



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

B093/83
Ei. 2

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES IZTACALA

DETERMINACION DEL TIEMPO DE SUPERVIVENCIA DE
BACTERIAS PATOGENAS EN SUELOS DE CULTI-
VO, REGADOS CON AGUAS NEGRAS TRA--
TADAS.

TESIS PROFESIONAL

Que para obtener el Título de

"BIÓLOGO"

P r e s e n t a

JESUS MEDINA SOTO Y ALEJANDRA IRMA SIERRA MARRIQUEZ

Iztacal, Edo. de México

1983



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.

Dedicada a Magda,
a mis padres,
hermanos y
amigos.
Jesús.

Dedicada a mis Padres,
hermanos,
abuelitos y
amigos. •
Alejandra.

Deseamos agradecer la valiosa ayuda proporcionada por el Dr. en C. Fermín Rivera Apuero por las facilidades prestadas para la realización de este trabajo.

De igual forma, agradecemos la dirección técnica de la Q.F.B. Ana María Lacy Niebla y la colaboración del biólogo Agustín Ruiz Cabrera, así como a todas aquellas personas que directa e indirectamente contribuyeron en la elaboración de esta tesis.

A todos ellos muchas gracias.

Diciembre, 1983.

I N D I C E

CONTENIDO	PAGINA
I.- Resumen	1
II.- Objetivos	3
III.- Introducción	4
IV.- Antecedentes	11
V.- Características de la zona de estudio	15
VI.- Material y métodos	16
a) Análisis fisicoquímico del suelo	16
b) Análisis fisicoquímico del agua	17
c) Análisis bacteriológico del suelo y del agua	18
d) Preparación de los lotes para deter_ minar la supervivencia de bacterias	21
e) Recolección de las muestras y proce_ dimiento de contaje	24
VII.- Resultados	27
a) Tablas y gráficas	38
b) Análisis estadístico	53
VIII.- Discusión	64
IX.- Conclusión	80
X.- Recomendaciones	82
XI.- Referencias bibliográficas	85
XII.- Símbolos empleados	92

R E S U M E N

El suelo de cultivo seleccionado para la realización de este trabajo contiene una gran cantidad de arcilla y arena, una baja proporción de materia orgánica y un intercambio catiónico adecuado. Asimismo, presenta una capacidad de retención de agua superior a la humedad determinada en condiciones de campo.

Por otra parte, los análisis fisicoquímicos del agua del efluente de la laguna de oxidación presentan valores característicos en los niveles de dióxido de carbono, fósforo total, ortofosfatos y amoníaco, mientras que la cantidad de nitratos es cero. La DBO_5 tiene un valor promedio de 190.9 mg/l.

Los resultados del NMP de bacterias coliformes totales y fecales son de 2.0×10^6 microorganismos por 100 ml y para estreptococos fecales, de 2.0×10^8 bacterias por 100 ml.

El análisis bacteriológico del agua revela la presencia de las especies de Escherichia coli, Salmonella typhi, Salmonella sp., Shigella dysenteriae, Shigella sp., Proteus sp., entre las más importantes; en tanto que en el suelo se encuentran las bacterias Escherichia coli, Salmonella sp., Shigella sp., Serratia liquefaciens y Klebsiella sp.

Para la realización de los bioensayos en este trabajo, se tomó en consideración la condición estéril y no estéril del suelo y del agua del efluente, realizándose cua

tro tratamientos: (1) agua estéril, suelo estéril; (2) -- agua no estéril, suelo no estéril; (3) agua no estéril, - suelo estéril y (4) agua estéril, suelo no estéril; tomán dose como organismos experimentales a las bacterias Escherichia coli, Salmonella typhi y Shigella dysenteriae. Estos ensayos muestran que en el 95% de los casos experimentales existe una evidente disminución de las poblaciones bacterianas en los tiempos iniciales, observándose posteriormente el fenómeno de "recrecimiento", con una relativa estabilidad a lo largo del experimento.

Los valores de T_{90} obtenidos para Salmonella typhi - van desde 22.58 hrs hasta 492.09 hrs; Shigella dysenteriae de 22.06 hrs hasta 427.41 hrs y Escherichia coli de 22.43 hrs hasta 358.0 hrs.

El tratamiento número 2 (agua no estéril, suelo no estéril), fue el que presentó una mayor eficiencia en la reducción de las poblaciones bacterianas. Por otra parte, la desaparición de las bacterias en el suelo se debió a - su estado fisiológico, a las condiciones fisicoquímicas - del suelo y del agua del efluente de la laguna, las condi ciones ambientales y a la interacción biológica con otros microorganismos.

O B J E T I V O S

Identificar los géneros de bacterias patógenas que se encuentran en el efluente de una laguna de estabilización, con especial atención en aquéllas que constituyen un riesgo potencial para el hombre, como es el caso de Escherichia coli, Salmonella sp. y Shigella sp.

Determinar el tiempo de supervivencia de bacterias patógenas en suelos, con el fin de dar algunos consejos prácticos para reducir al máximo los riesgos de contaminación a los campesinos y consumidores inmediatos de productos agrícolas regados con estas aguas.

Sugerir el tipo de cultivo más adecuado para el aprovechamiento de estas aguas negras tratadas.

I N T R O D U C C I O N

- La producción de alimentos representa una actividad prioritaria para la sobrevivencia de la humanidad. .

Investigaciones realizadas recientemente por el Instituto Nacional de la Nutrición auspiciadas por el Sistema Alimentario Mexicano aportan datos que son alarmantes: 35 millones de mexicanos padecen deficiencias en sus patrones nutricionales. De este total, 19 millones están en condiciones nutricionales críticas. Esos mexicanos viven en 648 municipios diseminados por todo el país y en las zonas periféricas de nuestras grandes ciudades (S.A.M., - 1981).

... Todos estos hechos se deben, en parte, a nuestra insuficiente producción de alimentos básicos, considerando además, que la economía alimentaria de los insumos, la producción primaria e industrial, la comercialización y el consumo de los alimentos se interrelacionan para conformar un sistema de relaciones técnicas y sociales.

Debido al incremento de la población existente, se hace cada día más urgente el aprovechamiento integral de los recursos naturales, ya que es un hecho conocido que la manipulación del ambiente natural por el hombre, casi siempre termina en un empobrecimiento de los recursos y sus habitantes. El avance tecnológico de la población, unido a la existencia de sociedades humanas cada vez más grandes, nos obliga a la explotación del suelo en una forma intensiva, lo que ocasiona en la mayoría de los casos

su empobrecimiento (Torres, 1981).

La producción de granos como el maíz, frijol, trigo, cebada, etcétera, es de gran importancia en nuestro país, ya que desde tiempos inmemoriales son la base de la alimentación popular. Desafortunadamente, la mayor parte de la producción de granos está supeditada a la estación de lluvias o "temporal" por lo que los cultivos se sujetan a los caprichos de la naturaleza, que en ocasiones tienen graves consecuencias como la ausencia casi total de lluvias que reduce la posibilidad de germinación de las semillas, o el caso inverso en donde la precipitación excesiva ocasiona la podredumbre de las semillas.

Otras consecuencias de la dependencia de las actividades agrícolas al temporal son la reducción del período de desarrollo del cultivo, el avance de procesos erosivos que reducen la capacidad de producción y otros más.

Estudios realizados en México revelan que el 80% de la superficie total cultivable (16 millones de hectáreas) sufren procesos de erosión (Torres, 1981).

Una alternativa para reducir los problemas que ocasiona la dependencia de la agricultura al temporal es el desarrollo de sistemas de tratamiento de aguas residuales que permitan optimizar su aprovechamiento.

Actualmente se empiezan a construir en México sistemas de tratamiento de aguas de desecho que permitan reciclarlas y emplear las aguas tratadas para el riego de cul

tivos. Su construcción se realiza preferentemente en comunidades rurales con menos de 10,000 habitantes, estos son los sistemas denominados "Estanques o Lagunas de Estabilización".

Las lagunas de estabilización constituyen la elección óptima para el tratamiento de aguas residuales domésticas mediante un proceso de purificación natural aerobio, anaerobio o facultativo.

-Las lagunas de estabilización son tanques cerrados por taludes. Los desechos son tratados por procesos cien por ciento naturales que involucran la actividad metabólica de bacterias, algas, protozoarios y hongos. La estabilización de la materia orgánica es lenta y se emplean tiempos de retención hasta de 50 días. Las ventajas de costo de construcción, operación, mantenimiento y remoción de organismos patógenos, las colocan como un método excelente de tratamiento de aguas en comunidades rurales (Hernández, 1982).

Las lagunas de estabilización son también conocidas como estanques facultativos. Esto se debe a su actividad aerobia en la capa superficial y anaerobia en las capas del fondo, especialmente en los sólidos sedimentados. En terrenos donde la tierra es relativamente plana, poco porosa, disponible y barata, las lagunas de estabilización constituyen el sistema de tratamiento de aguas más económico ya que no requieren de equipos costosos para su cons

trucción ni operadores altamente capacitados para su mantenimiento (Aguirre y Gloyna, 1970; Arceivala, 1970). Su uso se hace predominantemente en comunidades rurales donde la luz solar es adecuada, con temperaturas no excesivas y una buena cantidad de viento (Loehr, 1977; Hernández, 1982).

En las lagunas de oxidación se dan procesos de conversión biológica de la materia orgánica y en consecuencia la recirculación de los nutrientes a lo largo de las cadenas tróficas (Walker *et al.* 1977).

En estos sistemas las bacterias y las algas son los organismos claves para la estabilización. Las bacterias heterotróficas son las responsables de la estabilización de la materia orgánica, que es degradada anaerobiamente en los sedimentos del fondo. Los productos finales de sus fermentaciones como dióxido de carbono, amoníaco, iones nitrito, nitrato y fosfato, son ahora disponibles para las algas. La energía solar completa los requerimientos de desarrollo de las algas. Como consecuencia las algas producen nuevo protoplasma y el producto final de su metabolismo es el oxígeno, que es reutilizado por las bacterias heterótrofas.

Una producción satisfactoria en una laguna de estabilización depende del balance entre las algas y bacterias (Pipes, 1961). Un exceso de la actividad bacteriana sobre la actividad ficótica, como la causada por una alta

concentración de desechos o una inhibición del metabolismo de las algas, puede conducir a una disminución del oxígeno, malos olores y una pobre calidad del efluente. El exceso de la actividad ficótica, como la que se ocasiona por un alto contenido de nutrientes y condiciones ambientales favorables, pueden propiciar un alto contenido de algas en el efluente (Unz, 1977).

Los nutrientes claves en una laguna de estabilización son el carbono, nitrógeno y fósforo. Así pues, el planteamiento de que los desechos orgánicos son oxidados o estabilizados por estos sistemas, es válido en el sentido de que el desecho orgánico original es transformado en una forma orgánica más estable: la célula del alga (Pipes, 1981; Loehrn, 1977).

- De esta actividad microbiana se obtienen beneficios directos que se reflejan en el control parcial de la contaminación orgánica y la amplia posibilidad de reuso del agua en actividades humanas como la agricultura. -

-Sin embargo, este tratamiento de agua tiene algunas desventajas ya que su depuración no es total y puede acarrear algunos riesgos sanitarios (Loehrn, 1977). -

Con respecto a este punto, existe poca información sobre la supervivencia de bacterias entéricas en los sistemas de lagunas de estabilización y acerca de su presencia y número de organismos en sus efluentes. La mayoría de los reportes indican que la destrucción de estos orga-

nismos es muy grande, alcanzando hasta un 99.99%. Este hecho ha sugerido que Escherichia coli es una bacteria poco apropiada como indicador en estos sistemas, proponiéndose a las especies de Streptococcus faecalis y Clostridium welchii como indicadores más confiables (Ahmed et al. 1976).

Por otra parte, al estudiar la mortalidad de Salmonella typhi en efluentes de lagunas con períodos de retención de 20 días, se ha observado una reducción de hasta un 99.5% y que además puede ser más resistente que E. coli. En lagunas de oxidación con tiempo de retención de 48 días, Staphylococcus aureus y Serratia marcescens desaparecen totalmente en 36 a 48 hrs (Ahmed et al. 1976).

Los microorganismos que se encuentran en los efluentes de las lagunas de oxidación cuando son vertidos al suelo están sujetos a las condiciones ambientales que ahí prevalezcan.

Aunque podemos enlistar los factores químicos (nutrientes orgánicos e inorgánicos, factores de crecimiento, composición iónica, etcétera), los físicos (la humedad, temperatura, presión, radiación, composición atmosférica, pH, potencial de óxido-reducción, partículas, etcétera) y los biológicos (como el neutralismo, competencia, depredación, parasitismo, etcétera) en forma individual, su importancia relativa e influencia sobre los microorganismos no puede ser asumida ni estudiada tan fácilmente; además,

su expresión no es el resultado de uno o de algunos de - estos factores, sino que es el producto de la suma de la interacción de éstos en conjunto. Por ejemplo, el contenido de agua en el suelo no puede ser alterado sin una posterior alteración en la composición atmosférica; los cambios en el pH son acompañados por cambios en el potencial de óxido-reducción y la composición iónica; la presión y la temperatura siempre se encuentran interrelacionadas. - Consecuentemente, la alteración de un factor ambiental -- causa un cambio no solamente en otro factor sino que simultáneamente afecta a varios, con el resultado final de un cambio total en el ambiente (Stotzky, 1974).

Obviamente, muchos factores que influyen a los microorganismos en el suelo, también los afectan en otros - hábitats. Generalmente se hacen intentos, en todos los hábitats, para estudiar individualmente cada uno de estos - factores, principalmente por razones de simplicidad y presentación de datos.

A N T E C E D E N T E S

- A pesar del alto grado de depuración de las aguas -- del efluente de las lagunas de estabilización, no se elimina totalmente el riesgo de contaminación, por lo que al verter sus aguas al suelo continúan contaminando aunque - en un grado mucho menor en comparación con las aguas de - desecho sin previo tratamiento.

-El mayor riesgo de contaminación por este tipo de efluentes está dado por organismos patógenos como bacte--- rias, protozoarios, virus, nemátodos y hongos filamento--- sos. La gravedad de esta contaminación se acentúa por el uso de estos efluentes para el desarrollo de cultivos de consumo animal y humano (Tate III, 1978). -

-En este renglón, la producción de forrajes es, quizá, el punto lógico de inicio para el uso agrícola de las aguas de desecho tratadas, eliminando de esta forma el consumo directo por el hombre de productos vegetales contami--- nados por este tipo de aguas. Sin embargo, es igualmente indeseable la infección de animales consumidores de este forraje (Bell, 1976).

-Predecir el riesgo sanitario en tales condiciones es una tarea difícil; sin embargo, en la última década se han realizado algunos estudios para determinar el tiempo de - supervivencia de bacterias en suelos que son utilizados - como receptores de desechos industriales, animales y huma--- nos (Bell, 1976; Tate III, 1978, Crane et al. 1980; Par--- ker y Mee, 1982):-

Dentro del grupo de bacterias que se han empleado -- para determinar el grado de contaminación fecal del suelo encontramos a los estreptococos fecales. Se ha investigado la supervivencia de Streptococcus faecalis en suelos con diferentes condiciones de humedad y temperatura; y se ha encontrado que en condiciones húmedas (saturación del suelo) y temperatura entre 4 y 10°C pueden permanecer al menos 12 semanas. En suelo poco húmedo y cálido su muerte es mucho más rápida (Kibbey et al. 1978).

—Otro organismo que ha servido como indicador de contaminación fecal en el suelo es Escherichia coli.—

Ha sido más ampliamente estudiado que los estreptococos y se ha comprobado que la supervivencia de E. coli en el suelo se debe en gran medida a las condiciones de humedad, a la disponibilidad de nutrientes y a la microflora indígena. A este respecto, Klein y Casida en 1967, demostraron en el laboratorio que la adición de una porción de suelo estéril al suelo normal ofrece un efecto protector contra la muerte de E. coli. Esta protección fue asociada a la disponibilidad de carbono orgánico y no al nitrógeno disponible. Para reforzar esta aseveración, se agregó glucosa al suelo y se observó que la población permaneció estable hasta que aparecieron los productos de fermentación que acidificaron el suelo y fue hasta entonces que la población empezó a declinar.

Por otra parte, con la adición de glucosa aumentó el

grupo de bacterias autóctonas, en especial la parásita intramacelular Bdellovibrio bacteriovorus, que también contribuyó en la disminución de la población de E. coli. Asimismo, el papel de los protozoarios en la erradicación de coliformes ha sido estudiado, y se reporta que su población aumentó hasta seis veces la inicial cuando fueron mezclados con E. coli (Tate III, 1978).

Aunque generalmente se acepta que los microorganismos indicadores pueden ser afectados en la misma forma que los patógenos en el suelo, es necesario hacer comparaciones en la supervivencia de los indicadores con respecto a los patógenos más representativos.

Hasta el momento, los escasos estudios realizados (Chandler y Craven, 1978 y 1980; Dazzo et al. 1973; Parker y Mee, 1982) muestran una gran similitud en el tiempo de supervivencia bajo condiciones de laboratorio. Sin embargo, Parker y Mee en 1982, reportan que sí existen diferencias en algunos casos, por lo que sugieren la necesidad de evaluar un gran número de microorganismos antes de dar una conclusión.

En resumen, se acepta que el estado fisiológico del organismo, las condiciones fisicoquímicas del suelo que lo recibe, las condiciones ambientales, las interacciones biológicas con otros organismos y el método de aplicación de los desechos son los responsables más significativos en la desaparición de bacterias en el suelo. -

Por otra parte, los escasos estudios epidemiológicos realizados sobre la incidencia de enfermedades transmisibles por la práctica de irrigación del suelo con aguas residuales tratadas proporcionan datos de gran interés.

Katzenelson en 1976 realizó un estudio en el que incluyó a 77 comunidades rurales que emplearon los efluentes de las lagunas de estabilización para riego (36, 400 habitantes), y a otras 130 comunidades que no emplearon aguas de desecho para ningún propósito. A partir de los datos que se colectaron del Health's Department of Epidemiology durante los años de 1963 a 1975 para fiebre tifoidea, de 1969 a 1974 para salmonelosis; de 1973 a 1974 para influenza y de 1971 a 1974 para shigelosis, hepatitis infecciosa e infecciones estreptocócicas, se encontró una mayor incidencia de estas enfermedades en los habitantes que hacen uso de las aguas de desecho tratadas.

CARACTERISTICAS DE LA ZONA DE ESTUDIO

Las lagunas de estabilización se encuentran ubicadas en el ejido de Santo Tomás Atzingo, municipio de Tlalmanalco, Estado de México, enclavado en la cuenca del Valle de México y subcuenca del lago de Texcoco, a 2,475 m sobre el nivel del mar.

El clima predominante es templado subhúmedo, con lluvias en verano. La temperatura media superior es de 29°C y la mínima es de -3°C. La precipitación pluvial media anual es de 970.7 mm.

Este ejido tiene una superficie total de 440 hectáreas, de las cuales 75 son de agostadero y 375 son de monte.

La actividad principal de esta comunidad es el cultivo de alfalfa y maíz así como la cría de ganado vacuno y lanar.

La fuente de abastecimiento de agua proviene del sistema Morelos; el ejido cuenta con agua potable a partir de 1970. En la actualidad, el 80% de los habitantes cuenta con este servicio.

Otro de los servicios con los que cuenta la zona son la energía eléctrica y red de alcantarillado en un 80%. Sus desechos se vierten a la laguna de estabilización por un sistema de drenaje entubado que brinda el servicio a 1,200 usuarios.

El ejido no cuenta con industrias de ningún tipo, por lo que los desechos que recibe la laguna son exclusivamente de tipo municipal.

M A T E R I A L Y M E T O D O S

El trabajo se realizó en una laguna de estabilización, ubicada en el ejido de Santo Tomás Atzingo, municipio de Tlalmanalco, Estado de México, donde las aguas de desecho que se vierten a ella son exclusivamente de tipo municipal, y el suelo de cultivo estudiado fue un maizal cercano a la laguna de oxidación.

El estudio consistió primeramente en la determinación de los parámetros fisicoquímicos del suelo y del agua del efluente de ésta.

a) Análisis fisicoquímico del suelo.

Para este análisis se emplearon los siguientes métodos: Las muestras del suelo se recolectaron a lo largo de el maizal seleccionado en forma de "zig-zag", colocándose en bolsas de polietileno estériles para ser transportadas a baja temperatura hasta el laboratorio.

Se caracterizaron las condiciones topográficas del terreno determinándose la pendiente por el método del clisímetro (Torres, 1981).

Posteriormente, se analizaron los horizontes (Torres, 1981) cavando un metro cuadrado a una profundidad aproximada de un metro con la ayuda de una pala plana.

El color de las muestras obtenidas en los horizontes se determinó con la muestra seca y húmeda, comparándolas con los colores de las tablas de Munsell (Johnson, 1979).

En el laboratorio se realizaron las pruebas de la --

temperatura por el método del higrómetro de Bouyoucos (Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, 1976; Johnson, 1979; Torres, 1981) y la clase textural por el método del diagrama del triángulo (Johnson, 1979; Torres, 1981).

El potencial de hidrógeno se determinó tomando 10g de la muestra del suelo y colocándola en un vaso de precipitado de 150 ml al cual se le añadieron 110 ml de agua destilada, se agitó perfectamente y se dejó reposar por 30 min, después se tomó la lectura con un Potenciómetro Corning (Johnson, 1979).

El intercambio catiónico fue determinado por el método de presión de placa (Townsend, 1973; Johnson 1979), y la materia orgánica por el método de Walking_Black (Townsend, 1973; Johnson, 1979; Homer y Parker, 1979).

b) Análisis fisicoquímico del agua.

La determinación de los parámetros fisicoquímicos del agua del efluente de la laguna de oxidación se realizó tomando como referencia los métodos descritos en el "Standard Methods for Examination of Water and Wastewater" (Standard Methods -APHA-, 1975), y fueron: temperatura, potencial de hidrógeno, oxígeno disuelto y dióxido de carbono. Estas determinaciones se realizaron "in situ".

En el laboratorio se realizaron las determinaciones de la DBO_5 . Estos análisis fueron proporcionados por el

laboratorio de Conservación y Mejoramiento del Ambiente de la Unidad de Investigación Interdisciplinaria de Ciencias de la Salud y Educación (U.J.I.C.S.E.) de la Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacala.

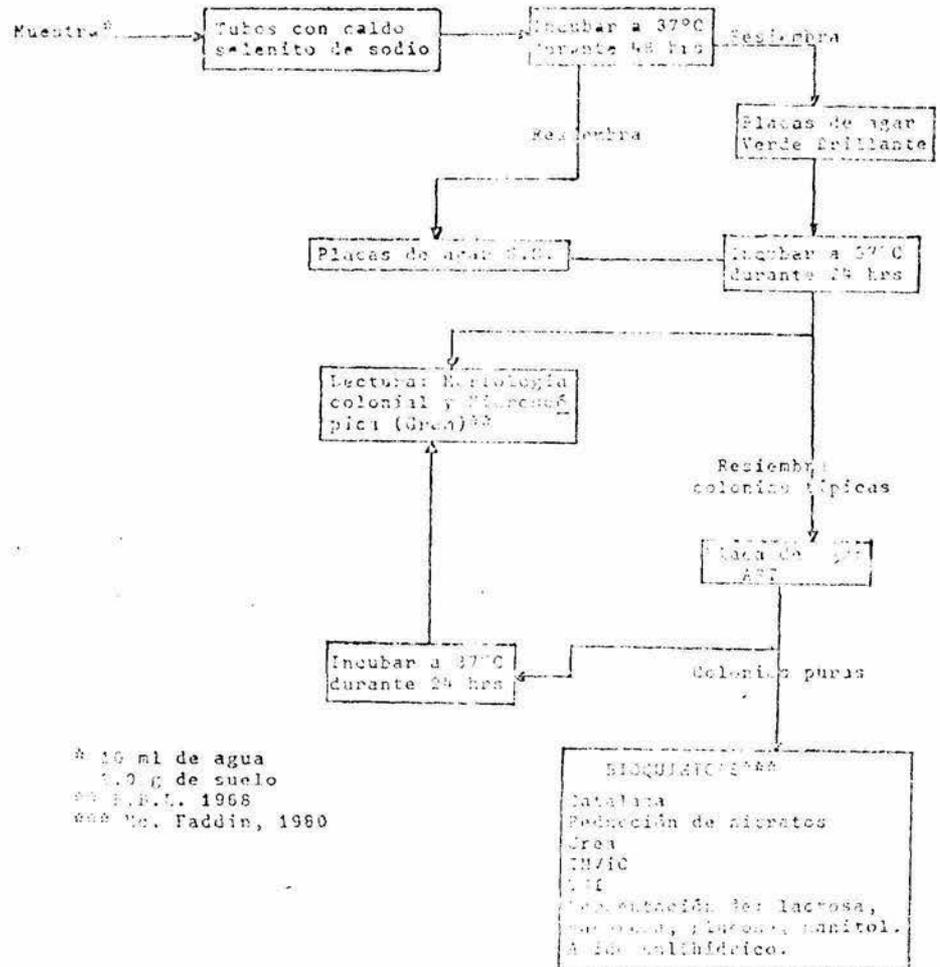
c) Análisis bacteriológico del suelo y del agua.

Se realizó un análisis bacteriológico del suelo y del agua del efluente para el aislamiento de las bacterias Salmonella typhi, Shigella dysenteriae y Escherichia coli, entre otras.

Las muestras de agua se tomaron con las botellas estériles para análisis bacteriológico las cuales se transportaron al laboratorio (entre 4 y 10°C). El tiempo que transcurrió entre la toma de la muestra y su análisis fue menor de seis horas.

Para realizar el aislamiento de Salmonella sp. y Shigella sp. del suelo y del agua de la laguna se efectuó la siguiente metodología (Difco, 1953; Burrows, 1969; B.-B.L. 1968; Standard Methods -APHA-, 1975; Brock, 1973; National Academy of Sciences, 1979; Pelczard y Reid, 1979; Secretaria de Agricultura y Recursos Hidráulicos, 1979), ver cuadro número 1.

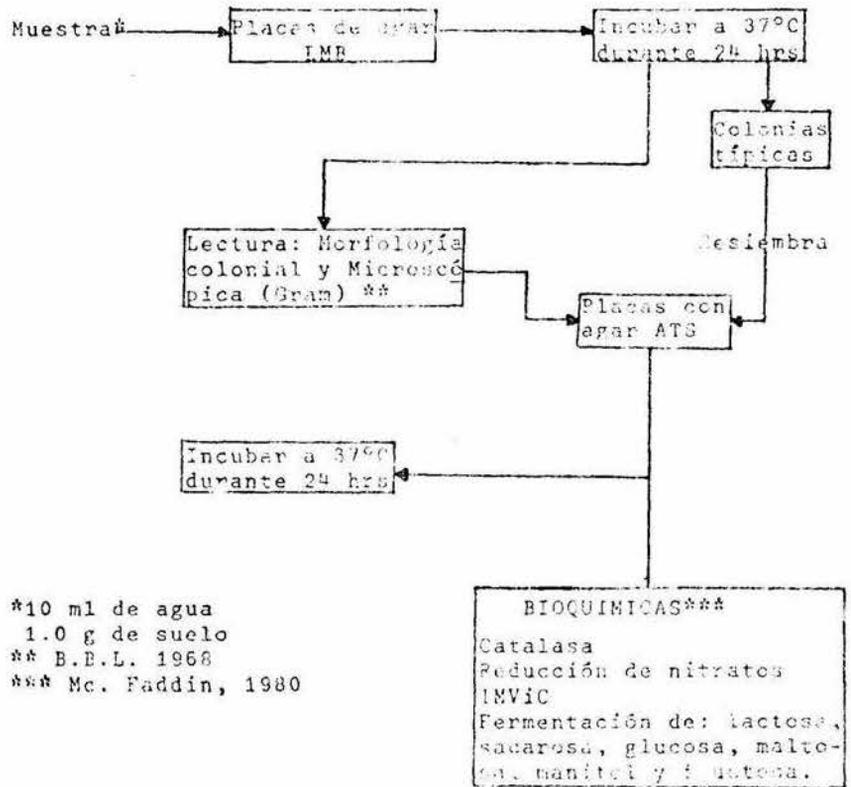
Para el aislamiento de Escherichia coli en agua del efluente de la laguna y del suelo del maizal se emplearon placas de agar de eosina y azul de metileno -EMB- (Difco, 1953; B.B.L. 1968; Standard Methods -APHA-, 1975), ver cuadro número 2.



* 10 ml de agua
 5.0 g de suelo
 ** S.B.L. 1968
 *** M. Faddin, 1960

BIOQUÍMICA***
 Catalasa
 Reducción de nitratos
 Urea
 IMViC
 GHI
 Fermentación de: lactosa, sacarosa, glucosa, manitol. Ácidos salicílicos.

Con los números 1: Aislamiento de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus aureus*



Cuadro número 2: Aislamiento de Escherichia coli

Las bacterias que con las pruebas bioquímicas presentaron mayor afinidad con Salmonella sp. y Shigella sp. fueron identificadas por los métodos y recursos adecuados* (Mc. Faddin, 1980).

Una vez confirmada su identidad, Escherichia coli, Salmonella typhi y Shigella dysenteriae, fueron desarrolladas masivamente en agar nutritivo para preparar el inóculo de los cuatro tratamientos del suelo y con estos, determinar el tiempo de supervivencia de estas bacterias.

d) Preparación de los lotes para determinar el tiempo de supervivencia de bacterias.

El suelo fue preparado regándolo por goteo continuo durante 15 días con agua de la laguna de estabilización. A continuación se secó a temperatura ambiente y se colocaron 100 g de muestra en 36 frascos de boca ancha con tapón esmerilado estériles. De estos, 18 fueron esterilizados a calor húmedo (15 lb de presión, 121°C) en tres períodos consecutivos de una hora. Los 18 frascos restantes se dejaron sin esterilizar.

Por otra parte se esterilizó un volumen de dos litros de agua de la laguna de estabilización recientemente

* La identificación se realizó en la Facultad de Estudios Superiores, Cuautitlán, Departamento de Bacteriología

recolectada y un volumen igual se dejó sin esterilizar. - Con estas dos variantes del agua se prepararon las suspensiones bacterianas para el inóculo.

Las bacterias que fueron desarrolladas masivamente - en agar nutritivo se recuperaron por remoción con perlas de vidrio y agua peptonada al 0.1% como diluyente. Posteriormente, fueron lavadas tres veces por centrifugación a 7,000 rpm por 20 min y resuspendidas cada vez con el mismo diluyente (Chandler y Craven, 1978).

En este diluyente permanecieron durante 72 hrs a 4°C para provocar inanición en las bacterias problema.

Los tubos que contenían el concentrado bacteriano -- fueron comparados con los 10 tubos de la escala de Mc. -- Farlan y, se ajustaron al tubo número 1 (3×10^8) por medio de lecturas fotométricas en un espectrofotómetro --- Bausch & Lomb modelo "Spectronic 20". Una vez ajustados - los tubos con esta concentración se tomaron 10 ml de suspensión más 30 ml de agua de la laguna de estabilización estéril o no estéril, según fueran los requerimientos.

De esta dilución se esperaba tener una concentración de 1×10^8 bacterias por ml. De esta se tomaron 30 ml y - se agregaron a los frascos con el suelo para tener los -- siguientes tratamientos:

Núm 1: Suelo estéril, agua del efluente estéril (9 frascos) TESTIGO.

Núm 2: Suelo no estéril, agua del efluente no estéril (9 frascos) PROBLEMA.

Núm 3: Suelo estéril, agua del efluente no estéril (9 frascos) TRATAMIENTO Alfa.

Núm 4: Suelo no estéril, agua del efluente estéril (9 frascos) TRATAMIENTO Beta.

Cada uno de los tratamientos proporcionó una concentración inicial entre 1 y 3×10^7 células por gramo de suelo de cada una de las bacterias problema.

A cada bacteria se le designó una letra para facilitar su identificación:

- a) Salmonella typhi
- b) Shigella dysenteriae
- c) Escherichia coli

Como consecuencia de este ordenamiento tenemos la siguiente nomenclatura:

Agua estéril, suelo estéril + $\frac{S. typhi}{S. dysenteriae}{E. coli} = 1a$
 $\frac{S. typhi}{S. dysenteriae}{E. coli} = 1b$
 $\frac{S. typhi}{S. dysenteriae}{E. coli} = 1c$

Agua no estéril, suelo no estéril + $\frac{S. typhi}{S. dysenteriae}{E. coli} = 2a$
 $\frac{S. typhi}{S. dysenteriae}{E. coli} = 2b$
 $\frac{S. typhi}{S. dysenteriae}{E. coli} = 2c$

Agua no estéril, suelo estéril + $\frac{S. typhi}{S. dysenteriae}{E. coli} = 3a$
 $\frac{S. typhi}{S. dysenteriae}{E. coli} = 3b$
 $\frac{S. typhi}{S. dysenteriae}{E. coli} = 3c$

Agua estéril, suelo no estéril + $\frac{S. typhi = 4a}{S. dysenteriae = 4b}$
 $\frac{E. coli = 4c}$

Cada uno de los tratamientos fueron trabajados por triplicado.

Los frascos con estos cuatro tratamientos fueron colocados en una campana de extracción, donde la temperatura de $25 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ fue constante, al igual que las condiciones de iluminación que fue proporcionada por una lámpara fluorescente.

e) Recolección de las muestras y procedimiento de conteaje.

La recolección de las muestras se realizó a los 0,1, 2,4,16,32 y 64 días (Parker y Mee, 1982).

De cada frasco se tomó una muestra de 1 g de suelo con un abatelenguas estéril, se diluyó en solución salina isotónica estéril hasta 1×10^{-6} en el tiempo inicial. Esta dilución disminuyó de acuerdo al tiempo de recuperación hasta 1×10^2 .

Para la cuenta de bacterias se emplearon medios selectivos. En el caso de E. coli se utilizó agar de eosina y azul de metileno (Bioxon) y para Salmonella typhi y Shigella dysenteriae agar SS (Merck). Para enumerar las células viables, se modificó la técnica de vaciado en placa (B.E.L. 1968; Frobisher, 1974).

En tubos con tapón de rosca se vaciaron 15 ml de medio de cultivo estéril y se mantuvieron en baño María a 45°C. Del tubo de dilución se tomó un ml de muestra y se agregó al medio de cultivo correspondiente.

A continuación se mezcló perfectamente por inversión y se vació en las cajas de Petri. Todas las placas fueron incubadas a 37°C por 24-48 horas.

La cuenta se realizó con la ayuda de un cuentacolonias Qubec.

Para comprobar la identidad de las colonias que se contaban, se tomaron en cuenta las características coloniales y se aplicaron pruebas bioquímicas: para la especie de Salmonella typhi se aplicó la prueba de citrato y para las de Shigella dysenteriae la prueba de la catalasa.

Una vez obtenidos los resultados de las cuentas viables de las bacterias probadas, se tomó el promedio de las tres cuentas efectuadas para cada repetición de los tratamientos. Esta cantidad se transformó en su logaritmo (Tablas I, III y V).

Con el fin de facilitar su interpretación se tomó el promedio de las repeticiones correspondientes a cada tratamiento y se graficaron los resultados (ver figuras 1, 3 y 5).

De estos resultados se determinó el porcentaje de supervivencia por medio de la siguiente fórmula:

$$\text{Porcentaje de supervivencia} = \frac{\text{Número de supervivientes al tiempo } x}{\text{Población inicial}} \times 100$$

(ver tablas IIa, IVa y Va) (E.P.A.1974), y posteriormente fueron graficados estos porcentajes, tanto en su forma original (figs. 2, 4 y 6) como en su forma logarítmica (figs. 7, 8 y 9).

Con los porcentajes de supervivencia se buscó el T_{90} (Paoletti, 1980) en cada una de las repeticiones de los tratamientos de las bacterias probadas (Tablas IIb, IVb y Vb), para posteriormente realizar un análisis de varianzas en bloques aleatorios y una prueba de Tuckey para la separación de las medias (Hurley et al. 1980).

R E S U L T A D O S

A continuación se presentan los resultados que se obtuvieron a partir de las determinaciones físicoquímicas del suelo:

Se observó que en la zona de estudio sólo se encuentra un horizonte. El horizonte identificado corresponde al A₁, determinado a la profundidad de 0-100 cm, con un color castaño oscuro (7.5 y R 3/2); horizonte mineral -- formado en la superficie, en el cual el rasgo principal es una acumulación de materia orgánica humificada íntimamente asociada. Sedimento arcilloso al tacto, granular, blando y con apariencia seca (determinaciones de campo).

Terreno plano, con pendiente ligera (0.030%); con una extensión de aproximadamente 10 hectáreas de cultivo y localizados a 25m del efluente de la laguna.

Los resultados de los análisis practicados en el laboratorio se muestran en el cuadro número 3.

El pH del suelo fue ligeramente ácido, con un alto contenido de arcilla y arena, baja proporción de materia orgánica y un intercambio catiónico característico. Se observa una mayor capacidad de retención de agua con respecto a la humedad existente.

Propiedad	Resultado
Textura*	Arcilla 43.15% Barro 5.45% Arena 51.40%
Color**	Suelo húmedo: café muy obscuro, 10 y R 2/2 Suelo seco: café, 10 y R 5/3
Clase Textural*	Arenoso - arcilloso
Estructura*	Granular
Consistencia*	Blanda
Humedad***	21.55%
pH*	6.2
Materia orgánica****	2.278%
Intercambio catiónico:	
Calcio****	Imperceptible
Magnesio	0.08 meq/100
Potasio	Imperceptible
Sodio	0.06 meq/100
Aluminio	Imperceptible
Hidrógeno	3.0 meq/100
Capacidad de retención de agua***	30%
Intercambio iónico****	0.182 meq/100
Densidad aparente***	Nivel 20 cm 1.05 g/cm ³ 40 cm 1.15 g/cm ³ 60 cm 1.08 g/cm ³

Cuadro número 3. Análisis fisicoquímico del suelo.

* Torres, 1931

** Johnson, 1979

*** Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, 1976.

**** Townsend, 1973.

Los datos del análisis fisicoquímico del agua del efluente de la laguna de oxidación fueron los siguientes*:

Temperatura	17.0°C
Dióxido de Carbono	7.9 mg/l
Alcalinidad total	269.8 mg/l
Ortofosfatos	12.3mg/l
Fósforo total	15.0 mg/l
Amoniaco	22.0 mg/l
Nitratos	0.0020 mg/l
DBO ₅ **	190.90 mg/l
pH	7.2
Potencial Redox	-30.0 mMho

*(Según técnicas del Standard Methods -APHA- 1975)

** (Demanda bioquímica de oxígeno a cinco días)

La temperatura ambiental osciló entre 4°C durante la noche y 20°C a la interperie durante las horas más soleada del día (12:00 a 15:00 hrs aproximadamente).

El análisis bacteriológico del agua del efluente de la laguna de estabilización presentó una concentración inferior a 2.0×10^8 Estreptococos fecales por 100 ml y los Coliformes totales y fecales no rebasaron los 2.0×10^6 bacterias por 100 ml.

Por otra parte los microorganismos patógenos identificados en el efluente y en el suelo son los siguientes:

Microorganismos	Agua	Suelo
<u>Escherichia coli</u>	+	+
<u>Salmonella typhi</u>	+	-
<u>Salmonella</u> sp.	+	+
<u>Shigella dysenteriae</u>	+	-
<u>Shigella</u> sp.	+	+
<u>Klebsiella</u> sp.	+	+
<u>Enterobacter hafniae</u>	+	-
<u>Proteus</u> sp.	+	-
<u>Serratia liquefaciens</u>	-	+

Como se observa, en agua el único microorganismo ausente es Serratia liquefaciens pero se presenta en suelo. Salmonella typhi, Shigella dysenteriae, Proteus sp. y Enterobacter están ausentes en suelo pero se presentan en el agua y en los dos ambientes estudiados se encuentran las especies de E. coli, Salmonella sp., Shigella sp. y Klebsiella sp.

Los bioensayos se montaron con tres bacterias que son: Salmonella typhi, Shigella dysenteriae y Escherichia coli; de estas, Salmonella typhi y E. coli son los organismos típicamente empleados para estudios de supervivencia bacteriana en suelo. Shigella dysenteriae no se encuentra reportada en trabajos similares.

Los resultados de las cuentas viables y sus respectivos logaritmos en el caso de Salmonella typhi se encuen-

datos reportados en la tabla I. Se puede observar en esta tabla que existe una disminución de aproximadamente un logaritmo del tiempo t_0 al tiempo t_1 en los cuatro tratamientos; de los tiempos t_1 a t_4 no se observa homogeneidad en la disminución del número de bacterias. Por ejemplo en el tratamiento 1A entre los tiempos t_1 a t_2 hay un ligero incremento en tanto que en los tratamientos restantes hay una disminución; en los tratamientos 2A y 3A hay un ligero incremento en los tiempos t_2 a t_4 y en los tratamientos 1A y 4A hay una disminución en los mismos tiempos. En el tratamiento 2A del tiempo t_4 a t_3 hay una disminución del número de bacterias y en los tratamientos restantes (1A, 3A y 4A) se presenta un incremento. Del tiempo t_3 a t_{16} se observa un incremento en los cuatro tratamientos y en el t_{12} a t_{16} hay una disminución en todos los tratamientos aunque en diferentes proporciones (ver fig 1).

Sin embargo, los resultados presentados en esta primera tabla no tienen una distribución normal, que permita un análisis estadístico paramétrico, por lo que se recurrió a tomar el porcentaje de supervivencia de cada uno de los tiempos y repeticiones de los cuatro tratamientos establecidos (tabla IIa). De esta forma se obtiene, además, el factor T_{90} con el cual se realizó un análisis estadístico paramétrico (tabla IIb).

Al graficar los datos provenientes de la tabla IIa se

se obtuvieron gráficos homogéneos (ver fig 2). Con los datos de T_{90} de la tabla IIb se observa que la desaparición del 90% de la población de bacterias osciló entre 22.58 - horas (tratamiento 2a, repetición número 2) y 23.90 hrs - (tratamiento 3a, repetición número 1). Además, se puede observar el fenómeno de "recrecimiento" con un tope de -- 492.09 hrs de T_{90} en el tratamiento 1a, repetición número 1.

Se aplicó un análisis de varianza en bloques aleatorios a pesar de la similitud que existe en el T_{90} de todos los tratamientos (ver tabla de ANOVA número 1).

La tabla III muestra los resultados de las cuentas viables y sus logaritmos para Shigella dysenteriae.

En las gráficas de la fig 3 se puede observar una -- gran similitud del comportamiento de disminución del número de bacterias en los tratamientos 1,2 y 4B entre los -- tiempos t_0 a t_4 . Por su parte el tratamiento 3B en los -- mismos tiempos, presenta un decrecimiento exponencial típico.

Del t_4 a t_{16} los tratamientos 1,3 y 4B presentan un ligero incremento de la población, aunque este incremento no es en la misma proporción en todos ellos. En este período de tiempo, el tratamiento 2B continúa con una disminución considerable en su número de individuos, al grado que en una de las repeticiones ya no hay supervivientes - (tabla III).

A partir del tiempo t_{16} hasta el t_{64} los tratamien--
tos 1,3 y 4B muestran una disminución gradual de la pobla--
ción pero sin llegar a una desaparición total. Sin embar--
go en el tratamiento 2B sí hay una desaparición total de
la población bacteriana, sin poder determinar en qué mo--
mento desaparecen, ya que al instante de la recuperación
del día 32 se obtienen datos negativos (fig 3, gráfica -
2B).

Las gráficas de la figura 4 muestran los porcentajes
de supervivencia de Shigella dysenteriae y se observa que
las mayores variantes en el comportamiento se presentan --
entre los tiempos t_2 a t_8 en todos los casos.

Los valores de T_{90} para las repeticiones de cada tra--
tamiento son muy homogéneas (tabla IVb) y sólo se encuen--
tra una marcada diferencia en las repeticiones del trata--
miento 1B. El valor de T_{90} osciló entre 22.06 hrs (trata--
miento 4B, repetición número 1) y 23.84 hrs (tratamiento
3B, repetición número 2). Como se mencionó anteriormente,
en el tratamiento 1B y específicamente en la repetición -
número 1, se presentó el fenómeno de "recrecimiento", con
un máximo de 427.41 hrs en su T_{90} .

Siguiendo la metodología, con los valores del T_{90} se
aplicó un análisis de varianza en bloques aleatorios para
verificar si existe una diferencia significativa entre --
los tratamientos probados. Los resultados se expresan en
la tabla de ANOVA número 2.

Los resultados de las cuentas viables y los logaritmos de Escherichia coli se encuentran resumidos en la tabla V.

La representación gráfica del promedio de las tres repeticiones de cada uno de los tratamientos se presenta en la figura 5. En esta figura podemos notar la similitud que muestra la dinámica de desaparición bacteriana entre los tratamientos 1 y 3C entre el período t_0 a t_4 . En estas mismas gráficas se observa que en 1C hay un ligero incremento de t_4 a t_8 y en la gráfica 3C, por el contrario, continua la disminución del número de bacterias. A partir del tiempo t_8 hasta el t_{32} de ambas gráficas suceden situaciones contrarias: en 1C declina lentamente la población y en 3C hay una ligera recuperación. De t_{32} a t_{64} -- tanto 1C como 3C disminuyen aproximadamente un logaritmo en su población.

Con respecto a las gráficas 2 y 4C observamos una gran similitud en el comportamiento de ambas; es importante notar que la magnitud en el fenómeno de recrecimiento en el tiempo t_2 es de diferente proporción, siendo más notorio en 2C que en 4C. Sin embargo, hasta el tiempo t_{64} -- el comportamiento de disminución bacteriana de estos dos tratamientos es básicamente el mismo.

Al expresar la supervivencia bacteriana en porcentajes (tabla VIa y fig 6) notamos nuevamente la gran similitud gráfica entre los tratamientos 2 y 4C, pero en el tra

tamiento 3C se hace evidente el fenómeno de recrecimiento en el tiempo inicial t_1 , fenómeno que no se había presentado en ningún caso anterior con las bacterias probadas, para dar en seguida una disminución drástica y muy característica en todos los casos. Por otra parte, es notorio el hecho presentado en el gráfico 1C donde entre el tiempo t_0 y t_1 hay una disminución poco drástica en relación con los tratamientos 2 y 4C, esta disminución es de sólo un 6.14% de la población inicial.

Los valores obtenidos para el T_{90} muestran una ligera discrepancia (tabla VIb). Por ejemplo los valores de los tratamientos 1 y 3C tienen cierta similitud, al igual que los tratamientos 2 y 4C, aunque en este último, en la segunda repetición se nota una diferencia muy amplia ya que el T_{90} se alcanza hasta las 280.06 hrs.

Asimismo, se presenta un segundo valor de T_{90} en los tratamientos 1,2 y 4C de la tercera repetición, siendo ésta un hecho que no se tomó en consideración en el análisis estadístico, que es el mismo que se aplicó a las anteriores bacterias probadas (ver tabla de ANOVA número 3).

Los resultados obtenidos del análisis de Varianza -- practicados a Salmonella typhi, Shigella dysenteriae y -- Escherichia coli revela que en los dos primeros hay una diferencia estadística significativa.

Al encontrar esta diferencia significativa en Salmonella typhi y Shigella dysenteriae se aplicó una prueba -

de Tukey que mostró que en Salmonella typhi el tratamiento 2A tiene una mayor eficacia en la reducción del número de bacterias con un tiempo de 22.72 hrs para alcanzar un 90% de reducción de la población.

En el caso de Shigella dysenteriae la prueba de Tukey muestra que el tratamiento 4B alcanza más rápidamente el T_{90} (22.20 hrs) aunque la supervivencia se prolonga -- hasta el final del experimento. Sin embargo en el tratamiento 2B, que es el siguiente en importancia, la población desaparece en el transcurso del tiempo $t_{16} - t_{32}$ y -- aun en el transcurso de $t_8 - t_{16}$ se pierde totalmente en una de las repeticiones de esta bacteria.

En el caso de E. coli no se presentó una diferencia estadística significativa, debiéndose tal vez, al dato -- del tratamiento 4C en su segunda repetición que está sumamente disparado en relación con los demás resultados y -- que pudo en algún momento enmascarar los resultados de la suma de cuadrados de los bloques y la suma de cuadrados de los tratamientos. Sin embargo, se practicaron análisis de varianza por parejas de tratamientos y fue en donde se pudo notar la diferencia estadística para algunos pares de tratamientos probados. Por ejemplo, hay diferencia significativa entre los tratamientos 1 y 2C y entre los tratamientos 2 y 3C; no se observó diferencia entre las demás combinaciones.

Por otra parte es importante notar que en los análisis

sis de varianza donde aparece el tratamiento 4C no se encuentra diferencia significativa, tampoco hay significancia entre la pareja de tratamientos 1 - 3C porque entre ambos existe una gran similitud.

En términos generales, podemos hablar de mayor eficacia en la reducción de la población bacteriana en el tratamiento 2C.

A	1947			1948			1949			1950			1951		
	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
100	30.300	35.670	39.000	40.300	40.980	41.600	42.160	42.660	43.110	43.510	43.860	44.160	44.410	44.610	44.760
200	60.600	71.340	78.000	80.600	82.960	85.200	87.320	89.340	91.260	93.090	94.830	96.480	98.040	99.510	100.890
300	90.900	107.010	117.000	120.900	124.440	127.600	130.380	132.810	134.980	136.910	138.600	140.060	141.390	142.610	143.730
400	121.200	142.680	156.000	160.200	163.920	167.200	170.040	172.460	174.480	176.110	177.460	178.540	179.370	180.040	180.570
500	151.500	178.350	195.000	199.500	203.160	205.920	207.780	208.740	208.810	207.990	206.290	203.730	200.310	196.040	190.930
600	181.800	214.020	225.000	228.600	231.360	233.200	234.160	234.230	233.410	231.610	228.950	225.430	221.040	215.770	209.630
700	212.100	244.040	250.000	252.600	254.320	255.160	255.120	254.190	252.390	249.730	246.210	241.820	236.450	229.100	220.760
800	242.400	270.060	270.000	270.600	270.720	270.360	269.520	268.230	266.490	264.310	261.690	258.630	255.130	250.190	243.810
900	272.700	294.060	285.000	282.600	279.360	275.200	270.120	264.130	257.240	250.450	243.760	237.170	230.680	224.290	217.000
1000	303.000	315.060	295.000	288.600	281.360	273.200	264.120	254.130	243.240	231.450	219.760	208.170	196.680	185.290	174.000

Tabla I. Valor medio y logaritmo de la curva viable de *Salmonella typhi* en tiempo en días

Repetición	Agua estéril Suelo estéril			Agua no estéril Suelo no estéril			Agua no estéril Suelo estéril			Agua estéril Suelo no estéril		
	1a ₁	1a ₂	1a ₃	2a ₁	2a ₂	2a ₃	3a ₁	3a ₂	3a ₃	4a ₁	4a ₂	4a ₃
1	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
2	9.898	9.898	9.145	6.000	4.374	4.831	1.000	9.898	9.898	3.566	3.998	6.938
3	3.700	16.777	3.410	3.200	11.315	1.000	1.000	3.700	0.103	3.426	3.625	3.980
4	3.840	3.840	3.025	8.106	16.777	1.000	1.000	3.840	0.103	3.840	3.955	3.560
5	3.130	0.103	3.846	9.110	4.747	0.177	1.000	3.130	0.103	3.846	3.900	3.010
6	3.890	7.141	1.871	0.103	3.561	3.877	1.000	3.890	3.130	3.920	3.930	3.160
7	3.566	3.566	0.120	0.103	1.737	0.103	1.000	3.566	3.566	3.930	3.477	3.565
8	3.000	0.103	0.006	0.006	0.006	0.006	1.000	3.000	3.000	0.006	0.006	0.006

Tabla IIa. Porcentaje de supervivencia de *Salmonella typhi*
*en Tiempo en días

Repetición	Agua y suelo estéril (1a)	Agua y suelo no estéril (2a)	Agua no estéril y suelo estéril (3a)	Agua estéril y suelo no estéril (4a)
1	23.45	22.97	23.90	23.04
	75.06			
	492.09			
2	23.55	22.58	23.85	23.71
	67.12	117.31		
3	23.77	22.69	23.34	23.20

Tabla IIb. \bar{t}_{50} de *Salmonella typhi*
*tiempo en horas

Año	Año 1927			Año 1928			Año 1929			Año 1930			Año 1931		
	10.	100	1000	10.	100	1000	10.	100	1000	10.	100	1000	10.	100	1000
1927	42.000	49.000	33.500	35.000	17.500	10.300	42.667	39.500	45.100	30.000	21.000	29.000	30.000	21.000	29.000
1928	7.000	7.500	7.500	7.500	7.200	7.100	7.500	7.500	7.500	7.500	7.500	7.500	7.500	7.500	7.500
1929	32.000	42.000	38.000	32.000	14.000	11.000	38.000	40.000	42.000	30.000	22.000	28.000	30.000	22.000	28.000
1930	37.000	38.000	38.000	37.000	37.000	38.000	37.000	37.000	37.000	37.000	37.000	37.000	37.000	37.000	37.000
1931	6.000	6.000	6.000	6.000	6.000	6.000	6.000	6.000	6.000	6.000	6.000	6.000	6.000	6.000	6.000
1932	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000
1933	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000
1934	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000
1935	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000
1936	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000
1937	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000
1938	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000
1939	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000
1940	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000
1941	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000
1942	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000
1943	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000
1944	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000
1945	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000
1946	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000
1947	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000
1948	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000
1949	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000
1950	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000

Tabla V. Valor medio y logaritmo de la cuenta viable de Escherichia coli. por tiempo en días

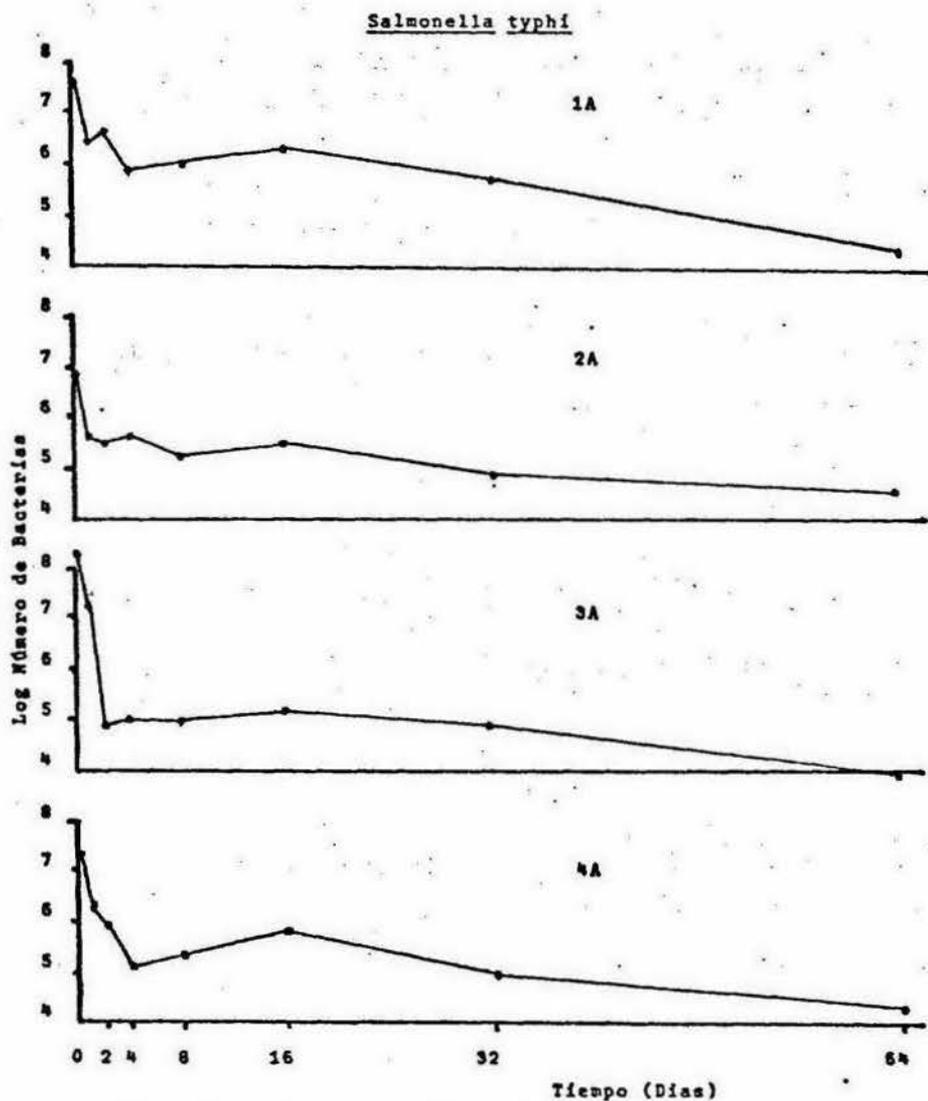


Fig 1. Supervivencia de Salmonella typhi en cuatro tratamientos - diferentes: 1A= agua y suelo estéril; 2A= agua y suelo no estéril; 3A= agua no estéril, suelo estéril; 4A= agua estéril, suelo no estéril.

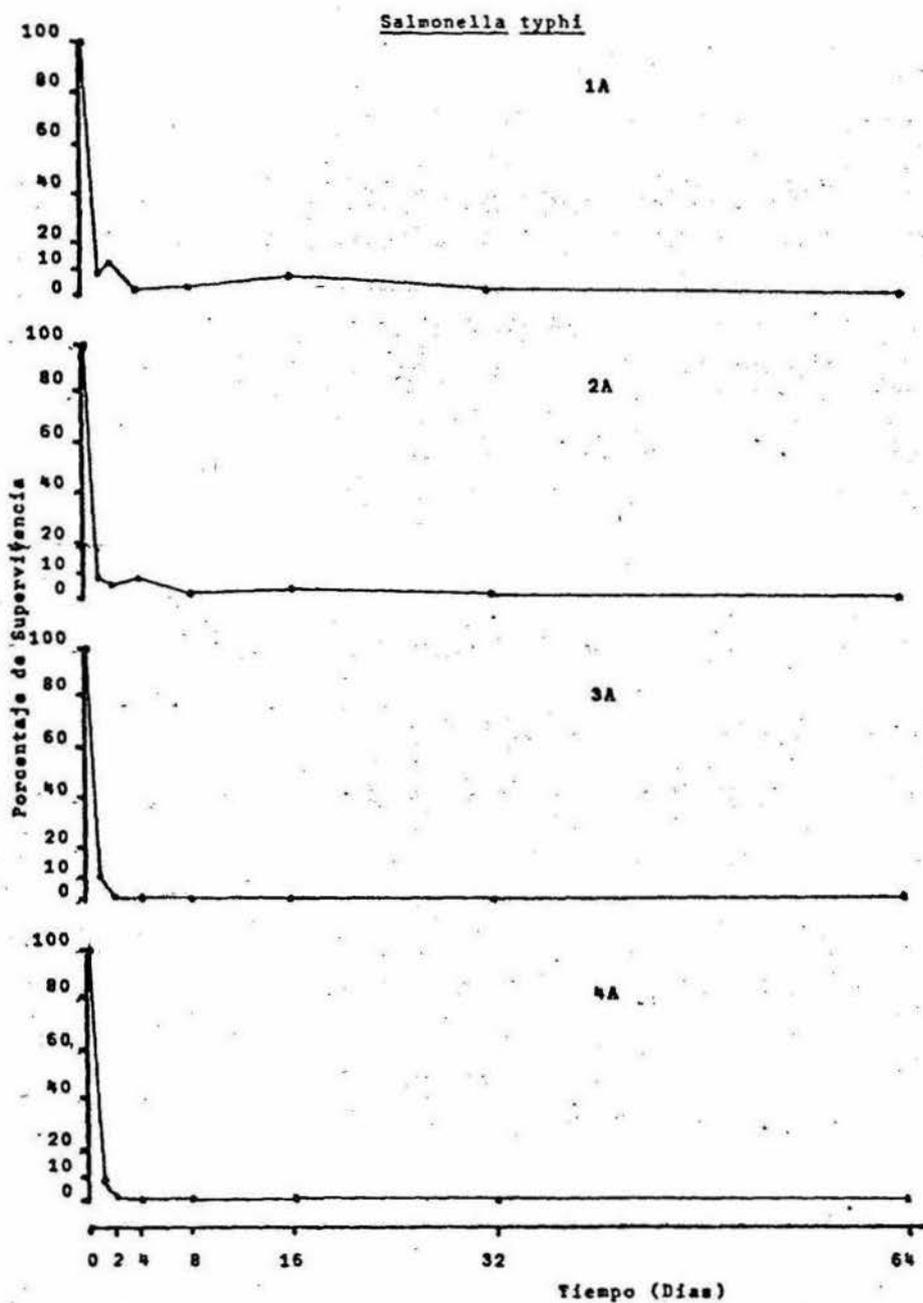


Fig 2. Porcentaje de supervivencia de Salmonella typhi en cuatro tratamientos diferentes: 1A= agua y suelo estéril; 2A= agua y suelo no estéril; 3A= agua no estéril, suelo estéril; 4A= agua estéril, suelo no estéril.

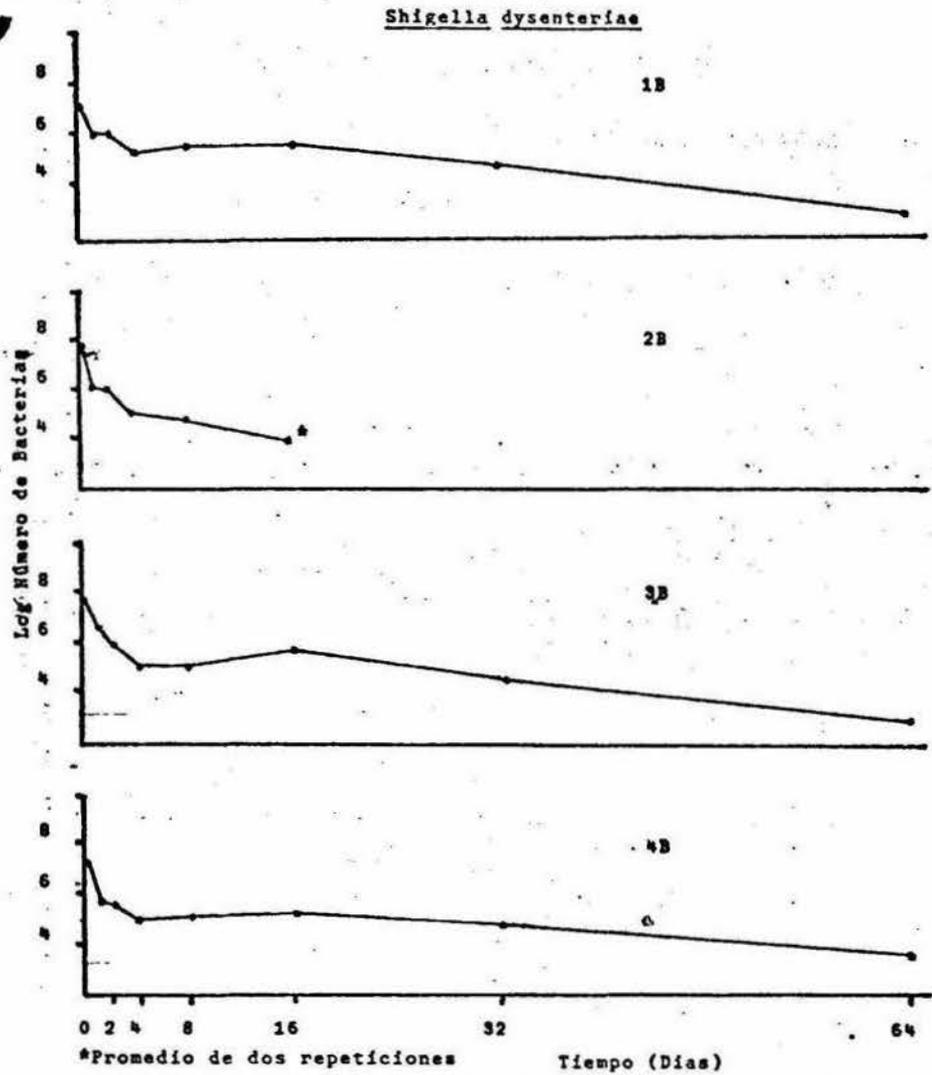


Fig 3. Supervivencia de *Shigella dysenteriae* en cuatro tratamientos diferentes: 1B= agua y suelo estéril; 2B= agua y suelo no estéril; 3B= agua no estéril, suelo estéril; 4B= agua estéril, suelo no estéril.

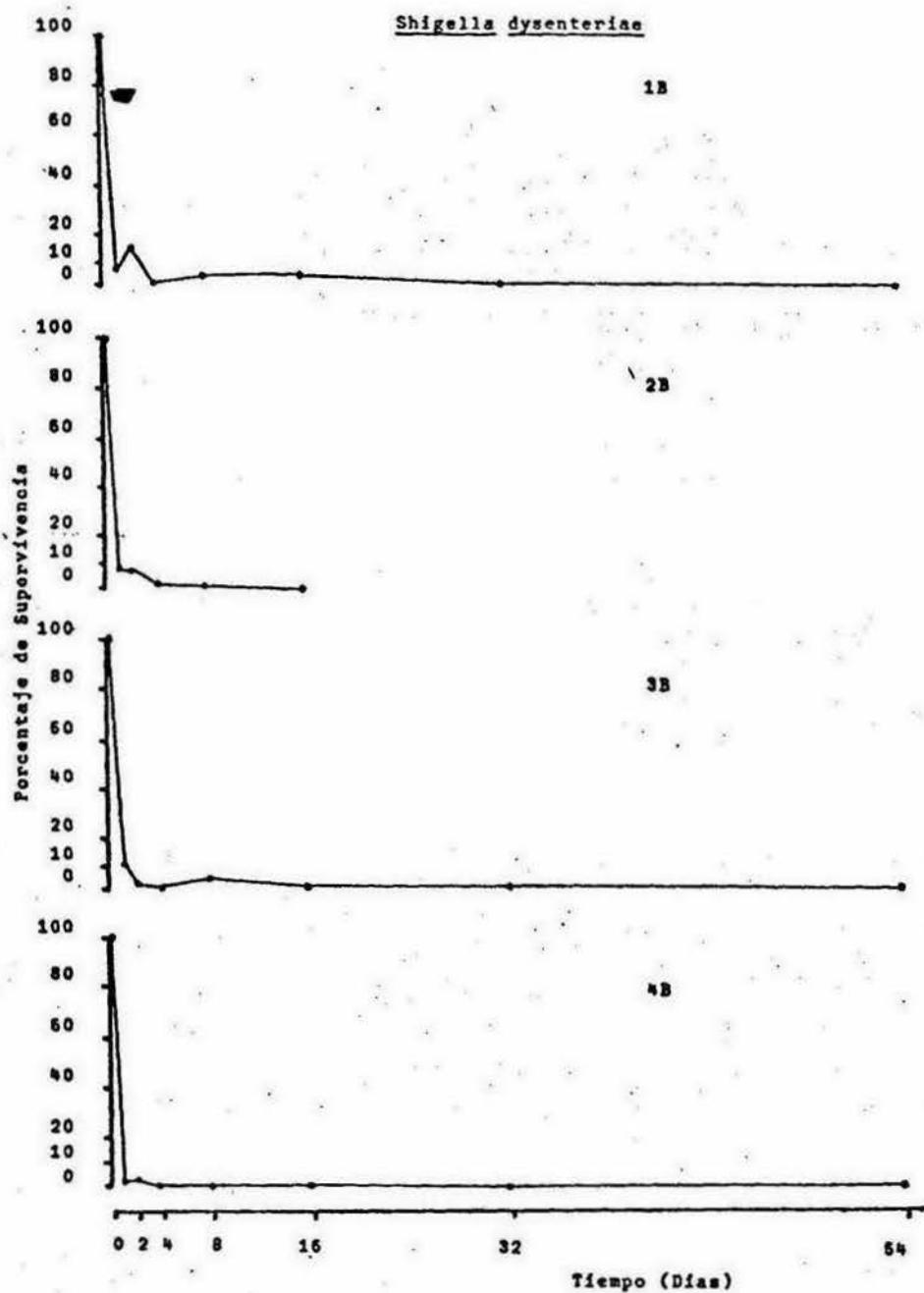


Fig 4. Porcentaje de supervivencia de Shigella dysenteriae en -
 cuatro tratamientos diferentes: 1B= agua y suelo estéril;
 2B= agua y suelo no estéril; 3B= agua no estéril, suelo -
 estéril; 4B= agua estéril, suelo no estéril.

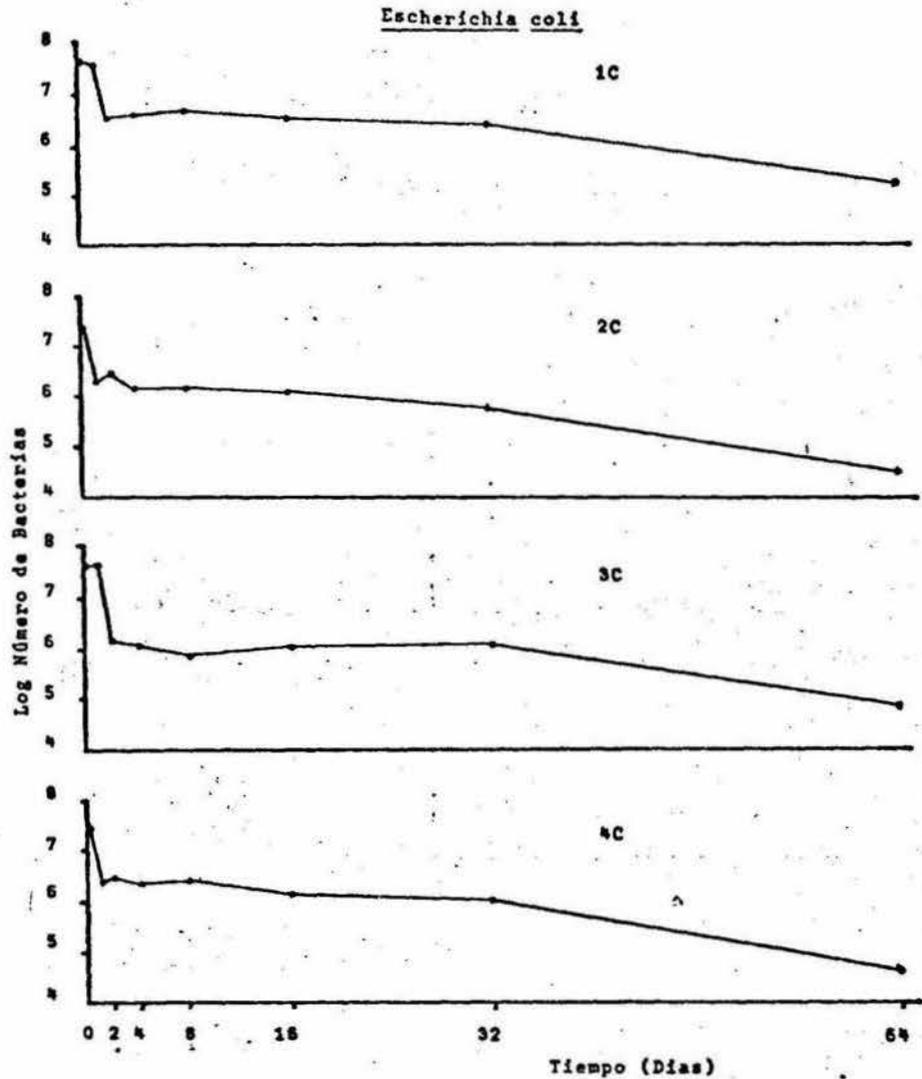


Fig 5. Supervivencia de Escherichia coli en cuatro tratamientos - diferentes: 1C= agua y suelo estéril; 2C= agua y suelo no estéril; 3C= agua no estéril, suelo estéril; 4C= agua estéril, suelo no estéril.

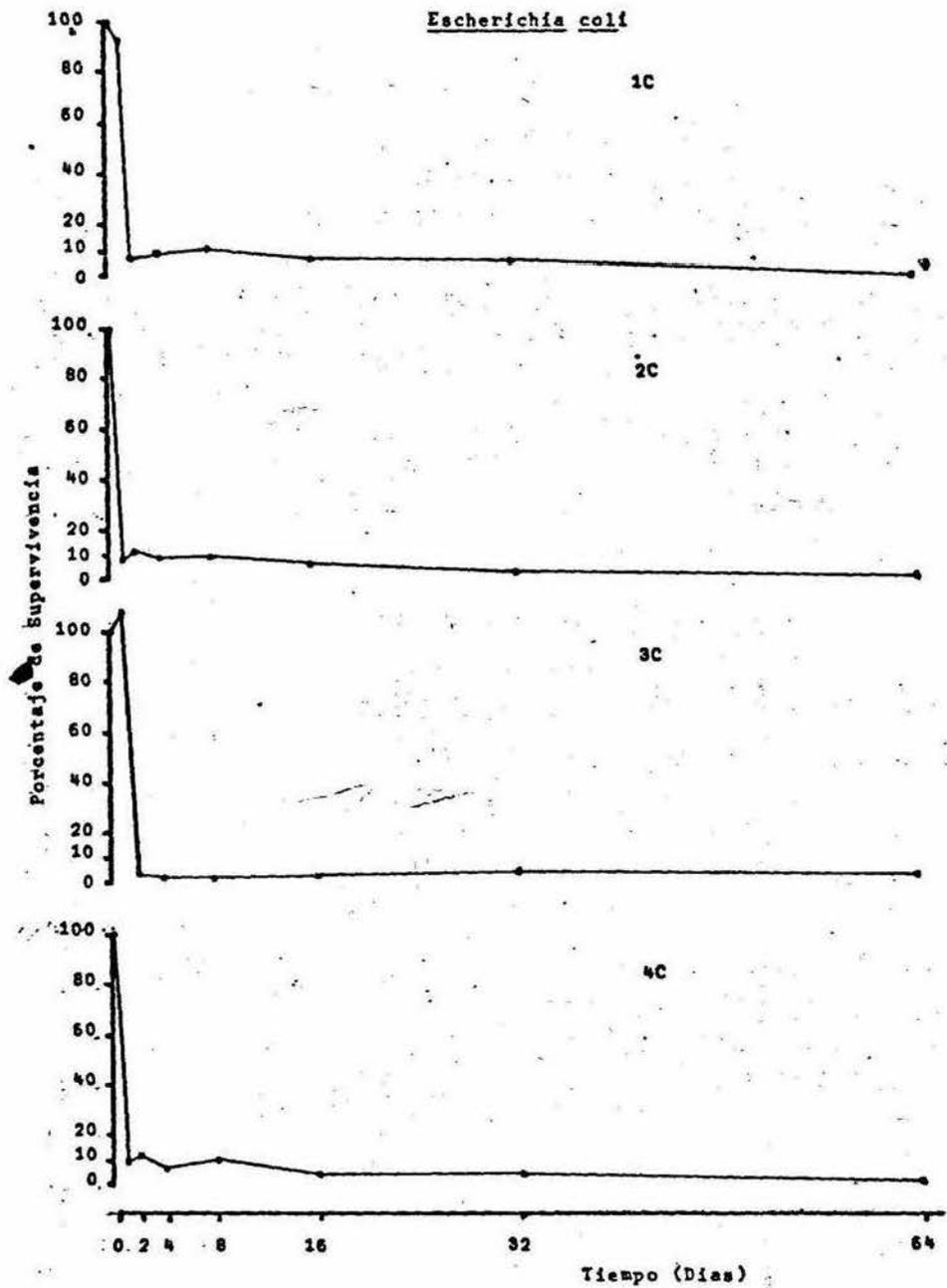


Fig 5. Porcentaje de supervivencia de Escherichia coli en cuatro tratamientos diferentes: 1C= agua y suelo estéril; 2C= -- agua y suelo no estéril; 3C= agua no estéril, suelo estéril; 4C= agua estéril, suelo no estéril.

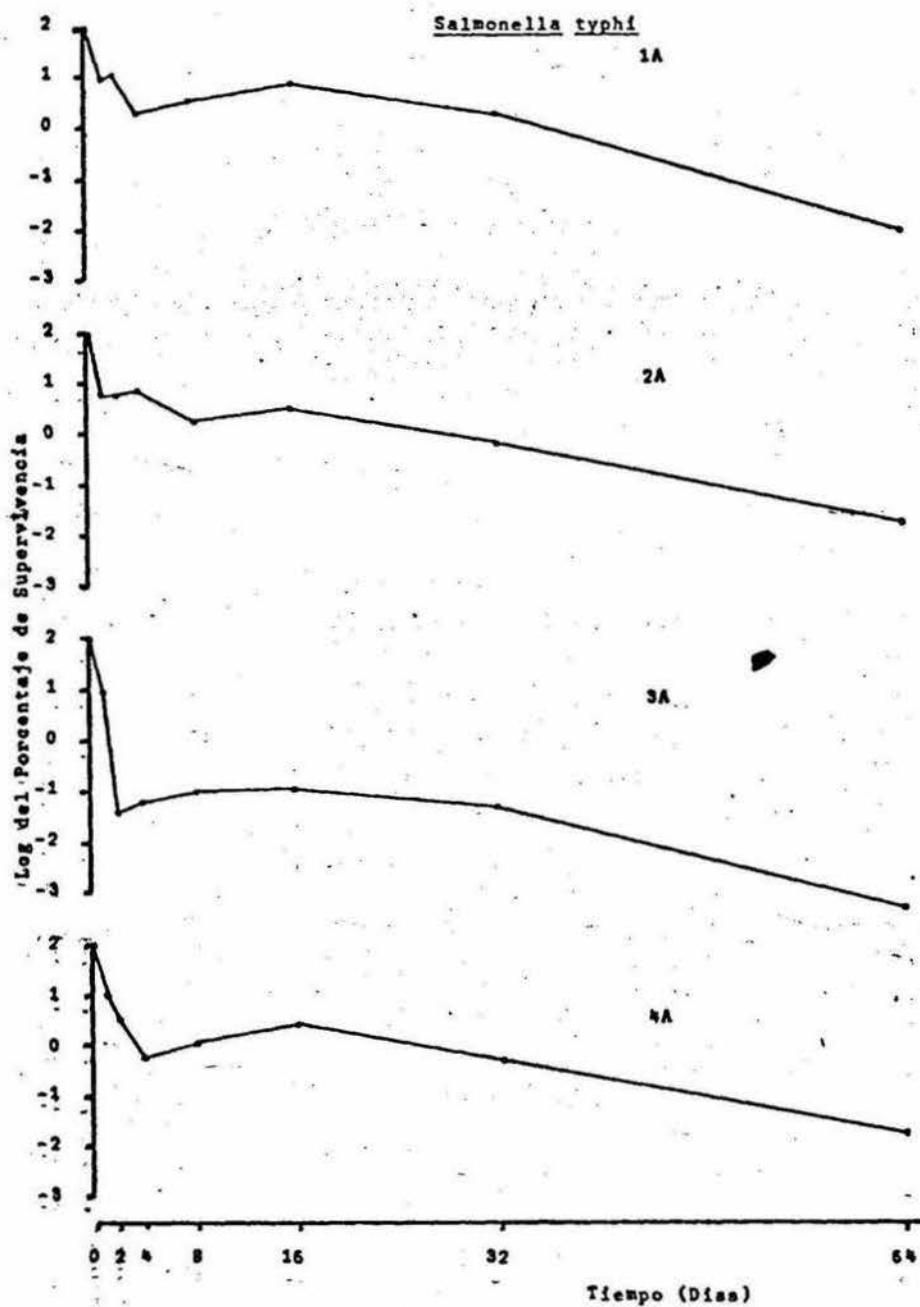


Fig 7. Logaritmo del porcentaje de supervivencia de Salmonella typhi en cuatro tratamientos diferentes: 1A= agua y suelo estéril; 2A= agua y suelo no estéril; 3A= agua no estéril suelo estéril; 4A= agua estéril, suelo no estéril.

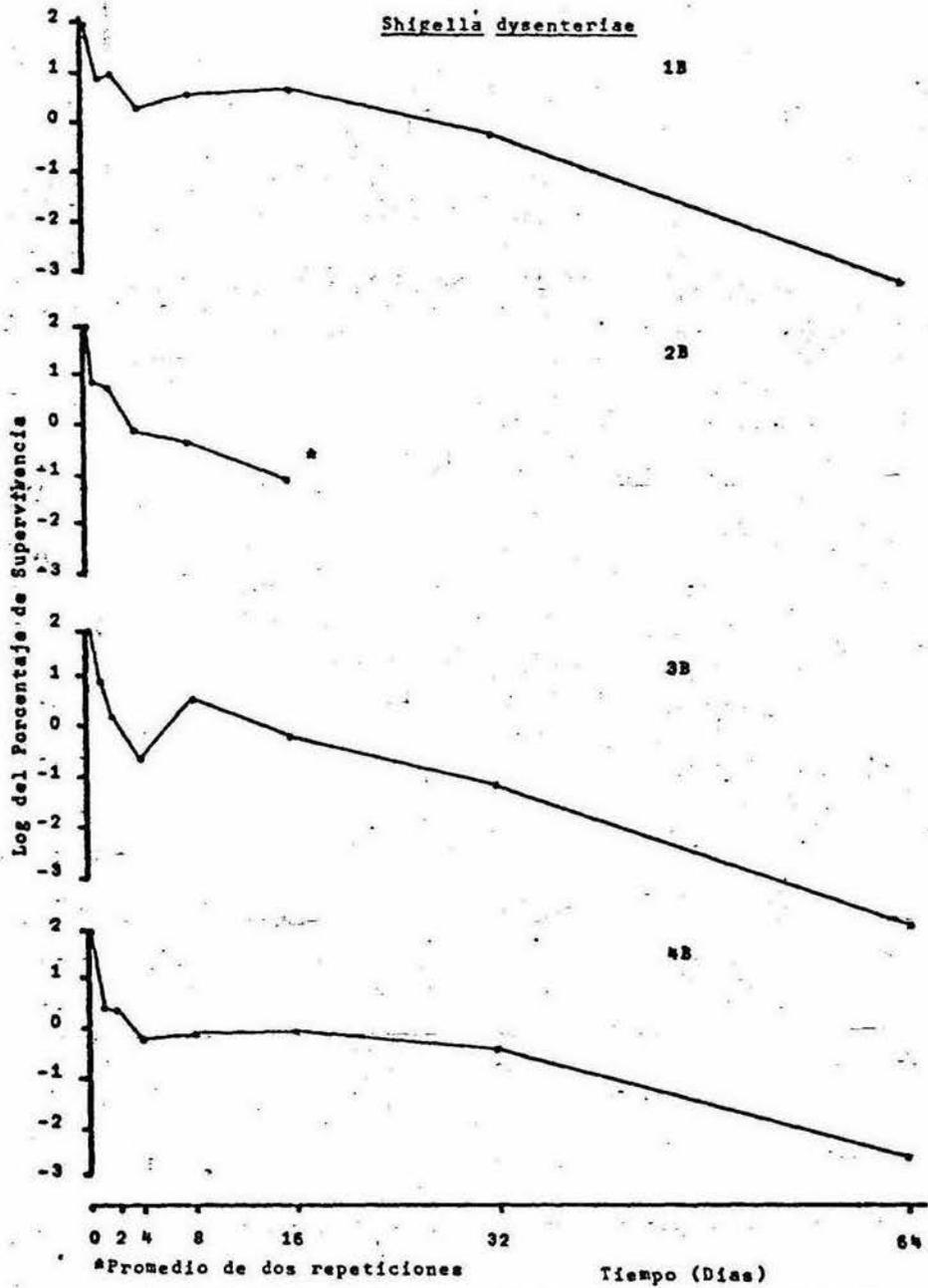


Fig 8. Logaritmo del porcentaje de supervivencia de Shigella -- dysenteriae en cuatro tratamientos diferentes: 1B= agua y suelo estéril; 2B = agua y suelo no estéril; 3B= agua no estéril, suelo estéril; 4B= agua estéril, suelo no estéril.

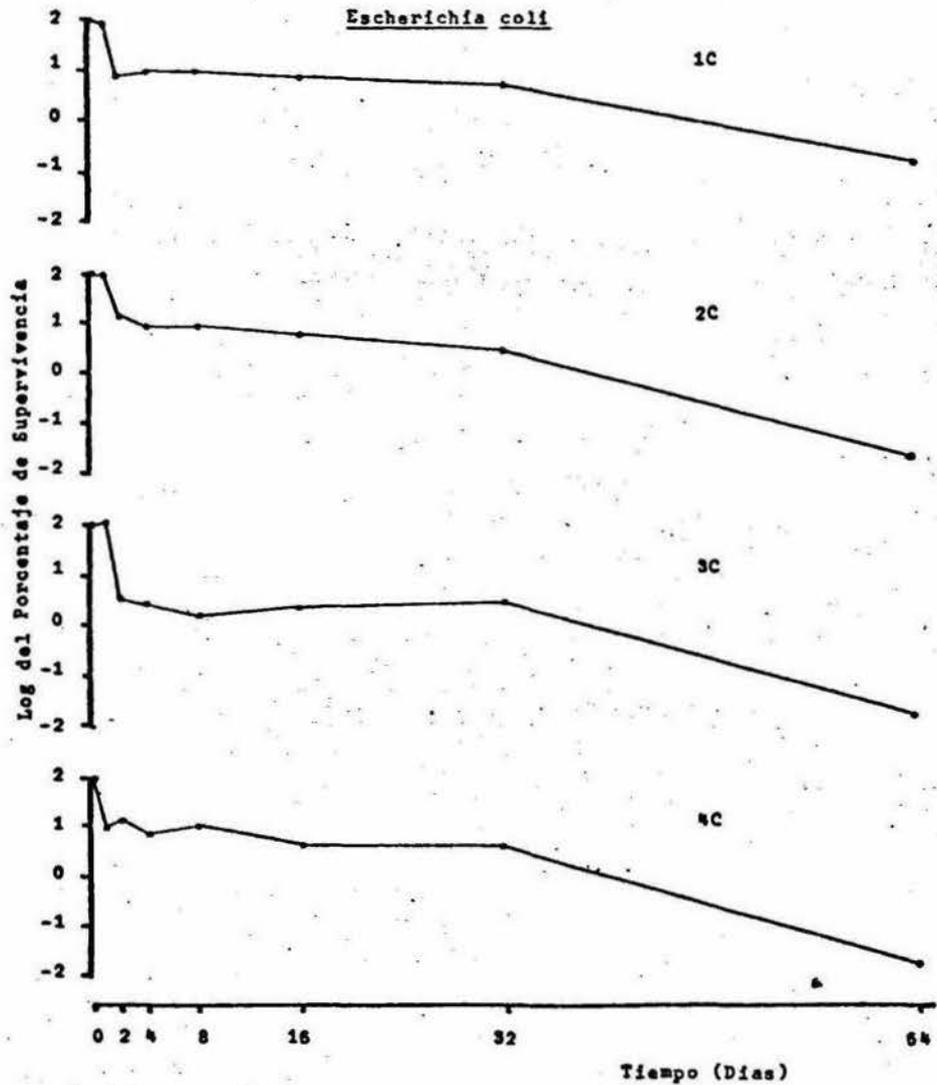


Fig 9. Logaritmo del porcentaje de supervivencia de Escherichia coli en cuatro tratamientos diferentes: 1C= agua y suelo estéril; 2C agua y suelo no estéril; 3C=agua no estéril, suelo estéril y 4C= agua estéril, suelo no estéril.

B						
T	I	II	III	X_i	X^2_i	\bar{X}_i
1a	23.43	23.55	27.76	70.74	5004.147	23.580
2a	22.97	22.58	22.63	68.18	4648.512	22.726
3a	23.89	23.84	23.84	71.57	5122.264	23.856
4a	23.64	23.71	23.20	70.55	4977.302	23.515
X_j	93.93	93.68	93.43	X_j 281.04	19752.227	
X^2_i	8822.8449	8775.9424	8729.1649	26327.952	$X^2_j = 78983.482$	

Análisis de Varianza de los T_{90} de Salmonella typhi

FV	g.l	S.C.	C.M.	Fc
Tratamientos	3	2.118866	0.7062887	15.734115
Bloques	2	0.0312	0.0156	
Error	6	0.269334	0.044889	
Total	11	2.4194		

Con 3 y 6 g.l y $\alpha = 5\%$ $F_t = 8.94$

Tabla de ANOVA número 1

Tratamiento	1a	2a	3a	4a
\bar{X}_i	23.580	22.726	23.856	23.516

DMSH = 0.5993

Comparación	$\bar{X}_i - \bar{X}_j$	Significancia
3a - 4a	0.34	n.s
4a - 2a	0.79	4a > 2a
1a - 4a	0.064	n.s
3a - 2a	1.13	3a > 2a
3a - 1a	0.027	n.s
1a - 2a	0.85	1a > 2a

Prueba de Tukey (Diferencia Mínima Significativa Honesta)

DMSH para Salmonella typhi

B	I	II	III	X_i	X^2_i	\bar{X}_i
1b	22.88	23.46	23.45	69.79	4870.6441	23.2633
2b	23.36	23.35	22.78	69.49	4828.8601	23.1633
3b	23.60	23.94	23.30	70.74	5004.1476	23.5800
4b	22.06	22.15	22.41	65.62	4438.2244	22.2056
X_j	91.90	92.80	91.94	X_i 276.64	19141.9762	
X^2_i	8445.61	8611.84	8452.9636	25510.413	$X^2_i = 76529.6896$	

Análisis de Varianza de los T_{90} de Shigella dysenteriae

FV	g.l	S.C.	C.M.	Fc
Tratamientos	3	3.1513	1.0504	12.02518
Bloques	2	0.1293	0.0646	
Error	6	0.5241	0.0873	
Total	11	3.8047		

Con 3 y 6 g.l y $\alpha = 5\%$ $F_t = 8.94$

Tabla de ANOVA número 2

Tratamiento	1b	2b	b	4b
\bar{X}_i	23.263	23.163	23.580	22.206

DMSH = 0.8361

Comparación	$\bar{X}_i - \bar{X}_j$	Significancia
3b - 4b	1.374	3b > 4b
2b - 4b	0.957	2b > 4b
1b - 2b	0.100	n.s
1b - 4b	1.057	1b > 4b
3b - 2b	0.417	n.s
3b - 1b	0.317	n.s

Prueba de Tukey (Diferencia Mínima Significativa Honesta)
 DMSH para Shigella dysenteriae

B	I	II	III	X_j	X^2_j	\bar{X}_j
1c	46.99	47.28	47.78	142.05	20178.20	47.350
2c	23.93	23.55	23.43	70.91	5014.05	23.602
3c	45.30	47.08	46.50	138.88	19287.65	46.280
4c	23.65	280.06	23.78	327.45	107249.7	109.250
Σ_j	139.77	397.97	141.49	X_j 679.23	151729.61	
X^2_j	19535.653	158380.12	20019.42	197935.19	$X^2_j = 461353.39$	

Análisis de Varianza de los T_{90} de Escherichia coli

FV	g.l	S.C.	C.M.	Fc
Tratamientos	3	12130.421	4043.473	0.74027
Bloques	2	11037.682	5518.841	
Error	6	32772.885	5462.147	
Total	11	55940.988		

Con 3 y 6 g.l $y \alpha = 5\%$ $F_t = 8.94$

Tabla de ANOVA número 3

T		
B	1c	2c
I	46.99	23.83
II	47.28	23.55
III	47.78	23.43
$\sum Y$	142.05	70.81
\bar{Y}	47.35	23.60
$\sum Y^2$	6726.38	1671.43

Análisis de Varianza de tratamientos por separado de los T_{90} de Escherichia coli.
Casos especiales: 2 tratamientos.

FV	g.l	S.C.	C.M.	Fc
Tratamientos	1	845.85	845.85	8458.5
Bloques	2	0.04	0.1	
Total	3	846.25		

Con 1 y 3 g.l $y \alpha = 5\%$ $F_t = 215.7$

Tabla de ANOVA número 4

T	2c	3c
I	23.83	45.30
II	23.55	47.08
III	23.43	46.50
$\sum Y$	70.81	138.88
\bar{Y}	23.60	46.25
$\sum Y^2$	1671.43	6430.36

Análisis de Varianza de tratamientos por separado de los T_{90} de Escherichia coli.

Casos especiales: 2 tratamientos.

FV	g.l	S.C.	C.M.	Fc
Tratamientos	1	772.26	772.26	1795.9
Bloques	2	1.72	0.43	
Total	3.	773.98		

Con 1 y 3 g.l y $\alpha = 5\%$ $F_t = 215.7$

Tabla de ANOVA número 5

T	3c	4c
I	45.30	23.65
II	42.08	230.06
III	46.50	23.78
ΣY	138.88	327.45
\bar{Y}	46.29	109.16
ΣY^2	6430.86	79558.41

Análisis de Varianza de tratamientos por separado de los T_{90} de Escherichia coli.

Casos especiales: 2 tratamientos.

FV	g.l	S.C.	C.M.	Fc
Tratamientos	1	5928.95	5928.95	0.5413
Bloques	2	43810.21	10952.55	
Total	3	49739.16		

Con 1 y 3 g.l $y \alpha = 5\%$ $F_t = 215.7$

Tabla de ANOVA número 6

T	2c	4c
I	23.83	23.65
II	23.55	280.06
III	23.43	23.78
ΣY	70.81	327.49
\bar{Y}	23.60	109.16
ΣY^2	1671.43	79558.41

Análisis de Varianza de tratamientos por separado de los T_{90} de Escherichia coli.

Casos especiales: 2 tratamientos.

FV	g.l	S.C.	C.M.	Fc
Tratamientos	1	10980.77	10980.77	1.0026
Bloques	2	43808.59	10952.14	
Total	3	54789.36		

Con 1 y 3 g.l y $\alpha = 5\%$ $F_t = 215.7$

Tabla de ANOVA número 7

T	1c	3c
I	46.99	45.30
II	47.28	42.03
III	47.78	46.50
$\sum Y$	142.05	138.88
\bar{Y}	47.35	46.29
$\sum Y^2$	6726.38	6430.86

Análisis de Varianza de tratamientos por separado de los N_{90} de Escherichia coli.

Casos especiales: 2 tratamientos.

FV	g.l	S.C.	C.M.	Fc
Tratamientos	1	1.67	1.67	3.408
Bloques	2	1.96	0.49	
Total	3	3.63		

Con 1 y 3 g.l $y \alpha = 5\%$ $F_t = 215.7$

Tabla de ANOVA número 8

T	1c	4c
I	46.99	23.65
II	47.28	280.06
III	47.78	23.78
ΣY	142.05	327.49
\bar{Y}	47.35	109.16
ΣY^2	6726.38	79558.41

Análisis de Varianza de tratamientos por separado de los
 T_{90} de Escherichia coli.

Casos especiales: 2 tratamientos.

FV	g.l	S.C.	C.M.	Fc
Tratamientos	1	5731.33	5731.33	0.523
Bloques	2	43808.83	10952.208	
Total	3	49540.16		

Con 1 y 3 g.l y $\alpha = 5\%$ $F_t = 215.7$

Tabla de ANOVA número 9

D I S C U S S I O N

El intercambio catiónico del suelo estudiado fue muy aproximado a los valores reportados en la bibliografía para este tipo de suelo (Millar et al. 1975). Uno de los aspectos más importantes de estos valores es el favorecer las condiciones fermentativas de los microorganismos facultativos y, además, este hecho tiene una relación íntima con el pH ligeramente ácido encontrando en el suelo de cultivo. Esto también está asociado con la cantidad de materia orgánica presente, ya que aunque en baja proporción es utilizada por la microflora presente. La humedad encontrada en el momento del análisis, favorece el intercambio catiónico y de esta forma estimula el proceso fermentativo.

La gran cantidad de arcilla contenida en el suelo favorece el mantenimiento de un pH adecuado para la vida aerobiana ya que las arcillas presentan una amplia capacidad de intercambiar los cationes básicos por hidrógeno, proporcionando de esta forma un intercambio catiónico facultativo, pero que estimula al proceso respiratorio de los microorganismos del suelo (Stotzky, 1974).

El análisis fisicoquímico del agua muestra que hay, en el momento de este estudio, una baja actividad ficótica en la laguna de estabilización, esto se infiere con base en el contenido de CO_2 , fósforo total y ortofosfatos, que de ser superior su actividad deberían ser menos abundantes (Pipes, 1961; Moeller y Calkins, 1980).

Por otra parte, es importante notar que debe existir una alta degradación de materia orgánica por parte de bacterias heterotróficas puesto que el nivel de CO_2 y amoníaco son altos, mientras que la cantidad de nitratos es reducida. Sin embargo la DBO_5 muestra que a pesar de esta actividad bacteriana la carga orgánica en el efluente sólo alcanza los niveles normales de degradación en estos sistemas.

Un hecho que resulta un tanto sorprendente es la presencia de un índice inferior a 2.0×10^6 coliformes totales y fecales por 100 ml en el efluente de la laguna de estabilización, porque el funcionamiento de ésta era muy reciente, por lo que la depuración fue sorprendentemente rápida, sobre todo por los datos reportados por Ahmed et al. 1976, que trabajaron en una laguna de oxidación que estaba en funcionamiento 4 años antes de su estudio y cuyos resultados muestran un NMP del orden de 26×10^6 coliformes totales por 100 ml y 1.4×10^6 coliformes fecales por 100 ml en los mismos meses en que se efectuó el trabajo (enero - febrero).

Con respecto a los resultados de este mismo autor, el NMP de estreptococos fecales es muy alto, que que éstos reportan 3.22×10^5 por 100 ml como número máximo en los meses de enero - febrero.

No obstante estos resultados, se pueden interpretar en función a las diferencias en el diseño de los estan-

de estabilización y a las condiciones ambientales -- que prevalecen en cada país.

Sin embargo, pudimos constatar que la presencia de la especie Salmonella typhi en el efluente de la laguna de estabilización, es acorde con los resultados obtenidos en el presente trabajo y con los reportados por Geldreich y Bordner (1971) y Ahmed et al. (1976), quienes indican -- que una concentración mayor o igual a 1×10^3 coliformes fecales por 100 ml proporciona una incidencia de un 100% de aislamientos de Salmonella typhi.

En este trabajo encontramos que en el efluente de la laguna de estabilización en donde se encuentra una mayor incidencia de bacterias patógenas, como es el caso de Escherichia coli que se encuentran asociadas a diarreas infantiles, infecciones del tracto urinario o fiebres generalizadas; Shigella dysenteriae que es causante de disentería bacteriana o gastroenteritis; Proteus sp. que se encuentra asociada a trastornos de las vías urinarias y ocasionalmente provoca enteritis y Klebsiella sp. que habitualmente se asocia con la fijación de nitrógeno, pero -- puede causar neumonía; siendo éstas las más importantes -- en este renglón (Brock, 1978).

En el suelo, la incidencia de algunas de estas bacterias fue menor y muy probablemente se deba a la contaminación por el agua del efluente, por el rocío ocasionado -- por el viento o por animales como roedores, insectos o --

por el hombre mismo (Van Dosel, Geldreich y Clark, 1976).

La mayor parte de los estudios de supervivencia de las bacterias entéricas en suelo han sido realizados con este medio en condiciones de esterilidad, ya que bajo estas circunstancias se presenta una mayor facilidad de manejo (Klein y Casida, 1967; Kibbey, 1978; Tate III, 1978). Sin embargo, los ensayos en suelos sin esterilizar tienen mayor aplicabilidad porque hay una reproducción más fidedigna de las condiciones naturales.

En este trabajo, no sólo se tomó en consideración la condición estéril o no estéril del suelo, sino también la del agua del efluente de la laguna de estabilización con que fueron regados los suelos experimentales (ver material y métodos).

Es importante mencionar que no hay reportes del tiempo de supervivencia de bacterias en suelos regados con aguas de lagunas de estabilización. La mayor parte de estudios han sido enfocados a la supervivencia de bacterias en suelos regados con desechos de granjas porcinas (Chandler y Craven, 1978 y 1980), suelos regados con estiércol de vaca (Dazzo et al. 1973) o con efluentes de tanques sépticos en terrenos arenosos (Parker y Mee, 1982). No obstante se han podido observar algunas similitudes que posteriormente serán discutidas.

Es muy probable que uno de los factores que tienen mayor influencia en la rápida disminución de las poblacio

nes bacterianas es su estado fisiológico en el momento -- del inóculo en el suelo. Es razonable pensar que estos -- microorganismos deban cambiar su sistema metabólico hacia una vía alterna a la del carbono; porque este elemento en el suelo es poco accesible y presenta una amplia demanda.

Se ha podido comprobar que Escherichia coli puede desarrollarse y mantener su población estable por un periodo de 8 a 10 días si previamente se agrega 0.6% de glucosa al suelo, pero si este medio no es enriquecido hay una brusca disminución de la población a razón de un logaritmo por día, aun en condiciones de esterilidad (Chandler y Craven, 1978).

En los lotes experimentales no hay enriquecimiento de tipo alguno y se puede comprobar el hecho anterior. En el 95% de los casos existe una marcada disminución de la población en los tiempos iniciales y es de aproximadamente un logaritmo por día; lo cual reafirma la aseveración anterior.

La utilización de una vía alterna a la del carbono es muy razonable. La vía mas idónea en este caso es la de los compuestos nitrogenados, por su amplia distribución -- tanto en el agua del efluente como en el suelo, además -- por su facilidad de asimilación en el medio terrestre. -- Con respecto a este elemento sí existe competitividad con la microflora autóctona (Chandler y Craven, 1978).

Esto puede explicar en gran medida algunos de los fe

nómenos de recrecimiento observados después de los tiempos iniciales y la estabilidad que hay con respecto al avance del tiempo, aun en los suelos no estériles.

Con respecto a los tiempos de supervivencia que han sido reportados en la bibliografía en diferentes ambientes, hay una gran discrepancia. Paoletti en 1980 reporta un T_{90} de una hora 32 minutos para Salmonella sp. en agua de mar expuesta a luz solar y un T_{90} de 3 horas 50 minutos en condiciones experimentales. Chandler y Craven (1980), reportan un T_{90} que va desde 1.6 días hasta 3.8 días en cuatro tipos de suelo con un 90% de materia seca. Parker y Mee (1982) reportan el T_{90} de Salmonella adelaidae de efluentes de tanques sépticos en 2 tipos de suelos arenosos y oscilan entre 18.5 días y 46.5 días para un tipo de suelo y 12.5 días para el segundo. Dazzo et al. (1973), reportan un T_{90} de 6.0 días para Salmonella enteritidis en suelos abonados con estiércol de vaca.

En este trabajo reportamos para Salmonella typhi un T_{90} que va desde 22.58 horas hasta 492.09 horas, en suelo y agua estéril donde se presenta con mayor frecuencia el fenómeno de recrecimiento y es hasta por tres ocasiones en una sola repetición.

Esto se puede deber al hecho de que todos los nutrientes presentes en el suelo están a disposición de este único microorganismo y que además el proceso de esterilización por autoclaveado, proporciona al medio una mayor

cantidad de materia orgánica (Chandler y Craven, 1980). - Esto no quiere decir que necesariamente la población aumente de tamaño, pero sí puede influir de una manera favorable en su mantenimiento.

En suelo y agua no estéril (tratamiento 2A) se alcanza más rápidamente el T_{90} : no obstante, puede notarse un ligero recrecimiento. En este tratamiento es razonable esperar una mayor y constante disminución en la población bacteriana, sin embargo, esto no sucede. Este hecho puede ser influenciado por las siguientes razones: El suelo secado al aire ocasionó que los protozoarios presentes en él enquistaran, por lo que debió pasar algún tiempo para que pasaran a su forma vegetativa, además, las bacterias que no son capaces de formar espora debieron morir en su mayoría, si no es que en su totalidad, a causa de la desecación y exposición a temperatura y efectos de la radiación solar (Moeller y Calkins, 1980): los protozoarios provenientes del agua aun en su forma vegetativa -- tuvieron una fuente de bacterias bastante amplia, esto es, la que proviene del agua del efluente de la laguna y la población experimental. Esto pudo favorecer a la población experimental ya que la probabilidad de ser depredada disminuyó en proporción a las bacterias presentes en el agua. Esto pudo proporcionar una relativa estabilidad de Salmonella typhi en est suelo.

En el tratamiento 3A hay una disminución más pronun

ciada en los tiempos finales. Esto pudiera ser explicado por la incapacidad de Salmonella typhi para competir por los nutrientes existentes en el suelo con respecto a los microorganismos del agua y por lo tanto, sus duplicaciones serían más lentas y más evidente la disminución de la población por efectos de la depredación.

Finalmente en el tratamiento 4A se nota una disminución paulatina hasta el tiempo 4, a partir de éste surge un recrecimiento, la disminución se debe al proceso típico de adaptación y a los efectos ocasionados por la depredación. Sin embargo, existe disponibilidad de materia orgánica proveniente del agua esterilizada y como consecuencia hay un recrecimiento. Esto pudo ocasionar de igual forma, el aumento de la población de protozoarios quienes pueden ser responsables junto con el agotamiento de nutrientes disponibles, de la caída de la población bacteriana.

El análisis estadístico practicado para Salmonella typhi reveló una diferencia significativa a un nivel del 95% de confianza; y por la prueba de Tukey encontramos -- que el tratamiento del que se obtiene la mayor eficacia teórica es el trabajado en condiciones naturales, esto es, agua de la laguna y suelos no estériles. Esto de ninguna manera indica que hay una desaparición total de la bacteria en el suelo, pero sí que el riesgo de infección disminuye rápidamente y en poco tiempo, aunque la población -- pueda estabilizarse en el transcurso del tiempo.

El reporte que tiene mayor semejanza con nuestro trabajo en relación a Salmonella typhi es el publicado por Dazzo et al. (1973), quien encuentra un T_{90} de 6.0 días. Este autor toma muestras semanales para su análisis de su pervivencia, hecho que elimina las fluctuaciones que se presentan en los tiempos iniciales y que sí son reportados por Parker y Mee (1982). En este trabajo también son considerados estos altibajos iniciales y a este hecho se atribuye un T_{90} en tan corto periodo de tiempo. Al analizar los datos en la misma forma que Dazzo y et al., el T_{90} para este trabajo sería de 7.84 días, valor más cercano que los anteriormente reportados y que podrían indicar que hasta cierta forma existe una correlación entre el tiempo en que se alcanza el T_{90} en diferentes tipos de suelo, aun en diferentes condiciones experimentales.

El comportamiento en la supervivencia de Shigella dysenteriae debe ser considerado de una manera muy particular.

En ningún trabajo de supervivencia en suelo ha sido considerada como organismo experimental pese a la gran importancia que presenta en salud pública. Katznelson et al. (1976), en un estudio epidemiológico en Israel, muestran cifras realmente alarmantes sobre la incidencia de shigelosis en trabajadores que utilizan efluentes de lagunas de estabilización para riego, rebasando en forma por demás amplia a todas las enfermedades entéricas más comu-

nes.

Este hecho puede ser explicado desde algunos puntos de vista: El género Shigella es patógeno exclusivo del -- hombre y algunos primates; puede permanecer varios días -- viable en ropas sucias o aparentemente limpias; en agua -- dulce se ha reportado hasta 6 meses de supervivencia y en agua de mar de dos a cinco meses (Smith et al. 1971).

En este reporte encontramos que para la bacteria Shigella dysenteriae, la supervivencia del 10% de la pobla-- ción osciló entre 22.06 y 427.41 horas, esto último se ob-- servó en condiciones de esterilidad.

La oscilación de este organismo en los cuatro trata-- mientos es muy similar a las observadas en Salmonella -- typhi y quizá todos los factores que planteamos para esta última también influyan en Shigella dysenteriae. Sin em-- bargo, aquí ocurrió un detalle digno de analizar con ma-- yor detenimiento.

En el tratamiento 2B hay una desaparición total de -- la población de Shigella dysenteriae. Esta extinción ocu-- rre prematuramente sin presentarse en ningún momento el -- fenómeno de recrecimiento. Desde el punto de vista de sa-- lud pública, esto tiene grandes ventajas ya que se reduce en gran medida el riesgo de contaminación.

Sin embargo, se debe tomar en consideración que este trabajo se realizó con algunas variables controladas como son temperatura, luz y humedad. Esto no es posible en con

diciones naturales y no puede ser extrapolado al ambiente natural porque ahí no pueden ser controlados los parámetros antes mencionados, ni otros que tienen una gran importancia como son la diseminación por viento, insectos, roedores o por el mismo hombre.

Sin embargo, estas condiciones "ideales" pueden dar una idea de la dinámica de disminución bacteriana en este medio y son dignas de ser tomadas en consideración.

A pesar del hecho de existir una desaparición total de bacterias en el tratamiento 2B, no es este el que tiene mayor significado desde el punto de vista estadístico puesto que el tratamiento 4B es el que alcanza más rápidamente el T_{90} .

De esto se desprende la necesidad de valorar qué resultado es más valioso; si el análisis estadístico o los resultados observados. Sin duda cualquier persona se inclinaría por los resultados observados porque realmente es lo que se busca y son extremadamente evidentes.

Escherichia coli ha sido el organismo de experimentación por excelencia en muchos trabajos científicos.

En algunos trabajos de aplicación sanitaria se han empleado a bacterias coliformes como indicadores de contaminación (Dazzo et al. 1973; Mc Canbridge y Mc. Meekin, 1981). Escherichia coli está considerada en este grupo.

Se ha tomado a E. coli como indicador de contaminación fecal de aguas subterráneas (Reneau y Petty, 1975; -

Reneau et al. 1975; Hagedorn et al. 1973), como indicador de contaminación fecal en alta montaña (Temple et al. 1980) y como y como hospedador de bacterias parásitas (Klein y Casida, 1967; Varon y Shilo, 1968).

Aquí es considerado como organismo indicador de contaminación fecal del suelo, sin olvidar la importancia -- que tiene en salud pública.

En el trabajo experimental se encuentra mucha similitud en el número de bacterias recuperadas en cada una de las repeticiones de los cuatro tratamientos. Chandler y Craven (1980), reportan que el número de bacterias recuperadas en varias repeticiones del experimento bajo condiciones similares tiene el mismo comportamiento.

El trabajo publicado por Dazzo et al. (1973), reporta un T_{90} de 4.0 días para coliformes fecales en suelos arenosos sin previa irrigación de estiércol de vaca. Chandler y Craven (1978) notaron una disminución del 90% de la población de Escherichia coli en 24 horas si el suelo no es regado con aguas de desecho de una granja porcina. Bell (1976), encontró una reducción mayor del 99.8% de coliformes fecales en alfalfa regada con aguas de desecho -- en 24 horas.

En este trabajo se encontraron valores de T_{90} que -- van desde 23.43 horas hasta 358.0 horas. Este último dato se presenta por el fenómeno de recrecimiento. Por otra -- parte hay similitud en el valor T_{90} de los tratamientos -- 1 y 3C y entre 2 y 4C.

De acuerdo al análisis de varianza, estas semejanzas son producidas al azar. Sin embargo con un análisis más fino se encuentra diferencia estadísticamente significativa al confrontar el tratamiento 2 contra el 1 y 3C, demostrando que no interviene el azar (casos especiales de dos tratamientos, tablas de ANOVA 4 y 5). Además, se observa la eficacia del tratamiento 2C en la reducción de la población bacteriana.

La reducción de la población de Escherichia coli en los tiempos iniciales puede ocurrir por su estado fisiológico, aunque se opina que este factor no es determinante para este organismo (Chandler y Craven, 1980).

En los dos tratamientos que presentan disminución de la población en los tiempos iniciales, hay un recrecimiento posterior y a continuación una estabilización; esto sucede en todos los tratamientos a partir del cuarto día. La estabilización de la población la atribuimos a los efectos de la esterilización del agua del efluente y del suelo. Se ha probado que la esterilización del suelo o del agua elimina los componentes antagónicos de estos medios (Mitchell, 1971; Tate III, 1978; Chandler y Craven, 1980). En el caso de agua y/o suelo no estéril, la explicación idónea se relaciona con el uso de la vía metabólica alterna del nitrógeno (Klein y Casida, 1967).

Controlar la humedad, ajustándola a concentraciones muy cercanas a la encontrada en el suelo, favorece la per

presencia de este microorganismo. Los suelos con grandes cantidades de agua (saturación), aceleran la muerte de E. coli, esto se atribuye a que los nutrientes se diluyen y tan bajas concentraciones sólo pueden ser aprovechadas por la microflora autóctona (Chandler y Craven, 1980).

En el suelo la depredación es disminuida por la presencia de arcillas, separando en forma mecánica al depredador de la presa (Chandler y Craven, 1980). En el caso específico de E. coli y Bdellovibrio bacteriovorus, esta interacción es afectada por los iones calcio, hidrógeno, magnesio y productos quelantes como el E.D.T.A. quienes impiden el proceso de penetración del parásito a la célula hospedadora (Varon y Shilo, 1968). Suponemos que de estar presente B. bacteriovorus en el agua del afluente puede verse afectada por estos factores. Descartamos la posibilidad de que se encuentre en los suelos trabajados por el proceso de secado que le fue practicado, aunque puede encontrarse en el suelo natural ya que ha sido reportado en suelos cercanos a plantas de tratamientos de agua (Molina y Casida, 1967) y aun en lodos activados (Dias y Bhat, 1965).

En términos generales, encontramos que los tratamientos en condiciones de no esterilidad fueron los más eficientes para eliminar el 90% de las bacterias del suelo, aunque en todos los casos, la supervivencia se extendió más del tiempo experimental planteado (excepto en un caso)

y se teme que puedan sobrevivir tiempos tan amplios como los expresados por Temple et al. (1980). De seguir la misma cinética de remoción, pensamos que podrían encontrarse bacterias viables por un período de unos 128 días.

Sin embargo, la desaparición del 90% de la población bacteriana (T_{90}), la hemos atribuido a los siguientes factores:

Depredación por poblaciones de protozoarios, tanto del agua como del suelo (Tate III, 1978; Bryant et al. 1982). Presencia de compuestos antagónicos como cloro residual, detergentes y productos antibióticos (Pipes, 1961; Mitchell, 1971; Paoletti, 1972).

Baja capacidad para competir por nutrientes (Chandler y Craven, 1978 y 1980).

Composición fisicoquímica del suelo (Stotky, 1974; Crane et al. 1980; Temple et al. 1980)

Estado fisiológico de la bacteria en el momento de su inoculación en el suelo (Klein y Casida, 1967; Chandler y Craven, 1978 y 1980).

El análisis del tiempo de supervivencia varía de acuerdo con el autor, el ambiente trabajado y las condiciones experimentales particulares. El T_{90} relativo para cada autor se modifica de acuerdo con el tiempo de recuperación y gráfica que se aplica a los resultados.

En este trabajo se pudo notar que el T_{90} relativo para las bacterias experimentales se obtiene a partir de

la pendiente de los puntos entre los cuales se encuentra el 90% de reducción de la población y se comprueban en -- una forma muy aproximada en las gráficas del porcentaje - de supervivencia (figs 2,4 y 6).

Sin embargo, el logaritmo del porcentaje de supervivencia proporciona gráficos iguales a los gráficos del logaritmo de supervivientes con respecto al tiempo, pero -- los primeros magnifican las observaciones (compare las figuras 1,3 y 4 con las figuras 7,8 y 9).

Este último método gráfico puede ser empleado cómodamente en este tipo de trabajos con las siguientes ventajas:

Magnifica los cambios que se presentan entre un punto y -- otro, favorece la interpretación del comportamiento bacteriano y reduce el trabajo de análisis.

C O N C L U S I O N

La alta proporción de arcilla presentes en suelo proporciona un constante intercambio catiónico, esto favorece la condición fermentativa de los microorganismos facultativos como Escherichia coli, Salmonella typhi y Shigella dysenteriae proporcionando la estabilidad del número de bacterias supervivientes.

La mayor incidencia de bacterias patógenas se aislaron en el efluente de la laguna de estabilización, esto puede representar un riesgo sanitario potencial.

Los resultados del NMP para coliformes totales, fecales y estreptococos fecales están sujetos a discusión ya que son poco frecuentes, y a la vez antagónicos.

Los resultados presentados aquí muestran "condiciones ideales", por lo que en el medio natural se encontrarán gran cantidad de parámetros desfavorables para las bacterias (luz, presión, temperatura, humedad, etcétera).

Los valores de T_{90} reportados en la bibliografía cambian de acuerdo con el tipo de efluente y el suelo estudiado. En este trabajo el tiempo de reducción del 90% de la población bacteriana (T_{90}) nunca rebasó un tiempo promedio de 48 horas.

El fenómeno de recrecimiento ocasionó que se presentara más de un T_{90} . El valor máximo observado fue de 427.21 hrs (17 días, 19 horas y 11 min).

El tratamiento con mayor eficiencia en la reducción de las poblaciones bacterianas, con respecto al factor --

T₉₀, fue aquel que no presentó ninguna condición de esterilidad.

La supervivencia de los organismos de ensayo se extendió más allá del tiempo de experimentación planteado (64 días).

El factor principal en la reducción de las poblaciones bacterianas durante los tiempos iniciales de los tratamientos 1A, 1B y 1C (agua y suelo estéril) fue su estado fisiológico (inanición) en el momento de inocularse en el suelo.

El fenómeno de depredación es atribuido principalmente a las poblaciones de protozoarios presentes en agua y suelo. El parasitismo y la lisis bacteriana quedan relegados a un segundo plano ya que no se ha comprobado la existencia de este tipo de bacterias en agua de la laguna ni en suelo de cultivo de la zona estudiada.

No se encuentran diferencias significativas entre las cinéticas de muerte de las especies Escherichia coli y Salmonella typhi por lo que concluimos que E. coli puede ser un buen indicador de supervivencia de S. typhi en suelo.

La vida media de la bacteria Shigella dysenteriae en suelo, bajo condiciones naturales, no excede a los 32 días en los tres experimentos realizados.

La amplia supervivencia de E. coli en suelo no permite confirmar que una prueba de coliformes fecales positiva sea un indicio de contaminación fecal reciente.

R E C O M E N D A C I O N E S

Este trabajo fue realizado en condiciones de laboratorio, tratando de reproducir las condiciones naturales, sin embargo, es recomendable enriquecerlo con información de trabajos de campo. Por otra parte, solamente nos concretamos al aspecto bacteriológico, quedando por estudiar una buena parte del campo microbiológico de estos sistemas.

La cantidad de datos presentados en este trabajo pueden ser analizados estadísticamente en forma más profunda. Entre los métodos más apropiados para este fin se encuentra el análisis de perfiles y el análisis multivariado por tiempo y por tratamiento, seguidos de un análisis de T^2 de Hotelling.

Ya que el trabajo fue planteado con el fin de proponer diversas alternativas para el uso de las aguas negras tratadas, procederemos a mencionar las que consideramos más importantes:

El empleo de las aguas del efluente de la laguna de estabilización es apropiado para el cultivo de granos como el maíz, frijol, trigo y cebada, vegetales que se adaptan perfectamente a las condiciones imperantes en el municipio de Santo Tomás Atzingo y que por sus características naturales enriquecen la calidad del suelo y a la vez que, por su rotación, disminuyen la probabilidad de implantación de plagas. Por otra parte, estos alimentos no son de consumo directo y requieren de un tratamiento pre-

vic a su ingestión. El forraje que se obtiene de ellos no presenta riesgo sanitario porque se deja secar a la planta en el sitio donde se cultiva y se corta hasta que se cosecha la semilla.

Otro cultivo en el que se puede aprovechar esta agua es la alfalfa, aunque para este efecto se pueden marcar algunas restricciones; se recomienda el riego por canales para evitar la contaminación del forraje. El riego por rociado no es apropiado, aunque su uso es extensivo en el aprovechamiento de las aguas negras. De emplear este método, es necesario que la planta permanezca expuesta a la luz solar por lo menos 10 horas para reducir el número de bacterias patógenas y pueda ser ingerida por el ganado exclusivamente (Bell, 1976).

Con el sistema de rociado aumenta la probabilidad de contaminación humana; pequeñas gotas de agua son acarreadas por el aire a grandes distancias, pueden impregnarse en la ropa del operador o campesino y, de esta forma, servir de vectores. Por este hecho se recomienda que el agricultor use ropa exclusiva para el trabajo.

Este tipo de aguas no es recomendable para el desarrollo de hortalizas por varias razones: algunas plantas están incrustadas totalmente en el suelo (zanahoria, rábano, nabo, etcétera) y las bacterias tienen mayor supervivencia en los rizóforos o puede ocurrir la translocación (Dazzo et al. 1973).

En otros tipos de hortalizas (lechuga, col, coliflor, etcétera), lo intrincado de sus hojas no permite la acción depuradora de la luz solar y se hace difícil o imposible la depuración de las bacterias patógenas.

En la zona de Santo Tomás Atzingo se practica el pastoreo. Algunos campesinos lleva a pastar su ganado en las inmediaciones de la laguna de estabilización porque siempre hay pastura fresca. El pastoreo en esta zona debe ser eliminado porque aumenta el riesgo de contaminación del ganado y del mismo pastor.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Aguirre, J. y Gloyna, E.F. 1970. Design guide for biological wastewater treatment process. Technical Report EHE-71-3 CRWR 77 University of Texas. USA.
- Ahmed, K., M.I. Sheikh, y M.I.D. Chughtai. 1976. Survival of enteric bacteria in sewage oxidation ponds. Pak. J. Biochem. 9(2):98-107.
- American Public Health Association. 1975. Standard methods for the examination of water and wastewater. - 14a. Ed., Am. Public Health Assoc.: Washington D.C.
- Arceivala, S.J. 1970. Waste stabilization ponds: design, construction and operation in India. Central Public Health Engineering Research Institute. Nagpur, India.
- B.B.L. 1968. Manual of products and laboratory procedures. 5a. Ed.: USA. pp. 211.
- Bell, R.G. 1976. Persistence of coliforms indicator bacteria on alfalfa irrigated with municipal sewage lagoon effluent. J. Environ. Qual. 5(1):39-42.
- Brock, T.D. 1978. Biología de los microorganismos. 2a. Ed. Omega.: Barcelona. pp. 599-601.
- Bryant, R.J., L.E. Woods, D.C. Coleman, B.C. Fairbanks, -- J.F. Mc. Clellan, y C.V. Cole. 1982. Interactions of bacterial and amoebal populations in soil microcosms with fluctuating moisture content. Appl. Environ. Microbiol. 43(4):747-752.

- Burrows, W. 1969. Tratado de microbiología. 19a Ed. Interamericana.: México. pp. 970.
- Chandler, D.S. y Craven, J.A. 1978. Environmental factors affecting Escherichia coli and Salmonella typhimurium numbers on land used for effluent disposal. Aust. J. Agric. Res. 23:577-593.
- Chandler, D.S. y Craven, J.A. 1980. Relationship of soil moisture to survival of Escherichia coli and Salmonella typhimurium in soils. Aust. J. Agric. Res. 31:547-555.
- Crane, S.R., P.W. Westerman y M.R. Overcash. 1980. Die-off of fecal indicator organisms following land application of poultry manure. J. Environ. Quality. 9(3):531-537.
- Dazzo, F., P. Smith y D. Hubblell. 1973. The influence of manure slurry irrigation on the survival of fecal organisms in scanton fine sand. J. Environ. Quality. 2(4):470-473.
- Departamento de Agricultura de los Estados Unidos. 1976. Investigación de suelos, métodos de laboratorio y procedimientos para recoger muestras. Ed. Trillas.: México. pp. 90.
- Dias, F.F. y J.V. Bhat. 1965. Microbial ecology of activated sludge. II Bacteriophages, Bdellovibrio, coliforms, and other organisms. Appl. Microbiol. 13(2):257-261.

- Difco Manuel. 1953. 9a Ed. U.S.A. pp. 350.
- E.P.A. 1974. Current practices in water microbiology -- training manual. U.S. Environmental Protection Agency Water program operation. pp. 2-1;2-16.
- Frobisher, Winsdill, Crabtree y Goodheart. 1974. Fundamentals of microbiology. 9a Ed. Saunders Company. pp. 464-468.
- Geldreich, E. y R. Bordner. 1971. Fecal contamination of fruit and vegetables during cultivation and processing for market. A. Review. J. Milk and Food Technol. 34:184-195.
- Hagedron, C., D.T. Hansen y G.H. Simnson. 1978. Survival and movement of fecal indicator bacteria in soil under conditions of saturated flow. J. Environ. Quality. 7(1):55-59.
- Hernández, C.C. 1982. Selección de diferentes alternativas de tratamiento de aguas negras de origen doméstico en medios rurales de México. en Memorias del curso Temas selectos de ecología microbiana. La Salle.: México.
- Homer, D.C. y Parker, F.P. 1979. Métodos de análisis para suelo, plantas y aguas. Ed. Trillas.: México. pp. 195.
- Hurley, D., Aguilar, A., Gariba, J. y Landeros, J. 1980. Técnicas de diseño experimental. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados Depto. de

- Matemáticas.: México. pp. 344.
- Johnson, J.L. 1979. Introductory soil science a study --- guide an laboratory manual. Mc. Millan Pub. - Inc.: New York. pp. 289.
- Katzenelson, E., I. Buium y H.L. Shuval. 1976. Risk of co mmunicable disease infection associated with watewater irrigation in agricultural settle-- ment. Science. 194:944-946.
- Kibbey, H.J., C. Hagedorn y E.L. Mc. Coy. 1978. Use of fe cal estreptococci as indicators of pollution in soil. Appl. Environ. Microbiol. 35(4):711-717.
- Klein, D.A. y L.E. Casida, Jr. 1967. Occurrence and enume ration of Bdellovibrio bacteriovorus in soil capable of parasitizing Escherichia coli and indigenous soil bacteria. Can. J. Microbiol. 13:1235-1241.
- Klein, D.A. y L.E. Casida, Jr. 1967. Escherichia coli Die off from normal soil as related to nutrient - availability and the indigenous microflora. - Can. J. Microbiol. 13:1461-1470.
- Loehr, R.C. 1977. Pollution control for agriculture. Aca demic Press. pp. 383.
- Mc. Cambridge, J. y T.A. Mc. Meekim. 1981. Effect of so-- lar radiation and predacious microorganisms - on survival of fecal and other bacteria. Appl.

- Environ. Microbiol. 41(5):1083-1087.
- Mc. Faddin, F.J. 1980. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Ed. Médica panamericana.: Buenos Aires.
- Millar, C.E., L.M. Turk y H.D. Foth. 1975. Fundamentos de la ciencia del suelo. Cia. Ed. Continental -- S.A.: México. pp. 513.
- Mitchell, R. 1971. Role of predators in reversal of imbalances in microbial ecosystems. Nature. 230: 257-258.
- Moeller, J.R. y J. Calkins. 1980. Bactericidal agents in wastewater lagoons and lagoon design. J.W.P.C.F. 52(10):2442-2450.
- National Academy of Sciences. 1979. Microbial processes, promising technology for developing countries. NAS Pub. pp. 124-138.
- Paoletti, A. 1972. Phénomènes lytiques dans l'autoépuration des eaux de mer. pp. 581-584. en Water pollution and sea life. FAO.
- Paoletti, A., Parrella, A., Aliberti, F., y Gargiulo E. - 1980. Il T_{90} tempo di estinzione di enterobatteri ed enterovirus in acqua de mare. "L'igiene Moderna", Estratto, Anno LXXI. 1:48.
- Parker, F.W. y B.J. Mee. 1982. Survival of Salmonella adelaide an fecal coliforms in coarse sand of the Swan costal plain, western Australia. Appl. -

- Environ. Microbiol. 43(5):981-986.
- Pelczar, M.J. y Reid, R.D. 1979. Microbiología. Mc. Graw Hill.: México. pp. 669.
- Pipes, W.O. 1961. Basic biology of stabilization ponds. J. Water & Sewages Works. 108(4):131.
- Reneau Jr., R.B. y D.E. Pettry. 1975. Movement of coli---form bacteria from septic tank effluent through selected coastal plain soils of Virginia. J. Environ. Qual. 4(1):41-44.
- Reneau, Jr. R.B., J.H. Elder, Jr., D.E. Pettry, y C.W. -- Weston. 1975. Influence of soils on bacterial contamination of a watershed from septic sources. J. Environ. Qual. 4(2):249-252.
- Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. 1979. - Manual del curso Microbiología del agua. Tomos I y II.: México.
- Sistema Alimentario Mexicano. 1981. S.A.M., programa pesca-acuacultura, estado de México.: México.
- Smith, D., N.E. Conat y H.P. Willett. 1971. Microbiología de Zinsser. 4a Ed. Ed. UTEHA.: México. pp. -- 716-784.
- Stotzky, G. 1974. Activity, ecology and population dynamics of microorganisms in soil. pp. 57-135. - en Laskin A. y H. Lechevalier (Ed.), Microbial Ecology CRA press.
- Tate III, Robert, L. 1978. Cultural and environmental fac

- tors affecting the longevity of Escherichia coli in histosols. Appl. Environ. Microbiol. 35(5):925-929.
- Temple, K.L., A.K. Camper y G.A. Mc. Peters. 1980. Survival of two enterobacteria in feces buried in soil under field conditions. Appl. Environ. Microbiol. 40(4):794-797.
- Torres, R.E. 1981. Manual de conservación de suelos agrícolas. Ed. Limusa.: México. pp. 18-44.
- Townsend, E.N. 1973. An introduction to the scientific study of the soil. The Camelot Press Ltd.: Southampton London. pp. 209.
- Unz, R.F. 1977. Microbiology of waste treatment. W.P.C.F. Lit. Rev. pp. 1255-1268.
- Van Donsel, D., E. Geldreich y H. Clark. 1976. Seasonal variations in survival of indicator bacteria in soil and their contribution to stormwater pollution. Appl. Microbiol. 15:1362-1370.
- Varon, M., y M. Shilo. 1968. Interaction of Bdellovibrio bacteriovorus and host bacteria. I. Kinetic studies of attachment and invasion of Escherichia coli by Bdellovibrio bacteriovorus. J. Bacteriol. 95(3):744-753.
- Walker, J. 1977. Microbial selfpurification in stabilization ponds. Water Research. pp. 11-17.

S I M B O L O S E M P L E A D O S

Tablas:

t= tiempo

 \bar{x} = media aritmética

log= logaritmo

Análisis estadístico:

g.l= grados de libertad

S.C= suma de cuadrados

C.M= cuadrados medios

Fc= F de tablas

T= tratamientos

B= Bloques

 $\sum Y$ = sumatoria de bloques \bar{Y} = media de la sumatoria de bloques $\sum Y^2$ = sumatoria del cuadrado de la media de bloques

n.s= no significativa

Medios de cultivo:

Agar EMB (Agar de eosina azul de metileno)

Agar nutritivo

Agar SS (Agar para Salmonella, Shigella)

Caldo de tetracionato

Caldo de Selenito de sodio

Agar AST (Agar de soya y tripticaseína)

Agar TSI (Agar de triple azúcar e hierro).