minutos, si el color siguió siendo amarillo, indica la reacción positiva (N₂) (Figura 2) (Bio Mériux, 2010).

La identificación de las especies bacterianas se realizó con la cifra numérica de siete dígitos obtenida en la lectura de las pruebas anteriores. Con base del Catálogo Analítico se localizó el perfil numérico en el listado para la determinación de las especies bacterianas (Bio Mérieux, 2010).



Figura. 2. Tira reactiva de API 20E. Se muestra en la imagen los alveolos, después de una incubación de 24, para la lectura posterior a la aplicación de los reactivos descritos anteriormente.

7.7 Experimentos de transporte de bacterias (agua y zooplancton)

Los experimentos se realizarán por cuatro semanas, de las cuales se colectó agua de la zona Urbana, de estas muestras de agua se filtraron primero con una malla zooplanctónica de 50 μ de abertura de malla con un diámetro de seis pulgadas, posteriormente con un sistema de bomba de vacío utilizando filtros millipore de 0.45 μ m para evitar el paso de otros microorganismos como protozoos, etc., ya que puede alterar los resultados (Chaparro-Herrera *et al.*, 2013). Los organismos vivos de *Ambystoma mexicanum* se obtuvieron del Laboratorio de Herpetología de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala UNAM, previamente se colocó una pareja de macho y hembra para la puesta de huevecillos, de los cuales ya eclosionados, se alimentaron hasta los dos meses de desarrollo.

Por consiguiente, se colocaron bandejas de poca profundidad con seis organismos experimentales expuestos al agua residual del Lago de Xochimilco, contra otros seis organismos control estos con agua moderadamente dura (medio EPA). Previo a comenzar los experimentos se les realizó un exudado de la boca, cloaca y piel para identificar y confirmar las bacterias presentes; conforme siguió la experimentación se les cambió el agua cada tercer día, debido a su alimentación y necesidades fisiológicas de los organismos.

De acuerdo al procedimiento cada semana se les realizó un exudado para confirmación (exudados de boca, cloaca y piel) de las bacterias presentes en los organismos con medios selectivos, lo que confirmó las especies en cuestión. Por último, al terminar los experimentos a los organismos, expuestos al agua residual, a estos se le sometió a un tratamiento de dos semanas con agua moderadamente dura, para seguir con su ciclo de vida normal.

7.8 Parámetros fisicoquímicos *ex situ*

Por otro lado, se realizó los análisis fisicoquímicos de las muestras de agua *ex situ* con los criterios establecidos de acuerdo a las normas oficiales mexicanas. Para la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) (NMX-AA-028-SCFI-2001) y la Demanda Química de Oxígeno (DQO) (NMX-AA-030/SCFI-2012). Para el análisis de los nutrientes se llevó a cabo por el método de Colorimetría con un fotómetro marca: EcoSense, modelo: YSI 9500.

7.8.1 Demanda Bioquímica de Oxígeno

Para analizar la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) (NMX-AA-028-SCFI-2001), se neutralizó el pH de las muestras, se colocó un volumen de muestra en los frascos de DBO, de acuerdo a la zona de muestreo dependieron los mililitros para cada dilución, se llenó cada frasco con agua de dilución sin generar burbujas, cuidadosamente se taparon sin introducir aire, se sellaron con agua destilada. Las diluciones se hicieron dobles, ya que se incubó por cinco días a 20°C en la oscuridad. A los otros frascos se le adicionó un mililitro de Sulfato manganoso, un mililitro de Álcali-Ioduro-Azida, se tapó y agitó, se dejó sedimentar el precipitado (color marrón), posteriormente se agregó un mililitro de Ácido Sulfúrico concentrado, se tapó y agitó. Se tomó una alícuota por cada dilución de 100 ml para titular con Tiosulfato de Sodio (0.025N), hasta un color amarillo paja, se le agregaron unas gotas de Almidón, se torna a un color azul, se siguió titulando con el Tiosulfato de Sodio hasta vire de azul a incoloro (Figura. 3). Se anotó el volumen gastado para los respectivos cálculos. Después de los cinco días, se fijó el Oxígeno Disuelto y se calculó los mg/L, como se mencionó anteriormente.



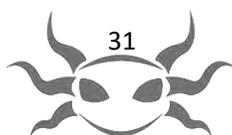
Figura 3. Titulación DBO. Se observa el vire del color: amarillo paja-azul (gotas de almidón)-transparente.

7.8.2 Demanda Química de Oxígeno

En el análisis de la Demanda Química de Oxígeno (DQO) (NMX-AA-030/SCFI-2012), se tomó un vial con reactivo integrado (solución digestiva para DQO: ácido crómico, sulfato de mercurio, sulfato de plata y ácido sulfúrico) para una gama entre 3-150 mg/L, marca: HACH Be Righ[™], con el principio de la degradación de la materia orgánica y ciertos iones inorgánicos oxidables con una solución estándar de Bicromato de Potasio en presencia de Ácido Sulfúrico, como catalizador Sulfato de Plata, para las sales iónicas se presentó un precipitado con la sal de plata, se colocó el tubo con la solución digestiva con cinco ml de muestra, se realizó el análisis por duplicado para cada muestra con un blanco, en un bloque termostático marca: HACH be Righ[™], modelo: LT200-2, para las digestiones; se programó la digestión por dos horas a 150°C, se dejó enfriar antes se añadieron de dos a tres gotas del indicador ferroín, se procedió a la titulación con la solución patrón de Sulfato Ferroso Amoniacal (0.25 N), hasta el vire del azul-verde a un café rojizo, se anotó el volumen gastado para los cálculos.

7.8.3 Nutrientes

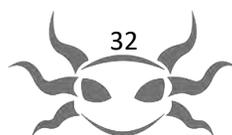
El análisis de los nutrientes se llevó a cabo por el método de Colorimetría con un fotómetro marca: EcoSense, modelo: YSI 9500, se calculó el contenido de Amonio en un rango 0-1.0 mg/L-N, con los reactivos: YSI Ammonia No.1 e YSI Ammonia No.2 (tabletas). Se tomó una celda para la prueba, se le agregó 10 ml de muestra hasta la marca, se le añadió una tableta No. 1 y una tableta No. 2, se aplasto y mezclo hasta disolver, se esperó durante 10 minutos hasta el desarrollo del color verde o amarillo. En el fotómetro se seleccionó los patrones de medición: phot 4 como resultado mg/L-N (nitrógeno), del phot 62 como resultado mg/L-NH₄ (amonio), considerando que el fotómetro pide un blanco para cada patrón de medición.



El cálculo para el contenido de Nitritos en un rango 0-1.6 mg/L-NO₂, con los reactivos: YSI Nitricol (tableta). Se tomó una celda para la prueba, se le agregó 10 ml de muestra hasta la marca, se le añadió la tableta de Nitricol se aplastó y mezcló hasta disolver, se esperó durante 10 minutos hasta el desarrollo del color rosa. En el fotómetro se seleccionó los patrones de medición: phot 24 como resultado mg/L-N (nitrógeno), y el phot 64 como resultado mg/L-NO₂ (nitritos), considerando que el fotómetro pide un blanco para cada patrón de medición.

El contenido de Nitratos se calculó en un rango 0-20 mg/L-N, con los reactivos: YSI Nitratest poder (cuchara), YSI Nitratest (tableta), YSI Nitricol (tableta). Se tomó una celda para la prueba, se le agregó 20 ml de muestra hasta la marca, se le añadió una cucharada de polvo de nitratest, se esperó durante 1 minuto, para agregar la tableta de Nitratest, sin aplastarla, se agitó hasta disolver, y se dejó sedimentar el precipitado. En la fase clara se tomó una celda para la prueba y se le agregaron 10 ml de muestra hasta la marca, donde se le añadió la tableta de Nitricol y se trituró mezclándola hasta disolver, esperando durante 10 minutos hasta el desarrollo del color rosado. En el fotómetro se seleccionó los patrones de medición: phot 23 como resultado mg/L-N (nitrógeno), y el phot 63 como resultado mg/L-NO₃ (nitratos), considerando que el fotómetro pide un blanco para cada patrón de medición.

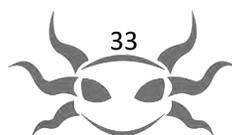
Para finalizar se calculó el contenido de Fosfatos bajo rango 0-4.0 mg/L-PO₄, con los reactivos: YSI Phosphate No.1 LR e YSI Phosphate No.2 LR (tabletas). Se agregó 10 ml de muestra hasta la marca en una celda donde se le añadió una tableta No. 1 y una tableta No. 2, se trituró y mezcló hasta disolver, esperando durante 10 minutos hasta el desarrollo del color azul. En el fotómetro se seleccionó los patrones de medición: phot 70 como resultado mg/L-P (fosfato), del phot 28 como resultado mg/L-PO₄ (fosfatos), considerando que el fotómetro pide un blanco para cada patrón de medición.



7.9 Mantenimiento del zooplancton (alimento y experimento)

Las presas de zooplancton que se utilizaron fueron cladóceros y ostrácodos presentes en el Lago de Xochimilco y reportadas como consumidas por larvas de *Ambystoma mexicanum* a partir del tercer mes de desarrollo (Chaparro-Herrera *et al.*, 2011). Las especies presas se colectaron en las zonas de muestreo del área de estudio, se identificaron las especies de zooplancton por medio de las claves taxonómicas de Gutiérrez *et al.*, (2008).

Las presas se cultivarán en medio EPA (en un litro de agua destilada se le agregaron: 0.095 g de NaHCO₃, 0.06 g de CaSO₄, 0.06 g de MgSO₄, y 0.002 g de KCl (Chaparro-Herrera *et al.*, 2011)) manteniendo una dieta con microalgas *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus acutus ad libitum*. Las algas se cultivaron en medio Bold Basal (en un litro de agua destilada se le agregaron: 10 ml de NaNO₃, 10 ml de MgSO₄ • 7 H₂O, 10 ml de NaCl, 10 ml de K₂HPO₄, 10 ml de KH₂PO₄, 10 ml de CaCl₂ • 2 H₂O, 1.0 ml de H₃BO₃, 1.0 ml de solución de elementos traza (en un litro de agua destilada se le agregaron: 8.82 g de ZnSO₄ • 7 H₂O, 1.44 g de MnCl₂ • 4 H₂O, 0.71 g de MoO₃, 1.57 g de CuSO₄ • 5 H₂O y 0.49 g de Co(NO₃)₂ • 6 H₂O), 1.0 ml de stock de EDTA (en 100 ml de agua destilada se le agregaron: 5 g de EDTANa₂ y 3.1 g de KOH), por último 1.0 ml de solución de Fe (en un litro de agua destilada se le agregaron: 4.98 g de FeSO₄ • 7 H₂O y 1.0 ml de H₂SO₄ concentrado)), a una temperatura de 20 ± 2 °C, con luminosidad y aireación constante durante una semana, se cosecharon después del tiempo transcurrido, se dejó sedimentar el cultivo en refrigeración, después se decanta para ser utilizado (Ramírez *et al.*, 2012, Chaparro-Herrera *et al.*, 2013).



7.10 Mantenimiento de *Ambystoma mexicanum*

Las larvas de *A. mexicanum* (400 individuos) se obtuvieron del Laboratorio de Herpetología de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala UNAM, y se incubaron de 15 a 18°C en un fotoperiodo de 12:12 h. El pie de cría de *A. mexicanum* ha sido mantenido en condiciones de laboratorio por los últimos 10 años anteriores. Fue imposible conseguir parejas reproductoras en condiciones naturales, por dos razones: i) *A. mexicanum* es una especie protegida, por lo que no se deja capturar animales del Lago de Xochimilco, y ii) la densidad de población en la naturaleza es menos de 0.01 ind/m² (Chaparro-Herrera *et al.*, 2011). Estos organismos se han mantenido en condiciones de laboratorio durante los últimos cinco años considerados como descendientes de los organismos anteriormente mencionados, el 10% de las larvas murieron durante la primera semana. Los individuos restantes sobrevivieron hasta el período de estudio.

Las larvas de *A. mexicanum* se mantuvieron en agua moderadamente dura (medio EPA), que se preparó disolviendo 0.095 g de NaHCO₃, 0.06 g de CaSO₄, 0.06 g de MgSO₄, y 0.002 g de KCl en un litro de agua destilada (Chaparro-Herrera *et al.*, 2013). Se mantuvieron en agua dura para prevenir el crecimiento de hongos en la piel de las larvas de *A. mexicanum*. El uso de medio de cultivo para el depredador y las presas ayudó evitar el estrés durante los experimentos. Las larvas se mantuvieron en bandejas transparentes poco profundas, y se alimentaron *ad libitum* con una mezcla de ostrácodos y cladóceros, antes y después de los experimentos.

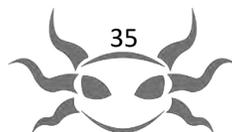
7.11 Análisis Estadístico.

7.11.1 ANOVA

La distribución de los datos obtenidos muestra cierta independencia, por lo que para determinar si nuestros resultados son homogéneos se aplicó un análisis de varianza (ANOVA, por sus siglas en inglés), con un nivel de significancia $p < 0.05$. Considerando que las hipótesis a comprobar respecto a los datos deben seguir una distribución normal, esto es que las varianzas de cada conjunto deben diferir de forma significativa (Daniel, 1997). Realizado con el paquete estadístico Sigmaplot para Windows, Versión 11.0 Build 11.0.0.77, 2008

7.11.2 Prueba de Tuckey

Al encontrar diferencias significativas en nuestros datos aplicamos la prueba estadística de Tuckey. La cuál comprende en calcular una única diferencia crítica para realizar todas las comparaciones entre las medias; el valor depende del número de comparaciones que se realicen (Blanco, 2001). Realizado con el paquete estadístico Sigmaplot para Windows, Versión 11.0 Build 11.0.0.77, 2008.



8. Resultados

8.1 Resultados bacteriológicos en el agua del Lago de Xochimilco y las presas (zooplancton)

Tabla 1. Coliformes Totales. Descripción del Número más Probable (NMP) por 100 ml, en cada zona de muestreo, correspondiente **A**: zona Agrícola, **U**: zona Urbana, **T**: zona Turística, respecto a la temporada de muestreo (invierno, primavera y verano).

Zona	A	U	T	A	U	T	A	U	T
Temporada	Invierno			Verano			Primavera		
NMP/100 mL	0	0	9.2	4.6	1.1	4.6	2.6	9.2	8

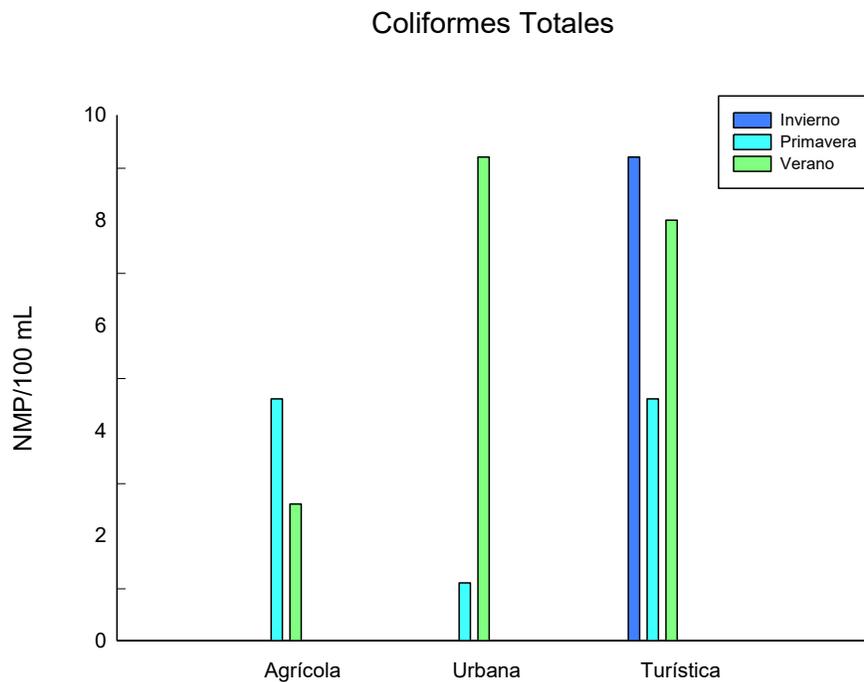


Gráfico 1. Coliformes Totales. Datos de la temporada de invierno, primavera y verano representada con el número más Probable (NMP) por 100 ml, para las zonas Agrícola, Urbana y Turística.

En el gráfico 1 y tabla 1 se observan los datos del NMP de coliformes totales por 100 ml de agua. En la zona Agrícola en la temporada de invierno no se obtuvieron valores, respecto a la temporada de primavera donde fue de 4.6 NMP/100ml, mientras que en la temporada de verano bajo a 2.6 de NMP/100ml. En la zona Urbana en la temporada de invierno no se obtuvieron valores, en temporada de primavera el valor fue de 1.1 NMP/100ml, para la temporada de verano subió a 9.2 NMP/100ml. Por último, en la zona Turística se mantuvieron los valores más altos en cada temporada de muestreo, en invierno 9.2 NMP/100ml; primavera 4.6 NMP/100ml y verano 8 NMP/100ml.

Tabla 2. Especies bacterianas de la zona Agrícola. Se enlistan las especies determinadas por API 20 E, por temporada (invierno, primavera y verano), respecto a las muestras de Hisopo de Moore y muestras filtradas de zooplancton que se analizaron en el laboratorio para determinar los microorganismos presentes.

Muestra/Temporada	Invierno	Primavera	Verano
Hisopo	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Vibrio cholerae</i> <i>Salmonella</i> spp. <i>Shigella flexneri</i> <i>Proteus mirabilis</i> <i>Escherichia coli</i>	<i>P. aeruginosa</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>V. cholerae</i> <i>Salmonella</i> spp. <i>P. mirabilis</i> <i>E. coli</i>	<i>S. epidermidis</i> <i>V. cholerae</i> <i>Salmonella</i> spp. <i>P. mirabilis</i>
Zooplancton	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Vibrio cholerae</i> <i>Salmonella</i> spp. <i>Escherichia coli</i> <i>Proteus mirabilis</i>	<i>S. aureus</i> <i>S. Epidermidis</i> <i>V. cholerae</i> <i>Salmonella</i> sp. Subgrupo 3 <i>E. coli</i> <i>P. mirabilis</i>	<i>S. aureus</i> <i>S. Epidermidis</i> <i>Salmonella</i> spp. Subgrupo 3 <i>E. coli</i>

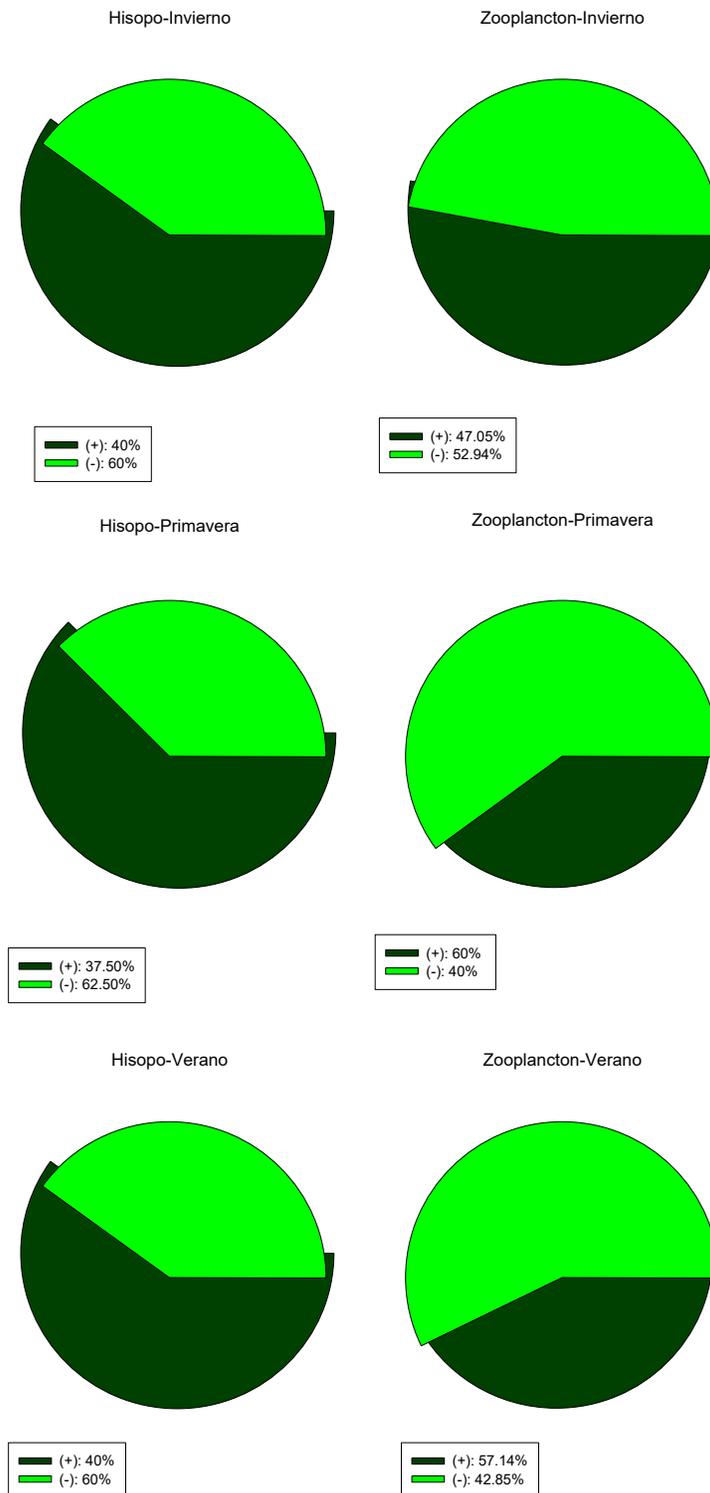


Figura 4. Tinciones Gram de la zona Agrícola. Bacterias presentes determinadas por API 20 E, en las temporadas de invierno, primavera y verano, representando los porcentajes de Gram (+) y Gram (-), respecto a la muestra que se analizaron por la técnica de Hisopo Moore y en el análisis bacteriológico de zooplancton.

Los resultados obtenidos en la zona Agrícola de las especies bacterianas (tabla 2) descritas se analizaron por el método de tinción Gram (Figura 4). Con los porcentajes más representativos del método, en la temporada de invierno por Hisopo Moore con 40% de Gram (+) y 60% de Gram (-), para la temporada de primavera en el zooplancton se obtuvo un 60% de Gram (+) y 40% de Gram (-). Por último, en la temporada de verano en Hisopo Moore fue de 40% Gram (+) y con un 60% de Gram (-). De acuerdo, a estos valores las especies bacterianas representativas en las tres temporadas son: *Vibrio cholerae*, *Salmonella* spp. y *Proteus mirabilis* por Hisopo Moore. En contraste, para el zooplancton son: *Escherichia coli*, *P. mirabilis* y *Salmonella* spp.

Tabla 3. Especies bacterianas de la zona Urbana. Se enlistan las especies determinadas por API 20 E, por temporada (invierno, primavera y verano), respecto a las muestras de Hisopo de Moore y muestras filtradas de zooplancton que se analizaron en el laboratorio para determinar los microorganismos presentes.

Muestra/Temporada	Invierno	Primavera	Verano
Hisopo	<i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Vibrio cholerae</i> <i>Salmonella</i> spp. <i>Shigella flexneri</i> <i>Proteus mirabilis</i> <i>Vibrio fluvialis</i>	<i>P. aeruginosa</i> <i>S. epidermidis</i> <i>V. cholerae</i> <i>Salmonella</i> spp. Subgrupo 3 <i>P. mirabilis</i>	<i>S. epidermidis</i> <i>V. cholerae</i> <i>Salmonella</i> spp. <i>E. coli</i>
Zooplancton	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Salmonella</i> spp. <i>Escherichia coli</i> <i>Proteus mirabilis</i>	<i>S. aureus</i> <i>S. Epidermidis</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>V. cholerae</i> <i>Salmonella</i> spp. <i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i> <i>S. Epidermidis</i> <i>Salmonella</i> spp. Subgrupo 3 <i>V. cholerae</i> <i>E. coli</i>

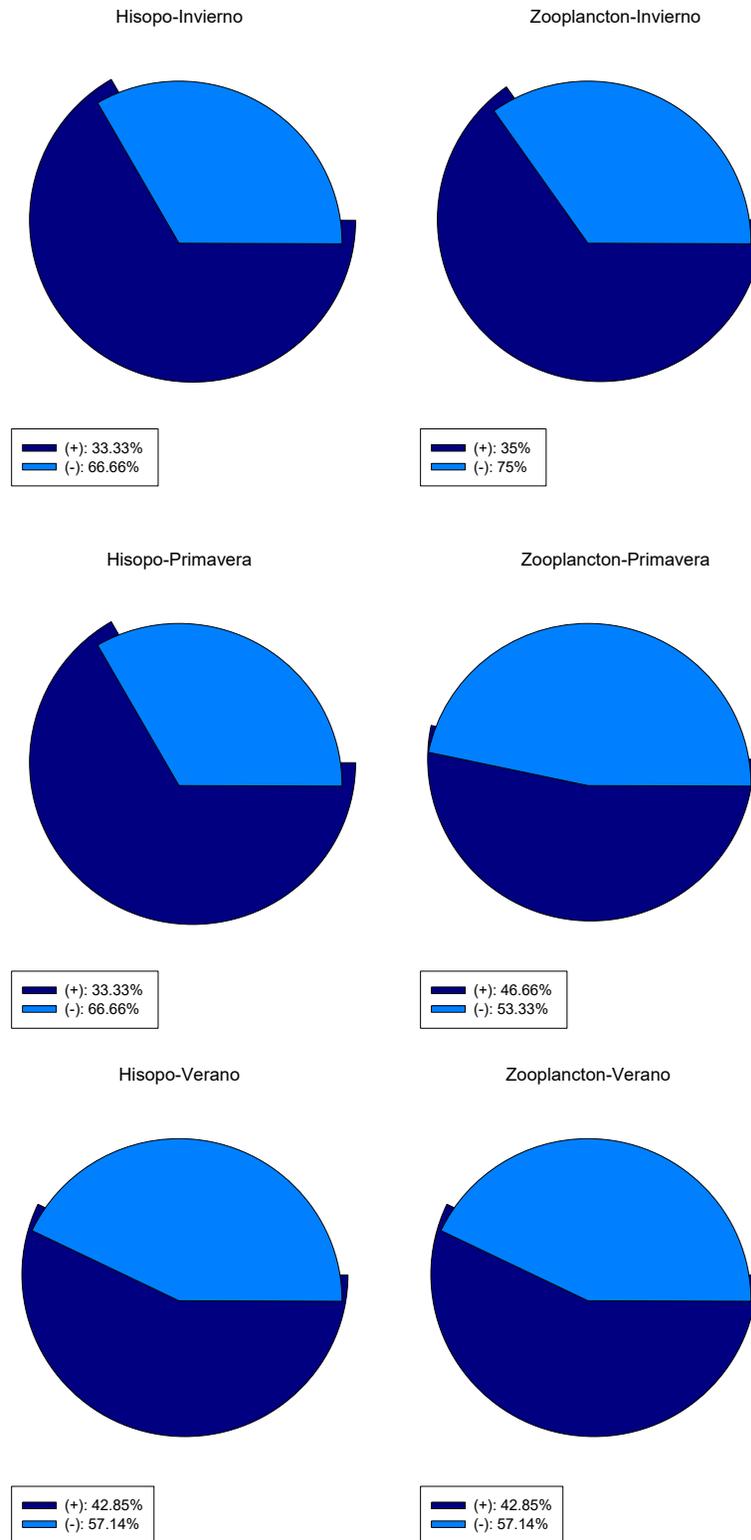


Figura 5. Tinciones Gram de la zona Urbana. Bacterias presentes en las temporadas de invierno, primavera y verano, representando los porcentajes de Gram (+) y Gram (-), respecto a la muestra que se analizó por la técnica de Hisopo Moore y en el análisis bacteriológico de zooplancton.

Los resultados obtenidos para la zona Urbana las especies bacterianas (tabla 3) descritas se analizaron por el método de tinción Gram (Figura. 5). Conforme a las tres temporadas (invierno, primavera y verano) en las que se desarrolló el muestreo. Los porcentajes más representativos de Tinción Gram, en la temporada de invierno para zooplancton son 45% de Gram (+) y 65% de Gram (-), en la temporada de primavera por Hisopo Moore se obtuvo un 33% de Gram (+) y 66% de Gram (-), por último, en la temporada de verano en zooplancton con un 42% de Gram (+) y 57% de Gram (-). De acuerdo, a estos porcentajes las especies bacterianas representativas en las tres temporadas para Hisopo Moore y zooplancton son: *Vibrio cholerae*, *Salmonella* spp. y *Escherichia coli*.

Tabla 4. Especies bacterianas de la zona Turística. Se enlistan las especies determinadas por API 20 E, por temporada (invierno, primavera y verano), respecto a las muestras de Hisopo de Moore y muestras filtradas de zooplancton que se analizaron en el laboratorio para determinar los microorganismos presentes.

Muestra/Temporada	Invierno	Primavera	Verano
Hisopo	<p><i>Staphylococcus epidermidis</i></p> <p><i>Vibrio cholerae</i></p> <p><i>Salmonella</i> spp.</p> <p><i>Proteus mirabilis</i></p>	<p><i>P. aeruginosa</i></p> <p><i>S. epidermidis</i></p> <p><i>V. cholerae</i></p> <p><i>Salmonella</i> spp. Subgrupo 3</p> <p><i>P. mirabilis</i></p>	<p><i>S. epidermidis</i></p> <p><i>V. cholerae</i></p> <p><i>Salmonella</i> spp</p> <p><i>E. coli</i></p>
Zooplancton	<p><i>Staphylococcus aureus</i></p> <p><i>Salmonella</i> spp.</p> <p><i>Escherichia coli</i></p>	<p><i>S. aureus</i></p> <p><i>S. Epidermidis</i></p> <p><i>P. aeruginosa</i></p> <p><i>V. cholerae</i></p> <p><i>E. coli</i></p>	<p><i>S. aureus</i></p> <p><i>S. Epidermidis</i></p> <p><i>P. aeruginosa</i></p> <p><i>Salmonella</i> spp.</p> <p><i>E. coli</i></p>

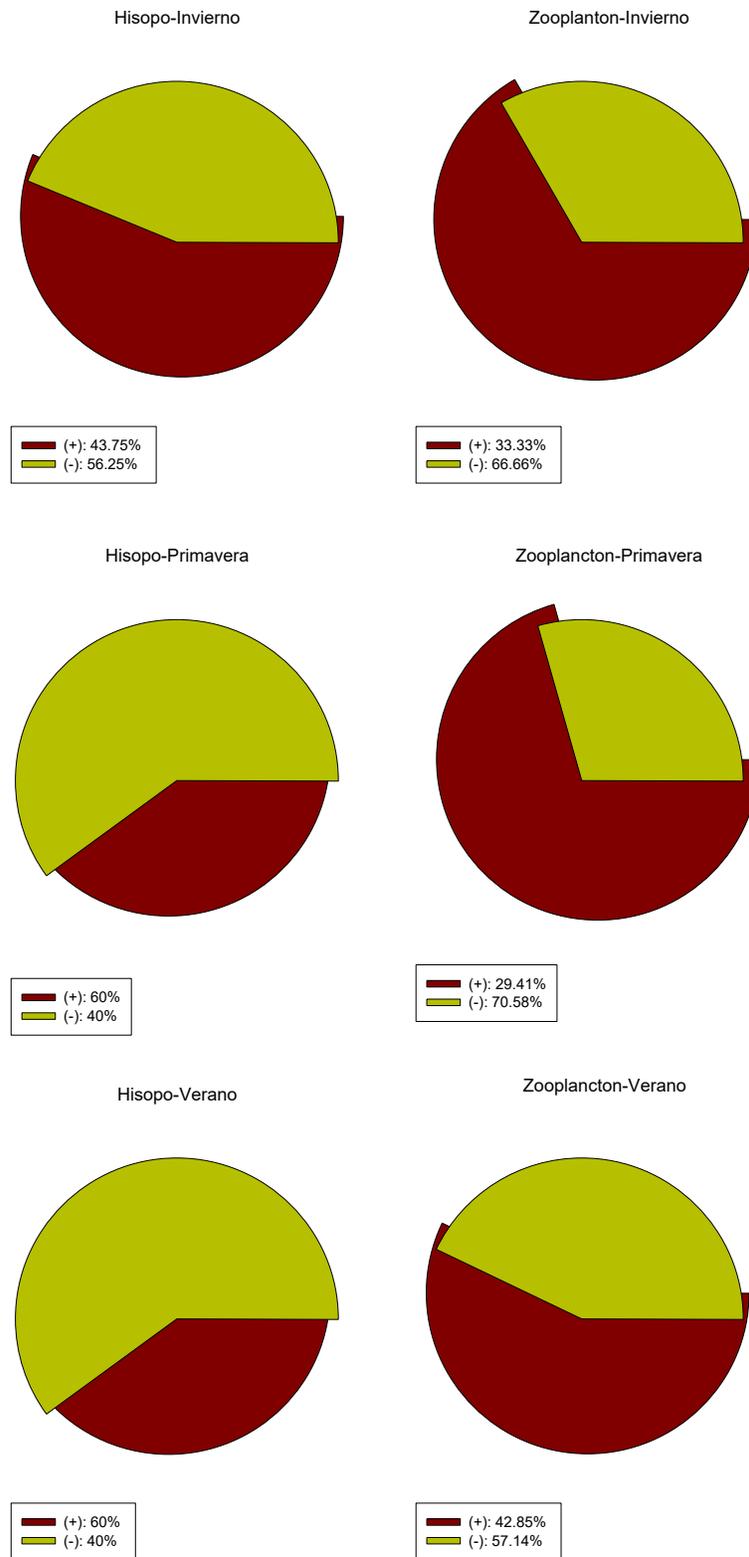


Figura 6. Tinciones Gram de la zona Turística. Bacterias presentes en las temporadas de invierno, primavera y verano, representando los porcentajes de Gram (+) y Gram (-), respecto a la muestra que se analizó por la técnica de Hisopo Moore y en el análisis bacteriológico de zooplancton.

Los resultados obtenidos para la zona Turística las especies bacterianas (tabla 4) descritas se analizaron por el método de tinción Gram (Figura. 6). Conforme a las temporadas (invierno, primavera y verano) en las que se desarrolló el muestreo. Los porcentajes más representativos fueron para el zooplancton en la temporada de invierno con un 33% de Gram (+) y 66% de Gram (-), en la temporada de primavera se obtuvo un 29% de Gram (+) y 70% de Gram (-), por último, en la temporada de verano con un 42% de Gram (+) y 57% de Gram (-). De acuerdo, a estos porcentajes las especies bacterianas representativas en las tres temporadas son: *Vibrio cholerae*, *Salmonella* spp. y *Staphylococcus epidermidis* por Hisopo Moore. Por el contrario, para el zooplancton son: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*.

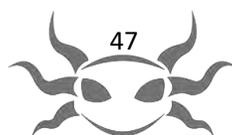
8.2 Análisis de Varianza por tres vías de las bacterias.

Tabla 5. Presencia-Ausencia de las bacterias. Se ejemplifica el número de veces que se encontraron las especies en los análisis bacteriológicos, correspondientes a las zonas de muestreo (Agrícola, Urbana y Turística) por cada temporada (invierno, primavera y verano). Se enlistan las especies: A; *Pseudomonas aeruginosa*, B; *Escherichia coli*, C; *Staphylococcus epidermidis*, D; *Staphylococcus aureus*, E; *Vibrio cholerae*, F; *Proteus mirabilis*, G; *Salmonella* spp., H; *Shigella flexneri* y I; *Saccharomyces cerevisiae*.

Temporadas/Zonas		Agrícola								
Especies	A	B	C	D	E	F	G	H	I	
Invierno	0	4	6	3	6	5	2	2	3	
Primavera	2	6	0	0	10	6	2	1	2	
Verano	0	4	4	1	6	5	1	1	4	
		Urbana								
Especies	A	B	C	D	E	F	G	H	I	
Invierno	0	4	4	2	5	6	1	1	3	
Primavera	2	8	0	0	12	8	4	3	1	
Verano	0	6	6	1	4	8	1	2	5	
		Turística								
Especies	A	B	C	D	E	F	G	H	I	
Invierno	0	3	4	2	5	5	4	2	3	
Primavera	1	6	0	0	9	7	4	2	3	
Verano	0	5	5	0	5	8	2	3	5	

Tabla 6. ANOVA. Análisis de varianza por tres vías de las Bacterias presentes por zonas de muestreo (Agrícola, Urbana y Turística), y por temporada (invierno, primavera y verano).

Análisis de Varianza por tres vías					
Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media cuadrática	F	Probabilidad
Zonas	2	2.29	1.14	2.24	0.12
Temporada	2	3.63	1.81	3.54	0.04
Especies	8	375.33	46.91	91.71	<0.001
Residual	32	16.37	0.51		
Total	80	596.55	7.11		



Las bacterias patógenas presentes en la Tabla 5, corresponden a la ejemplificación de la presencia-ausencia a las zonas de muestreo (Agrícola, Urbana y Turística) por cada temporada (invierno, primavera y verano). En cada análisis bacteriológico que se llevó a cabo por dilución en placa, hasta obtener una colonia, que permita hacer el aislamiento, para realizar su identificación con API 20E, lo que confirma la especie.

En el análisis de varianza de tres vías (Tabla 6), para las zonas (Agrícola, Urbana y Turística) el contraste entre los valores de las medias, excluye la posibilidad de que la diferencia de la probabilidad ($P=0.12$); la cual, no entra dentro del intervalo de confianza del 95%, siendo que el valor es mayor a 0.05. De acuerdo a lo anterior, podemos decir que las zonas son diferentes significativamente entre sí en la presencia de las especies de bacterias. Por ejemplo, la bacteria con una diferencia significativa en cuanto a la presencia en cada zona fue *Vibrio cholerae* según la prueba de Tuckey ($P<0.050$) (Tabla 7), dichas diferencias se observan entre todas las demás especies encontradas en las zonas excepto *Proteus mirabilis*. Sin embargo, para el apartado de temporada no hay diferencias estadísticamente significativas (Tabla 6, ANOVA).

Tabla 7. Prueba de Tuckey por Especies. Todas las comparaciones de los datos por comparación múltiple en las especies de bacterias (1: *Pseudomonas aeruginosa*, 2: *Escherichia coli*, 3: *Staphylococcus epidermidis*, 4: *Staphylococcus aureus*, 5: *Vibrio cholerae*, 6: *Proteus mirabilis*, 7: *Salmonella* spp., 8: *Shigella flexneri* y 9: *Saccharomyces cerevisiae*).

Comparación	Diferencia de medias	P	Q	P	P<0.050
5 vs. 1	6.33	9	26.56	<0.001	Si
5 vs. 4	5.88	9	24.70	<0.001	Si
5 vs. 8	5	9	20.97	<0.001	Si
5 vs. 7	4.55	9	19.10	<0.001	Si
5 vs. 3	3.66	9	15.37	<0.001	Si
5 vs. 9	3.66	9	15.37	<0.001	Si
5 vs. 2	1.77	9	7.45	<0.001	Si
5 vs. 6	0.44	9	1.86	0.918	No

6 vs. 1	5.88	9	24.70	<0.001	Si
6 vs. 4	5.44	9	22.83	<0.001	Si
6 vs. 8	4.55	9	19.10	<0.001	Si
6 vs. 7	4.11	9	17.24	<0.001	Si
6 vs. 3	3.22	9	13.51	<0.001	Si
6 vs. 9	3.22	9	13.51	<0.001	Si
6 vs. 2	1.33	9	5.59	<0.001	Si
2 vs. 1	4.55	9	19.10	<0.001	Si
2 vs. 4	4.11	9	17.24	<0.001	Si
2 vs. 8	3.22	9	13.51	<0.001	Si
2 vs. 7	2.77	9	11.65	<0.001	Si
2 vs. 3	1.88	9	7.92	<0.001	Si
2 vs. 9	1.88	9	7.92	<0.001	Si
9 vs. 1	2.66	9	11.18	<0.001	Si
9 vs. 4	2.22	9	9.32	<0.001	Si
9 vs. 8	1.33	9	5.59	0.010	Si
9 vs. 7	0.88	9	3.72	0.012	No
9 vs. 3	0.00	9	0.00	1.000	No
3 vs. 1	2.66	9	11.18	<0.001	Si
3 vs. 4	2.22	9	9.32	<0.001	Si
3 vs. 8	1.33	9	5.59	0.010	Si
3 vs. 7	0.88	9	3.72	0.012	No
7 vs. 1	1.77	9	7.45	<0.001	Si
7 vs. 4	1.33	9	5.59	0.010	Si
7 vs. 8	0.44	9	1.86	0.918	No
8 vs. 1	1.33	9	5.59	0.010	Si
8 vs. 4	0.88	9	3.72	0.012	No
4 vs. 1	0.44	9	1.86	0.918	No

En la Tabla 7 se observan las diferencias significativas con la prueba de Tuckey (<0.001) entre cada especie de bacterias presentes en las zonas de estudio (Agrícola, Urbana y Turística). En contraste donde no se observan diferencias significativas son con *V. cholerae* vs *Proteus mirabilis* (P=0.918); *S. cerevisiae* vs *Salmonella* spp. (0.012); *Salmonella* spp. vs *S. flexneri* (P=0.918); *Salmonella* spp. vs *S. aureus* (P=0.212); y *S. aureus* vs *P. aeruginosa* (P=0.918).

8.3 Resultados bacteriológicos en los organismos de *Ambystoma mexicanum*

Tabla 8. Especies bacterianas presentes en los organismos de *Ambystoma mexicanum*. Exudados en boca, cloaca y piel tomados en seis organismos de *A. mexicanum* de cuatro semanas de desarrollo expuestos al agua residual (Lago de Xochimilco); y seis organismos de *A. mexicanum* expuestos en el control (EPA esterilizado).

Exudado	Organismo Control	Organismo Experimental
Cloaca	<i>P. aeruginosa</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>E. coli</i> y <i>Salmonella</i> spp.	<i>P. aeruginosa</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>E. coli</i> y <i>Salmonella</i> spp.
Boca	<i>P. aeruginosa</i> , <i>E. coli</i> y <i>Salmonella</i> spp.	<i>P. aeruginosa</i> , <i>E. coli</i> y <i>Salmonella</i> spp.
Piel	<i>Escherichia. coli</i> y <i>Salmonella</i> spp.	<i>E. coli</i> y <i>Salmonella</i> spp.

En la Tabla 8 se enlistan las especies bacterianas en promedio como resultado del experimento de los organismos expuestos al agua residual. Los exudados se dividen por: cloaca, boca y piel.

En los organismos control de *A. mexicanum* predominó la presencia de *P. aeruginosa*, *E. coli* y *Salmonella* spp., gradualmente se fue descartando de los resultados a *S. epidermidis*; en los exudados de piel predominó la presencia de *E. coli* y *Salmonella* spp.

De acuerdo, a los organismos experimentales con exposición al agua residual (colectada de la Zona Urbana), predominó la presencia de *P. aeruginosa* (Figura. 7), *E. coli* y *Salmonella* spp., gradualmente se fue descartando de los resultados a *S. epidermidis* y *P. aeruginosa*; en los exudados de piel predominó la presencia de *E. coli* y *Salmonella* spp.



Figura 7. Experimentos con organismos de *Ambystoma mexicanum*. En el círculo amarillo se muestran unas manchas circulares, blancas, pequeñas, como muestra de indicios de la presencia de *Pseudomonas aeruginosa*.

8.4 Presencia de zooplancton en las zonas de muestreo

Tabla 9. Presencia de zooplancton en la temporada de invierno. Se enlistan los conteos en promedio de zooplancton (org/mL) de acuerdo al *Phyllum* (rotífera, cladóceras, copépodos y ostrácodos) correspondientes a cada zona de muestreo (Agrícola, Urbana y Turística).

Especies	Agrícola	Urbana	Turística
Rotífera <i>Brachionus calyciflorus, B. havanaensis,</i> <i>B. angularis, B. rubens,</i> <i>Keratella sp y Asplanchna sp</i>	8049	300.33	1259
Cladóceras <i>Alona glabra, Pleuroxus sp, Moina macrocopa y</i> <i>Simocephalus vetulus</i>	1159	5455	1629
Copépodos <i>Cyclopoideo, Copepodito cyclopoideo</i> <i>Nauplio y Calanoideo</i>	340.66	77	81.66
Ostrácodos <i>Heterocypris incongruens</i>	19.66	46.66	16.33

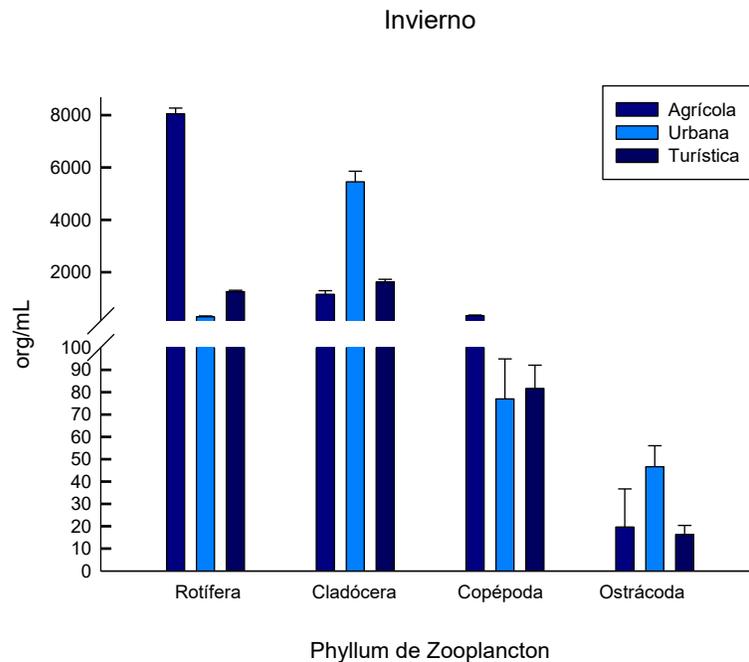


Gráfico 2. Zooplankton present in winter. Registro del número de organismos por *Phyllum* rotífera, cladóceras, copépodos y ostrácodos, por cada zona de muestreo (Agrícola, Urbana y Turística), marcando un corte de los 100-150 organismos.

La representación gráfica de los conteos con su desviación estándar perteneciente a la temporada de invierno (Tabla 9; Gráfico 2), ejemplifica las zonas de muestreo (Agrícola, Urbana y Turística), se dividen por grupo de zooplancton, de los cuales rotífera en la zona Agrícola tiene el valor máximo (8049), al contrario del valor mínimo (300.33) en la zona Urbana. Con lo que respecta a los cladóceros el valor máximo (5455) se obtuvo en la zona Urbana, al contrario, en la zona Agrícola con el valor mínimo (1159). Las especies de copépoda registran el valor máximo (340.66) en la zona Agrícola y en la zona Urbana el valor mínimo (77). En los grupos anteriores para la zona Turística se obtuvo el valor medio (1629-81.66) en los conteos. Finalmente, el grupo de ostrácoda en comparación a los grupos anteriores en la zona Agrícola obtuvo un valor medio (19.66), el valor máximo (46.66) fue en la zona Urbana y el valor mínimo (16.33) en la zona Turística.

Tabla 10. Presencia de zooplancton en la temporada de primavera. Se enlistan los conteos en promedio de zooplancton (org/mL) de acuerdo al *Phyllum* (rotífera, cladóceras, copépodos y ostrácodos) correspondientes a cada zona de muestreo (Agrícola, Urbana y Turística).

Especies	Agrícola	Urbana	Turística
Rotífera <i>Brachionus calyciflorus, B. havanaensis,</i> <i>B. angularis, B. rubens,</i> <i>Keratella sp y Asplanchna sp</i>	841.66	1791	5736
Cladóceras <i>Alona glabra, Pleuroxus sp, Moina macrocopa y</i> <i>Simocephalus vetulus</i>	961.66	702	192.66
Copépodos <i>Cyclopoideo, Copepodito cyclopoideo</i> <i>Nauplio y Calanoideo</i>	41.66	34.33	76.33
Ostrácodos <i>Heterocypris incongruens</i>	77.33	121.66	41.33

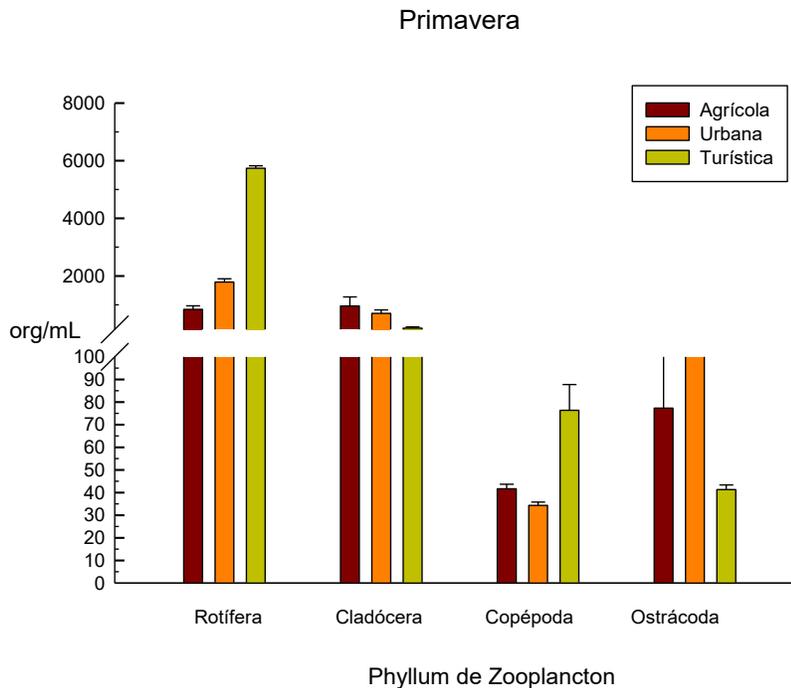


Gráfico 3. Zooplankton presente en la temporada de primavera. Registro del número de organismos por *Phyllum* rotífera, cladóceras, copépodos y ostrácodos, por cada zona de muestreo (Agrícola, Urbana y Turística), marcando un corte de los 100-150 organismos.

La representación gráfica de los conteos con su desviación estándar perteneciente a la temporada de primavera (Tabla 10; Gráfico 3), ejemplifica las zonas de muestreo (Agrícola, Urbana y Turística), se dividen por grupo de zooplancton, de los cuales rotífera en la zona Turística tiene el valor máximo (5736), al contrario del valor mínimo (841.66) en la zona Agrícola. Con lo que respecta a los cladóceros el valor máximo (961.66) se obtuvo en la zona Agrícola, al contrario, en la zona Turística con el valor mínimo (192.66). Las especies de copépoda registran el valor máximo (76.33) en la zona Turística y en la zona Agrícola el valor mínimo (41.66). En los grupos anteriores para la zona Urbana se obtuvo el valor medio (1791-34.33) en los conteos. Finalmente, el grupo de ostrácoda en comparación a los grupos anteriores en la zona Turística se obtuvo un valor medio (41.33), el valor máximo (121.66) fue en la zona Urbana y el valor mínimo (77.33) en la zona Agrícola.

Tabla 11. Presencia de zooplancton en la temporada de verano. Se enlistan los conteos en promedio de zooplancton (org/mL) de acuerdo al *Phyllum* (rotífera, cladóceras, copépodos y ostrácodos) correspondientes a cada zona de muestreo (Agrícola, Urbana y Turística).

Especies	Agrícola	Urbana	Turística
Rotífera <i>Brachionus calyciflorus, B. havanaensis,</i> <i>B. angularis, B. rubens,</i> <i>Keratella sp y Asplanchna sp</i>	366.66	2029.66	455.33
Cladóceras <i>Alona glabra, Pleuroxus sp, Moina macrocopa y</i> <i>Simocephalus vetulus</i>	107.66	272	127.33
Copépodos <i>Cyclopoideo, Copepodito Cyclopoideo</i> <i>Nauplio y Calanoideo</i>	14	57.33	47.33
Ostrácodos <i>Heterocypris incongruens</i>	12.66	48.33	14.33

Verano

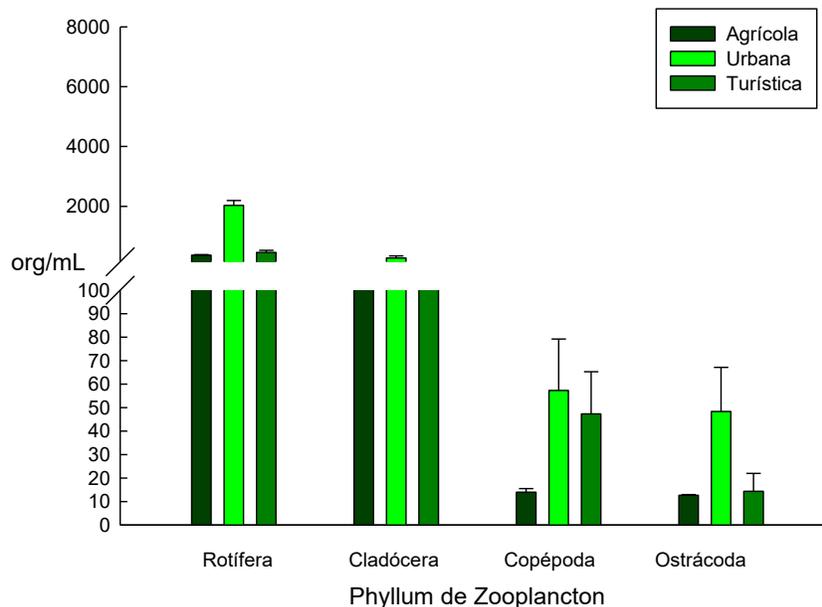


Gráfico 4. Zooplankton presente en la temporada de verano. Registro del número de organismos por *Phyllum* rotífera, cladóceras, copépodos y ostrácodos, por cada zona de muestreo (Agrícola, Urbana y Turística), marcando un corte de los 100- 150 organismos.

La representación gráfica de los conteos con su desviación estándar perteneciente a la temporada de verano (Tabla 11; Gráfico 4), ejemplifica las zonas de muestreo (Agrícola, Urbana y Turística), se dividen por grupo de zooplancton, de los cuales rotífera en la zona Urbana tiene el valor máximo (2029.66), al contrario del valor mínimo (366.66) en la zona Agrícola. Con lo que respecta a los cladóceros el valor máximo (272) se obtuvo en la zona Urbana, al contrario, en la zona Agrícola con el valor mínimo (107.66). Las especies de copépoda registran el valor máximo (57.33) en la zona Urbana y en la zona Agrícola el valor mínimo (14). En los grupos anteriores para la zona Turística se obtuvo el valor medio (455.33-47.33) en los conteos. Finalmente, el grupo de ostrácoda en comparación a los grupos anteriores en la zona Urbana se obtuvo un valor medio (14.33), el valor máximo (48.33) fue en la zona Turística y el valor mínimo (12.33) en la zona Agrícola.

8.5 Análisis Físicoquímicos

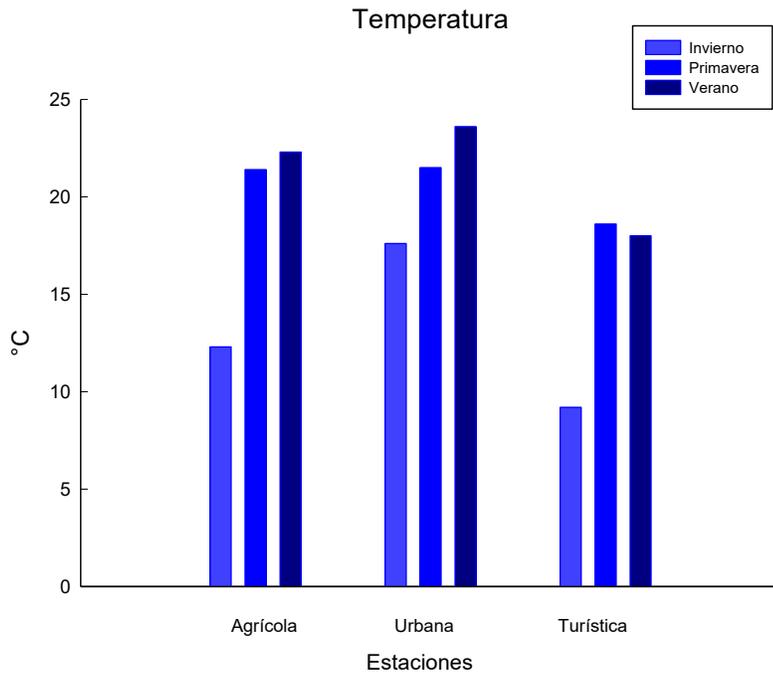


Gráfico 5. Temperatura. Registro de temperatura para las temporadas de invierno, primavera y verano en campo por zona de muestreo (Agrícola, Urbana y Turística).

Gráfico 6. Potencial de Hidrógeno. Registros de pH para las temporadas de invierno, primavera y verano en campo por zona de muestreo (Agrícola, Urbana y Turística).

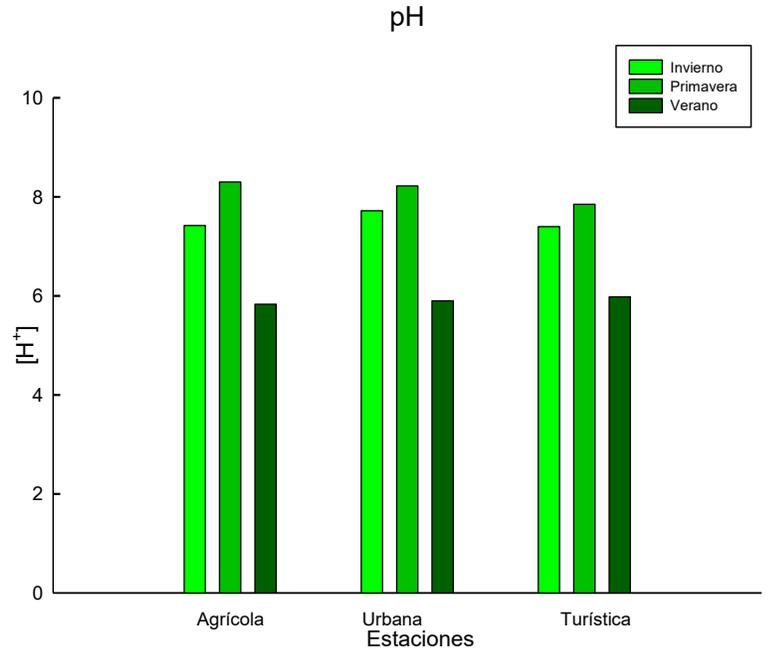


Gráfico 7. Transparencia. Registros de transparencia (disco de *Secchi*) para las temporadas de invierno, primavera y verano en campo por zona de muestreo (Agrícola, Urbana y Turística).

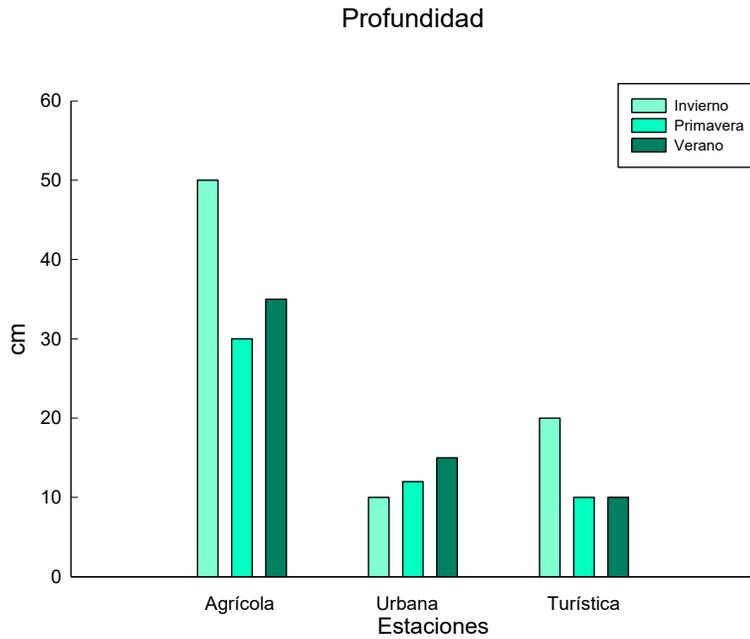
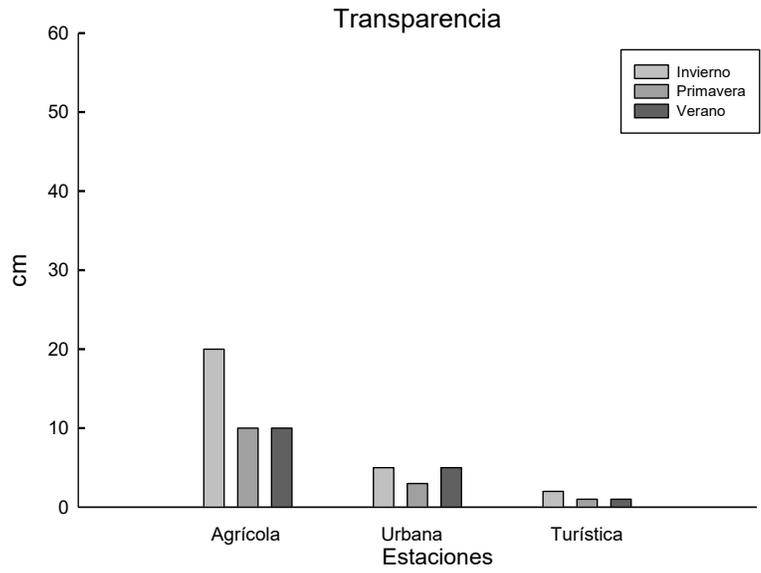


Gráfico 8. Profundidad. Registros de la profundidad por zona de muestreo (Agrícola, Urbana y Turística) en las tres temporadas (invierno, primavera y verano).

La temperatura varió dependiendo de la temporada de muestreo (invierno, primavera y verano), se observó una diferencia en el aumento de la temperatura en las tres diferentes épocas del año (lluvias y secas). La temperatura más alta se reportó para la zona Urbana en la temporada de verano con 23.6°C, en su contraparte la temperatura más baja se reportó para la zona Turística en la temporada de invierno con 9.2°C (Gráfico 5).

Se observó diferencias en los registros del Potencial de Hidrógeno (Gráfico 6) dependiendo de la zona de muestreo y la temporada en la que fueron tomados los valores. En la zona Agrícola, para la temporada de invierno se registró un pH de 7.42, mientras que en la temporada de primavera se registró un pH de 8.3, y en la temporada de verano bajo el pH drásticamente a 5.83. Por otro lado, en la zona Urbana, el pH más alto registrado fue en la temporada de primavera con un valor de 8.2, y el valor más bajo fue en verano con 5.9. Por último, en la zona Turística en invierno mantuvo el mismo patrón a las zonas descritas anteriormente con un pH de 7.4, en primavera un pH de 7.85.

La Profundidad fue un parámetro que se tomó en los diferentes sitios de muestreo con una variación dependiendo de la zona y la temporada de análisis (Gráfico 8). La mayor profundidad reportada fue en la zona Agrícola en la temporada de invierno con 50 cm, la menor profundidad se registró en la zona Turística en las temporadas de primavera y verano con 10 cm. Aleatoriamente al medir profundidad (Gráfico 8) se registró la Transparencia (Gráfico 7) de las zonas de muestreo, donde la mayor transparencia reportada fue para la zona Agrícola en la temporada de invierno con 20 cm, y la menor transparencia se registró en la zona turística en las temporadas de primavera y verano con 1.0 cm.

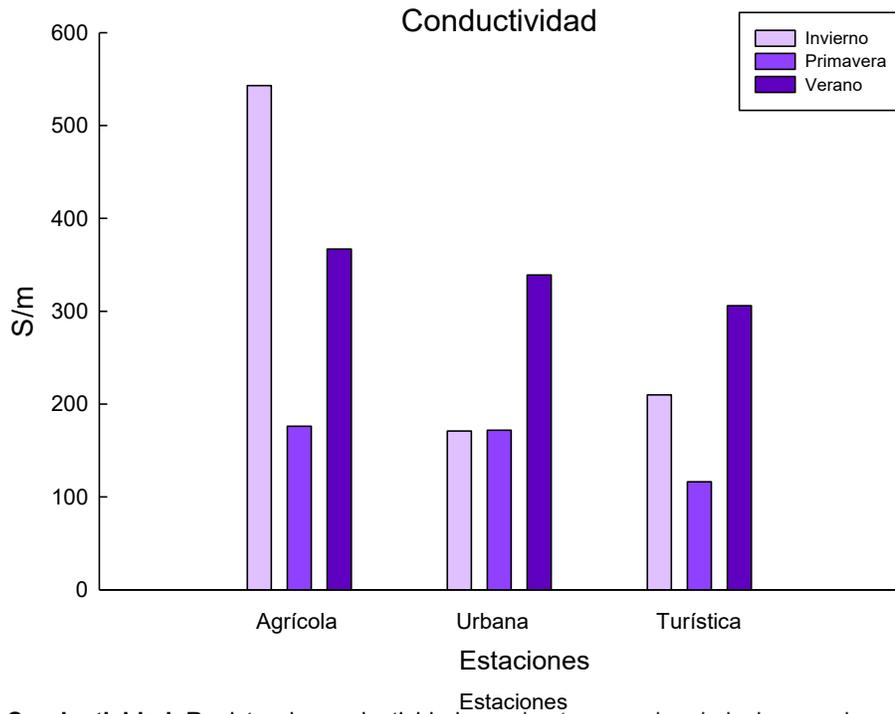


Gráfico 9. Conductividad. Registro de conductividad para las temporadas de invierno, primavera y verano en cada zona de muestreo (Agrícola, Urbana y Turística).

Los registros de Conductividad se observan con la representación por cada temporada de muestreo (invierno, primavera y verano), se reportan en siemens por metro (Gráfico 9). La zona Agrícola registro la mayor conductividad en la temporada de invierno (543 S/m), por otro lado, la menor conductividad se observó en la zona Turística en la temporada de primavera (116.4 S/m). En la temporada de verano se mantuvo la conductividad en las tres zonas de muestreo en un rango entre 300-370 S/m, en comparación a las otras temporadas.

Gráfico 10. Porcentaje de Oxígeno Disuelto. Registros de los porcentajes de Oxígeno Disuelto para las temporadas de invierno, primavera y verano en cada zona de muestreo (Agrícola, Urbana y Turística).

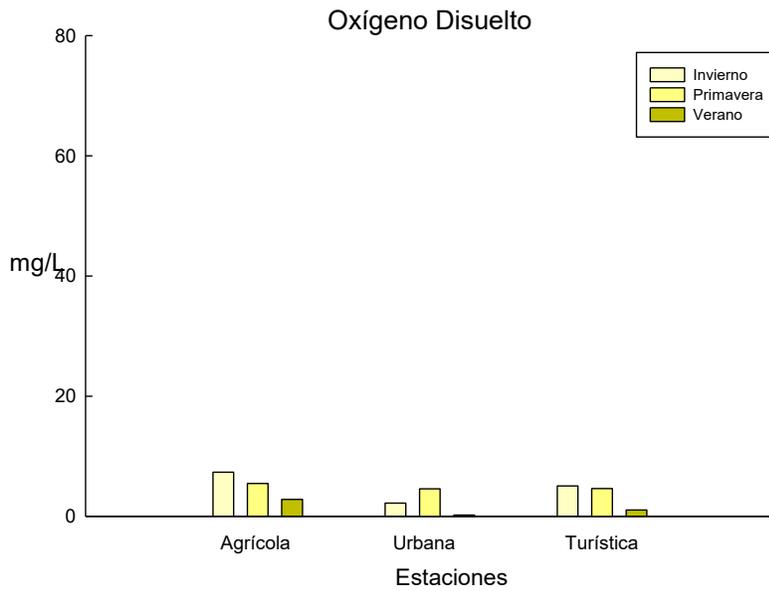
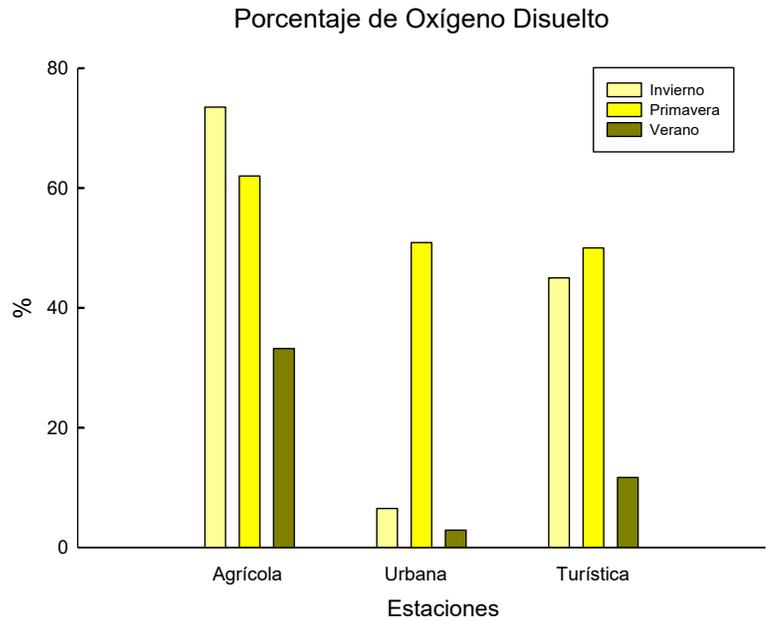


Gráfico 11. Oxígeno Disuelto. Registros de Oxígeno Disuelto para las temporadas de invierno, primavera y verano en cada zona de muestreo (Agrícola, Urbana y Turística).

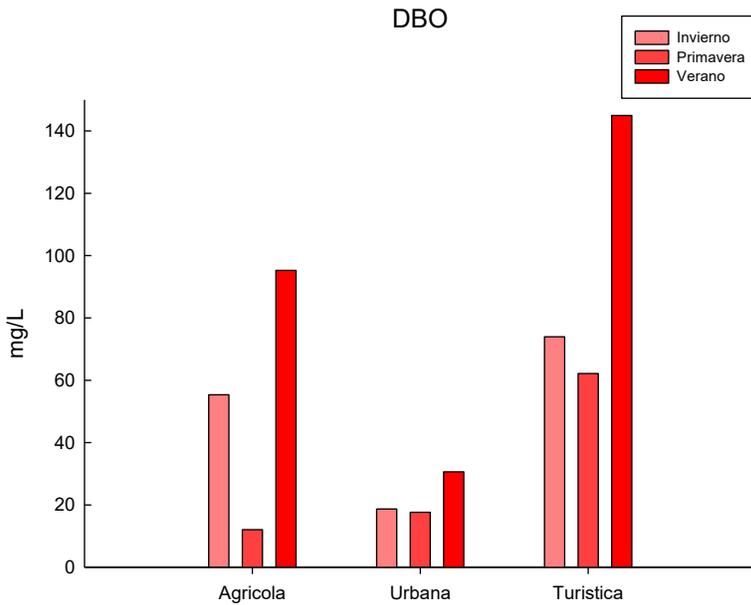
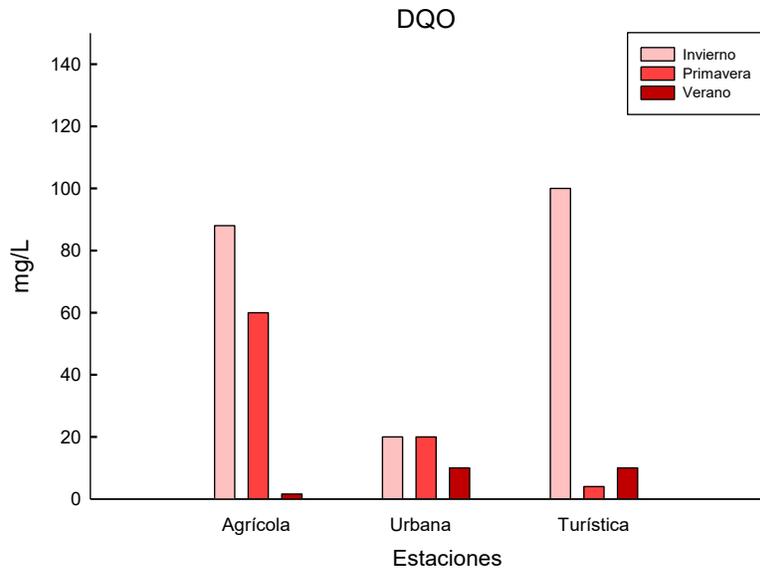


Gráfico 12. Demanda Bioquímica de Oxígeno. Registros de DBO, con tres repeticiones, para las temporadas de invierno, primavera y verano en cada zona de muestreo (Agrícola, Urbana y Turística).

Gráfico 13. Demanda Química de Oxígeno Disuelto. Registros de DQO para las temporadas de invierno, primavera y verano analizadas en cada zona de muestreo (Agrícola, Urbana y Turística).



El Porcentaje de Oxígeno (Gráfico 10) varió de acuerdo a la temporada (invierno, primavera y verano) y la zona de muestreo dentro del área de estudio, los registros se reportaron en porcentajes, de los cuales el mayor porcentaje de consumo de oxígeno reportado se observó en la zona Agrícola en la temporada de invierno (73.5%), en cambio el menor porcentaje de consumo de oxígeno fue en la zona Urbana en la temporada de verano con 2.9%, sin embargo, la zona Turística en la temporada de invierno también se reporta un valor bajo de 11.7%. Simultáneamente se registró el Oxígeno Disuelto disponible en el Lago (Gráfico 11), los registros se reportaron en miligramos por litro, con el mayor registro reportado para la zona Agrícola en la temporada de invierno de 7.34 mg/L, en cambio el menor registro para la zona Urbana en la temporada de verano con 0.21 mg/L; comparado a las otras zonas de muestreo se mantuvieron los registros en cada temporada.

En el Gráfico 12 se observa la representación del análisis de la Demanda Bioquímica de Oxígeno por cada temporada de muestreo (invierno, primavera y verano), donde en la zona Agrícola en la temporada de primavera se registraron los valores más bajos con 12.07 mg/L y en promedio la zona Turística muestra los valores más altos de la DBO con 144.95 mg/L en las tres temporadas.

La representación de los registros por cada temporada de muestreo (invierno, primavera y verano) de la Demanda Química de Oxígeno se observa en el Gráfico 13, donde en la temporada de verano para la zona Agrícola en promedio se registró el valor mas bajo con 1.6 mg/L; y el valor mas alto se observó en la zona Turística en la temporada de invierno con 100 mg/L.

Gráfico 14. Amonio. Registros de NH_4 para las temporadas (invierno, primavera y verano) en cada zona de muestreo (Agrícola, Urbana y Turística).

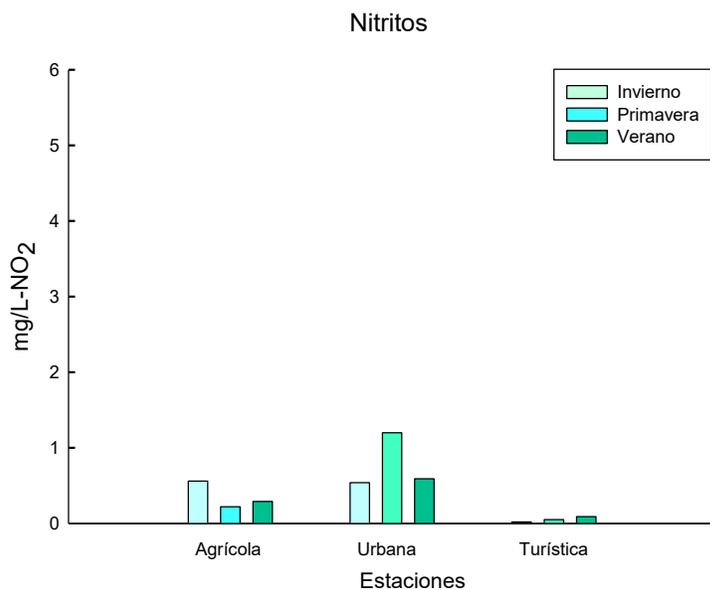
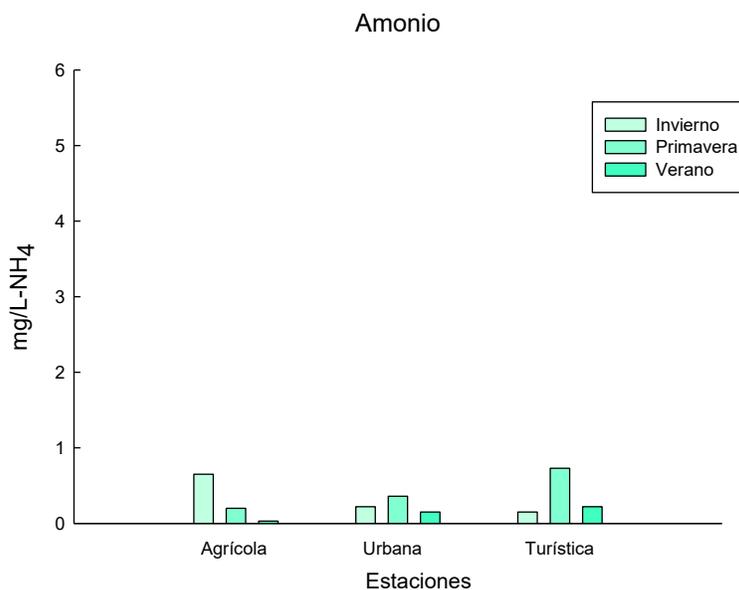


Gráfico 15. Nitritos. Registros de NO_2 para las temporadas (invierno, primavera y verano) en cada zona de muestreo (Agrícola, Urbana y Turística).

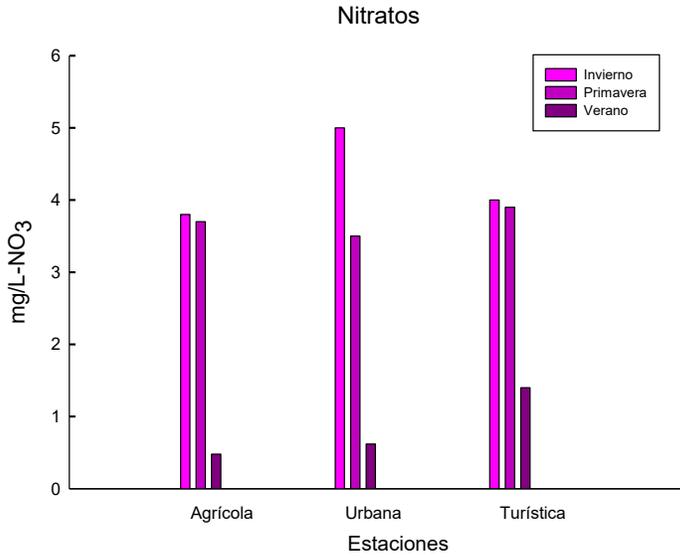
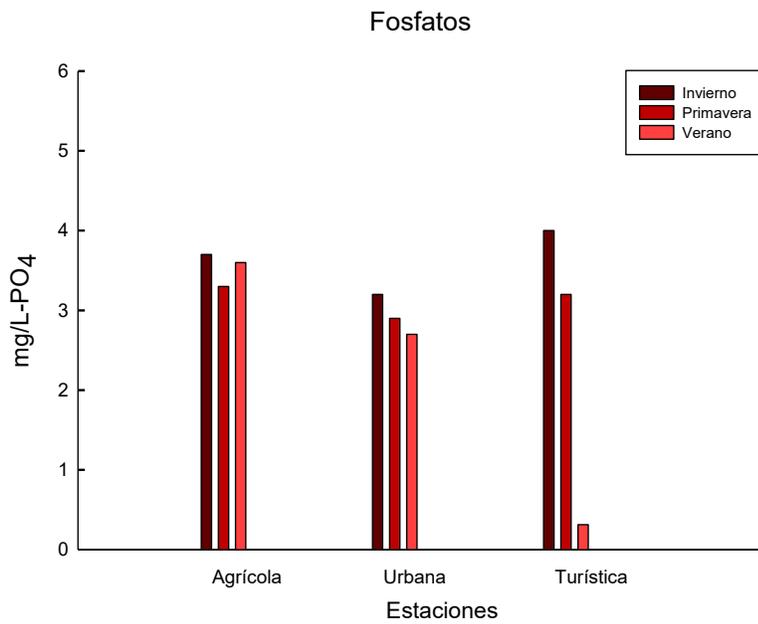


Gráfico 16. Nitratos. Registros de NO_3 para las temporadas (invierno, primavera y verano) en cada zona de muestreo (Agrícola, Urbana y Turística).

Gráfico 17. Fosfatos. Registros de PO_4 para las temporadas (invierno, primavera y verano) en cada zona de muestreo (Agrícola, Urbana y Turística).



Para cada temporada de muestreo (invierno, primavera y verano), se observan variaciones en los resultados obtenidos de los análisis de Amonio (NH_4) (Gráfico 14). En la zona Agrícola se registro el valor mas bajo de Amonio (NH_4) en la temporda de verano con 0.03 mg/L- NH_4 , mientras que el valor mas alto de Amonio (NH_4) se registro en la zona Turística en la temporada de primavera con 0.73 mg/L- NH_4 Para la zona Urbana los valores se mantuvieron un promedio en las tres temporadas de 0.24 mg/L- NH_4 .

Los valores de Nitritos (NO_2) (Gráfico 15) se analizaron por cada temporada de muestreo (invierno, primavera y verano); donde en la zona Urbana en la temporada de primavera con 1.2 mg/L- NO_2 se registra el mayor valor, mientras con 0.02 mg/L- NO_2 en la temporada de invierno, pero en la zona Turística se observan los valores mas bajos de Nitritos (NO_2). Por otro lado, en la zona Agrícola los valores en promedio en las tres temporadas fueron de 0.35 mg/L- NO_2 .

Se observa la representacion de los valores de Nitratos (NO_3) (Gráfico 16), por cada temporada de muestreo (invierno, primavera y verano), donde el valor más alto se registró en la temporada de invierno con 4 mg/L- NO_3 en la zona Turística, en su contraparte el valor mas bajo se registro en la zona Agrícola con 0.48 mg/L- NO_3 en la temporada de verano. Para la zona Urbana los valores se obtivieron con diluciones respecto a que arrojó el YSI 9500 el valor $\gg 1$ mg/L- NO_3 sin obtener ningun valor, correspondiente a la temporada de invierno.

Los valores de Fosfatos (PO_4) (Gráfico 17) por cada temporada de muestreo (invierno, primavera y verano) muestran un incremento en los valores de 4 mg/L- PO_4 para la zona Turística en la temporada de invierno, y una disminución en los valores de Fosfatos (PO_4) en la temporada de verano con un promedio de 0.313 mg/L- PO_4 . La zona Agrícola mantuvo en promedio el valor de Fosfatos (PO_4) de 3.5 mg/L- PO_4 .

9. Discusión

La calidad del agua se determina comparando las características físicas, químicas y bacteriológicas de una muestra con estándares específicos (Robles *et al.*, 2013). Para ello se cuantifica la concentración de sus componentes como son: el exceso de materia orgánica, que genera ácidos orgánicos, grasas complejas, así mismo, la presencia de altas concentraciones de metales pesados (Zn, Cr, Ni, Cu, Pb, As y Cd) reportados por López-Barrios y colaboradores en el 2015, para el Lago de Xochimilco. Es por esto que la (trabajo) “Interacción biológica de *Ambystoma mexicanum* con las bacterias presentes en su hábitat”, se llevó a cabo la determinación de coliformes totales, por el método del Número Más Probable (NMP), de acuerdo a los límites permisibles para aguas residuales es de 1,000 organismos por 100 ml (NMX-AA-042-SCFI-2015), los valores representativos (Tabla 1; Grafico 1) son para la temporada de invierno, en la zona Turística con 920 organismos por 100 ml. Con valores similares, en la temporada de verano en la zona Urbana con 920 organismos por 100 ml; y en la zona Turística con 800 organismos por 100 ml. En consecuencia, los valores se mantienen dentro de los límites permisibles en relación a la norma Mexicana de coliformes totales y fecales ya que son de interés ecológico, por su capacidad de generar infecciones oportunistas en los anfibios (NMX-AA-042-SCFI-2015; Pulido-Arcos *et al.*, 2005).

El indicador bacteriológico más utilizado pertenece al grupo de los coliformes, de la familia *Enterobacteriaceae*, los cuales se caracterizan por ser bacterias Gram (-), aerobios, y anaerobios facultativos, (Flores *et al.*, 2011). Respecto a lo anterior se encontraron ciertos porcentajes entre Gram (-), con dos muestras diferentes, de las cuales una corresponde al análisis bacteriológico por medio de Hisopo Moore (Luna, 2011) y la otra muestra de Zooplancton filtrado y fijado (Luna, 2011; Chaparro-Herrera *et al.*, 2011). En nuestro trabajo se observaron los mayores valores de bacterias Gram (-) en la temporada de primavera, donde en la zona Turística (Figura 6) se aprecia un rango de 40 a 70% Gram (-). Respecto a los porcentajes anteriores se encontraron siete cepas en la muestra de Hisopo para las temporadas del presente trabajo (Tabla 2, 3 y 4), respecto a las zonas de muestreo (Agrícola, urbana

y turística), de las cuales se observa una mayor presencia en los análisis bacteriológicos de: *Vibrio cholerae*, *P. aeruginosa* y *Escherichia coli*. Para la muestra de zooplancton se encontraron cinco especies: *Vibrio cholerae*, *Salmonella* spp., *Pseudomonas* sp. *P. aeruginosa* y *E. coli* respectivamente. En trabajos reportados para el lago de Xochimilco a base del estudio del zooplancton se confirmó la presencia de comunidades microbianas por Monroy-Dosta *et al.*, en el 2013 y Zambrano- González *et al.*, 2014, realizando por temporadas, en zona agrícola y urbana respectivamente, en otro trabajo realizado por Zambrano-Jiménez *et al.*, (2015) se confirmó la presencia del grupo de *Enterobacterias*. Respectivamente para los Gram (+), se describen como cocos, catalasa positivos y el diamino ácido en el peptidoglicano es la L-lisina, también encontramos hongos (levadura) como *Saccharomyces cerevisiae* (Mella *et al.*, 2001, Aguillón *et al.*, 2007). Los valores más altos de bacterias Gram (+) se reportan para la temporada de verano (Figura 7), en la zona Turística con valores entre 42 a 60%. Las cepas encontradas dentro de los Gram (+) son: *Staphylococcus epidermidis*, *S. aureus*, y un hongo *S. cerevisiae* (Barrera-Escorcía *et al.*, 2013; Monroy-Dosta *et al.*, 2013).

Para el Análisis de Varianza (ANOVA) se registró la presencia-ausencia de las especies (*P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. epidermidis*, *S. aureus*, *V. cholerae*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella* spp., *Shigella flexneri* y *S. cerevisiae*), fueron detectadas por aislamiento y determinación por API 20E, respecto a su aparición en las temporadas (invierno, primavera y verano) y las zonas de muestreo (Agrícola, Urbana y Turística), correspondientes a los datos de la Tabla 5; así se registraron los datos, para analizar el comportamiento de la contaminación microbiológica en las muestras de agua, sin embargo, la presencia de estas especies incluye patógenos de enfermedades son: *Salmonella* spp. (Zoonosis), *P. aeruginosa*, *E. coli.*, *P. mirabilis*, *S. epidermidis* y *S. aureus* (descamación de la piel, afecciones respiratorias) (Barrera-Escorcía *et al.*, 2013).

Se llevó a cabo ANOVA por tres vías (Tabla 6), las zonas son diferentes significativamente entre sí, respecto a su grado de perturbación por sus diferentes usos del agua y suelo, debido a las actividades de agricultura, turismo y al desarrollo urbano cercana a los canales (Chaparro-Herrera *et al.*, 2014; Zambrano-González *et al.*, 2014). Sin embargo, entre las temporadas del año y las especies identificadas no hay diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$). En un trabajo sobre el diagnóstico de la calidad del agua con bacterias se realizó un análisis de varianza mostrando diferencias significativas ($P < 0.05$) entre las temporadas con respecto a sus puntos de muestreo (Martínez-Lievana *et al.*, 2013), esto quiere decir que durante las temporadas el agua residual del Lago de Xochimilco está contaminada con microorganismos, lo que indica un riesgo sanitario relacionado con las actividades que se realizan: como agricultura, turismo y urbanización (Barrera-Escorcia *et al.*, 2013).

De acuerdo a los valores entre las diferentes especies (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella spp.*, *Shigella flexneri* y *Saccharomyces cerevisiae*) son grandes, sin embargo, se mantienen dentro del intervalo de confianza ($P = < 0.001$), por el nivel de significancia con el valor obtenido, si hay diferencias estadísticas significativas entre sí. Las bacterias encontradas se presentan en diferentes zonas, por ejemplo *P. aeruginosa* bacteria que no es autóctona del agua, puede derivar de aguas residuales, es un importante patógeno oportunista, causa la enfermedad ulcerosa asociada con la descamación de la piel para el género *Ambystoma* (Pulido-Arcos *et al.*, 2005). Los cocos *S. epidermidis* y *S. aureus* poseen un alto grado de patogenicidad, como oportunistas y son responsables de afecciones respiratorias, patologías gastroentéricas e infecciones de la piel para los anfibios (Del Pozo *et al.*, 2011; Serrano *et al.*, 2012). Las especies involucradas en la microflora intestinal de los humanos son *E. coli* y *Proteus spp.*, por lo que están presentes en el agua residual, causante de zoonosis con un cuadro de infección ulcerosa en la piel causándoles descamación, afecciones respiratorias y pulmonares con inflamaciones y hemorragias (Wright, 1996; Pulido-Arcos, 2005;

Barrera-Escorcia *et al.*, 2013). Sin embargo, *Vibrio* spp., es habitante común de los ambientes acuáticos y prolifera sobre todo si hay descarga de materia orgánica; frecuentemente causa enteritis, diarreas, pérdida de peso, petequias, deshidratación y septicemia a diferentes organismos acuáticos (Miller y Pegues, 2000; Serrano *et al.*, 2012; Monroy-Dosta *et al.*, 2013). *Salmonella* y *Shigella* son bacterias causantes de enfermedades digestivas severas, como salmonelosis, por lo tanto, corrobora el riesgo sanitario, ya que los anfibios afectados exhiben anemia, letargia, diarrea, enteritis y septicemia (Miller y Pegues, 2000; Barrera-Escorcia *et al.*, 2013). Por último, del 2000-2004 Rojo y colaboradores implementaron a *S. cerevisiae* como suplemento para pastos tropicales, como consumo del forraje, lo que interviene en las actividades agrícolas, ganaderas, como la aparición de la levadura en el agua residual.

Entre las especies corresponden a una comunidad microbiológica de un Lago (Del Pozo *et al.*, 2011; Serrano *et al.*, 2012; Barrera-Escorcia *et al.*, 2013; Monroy-Dosta *et al.*, 2013), El comportamiento de las comunidades microbiológicas, tienen la capacidad de exclusión competitiva entre ciertas poblaciones heterótrofas (*P. aeruginosa* y *S. cerevisiae*) sobre poblaciones de patógenos (*V. cholerae*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. flexneri* y *Salmonella* spp.), esto es su interacción ecológica con el hábitat (Monroy-Dosta *et al.*, 2013).

Los resultados bacteriológicos de los experimentos de *Ambystoma mexicanum*, se enlistan en la Tabla 8, de acuerdo a las bacterias promedio como resultado de la exposición de los organismos al agua residual. Los exudados se dividieron por: cloaca, boca, y piel. Así mismo, en los organismos control de *A. mexicanum* predominó la presencia de *P. aeruginosa*, *E. coli* y *Salmonella* spp., gradualmente se fue descartando de los resultados a *S. epidermidis*, correspondiente a exudados de cloaca y boca, por consiguiente, en los exudados de piel predominó la presencia de *E. coli* y *Salmonella* spp.

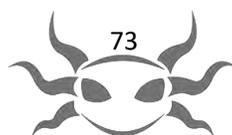
De acuerdo a los organismos experimentales con exposición al agua residual (colectada de la Zona Urbana) en los exudados de cloaca y boca, predominó la presencia de *P. aeruginosa*, *E. coli* y *Salmonella* spp., gradualmente se fue descartando de los resultados a *S. epidermidis* y *P. aeruginosa*; para los exudados de piel predominó la presencia de *E. coli* y *Salmonella* spp.

Entonces las bacterias de mayor importancia para la salud de los anfibios en enfermedades son: *Salmonella* spp., *P. aeruginosa*, *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *S. epidermidis* y *S. aureus* (Pfleger *et al.*, 2003; Aguillón *et al.*, 2007; Sheafor *et al.*, 2008; Cacciali, 2010). Las enfermedades que causan son: salmonelosis, patologías gastrointestinales, (zoonosis) la enfermedad ulcerosa asociada con la descamación de la piel, afecciones respiratorias y pulmonares con inflamaciones y hemorragias (Miller y Pegues, 2000; Pulido-Arcos *et al.*, 2005; Del Pozo *et al.*, 2011; Serrano *et al.*, 2012; Barrera-Escorcia *et al.*, 2013)

Para este experimento se registraron cuatro especies de las seis reportadas por los autores en el párrafo anterior, sin embargo, las otras dos especies (*P. mirabilis* y *S. aureus*) están presentes en el agua residual del Lago de Xochimilco reportadas en los resultados de las especies bacterianas encontradas en el presente trabajo. No obstante, los organismos expuestos al agua residual, no presentaron cuadro infeccioso (Figura 8) sólo unas manchas circulares, blancas y pequeñas, que confirma la presencia de *P. aeruginosa*. Roth y colaboradores, en el 2013, mencionan que los anfibios poseen en la mucosa bacterias que producen comunidades complejas y variables por medio de una interacción ecológica de comensalismo, posiblemente dentro de la estructura de las comunidades microbianas, ya que cualquier manipulación es capaz de predecir y gestionar cualquier alteración en el hábitat, de acuerdo a lo anterior, al término de la experimentación los organismos se sometieron a dos semanas en agua dura (medio EPA) para eliminar cualquier cuadro infeccioso, actualmente siguen su ciclo de vida normal.

Los conteos de zooplancton tienen importancia por su variación temporal en respuesta a cambios de los factores bióticos y abióticos (Gómez-Márquez *et al.*, 2013). Los altos valores de números de organismos para la temporada de invierno (Tabla 9 y Gráfico 2) también se reportan en un trabajo realizado por García-Rodríguez *et al.*, 2009, aunque en ese año el Lago tuvo baja estacionalidad, de acuerdo a las descargas periódicas de aguas residuales, con diferencias en las condiciones ambientales. Por lo que, en la zona Agrícola predominan mínimo tres grupos de zooplancton (rotífera, cladóceras y copépodos), donde se encontraron más organismos por mililitro en el conteo, respecto a la zona Turística que se encuentra en la media (81.66-1629) presentándose mayor número de organismos para esta temporada (Navarro-Rodríguez *et al.*, 2015). Sin embargo, para la temporada de primavera (Tabla 10; Gráfico 3), los grupos se mantienen homogéneos entre las zonas de muestreo, excepto para el grupo rotífera que predominó en la zona Turística (5736 organismos por mL) (Monroy-Dosta *et al.*, 2013), esto se debe a su tolerancia de amplio rango, en consecuencia, la zona es una de las afectadas en parámetros fisicoquímicos (García-Rodríguez *et al.*, 2009). Por último, la temporada de verano (Tabla 11 y Gráfico 4), se observa una baja en los conteos de los grupos de zooplancton, como se reporta por García-Rodríguez *et al.*, 2009, lo que se atribuye a la época de lluvias provocando la mezcla del lago, por ende, el lavado de suelos y los aportes importantes de materia orgánica, afectando directamente en el muestreo del zooplancton (Zambrano-González *et al.*, 2014).

Los parámetros fisicoquímicos se llevaron a cabo por temporada (invierno, primavera y verano) correspondiente a la zona de muestreo (Agrícola, Urbana y Turística). El primer parámetro fisicoquímico que se analizó fue la Temperatura (Gráfico 5), donde observamos una variación en las tres temporadas del año. Estas variaciones se deben principalmente a la profundidad del sistema (con valores bajos reportados en los resultados), cobertura vegetal, a la nubosidad (época del año: lluvias o secas) y la incidencia solar a la hora del muestreo, siendo un factor limitante para los procesos metabólicos y reproductivos de los organismos acuáticos (Zambrano-González *et al.*, 2014).



La temperatura máxima se registró en verano con 23.6°C, por otro lado, la más baja se reportó en invierno con 9.2°C. Mendoza y colaboradores (2015) mencionan que el rango de temperatura óptimo para el crecimiento y desarrollo microbiológico es entre 22 a 33°C. De acuerdo al rango óptimo de temperatura los mayores porcentajes (40-70%) para Gram (-), se reportaron en el presente trabajo para la temporada de primavera, por consiguiente, los altos porcentajes (42-60%) que se obtuvieron para Gram (+) corresponden a la temporada de verano.

El pH (Gráfico 6) para el Lago de Xochimilco es principalmente alcalino con un rango de 7.0 a 12. El pH más alto registrado fue de 8.3 en primavera, sugiere un aumento en el grado de solubilización del material orgánico, al contrario, el valor mínimo en verano con 5.9, puede ocasionar estrés a los organismos endémicos o incluso la muerte (Crites y Tchobanoglous, 2000). A pesar de que el pH para el crecimiento óptimo de la mayoría de las bacterias se encuentra en un rango de 6.6 a 7.5, es decir, cercano a la neutralidad (Mendoza *et al.*, 2015).

Los valores para la Profundidad (Gráfico 7), estuvieron entre 10 a 50 cm, respecto a la disminución del nivel del agua en las zonas de muestreo, para la temporada de verano. El proceso de deterioro tiene un efecto continuo, ya que el descenso del nivel de agua, baja entre 30 a 40 cm, en consecuencia, a las descargas de aguas residuales periódicas, la cual se vierte en los canales del Lago de Xochimilco (Álvarez *et al.*, 2016). La mayoría de los microorganismos reportados son capaces de sobrevivir en el agua, no obstante, hay algunos que pueden acumularse en los sedimentos y movilizarse sólo hasta que aumente el caudal (Fuentes *et al.*, 2008). Lo que confirma la concentración del NMP, en el último muestreo, si bien en el apartado anterior se mencionó para la zona Urbana con 920 organismos por 100 ml; y en la zona Turística con 800 organismos por 100 ml.

La Transparencia del disco de Secchi (Gráfico 8), tuvo valores entre 1 a 20 cm, sin embargo, para reportes anteriores (García-Rodríguez *et al.*, 2009; Zambrano-González *et al.*, 2014), al presente trabajo donde se ha registrado un rango de 9.0 a 65 cm, lo que comprueba el impacto que generan las actividades antropogénicas en los alrededores del Lago. Si bien, los valores altos se relacionan con la alta concentración de nutrientes, contribuye a un ambiente nutricional favorable, en consecuencia, causa la proliferación del fitoplancton, así como del zooplancton en la columna de agua, todo esto influyen en el aumento de la biomasa, seguido por la alta concentración de microorganismos, los cuales proliferan por la disminución de luz UV en la columna; por ejemplo, las bacterias Gram (-), al contrario de Gram-(+) son más resistentes a la luz UV debido a las numerosas capas de peptidoglicano que poseen (Raybaudi-Massilia *et al.*, 2006).

Los registros para la Conductividad (Gráfico 9), variaron en un rango de 116.4 a 543 S/m, comparando con otros trabajos ellos reportan valores bajos (500 a 1000 S/m) como el de García-Rodríguez *et al.*, en el 2009, y Zambrano-González *et al.*, en el 2014, reportan valores entre 3500 a 6200 S/m, considerados altos respecto a nuestro estudio. De acuerdo a las bajas concentraciones de sales, para los microorganismos Gram (-), se encuentran en el rango óptimo, por otro lado, para los Gram (+), la concentración de sales es alta para su proliferación, sin embargo, los microorganismos se adaptan (Sánchez-López *et al.*, 2016).

Los datos del Porcentaje de Oxígeno (Gráfico 10) se registraron valores entre 2.9 a 73.5%, reportando el consumo para el desarrollo de la vida acuática, para los microorganismos condiciona su metabolismo, a pesar del alto porcentaje de O₂, constituye una fuente de energía para los oxidantes (Mendoza *et al.*, 2015). Simultáneamente se registró el Oxígeno Disuelto disponible en el agua (Gráfico 11) con un rango de 0.21 a 7.34 mg/L, respecto a los registros del autor en el 2009 para la temporada de verano se registró 0.30 mg/L, al igual que los valores más altos reportados en la temporada de invierno (García-Rodríguez *et al.*, 2009). Sin

embargo, los parámetros mencionados anteriormente condicionan la supervivencia de la vida acuática (CE-CCA-001/89; Zambrano-González *et al.*, 2014,).

La Demanda Bioquímica de Oxígeno (Gráfico 12) vario entre 12.07 a 144.95 mg/L. El valor registrado para la temporada de verano rebaso el límite máximo permisible (144.95mg/L), el aumento se debe al incremento de los nutrientes, así mismo el incremento de la temperatura y el aumento de la actividad microbiológica, esto se relaciona con la disminución del nivel del agua (Álvarez *et al.*, 2016), por lo tanto la concentración del material orgánico-bacteriológico, se relaciona con el principal aporte de las aguas residuales que recibe el área de estudio (CE-CCA-001/89; NMX-AA-028-SCFI-2001; Arcos-Ramos *et al.*, 2004).

Se analizó la Demanda Química de Oxígeno (Gráfico 13), donde en la temporada de verano se registro el valor mas bajo con 1.6 mg/L; esto se debe a la alta concentracion microbiologica, como al factor de dilución generado por las lluvias, donde el valor mas alto se registro en la temporada de invierno con 100 mg/L, Cervantes y colaboradores registran valores maximos de 402 ± 0.04 mg/L en el 2011. La DQO es una oxidacion química de partículas inorgánicas disueltas, en este caso el Lago de Xochimilco nos indica que tiene gran cantidad de compuestos biodegradables catalogados como contaminantes, (Arcos-Ramos *et al.*, 2004). Conforme al dato obtenido, se relaciona que faltaron microorganismos que ayudaran a oxidar las partículas inorgánicas disponibles (Moronta-Riera y Riverón-Zaldívar, 2016).

Los valores de los nutrientes variaron, tomando en cuenta las condiciones climáticas, de contaminación y productividad existentes en el sistema acuático (Maya-Rendón y Jiménez-Cisneros, 2002). El Amonio (NH_4) (Gráfico 14) en la temporada de verano obtuvo un valor bajo de 0.03 mg/L- NH_4 , mientras que en la temporada de primavera el valor fue más alto con 0.73 mg/L- NH_4 , rebasando los

límites máximos permisibles para la vida acuática (CE-CCA-001/89). Se señala que la alta descomposición de materia orgánica incrementa los niveles de amonio y es característico de los sistemas eutróficos (García-Rodríguez *et al.*, 2015). Las bacterias heterótrofas competitivas (*Pseudomonas aeruginosa*) inmovilizan el nitrógeno mineral existente, por lo tanto, los valores bajos de amonio obtenidos, se justifican al tener competencia activa (bacterias autótrofas, *Nitrosomonas* spp.) por el sustrato se consumió más el amonio presente en el medio (Moreno *et al.*, 2007).

Los Nitritos (NO_2) (Gráfico 15), registran un valor alto en la temporada de primavera con 1.20 mg/L- NO_2 , mientras que en la temporada de invierno el valor es de 0.02 mg/L- NO_2 , la presencia de nitritos en el agua indica contaminación de carácter fecal reciente (aguas residuales domésticas), estas características propias del área de estudio, por lo tanto los valores por encima de 1.0 mg/L- NO_2 son altamente tóxicos y representan un impedimento para el desarrollo de los organismos acuáticos y refleja que el hábitat no se encuentra en buenas condiciones (Prat *et al.*, 2000).

Los Nitratos (NO_2) (Gráfico 16), para la temporada de invierno se registró el valor máximo con 4.0 mg/L- NO_2 , así mismo, no se obtuvieron valores (en la temporada de primavera) en el YSI 9500, siendo que decía que el valor era $>>1$ mg/L- NO_2 , en efecto, al límite de detección del equipo, donde se realizaron diluciones del 50, 75, 90 y 95%, las cuales no generaron cambio, estos valores obtenidos rebasan los límites permisibles mayores a 0.04 mg/L- NO_2 para la CE-CCA-001/89, al contrario para la temporada de verano se obtuvieron valores mínimos. De acuerdo a lo anterior, existe un grupo de bacterias nitrificantes heterótrofas que pertenecen a los géneros *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Nocardia* y *Streptomyces*, las cuales tienen un metabolismo aerobio estricto, obtienen su energía por la oxidación del amonio a nitrito y de éste a nitrato (Garzón-Zúñiga, 2005). En el presente trabajo se reporta la presencia de *Pseudomonas aeruginosa*, la cual es capaz de reducir el nitrato con acumulación de nitrito en el medio (Moreno *et al.*, 2007), en consecuencia, participa en dos procesos para transformar el nitrógeno (NO_3): la nitrificación, donde el

resultado es la inhibición del proceso a causa de la formación de glucosa, se puede asociar con los bajos rangos de nitrato obtenidos (Garzón-Zúñiga, 2005; Moreno *et al.*, 2007), y la desnitrificación es el proceso por el cual los nitratos son reducidos a compuestos gaseosos de nitrógeno (NO_2^- , N_2O ó N_2^-). La bacteria facultativa implicada en este proceso es *P. aeruginosa.*, donde es importante la anoxia (Lolmede *et al.*, 2000).

Finalmente, los valores de Fosfatos (PO_4) (Gráfico 17) para las temporadas de invierno, primavera y verano se obtuvieron valores no mayores a 4.0 mg/L PO_4 (el límite máximo permisible es 0.05 mg/L- PO_4 para la CE-CCA-001/89), el único valor mínimo fue para la temporada de verano con 0.313 mg/L- PO_4 . Un trabajo realizado en el área de estudio reporta un valor de 4.2 mg/L- PO_4 , en consecuencia de las actividades agrícolas y urbanas correspondientes (Quiroz-Flores *et al.*, 2008), al contrario, los valores bajos (0.2 a 0.5 mg/L- PO_4) reportados para la zona de estudio correspondiente a la temprada de verano (García-Rodríguez *et al.*, 2015). Actualmente, se han encontrado microorganismos heterótrofos, con la capacidad de almacenar y eliminar fósforo; entre los cuales se encuentran *Pseudomonas vesicularis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Aeromonas hydrophila*, y *Enterobacter* spp. Algunas de estas bacterias utilizan acetato como fuente de carbono, pero la mayoría también puede metabolizar glucosa y otras moléculas orgánicas. Si el pH aumenta a 8.0, el fósforo se precipita en presencia de carbonatos y/o bicarbonatos, como fosfato de calcio (Garzón-Zúñiga, 2005). De acuerdo a lo anterior, el consumo óptimo para el fósforo en el área de estudio, se altera por el rango de pH registrado entre 5.9 a 8.3, así mismo, las concentraciones registradas de fósforo, son valores altos, por lo tanto, las bacterias no lo están metabolizando., ya que se encuentran excesos en el sistema.

10. Conclusiones

- ✓ -*Ambystoma mexicanum* anfibio endémico del Lago de Xochimilco, está relacionado con el bienestar de su hábitat, principalmente con la contaminación microbiológica del sistema, ligado al vertimiento de aguas residuales.

- ✓ -Los valores de fisicoquímicos como Temperatura (9.2-23.6°C), pH (5.9-8.3), Profundidad (10-50 cm), Transparencia (1-20 cm), Conductividad (116.4 a 543 S/m), Porcentaje de Oxígeno Disuelto (2.9- 73.5%), OD (0.21-7.34 mg/l), DBO (293-240.24 mg/l), y DQO (1.6-100 mg/l), se encuentran en el rango óptimo para la proliferación microbiológica.

- ✓ -Las altas concentraciones de amonio, nitritos, nitratos y fosfatos ocasionan que las bacterias no metabolicen por completo, lo que demanda mayor actividad microbiológica, ya que los residuos son altamente tóxicos y representan una condicionante para la vida acuática, así mismo, ocasionan eutrofización del sistema, a consecuencia de las actividades antropogénicas ligadas a las zonas de muestreo Agrícola, Urbana y Turística.

- ✓ -Mediante un análisis bacteriológico al medio (agua Lago de Xochimilco) y al zooplancton, se encontraron microorganismos Gram (-): *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella* spp., y *Shigella flexneri*; y Gram (+): *Staphylococcus epidermidis*, *S. aureus*, y *Saccharomyces cerevisiae*, de las cuales algunas son causantes de enfermedades. Se encontraron especies bacterianas reportadas como las responsables del declive en los anfibios, como son: *Salmonella* spp., *P. aeruginosa*, *E. coli*, *P. mirabilis*, *S. epidermidis* y *S. aureus*, estas son causantes de enfermedades, por ejemplo: salmonelosis, zoonosis descamación de la piel, afecciones respiratorias y pulmonares con inflamaciones.

- ✓ El Lago de Xochimilco por el importante vertimiento continuo de aguas residuales alberga concentraciones de contaminantes orgánicos e inorgánicos, altamente tóxicos, como la presencia de microorganismos patógenos, de acuerdo a lo anterior es una condicionante para el desarrollo de la vida acuática.

- ✓ La supervivencia de *Ambystoma mexicanum* a la experimentación con agua del Lago de Xochimilco predominó la presencia *Sallmonella* spp., en los exudados que se realizaron en la piel, puesto que, dado la presencia de *Pseudomona aeruginosa*, presento unas manchas blancas, pequeñas, circulares, esto no mostró patologías asociadas a las bacterias presentes, sin embargo, se observó la interacción con las comunidades microbiológicas que genera la mucosa de los anfibios, para combatir los patógenos presentes en el medio. Por consiguiente, el efecto por el consumo del zooplancton presente en el Lago de Xochimilco fue nulo, debido a la microflora normal de los anfibios donde predomina *E. coli* y *Sallmonella* spp, lo que conlleva a una interacción positiva para los organismos de *A. mexicanum*, sin patologías por el alimento.

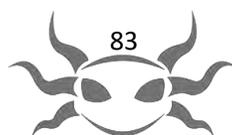
- ✓ Para finalizar, mientras que el Lago de Xochimilco tenga características fisicoquímicas, como microbiológicas que condicionen la interacción ecológica de *A. mexicanum* en su hábitat, es recomendable no reintroducir a los organismos, ya que los experimentos tuvieron una duración de cuatro semanas, por lo que, se recomendaría una exposición prolongada en el agua residual para analizar las patologías que genera el medio, como las bacterias.

11. Bibliografía

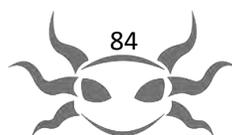
- Aguillón GDR, Lazcano VD, Ramírez RR, Aguirre RA., Zárate RJJ y Wong GA. 2007. Bacterias cloacales y evaluación física de la herpetofauna del Parque Ecológico Chipinque. *Ciencia UANL*. 10, 2.
- Alford RA y Richards SJ. 1999. Global amphibian declines: a problem in applied ecology. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 30: 133-165.
- Álvarez RAZ, Benítez GL y Peña EVV. 2016. Disturbio antropogénico como consecuencia del crecimiento urbano. El caso de la zona lacustre y de montaña en la delegación Xochimilco, México. *Sociedad y Ambiente*. 11: 42-67.
- Arcos-Ramos R, González-Sánchez JC, Ramos-Mogollan L y Rosas-Inclán F. 2004. Evaluación Del Componente Orgánico Como Un Factor Indicativo Del Estado Trófico Del Lago De Xochimilco. *UAEMEX*, México, D.F. 10 pp.
- Arias V, Rodríguez C, Ramírez P, Nonones E, Salazar D, Gil J, y Jamanca G. 2012. Aislamiento de bacterias acidófilas a partir del drenaje ácido proveniente de las inmediaciones a las unidades mineras de Julcani y Recuperada, Huancavelica. *Revista del Instituto de Investigación de la Facultad de Ingeniería Geológica, Minera, Metalúrgica y Geográfica*. 15, 30: 59-66.
- Arredondo FJL y Ponce PJT. 1998. Calidad del agua en acuicultura. Conceptos y aplicaciones. *AGT Editores*. México, 222p.
- Apella CM, y Araujo ZP. 2005. Microbiología del agua. Conceptos Básicos. *Tecnologías Solares para la Desinfección y Descontaminación del Agua*. 33-50 pp.
- Barragán F y Viviana K. 2002. Enfermedades de reptiles y anfibios. *Boletín GEAS*. 3, 1-6: 18-27.
- Barrera-Escorcia G, Fernández-Rendón CL, Wong-Chang I y Ramírez Romero P. 2013. La sensibilidad del grupo coliformes como indicador de la presencia de *Enterobacterias* patógenas en cuatro cuerpos acuáticos de México. *Hidrobiológica*. 23, 1: 87-96.
- Beebee TJ y Griffiths RA. 2005. The amphibian decline crisis: a watershed for conservation biology? *Biological Conservation*. 125, 3: 271-285.
- Berger L, Speare R y Hyatt A. 1999. Chytrid fungi and amphibian declines: overview, implications and future directions. *Declines and Disappearances of Australian frogs*. *Environmental Australia*, Camberra. 23-33 pp.
- Bio Mérieux. 2009. API 20 NE. Sistema de identificación de bacilos Gram negativos no Enterobacterias. Español-1. Ref 20050. France. 24p.
- Bio Mérieux. 2010. API 20 E. Sistema de identificación para Enterobacterias y otros bacilos Gram-negativos. No. 20100. Biomérieux S.A. Francia. 24 p.
- Blanco FA. 2001. Métodos apropiados de análisis estadísticos subsiguientes al análisis de varianza (ANDEVA). *Agronomía Costarricense*, enero-julio: 53-59.

- Blaustein AR, Romansic JM, Kiesecker JM, y Hatch AC. 2003. Ultraviolet radiation, toxic chemicals and amphibian population declines. *Diversity and Distributions*. 9:123-140.
- Bletz MC, Goedbloed DJ, Sanchez E, Reinhardt T, Tebbe CC, Bhuju S, Geffers R, Jarek M, Vences M y Steinfartz S. 2016. Amphibian gut microbiota shifts differentially in community structure but converges on habitat specific predicted functions. *Nature Communications*. Vol. 7: 13699.
- Cacciali P. 2010 Estudio Bacteriológico En Frotis Bucal De Un Ejemplar De *Xenodon Merremi*, Wagler, 1824 (*Dipsadidae: Xenodontinae*). *Cautiverio. Museo Nacional De Historia Natural Del Paraguay*. 43 pp.
- Carey C, Heyer WR, Wilkinson J, Alford RA, Arntzen JW, Halliday T, Hungerford L, Lips KR, Middleton EM, Orchard SA. y Rand AS. 2001. Amphibian declines an environmental change: use of remote-sensing data to identify Environmental correlates. *Conservation Biology*. 15: 903-913.
- Carey C y Alexander MA. 2003 Climate change and amphibian declines: is there a link? *Diversity and Distributions*. 9: 111-121.
- Catenazzi A. 2015. State of the World's Amphibians. *Annual Review of Environment and Resources*. 40: 91-119.
- Categorías y Criterios de la Lista Roja de la UICN. 2015. *Preparado por la Comisión de Supervivencia de Especies de la UICN*. Versión 5.1. Gland, Suiza y Cambridge, Reino Unido. Consultado: octubre 2015.
- Cavallini ER. 2005. Bacteriología General: Principios Y Prácticas de Laboratorio. *Editorial Universidad de Costa Rica*. 477pp.
- Cervantes-Zepeda AI, Cruz-Colín MR, Aguilar-Corona R, Castilla-Hernández P y Meraz-Rodríguez M. 2011. Caracterización fisicoquímica y microbiológica del agua tratada en un reactor UASB escala piloto. *Revista mexicana de ingeniería química*. 10, 1: 67-77.
- Chaparro-Herrera DJ, Nandini S, Sarma SSS, y Zambrano L. 2011. Feeding behaviour of larval *Ambystoma mexicanum*. *Amphibia-Reptilia*. 32, 4:509-517.
- Chaparro-Herrera DJ, Nandini S, y Sarma SSS. 2013. Effect of water quality on the feeding ecology of axolotl *Ambystoma mexicanum*. *Journal of Limnology*. 72, 3:555-563.
- Crites R y Tchobanoglous G. 2000. Tratamiento de aguas residuales en pequeñas poblaciones. *Colombia: McGraw-Hill Interamericana*. 776 pp.
- Duellman WE y Trueb L. 1986. Biology of Amphibians. *McGraw-Hill*, New York, USA. 670 pp.
- Daniel W. 1997. Bioestadística: Base para el Análisis de las Ciencias de la Salud. *Utthea*. México. 878 p.
- De la Federación DO. 1989. Criterios Ecológicos de la Calidad del Agua CE-CCA-001/89 *Secretaría de Desarrollo Urbano y Tecnología (SEDUE)*. A 13 de Diciembre de 1989. 7-23 pp.
- De la Federación DO. 2016. Norma Mexicana. NMX-AA-042-SCFI-2015. Análisis de Agua-Enumeración de organismos Coliformes Totales y Fecales (Termotolerantes) y *Escherichia coli*- Método del Número más Probable (NMP) en tubos múltiples (Cancela a la NMX-AA-42-

- 1987). *Dirección general de Normas. Secretaría de Comercio y Fomento Industrial*. A 18 de abril de 2016. 24 pp.
- De la Federación DO. 2001. Norma Oficial Mexicana. NMX-AA-028-SCFI-2001. Análisis De Agua Determinación de la Demanda Bioquímica de Oxígeno en Aguas Naturales, Residuales (DBO₅) y Residuales Tratadas-Método De Prueba (Cancela a la NMX-AA-028-1981). *Dirección general de Normas. Secretaría de Comercio y Fomento Industrial*. A 17 de Abril de 2001. 1-20 pp.
- De la Federación DO. 2010. Norma Oficial Mexicana. NOM-059-SEMARNAT-2010. Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres- Categoría de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. *Dirección general de Normas. Secretaría de Comercio y Fomento Industrial*. A 05 de noviembre de 2010. 30 pp.
- De la Federación DO. 2013. Norma Oficial Mexicana. NMX-AA-030/1-SCFI-2012. Análisis de Aguas Residuales. Análisis de Agua Medición de la Demanda Química de Oxígeno En Aguas Naturales, Residuales Y Residuales Tratadas. Método de Prueba Parte 1 Método de Reflujo Abierto. (Cancela a la NMX-AA-030-SCFI-2001). *Dirección general de Normas. Secretaría de Comercio y Fomento Industrial*. A 21 de mayo de 2013. 1-22 pp.
- Del-Pozo J, Girling S, Pizzi R, Mancinelli E y Else RW. 2011. Severe necrotizing myocarditis caused by *Serratia marcescens* infection in an axolotl (*Ambystoma mexicanum*). *Journal of comparative pathology*. 144, 4: 334-338.
- Flores M, Hernández F y Miranda R. 2011. Calidad bacteriológica de las principales playas de la bahía de Acapulco, Guerrero. Programa de Maestrías en Ciencias del Mar. Facultad de Ciencias Marinas. Universidad de Colima. Manzanillo, México. *Contacto S 80*. 5-11 pp.
- Flores-Villela O y Canseco-Márquez L. 2004. Nuevas especies y cambios taxonómicos para la herpetofauna de México. *Acta Zoológica Mexicana*. 20:115-144.
- Fuentes M, Senior W, Fermín I y Troccoli L. 2008. Estudio fisicoquímico y bacteriológico del río Manzanares, estado Sucre, Venezuela. *Boletín del Instituto Oceanográfico de Venezuela*. Vol. 47, No. 2.
- Frost O, Grant T, Faivovich J, Bain RH, Haas A. 2006. The amphibian tree of life. *Bulletin of the American Museum of Natural History*. 297: 1-370.
- García CE, Nandini S y Sarma SSS. 2009. Seasonal dynamics of zooplankton in Lake Huetzalin, Xochimilco Limnológica. *Ecology and Management of Inland Waters*, México City, México. 39, 4: 283-291
- García E. 1988. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Cuarta edición de la autora. México, D. F. 219 P.



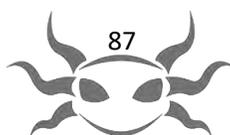
- García-Rodríguez J, Molina-Astudillo FI, Miranda-Espinoza E, Soriano-Salazar MB, Díaz-Vargas M. 2015. Variación fitoplanctónica en un lago urbano del municipio de Cuernavaca, Morelos, México. *Acta universitaria*. 25, 1: 03-11.
- Garzón-Zúñiga MA. 2005. Mecanismos no convencionales de transformación y remoción del nitrógeno en sistemas de tratamiento de aguas residuales. *Ingeniería Hidráulica en México*. 20, 4: 137-149.
- Green SL, Bouley DM, Tolwani RJ, Waggle KS, Lifland BD, Otto GM y Ferrell JE. 1999. Identificación y análisis de un brote de la infección por *Flavobacterium meningosepticum* en una colonia de Sur Ranas de uñas africana (*Xenopus laevis*). *The Journal American Veterinary Medical Association*. 214: 1833-1838.
- Green SL, Lifland DB, Bouley DM, Brown AB, Wallace RJ y Ferrell JE. 2000. Enfermedades atribuye a *Mycobacterium chelonae* en el sur de uñas africana ranas (*Xenopus laevis*). *Elsevier, Medicina Clínica*. 50: 675-679
- GoogleMaps. 2016. Consultado 23/08/2016 en <https://www.google.com.mx/maps/@19.2936006,-99.1027576,15z?hl=es-419>
- Gómez-Márquez JL, Peña-Mendoza B, Guzmán-Santiago JL y Gallardo-Pineda V. 2013. Zooplankton composition, abundance and water quality in a microreservoir at Morelos State. *Hidrobiológica*. 23, 2: 227-240.
- Gutiérrez ME, Morales SE, Aguirre GMA, Briano SM, Espejo GT. 2008. Cladóceras y copépodos de las aguas epicontinentales de México. UNAM. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Primera edición. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. El Colegio de la Frontera Sur. Consejo Nacional de la Ciencia y Tecnología. Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales. Estado de México. México. 322 p.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI). 2012. Consultado 20/10/2015 en [http://www.inegi.org.mx/est/contenidos/espanol/sistemas/sisnav/default.aspx?proy=cem&edi=2012&ent=.](http://www.inegi.org.mx/est/contenidos/espanol/sistemas/sisnav/default.aspx?proy=cem&edi=2012&ent=)
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI). 2015. Consultado 15/10/2015 en [http://www.inegi.org.mx/est/contenidos/espanol/sistemas/sisnav/default.aspx?proy=cem&edi=2015&ent=.](http://www.inegi.org.mx/est/contenidos/espanol/sistemas/sisnav/default.aspx?proy=cem&edi=2015&ent=)
- Kelly A y Reynolds R. 2002. Tratamiento de Aguas Residuales en Latinoamérica Identificación del Problema. *Agua Latinoamericana*. 25: 1-4
- La'Toya VL y Klaphake E. 2013. Selected emerging diseases of amphibia. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*. 16, 2: 283-301.
- Lips K, Reeve JD y Witters L. 2003. Ecological traits predicting amphibian population declines in Central America. *Conservation Biology*. 17: 1078–1088



- Lolmede P, Jácome A, Vidart T y Tejero I. 2000. Tratamiento de agua residual con elevado contenido de nitratos utilizando reactores biomembrana aireados. *Ingeniería del agua*. 7, 3: 243-254.
- Longo AV y Zamudio KR. 2016. Environmental fluctuations and host skin bacteria shift survival advantage between frogs and their fungal pathogen. *International Society for Microbial Ecology*. NY, USA. 1-13 pp.
- López-Barrios R, Quinto-Diez P, Tovar-Gálvez R, Toledo-Velázquez M, Gutierrez-Torres CC, Carvajal-Mariscal I. 2015. Propuesta de la conservación de contaminantes presentes en el Lago de Xochimilco, para su uso como fuentes de energía. *Caos Conciencia*. 9, 2: 19-30.
- Luna PVM (Co-autor, compilador y editor). 2011. Manual de prácticas básicas para el estudio de la microbiología ambiental del agua y suelo. ISBN 978-607-02-2339—6. Facultad de Química, UNAM. 251 p.
- Madigan M, Martinko J y Parker J. 2008. Brock. Biología de los microorganismos. (Fernández MG, González J, Guerrero R, Jiménez J, Larriba G, Rodríguez C, Sánchez M Eds). *Pearson*, Madrid, España. 1096 pp.
- Martínez-Lievana C, Huante-González Y, Santiago-Morales I, Sandoval-Orozco G, Estrada-Vázquez C y Madrid-González J. 2013. Diagnóstico de la calidad de agua de los pozos de Puerto Ángel, San Pedro Pochutla, Oaxaca. *Ciencia y Mar*. 18,50: 11-18.
- Maya-Rendón C y Jiménez-Cisneros BE. 2002. Calidad fisicoquímica y microbiológica en efluentes secundarios por el lago artificial. *Congreso Nacional de Ingeniería Sanitaria y Ciencias Ambientales*, FEMISCA. 13: 1-12.
- Mella S, Zemelman C, Bello H, Domínguez M, González G y Zemelman R. 2001. Propiedades microbiológicas, clasificación y relación estructura-actividad de cefalosporinas e importancia de las cefalosporinas de cuarta generación. *Revista chilena de infectología*. 18,1: 7-19.
- Mendoza R, Silva R, Jiménez A Rodríguez K y Sol A. 2015. Lake Zirahuen, Michoacán, México: An approach to sustainable water resource management based on the chemical and bacterial assessment of its water body. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*. 2: 1-11.
- Miller SI y Pegues DA. 2000. Las especies de *Salmonella*, incluyendo *Salmonella typhi*. (G. L. Mandell, J. E. Bennett, y R. Dolin eds.), 5ª ed. *Principios y Práctica de Enfermedades Infecciosas*, Churchill Livingstone, Filadelfia. 265 pp.
- Monroy-Dosta MDC, Lara-Andrade D, Castro-Mejía J, Castro-Mejía G y Coelho-Emerenciano MG. 2013. Composición y abundancia de comunidades microbianas asociadas al biofloc en un cultivo de tilapia. *Revista de biología marina y oceanografía*. 48,3: 511-520.

- Moreno NR, Lozano CT, Salgado MM y Reyes MM. 2007. Estandarización de condiciones para la prueba cuantitativa del NMP con bacterias nitrificantes y denitrificantes usando como matriz compost. *Universitas Scientiarum*. 12,2: 69-81.
- Moronta-Riera J y Riverón-Zaldívar B. 2016. Evaluación de la calidad físico-química de las aguas y sedimentos en la costa oriental del lago de Maracaibo. *Minería y Geología*. 32, 2: 102-111.
- Nandini S, Ramírez-García P y Sarma SSS. 2005. Seasonal Variations in the Species Diversity of Planktonic Rotifers in Lake Xochimilco, México, *Journal of Freshwater Ecology*. 20, 2: 287-294.
- Negrete-Redondo P y Romero-Jarero JM. 1999. Aislamiento de bacterias asociadas con infecciones en el cultivo de ajolote: *Ambystoma mexicanus*. *Hidrología*. 9,1:9-14.
- Navarro-Rodríguez MC, Flores-Vargas R y Guevara LG. 2015. Variación estacional de los principales grupos zooplanctónicos del área natural protegida estero El Salado, Jalisco, México. *Revista Bio Ciencias*. 3, 2: 103-115.
- Pastor PA y Pérez RR. (Eds.). 2008. Evaluación y prevención de riesgos ambientales en Centroamérica. *Documenta Universitaria*. Girona, España. 656 pp.
- Peñate M, Castellano Á y Bazo P. 2003. El análisis estadístico con programas informáticos. *Porta Linguarum*. Vol. 10. 50 pp.
- Pessier AP, Nichols DK, Longcore JE y Fuller MS. 1999 *Cutaneous chytridiomycosis* in poison dart frogs (*Dendrobatess spp.*) and White's tree frogs (*Litoria caerulea*). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 11: 194-199.
- Pfleger S, Benyr G, Sommer R y Hassl A. 2003. Pattern of *Salmonella* excretion in amphibians and reptiles in a vivarium. *International journal of hygiene and environmental health*. 206, 1: 53-59.
- Prat N, Munné A, Rieradevall M y Bonada N. 2000. La determinación del estado ecológico de los ecosistemas acuáticos en España. (A Fabra A y Barreira A. Eds.) *La aplicación de la Directiva marco del agua en España. Retos y oportunidades*. Madrid: IIDMA. 48-81 pp.
- Pulido-Arcos, MDP, De Navia SLÁ, Torres SME y Prieto ACG. 2005. Indicadores microbiológicos de contaminación de las fuentes de agua. *Nova*. 3,4: 69-79.
- Quiroz-Flores A, Miranda-Arce MG y Lot-Helgueras A. 2008. Estudio comparativo de algunas variables fisicoquímicas del agua en canales secundarios de Xochimilco con y sin *Eichhornia crassipes* (Martius) Solms-Laubach. *Polibotánica*. 25: 127-133.

- Ramírez P, Tovar A, Nandini S y Sarma SSS. 2012. Filtering rates and functional response of selected zooplankton on the bacterium *Vibrio cholerae* Non O1 Non O139. *Tecnología y Ciencias Del Agua*. 11, 1:69-76.
- Raybaudi-Massilia RM, Soliva R, Martín O. 2006. Uso de agentes antimicrobianos para la conservación de frutas frescas y frescas cortadas. (González-Aguilar GA, Gardea AA, Cuamea Navarro F Eds.). *Aseguramiento de la calidad microbiológica*. CIAD, Hermosillo, Sonora, México. 15-21 pp.
- Robles ES, Ramírez E, Díaz ÁD, Martínez ME y González ME. 2013. Calidad bacteriológica y fisicoquímica del agua del acuífero Tepalcingo-Axochiapan, Morelos, México. *Avances en Ciencias e Ingeniería*. 4, 1: 20
- Rojo R, Mendoza G, García C, Bárcena J y Aranda E. 2000. Consumo y digestibilidad de pastos tropicales en toretes con suplementación nitrogenada y *Saccharomyces cerevisiae*. *Revista de la Facultad de Agronomía*. Vol. 17, No. 4.
- Rojo R, Mendoza GD, Bárcena JR, Pinos JM, Montañéz O y Arece J. 2004. Consumo y digestibilidad de pastos tropicales en toretes suplementados con nitrógeno y *Saccharomyces cerevisiae*. *Pastos y Forrajes*. Vol. 27, No. 4.
- Roth T, Foley J, Worth J, Piovita-Scott J, Pope K y Lawler S. 2013. Bacterial flora on Cascades frogs in the Klamath Mountains of California. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*. 36, 6: 591-598.
- Ruiz AM, Maerz JC, Davis AK, Keel MK, Ferreira AR, Conroy MJ y Fisk AT. 2010. Patterns of development and abnormalities among tadpoles in a constructed wetland receiving treated wastewater. *Environmental science & technology*. 44,13: 4862-4868.
- Rzedowski, GC de, Rzedowski J y colaboradores. 2005. Flora Fanerogámica del Valle de México. Instituto de Ecología, A. C. y Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad. Segunda edición, primera reimpresión, Pátzcuaro, Michoacán. 1406 pp.
- Sánchez-López DB, Pérez-Pazos JV, Hinestroza-D y Adriana H. 2016. Efecto de las PGPB sobre el crecimiento *Pennisetum clandestinum* bajo condiciones de estrés salino. *Revista Colombiana de Biotecnología*. 18,1: 65-72.
- Sheafor B, Davidson EW, Parr L y Rollins-Smith L. 2008. Antimicrobial peptide defenses in the salamander, *Ambystoma tigrinum*, against emerging amphibian pathogens. *Journal of wildlife diseases*. 44, 2: 226-236.
- Schlegel HG y Zaborosch C. 1997. Microbiología general. *Omega*. Barcelona, España. 654 pp.



- Serrano A, Vázquez-Castán L, Sánchez-Silva CG, Basañez-Muñoz ADJ y Naval-Ávila C. 2012. Identificación de la flora bacteriana en la tortuga lora (*Lepidochelys kempii*) en el ejido Barra Galindo, Tuxpan, Veracruz, México. *Hidrobiológica*. 22,2: 142-146.
- Suárez MG, Medina Z, Montiel M, Ibarra J, y Salcedo A. 2015. Distribución de *Vibrio spp.* En agua y sedimento de estanques productores de camarón *Litopenaeus vannamei* cultivados con agua del lago de Maracaibo (Venezuela). *Revista Científica*. 25,4:293-299.
- Suárez P y Reyes R. 2002. La Incorporación de Metales pesados en las Bacterias y su Importancia para el Ambiente. *Interciencia*. 27, 4: 160-164.
- Whittaker K, Koo M, Wake D, Vredenburg V. 2013. Global Declines of Amphibians, Encyclopedia of Biodiversity. Second edition. *Elsevier*. 691–699 pp.
- Wright KM. 1996. La cría de los anfibios y la medicina. (Mader DR Eds.). *Reptil de Medicina y Cirugía*. Saunders, Philadelphia. 436-459 pp.
- Young BE, Lips KR, Reaser JK, Ibáñez R, Salas AW, Cedeño JR y Muñoz A. 2001. Population declines and priorities for amphibian conservation in Latin America. *Conservation Biology*. 15,5: 1213-1223.
- Zambrano-González L, Tovar-Garza A, Sumano-Arias C, Ayala-Azcarraga C, Rubio-Lozano M y Trejo-Castillo MA. 2014. Rehabilitación de la red chinampera y el hábitat de especies nativas de Xochimilco. *Informe final. Instituto de biología. Restauración Ecológica. Universidad Nacional Autónoma de México*. Ciudad de México, México. 16-51, 106 pp.
- Zambrano-Jiménez JA, Velarde-Bonilla G, Dávalos-Lind L y Lind-Owen. 2015. Calidad de agua en afluentes y plantas de tratamiento con bioensayos bacterianos y variables fisicoquímicas, subcuenca del lago de Chapala. *Universidad Autónoma de Guadalajara, Zapopan, A. P. 45129, Jalisco. Universidad Veracruzana, Veracruz, México*. 154 pp.