

00361



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

**FACULTAD DE CIENCIAS  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

22

Evolución cuantitativa de la microflora  
sulfatoredutora y metanogénica en relación  
con los parámetros físico-químicos de  
sedimentos estuarino-lagunares.

294027

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE**

**MAESTRA EN CIENCIAS**

**( B I O L O G I A )**

**P R E S E N T A**

**MARIA DEL ROCIO TORRES ALVARADO**

**DIRECTOR DE TESIS: DR. JEAN PIERRE GUYOT**

2001



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.

*Para que pueda ser he de ser otro,  
salir de mi, buscarme entre los otros,  
los otros que no son si yo no existo  
los otros que me dan plena existencia.*

Octavio Paz

*A mi amada pelusa Victoria Isabel*

## TABLA DE CONTENIDO

<b>Contenido</b>	<b>Página</b>
<b>Agradecimientos</b>	i
<b>Resumen</b>	iv
<b>1. Introducción</b>	1
<b>2. Marco Teórico</b>	4
<b>3. Antecedentes</b>	15
<b>4. Objetivos</b>	17
4.1 Objetivo general	17
4.2 Objetivos particulares	17
<b>5. Hipótesis</b>	18
5.1 Hipótesis general	18
5.2 Hipótesis particulares	18
<b>6. Área de estudio</b>	20
<b>7. Material y Métodos</b>	27
7.1 Estandarización de las técnicas.	27
7.2 Procedimiento de campo.	28
7.3 Procedimiento de laboratorio.	30
7.4 Análisis estadístico de los resultados.	33
<b>8. Resultados</b>	
8.1 Pruebas metodológicas.	35
8.2 Caracterización estacional.	39

Condiciones sedimentarias	39
Condiciones microbiológicas	52
8.3 Caracterización vertical.	56
Condiciones sedimentarias	56
Condiciones microbiológicas	57
8.4 Actividad cinética a partir de acetato	60
8.5 Análisis estadístico.	66
<b>9. Discusión</b>	<b>71</b>
9.1 Caracterización estacional.	71
Condiciones sedimentarias	71
Condiciones microbiológicas	79
9.2 Caracterización vertical.	108
9.3 Actividad cinética a partir de acetato	116
9.4 Consideraciones finales	121
<b>10. Conclusiones</b>	<b>127</b>
<b>11. Literatura citada</b>	<b>130</b>
<b>12. Apéndice metodológico</b>	<b>145</b>

## **AGRADECIMIENTOS**

Estoy convencida de que un trabajo de Tesis es posible no sólo por el esfuerzo y dedicación de quien lo efectúa, sino también por el apoyo que recibe de numerosas personas. Entre dichas personas están aquellas que guían con su experiencia y conocimiento el desarrollo del trabajo; asimismo es necesario el amor y cariño que otorgan familiares y amigos al tesista, sobre todo en aquellos momentos en que parece que el desaliento gana terreno. Por lo mismo, quiero manifestar mi agradecimiento a todos aquellos que de una u otra forma hicieron posible el presente trabajo.

A mi hija Victoria Isabel que me ha impulsado cada día a superarme y a dar lo mejor de mí. Por su amor y cariño que me ha demostrado no sólo con palabras, sino con su inmensa alegría en todos los momentos que compartimos juntas. Por su comprensión al sacrificar horas y espacios para que pudiera concluir la investigación, por sus hermosas palabras: "te quiero mami" justo en los momentos de flaqueza. Muchas gracias por llegar a mi vida y por tu amistad.

A mis padres, Belisario y Carmelita, que guiaron mi formación e impulsaron a seguir siempre adelante a pesar de los obstáculos que pudiera tener, por no dejar que me diera por vencida y por mostrarme que con voluntad y perseverancia los sueños se pueden alcanzar. Por su amor y ejemplo de sacrificio en todo momento para facilitar mi camino hacia las metas que me traze. Por enseñarme que a pesar de los malos momentos, siempre hay un rayo de esperanza. Sobre todo, porque sin ellos yo no estaría aquí.

A mis hermanas Antonia y Carmen (la Nena), así como a mis hermanos Oscar, Belisario y Carlos por alegrar mi vida y enseñarme que la unión hace la fuerza. Porque han estado conmigo en las buenas y las malas, porque en mis momentos de duda me alentaron con las simples palabras: tú puedes. Por su labor de "niñeros especializados" para que pudiera tener más tiempo para efectuar mis estudios.

A cada uno de mis sinodales, los Doctores Jean Pierre Guyot, Teófilo Herrera, Florina Ramírez, Jorge de la Rosa, Jorge Romero, Francisco Gutiérrez y Francisco Contreras, quienes dedicaron parte de su valioso tiempo a la revisión del presente trabajo, enriqueciendolo con sus comentarios y sugerencias; pero sobre todo por compartir

conmigo el interés por la microbiología, los “Ioditos” y las lagunas costeras. De manera especial quiero dar las gracias a mi Director, el Doctor Jean Pierre Guyot del IRD (Institut de Recherche pour le Developpement) cuyo apoyo fue esencial para que pudiera efectuarse esta investigación, por su guía y aportaciones; así como por creer en mí hasta el final, a pesar del tiempo en que el trabajo parecía que había quedado en el olvido. Lo más importante, por haberme brindado en todo momento su amistad y su ayuda.

Al grupo del laboratorio de “Tratamiento de aguas residuales y microbiología anaerobia” del Departamento de Biotecnología de la UAMI, a cargo del Doctor Oscar Monroy, por todas las facilidades que me dieron para poder desarrollar el trabajo experimental, incluso en fines de semana y días de descanso; por enseñarme a trabajar con disciplina y dedicación. A Carmen, Mónica y Florina que con disposición y paciencia aclararon, y lo siguen haciendo, cada una de mis dudas. Gracias a ellas también por apoyarme, escuchando y aconsejando cuando personalmente más lo necesite.

A una persona especial, Francisco Gutiérrez, por estar al pendiente de lo que necesitaba para concluir el trabajo, por sus opiniones para mejorarlo y por soportar mis malos ratos cuando las cosas no salían como quería. Por enseñarme a tener paciencia y a ver las dos caras de la moneda para enriquecer mi formación. Por compartir su alegría al ver el escrito terminado y alentarme a seguir adelante. Sobre todo, por su amistad y preocupación hacia mi persona.

A un querido y entrañable amigo, Lalito Zamarroni, quien me acompañó en numerosas ocasiones en mi búsqueda de información, ayudándome también con el trabajo experimental, desde lavado de tubos “apestocitos” hasta las largas horas en el cromatógrafo, haciéndolas más amenas con su charla. Gracias por tu amistad y tu interés, así como por haber hecho una pregunta importante: ¿y ahora que termines la Tesis, qué vas a hacer?.

A Henry, Eli, Abel, Laura y Margarita por su cariño y “presión” necesarios para finalizar la Tesis. A la “niña Ofe” por darme los espacios necesarios para avanzar con el trabajo, cuidando en numerosas ocasiones a mis alumnetos durante los exámenes, así como por correr en mi ayuda cuando la computadora “tenía iniciativa” con los archivos de la Tesis.



Gracias también al Doctor Oscar Comas Rodríguez, porque durante su gestión como Jefe del Departamento de Hidrobiología, se preocupó por proporcionarme lo que se requería para avanzar con la Tesis, apoyando principalmente la realización de las salidas al campo.

Finalmente, quiero dar las gracias a las bacterias sulfatorreductoras y metanógenas por todo el campo de investigación que me proporcionaron y enseñarme que aún queda mucho que estudiar; por demostrarme que el león no es como lo pintan, ya que en su misma sencillez radica su complejidad y versatilidad y lo más importante, por aumentar mi deseo de aprender.

# **Evolución cuantitativa de la microflora sulfatorreductora y metanogénica en relación con los parámetros físico-químicos de sedimentos estuarino-lagunares.**

## **RESUMEN**

Los ecosistemas estuarino-lagunares son sitios con altos contenidos de materia orgánica proveniente de diversas fuentes, tanto autóctonas como alóctonas, y que está sujeta a procesos de mineralización efectuados por la microbiota del sistema. Un componente importante de esta microbiota son las bacterias sulfatorreductoras y metanógenas, que participan en las últimas fases de la degradación anaerobia de la materia orgánica y las cuales han sido poco estudiadas en los ambientes costeros mexicanos.

Con base en lo anterior se analizaron las variaciones estacionales y espaciales en la abundancia de las bacterias sulfatorreductoras y metanógenas en el sedimento del sistema estuarino-lagunar de Alvarado-Camaronera, en el estado de Veracruz. Las bacterias sulfatorreductoras fueron cuantificadas por la técnica del tubo rodado de Hungate (TR) y las bacterias metanógenas por el método del número más probable (NMP); ambos grupos con diferentes sustratos. Asimismo se cuantificó la actividad cinética a partir de acetato, en presencia y ausencia de sulfatos.

Las abundancias más altas de la mayoría de los grupos nutricionales analizados estuvieron asociadas a la temporada de nortes, siendo el número más alto de bacterias sulfatorreductoras de  $3.2 \times 10^7$  bac/gSST con lactato,  $5.51 \times 10^6$  bac/gSST con propionato y  $2.5 \times 10^5$  bac/gSST con acetato. La mayor abundancia de bacterias metanógenas fue de  $5.4 \times 10^7$  bac/gSST con acetato,  $3.8 \times 10^5$  bac/gSST con  $H_2/CO_2$  y  $3.1 \times 10^4$  bac/gSST con metanol. Las abundancias cuantificadas en los sedimentos del sistema estuarino-lagunar de Alvarado-Camaronera son semejantes a los evaluados en otros ambientes como lagos eutróficos y marismas, pero inferiores a los reportados en digestores anaerobios. Asimismo, los cambios estacionales de los grupos nutricionales de las bacterias sulfatorreductoras y metanógenas analizados estuvieron determinados por los parámetros químicos del sedimento, como el contenido de sólidos suspendidos volátiles, carbohidratos, sulfatos y ácido sulfhídrico. Verticalmente, las bacterias sulfatorreductoras fueron más abundantes en los primeros 5 cm del sedimento, mientras que las bacterias

metanógenas dominaron en el estrato de los 15 cm, existiendo por tanto una separación espacial entre la zona de sulfatorreducción que está por encima de la zona de producción de metano. Por último, la actividad cinética a partir de acetato se presentó tanto en ausencia como en presencia de sulfatos, aunque fue ligeramente superior en presencia de éstos últimos, por lo cual dicho sustrato es utilizado por ambos grupos microbianos.

## 1. INTRODUCCIÓN

Las lagunas costeras y estuarios son sistemas altamente productivos (Yáñez-Arancibia, 1986; Day *et al.*, 1987; Contreras, 1993) debido a su estructura trófica caracterizada por numerosas fuentes de producción primaria y consumidores, así como por entradas alóctonas y autóctonas de material orgánico. Lo anterior da como resultado la presencia de dos cadenas alimentarias interconectadas entre sí: la del pastoreo y la del detritus. La cadena del pastoreo tiene como fuente de energía la luz solar, mientras que la del detritus comienza con el suministro de materia orgánica.

Debido a que las zonas estuarino-lagunares se caracterizan por tener considerables aportes autóctonos y alóctonos de material orgánico, la cadena del detritus llega a ser más importante inclusive que la cadena del pastoreo, desarrollándose básicamente en la fase sedimentaria.

El sedimento representa un componente importante en los ecosistemas costeros; característicamente es anaerobio y altamente reductor, excepto en la superficie y en algunas microzonas adyacentes a las raíces de vegetales. Bajo estas condiciones se desarrolla una comunidad microbiana compleja que efectúa la remineralización de la materia orgánica (Jones y Paynter, 1980).

La materia orgánica depositada en la fase sedimentaria representa una fuente potencial de energía que puede estar disponible para el ecosistema costero a través de su descomposición llevada a cabo principalmente por los microorganismos del sistema, dicha mineralización se realiza en dos medios: el aeróbico y el anaeróbico. El medio aeróbico contiene hongos y bacterias, que efectúan las primeras transformaciones de la materia

orgánica tanto disuelta como particulada hasta CO<sub>2</sub> y biomasa mediante el metabolismo de la respiración, siendo este proceso muy eficiente para la producción de energía y, por lo tanto, para el reciclamiento del carbono (Lehninger, 1980).

Cuando el oxígeno se ha agotado, los microorganismos aerobios cesan de crecer y bajo estas circunstancias, la descomposición del carbono continúa a través de los microorganismos anaerobios; de éstos, las bacterias sulfatorreductoras y las metanógenas son las poblaciones más importantes en las fases terminales de la mineralización del carbono orgánico (Franklin *et al.* 1988). En el caso de las poblaciones sulfatorreductoras, éstas llegan a constituir el grupo dominante en los ecosistemas marinos y estuarinos (Nedwell, 1984), debido a la presencia característica de sulfatos en dichos ambientes y son uno de los grupos de microorganismos metabólicamente más activos, ya que están involucrados no sólo en el ciclo del carbono, sino también en los ciclos del nitrógeno y del azufre (Nedwell y Abram, 1978; Howarth y Teal, 1979). A pesar de que en los sedimentos marinos la remineralización del carbono orgánico es un proceso dominado por la actividad sulfatorreductora, se ha detectado y cuantificado la producción de metano en dichos sedimentos y la presencia de bacterias metanógenas en números relativamente altos (Jones y Paynter, 1980; Hines y Buck, 1982; Karl y Tilbrook, 1994).

Durante la degradación del carbono orgánico en los sedimentos costeros, las comunidades microbianas aeróbicas y anaeróbicas implicadas en el proceso se relacionan estrechamente entre sí, dando como resultado la existencia de diferentes ambientes biogeoquímicos. En cada uno de ellos, la población microbiana dominante aprovecha las características del medio para su desarrollo y, al mismo tiempo, propicia la formación de un ambiente nuevo al liberar productos que favorecen a otras especies; de lo que se deduce que la transición de un ambiente aeróbico hasta uno metanogénico es

una consecuencia de las actividades metabólicas efectuadas por las diferentes especies de microorganismos. En virtud de lo anterior, el conocimiento de dichas actividades es un factor primordial, no sólo para entender el papel de los microorganismos en los ciclos biogeoquímicos, sino para comprender su influencia sobre las propiedades químicas y físicas del sedimento, así como la relación que tienen las características sedimentarias con los diferentes grupos microbianos.

Por lo expuesto anteriormente, la finalidad del presente estudio fue cuantificar la presencia de diversos grupos metabólicos de bacterias sulfatorreductoras y metanógenas, en el sedimento de una laguna costera tropical y relacionar las abundancias bacterianas con los cambios de los factores físicos y químicos del sedimento en diferentes épocas climáticas .

## 2. MARCO TEÓRICO

México es un país con 11 592.77 km de extensión litoral, en esta zona aproximadamente una superficie de 1'567,300 ha está conformada por los sistemas estuarino-lagunares (Contreras, 1993); dichas zonas constituyen ecosistemas de vital importancia por sus características físicas, químicas y su alta diversidad biológica, factores que en conjunto dan por resultado una elevada productividad tanto real como potencial.

Los estudios sobre ecología energética en sistemas acuáticos demuestran que los ecosistemas costeros reciben energía a partir de dos fuentes principales: luz y materia orgánica, las cuales dan origen a la cadena del pastoreo y a la cadena del detritus, respectivamente, y cuya interrelación caracteriza a la trama trófica existente en este tipo de ambientes. Por el hecho de que las zonas estuarino-lagunares son sitios con elevadas tasas de depositación de material orgánico, la cadena del detritus llega a ser más importante, inclusive, que la cadena del pastoreo.

Engler *et al.*, (1977) señalan que en los sistemas costeros altamente productivos, la fracción constituida por el sedimento, la materia orgánica y los microorganismos asociados a ella, conforman el complejo conocido como detritus. El material orgánico que forma al detritus puede integrarse por materiales de diversa índole, originados en el mismo lugar (autóctonos) o provenientes principalmente de las zonas inundadas circundantes (alóctonos), siendo de particular importancia el material orgánico que se origina de los productos de la producción primaria, principalmente la macrovegetación en zonas someras (Fenchel, 1969), y cuyo principal componente es la celulosa (Miller *et al.*, 1979), así como también el derivado de los desechos industriales, municipales y agrícolas (Preston y Prodduturu, 1992).

El concepto básico sobre la importancia del detritus, formado a partir del material orgánico, establece que las marismas, pastos marinos, manglares, microalgas, macroalgas y plantas terrestres proporcionan una entrada significativa de carbono orgánico a las áreas costeras someras. En las zonas estuarino-lagunares, éste se acumula sobre la fase sedimentaria en donde directa o indirectamente y a través de la conversión microbiana, proporciona una fuente alimenticia significativa para una gran variedad de consumidores primarios como invertebrados y peces (Odum y Heald, 1975; Wetzel, 1977), hasta los niveles tróficos superiores (Pomeroy, 1974; Pomeroy *et al.*, 1977). Además de lo anterior, los microorganismos por medio de su actividad bioquímica intervienen en el reciclamiento de nutrimentos hacia la columna de agua, en donde éstos serán utilizados en su mayoría por los productores primarios (Capone y Kiene, 1988; Caraco *et al.*, 1989).

Como se ha establecido con anterioridad, los sedimentos estuarinos y costeros son sitios importantes para la remineralización de la biomasa producida por los diferentes productores primarios, dicha mineralización se realiza en dos medios ambientes: el aeróbico y el anaeróbico. El medio aeróbico contiene hongos y bacterias, que efectúan las primeras transformaciones de la materia orgánica tanto disuelta como particulada en CO<sub>2</sub> y biomasa, mediante el metabolismo de la respiración aerobia; siendo este proceso muy eficiente para la producción de energía y por lo tanto para el reciclamiento del carbono.

Como resultado de la degradación biológica aeróbica, en el sistema se propicia una demanda de oxígeno que supera al aporte del mismo, creándose condiciones generalmente anaeróbicas y altamente reductoras a una determinada profundidad. Esta profundidad establece el límite entre el metabolismo aeróbico y el anaeróbico y generalmente se sitúa por debajo de la interfase sedimento-agua, aunque en algunos



casos se localiza por arriba de dicha interfase y en algunas microzonas adyacentes a las raíces vegetales.

Cuando el oxígeno se ha agotado, los microorganismos aeróbicos estrictos cesan de crecer y bajo estas circunstancias, la descomposición del carbono orgánico continúa a través de los microorganismos anaeróbicos. Con base en su bioquímica especializada, los microorganismos anaeróbicos se dividen en: fermentadores, desnitrificantes, reductores obligados de protones, sulfatorreductores y metanógenos.

a) *Organismos fermentadores*, son organismos anaeróbicos facultativos o estrictos que efectúan una degradación incompleta de la materia orgánica, dando lugar a la generación de diversos productos como ácidos grasos volátiles, alcoholes, hidrógeno y CO<sub>2</sub> y una ganancia de energía baja comparada con la respiración aeróbica. Algunos substratos fermentables son la glucosa, la fructosa, la sacarosa, la celobiosa y algunos polímeros tales como la celulosa y la quitina.

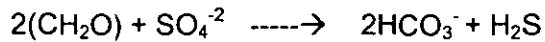
Para que pueda existir una fermentación equilibrada se requiere de la generación de productos reducidos como ácidos orgánicos, ácidos grasos volátiles y alcoholes. Laanbroek *et al.*, (1985) establecieron la existencia de una tendencia general hacia la producción de acetato e hidrógeno en condiciones de baja concentración de substrato y bajas presiones parciales de hidrógeno, y todo parece indicar que en sedimentos costeros, el acetato y el hidrógeno son los productos de la fermentación más importantes seguidos por el propionato.

b) *Organismos desnitrificantes*, este grupo abarca aquellos microorganismos capaces de efectuar un proceso de respiración utilizando nitratos como aceptores terminales de

electrones y en los ecosistemas naturales, las bacterias desnitrificantes más comunes pertenecen a los géneros *Pseudomonas* y *Alcaligenes* (Westermann, 1993). Como el nitrato se presenta únicamente en el estrato superficial de los sedimentos, al aumentar la profundidad se limita su disponibilidad como aceptor de electrones, por lo tanto la zona que ocupan las bacterias desnitrificantes es estrecha y restringida (Mechalás, 1974). Aunque este mecanismo es de menor importancia en la mineralización de la materia orgánica, su contribución se destaca en las transformaciones reductoras del nitrógeno (Sørensen *et al.*, 1979). En zonas pantanosas templadas por ejemplo, la tasa de desnitrificación es de 0.5 a 5.0 mg/m<sup>2</sup>/día (Westermann y Ahring, 1986).

c) *Organismos reductores de protones obligados*, tales como las bacterias acetoclásticas reductoras de protones obligadas, transforman los productos reducidos de la fermentación en acetato, hidrógeno y CO<sub>2</sub>. En sedimentos con un elevado contenido de sulfatos existe evidencia de que las bacterias sulfatorreductoras pueden reemplazar a las acetoclásticas siempre y cuando la presión parcial del hidrógeno se mantenga baja, aproximadamente de 5 a 30 Pa en la fase gaseosa y de 35 a 210 nM en la fase acuosa (Dicker y Smith, 1985; Boone *et al.*, 1987)

d) *Organismos sulfatorreductores*, son bacterias anaeróbicas y requieren no sólo de la ausencia de oxígeno para su crecimiento, sino que también necesitan un potencial de óxido-reducción bajo, aproximadamente de 0 a -100 mV. Las células de este grupo presentan un amplio intervalo de formas morfológicas: bacilos, vibrios, cocos, sarcinas y filamentos. Las bacterias que efectúan una sulfatorreducción desasimiladora utilizan principalmente sulfato como el aceptor terminal de electrones en su oxidación anaeróbica de substratos orgánicos, estas bacterias tienen la capacidad de activar el sulfato y reducirlo hasta ácido sulfhídrico (H<sub>2</sub>S):



Con base en sus capacidades oxidativas y metabólicas, las bacterias sulfatorreductoras se pueden dividir en dos grupos:

- el primero incluye aquellas especies que metabolizan de manera incompleta los ácidos grasos de cadena larga y corta: propionato, lactato y piruvato hasta acetato. Los géneros *Desulfovibrio* y *Desulfomonas* pertenecen a este grupo.
- el segundo grupo comprende aquellas especies que llevan a cabo la oxidación completa de los ácidos orgánicos como lactato, acetato, benzoato, succinato o fumarato hasta  $\text{CO}_2$ . En este grupo se ubica al género *Desulfotomaculum* (Pfennig *et al.*, 1981).

Las bacterias sulfatorreductoras además de utilizar los ácidos grasos volátiles, son capaces de emplear otros sustratos como donadores de electrones, incluyendo compuestos fenólicos, indólicos y aminoácidos (Bak y Widdel, 1986a y b, citados en Gibson *et al.*, 1988).

Las bacterias reductoras de sulfatos se encuentran ampliamente distribuidas en ambientes terrestres y acuáticos anaeróbicos. Aquellos hábitats que tienen una elevada actividad metabólica sulfatorreductora se caracterizan por el olor a sulfuro de hidrógeno y el color negro del agua o del sedimento producido por efecto de la precipitación del sulfuro de hierro. Debido al aporte elevado e inagotable de sulfato, los sedimentos marinos, estuarinos y de marismas, así como los lagos y estanques hipersalinos, constituyen los

hábitats permanentes y más significativos de este tipo de bacterias en la naturaleza (Jørgensen, 1977, 1982; Nedwell, 1984).

Asimismo, las bacterias sulfatorreductoras se han encontrado en hábitats particulares como limos y sedimentos de sistemas contaminados, digestores para aguas de desecho, suelos inundados (arrozales) y en heces de animales y del hombre. En estos hábitats ricos en substancias orgánicas fermentables, el crecimiento de las bacterias sulfatorreductoras únicamente se encuentra limitado por la disponibilidad de sulfato (Ueki *et al.*, 1986; Isa *et al.*, 1986; Gibson *et al.*, 1988; Visser *et al.*, 1993).

La liberación de sulfuro de hidrógeno durante la sulfatorreducción desasimilatoria tiene diversas implicaciones tanto ecológicas como económicas. Desde la perspectiva ecológica, el sulfuro de hidrógeno producido forma un enlace con el hierro del complejo  $\text{FePO}_4$ , creado durante condiciones aeróbicas, para constituir el sulfuro de hierro ( $\text{FeS}$ ) que precipita y provoca la liberación de fosfato inorgánico. Por consiguiente, la sulfatorreducción es un proceso necesario para la movilización del fosfato presente en el hierro hasta fosfato libre, siendo un factor importante que contribuye al movimiento de nutrientes inorgánicos del sedimento hacia las zonas aerobias (Patrik y Khalid, 1974; Jørgensen y Fenchel, 1974). Asimismo, el  $\text{H}_2\text{S}$  en concentraciones elevadas es un inhibidor de la respiración animal y cancela la incorporación de nutrientes principalmente en los arrozales (Mitsui, 1965; Theede, 1969; Train, 1979).

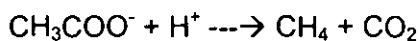
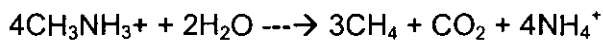
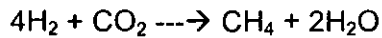
Económicamente, la producción de sulfuro de hidrógeno merece especial atención en la industria, ya que la inducción de la precipitación del sulfuro de hierro a partir de hierro ferroso se considera el factor responsable de la corrosión anaeróbica; esta corrosión es particularmente importante en aquellas industrias caracterizadas por el empleo de

bombas, surtidores, tanques, sistemas de calentamiento, sistemas acarreadores de petróleo y estructuras submarinas (Fedorak *et al.*, 1987; Tanner, 1989). Cabe señalar que la corrosión microbiana también es ocasionada por la utilización, por parte de las bacterias sulfatorreductoras, del H<sub>2</sub> presente en las partes catódicas del equipo industrial.

e) *Organismos metanogenos*, son los que participan en la última fase de la degradación anaeróbica y que es conocida como metanogénesis; ésta se lleva a cabo cuando la concentración de sulfatos disminuye, como sucede por ejemplo, por debajo de la zona de sulfatorreducción. Se sabe en general, que las bacterias que participan en dicho proceso poseen las propiedades de los anaeróbicos estrictos y se encuentran en números elevados donde los valores de Eh son iguales o inferiores a -200 mV. Las bacterias metanógenas se distribuyen ampliamente en los ambientes acuáticos: estanques, marismas, pantanos, lagos y océanos (trincheras y cordilleras mesocénicas), en estos habitats acuáticos la liberación de burbujas a partir del estrato sedimentario generalmente indica la presencia de la actividad metanogénica; otros habitats metanogénicos incluyen el tracto intestinal del hombre y los animales, los digestores de aguas de desecho y las tierras cultivadas (Vogels, 1979; Mah, 1982).

Las bacterias metanógenas abarcan un grupo morfológicamente diverso, contiene bacilos cortos o largos, cocos y varios arreglos de estas formas básicas en largas cadenas o agregados. Todos los miembros poseen dos cofactores únicos, el factor 420 (F420) y el ácido 2-mercaptoetanosulfónico (coenzima M o CoM) (Mah y Smith, 1981). Taxonómicamente se han propuesto 7 géneros: *Methanobacterium*, *Methanosarcina*, *Methanococcus*, *Methanobrevibacter*, *Methanomicrobium*, *Methanogenium* y *Methanospirillum*, que incluyen a 13 especies (Balch *et al.*, 1979).

Las bacterias metanógenas representan un grupo de procariontes único debido a que producen un hidrocarburo, el metano, como principal producto de su metabolismo a partir de la reducción del CO<sub>2</sub> con hidrógeno molecular, o bien, a partir de otros substratos orgánicos simples como formiato, metanol, metilaminas o acetato (Phelps y Zeikus, 1985):



(Vogels *et al.*, 1988)

El metano que se genera de esta actividad en los 10 primeros metros del sedimento marino puede difundirse a la atmósfera donde participa en el efecto de invernadero (Karl y Tilbrook, 1994). La importancia del aporte de metano a la atmósfera por parte de algunos habitats como las tundras, llega a alcanzar cifras de 21.1 mgCH<sub>4</sub>/m<sup>2</sup>/hr en el oeste de Siberia, jugando así un papel clave en el fenómeno de calentamiento global (Matthews *et al.*, 2000). En lo que respecta al metano que se produce por debajo de los 10 m, éste no alcanza la atmósfera, pudiendo ser utilizado como fuente de energía por las bacterias metano-oxidantes, aproximadamente del 10 al 30% del metano producido a partir de la metanogénesis es consumido por este tipo de bacterias mediante su conversión a CO<sub>2</sub> (Zehnder y Brock, 1979; Higgins *et al.*, 1981; Lidstrom, 1983). La oxidación del metano es un proceso estrictamente aeróbico y requiere de una temperatura óptima entre 25 y 37°C.

La producción *in situ* del gas metano tiene un efecto considerable sobre la estabilidad sedimentaria; directamente por el atrapamiento de burbujas de gas en los sedimentos no consolidados e indirectamente por la iniciación de ciertas características diagenéticas como la cementación de carbonatos y la formación de nódulos (Whelan, 1974). El metano

y otras sustancias que normalmente son gaseosas bajo las condiciones de la superficie terrestre, no lo son en condiciones de alta presión y baja temperatura, bajo éstas suelen combinarse con el agua para formar compuestos cristalinos semejantes al hielo (hidrato de metano), por lo tanto, los posibles estados en los cuales se puede encontrar el metano en los sedimentos acuáticos abarcan: metano en solución en el agua intersticial, agua intersticial saturada con metano más una fase gaseosa libre, agua intersticial saturada con metano más una fase sólida (hidrato de metano) y el hidrato de metano más una fase gaseosa libre (Reebrugh y Heggie, 1974; Claypool y Kaplan, 1974).

La metanogénesis también es un proceso que se utiliza para el tratamiento de diferentes desechos tóxicos, orgánicos, agrícolas e industriales. Finalmente, el gas metano tiene enormes ventajas como combustible ya sea para uso doméstico, en automotores y en otros procesos criogénicos (Yen y Tang, 1977). La producción de metano a partir de la actividad microbiana metanogénica es un proceso económicamente más competitivo que la generación de metano derivada de los combustibles fósiles, cuyo costo se ha incrementado notablemente en los últimos años.

Al analizar en conjunto la cadena anaeróbica que participa en la degradación de la materia orgánica, se observa la existencia de una serie de relaciones entre los microorganismos que en ella participan y que los hace ser dependientes unos de otros para el buen funcionamiento del ambiente sedimentario. En los sedimentos de medios acuáticos las bacterias sulfatorreductoras y las productoras de metano ocupan nichos similares en los estados terminales de la mineralización anaeróbica de la materia orgánica. Sin embargo, la sulfatorreducción es el proceso dominante en la descomposición de la materia orgánica en sedimentos caracterizados por la presencia de sulfatos (Jørgensen, 1977; Howarth y Teal, 1979). Su importancia es tal, que llega a

representar del 36% al 50% de la degradación de carbono orgánico (Jørgensen, 1982; Howes *et al.*, 1984) y, aproximadamente la mineralización del 11% de la producción primaria neta de la columna de agua (Aller y Yingst, 1980), mientras que sólo el 5% del carbono fijado en la fotosíntesis es convertido a metano (CH<sub>4</sub>) (Vogels, 1979).

La dominancia cuantitativa de la sulfatorreducción obedece a que la presencia de sulfatos previene la acumulación de metano al presentarse una competencia entre las bacterias sulfatorreductoras y las metanógenas por el hidrógeno y el acetato; en esta competencia, la sulfatorreducción se ve favorecida cinética y termodinámicamente debido a que produce más energía por mol de hidrógeno o acetato en comparación con la formación de metano (Kristjansson *et al.*, 1982; Lovley *et al.*, 1982; Schönheit *et al.*, 1982). También influye el hecho de que como durante el proceso de sulfatorreducción se libera ácido sulfhídrico, cuando la concentración de éste llega a ser elevada se induce una inhibición de la metanogénesis (Cappenberg, 1974, 1975), aunque otros autores han reportado algunos metanógenos tolerantes a elevadas concentraciones de sulfuros (Oremland, 1975, Mountfort y Asher, 1979).

Las bacterias sulfatorreductoras y metanógenas, juegan un papel clave en el consumo de los productos metabólicos generados por los organismos que preceden a la descomposición anaeróbica, el consumo de tales productos por estos grupos terminales está influido por el tipo de sustancias liberadas por las reacciones previas de fermentación, mejoran la conservación de la energía de las bacterias fermentadoras y mantienen las condiciones termodinámicas que se requieren para el catabolismo de los ácidos grasos volátiles. Un ejemplo de lo anterior, se presenta en la relación existente entre los fermentadores, los reductores obligados de protones y los metanógenos a través del consumo de H<sub>2</sub>, proceso conocido como "transferencia de hidrógeno entre-especies",



el cual permite mantener una presión baja de hidrógeno en el medio, facilitando al mismo tiempo el catabolismo de los productos menores de la fermentación (propionato, valerato, butirato) hasta acetato, H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> con liberación de energía.

Las interrelaciones existentes entre la microbiota implicada en la degradación de la materia orgánica generan cuatro ambientes biogeoquímicos diferentes: respiración, desnitrificación, sulfatorreducción y metanogénesis; cada uno caracterizado por una forma de metabolismo respiratorio dominante. Dichos ambientes o estratos están caracterizados por mecanismos metabólicos sucesivamente menos eficientes, en cada uno de ellos la población microbiana dominante explota el medio ambiente y crea uno nuevo que favorece a otras especies. Lo anterior da como resultado una transición desde un ambiente aerobio hasta uno productor de metano (Claypool y Kaplan, 1974). Por lo tanto el conocimiento de las actividades metabólicas de los microorganismos permite conocer las propiedades químicas y físicas del sedimento, así como los procesos involucrados en el reciclamiento de materiales en los ecosistemas costeros.

### 3. ANTECEDENTES

De los estudios publicados hasta el momento acerca de la función de la microbiota anaeróbica involucrada en las últimas fases de degradación de la materia orgánica, se ha establecido que en los sistemas marinos anaeróbicos, la remineralización del carbono orgánico básicamente se efectúa por las bacterias sulfatorreductoras y en menor proporción por las bacterias metanógenas (Oremland y Taylor, 1978; Mountfort *et al.*, 1980; Senior *et al.*, 1982). La sulfatorreducción representa aproximadamente el 53% de la mineralización total del material orgánico en sedimentos costeros, sin embargo esta característica puede variar en sistemas con diferentes condiciones hidrológicas y climáticas. Existen diversas investigaciones que se han efectuado sobre la función de las bacterias sulfatorreductoras y metanógenas en los procesos anaerobios de descomposición de la materia orgánica en sedimentos marinos (Abram y Nedwell, 1978; King *et al.*, 1983; Lovley *et al.*, 1982; Lovley y Klug, 1983; Martens y Berner, 1974; Oremland *et al.*, 1982; Oremland y Polcin, 1982; Sansone y Martens, 1981; Senior *et al.*, 1982 y Winfrey y Ward, 1983; Fukui, *et al.*, 1997), los resultados de estos estudios apoyan el concepto de que las bacterias sulfatorreductoras son el grupo dominante durante la descomposición de la materia orgánica en sedimentos con exceso de sulfatos y que pueden competir con las bacterias metanógenas por fuentes comunes de energía.

No obstante lo anterior, se llegan a presentar bacterias metanógenas y el metano es producido en pequeñas cantidades en estos sedimentos (King, 1984). Se han aislado diferentes tipos de bacterias metanógenas en los sedimentos marinos, pero poco se conoce acerca de su abundancia y de los factores que la determinan. Las bacterias metanógenas han recibido atención principalmente desde el punto de vista de su

bioquímica. Aunado a lo anterior, los estudios existentes sobre biogeoquímica microbiana en ambientes costeros se han llevado a cabo principalmente en ecosistemas acuáticos de latitudes templadas (Winfrey y Ward, 1983) y escasamente en ecosistemas de regiones tropicales (Ramamurthy *et al.*, 1990; Mohanraju y Natarajan, 1992; Fukui, *et al.*, 1997).

Las investigaciones microbiológicas realizadas en México en las zonas estuarinas-lagunares han estado encaminadas básicamente hacia la microbiología de tipo sanitario (Flores *et al.*, 1978; Rivas y Méndez, 1990; Barrera-Escorcia *et al.*, 1999) y escasamente a la ecología microbiana; en este último punto los estudios existentes hacen referencia a las poblaciones de bacterias anaeróbicas que efectúan el proceso de fotosíntesis (Stolz, 1986, 1990); así como el trabajo de Pérez-González y Morales-Manilla (1985) sobre la actividad metanogénica en sedimentos de la laguna de Términos, Campeche.

Los ambientes costeros tanto del Golfo como del Pacífico mexicanos, principalmente se han analizado desde el punto de vista físico, químico, biológico y de contaminación. En el caso específico del sistema lagunar de Alvarado-Camaronera se han efectuado numerosos trabajos, destacándose los que se refieren a los aspectos de geología (Raz-Guzmán, *et al.*, 1987), físico-química (Sevilla y Chee, 1974; Villalobos *et al.*, 1975 y Chee, 1981), así como de sus comunidades biológicas (Altamirano *et al.*, 1985; Flores y Méndez, 1982; Alvarez y Luna, 1991; García, 1988; García y Soto, 1990), sin olvidar los aspectos de impacto, conservación, uso y manejo (Contreras, 1993). A pesar de que este sistema lagunar es uno de los más estudiados con 262 referencias bibliográficas (Castañeda y Contreras, 1994), no existen investigaciones acerca de los microorganismos involucrados en los diferentes ciclos biogeoquímicos.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1. Objetivo General.**

Efectuar, a lo largo de un ciclo anual, la caracterización de la microbiota anaeróbica implicada en los principales procesos bacterianos que contribuyen al reciclamiento terminal de la materia orgánica en el sedimento del sistema lagunar Alvarado-Camaronera en el Estado de Veracruz.

### **4.2. Objetivos particulares.**

- Cuantificar, en un ciclo anual, las bacterias sulfatorreductoras que utilizan lactato y propionato en el sedimento de las lagunas de Alvarado y Camaronera.
- Cuantificar, en un ciclo anual, las bacterias metanógenas que utilizan acetato,  $H_2$ - $CO_2$  y metanol en el sedimento de las lagunas de Alvarado y Camaronera.
- Analizar los parámetros químicos y físicos del sedimento a diferentes profundidades y en un ciclo anual en las lagunas de Alvarado y Camaronera.
- Establecer las posibles relaciones entre las cuantificaciones de la microbiota anaerobia y los parámetros físicos y químicos de los sedimentos.

## **5. HIPÓTESIS**

### **5. 1. Hipótesis General.**

Si la abundancia de las bacterias sulfatorreductoras y metanógenas, que participan en la degradación anaerobia de la materia orgánica en los sedimentos de ambientes costeros depende de diversos parámetros ambientales como temperatura, pH, Eh y disponibilidad tanto de donadores como de aceptores de electrones; entonces los cambios en éstos en una laguna costera que se presenten en el transcurso de las diferentes épocas climáticas, deberán producir cambios en las cuantificaciones de la microbiota anaerobia.

### **5. 2. Hipótesis Particulares.**

1. Si hay una relación directa y positiva entre la temperatura y la actividad sulfatorreductora y metanogénica, es de esperarse que en la temporada de secas cuando se presenta la máxima insolación y por consiguiente un incremento de la temperatura; entonces la abundancia de las bacterias sulfatorreductoras y metanógenas aumentará.
2. Si los valores de pH próximos a la neutralidad y las condiciones reductoras en el sedimento favorecen el desarrollo de las bacterias sulfatorreductoras y de las metanógenas; entonces condiciones muy ácidas o alcalinas, así como la oxidación del sedimento crearán características desfavorables para el crecimiento de dichas poblaciones microbianas.
3. Si hay una relación directa entre el contenido de sulfatos y las bacterias sulfatorreductoras, y una relación inversa entre los sulfatos y las bacterias metanógenas; podría esperarse que en la temporada climática en la cual disminuyan éstos, la abundancia de bacterias sulfatorreductoras disminuirá y la de las bacterias metanógenas aumentará.

4. Si hay una relación directa entre la cantidad y calidad de los substratos orgánicos y la abundancia de bacterias sulfatorreductoras y metanógenas; entonces en la temporada climática en donde aumenten los aportes de materiales orgánicos al ecosistema costero, la abundancia de las poblaciones sulfatorreductoras y metanógenas se incrementará.

## 6. ÁREA DE ESTUDIO

El presente trabajo se llevó a cabo en el complejo estuarino-lagunar de Alvarado-Camaronera, constituido por la laguna de Alvarado propiamente dicha, y las lagunas de Buen País, Tlalixcoyan y Camaronera. Este complejo se ubica en las costas del Golfo de México en el Estado de Veracruz (Contreras, 1993), entre los paralelos 18° 45' y 18° 52' de latitud norte y los meridianos 95° 49' y 95° 58' de longitud oeste (Fig. 1).

Según García (1980) la región es del clima tipo Aw2(i'), es decir, caliente subhúmedo (el más húmedo de los subhúmedos) con lluvias en verano; la temperatura media anual está sobre los 26°C y la temperatura media del mes más frío sobre los 18°C, con una oscilación entre 5-7°C. El régimen climático de la zona está caracterizado por tres temporadas: una de secas, que abarca los meses de marzo a mayo, una de lluvias en verano, que comprende los meses de junio a octubre, y la de "nortes", durante los meses de noviembre a febrero.

Por su origen, Lankford (1977) clasifica a este ecosistema en dos categorías: II-B y I-D; la categoría II-B (Sedimentación Terrígena Diferencial de Depresión Deltaica de Barrera) se refiere a lagunas costeras asociadas con sistemas deltaicos fluviales producidos por sedimentación irregular y subsidencia superficial debida a efectos de compactación y carga, asimismo, son lagunas geológicamente jóvenes con barreras principalmente arenosas y de energía baja, excepto en los canales de circulación. El tipo I-D (Erosión Diferencial y Boca de Valle Inundado con Barrera) indica que la laguna es una depresión formada por procesos no marinos durante el descenso del nivel medio del mar, inundada durante la transgresión del Holoceno presentando una barrera física y un escurrimiento continuo.

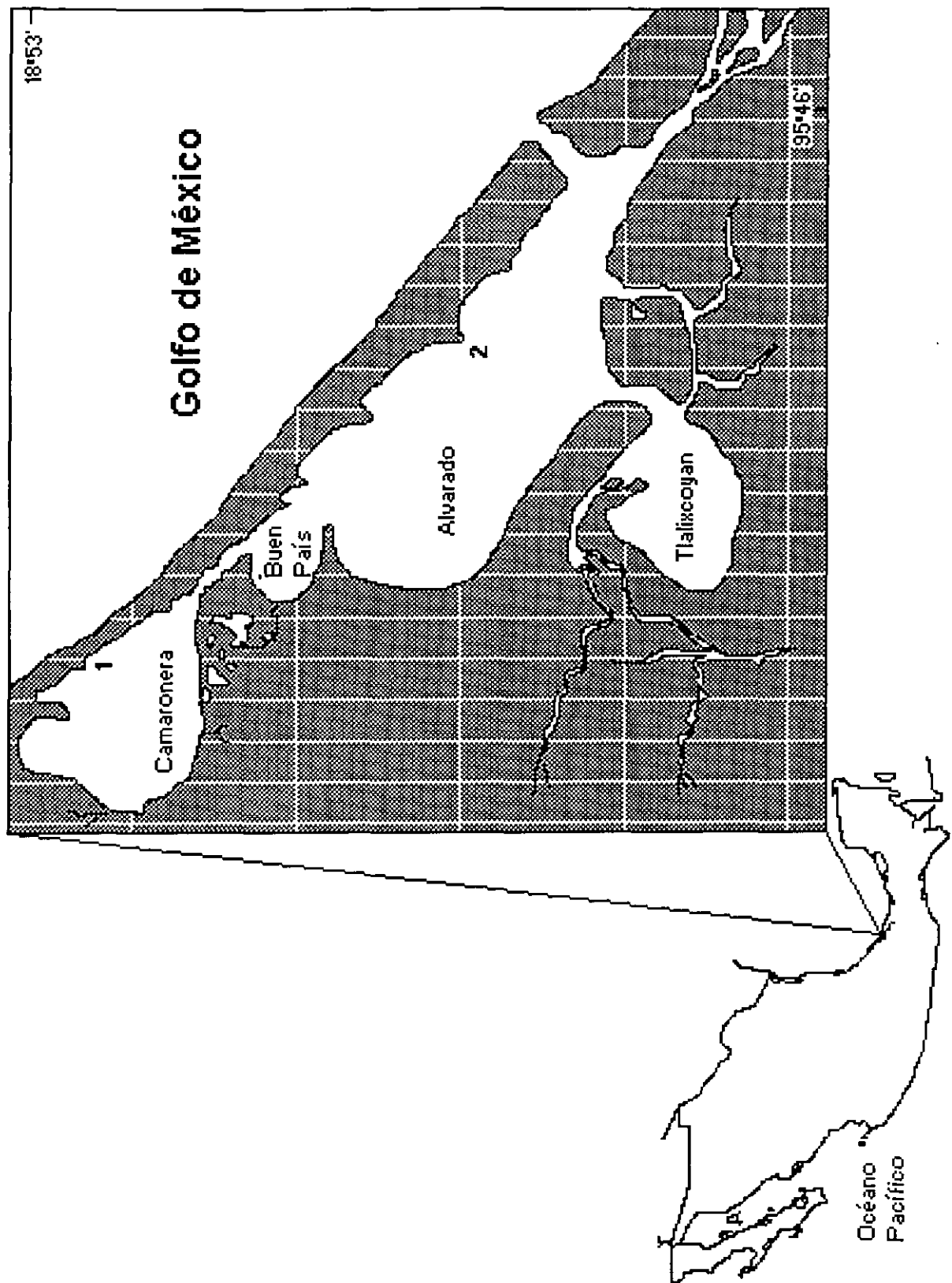


Fig. 1. Localización del área de estudio y estaciones de muestreo.



Tectónicamente el sistema acuático se clasifica dentro de la unidad morfotectónica II (Carranza-Edwards *et al.*, 1975) por tener una llanura costera angosta cuyos sedimentos son plio-pleistocénicos formados esencialmente por piroclásticos derivados posiblemente del área volcánica de los Tuxtlas o del Pico de Orizaba.

El tipo de sedimentos en la zona sureste del sistema lagunar es arenoso (2.8%-74.6%) y de carbonatos (6.0%-15.4%), en el resto de la laguna se hallan combinaciones sedimentarias limo-arcillosas y areno-limo-arcillosas. Los contenidos de materia orgánica oscilan entre 6.1 y 9.25% en el margen interno de la barra de Alvarado y entre 9.0 y 10.1% en el sector norte, donde prevalecen sedimentos limo-arcillosos. El sector norte del subsistema de la laguna Camaronera presenta sedimentos limo-arcillosos (71.6%-84.3%) y un alto contenido de materia orgánica (9.0%-10.1%) procedente del detritus de la vegetación acuática; el sureste tiene una textura arenosa con un 95.3% (Raz-Guzmán *et al.*, 1987).

Desde el punto de vista hidrodinámico, se puede considerar que el total del área tiene un oleaje de energía intermedia, excepto en el verano por la existencia de huracanes tropicales y en el invierno por la presencia de "nortes", que son tormentas asociadas con el movimiento hacia el sur de masas de aire polar durante los meses de noviembre a febrero, y cuya velocidad en ocasiones excede los 165 km/hr. Las mareas en la zona son de tipo diurno, es decir, que en el transcurso de 24 horas se presenta una marea alta y una marea baja (Davis, 1977).

La laguna de Alvarado se extiende longitudinalmente en dirección este-oeste (E-O) a lo largo de 17 km, tiene una superficie aproximada de 6,200 ha y un ancho de 4.5 km; su comunicación con el mar tiene un ancho de 400 m y está orientada hacia el norte. La

laguna Camaronera tiene su eje mayor paralelo a la costa que forma parte del complejo lagunar de Alvarado. Se ubica al norte y se separa del sistema Alvarado-Buen País por un estrecho canal de comunicación. Tiene una superficie aproximada de 3,900 ha y una profundidad media de 1m; actualmente, cuenta con una boca artificial construida en diciembre de 1980 y formada por dos tubos que permiten el paso del agua de mar cuando sube la marea (Rosales *et al.*, 1986).

El principal río que desemboca en el complejo lagunar llega por el suroeste y es el Papaloapan. Éste es un río permanente que aporta diariamente 40 millones de metros cúbicos de agua en promedio a la laguna y tiene un balance positivo de gasto porque siempre vence las barreras provocadas por la marea. Otros ríos que fluyen al sistema son el Acula y el Blanco, los cuales son de menor caudal y desembocan directamente en la Laguna de Tlalixcoyan, para pasar posteriormente a Alvarado; como a lo largo del río Blanco se ha establecido un importante distrito industrial, esta corriente contribuye significativamente al aporte de materia orgánica a la laguna y su volumen medio anual de escurrimiento es de 1,813 millones de metros cúbicos (Gutiérrez *et al.*, 1990). A partir de los aportes marino y dulceacuícola, se ha establecido que en la época de secas el sistema de Alvarado se puede clasificar como mesohalino, no obstante al iniciarse la temporada de lluvias la salinidad desciende marcadamente y las características son oligohalinas (Perkins, 1974). El intervalo de salinidad presente en la laguna de Alvarado es de 1.87 a 21.40 ups, mientras que en la laguna Camaronera la salinidad oscila entre 4.05-15.96 ups.

Los principales tipos de vegetación que se desarrollan en el área son comunidades arboladas (manglar) y comunidades de herbáceas (hidrófitas enraizadas emergentes e hidrófitas libremente flotadoras). El manglar es el tipo de vegetación que destaca en la

zona de estudio, se desarrolla en las márgenes de la laguna y está constituido por las especies *Rhizophora mangle*, *Avicennia germinans* y *Laguncularia racemosa*, siendo los dos primeros los más importantes, aunque hay variaciones entre el manglar no alterado y el alterado, ya que en algunas zonas se le ha sometido a desmontes o se ha talado para usar el suelo en actividades de cultivos, establecimiento de viviendas rurales y pastoreo de ganado vacuno. La producción primaria por manglar presenta sus valores más elevados durante la época de lluvias, registrándose aproximadamente 200 g/m<sup>2</sup>/mes de producción de hojarasca en la zona de Tlalixcoyan y 43.3 g/m<sup>2</sup>/mes en Camaronera (Tovilla, 1990; Tovilla y González, 1994)).

Las hidrófitas enraizadas emergentes se desarrollan en las áreas someras de la desembocadura de los ríos, *Typha latifolia* crece cerca de las zonas perturbadas, mientras que las especies *Hymenocallis litoralis* y *Pontederia sagittata* crecen en las orillas del manglar. La comunidad de especies libre-flotadoras se presenta a lo largo del año, pero su abundancia aumenta durante la época de lluvias en las zonas donde desembocan los ríos y que por efecto de las corrientes, son arrastradas hacia la laguna; las especies que dominan dicha comunidad son *Eichhornia crassipes*, *Lemna* spp., *Pistia stratiotes* y *Salvinia auriculata*.

La vegetación sumergida es fundamentalmente *Ruppia maritima*, la cual forma algunas praderas de pequeña extensión en las cercanías de Barra Vieja, la velocidad de crecimiento de esta fanerógama es mayor a principios de la temporada de lluvias (Tovilla y García, 1990) y sus hojas sirven como sostén para numerosos invertebrados. En el margen interno de la barra de Alvarado se presentan manchones de la rodofita *Gracilaria* sp. (Raz-Guzmán *et al.*, 1987). En la laguna Camaronera prácticamente todo el contorno de la laguna se rodea de manglar y en pequeños tramos de pastos halófitos; entre éstos

se cuentan palmeras y algunos árboles medianos y grandes pertenecientes a la selva pantanosa como zapote bobo, uvero, agapote y moral (Contreras, 1993).

En el sistema lagunar, referente a las comunidades de organismos planctónicos existe una variación estacional en el fitoplancton, la cual registra su máximo volumen de enero a marzo. Asimismo, la productividad primaria atribuida al fitoplancton registra sus valores más altos en los meses de enero y junio, mientras que los más bajos estuvieron en agosto; la máxima actividad fotosintética se cuantificó entre las 12:00 y las 16:00 horas (Adame *et al.*, 1989)

En lo que respecta al zooplancton, como la laguna de Alvarado está fuertemente influenciada por los aportes dulceacuícolas, la salinidad existente en el sistema constituye una limitante para la invasión de copépodos marinos, siendo *Acartia tonsa* la única especie que domina numéricamente durante todo el año (Alvarez y Luna, 1990). En la laguna de Camaronera, con la entrada de agua marina, se registran poblaciones de camarones peneidos, mayores a lo reportado para la boca de Alvarado. La máxima abundancia se detecta en la temporada de "nortes", con una dominancia de *Penaeus setiferus* sobre *Penaeus aztecus* (De la Torre *et al.*, 1987). Asimismo, en el sistema lagunar se han registrado poliquetos, larvas de peces, moluscos, tintínidos, ctenóforos, larvas de crustáceos, anélidos e insectos. En el caso del ictioplancton también la diversidad es baja debido a la alta tasa de cambio existente en la laguna y por la escasa influencia marina, donde la especie ictioplanctónica dominante es *Anchoa mitchilli*, seguida por *Dormitator maculatus* y *Gobiosoma bosci*; sin embargo, debido a la condición hipohalina del sistema se estima que la zona no es un área de crianza propicia para especies marinas (Flores y Méndez, 1982; Flores, 1985).

Por lo que respecta a la distribución de las comunidades bentónicas, ésta se da en función de la salinidad, la temperatura y el porcentaje de carbonatos, mientras que su diversidad está regulada por la biomasa de *Ruppia maritima*. La comunidad bentónica es estable debido a la diversidad de hábitats producidos por la abundancia de algas rojas y verdes filamentosas en la época de lluvias, y a la interacción de los factores biológicos (depredación y competencia) con el ambiente (García, 1988). Las especies bentónicas dominantes son peracáridos con representantes de tres ordenes: Isopoda (*Cassidinea lunifrons*), Tananaidacea (*Discapseudes holthuisi*, *Leptocheilia savigny* y *Hargeria rapax*) y Amphipoda (Winfield y Bedía, 1991); dentro del grupo de los moluscos, se han reportado especies de las clases Gastropoda y Bivalvia, destacando por su abundancia *Rangia flexuosa*, *Neritina reclinata*, *Mulinia lateralis* y *Littoridina sphyngtostenea* (Reguero y García-Cubas, 1989). Entre los organismos bentónicos de importancia comercial destacan la almeja prieta, la callo, la casco de burro, el camarón blanco, el camarón prieto (*Penaeus* sp.), la jaiba (*Callinectes* sp.) y el ostión (*Crassostrea* sp.) (Ramírez y Hernández, 1988).

Entre las especies nectónicas destaca el hecho de que un buen número de estos organismos son de importancia comercial: el chucumite (*Centropomus parallelus*), la lancha (*Brevoortia patronus*), mojarra blanca (*Eugerres* sp.), corvina (*Cynoscion arenarius*), bagre (*Ictalurus* sp.), jurel (*Caranx hippos*) y lisa (*Mugil cephalus*).

Otras comunidades biológicas que se han indentificado en la zona incluyen 16 especies de anfibios, 39 de reptiles (Altamirano *et al.*, 1987) y 210 de aves, incluyéndose en éstas a las especies residentes, migratorias, transitorias y residentes de verano (Ramírez, 1987).

## 7. MATERIAL Y MÉTODOS

### 7.1. Estandarización de las técnicas para la cuantificación de las bacterias sulfatorreductoras.

Respecto a la metodología utilizada para la cuantificación de las bacterias sulfatorreductoras, es importante mencionar que a pesar de que existen diferentes técnicas de conteo y medios de cultivo empleados para la cualificación y cuantificación de este grupo bacteriano, en el presente estudio se hizo necesario efectuar previamente una comparación de algunas de ellas para adecuarlas a una aplicación en sistemas estuarino-lagunares tropicales, de tal forma que permitiesen obtener enumeraciones representativas de la microbiota involucrada en este proceso fundamental de la biogeoquímica sedimentaria.

En cuanto a las técnicas de conteo que se compararon, éstas fueron: el agar profundo (AP), el tubo rodado de Hungate (1966) o "roll tube" (TR) y el número más probable (NMP). Los tres métodos coinciden en la inoculación de muestra en un medio de cultivo prereducido, por inyección con una jeringa hipodérmica y a través de un septo de goma colocado en la parte superior de un tubo de cultivo Hungate cerrado; sin embargo, cada una de ellas tiene sus particularidades: las técnicas del AP y del TR utilizan medios de cultivo sólidos que permiten el aislamiento individual de las colonias; en el AP las colonias quedan embebidas en el agar cuando éste se solidifica en la parte inferior del tubo, mientras que en el TR, las colonias se desarrollan a lo largo de las paredes internas del tubo donde se distribuye el medio. En el caso del método del NMP se emplea un medio líquido y la densidad media de las bacterias es estimada con base en fórmulas probabilísticas (Rodina, 1971).

Los medios de cultivo estudiados fueron el de Postgate (1963), el cual estuvo sujeto a modificaciones para evitar la formación de un precipitado negro desde el comienzo de la inoculación; el de Ueki *et al.*, (1980) y el de Balch *et al.*, (1979) empleando lactato y propionato como substratos. En los medios de Postgate y Ueki, el desarrollo de bacterias sulfatorreductoras se detecta por el crecimiento de colonias de color negro; mientras que en el medio de Balch, el crecimiento bacteriano se detecta colorimétricamente agregando una solución de sulfato de cobre ( $\text{CuSO}_4$ ) 5N a los cultivos al finalizar su período de incubación. Los inóculos utilizados para fines de estandarización fueron sedimentos provenientes del estero La Ventosa en Salina Cruz, Oaxaca y lodos de un reactor anaerobio de flujo ascendente (UASB).

## **7.2. Procedimiento de Campo**

Estaciones de Muestreo. Las muestras se colectaron en dos estaciones, una en Camaronera y otra en Alvarado (Fig. 1). La estación en la laguna Camaronera quedó ubicada en la inmediación a los tubos de comunicación entre la laguna y el mar. Se caracterizó por presentar restos de conchas en la fase sedimentaria. La estación de Alvarado se localizó en la región denominada Punta Grande, cercana a un lecho de vegetación sumergida. Cabe señalar que ambas estaciones se encuentran próximas a zonas de manglar y en el caso de Camaronera en el margen aldaño a la estación, hay viviendas rurales.

El muestreo se realizó a lo largo de un ciclo anual que permitió abarcar las principales características climáticas de la región: secas (mayo, 1990 y abril, 1991), lluvias (julio, 1990) y "nortes" (enero, 1990 y noviembre, 1990).

En cada uno de los meses señalados se colectaron muestras de sedimentos por duplicado, tanto en la estación de Alvarado como en la de Camaronera, con un nucleador constituido por un tubo de acrílico de 4.5 cm de diámetro y 45 cm de longitud, dicho tubo presenta una serie de orificios de 1.5 cm de diámetro dispuestos en espiral a lo largo de los primeros 20 cm inferiores y separados entre sí por una distancia de 3 cm. A través de estos orificios se efectuaron cuantificaciones de diversos parámetros (temperatura, pH y Eh) a varias profundidades de la columna sedimentaria, sin alterar la estratificación natural del sistema y con una exposición mínima de la muestra al aire.

A un par de muestras colectadas se les determinó *in situ* la temperatura, pH y Eh a 3, 6, 9, 12, 15 y 18 cm de profundidad durante los muestreos de enero, mayo, julio y noviembre. En abril las determinaciones se realizaron a las profundidades de 5, 10, 15 y 20 cm.

Para la medición de la temperatura se utilizó un termómetro con un intervalo de -10 a 60°C y una exactitud de +/- 0.1°C.

La concentración del ion hidrógeno (pH) y el potencial redox (Eh) se evaluaron con un loanalizador marca Orion Research modelo 399A. El potencial redox se midió *in situ* con un electrodo de platino Instrulab de un diámetro máximo de 15 mm, mientras que el electrodo de referencia fue un Instrulab de calomel saturado, con un potencial de referencia de 198 mV adicionado al valor medido, los electrodos se conectaron a través del loanalizador y se reportaron los potenciales medidos en mV. El electrodo de referencia se insertó en el centro del núcleo y el de platino en cada uno de los estratos sedimentarios, dejándose transcurrir 15 minutos antes de tomar la lectura para permitir su estabilización; después de cada lectura el electrodo de platino se enjuagó con agua



bidestilada. Durante el muestreo de campo se estandarizaron rutinariamente los electrodos con solución ZoBell (0.003M de ferrocianuro de potasio y 0.1M de cloruro de potasio) teniéndose un valor de Eh de 431 mV a 25°C (Langmuir, 1971).

Concluidas las mediciones en el campo, estos núcleos se transportaron al laboratorio a baja temperatura (-4°C) para continuar su análisis.

El otro par de núcleos se fijo con una solución de acetato de zinc al 10% para evitar la pérdida de sulfatos.

### **7.3. Procedimiento de Laboratorio**

En el laboratorio los dos núcleos fijados con acetato de zinc se destinaron a las determinaciones de salinidad, sulfatos y granulometría.

Para la evaluación de la salinidad, los sulfatos y el tipo de grano se extrajo la muestra de sedimento de cada núcleo, se homogeneizó y centrifugó a 3 600 r.p.m. durante 30 minutos para separar el agua intersticial del sedimento (Howes, 1985). En el agua intersticial se determinó la salinidad por medio de un refractómetro marca American Optical, mientras que los sulfatos se cuantificaron por el método turbidimétrico descrito en APHA (1989), con la muestra diluida. La técnica utilizada para la determinación del tamaño de los sedimentos se realizó a través del análisis granulométrico, el cual consiste en separar la fracción gruesa (<0.0625 mm de diámetro), de la fracción lodosa mediante tamizado en húmedo. La porción limo/arcilla se analizó utilizando el método de pipeteo descrita por Folk (1969) y Allen (1981). Los tamaños correspondientes a la fracción gruesa (arena) se determinaron con la técnica de Emery (1938).

Por lo que se refiere a los núcleos transportados a baja temperatura, al llegar al laboratorio fueron dejados en una cámara de vacío durante 12 horas, para proceder posteriormente al análisis microbiológico. Al día siguiente, el par de núcleos dejado en la cámara de vacío se llevaron a la cámara anaeróbica donde se les extrajo el sedimento, el cual fue homogeneizado para proceder a la caracterización microbiológica; ésta comprendió la cuantificación de las bacterias sulfatorreductoras y metanógenas, completándose con una evaluación de la actividad cinética a partir de acetato.

El grupo de bacterias sulfatorreductoras se enumeró por medio del tubo rodado (roll tube) de Hungate (1969), usando cinco tubos por dilución y empleando la modificación del medio de cultivo de Postgate (1963) (ver Apéndice Metodológico); los substratos empleados fueron lactato y propionato, realizando además para el muestreo de abril cuantificaciones a partir de acetato. En este último muestreo hay que destacar que la cuantificación de las poblaciones sulfatorreductoras, se efectuó a dos profundidades del sedimento (5 y 15 cm). Los tubos rodados se incubaron a 32°C durante 7 días, contándose como bacterias sulfatorreductoras las colonias de color negro.

Para la microbiota metanógena se llevaron a cabo cuantificaciones de los grupos nutricionales que utilizan acetato, H<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub>, metanol y metilaminas. Estas últimas sólo se evaluaron en el mes de abril a las mismas profundidades que las sulfatorreductoras. En la cuantificación de las bacterias metanógenas se empleó la técnica del número más probable (NMP) con cinco tubos por dilución y el medio básico de Balch *et al.*, (1979). Los tubos se incubaron a 32°C durante mes y medio, al término del cual, se evaluaron como positivos los tubos que mostraron turbidez del medio, acompañada por la producción de metano, el que fue analizado en un cromatógrafo de gases marca Hewlett-Packard

modelo 5890 equipado con un detector de ionización de flama (FID). Se empleó una columna de vidrio empacada con Porapack QS. La temperatura del inyector fue de 150°C, la temperatura de la columna de 100°C y la del detector de 200°C. Se utilizó N<sub>2</sub> como gas acarreador, la tasa de flujo fue de 30 ml/min. Se removieron 5 µl de la fase gaseosa de los tubos de cultivo y se inyectó directamente en el cromatógrafo de gases. Los procedimientos detallados de la caracterización microbiológica se encuentran en el apéndice metodológico.

En el estudio de la actividad cinética a partir de acetato, se procedió a tomar por duplicado submuestras del sedimento de 8.0 ml cada una en cada estación (Alvarado y Camaronera) y se dejaron en crecimiento en el medio de cultivo de Balch para propiciar el consumo de substrato y la producción de metano, tanto en presencia como en ausencia de sulfatos. La cinética de formación y consumo de dicho elemento se siguió durante un periodo de tres días con intervalos de 4 horas, analizando la fase líquida del cultivo por cromatografía de gases.

El acetato fue analizado por cromatografía de gases, usando un detector de ionización de flama (FID) y una columna de acero inoxidable empacada con Porapack Q (80-100 de malla). El acetato se analizó con las siguientes condiciones: el flujo del gas acarreador, nitrógeno, fue de 30 ml/min. Las temperaturas del inyector, columna y detector fueron 100°C, 120°C y 170°C, respectivamente. El flujo del H<sub>2</sub> y del aire fueron de 30 y 300 ml/min, respectivamente.

Al concluir el análisis microbiológico, el resto de la muestra se procesó para determinar el contenido de sólidos, sulfuros y carbohidratos. Los sólidos totales suspendidos fijos y volátiles se evaluaron siguiendo las recomendaciones de APHA (1989). El contenido de

sulfuros se cuantificó siguiendo el método Colorimétrico de Cordrowisch (1985), preparando el estándar y las muestras bajo condiciones anóxicas estrictas. Los carbohidratos totales se analizaron por la técnica de Dubois (1956) y Strickland y Parsons (1972), previa preparación de los lodos. Hay que mencionar que durante los muestreos de enero, mayo, julio y noviembre se realizaron todos los análisis descritos con anterioridad en la muestra de sedimento total, mientras que en el mes de abril se llevaron a cabo en los estratos de 5 y 15 cm de profundidad.

#### **7.4. Análisis estadístico de los resultados.**

Con los datos disponibles se estructuraron dos tipos de análisis. En un primer análisis se ordenaron los datos de temperatura, pH y Eh por nivel de profundidad y mes, considerando 6 profundidades determinadas en 4 meses (matriz total de datos: 6 profundidades x 4 meses= 24 datos) para cada laguna. El propósito de este arreglo de los datos fue el de evaluar el grado de variabilidad de la temperatura, pH y Eh en función de los factores profundidad y mes. Con estos mismos datos se realizó un análisis de correlación entre las tres variables mencionadas. Para evaluar la posible relación entre la temperatura, pH y Eh en cada laguna se aplicó la prueba de correlación por intervalos de Spearman, en la cual se utilizan los intervalos de los valores más que los valores en sí mismos de cada variable (Steel y Torrie, 1988).

Dispuestas así las tres variables para cada laguna, se analizó el nivel de ajuste de los datos a una distribución normal, resultando que en todos los casos el tipo de distribución difirió significativamente de una distribución normal. Por la razón anterior se decidió utilizar pruebas no paramétricas, además de que los estadígrafos (o estadísticos) no paramétricos se aplican a una amplia clase de distribuciones más que a una distribución

única o a todas las distribuciones posibles.

Se utilizó un análisis de varianza no paramétrico por intervalos de un factor de Kruskal-Wallis, por medio del cual se analiza la varianza de los intervalos entre los valores y no los promedios dentro de sus intervalos de variación máxima, eliminando principalmente la influencia de las medias y el tipo de distribución de cada uno de los datos dispersados alrededor de éstas.

El segundo análisis fue ordenado de acuerdo a los datos puntuales de cada mes (4 meses) para cada una de las 20 variables determinadas en cada laguna. Como sólo se determinaron para cada variable un sólo dato por laguna y por mes, no se pudieron realizar análisis de varianza por algún factor de variación ni de correlación entre las variables.

Con las variables así organizadas (4 datos por variable= 4 meses) por laguna, se aplicó una prueba no paramétrica de comparación de dos muestreos independientes con el propósito de definir si los valores de cada parámetro provienen de un mismo tipo de distribución o presentan valores medios similares entre cada laguna. La prueba aplicada fue la de Mann-Whitney y de intervalos promedios. Dicho procedimiento combina y ordena los datos por sus intervalos de variación entre los dos muestreos; posteriormente los intervalos son sumados para todas las observaciones contenidas en cada muestra y calcula un estadístico para comparar los intervalos promedios. Si el valor del estadístico Z es alto se debe rechazar la hipótesis nula de que los muestreos poseen una localización idéntica de los parámetros analizados.

## 8. RESULTADOS

### 8.1. Pruebas metodológicas.

De las pruebas efectuadas utilizando diferentes métodos y medios de cultivo, con la finalidad de estandarizar la técnica para la cuantificación de la microflora sulfatoreductora, los resultados de las comparaciones fueron los siguientes:

- en la técnica del Agar Profundo, el medio de cultivo se tornó totalmente de color negro a partir del segundo día de incubación, impidiendo de esta manera la cuenta de las colonias (Tabla 1).

- en la técnica del Número Más Probable, se detectaron positivos desde el comienzo de la inoculación; sin embargo, dichos positivos no necesariamente obedecieron a un crecimiento bacteriano en el tubo, sino a la presencia de sulfuro de hidrógeno en la muestra, que desde un comienzo reaccionaron con el  $\text{FeSO}_4$  presente en el medio, formándose el precipitado  $\text{FeS}$  de color negro (Tabla 1).

- en la técnica del Tubo Rodado, hubo una visualización clara de las colonias lo que permitió una cuenta fácil de las mismas, así como un posterior aislamiento si fuese necesario (Tabla 1).

**Tabla 1. Cuantificación de bacterias sulfatorreductoras por medio de diferentes técnicas de cultivo.**

Estero La Ventosa						
Abril						
Est.20						
Días	Agar Profundo		Tubo Rodado		NMP	
	bac/g SST	bac/g SSV	bac/g SST	bac/g SSV	bac/g SST	bac/g SSV
1	3.90E+09	5.50E+10	2.40E+09	3.40E+10	1.80E+08	2.50E+09
2	4.10E+09	5.80E+10	2.50E+09	3.60E+10	3.20E+09	4.50E+10
3	*	*	2.60E+09	3.70E+10	3.20E+09	4.50E+10
4	*	*	2.60E+09	3.70E+10	3.20E+09	4.50E+10
5	*	*	2.60E+09	3.70E+10	3.20E+09	4.50E+10
6	*	*	2.60E+09	3.70E+10	3.20E+09	4.50E+10
7	*	*	2.90E+09	4.00E+10	1.60E+10	2.36E+11

Est. 17						
Días	Agar Profundo		Tubo Rodado		NMP	
	bac/g SST	bac/g SSV	bac/g SST	bac/g SSV	bac/g SST	bac/g SSV
1	*	*	5.00E+08	6.00E+09	9.80E+07	1.10E+09
2	*	*	6.60E+07	7.70E+09	9.80E+07	1.10E+09
3	*	*	1.30E+09	1.50E+10	3.00E+09	3.60E+10
4	*	*	1.30E+09	1.50E+10	3.00E+09	3.60E+10
5	*	*	1.30E+09	1.50E+10	3.00E+09	3.60E+10
6	*	*	1.30E+09	1.50E+10	3.00E+09	3.60E+10
7	*	*	1.40E+09	1.60E+10	3.00E+09	3.60E+10

Reactor UASB						
Días	Agar Profundo		Tubo Rodado		NMP	
	bac/g SST	bac/g SSV	bac/g SST	bac/g SSV	bac/g SST	bac/g SSV
1	*	*	2.00E+12	3.26E+12	5.60E+10	9.00E+10
2	*	*	2.00E+12	3.26E+12	5.60E+10	9.00E+10
3	*	*	2.00E+12	3.26E+12	5.60E+10	9.00E+10
4	*	*	2.00E+12	3.26E+12	5.60E+10	9.00E+10
5	*	*	2.00E+12	3.26E+12	5.60E+10	9.00E+10
6	*	*	2.00E+12	3.26E+12	5.60E+10	9.00E+10
7	*	*	2.00E+12	3.26E+12	5.60E+10	9.00E+10

\* = medio de color negro desde el comienzo de la inoculación

- los medios de Ueki *et al.*, (1980) y de Balch, *et al.*, (1979) demostraron ser los menos adecuados, ya que el crecimiento bacteriano fue detectado a partir del tercer día del periodo de incubación; además, las cuentas finales obtenidos por medio de éstos fueron más bajos comparados con los realizados con el medio de Posgate modificado (Tabla 2).

**Tabla 2. Cuantificación de bacterias sulfatorreductoras mediante la técnica del NMP, utilizando diferentes medios de cultivo.**

Reactor UASB				
Junio				
Modificación al medio de Posgate				
Días	NMP-lactato		NMP-propionato	
	bac/g SST	bac/g SSV	bac/g SST	bac/g SSV
1	1.50E+09	3.60E+09	1.50E+09	3.60E+09
2	1.50E+09	3.60E+09	1.50E+09	3.60E+09
3	1.50E+09	3.60E+09	1.50E+09	3.60E+09
4	3.60E+10	8.70E+10	3.60E+10	8.70E+10
5	3.60E+10	8.70E+10	3.60E+10	8.70E+10
6	1.30E+12	3.30E+12	1.30E+12	3.30E+12
7	1.30E+12	3.30E+12	1.30E+12	3.30E+12

Medio Ueki				
Días	NMP-lactato		NMP-propionato	
	bac/g SST	bac/g SSV	bac/g SST	bac/g SSV
1	0	0	0	0
2	0	0	0	0
3	0	0	0	0
4	1.70E+10	4.00E+10	1.70E+10	4.00E+10
5	1.70E+10	4.00E+10	1.70E+10	4.00E+10
6	3.00E+11	5.40E+11	3.00E+11	5.40E+11
7	3.00E+11	5.40E+11	3.00E+11	5.40E+11



Días	Medio Balch NMP-lactato		NMP-propionato	
	bac/g SST	bac/g SSV	bac/g SST	bac/g SSV
1	1.50E+09	3.60E+09	1.50E+09	3.60E+09
2	1.50E+09	3.60E+09	1.50E+09	3.60E+09
3	1.50E+09	3.60E+09	1.50E+09	3.60E+09
4	5.00E+09	8.00E+09	5.00E+09	8.00E+09
5	5.00E+09	8.00E+09	5.00E+09	8.00E+09
6	5.00E+09	8.00E+09	5.00E+09	8.00E+09
7	6.00E+11	9.00E+11	6.00E+11	9.00E+11

## 8.2. Caracterización estacional.

### *Condiciones Sedimentarias.*

En los núcleos analizados, la temperatura fue constante con respecto a la profundidad del estrato sedimentario, tanto en Alvarado como en Camaronera (Tablas 3 y 4). En Alvarado se obtuvo un valor homogéneo de 27.0°C en el mes de enero. Durante el mes de mayo se registró un intervalo de temperatura de 31.0 a 32.0°C; en julio fue de 29.0 a 30.0°C y durante noviembre de 22.0 a 23.0°C. En enero, la fase sedimentaria en la laguna Camaronera se caracterizó por tener un intervalo de temperatura de 22.0 a 23.0°C; en el mes de mayo fue entre 30.0 y 32.0°C, en julio entre 28.0 y 29.0°C y en noviembre se presentó el mismo comportamiento que en enero.

En lo que se refiere al comportamiento anual de la temperatura en ambas estaciones se registró el valor más alto en el mes de estiaje (mayo) con un promedio de 31.3°C en Alvarado y 30.7°C en Camaronera, los cuales descienden hacia el periodo de lluvias (julio) con promedios de 29.6°C y 28.5°C para Alvarado y Camaronera, respectivamente. Los valores más bajos se alcanzaron en los meses asociados a la presencia de "nortes", en enero la temperatura promedio fue de 27.0°C en la laguna de Alvarado y de 22.6°C en la de Camaronera, mientras que en el mes de noviembre el promedio fue el mismo para ambas lagunas, con un valor de 22.5°C.

**Tabla 3. Cambios de la temperatura, pH y Eh con respecto a la profundidad de la columna sedimentaria en Alvarado, Ver.**

Mes	Profundidad cm	Temperatura °C	pH	Eh mV
Enero	-3	27.0	6.7	40
	-6	27.0	7.0	-80
	-9	27.0	6.7	-120
	-12	27.0	6.8	-130
	-15	27.0	7.0	-140
	-18	27.0	7.0	-160
Mayo	-3	32.0	7.0	50
	-6	32.0	7.1	-80
	-9	31.0	7.1	100
	-12	31.0	7.2	-130
	-15	31.0	7.6	-130
	-18	31.0	7.6	-140
Julio	-3	30.0	7.6	100
	-6	30.0	7.9	20
	-9	30.0	7.8	-30
	-12	29.0	7.6	-50
	-15	29.0	7.8	-100
	-18	30.0	7.4	-110
Noviembre	-3	23.0	6.6	30
	-6	22.5	6.5	-80
	-9	22.5	6.9	-100
	-12	22.5	6.8	-120
	-15	22.5	6.5	-150
	-18	22.0	6.6	-170

**Tabla 4. Cambios de la temperatura, pH y Eh con respecto a la profundidad de la columna sedimentaria en Camaronera, Ver.**

Mes	Profundidad	Temperatura	pH	Eh
Enero	cm	°C		mV
	-3	23.0	7.0	46
	-6	23.0	7.0	-80
	-9	23.0	6.8	-120
	-12	23.0	7.0	-140
	-15	22.0	7.3	-150
	-18	22.0	7.1	-150
Mayo	Profundidad	Temperatura	pH	Eh
	cm	°C		mV
	-3	32.0	7.1	20
	-6	31.5	7.3	-84
	-9	31.0	7.4	-100
	-12	30.0	7.5	-110
	-15	30.0	7.6	-120
-18	30.0	7.6	-120	
Julio	Profundidad	Temperatura	pH	Eh
	cm	°C		mV
	-3	29.0	8.1	110
	-6	28.5	8.2	50
	-9	28.5	8.2	20
	-12	28.5	8.1	-80
	-15	28.5	8.1	-100
-18	28.0	8.4	-110	
Noviembre	Profundidad	Temperatura	pH	Eh
	cm	°C		mV
	-3	23.0	7.2	40
	-6	22.5	7.1	-90
	-9	22.5	7.1	-110
	-12	22.5	6.8	-120
	-15	22.5	6.8	-150
-18	22.0	6.7	-170	

En cuanto a la salinidad del agua intersticial (Tabla 5), con base en el sistema de clasificación de Venecia (Perkins, 1974) en la temporada de secas se registraron condiciones  $\alpha$ -mesohalinas en Alvarado y  $\beta$ -mesohalinas en Camaronera. Durante el mes de julio, Alvarado se caracterizó por ser netamente dulceacuícola, mientras que Camaronera fue  $\alpha$ -oligohalina, este descenso de la salinidad fue el resultado de la acción de las lluvias y un mayor aporte dulceacuícola proveniente de los ríos. Por último, en los meses de "nortes" la laguna de Alvarado tuvo fluctuaciones de la salinidad entre  $\alpha$  y  $\beta$ -mesohalinas, por el contrario Camaronera tanto en enero como en noviembre presentó condiciones  $\beta$ -mesohalinas. Como puede observarse las variaciones fueron más acentuadas en la estación de Alvarado, como resultado de que esta laguna está sujeta a un mayor flujo dulceacuícola proveniente de los diferentes ríos que desembocan en ella (el Papaloapan principalmente en lluvias), aunado al hecho de que tiene mayor influencia marina debido a que la boca de comunicación con el mar es más grande que la de Camaronera (Figs. 2 y 3).

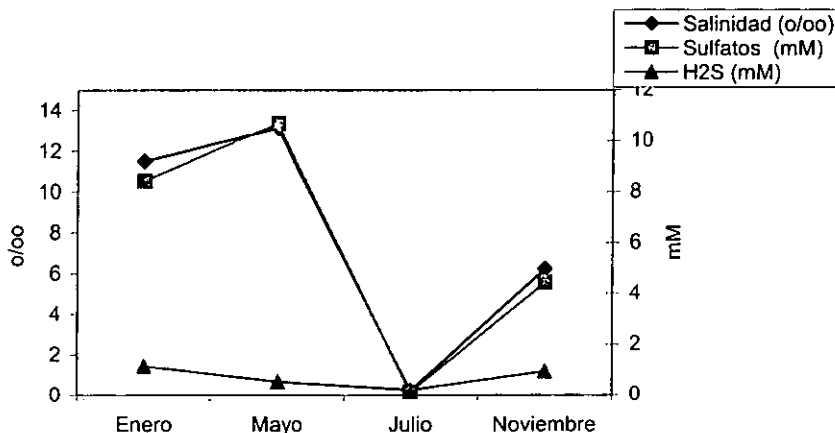
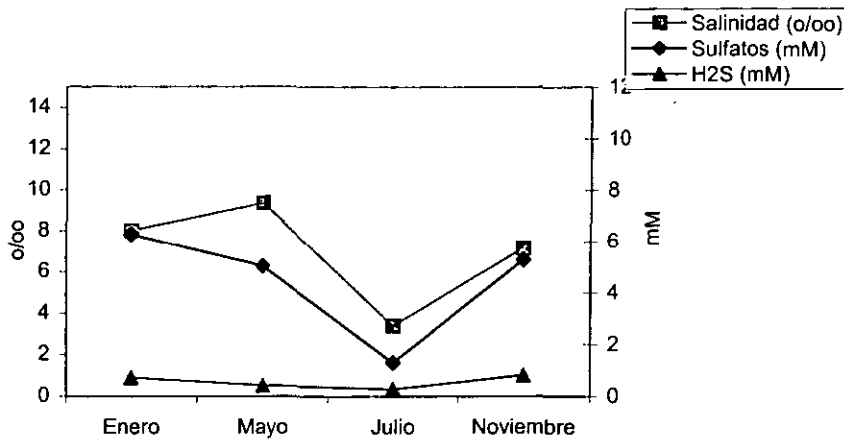


Fig 5. Variación estacional de la salinidad, sulfatos y H2S en el sedimento de la laguna Alvarado



**Fig 6. Variación estacional de la salinidad, sulfatos y H2S en el agua intersticial de la laguna Camaronera**

Junto con el cloro y el sodio, que son los dos principales iones que otorgan la característica de la salinidad, los sulfatos representan el tercer ion más importante de los medios marinos; por tal motivo, la variación de su concentración suele estar relacionada directamente con las fluctuaciones de la salinidad y a la vez con la actividad sulfatoreductora, puesto que los sulfatos son utilizados como el aceptor de electrones por la microbiota que efectúa dicho proceso. En Alvarado y Camaronera la variación de la concentración de sulfatos se relacionó principalmente con los cambios de la salinidad, manifestando similitud en ambas estaciones (Tabla 5), esto es, que los valores máximos se presentaron en el mes de secas y los mínimos en julio. En enero y noviembre se determinó un intervalo de 7.43 a 8.43 mM en Alvarado y de 8.25-8.27 mM en Camaronera. Cabe destacar también que los cambios fueron más acentuados en Alvarado en comparación a Camaronera (Figs. 2 y 3).

**Tabla 5. Variación estacional de la salinidad y formas de azufre en el complejo estuarino-lagunar de Alvarado-Camaronera, Ver.**

Alvarado			
Mes	Salinidad o/oo	Sulfatos mM	Sulfuros mM
Enero	11.5	8.43	2.14
Mayo	13.1	10.69	0.53
Julio	0.2	2.11	0.2
Noviembre	6.2	8.43	1.95
Camaronera			
Mes	Salinidad o/oo	Sulfatos mM	Sulfuros mM
Enero	8.0	8.25	1.71
Mayo	9.4	9.03	0.42
Julio	3.4	3.29	0.27
Noviembre	7.2	8.27	1.81

Además de los sulfatos se analizó otra forma involucrada en el ciclo del azufre y que fue el sulfuro de hidrógeno ( $H_2S$ ), ya que se considera que el proceso microbiano de la sulfatoreducción es el principal responsable de la formación de éste (Lein *et al.*, 1990). Las menores concentraciones del sulfuro de hidrógeno se determinaron en el mes de julio, asociado a la temporada de lluvias y las máximas en noviembre y enero; mientras que la época de estiaje se caracterizó por manifestar concentraciones intermedias a las anteriores (Tabla 5).

Los resultados del pH muestran que este parámetro fue relativamente constante con la profundidad en los estratos sedimentarios analizados (Figs. 4 y 5). Por otro lado, el pH al igual que la temperatura, mostró variaciones estacionales. Se registraron condiciones

neutras en secas, con un promedio de 7.2 para Alvarado y de 7.4 para Camaronera, estas condiciones del pH se modificaron hacia la alcalinidad durante el período de lluvias, siendo los valores promedio de 7.6 y 8.1 en Alvarado y Camaronera, respectivamente. Finalmente en la época de "nortes", se registró un pH ligeramente ácido en la laguna de Alvarado, con un promedio de 6.8 en enero y en noviembre de 6.6, mientras que en Camaronera los pH promedio indican de nuevo características neutras con un valor de 7.0 durante enero y de 6.9 en noviembre (Tablas 3 y 4).

En lo que se refiere al potencial redox (Eh), éste tuvo grandes cambios verticales (Figs. 4 y 5), reflejando condiciones oxidantes en los primeros 3 cm del sedimento tanto en la estación de la laguna de Alvarado como de Camaronera, haciéndose paulatinamente reductor conforme aumenta la profundidad de la columna sedimentaria.

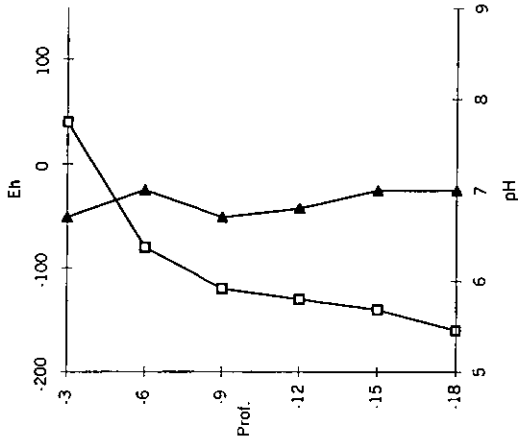
Aunado a los cambios verticales, las condiciones oxido-reductoras del sedimento se vieron modificadas en el transcurso del año (Tablas 3 y 4), registrándose características de óxido-reducción intermedias en la época de secas con intervalos de +50 a -140 mV y de +20 a -120 mV para Alvarado y Camaronera, respectivamente; durante julio hubo una tendencia en el sedimento hacia condiciones oxidantes con un intervalo de +100 a -110 mV en Alvarado y de +110 a -110 mV en Camaronera; por último el Eh se volvió más reductor en los meses de nortes correspondiendo con las máximas concentraciones de sulfuros, la presencia de éstos influyó en las condiciones reductoras del sedimento, detectándose que en los meses donde se registró la mayor concentración de sulfuros corresponde con un potencial redox más electronegativo. En el caso de Alvarado, durante el mes de enero se registró un intervalo del Eh de +40 a -160 mV y en noviembre de +30 a -170 mV. En la laguna Camaronera el intervalo fue entre +46 y -150 mV en enero y entre +40 y -170 mV en noviembre. Cabe señalar que en lo que se refiere a las



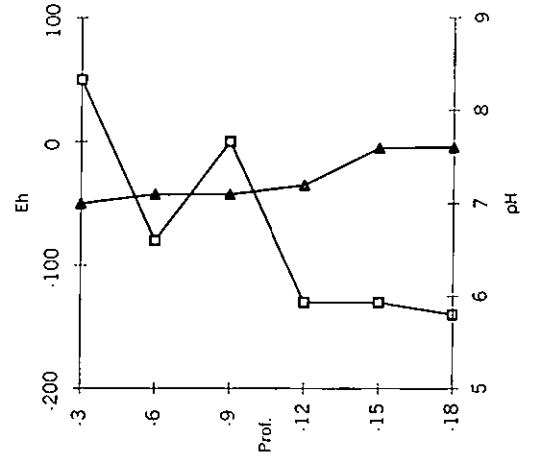
características de óxido-reducción del sedimento, éstas muestran una tendencia más reductora en la laguna de Alvarado que en la laguna de Camaronera.

Fig. 4. Variación vertical del pH y Eh en el sedimento de la Laguna de Alvarado en diferentes meses

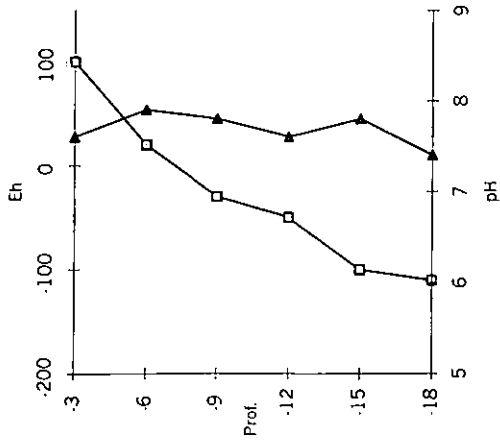
Enero



Mayo



Julio



Noviembre

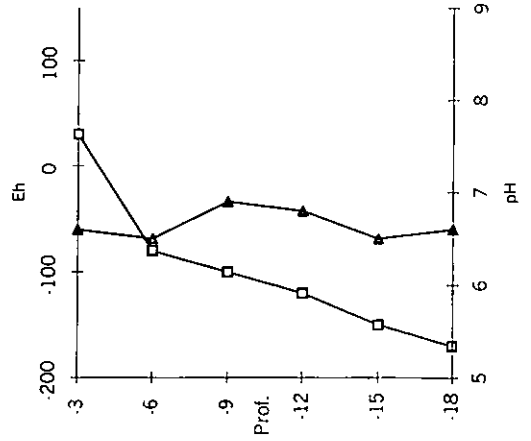
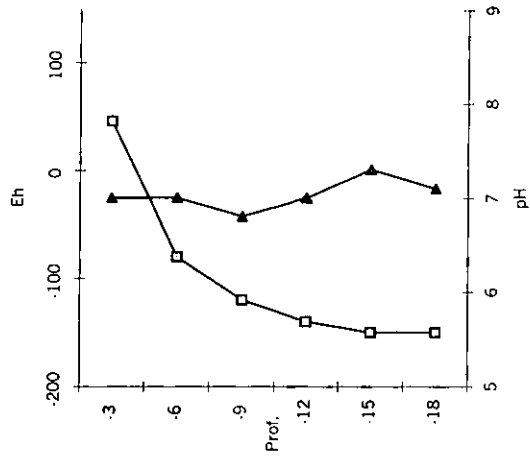
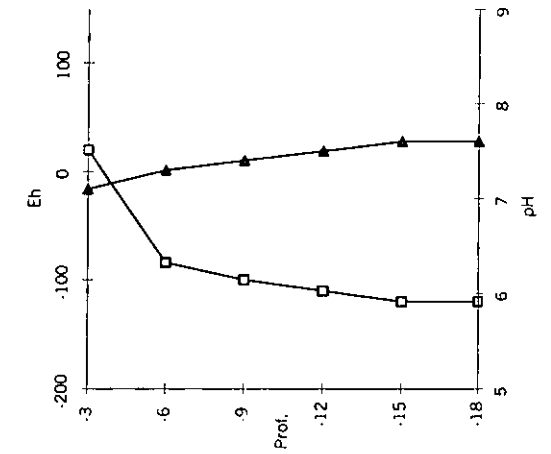


Fig. 5. Variación vertical del pH y Eh en el sedimento de la Laguna Camaronera en diferentes meses

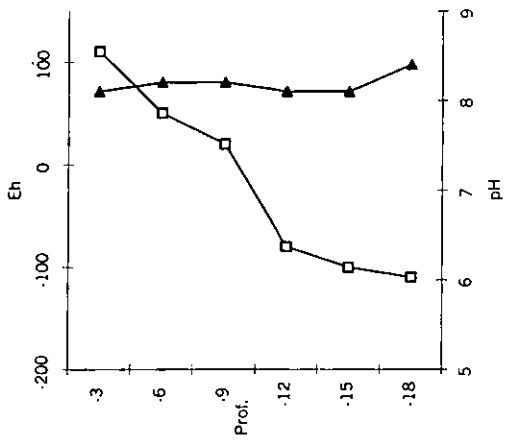
Enero



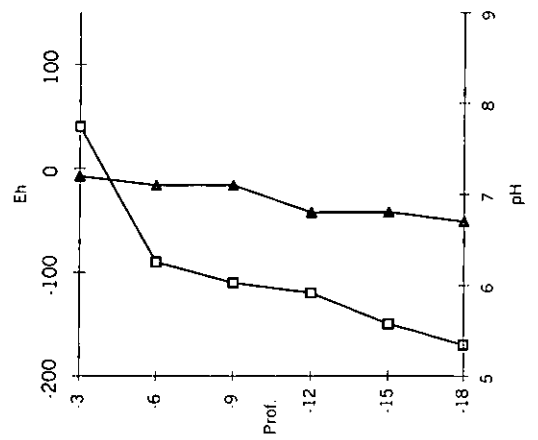
Mayo



Julio



Noviembre



En lo que se refiere al contenido de sólidos totales (Tabla 6) éste se incrementó notablemente durante el mes de lluvias con 572.88 g/l SST en Alvarado y 694.85 g/l SST en Camaronera; del contenido de sólidos totales, la fracción volátil tuvo los valores más bajos en los meses de lluvias y los registros máximos de la misma en los meses de "nortes" con 23.23 y 20.42 g/l SSV en Alvarado y en Camaronera con 21.39 y 20.88 g/l SSV. De la fracción fija, por el contrario, se registró la concentración superior en la temporada de lluvias (julio).

**Tabla 6. Variación estacional del contenido de sólidos en el sedimento del complejo estuarino-lagunar de Alvarado-Camaronera, Ver.**

Alvarado			
Mes	SST g/l	SSV g/l	SSF g/l
Enero	313.87	23.23	290.63
Mayo	256.21	9.10	247.11
Julio	572.88	17.50	555.38
Noviembre	325.37	20.42	304.95
Camaronera			
Mes	SST g/l	SSV g/l	SSF g/l
Enero	314.16	21.39	292.77
Mayo	411.87	15.97	395.90
Julio	694.85	12.72	682.14
Noviembre	587.29	20.88	566.42

Con base en los datos del análisis granulométrico (Tabla 7) en la estación de Alvarado predominaron las arenas arcillo-limosas durante enero, mayo y noviembre, mientras que en julio dominaron las arenas. En Camaronera hubo más variación en la composición del

sedimento, registrándose arena arcillo-limosa en los meses de "nortes", arenas en julio y arena limosa en mayo.

**Tabla 7. Variación estacional de la composición granulométrica en el complejo estuarino-lagunar de Alvarado-Camaronera, Ver.**

Alvarado			
Mes	Arena %	Limo %	Arcilla %
Enero	89.09	4.02	6.89
Mayo	79.32	10.15	10.52
Julio	96.72	1.45	1.82
Noviembre	90.09	5.52	4.37

Camaronera			
Mes	Arena %	Limo %	Arcilla %
Enero	89.3	5.45	5.24
Mayo	83.57	11.40	5.02
Julio	92.89	2.40	4.70
Noviembre	88.45	6.72	4.83

La degradación anaeróbica de los substratos orgánicos requiere que exista una relación entre una gran variedad de bacterias, como fue establecido en el marco teórico. En esta degradación, el primer paso es un rompimiento de sustancias poliméricas, como los carbohidratos, que serán fermentados para liberar productos utilizables por las bacterias sulfatorreductoras y metanógenas, por lo cual la evaluación de esta fracción orgánica es importante para entender los factores que pueden regular la descomposición anaerobia del carbono orgánico, además de que constituyen una fracción importante de la materia orgánica particulada que ingresa al ecosistema estuarino. A partir de los resultados obtenidos del análisis de los componentes orgánicos del sedimento, el contenido de carbohidratos muestra variaciones estacionales tanto en Alvarado como en Camaronera

(Tabla 8). En la laguna de Alvarado las concentraciones máximas se determinaron en los meses de "nortes" con valores de 6.26 y 7.92 mg/g SST, mientras que en el mes de julio se registraron las concentraciones mínimas con 0.48 mg/g SST. La laguna Camaronera presentó un comportamiento semejante al de Alvarado con los máximos valores en "nortes", siendo éstos de 2.27 y 3.81 mg/g SST; los mínimos también se registraron en julio con 1.16 mg/g SST.

**Tabla 8. Variación estacional de los carbohidratos en el sedimento del complejo estuarino-lagunar de Alvarado-Camaronera, Ver.**

Mes	Alvarado mg/g SST	Camaronera mg/g SST
Enero	6.26	2.27
Mayo	2.85	2.19
Julio	0.48	1.16
Noviembre	7.92	3.81

### *Condiciones Microbiológicas*

A lo largo del ciclo anual se registraron fluctuaciones en el número de las poblaciones microbianas anaerobias estudiadas.

En el caso de la microbiota sulfatoreductora que emplea lactato como sustrato, se obtuvo en la estación de Alvarado un intervalo de  $5.07 \times 10^5$ - $1.97 \times 10^7$  bac/g SST, con la mínima abundancia de bacterias durante el mes de julio y la máxima en noviembre. En Camaronera, el intervalo fue de  $8.90 \times 10^3$ - $3.23 \times 10^7$  bac/g SST, con el valor mínimo también en julio y el máximo en noviembre. En lo que concierne a las bacterias sulfatorreductoras que utilizan propionato, en Alvarado se cuantificaron de  $1.90 \times 10^4$ - $2.48 \times 10^6$  bac/g SST, con la menor y la mayor abundancia en los meses de julio y noviembre respectivamente; mientras que en Camaronera el intervalo comprendió de 0- $1.59 \times 10^5$  bac/g SST, con el máximo en enero y la particularidad que en julio no hubo crecimiento de este tipo de bacterias. Igualmente, y con base en los datos anteriores, se puede observar que de los tipos metabólicos cuantificados el número de bacterias que degradan lactato fue superior al de las utilizadoras de propionato (Tabla 9).

**Tabla 9. Variación estacional de la abundancia de bacterias sulfatorreductoras en el sedimento del complejo estuarino-lagunar de Alvarado-Camaronera, Ver.**

Alvarado				
Mes	BSR-Lactato		BSR-Propionato	
	bac/g SST	bac/g SSV	bac/g SST	bac/g SSV
Enero	1.17E+06	1.59E+07	5.73E+05	7.74E+06
Mayo	1.03E+06	3.37E+07	6.63E+05	1.86E+07
Julio	5.07E+05	1.42E+07	1.90E+04	6.36E+05
Noviembre	1.97E+07	3.13E+08	2.48E+06	3.96E+07

Camaronera				
Mes	BSR-Lactato		BSR-Propionato	
	bac/g SST	bac/g SSV	bac/g SST	bac/g SSV
Enero	3.10E+06	8.20E+07	1.59E+05	2.33E+06
Mayo	8.27E+05	1.21E+07	3.96E+04	1.02E+06
Julio	8.90E+03	4.87E+06	0.00E+00	0.00E+00
Noviembre	3.23E+07	9.10E+08	4.25E+04	1.19E+06

Hay que señalar que en algunos meses (mayo y noviembre) se detectó en el medio de cultivo el crecimiento de colonias bacterianas de color blanco conjuntamente con las negras que representan a las bacterias sulfatorreductoras (Tabla 10). Podría suponerse que la presencia de estas colonias se debió a la existencia de poblaciones microbianas capaces de utilizar las formas reducidas de azufre liberadas por las bacterias sulfatorreductoras al medio, entre éstas se han reportado bacterias incoloras desnitrificantes oxidantes del azufre (Petersen *et al.*, 1986; Loka Bharathi 1989). En estos trabajos se enumeraron y aislaron las bacterias involucradas en la oxidación anaeróbica de compuestos de azufre reducidos, observándose un número elevado de estas colonias en zonas ricas en ácido sulfhídrico, existiendo una correlación positiva entre el número de dichas colonias y las cuantificaciones de bacterias sulfatorreductoras efectuadas; Loka Bharathi (1989) en sedimentos estuarinos, enumeraron de  $0.73-6 \times 10^3$  bac/ml de bacterias



incolores oxidantes del azufre, mientras que el intervalo de bacterias sulfatorreductoras fue de  $0.7-6.8 \times 10^4$  bac/ml. Cabe señalar que en el presente trabajo ninguna prueba se llevó a cabo para determinar la clase de las poblaciones microbianas que se desarrollaron.

**Tabla 10. Colonias de color blanco cuantificadas en los tubos rodados junto a las colonias negras de las bacterias sulfatorreductoras.**

Alvarado				
Mes	Lactato		Propionato	
	bac/g SST	bac/g SSV	bac/g SST	bac/g SSV
Mayo	1.28E+07	4.01E+08	4.14E+05	6.60E+06
Julio	0.00E+00	0.00E+00	1.70E+05	5.00E+06
Noviembre	2.51E+07	4.20E+08	8.04E+05	2.63E+07

Cameronera				
Mes	Lactato		Propionato	
	bac/g SST	bac/g SSV	bac/g SST	bac/g SSV
Mayo	3.25E+04	9.14E+05	8.90E+03	4.60E+05
Julio	0.00E+00	0.00E+00	4.41E+03	1.24E+05
Noviembre	1.60E+06	4.14E+07	1.37E+05	3.53E+06

En cuanto a la microbiota metanogénica (Tabla 11), las poblaciones acetógenas registraron en la estación de Alvarado una abundancia de  $2.18 \times 10^5-5.38 \times 10^7$  bac/g SST, con la mínima en julio y la máxima en noviembre; en Camaronera las mismas poblaciones tuvieron  $2.51 \times 10^4-1.27 \times 10^7$  bac/g STT, con el mínimo también en julio y el máximo en enero. Para las hidrogenofílicas el número de microorganismos detectado fue de  $2.62 \times 10^5-2.07 \times 10^6$  bac/g SST, en donde en julio nuevamente donde se presentó el mínimo y el máximo en enero. En el caso de la estación de Camaronera la abundancia fue de  $6.81 \times 10^3-2.22 \times 10^5$  bac/g SST, donde los meses de noviembre y enero presentaron el mínimo y el máximo, respectivamente. Las bacterias metanógenas utilizadoras de

metanol fueron el grupo metabólico cuya variación estacional siguió el mismo comportamiento en ambas estaciones, y a diferencia de los grupos metabólicos anteriores, la menor abundancia se evaluó en noviembre y la máxima en mayo, con intervalos en Alvarado de  $7.68 \times 10^3$ - $5.85 \times 10^5$  bac/g SST y en Camaronera de  $1.10 \times 10^4$ - $1.15 \times 10^6$  bac/g SST.

**Tabla 11. Variación estacional de la abundancia de las bacterias metanógenas en el sedimento del complejo estuarino-lagunar de Alvarado-Camaronera.**

Alvarado						
Mes	BM-Acetato		BM-Hidrógeno		BM-Metanol	
	bac/g SST	bac/g SSV	bac/g SST	bac/g SSV	bac/g SST	bac/g SSV
Enero	2.07E+06	2.79E+07	2.07E+06	2.79E+07	1.27E+04	1.72E+05
Mayo	1.37E+06	3.85E+07	1.37E+06	3.85E+07	5.85E+05	1.65E+07
Julio	2.18E+05	7.14E+06	2.62E+05	8.57E+06	3.05E+04	1.00E+06
Noviembre	5.38E+07	8.57E+08	2.69E+05	4.28E+06	7.68E+03	1.22E+05
Camaronera						
Mes	BM-Acetato		BM-Hidrógeno		BM-Metanol	
	bac/g SST	bac/g SSV	bac/g SST	bac/g SSV	bac/g SST	bac/g SSV
Enero	1.27E+07	1.87E+08	2.22E+05	3.27E+06	3.97E+05	5.84E+06
Mayo	5.46E+05	1.40E+07	1.57E+05	4.07E+06	1.15E+06	2.97E+07
Julio	2.51E+04	1.29E+06	6.81E+03	1.91E+05	2.15E+04	1.10E+06
Noviembre	4.25E+05	1.20E+07	2.15E+04	1.10E+06	1.10E+04	3.11E+05

### **8.3. Caracterización vertical.**

Como se indicó en la metodología, durante el mes de abril se analizaron dos profundidades de la fase sedimentaria en los núcleos colectados, las cuales correspondieron a los niveles de 5 y 15 cm., a diferencia de los muestreos anteriores en los que se analizó el núcleo total para las cuantificaciones microbiológicas y seis estratos para la caracterización física y química.

#### *Condiciones Sedimentarias.*

Con base en los resultados del mes de abril, las fases sedimentarias manifiestan temperaturas cálidas propias de la época de estío con un intervalo de 32-35°C en Alvarado y de 30-31°C en Camaronera; un pH relativamente constante a lo largo de la columna de sedimento con valores de 6.8-7.0 en Alvarado y de 7.0 a 7.3 en Camaronera, observándose una tendencia a la neutralidad aunada a la existencia de condiciones reductoras que aumentan conforme la profundidad, de -90 a -150 mV en Alvarado y de -80 a -140 mV en Camaronera. Respecto al contenido de sulfuros, éste fue elevado en los 5 primeros centímetros y disminuyó a los 15 cm. En los estratos analizados, el contenido de SST tuvo valores semejantes, aunque la fracción volátil fue mayor a los 15 cm en la estación de Alvarado con 13.20 g/l y a los 5 cm en la estación de Camaronera con 10.67 g/l (Tabla 12).

**Tabla 12. Cambios verticales de algunos parámetros físicos y químicos en el sedimento del complejo estuarino-lagunar de Alvarado-Camaronera en el mes de abril.**

Alvarado						
Profundidad cm	Temperatura °C	pH	Eh mV	Sulfuros mM	SST g/l	SSV g/l
5	32.5	6.9	-90	0.31	400.44	3.25
10	33.0	6.8	-110			
15	32.5	7.0	-130	0.09	398.41	13.21
20	32.0	7.0	-150			
Camaronera						
Profundidad cm	Temperatura °C	pH	Eh mV	Sulfuros mM	SST g/l	SSV g/l
5	31.0	7.0	-80	0.12	233.13	10.68
10	31.0	7.0	-100			
15	31.0	7.3	-120	0.01	297.28	8.75
20	30.0	7.2	-140			

*Condiciones Microbiológicas.*

En la columna sedimentaria se presentó una variación del número de bacterias tanto sulfatorreductoras como metanógenas con respecto a la profundidad en ambas estaciones.

De acuerdo a este análisis microbiológico (Tabla 13), se observó que la mayor abundancia de bacterias sulfatorreductoras se localizó en los primeros centímetros de profundidad del sedimento, lo que indica que el proceso de sulfatorreducción es más intenso en esta zona y da como resultado la liberación de H<sub>2</sub>S, el cual también tuvo su

máxima concentración en la profundidad de 5 cm. Es importante destacar que los cambios en el número de bacterias sulfatorreductoras fueron más acentuados para los grupos metabólicos que emplean lactato y propionato, en comparación con las que utilizan acetato como sustrato, las cuales tuvieron un comportamiento más homogéneo.

**Tabla 13. Cambios verticales del número de bacterias sulfatorreductoras en el sedimento del complejo estuarino-lagunar de Alvarado-Camaronera en el mes de abril.**

Alvarado						
Profundidad cm	BSR-Acetato		BSR-Lactato		BSR-Propionato	
	bac/g SST	bac/g SSV	bac/g SST	bac/g SSV	bac/g SST	bac/g SSV
5	5.49E+04	6.76E+06	1.17E+07	1.44E+09	5.49E+06	6.76E+08
10						
15	5.52E+04	1.66E+06	1.50E+02	4.54E+03	6.77E+05	2.04E+07
20						
Camaronera						
Profundidad cm	BSR-Acetato		BSR-Lactato		BSR-Propionato	
	bac/g SST	bac/g SSV	bac/g SST	bac/g SSV	bac/g SST	bac/g SSV
5	2.48E+05	5.43E+06	1.15E+06	2.52E+07	3.90E+04	8.52E+05
10						
15	1.34E+05	4.57E+06	1.74E+04	5.94E+05	1.78E+04	6.06E+05
20						

Por lo que se refiere a la microbiota metanogénica (Tabla 14), ésta incrementa su abundancia con relación directa a la profundidad, de tal manera que en el estrato de los 15 cm se determinó el número máximo de metanógenos para ambas estaciones; sobresaliendo el hecho de que en Alvarado no hay registro de las bacterias que utilizan metanol en el estrato de los 5 cm. En el mes de abril, también se utilizaron metilaminas como sustrato para las bacterias metanógenas, sin embargo en el medio de cultivo no se pudo detectar crecimiento bacteriano con este sustrato en ninguna de las estaciones analizadas.

**Tabla 14. Cambios verticales del número de bacterias metanógenas en el sedimento del complejo estuarino-lagunar de Alvarado-Camaronera en el mes de abril.**

Alvarado						
Profundidad cm	BSR-Acetato		BSR-Hidrógeno		BSR-Metanol	
	bac/g SST	bac/g SSV	bac/g SST	bac/g SSV	bac/g SST	bac/g SSV
5	2.49E+01	3.07E+03	1.37E+03	1.69E+05	0.00E+00	0.00E+00
10						
15	1.00E+03	3.02E+04	3.76E+05	1.13E+07	4.39E+02	1.32E+04
20						
Camaronera						
Profundidad cm	BSR-Acetato		BSR-Hidrógeno		BSR-Metanol	
	bac/g SST	bac/g SSV	bac/g SST	bac/g SSV	bac/g SST	bac/g SSV
5	1.07E+02	2.34E+03	4.28E+02	9.36E+03	4.28E+01	9.36E+04
10						
15	4.20E+03	1.42E+05	8.40E+02	2.85E+04	4.20E+02	1.42E+06
20						

#### **8. 4. Actividad cinética a partir de acetato.**

Cuando se agregó acetato a los sedimentos a una concentración final de 10 mM, tanto en presencia como en ausencia de sulfatos (20 mM), el objetivo era determinar si era consumido por las bacterias anaeróbicas presentes en los sedimentos.

En las pruebas cinéticas efectuadas en los sedimentos de Alvarado, se observa que existe una producción de acetato en las primeras 24 horas, con excepción del mes de julio en el cual la producción máxima de acetato se registró a las 32 horas. Posteriormente a dicha producción comienza el consumo de acetato. Este comportamiento se determinó tanto en presencia como en ausencia de la adición de sulfatos con una concentración 20 mM, aunque el consumo de acetato fue ligeramente superior en las pruebas efectuadas en ausencia de sulfatos (Tabla 15); asimismo, el consumo de este substrato fue mayor durante el mes de noviembre.

**Tabla. 15. Actividad cinética anaerobia a partir de acetato, en sedimentos de la laguna de Alvarado, Ver.**

Mes	Horas	Sedimentos con acetato 10 mM	Testigo Sin acetato	Sedimentos con acetato 10 mM	Testigo Sin acetato
		Sin sulfatos	Sin sulfatos	Con sulfatos	Con sulfatos
Mayo	0	10.552	0.221	9.942	0.116
	8	15.872	1.198	21.995	0.855
	24	29.337	19.415	27.817	13.414
	32	19.271	14.193	19.665	12.457
	48	13.543	9.394	16.883	7.676
	56	8.484	5.742	5.889	0.024
Julio	0	9.452	0.285	9.889	0.332
	8	16.71	1.134	11.1	1.484
	24	17.886	2.21	15.246	9.339
	32	19.938	7.282	15.657	9.786
	48	18.332	8.174	12.38	9.152
	56	10.488	6.887	9.298	7.53
Noviembre	0	11.775	0.285	11.382	0.183
	8	12.723	2.01	13.554	1.58
	24	24.441	8.064	28.207	8.337
	32	12.745	7.95	10.066	5.791
	48	9.872	3.119	8.889	2.144
	56	7.11	2.85	4.48	0.678
Abril	0	9.442	1.113	9.115	0.063
	8	16.791	1.568	15.455	1.887
	24	18.678	8.331	27.627	17.187
	32	8.429	7.337	23.687	10.475
	48	8.41	6.587	10.636	6.973
	56	7.694	3.713	5.652	4.552

Hay que destacar que las relaciones de producción-consumo tuvieron un comportamiento más variable en los meses de abril, mayo y noviembre; no obstante en el mes de julio, a pesar de registrarse una producción de acetato no hubo un consumo del mismo (Figs. 6-7).



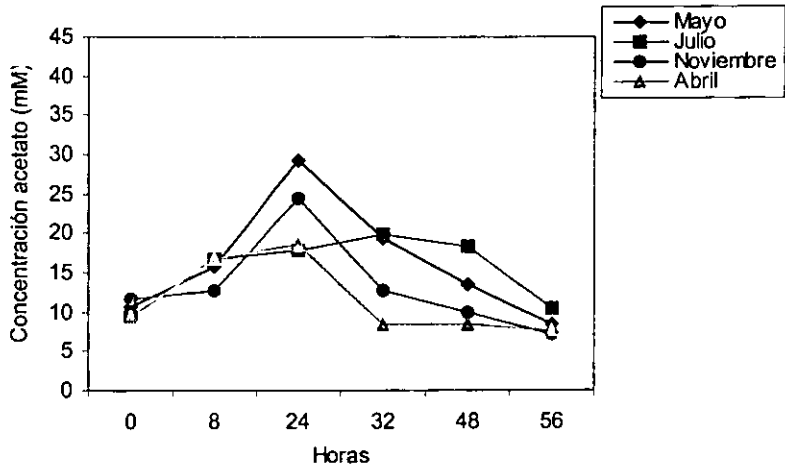


Fig. 6. Cinética con acetato, sin sulfatos en sedimentos de la laguna Alvarado

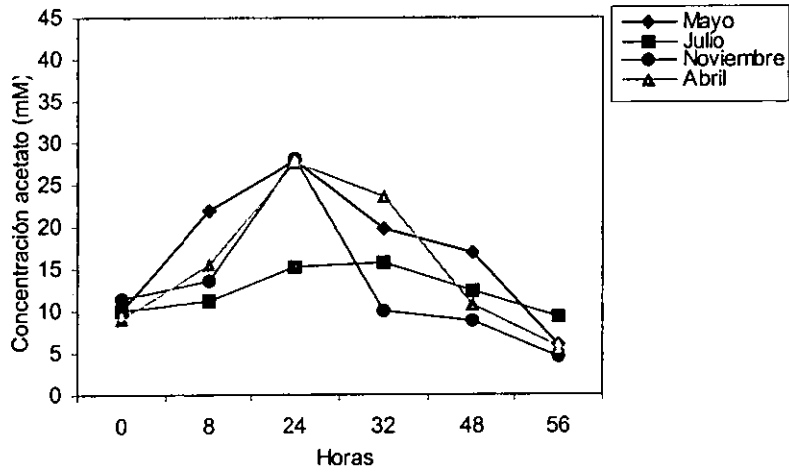


Fig. 7. Cinética con acetato y sulfatos en sedimentos de la laguna Alvarado

En el caso de las pruebas efectuadas en sedimentos de la laguna Camaronera, también existió una producción de acetato al comienzo del experimento, pero a diferencia de lo determinado en Alvarado, ésta se evaluó entre las 24-32 horas, incluso en julio la máxima producción se registró a las 48 horas; lo anterior se cumplió tanto en presencia como en ausencia de sulfatos (Tabla 16); asimismo, el consumo de acetato en presencia de sulfatos fue mayor en los meses asociados a la temporada de "nortes" (noviembre) en comparación a los meses restantes (Figs. 8-9).

**Tabla 16. Actividad cinética anaerobia a partir de acetato, en sedimentos de la laguna Camaronera, Ver.**

Mes	Horas	Sedimentos con acetato mM		Testigo	
		Sin sulfatos	Sin sulfatos	Con sulfatos	Con sulfatos
Mayo	0	9.085	0.336	9.908	0.463
	8	9.675	5.579	10.473	1.61
	24	15.868	7.653	16.473	4.705
	32	15.26	7.211	16.764	9.842
	48	13.905	6.72	10.076	9.682
	56	11.061	5.396	8.985	5
Julio	0	9.867	0.232	5.564	0.115
	8	9.831	6.103	9.296	0.289
	24	10.962	9.782	12.793	5.998
	32	11.898	10.785	18.787	7.08
	48	20.115	14.622	34.202	12.066
	56	19.183	11.637	19.587	11.586
Noviembre	0	9.271	0.47	9.184	0.061
	8	19.852	3.2	16.997	0.167
	24	25.636	5.015	31.073	9.575
	32	19.406	3.115	32.758	9.471
	48	15.863	3.115	26.915	6.37
	56	6.93	1.901	5.004	3.23
Abril	0	10.725	1.664	9.494	3.179
	8	15.369	7.664	10.109	5.184
	24	31.112	9.497	17.975	8.205
	32	38.182	7.497	15.653	5.205
	48	11.964	4.21	10.98	6.621
	56	11.739	0.049	5.987	0.037

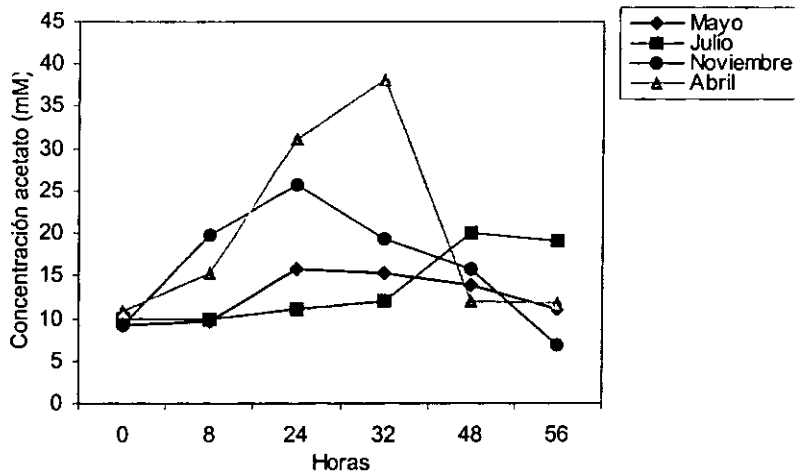


Fig. 8. Cinética del acetato, sin sulfatos en sedimentos de la laguna Camaronera

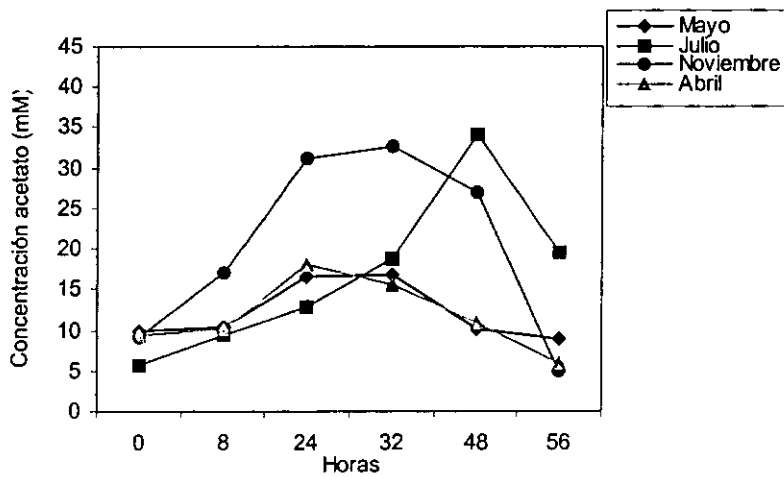


Fig. 9. Cinética del acetato, con sulfatos, en sedimentos de la laguna Camaronera

Finalmente, cabe destacar que en casi todas las cinéticas efectuadas con o sin acetato agregado a los medios, en presencia o ausencia de sulfatos se observó un aumento de la concentración de acetato y aparición de otros ácidos grasos volátiles como propionato y butirato. Lo que significa que hay una transformación de la materia orgánica en los sedimentos bajo condiciones anaeróbicas, vía una fermentación, hacia la formación de ácidos grasos volátiles que son los substratos requeridos en los procesos bacterianos de sulfatorreducción y metanogénesis. La aparición constante de acetato es similar a lo registrado en otros estudios (Miller *et al.*, 1979; Laanbroek y Pfennig, 1981; Parkes *et al.*, 1989), y debido a la presencia constante de sulfatos en el complejo lagunar de Alvarado-Camaronera, el proceso microbiano más favorecido será el de sulfatorreducción. Las cuantificaciones del mes de abril de bacterias sulfatorreductoras utilizadoras de acetato demuestran la existencia de grupos nutricionales capaces de oxidar completamente el acetato hasta CO<sub>2</sub>; no obstante, el acetato puede también ser el resultado de la actividad de bacterias sulfatorreductoras que oxidan incompletamente sus substratos como el lactato o el propionato, en este caso las cuantificaciones igualmente demostraron la presencia de estos grupos bacterianos.

## 8.5. Análisis estadístico.

Los resultados del análisis de varianza de Kruskal-Wallis (con los valores del estadístico y su nivel de significancia) para la temperatura, pH y Eh en función del mes y la profundidad para cada laguna se muestran en la tabla 17. Se observa que el comportamiento de las tres variables es el mismo en cada laguna, registrándose variaciones significativas con respecto al mes de muestreo tanto en la temperatura como en el pH y variaciones significativas del Eh con respecto a la profundidad. Con base en lo anterior se puede decir que la temperatura y el pH presentan variaciones más importantes en el plano temporal y el Eh en el plano espacial.

**Tabla 17. Análisis de varianza no paramétrico de Kruskal-Wallis para temperatura, pH y Eh. (Factores: profundidad y mes).**

Alvarado				
Parámetro	Mes		Profundidad	
	K-W	N.S	K-W	N.S
Temperatura	22.2481	0.00005*	0.327	0.9971
pH	19.4077	0.00022*	0.6675	0.9847
Eh	3.8534	0.2777	17.676	0.00033*
Cameronera				
Parámetro	Mes		Profundidad	
	K-W	N.S	K-W	N.S
Temperatura	20.024	0.00016*	1.9813	0.8517
pH	18.3393	0.00037*	0.2704	0.9981
Eh	5.6633	0.1291	15.9607	0.0069*

\* = variaciones significativas

K-W = Kruskal-Wallis; N.S = nivel de significancia

Los resultados de la correlación por intervalos de Spearman, están indicados en la tabla 18 para Alvarado y Camaronera. Como se observa para Alvarado solo la relación entre pH y temperatura resultó predictiva y significativa ( $r=0.7265$ ;  $p<0.05$ ), mientras que las relaciones entre pH y Eh y Eh y temperatura registraron baja correlación no significativa. Por su parte en Camaronera las tres relaciones resultaron ser significativas, con el mayor grado de predicción presentado por la relación entre la temperatura y el pH ( $r=0.5686$ ;  $p<0.05$ ). Por lo anterior se infiere que de las relaciones entre estas tres variables en ambas lagunas, la de la temperatura y pH es la más importante con base en los valores del índice de correlación obtenidos.

**Tabla 18. Análisis de Correlación no Paramétrico por rangos de Spearman.**

Alvarado			
	Temperatura	pH	Eh
Temperatura	1	0.7265	0.3109
	1	0.0005	0.1359
pH	0.7265	1	0.2255
	0.0005	1	0.2795
Eh	0.3109	0.2255	1
	0.1359	0.2795	1

Camaronera			
	Temperatura	pH	Eh
Temperatura	1	0.5686	0.4961
	1	0.0064	0.0173
pH	0.5686	1	0.4414
	0.0064	1	0.0343
Eh	0.4961	0.4414	1
	0.0173	0.0343	1

En la tabla 19, se muestran los valores obtenidos del estadístico Z y su nivel de probabilidad de igualdad de cada parámetro comparado entre las dos lagunas. Los parámetros comparados fueron: conteos de bacterias sulfatorreductoras utilizadoras de lactato (BSRlac) y propionato (BSRpro); número de bacterias metanógenas acetógenas (BMacet), hidrogenofílicas (BMhidro) y utilizadoras de metanol (BMmet) tanto en los sólidos totales como en los volátiles, así como las variables ambientales de salinidad, sulfatos, sulfuros, arena, limo, arcilla, contenido de sólidos y carbohidratos.

**Tabla 19. Matriz de comparación de 2 muestras por medio de la prueba no paramétrica de Mann-Whitney de rangos promedios entre las lagunas de Alvarado y Camaronera, Ver.**  
Ho= Dif. de xs=0

Parámetro	Estadístico Z	% de igualdad	t	N.S
Salinidad	-0.1443	0.8852	-0.2408	0.8176
Sulfatos	0.4353	0.6631	-0.0903	0.9309
Sulfuros	-0.433	0.665	-0.6211	0.5573
BSRlac/SST	0	1	-0.3805	0.7166
BSRlac/SSV	-0.1443	0.8852	-0.6819	0.5207
BSRpro/SST	1.299	0.1939	-1.6301	0.1541
BSRpro/SSV	-1.299	0.1939	-1.8224	0.1182
Arena	0.1943	0.8852	-0.062	0.9525
Limo	0.433	0.665	0.4619	0.6604
Arcilla	0.4382	0.6611	-0.3631	0.7289
BMacet/SST	0.7216	0.4704	-0.8096	0.449
BMacet/SSV	-0.7216	0.4704	0.8408	0.4326
BMhidro/SST	2.165	0.0303	-1.9945	0.0931
BMhidro/SSV	-2.165	0.0303	2.1732	0.0727
BMmeta/SST	-0.433	0.665	0.7788	0.4656
BMmeta/SSV	1.0103	0.3123	-0.5984	0.5714
SST	1.299	0.1993	1.2189	0.2685
SSV	0	1	-0.0463	0.9645
Carbohidratos	0.7216	0.4704	-1.1463	0.2953

N.S = nivel de significancia

A partir de los valores estadísticos sólo las variables BMhidro/SST y BMhidro/SSV registraron diferencias significativas entre ambas lagunas y los restantes 18 parámetros no, por lo que se considera que ambos sistemas lagunares tuvieron un comportamiento similar; sin embargo y de acuerdo a los valores de probabilidad de igualdad de cada variable el grado de semejanza sería el siguiente:

- variables en que la probabilidad de igualdad está entre 100 y 80%:

BSRlac/SST=100%, SSV=100%, salinidad=88.52%, BSRlac/SSV=88.52% y arena=88.52%.

- variables en que la probabilidad de igualdad está entre 80 y 60%:

sulfatos=66.31%, sulfuros=66.50%, limo=66.50%, arcilla=66.11% y BMmet/SST=66.50%.

- variables en que la probabilidad de igualdad está entre 60 y 40%:

BMacet/SST=47.04%, BMacet/SSV=47.04%, carbohidratos=47.04%

- variables en que la probabilidad de igualdad está entre 40 y 20%:

BMmet/SSV=31.23%.

- variables en que la probabilidad de igualdad está entre 20 y 5%:

BSRpro/SST=19.39%, BSRpro/SSV=19.39% y SST=19.33%.

De acuerdo a lo anterior se deduce que existe un mayor número de variables (10) que presentan un grado de semejanza mayor al 60%, siendo este último grupo de variables las que caracterizarían mejor las posibles diferencias presentes entre cada sistema



lagunar, aunque estas diferencias no son, desde el punto de vista estrictamente estadístico, significativas.

## 9. DISCUSIÓN

Recientemente, el papel que desempeñan los ecosistemas costeros a nivel mundial ha sido revalorado bajo la óptica de sus procesos biogeoquímicos; de éstos sobresalen, sin duda, los llevados a cabo en la interfase sedimento-agua, así como en el propio sedimento, por medio de las comunidades bacterianas de diferentes metabolismos. La mayor parte de la información disponible en la actualidad sobre este aspecto, proviene principalmente de sistemas costeros situados en latitudes templadas, mientras que el conocimiento de estos importantes procesos en regiones tropicales es escaso, a pesar de que precisamente, en estos ecosistemas los mecanismos involucrados en la transformación de la materia orgánica son especialmente intensos.

Con base en lo anterior, la transformación del detritus, vía los procesos bacterianos, tiene una importancia capital en la ecología de las lagunas costeras ya que son imprescindibles en la interpretación del funcionamiento de estos ecosistemas; en la fase anaerobia los principales mecanismos que tienen lugar han sido identificados como la sulfatorreducción y la metanogénesis (Franklin *et al.*, 1988). Ambos procesos, la sulfatorreducción y la metanogénesis, como lo demuestran los resultados obtenidos a partir del presente estudio, colaboran de manera importante en los ciclos biogeoquímicos del sistema lagunar de Alvarado-Cameronera, Veracruz; permitiendo el reciclamiento del carbono hasta  $\text{CO}_2$  y  $\text{CH}_4$ .

### 9.1. Caracterización estacional.

#### *Condiciones Sedimentarias.*

Las temperaturas registradas en el presente estudio en Alvarado y Cameronera reflejaron

los cambios estacionales existentes a lo largo del año en la zona, siendo el estiaje la época más cálida y la de "nortes" la más fría; aunque las fluctuaciones fueron estadísticamente significativas, por tratarse de un sistema tropical, éstas no fueron tan marcadas como los que se presentan en regiones templadas. Sin embargo, a pesar de las variaciones climáticas temporales (secas, lluvias y "nortes"), el hábitat sedimentario mostró una constancia relativa de la temperatura con respecto a la profundidad, la cual pudo ser mantenida por la capacidad térmica del agua que aminora los cambios sedimentarios.

En lo que se refiere a la salinidad del agua intersticial, las fluctuaciones registradas resultaron de las influencias marina y dulceacuícola en el ecosistema estuarino, así como de los regímenes climáticos de estiaje, lluvias y "nortes". En virtud de lo anterior en las estaciones de Alvarado y Camaronera de acuerdo al sistema de Venecia (Perkins, 1974) se presentaron características dulceacuícolas en lluvias y estuarinas en nortes y secas, siendo en Alvarado donde se registraron las mayores variaciones debido a que tiene más aportes fluviales (Río Papaloapan, Río Blanco y Río Acula) e influencia de las mareas a través de la boca de comunicación con el mar.

Los cambios en las concentraciones de sulfatos estuvieron directamente relacionados con las variaciones de la salinidad, por lo cual la influencia dulceacuícola, que se incrementa en la temporada de lluvias (julio) pudo haber contribuido al descenso de la concentración de sulfatos, al diluirse éstos con la entrada de agua dulce. Cuando el aporte dulceacuícola disminuye y el sistema se vuelve estuarino, la cantidad de sulfatos aumenta nuevamente. No obstante las fluctuaciones en el contenido de sulfatos en el sedimento, las concentraciones de éstos se encuentran dentro de los intervalos reportados para sedimentos estuarinos y de marismas con *Spartina alterniflora* (Tabla 20), siendo

superiores a los registrados en sedimentos dulceacuícolas pero inferiores a las cuantificadas en sedimentos marinos. Debido a que los sulfatos están presentes en todos los meses muestreados no llegan a ser un factor limitante para el desarrollo de las bacterias sulfatorreductoras.

**Tabla 20. Concentración de sulfatos en sedimentos de diferentes ambientes acuáticos**

SO <sub>4</sub> mM	Condiciones del medio	Autor
0.025-0.186	Sedimentos de un lago eutrófico	Phelps y Zeikus, 1985
<0.01->30	Sedimentos intermareales de una bahía contaminada	Mountfort y Asher, 1981
< 2.5 ~ 15	Sedimentos de marismas Sedimentos intermareales	Banat y Nedwell, 1983
5 a 16	Límite aerobio/anaerobio en un estuario permanentemente estratificado	Indebre et al., 1979
22 a 25	Sedimentos del Golfo de Maine	Hines et al., 1991
8 a 22	Sedimentos de <i>Spartina alterniflora</i> corta	Howes, 1985
10	Sedimentos de <i>Spartina alterniflora</i> larga	King y Wiebe, 1980
12	Sedimentos de <i>Spartina alterniflora</i> larga	Sørensen et al., 1979
5 a 15	Sedimentos de <i>Spartina alterniflora</i> corta	
10		Ramm, 1992
21.8 a 28.3	Sedimentos con profundidades de 0 a 35 cm	Kosiur y Walford, 1979
2.11 a 10.69	Alvarado	Este estudio
3.29 a 9.03	Camaronera	Este estudio

Por lo que respecta al contenido de ácido sulfhídrico en el agua intersticial, las concentraciones determinadas en este estudio son semejantes a las establecidas por otros trabajos en sedimentos de marismas y de lagos eutróficos (Tabla 21), aunque inferiores a otros ambientes caracterizados por una intensa actividad sulfatorreductora que reciben aportes considerables de materia orgánica. Con base en los resultados obtenidos en las estaciones de Alvarado y Camaronera se determinó el menor contenido de ácido sulfhídrico durante la época de lluvias, pudiendo ser el resultado de la resuspensión de los sedimentos superficiales como resultado de un proceso de "lavado" al aumentar en esta temporada el flujo dulceacuícola de los ríos, el cual propició un efecto de drenaje sobre el agua intersticial de los mismos, induciendo una oxidación del sulfuro de hidrógeno; cabe mencionar que el ácido sulfhídrico es de los pocos productos microbianos que son oxidados rápidamente por el oxígeno atmosférico (Almgren y Hagström, 1974). Otro factor que pudo haber contribuido a su disminución, fue el descenso del número de las poblaciones de bacterias sulfatorreductoras y por ende de su actividad bioquímica; sin embargo, el sulfuro de hidrógeno no es el único compuesto que se libera a partir de la reducción microbiana de los sulfatos, también se generan compuestos como pirita y azufre elemental, inclusive Howarth y Merkel (1984), corroboran que es la pirita el compuesto de azufre más abundante en sedimentos de marismas y constituye el principal producto que se forma durante las mediciones de reducción de  $^{35}\text{SO}_4$ . La abundancia de un determinado producto resultante de la sulfatorreducción depende en parte de las características del sedimento (tipo de grano) y de su contenido de materia orgánica, encontrándose, por ejemplo, que concentraciones más bajas de ácido sulfhídrico son comunes en sedimentos de color café y gris.

**Tabla 21. Concentración de sulfuro de hidrógeno en sedimentos de diferentes ambientes acuáticos.**

H <sub>2</sub> S mM	Condiciones del medio	Autor
0.2	Sedimento sin raíces de <i>S. alterniflora</i>	Howes <i>et al.</i> 1981
7 a 15	Sedimento de color negro, con cultivo de mejillón, 7 a 15°C	Gunnarson y Rönnow, 1982
0.05 a 0.2	Sedimento de color café, sin cultivo de mejillón, 7 a 15°C	
< 2	Sedimento de marismas	Howarth <i>et al.</i> 1983; Giblin y Howarth, 1984
1 a 6.5	Sedimento de marismas	Howes, 1985
0.96-1.084	Sedimentos de un lago eutrófico	Phelps y Zeikus, 1985
3.2-4-4	Agua intersticial de sedimentos dulceacuícolas	Winfrey y Zeikus, 1977
~ 1	Sedimentos intermareales	King <i>et al.</i> , 1983
< 0.03		Howarth y Teal, 1979
0.4	Sedimentos con profundidades de 30-35 cm	Kosiur y Walford, 1979
0.2 a 1.14	Alvarado	Este estudio
0.27 a 0.95	Camaronera	Este estudio

Las mediciones de pH y Eh se han utilizado para describir cambios en la composición de los sedimentos, su diagénesis, color y poblaciones biológicas. En lo que respecta al pH, éste descende posiblemente a consecuencia del bióxido de carbono y del hidrógeno,

liberados por la actividad bacteriana durante los procesos de fermentación y como resultado del metabolismo de las bacterias sulfatorreductoras que producen ácido sulfhídrico, mientras que la utilización de hidrógeno por diferentes poblaciones de bacterias metanógenas y sulfatorreductoras ayuda a incrementar el pH. Biggs (1967) indica que aunque la transformación de la materia orgánica controla el pH sedimentario, también es posible que el sistema  $\text{SO}_4\text{-H}_2\text{S}$  sea el principal responsable de la variación del pH. Cabe señalar que los valores de pH cuantificados en Alvarado y Camaronera son semejantes a los reportados por Teal y Kanwisher (1962), quienes cuantificaron un intervalo de pH entre 6.5 y 7.4 en sedimentos caracterizados por la presencia de bacterias sulfatorreductoras.

En el presente estudio se registraron cambios temporales del potencial redox en las fases sedimentarias, teniéndose que en la época de lluvias después de que los sedimentos fueron perturbados y resuspendidos por el incremento en el caudal de los ríos que llegan al sistema lagunar de Alvarado-Camaronera, hubo un cambio electroquímico que se refleja en un incremento del Eh registrado en los sedimentos; posterior a esta temporada el potencial redox disminuye nuevamente como consecuencia de una mayor cantidad de materia orgánica depositada y por el aumento de la actividad microbiana anaerobia, como lo refleja el número de bacterias sulfatorreductoras y metanógenas. No obstante dichas variaciones, en lo que se refiere al comportamiento vertical del Eh, éste se mantuvo negativo al aumentar la profundidad y en los intervalos reportados en otros trabajos (Tabla 22), favoreciendo la existencia de las condiciones redox adecuadas para el desarrollo de la microbiota anaerobia cuantificada en este estudio.

**Tabla 22. Intervalos del potencial redox (Eh) en sedimentos de diferentes ambientes acuáticos.**

Eh mV	Condiciones del medio	Autor
-150 a -175	Sedimento sin raíces de <i>S. alterniflora</i>	Howes <i>et al.</i> 1981
+150 a -160	Sedimento con raíces de <i>S. alterniflora</i>	
+100 a -100	Limo de color gris	Teal y Kanwisher, 1962
-100 a -200	Limo de color negro	
+300 a -190		Sørensen <i>et al.</i> 1979
+400 a -50		Ward y Frea, 1980
-150	Sedimento de color café-negro	Zeikus y Winfrey, 1976
-100 a -200	Sedimentos costeros cercanos a un cultivo de mejillón	Gunnarsson y Rönnow, 1982
-150 a -158	Sedimentos de una bahía	Miller <i>et al.</i> , 1979
+100 a -170	Alvarado	Este estudio
+110 a -170	Camaronera	Este estudio

Aunque la medición del potencial redox en diferentes tipos de sedimentos acuáticos produce curvas del potencial contra la profundidad que son difíciles de comparar, de manera general se ha establecido que los perfiles redox en substratos firmes y que permiten la existencia de cavidades en el sedimento a través de las cuales se puede difundir el oxígeno, resulten ser positivos (oxidantes); mientras que en los sedimentos suaves, generalmente de color negro, en donde la difusión de oxígeno es limitada y tienen un olor característico a ácido sulfhídrico son negativos (reductores).



Por lo que se refiere al comportamiento espacial del Eh, el descenso de éste con respecto a la profundidad es el resultado de la disminución de la tasa de difusión del oxígeno en el agua intersticial, del tamaño de grano del sedimento, del contenido de materia orgánica y del balance entre la actividad de las diferentes poblaciones bacterianas; también es afectado por la presencia del hierro, hidrógeno, ácido sulfhídrico y compuestos nitrogenados. Biggs (1967) encontró que la sulfatorreducción juega un papel significativo en la variación del Eh reportado en la Bahía de Chesapeake porque los valores más bajos de Eh se registraron en la región de la máxima actividad sulfatorreductora.

El contenido de carbohidratos fluctuó durante los cambios estacionales registrados en el complejo lagunar de Alvarado-Camaronera, con las mayores diferencias presentes entre la época de lluvias y la de "nortes", siendo ésta última en la cual se cuantificó el mayor contenido, como resultado de la acumulación de materia orgánica, básicamente de origen vegetal, tanto autóctona como alóctona, ésta última arrastrada principalmente durante la temporada de lluvias por el Río Papaloapan, el cual conduce material orgánico de origen terrígeno y de la zona pantanosa adyacente, así como una gran cantidad de lirio acuático (*Eichhornia crassipes*). Estos restos vegetales (principalmente el lirio acuático) al permanecer en la laguna, constituyeron una fuente importante de materia orgánica, y por lo tanto de carbohidratos, para las bacterias anaerobias; como fue señalado por Preston y Prodduturu (1992), la principal fuente de carbohidratos en el estuario Mersey son las hojas de angiospermas y pastos, más que el fitoplancton, lo cual significa que los carbohidratos provienen en menor proporción de los componentes marinos; asimismo también reportan que los carbohidratos presentes en las zonas estuarino-lagunares son básicamente de origen alóctono y llegan a estos sistemas a través del aporte fluvial.

*Condiciones Microbiológicas.*

a) Microbiota sulfatorreductora.

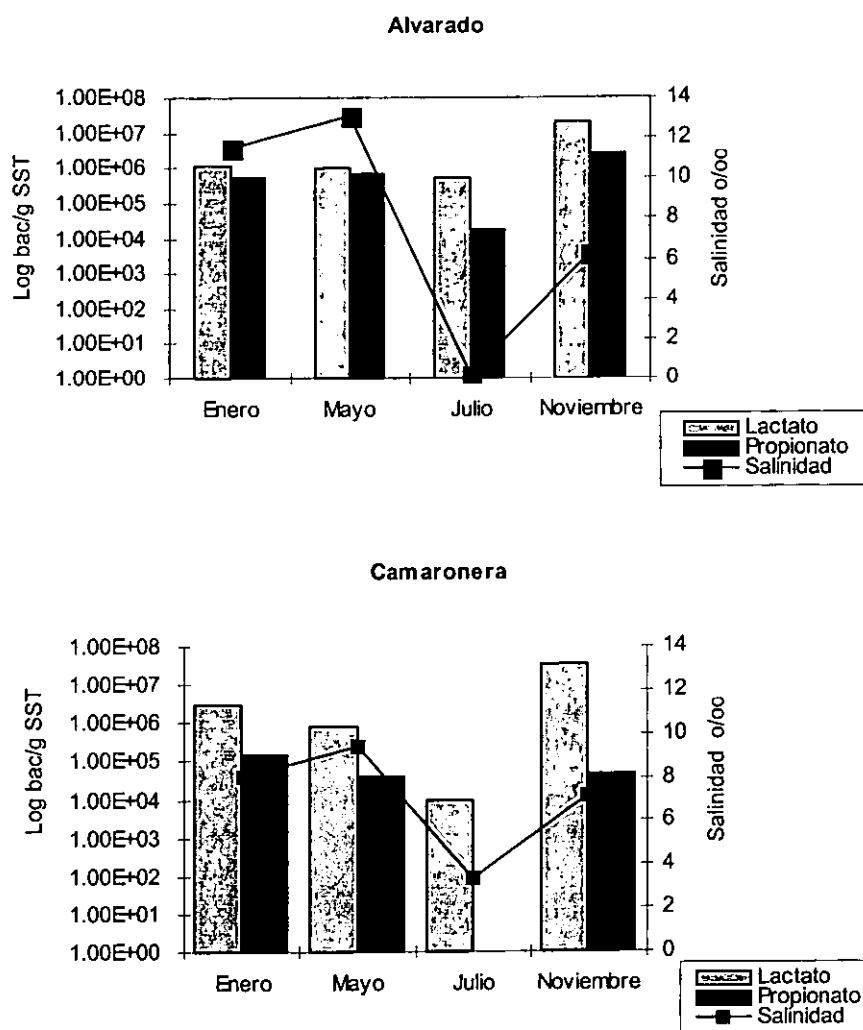
En el presente estudio la microbiota sulfatorreductora cuantificada tuvo una abundancia poblacional semejante a la reportada para sedimentos de lagos eutróficos, pero inferior a la cuantificada en heces humanas (Tabla 23), asimismo se determinó una variación estacional tanto de las bacterias sulfatorreductoras utilizadoras de lactato como de propionato, como resultado de las diferentes condiciones ambientales existentes a lo largo de la época de estudio, resaltando además que las que emplean lactato fueron más abundantes.

**Tabla 23. Abundancia de bacterias sulfatorreductoras en sedimentos de diferentes ambientes acuáticos y heces fecales.**

Bacterias sulfatoreductoras bac/g SST	Condiciones del medio	Autor
10 <sup>6</sup> , lactato nd, acetato	Sedimentos lacustres durante la estratificación de verano	Phelps y Zeikus, 1985
10 <sup>7</sup> , lactato nd, acetato	Sedimentos lacustres durante la mezcla de otoño	
1.6x10 <sup>6</sup> -1.25x10 <sup>10</sup> , lactato 1x10 <sup>5</sup> -1.6x10 <sup>7</sup> , propionato 1.6x10 <sup>4</sup> -6x10 <sup>7</sup> , acetato	Heces fecales	Gibson <i>et al.</i> , 1988
0.5-30x10 <sup>5</sup>	Sedimentos lacustres, con profundidades de 1 a 8 cm	Cappenberg, 1974
nd-9.4x10 <sup>4</sup>		Loka-Bharathi, 1989
9.0x10 <sup>3</sup> -3.23x10 <sup>7</sup> , lactato 0-1.59x10 <sup>5</sup> , propionato	Camaronera	Este estudio
5.07x10 <sup>5</sup> -1.97x10 <sup>7</sup> , lactato 1.9x10 <sup>4</sup> -2.48x10 <sup>8</sup> , propionato	Alvarado	Este estudio

El hecho de que en la laguna de Alvarado-Camaronera no se presentaran fluctuaciones marcadas de la temperatura entre los diferentes meses muestreados, como sucede en los ambientes acuáticos de zonas templadas, influyó en que en este estudio no se encontrara relación alguna entre el número de bacterias sulfatorreductoras y la temperatura, además de que las temperaturas medidas se encuentran dentro del intervalo reportado como óptimo para el crecimiento de las bacterias sulfatorreductoras; al respecto Sagemann *et al.*, (1998) determinaron que las temperaturas óptimas para la sulfatorreducción son de 25-30°C. En otro estudio, Abdollahi y Nedwell (1979) concluyeron que existe poca variación entre las cuentas de bacterias sulfatorreductoras a diferentes temperaturas (15-30°C) en sedimentos de marismas, dichos autores cuantificaron de  $20 \times 10^3$  bac/g de sulfatorreductoras a 15°C, con el máximo en los meses de febrero y agosto y el mínimo en enero, así como de  $1-15 \times 10^3$  bac/g a 30°C con el máximo y el mínimo en los mismos meses que para lo reportado a 15°C. Takii y Fukui (1990) determinaron que la temperatura afecta la actividad sulfatorreductora, pero no la abundancia de las bacterias que efectúan dicho proceso, por tanto el número de éstas es independiente de la temperatura.

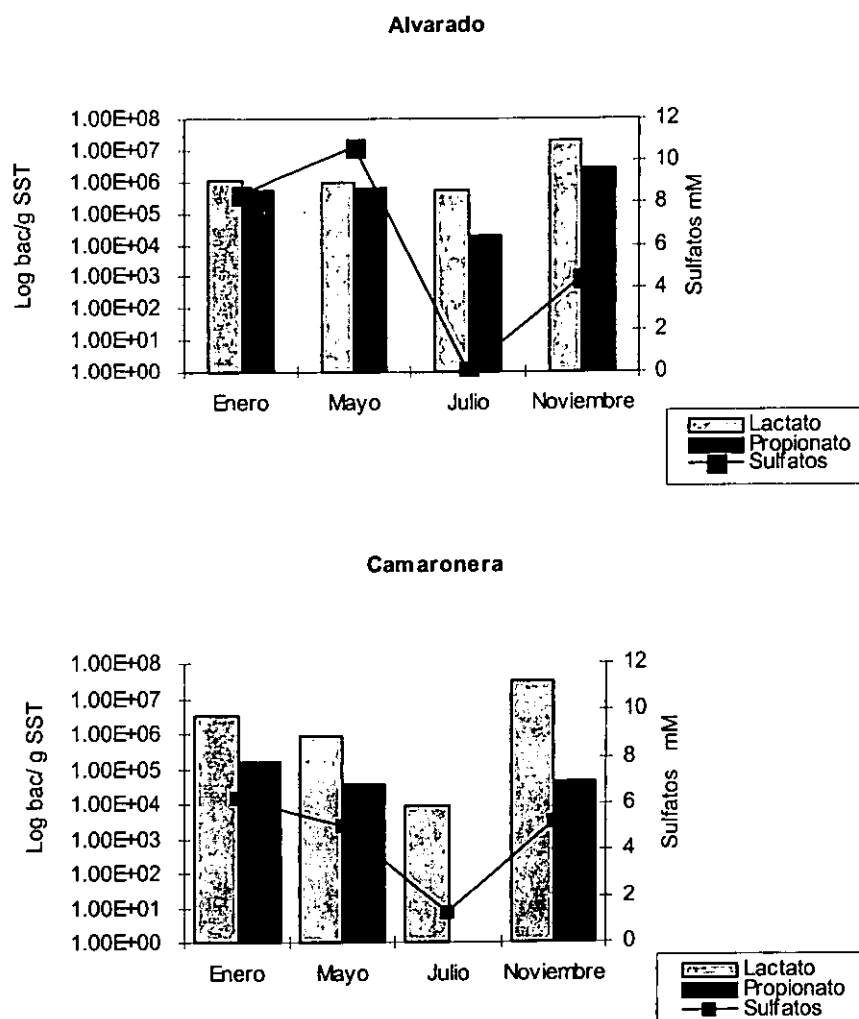
Con base en los datos de salinidad evaluados, se observa que las bacterias sulfatorreductoras, en las laguna de Alvarado-Camaronera se pueden desarrollar en un intervalo amplio de salinidad, desde condiciones dulceacuícolas hasta estuarinas, no existiendo una relación entre los cambios de salinidad y las variaciones en la abundancia de esta microbiota (Fig. 10).



**Fig. 10. Relación entre las BSR y la salinidad en el complejo estuarino-lagunar de Alvarado-Camaronera, Veracruz.**

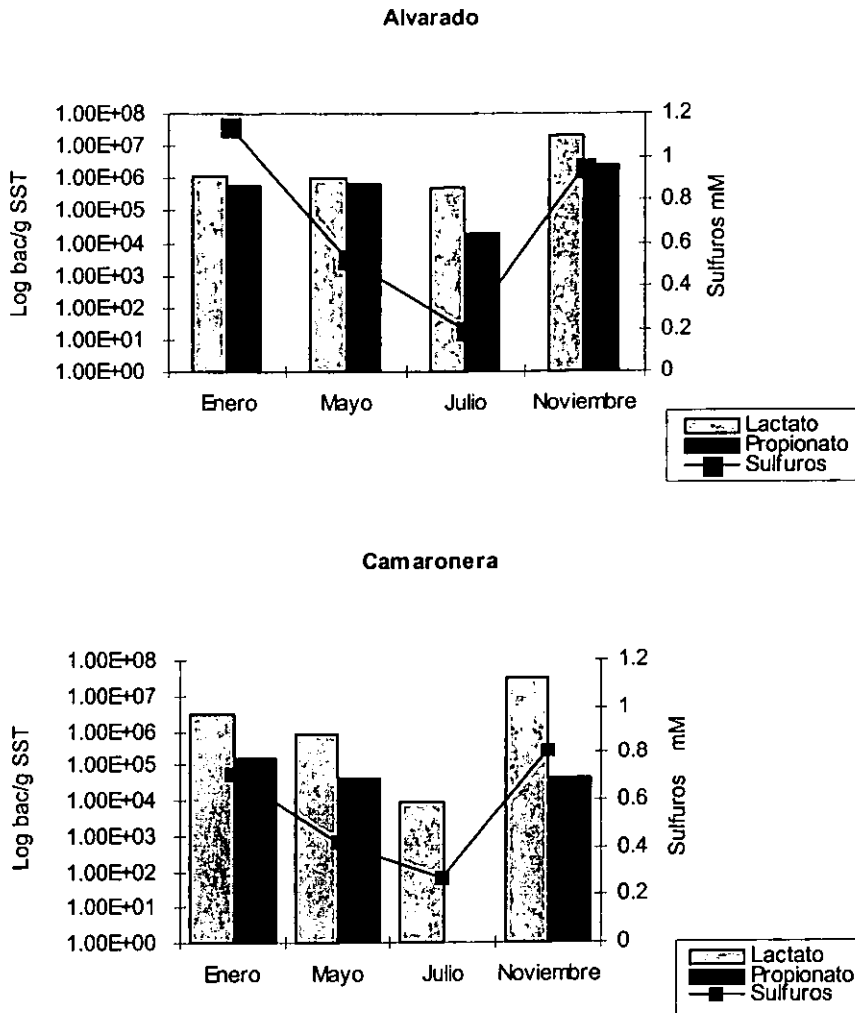
En el sistema lagunar de Alvarado-Camaronera por tratarse de un ambiente salobre, que tiene un aporte constante de sulfatos, el aceptor de electrones no llega a ser un factor limitante para el crecimiento de las bacterias sulfatorreductoras, las cuales se cuantificaron en todos los meses analizados, aunque su menor abundancia se determinó en julio, mes asociado a la presencia de lluvias y a un mayor insumo de agua dulce que diluyó la concentración de sulfatos en la zona estudiada (Fig. 11). Mountfort y Asher (1979) reportan que la sulfatorreducción se encuentra limitada por la disponibilidad de sulfatos,

cuando se presenta esta situación el proceso de metanogénesis procede sin que exista una competencia entre ambos tipos microbianos por los sustratos disponibles. Parkes *et al.*, (1989) en un estudio que efectuaron en el estuario del Río Don en una porción netamente dulceacuícola, encontraron que en el verano al haber un atrapamiento de agua salina que proporcionaba sulfatos al ambiente, permitía que se llevara a cabo en esta temporada el proceso de sulfatorreducción, el cual se encontraba limitado por la ausencia de sulfatos el resto del año. En este punto cabe señalar, que si bien la mayoría de las bacterias sulfatorreductoras requieren de sulfatos como aceptores de electrones, existen especies que pueden crecer en ausencia de los mismos, si tienen disponibles compuestos orgánicos que actúen como donadores y aceptores de electrones (Widdel, 1988).



**Fig. 11. Relación entre las BSR y los sulfatos en el complejo estuarino-lagunar de Alvarado-Camaronera, Veracruz.**

En los meses de enero y noviembre, donde las cuantificaciones de bacterias sulfatorreductoras fueron superiores, hay también un incremento en las concentraciones de ácido sulfhídrico determinadas; presentándose el caso contrario en julio, por lo cual posiblemente exista una relación directa entre el contenido de sulfuros y las abundancias de bacterias sulfatorreductoras (Fig. 12). Parkes *et al.*, (1989) establecieron una correlación positiva entre el número de bacterias sulfatorreductoras y el contenido de sulfuros en los sedimentos del estuario del río Don, indicando con ello que las cuantificaciones son también un indicador de la actividad bacteriana.



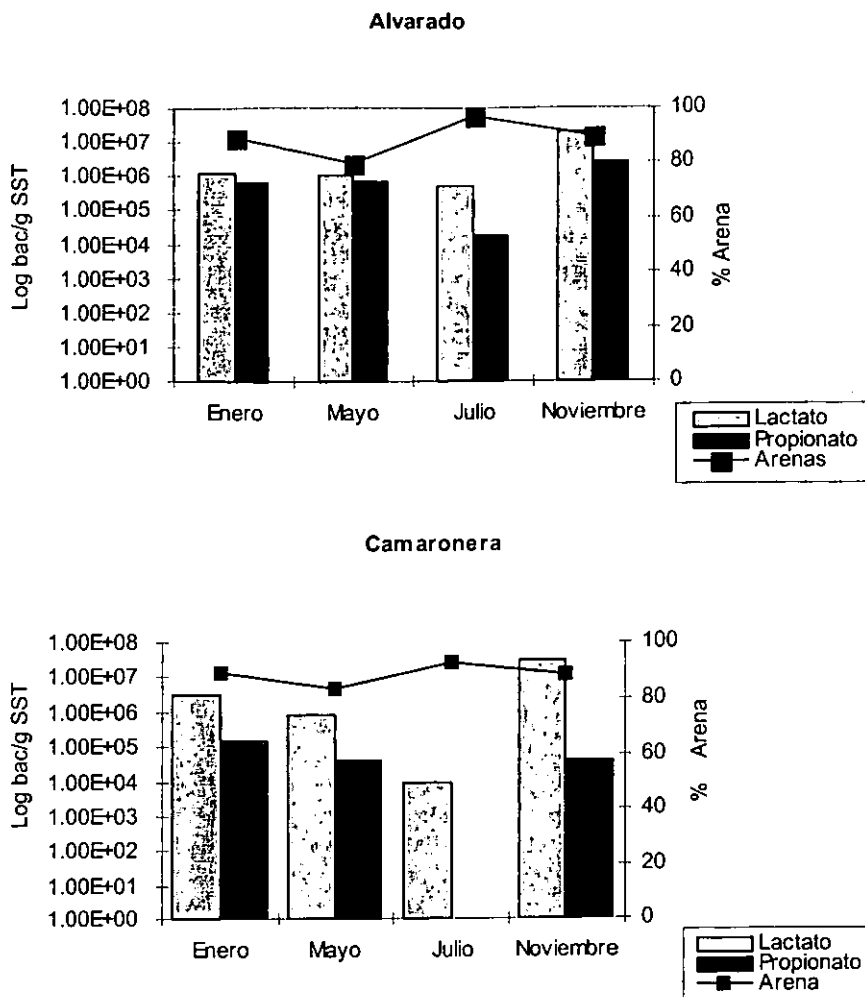
**Fig. 12. Relación entre las BSR y los sulfuros en el complejo estuarino-lagunar de Alvarado-Camaronera, Veracruz.**

Con base en los valores del pH cuantificados en Alvarado y Camaronera se observa que éstos estuvieron en los intervalos apropiados para permitir el desarrollo de las poblaciones de bacterias sulfatorreductoras, las cuales prefieren un medio ambiente con un pH cercano a la neutralidad y rara vez se desarrollan en ambientes con pH inferiores a 6 o superiores a 9 (Widdel, 1988). Gunnarsson y Rönnow (1982) reportan la presencia de bacterias sulfatorreductoras a pH de 7.1 a 7.5.

En lo que se refiere al Eh, las bacterias sulfatorreductoras se han reportado desde potenciales redox de  $-115$  hasta  $-450$ , de acuerdo a los intervalos del Eh evaluados en los sedimentos de Alvarado y Camaronera, éstos están dentro de los valores establecidos como adecuados para el desarrollo de las bacterias sulfatorreductoras.

A pesar de que en el complejo lagunar de Alvarado-Camaronera el mayor porcentaje de la fase sedimentaria estuvo constituido por la fracción arenosa, las bacterias sulfatorreductoras se desarrollaron adecuadamente en este tipo de sedimento, aunque su número disminuyó con una presencia relativamente mayor de arena en julio (Fig. 13). Al respecto, Christian *et al.*, (1983) establecieron que aunque la tasa de sulfatorreducción es superior en sedimentos limo-arcillosos comparada con la registrada en los sedimentos arenosos, la comunidad microbiana tiene un potencial semejante para el reciclamiento anaerobio del carbono ya sea en suelos arenosos o limo-arcillosos.

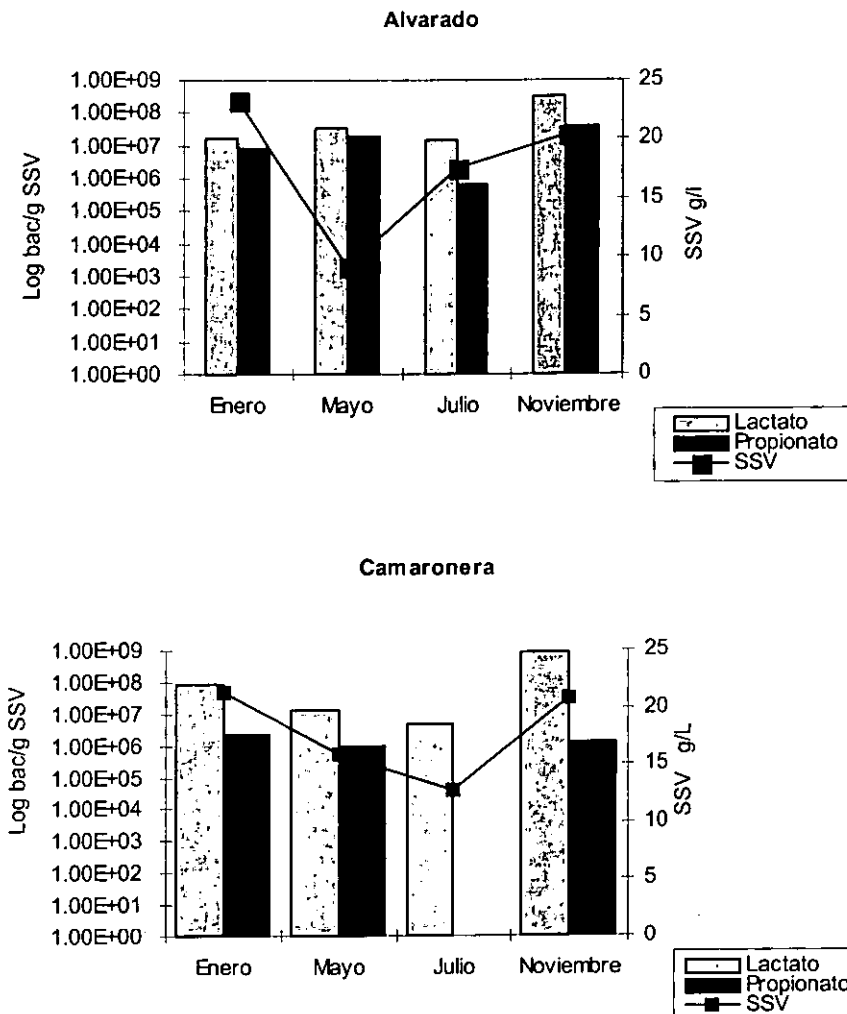




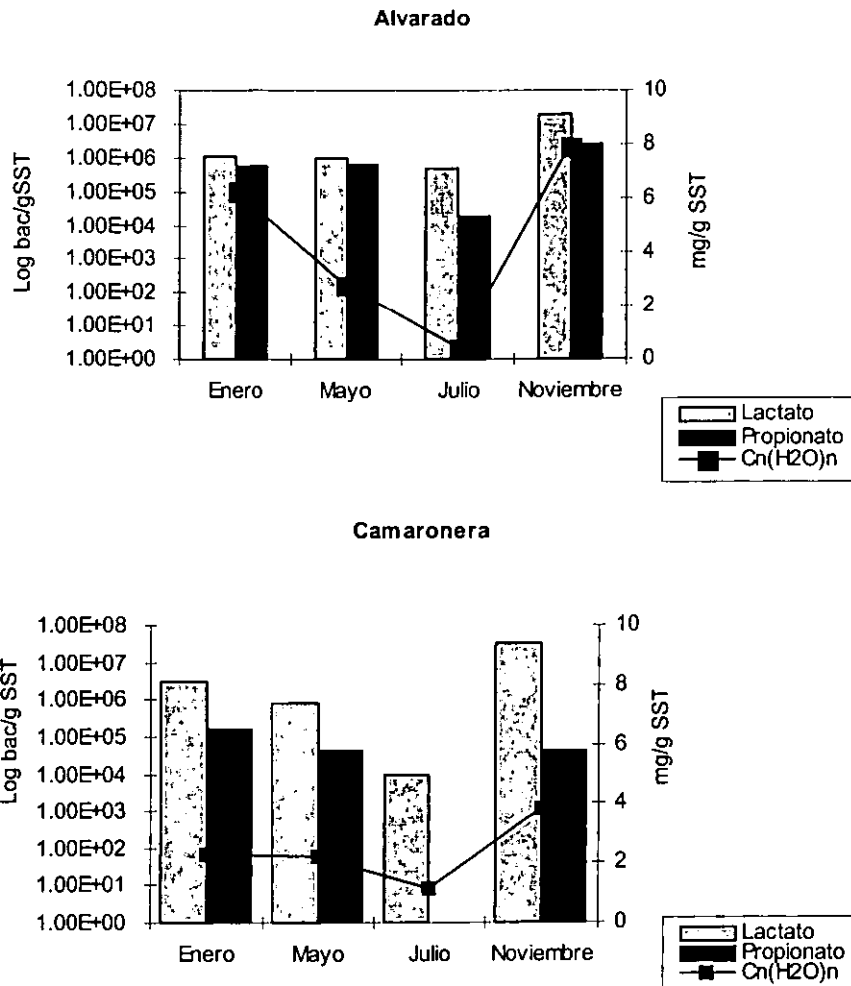
**Fig. 13. Relación entre las BSR y el porcentaje de arena en el complejo estuarino-lagunar de Alvarado-Camaronera, Veracruz.**

Por otro lado, la abundancia de las bacterias sulfatorreductoras al parecer dependió más de la entrada de sustratos orgánicos que de la disponibilidad del aceptor de electrones, ya que el sulfato al estar disponible en los sedimentos de Alvarado y Camaronera no es limitante, sino que la abundancia de las bacterias sulfatorreductoras aparentemente estuvo determinada principalmente por el contenido de sólidos suspendidos volátiles y el de carbohidratos depositados. Los compuestos orgánicos tales como azúcares y aminoácidos son degradados por las bacterias fermentadoras hasta ácidos grasos, formiato, hidrógeno y CO<sub>2</sub>, representando estos productos, sustratos susceptibles de ser empleados por la microbiota sulfatorreductora, aunque también la mayoría de las

bacterias sulfatorreductoras son capaces de utilizar la glucosa y los aminoácidos como fuente de carbono (Pfennig *et al.*, 1981). Como puede observarse en las Figuras 14-15, el mayor número de bacterias sulfatorreductoras de ambos grupos nutricionales se determinó en los meses asociados a la presencia de "nortes" (noviembre y enero), en los cuales también se registró el contenido de sólidos suspendidos volátiles y carbohidratos más alto; mientras que al disminuir éstos, hay un descenso en la abundancia de las bacterias sulfatorreductoras.



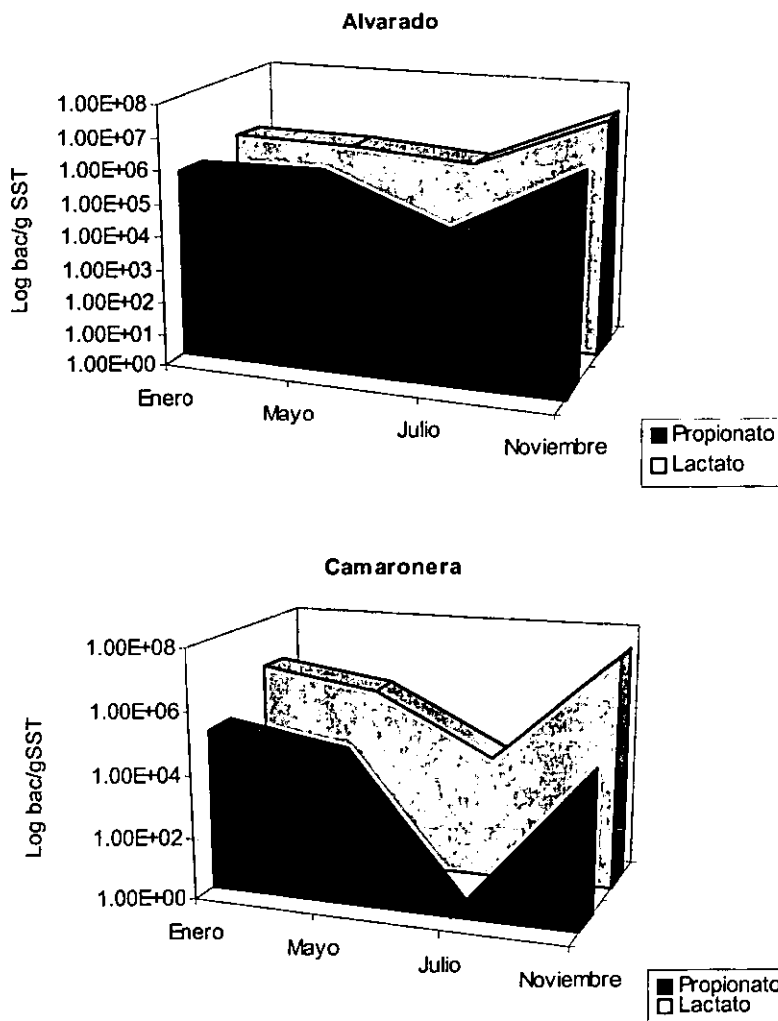
**Fig. 14. Relación entre las BSR y el contenido de SSV en el complejo estuarino-lagunar de Alvarado-Camaronera, Veracruz.**



**Fig. 15. Relación entre las BSR y el contenido de carbohidratos en el complejo estuarino-lagunar de Alvarado-Camaronera, Veracruz.**

De los diferentes grupos fisiológicos nutricionales analizados, la abundancia de las bacterias sulfatorreductoras utilizadoras de lactato fue superior a la de las que emplean propionato (Fig. 16), el primero junto con el H<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub> constituyen los principales substratos empleados por la microbiota sulfatorreductora. El lactato, que es el resultado de la actividad microbiana fermentadora y también un producto de excreción de los invertebrados bentónicos, ocasiona un desarrollo rápido principalmente de las especies del género *Desulfovibrio*, cuantificándose en sedimentos marinos y estuarinos de 10<sup>3</sup>-10<sup>5</sup>

unidades formadoras de colonias/cm<sup>3</sup> (Widdel, 1988). Laanbroek y Pfennig (1981) determinaron que *Desulfovibrio desulfuricans* oxida completamente el lactato hasta CO<sub>2</sub> en medios marinos, asimismo Cappenberg (1974, 1975), Miller *et al.*, (1979) y Parkes *et al.*, (1989) puntualizan que el lactato es el principal sustrato en sedimentos que muestran un enriquecimiento con materia orgánica y en superficies limosas expuestas temporalmente, mientras que Cappenberg y Prins (1974) sugieren que éste es el principal sustrato para la sulfatorreducción en sedimentos de lagos.



**Fig. 16. Variación estacional de la abundancia de las bacterias sulfatorreductoras en el sistema estuarino-lagunar Alvarado-Camaronera**

El propionato es un producto común de diversas fermentaciones y las bacterias

sulfatorreductoras utilizadoras de éste generalmente son especies del género *Desulfobulbus* (Laanbroek y Pfennig, 1981; Vance y Brink, 1994) y en sedimentos de marismas, dichas bacterias metabolizan directamente el propionato, el butirato y el L-lactato en presencia de sulfatos. Al parecer la presencia de sulfatos constituye un requisito para el consumo del propionato vía una sulfatorreducción, en estudios efectuados durante el tratamiento anaerobio (reactores UASB) de aguas de desecho (Visser *et al.*, 1993), con exceso de sulfatos, se ha demostrado que las bacterias sulfatorreductoras pueden competir con las bacterias acetoclásticas por el propionato, sin embargo a bajas concentraciones de sulfatos la degradación de los ácidos grasos volátiles se lleva a cabo principalmente por una asociación sintrópica entre las bacterias acetoclásticas y las metanógenas. Esta relación se observó también en ambientes dulceacuícolas, donde hay una oxidación del propionato que involucra a las bacterias reductoras obligadas de protones unidas a las utilizadoras de hidrógenos, éstas últimas probablemente metanógenas (Banat y Nedwell, 1983).

En pruebas de actividad cinética utilizando sedimentos marinos y molibdato como inhibidor de la sulfatorreducción, se presentó una acumulación de propionato y butirato en los mismos, corroborando entonces que estos ácidos grasos son substratos importantes para la sulfatorreducción en medios marinos (Banat y Nedwell, 1983; Dicker y Smith, 1985), Visser *et al.*, (1993) reportaron que en presencia de sulfatos la actividad de las bacterias sulfatorreductoras es elevada, produciéndose aproximadamente 0.75 mol de ácido sulfhídrico por cada mol de propionato degradado, por tanto en concentraciones elevadas de sulfatos la oxidación del propionato por las bacterias sulfatorreductoras es más importante. También las bacterias sulfatorreductoras que emplean propionato y acetato son el grupo fisiológico numéricamente dominante en ambientes productores de petróleo, además son activas en la degradación del abono de letrinas donde remueven los

ácidos grasos volátiles (Sai Ram *et al.* , 1993). Por tanto en presencia de sulfatos, la oxidación del propionato por las bacterias sulfatorreductoras es un mecanismo importante en la mineralización del carbono.

El grado de importancia de los diferentes substratos susceptibles de ser empleados en la sulfatorreducción, parece estar en función de las características del medio ambiente y el conocimiento sobre su disponibilidad para la sulfatorreducción es un punto clave en el entendimiento del mismo, ya que la actividad de los microorganismos involucrados en tal proceso se ve limitada por dicha disponibilidad (Nedwell y Abram, 1979; Sørensen *et al.*, 1979 y Smith, 1966).

Como puede observarse ambos grupos nutricionales tuvieron la máxima abundancia en los meses correspondientes a la temporada de "nortes" (enero y noviembre), caracterizada por una menor temperatura, condiciones estuarinas, con una mayor concentración de sólidos suspendidos volátiles y carbohidratos, así como un menor porcentaje de arenas y máximas condiciones reductoras del sedimento. Las mínimas abundancias se registraron en julio, mes asociado a la temporada de lluvias, caracterizado por condiciones dulceacuícolas, menor cantidad de sulfatos, sólidos suspendidos y carbohidratos, aumento en el porcentaje de arenas y potenciales redox que tienden a ser más oxidantes.

#### b) Microbiota metanógena.

Los patrones de distribución de las bacterias metanógenas, el número de éstas, así como los parámetros físicos, químicos y nutricionales que gobiernan su abundancia y distribución han sido evaluados principalmente en sedimentos de marismas caracterizados por la presencia de *Spartina alterniflora* (Jones y Paynter, 1980; Franklin *et*

*al.*, 1988) y escasamente en sedimentos de zonas estuarino-lagunares asociados a manglares (Mohanraju *et al.*, 1997).

En el presente trabajo la abundancia de las bacterias metanógenas en Alvarado y Camaronera es comparable a lo reportado en sedimentos lacustres y de marismas (Tabla 24). Como en el caso de las bacterias sulfatorreductoras, los tres grupos nutricionales de bacterias metanógenas cuantificados tuvieron una variación estacional y de éstos, las acetoclásticas fueron las más abundantes, seguidas por las hidrogenofílicas y por último las utilizadoras de metanol.

**Tabla 24. Abundancia de bacterias metanógenas en sedimentos de diferentes ambientes acuáticos.**

Bacterias metanogénicas bac/g SST	Condiciones del medio	Autor
10 <sup>5</sup> -10 <sup>6</sup> totales	Temperaturas 16°C-21°C, sedimentos lacustres con profundidades de 5-18 m	Zeikus y Winfrey, 1976
10 <sup>5</sup> , H <sub>2</sub> -CO <sub>2</sub> 10 <sup>4</sup> , metilaminas 10 <sup>5</sup> , metanol 10 <sup>4</sup> , acetógenas	Sedimentos lacustres durante la estratificación de verano	Phelps y Zeikus, 1985
10 <sup>3</sup> , H <sub>2</sub> .CO <sub>2</sub> 10 <sup>3</sup> , metilaminas 10 <sup>3</sup> , metanol 10 <sup>3</sup> , acetógenas	Sedimentos lacustres durante la mezcla de otoño	
12-250x10 <sup>5</sup> , acetógenas 5-300x10 <sup>5</sup> , metanol 5-200x10 <sup>5</sup> , H <sub>2</sub> .CO <sub>2</sub>	Sedimentos lacustres, con profundidades de 1 a 8 cm	Cappenberg, 1974
2.2-6.9x10 <sup>6</sup> , H <sub>2</sub> -CO <sub>2</sub> 5.2x10 <sup>6</sup> , acetógenas 0.98-2.0x10 <sup>6</sup> , H <sub>2</sub> -CO <sub>2</sub>	Sedimentos de marismas con <i>Spartina alterniflora</i> corta Sedimentos de marismas con <i>Spartina</i>	Franklin <i>et al.</i> , 1988

1.3x10 <sup>6</sup> , acetógenas	<i>alterniflora</i> larga	
4x10 <sup>6</sup> , H <sub>2</sub> -CO <sub>2</sub>	Sedimentos de marismas con <i>Spartina alterniflora</i> corta	Jones y Paynter, 1980
0.2-0.4x10 <sup>6</sup> , H <sub>2</sub> -CO <sub>2</sub>	Sedimentos de marismas con <i>Spartina alterniflora</i> larga	
2.51x10 <sup>4</sup> -1.27x10 <sup>7</sup> , acetógenas	Camaronera	Este estudio
6.81x10 <sup>3</sup> -2.22x10 <sup>5</sup> , H <sub>2</sub> -CO <sub>2</sub>		
1.1x10 <sup>4</sup> -1.15x10 <sup>6</sup> , metanol		
2.18x10 <sup>5</sup> -5.38x10 <sup>7</sup> , acetógenas	Alvarado	Este estudio
2.62x10 <sup>5</sup> -2.07x10 <sup>6</sup> , H <sub>2</sub> -CO <sub>2</sub>		
7.68x10 <sup>3</sup> -5.85x10 <sup>5</sup> , metanol		

Al parecer el desarrollo de las bacterias metanógenas acetoclásticas e hidrogenofílicas a lo largo del ciclo anual, como en el caso de las sulfatorreductoras, no está controlado por la temperatura, ya que los intervalos cuantificados de éstas en Alvarado y Camaronera están próximos a los óptimos reportados para este tipo de microorganismos, Zeikus y Winfrey (1976) determinaron que la temperatura óptima para la producción de metano está entre 35 y 42°C, mientras que Mohanraju *et al.*, (1997) en sedimentos asociados a manglares reportan una temperatura óptima de crecimiento para las bacterias metanógenas entre 30-35°C.

Al respecto de la temperatura, Jones y Paynter (1980) no encontraron una diferencia significativa entre los conteos de bacterias metanógenas hidrogenofílicas efectuados en los meses de verano e invierno en una marisma de Georgia; en la misma marisma Franklin *et al.*, (1988) cuantificaron un promedio de 6.9x10<sup>6</sup> bac/g sedimento seco y 2.2 x 10<sup>6</sup> bac/g sedimento seco de bacterias metanógenas hidrogenofílicas y acetoclásticas, respectivamente. Por el contrario, Zeikus y Winfrey (1976) reportan una relación directa entre la metanogénesis y la temperatura, ya que el incremento en el número de bacterias metanógenas corresponde con un aumento de la temperatura y un descenso en la



temperatura se correlaciono con una disminución del número de bacterias.

Con base en los datos de salinidad se observa que las bacterias metanógenas, como las bacterias sulfatorreductoras, en las laguna de Alvarado-Camaronera se pueden desarrollar en un intervalo amplio de salinidad, desde condiciones dulceacuícolas hasta estuarinas, no existiendo una relación entre los cambios de salinidad y las variaciones en la abundancia de la microbiota metanógena (Fig. 17).

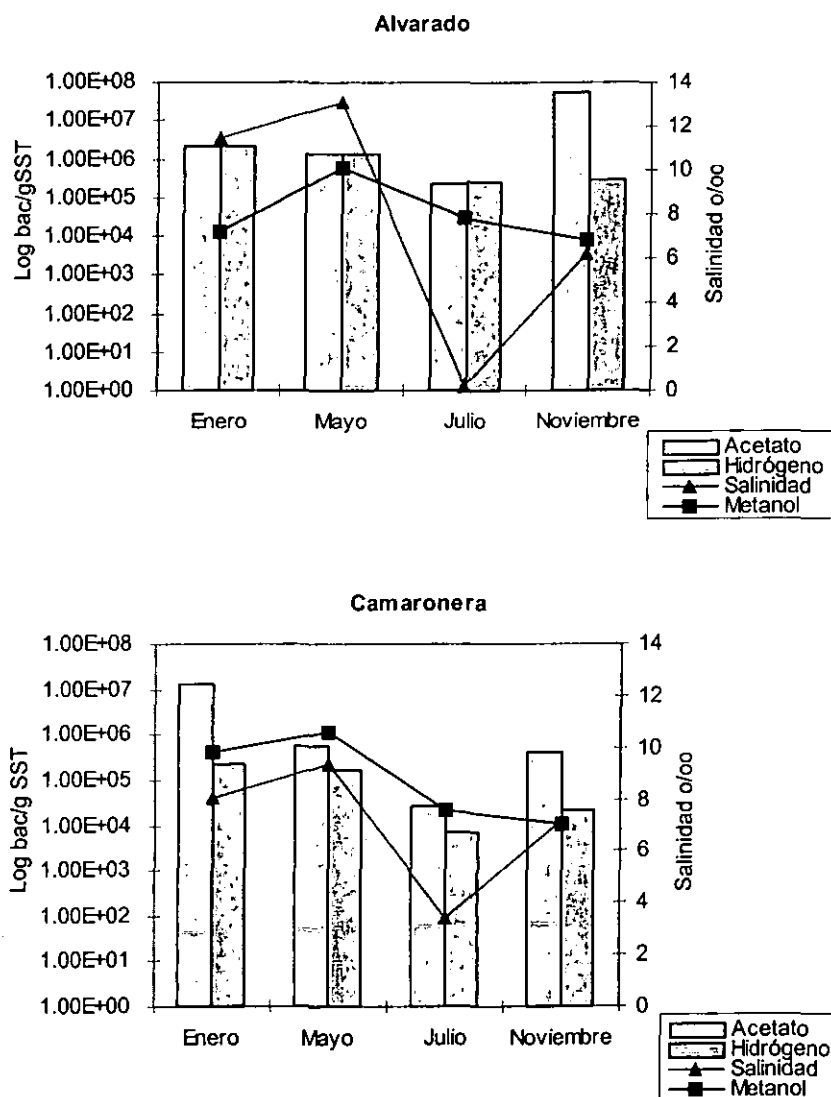
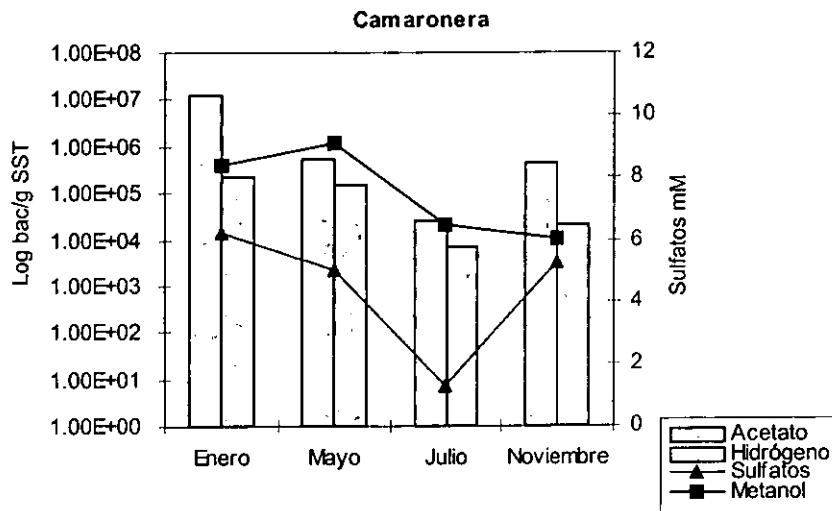
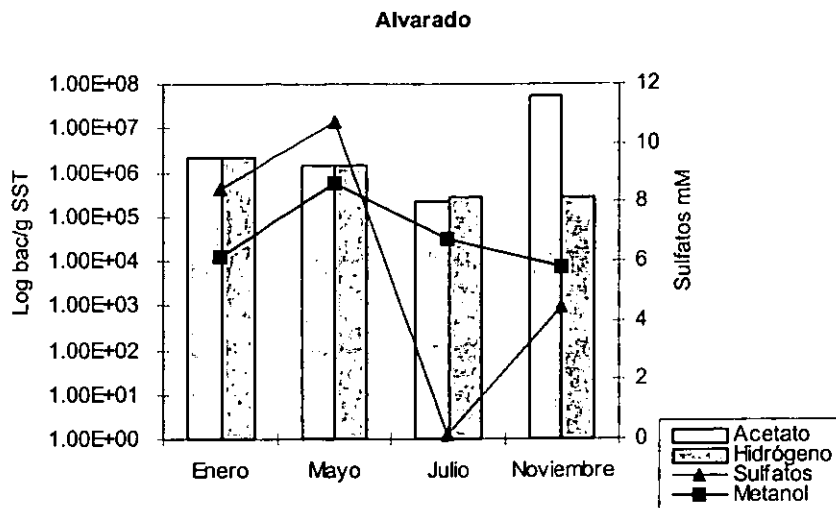


Fig. 17. Relación entre las BM y la salinidad en el complejo estuarino-lagunar de Alvarado-Camaronera, Veracruz.

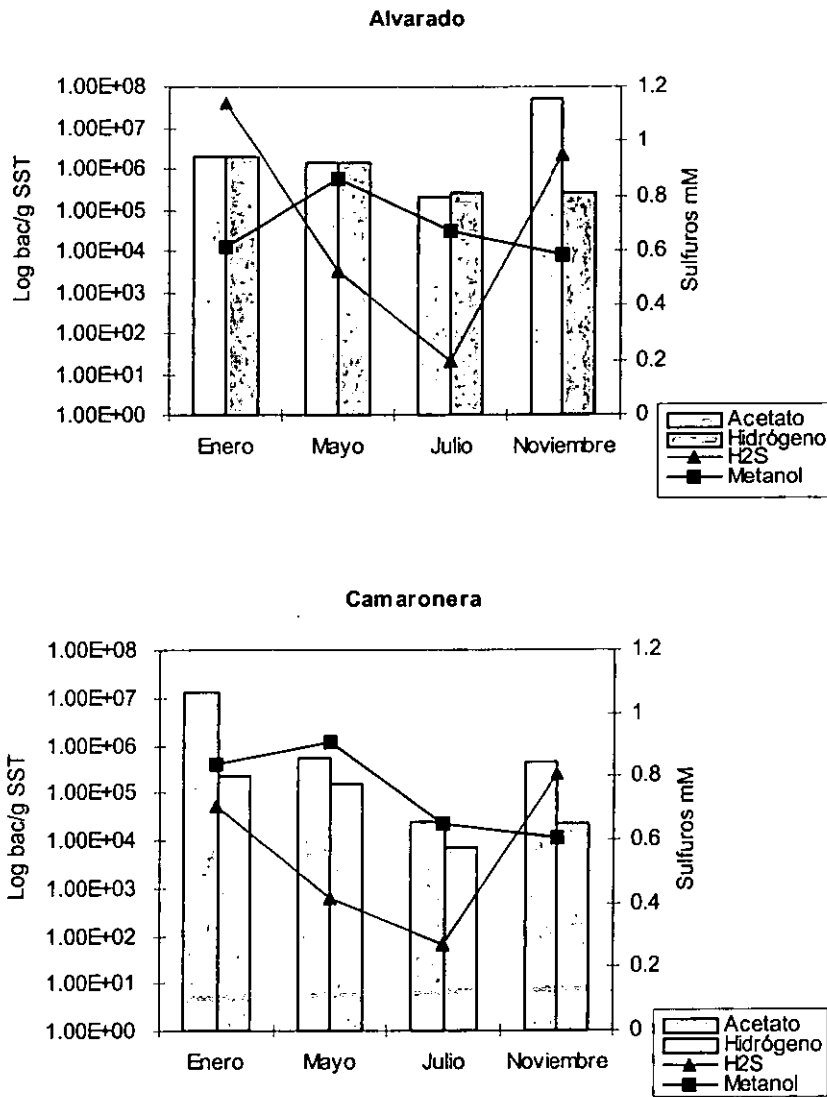
Por lo que respecta a las concentraciones de sulfatos y sus variaciones determinadas, éstas no afectaron el desarrollo de las bacterias metanógenas (Fig. 18), al igual que en otros estudios en donde se ha reportado que la formación de metano en sedimentos en un medio artificial no está influido por la presencia de sulfatos; sin embargo, Claypool y Kaplan (1974) establecieron que la producción de metano comienza una vez que la concentración de sulfatos disminuye. Cabe señalar que en el caso de las bacterias metanógenas que emplean metanol, éstas presentaron una mayor abundancia durante el mes de mayo, en el cual los sulfatos y la salinidad registraron sus valores son más altos.



**Fig. 18. Relación entre las BM y los sulfatos en el complejo estuarino-lagunar de Alvarado-Camaronera, Veracruz.**

En el presente estudio, las bacterias metanógenas se detectaron en todos los meses analizados, independientemente de la presencia de sulfuro de hidrógeno (Fig. 19), lo anterior probablemente obedeció a que las cantidades detectadas de este compuesto fueron inferiores a las que producen inhibición de la metanogénesis, Mountfort y Asher (1979) observaron que una concentración de 25 mM de ácido sulfhídrico inhiben la metanogénesis, en este estudio las concentraciones registradas fueron 10 veces

inferiores a la reportada por dichos autores; aunque en un experimento con cultivos continuos de *Methanobacterium* spp. no se detectó crecimiento de las bacterias pertenecientes a este género con una concentración de sulfuro de hidrógeno aproximada de 0.1 mM. Como puede observarse la acción inhibitoria del sulfuro de hidrógeno sobre la metanogénesis no sólo depende de su concentración sino tambien de la especie de bacteria metanógena que esté presente.

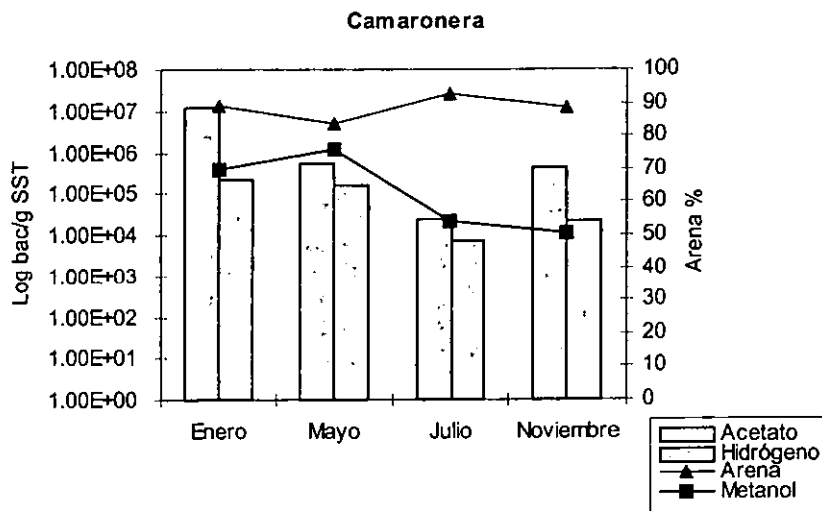
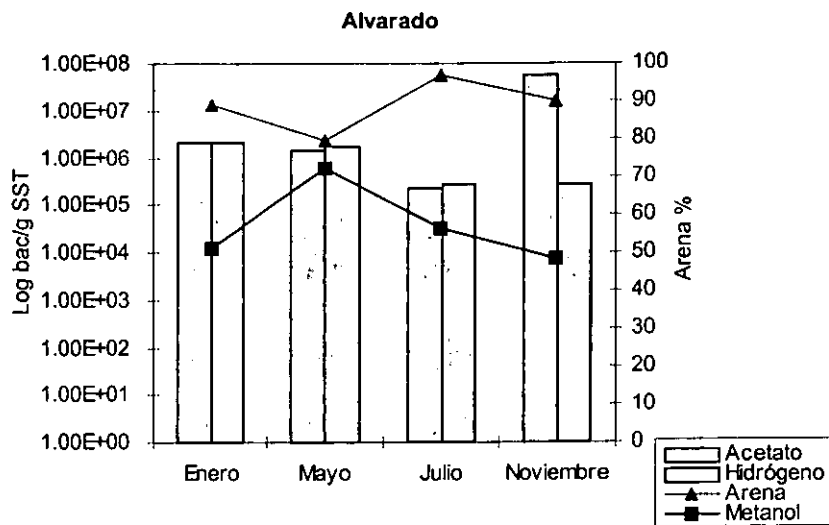


**Fig.19. Relación entre las BM y los sulfuros en el complejo estuarino-lagunar de Alvarado-Camaronera, Veracruz.**

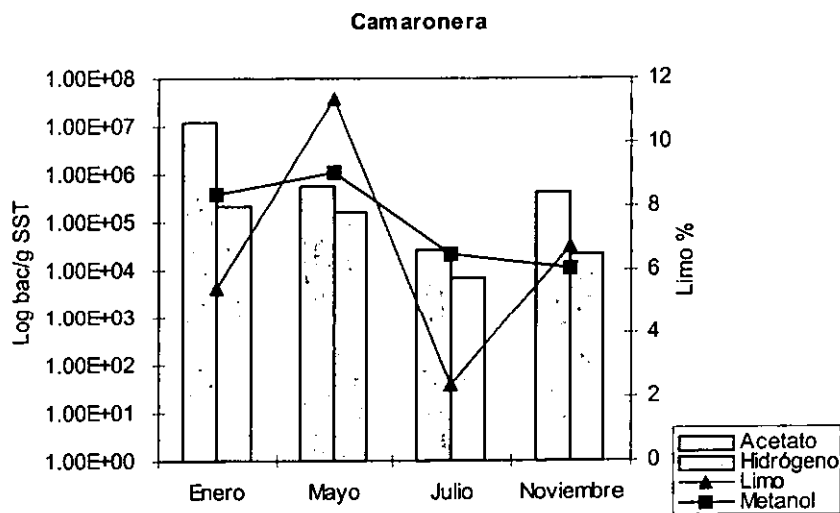
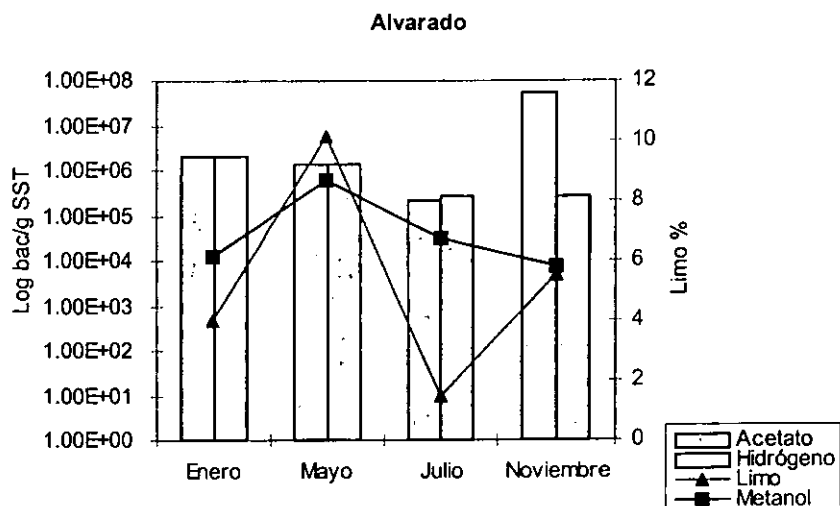
Los intervalos de pH medidos en los sedimentos de Alvarado y Camaronera permitieron el crecimiento de las bacterias metanógenas. La mayoría de las bacterias metanógenas crecen en pH cercanos a la neutralidad, con un intervalo de 6.5-7.5, rara vez se desarrollan a un pH inferior a 6.0 o superior a 8.0 (Mah y Smith, 1981; García, 1990), aunque se han reportado metanógenas que presentan un crecimiento óptimo a un pH de 6 (Williams y Crawford, 1984). Zeikus y Winfrey (1976) y Gunnarsson y Rönnow (1982) cuantificaron en sedimentos costeros bacterias metanógenas a pH de 7.1-7.5 y Mohanraju *et al.*, (1997) reportan las mismas bacterias con un pH de 6.6-7.2.

En lo que se refiere al Eh, de acuerdo a los intervalos evaluados en los sedimentos de Alvarado y Camaronera, éstos están dentro de los valores establecidos como adecuados para el desarrollo de las bacterias metanógenas.

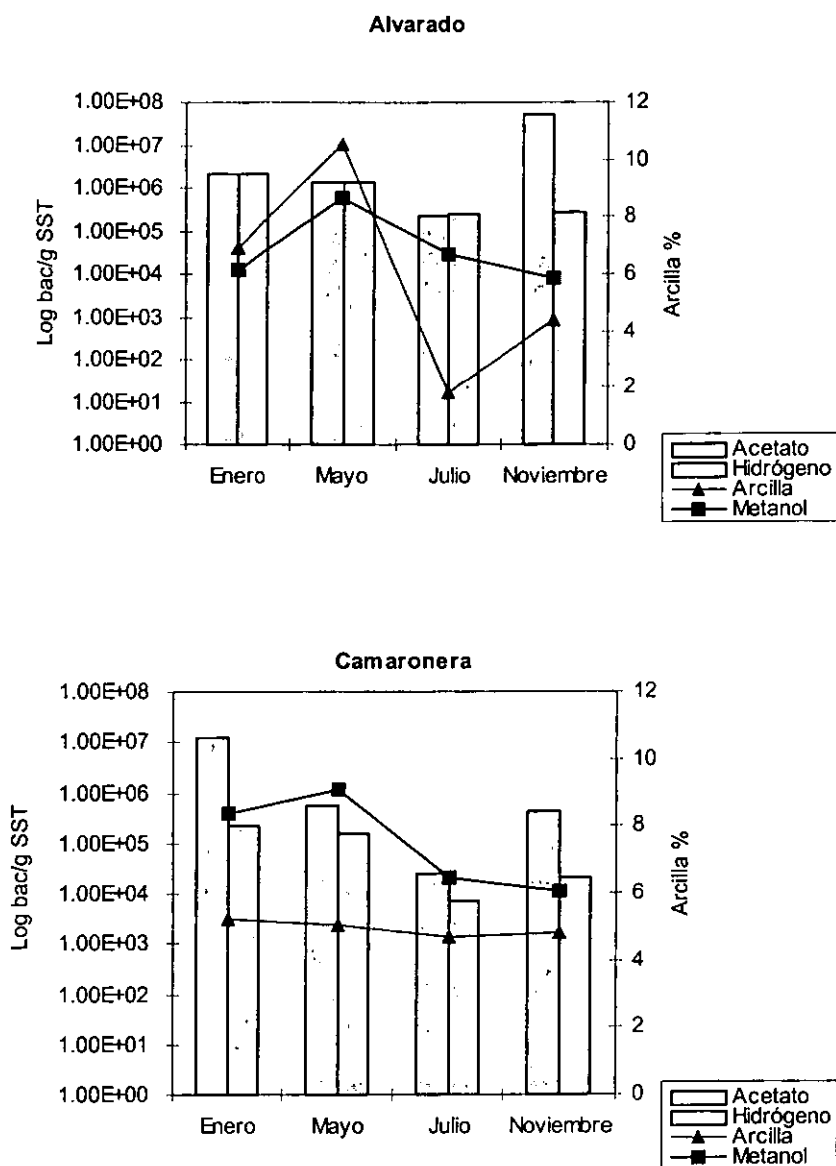
En el complejo lagunar de Alvarado-Camaronera en el mes de julio, en el que se determinó relativamente el mayor porcentaje de arena, el número de bacterias metanógenas fue menor (Fig. 20), aumentando la abundancia de las mismas al incrementarse el contenido de arcillas y limo en la fase sedimentaria (Fig. 21-22).



**Fig. 20. Relación entre las BM y el porcentaje de arena en el complejo estuarino-lagunar de Alvarado-Camaronera, Veracruz.**



**Fig. 21. Relación entre las BM y el porcentaje de limo en el complejo estuarino-lagunar de Alvarado-Camaronera, Veracruz.**

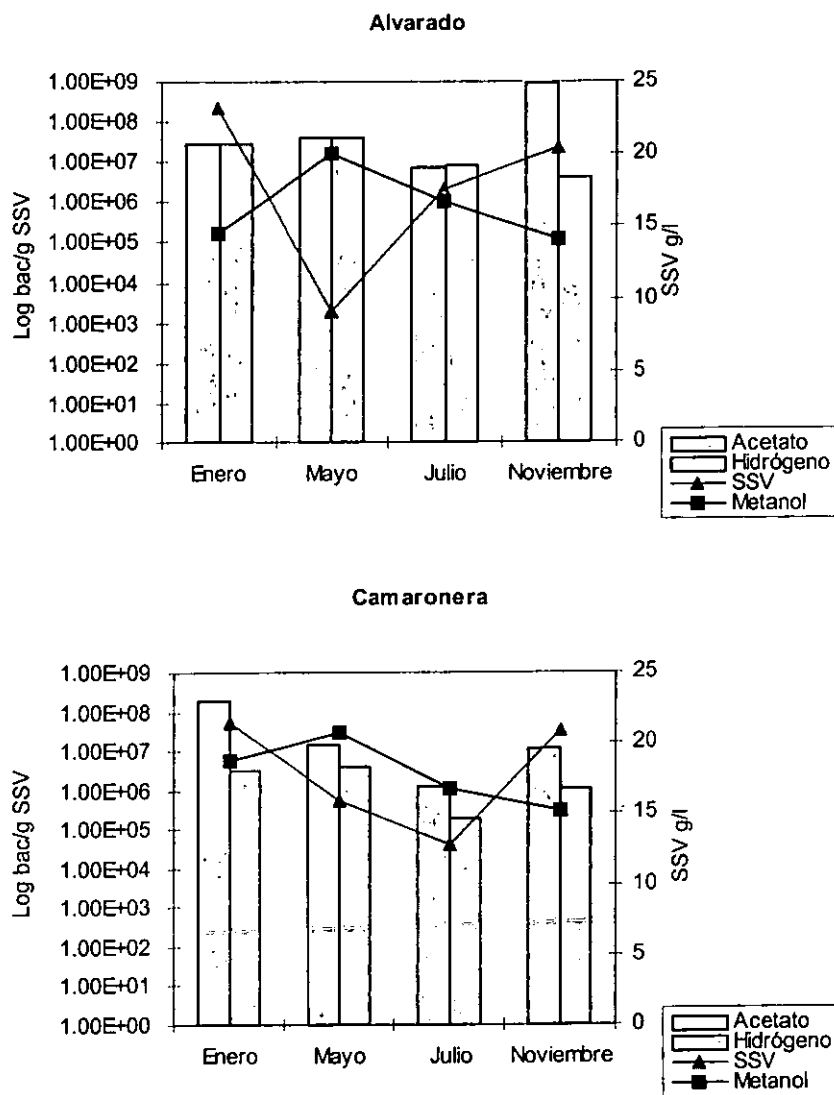


**Fig. 22. Relación entre las BM y el porcentaje de arcilla en el complejo estuarino-lagunar de Alvarado-Camaronera, Veracruz.**

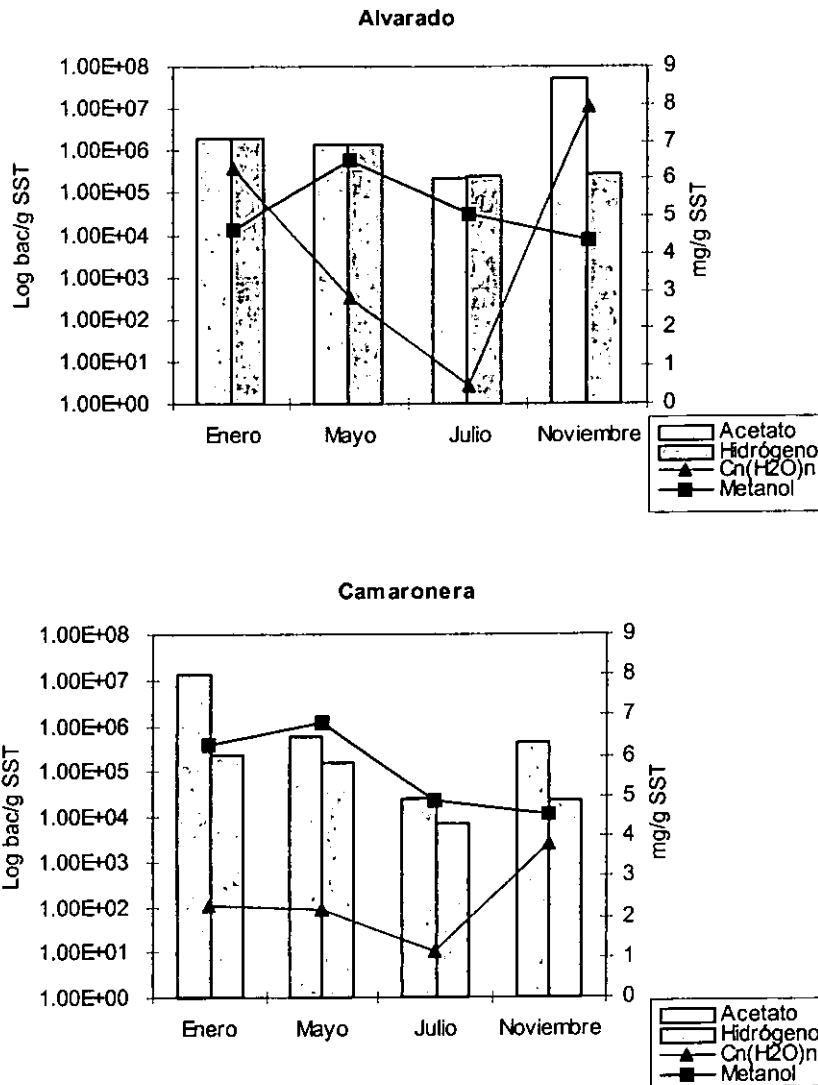
Wagner *et al.*, (1999) analizaron la producción de metano con diferentes texturas de sedimento en marismas y demostraron que entre mayor cantidad de cargas negativas existan en el sedimento mayor será la metanogénesis, observaron que la producción de metano aumentaba siguiendo la siguiente secuencia: arena<grava<limo<arcilla.



Como puede observarse en las figuras 23-24, el mayor número de bacterias metanógenas acetoclásticas e hidrogenofílicas se determinó en los meses asociados a la presencia de "nortes" (noviembre y enero), en los cuales también se registró el contenido de sólidos suspendidos volátiles y carbohidratos más alto; mientras que al disminuir éstos, hay un descenso en la abundancia de dichas poblaciones microbianas.



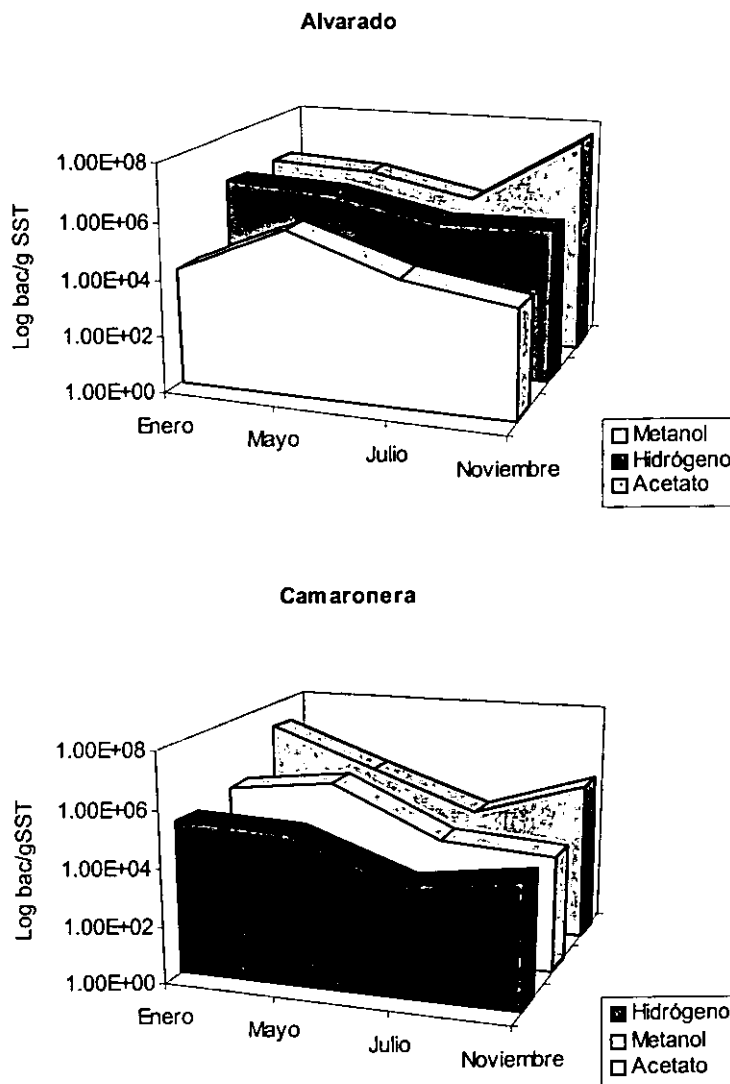
**Fig. 23. Relación entre las BM y el contenido de SSV en el complejo estuarino-lagunar de Alvarado-Camaronera, Veracruz.**



**Fig. 24. Relación entre las BM y el contenido de carbohidratos en el complejo estuarino-lagunar de Alvarado-Camaronera, Veracruz.**

En lo que a la utilización de sustratos corresponde (Fig. 25), el número de bacterias metanógenas acetoclásticas fue superior. El acetato, producto final de diversas rutas metabólicas, genera aproximadamente dos terceras partes del metano; se conocen 6 géneros capaces de utilizar el acetato y éstos son: *Methanosarcina*, *Methanococcoides*, *Methanohalobium*, *Methanohalophilus*, *Methanolobus* y *Methanotherix* (Holt et al., 1994). Este ácido graso representa del 60-70% del metano formado en sedimentos

dulceacuícolas y lodos de desecho (Cappenberg, 1974; Cappenberg y Prins, 1974). En otros estudios se ha determinado que el acetato contribuye del 73-90% del metano producido en digestores anaerobios de aguas de desecho, el 60% en arrozales y el 70% en sedimentos lacustres (Sandbeck y Ward, 1981).



**Fig. 25. Variación estacional de la abundancia de las bacterias metanogénicas en el sistema estuarino-lagunar Alvarado-Camaronera**

Como el acetato es un precursor importante de la metanogénesis en los sedimentos y ya que es producido por las bacterias sulfatorreductoras durante el metabolismo del lactato,

existe una interrelación importante denominada comensalismo entre ambos grupos vía substrato.

Por lo que respecta al  $H_2-CO_2$ , éste es el principal producto de la fermentación de muchas especies bacterianas, hongos y protozoarios. El  $H_2-CO_2$  puede ser utilizado como substrato por especies de los géneros *Methanobacterium*, *Methanobrevibacter*, *Methanothermus*, *Methanococcus*, *Methanomicrobium*, *Methanogenium*, *Methanospirillum*, *Methanosarcina* y *Methanoplanus* (Olliver *et al.*, 1986; Vogels *et al.*, 1988). Es un precursor importante para la metanogénesis principalmente en sedimentos dulceacuícolas (Abram y Nedwell, 1978) y aguas residuales. Cappenberg (1974) reporta que éste representa aproximadamente el 6% del metano producido en sedimentos lacustres, mientras que en digestores de aguas de desecho anaerobios representa del 14 al 30% del metano, del 20-30% en arrozales y del 36-98% en sedimentos lacustres (Sandbeck y Ward, 1981). Conrad (1999) reporta que teóricamente el  $H_2-CO_2$  es el 33% de la metanogénesis total cuando los carbohidratos o formas similares de materia orgánica son degradados, mientras que Winfrey y Zeikus (1979) establecen que del 30-40% del metano generado en los sedimentos proviene del hidrógeno.

El consumo de  $H_2$  con la reducción del  $CO_2$  contribuye a remover el hidrógeno del medio, este proceso es importante porque permite que continúen las reacciones de fermentación en equilibrio (Conrad *et al.*, 1985), e impide la inhibición de la metanogénesis a partir de acetato (Lovley y Ferry, 1985).

El acetato y el  $H_2-CO_2$  son los principales precursores de la metanogénesis en los sedimentos, el acetato representa del 60-70% del metano formado en ambientes dulceacuícolas, mientras que el  $H_2-CO_2$  representa el resto. Por lo tanto, en ecosistemas

no halófilicos, la mezcla  $H_2$ - $CO_2$  y el acetato representan los precursores más importantes de la metanogénesis, mientras que en ambientes con alto contenido de sales se requieren sustratos más especializados como metanol y metilaminas, esto se debe al hecho de que los ambientes con un alto contenido de sales usualmente están enriquecidos con sulfatos, por lo tanto las bacterias sulfatorreductoras pueden competir con las metanógenas por el acetato o el  $H_2$ - $CO_2$  disponibles, entonces los sustratos no sujetos a competencia cobran importancia (Oren, 1988).

El metanol se origina del rompimiento de compuestos metilados como la pectina y las ligninas, se conocen once especies de bacterias metanógenas capaces de utilizarlo pertenecientes a los géneros: *Methanococcus*, *Methanosarcina*, *Methanohalophilus*, *Methanococcoides* y *Methanobolus* (Mah *et al.*, 1985; Lovley y Ferry, 1985; Vogels *et al.*, 1988). Lovley y Klug (1983) encontraron que la formación de metano a partir de metanol representa del 2.8-4.0% de la producción total y ayuda a las bacterias metanógenas a mantener sus poblaciones cuando hay suministro de sulfatos al medio. King *et al.*, (1983) reportan que el potencial metabólico del metanol durante los procesos de descomposición anaerobia es el resultado tanto de la sulfatorreducción como de la metanogénesis. Oremland *et al.*, (1982) reportaron que la metanogénesis a partir de metanol y metilaminas puede llevarse a cabo simultáneamente en sedimentos anaerobios independientemente de la presencia de sulfatos.

En el ecosistema lagunar de Alvarado-Camaronera el crecimiento tanto de las bacterias metanógenas hidrogenofílicas como acetoclásticas, así como de las utilizadoras de metanol pudo obedecer a que dicho complejo lagunar en el transcurso de los meses analizados presentó diferentes condiciones de salinidad, desde dulceacuícolas hasta mixohalinas que pudieron favorecer la presencia de los diferentes grupos nutricionales.

El número de bacterias metanógenas hidrogenofílicas y acetoclásticas disminuyó durante la temporada de lluvias, ya que la entrada de aportes dulceacuícolas provocó una resuspensión de los sedimentos creando un intercambio de agua intersticial, que da como resultado la existencia de condiciones oxidantes en el sedimento. Franklin *et al.*, (1988) encontraron que las abundancias de bacterias metanógenas utilizadoras de hidrógeno y acetato fueron menores en regiones de *S. alterniflora* de tallo largo en comparación con zonas de *S. alterniflora* con tallo corto, lo anterior como resultado de que en el primer caso hay un intercambio de agua intersticial rápido, mientras que en la segunda el agua intersticial se encuentra estancada. Aunado a lo anterior, en el mes de julio la cantidad de componentes orgánicos disminuyó, por lo que, como en el caso de las bacterias sulfatorreductoras, el aporte y disponibilidad de sustratos orgánicos es importante para el crecimiento de las bacterias metanógenas (Figs. 23-24).

## 9.2. Caracterización vertical.

Los resultados del número de bacterias con respecto a la profundidad obtenidos en el presente trabajo indican que los procesos de metanogénesis y sulfatorreducción pueden existir conjuntamente como ha sido estipulado previamente por Gunnarsson y Rönnow (1982), quienes reportan la presencia tanto de bacterias sulfatorreductoras como metanógenas a todo lo largo de la columna sedimentaria; sin embargo, hay que señalar que existen diferencias en cuanto a los estratos sedimentarios donde se registró la máxima abundancia de cada grupo microbiano.

En Alvarado y Camaronera se determinó una relación inversa entre el número de bacterias sulfatorreductoras y la profundidad del sedimento, significando con esto que la abundancia de la población sulfatoreductora desciende conforme se incrementa la profundidad sedimentaria; lo anterior fue comprobado por los trabajos de Berner (1974), Nedwell y Abram (1978), Winfrey y Ward (1983) y Howarth y Merkel (1984) quienes reportan la máxima actividad sulfatoreductora en los primeros centímetros del sedimento, con una tendencia general hacia una disminución de la misma conforme aumenta la profundidad.

Asimismo se encontró a los utilizadores de lactato como el grupo más abundante seguido de las especies que emplean propionato y acetato, éstas últimas evaluadas sólo en el mes de abril. El grupo fisiológico de bacterias sulfatorreductoras utilizadoras de acetato generalmente comprende representantes de los géneros *Desulfobacter*, *Desulfonema*, *Desulfurella* y *Desulfuromonas* (Holt et al., 1994) y del género *Desulfobacter* se han reportado números de  $6 \times 10^3$  unidades formadoras de colonias/cm<sup>3</sup> (Widdel, 1988). Se considera que el acetato es la principal fuente de energía para la sulfatorreducción en

sedimentos calcáreos, hipersalinos, ricos en materia orgánica y sulfatos (Skyring, 1988). Mountfort *et al.*, (1980), Ward y Olson (1980) y Sorensen *et al.*, (1981) coinciden en que el acetato es un substrato importante para la sulfatorreducción en ambientes con un alto contenido de sulfatos; Parkes *et al.*, (1989) determinaron que éste representa del 35.5 al 100% de la sulfatorreducción en ambientes marinos, seguido por el lactato con un 43% y el propionato con un intervalo del 6 al 12.5%. La capacidad de las bacterias sulfatorreductoras para oxidar el acetato hace factible que éstas puedan competir con las metanógenas por el acetato disponible. Banat *et al.*, (1981) y Winfrey y Ward (1983) demostraron que aproximadamente el 60% de la sulfatorreducción es debida al acetato.

Gibson *et al.*, (1987) cuantificaron las bacterias sulfatorreductoras en sedimentos estuarinos anóxicos de la Bahía Kingoodie y determinaron que las utilizadoras de lactato fueron dominantes (71%), seguidas por las que emplean propionato (17%) y acetato (12%), asimismo obtuvieron las cuentas más altas entre los 0 y 2 cm de profundidad del sedimento, disminuyendo el número al aumentar la profundidad. Laanbroek y Pfening (1981) cuantificaron el mayor número de bacterias sulfatorreductoras utilizadoras de lactato en el estrato anaerobio situado inmediatamente por debajo del estrato aerobio. Christensen (1984) determinó, por medio de experimentos de actividad con inhibidores, que la sulfatorreducción es mayor entre los primeros 2 y 4 centímetros de la columna sedimentaria y disminuye al aumentar la profundidad, siendo la sulfatorreducción a partir de acetato el 78% y el 16% con propionato entre los 4-6 cm; y el 52% de acetato y el 10% de propionato de los 8-10 cm; Parkes *et al.*, (1989) efectuaron un estudio de las tasas de sulfatorreducción en sedimentos marinos y estuarinos, reportando que en éstos el acetato representa del 35% al 100% de la sulfatorreducción, el propionato del 6% al 12%, y juntos el acetato y el propionato constituyen el 80% de la sulfatorreducción, mientras que el lactato es el 43%.



Fukui y Takii (1996) en un lago hipereutrófico cuantificaron la mayor abundancia de las bacterias sulfatorreductoras en los primeros centímetros del sedimento, dominando las que utilizan lactato, seguidas por las que emplean propionato y acetato. Cabe señalar que cuando están presentes el lactato y el acetato, las bacterias sulfatorreductoras prefieren oxidar el primero (Dicker y Smith, 1985). Visser *et al.*, (1993) mencionan que con respecto al acetato la situación no es tan clara, ya que algunos trabajos reportan que el empleo del acetato por las bacterias metanógenas es dominante sobre la utilización del mismo sustrato por las bacterias sulfatorreductoras (Mulder, 1984), mientras que otros reportan lo contrario (Alphenaar *et al.*, 1993), lo anterior al parecer depende de la concentración del sulfato en el medio.

A consecuencia de la actividad sulfatoreductora, la mayor parte de los sulfatos se reducen en los primeros centímetros del sedimento, liberándose al mismo tiempo el ácido sulfhídrico, hecho que da como resultado que las concentraciones de sulfuros cuantificadas en este estudio fueran más elevadas a pocos centímetros por debajo de la superficie sedimentaria; Indebré *et al.*, (1979) determinaron la concentración de sulfuros más elevada entre los 2 y 4 cm de profundidad del sedimento, así como una declinación de la actividad sulfatoreductora al aumentar la profundidad del sedimento que coincidió con un descenso en el número de bacterias sulfatorreductoras.

No obstante lo anterior, la concentración de sulfuros determinada no crea una inhibición de la metanogénesis al no alcanzar los niveles que han sido determinados como tóxicos para las bacterias que participan en tal proceso -100 mg/ml- (Cappenberg, 1974 y 1975; Winfrey y Zeikus, 1977). Al respecto Abram y Nedwell (1978) señalan que la inhibición de la metanogénesis es superior por la competencia por el sustrato disponible en comparación

a la inhibición provocada por el ácido sulfhídrico, lo anterior fue establecido con base en experimentos de estimulación realizados con hidrógeno sobre las poblaciones bacterianas anaerobias de lodos de sedimentos, que dieron como resultado una estimulación de la sulfatorreducción y la metanogénesis, ésta última a pesar de la presencia de ácido sulfhídrico en dichos lodos.

Como se ha discutido anteriormente la producción de metano no se excluye por el proceso de sulfatorreducción, aunque tal proceso es menor en los estratos con mayor contenido de ácido sulfhídrico, como lo demuestran las cuantificaciones de bacterias metanógenas obtenidas en este estudio, las cuales fueron más abundantes a la profundidad de 15 cm. Cappenberg (1974) en sedimentos lacustres determinó el número máximo de bacterias sulfatorreductoras a una profundidad de 0-2 cm con un Eh de -100 a -150 mV, mientras que las bacterias metanógenas se ubicaron entre 3-6 cm y Eh de -250 a -300 mV (Tabla 25):

**Tabla 25. Distribución vertical de las bacterias sulfatorreductoras y metanógenas en sedimentos lacustres (Cappenberg, 1974)**

Profundidad cm	BSR-Lactato/l	BM-Acetato/l	BM-Metanol/l	BM-Hidrógeno/l
0-2	15-30x10 <sup>5</sup>	15-20x10 <sup>5</sup>	5-10x10 <sup>5</sup>	30-100x10 <sup>5</sup>
3-6	0.5-8x10 <sup>5</sup>	100-250x10 <sup>5</sup>	60-300x10 <sup>5</sup>	10-200x10 <sup>5</sup>

BSR-L = bacterias sulfatorreductoras utilizadoras de lactato

BM-A = bacterias metanógenas acetoclásticas

BM-M = bacterias metanógenas utilizadoras de metanol

BM-H = bacterias metanógenas hidrogenofílicas

En lo que respecta a la utilización de sustratos, los grupos fisiológicos que emplean acetato y metanol dominaron a los 5 cm, mientras que las hidrogenofílicas a los 15 cm de profundidad. En lo que se refiere a la utilización de sustratos en el trabajo de Jones y Paynter (1980), las mayores poblaciones metanógenas hidrogenofílicas se reportan entre los 5 y 7 cm del sedimento estuarino ( $1.8 \times 10^7$  bac/g sedimento seco) y decrecen conforme aumenta la profundidad hasta 36 cm (45 bac/g sedimento seco), mientras que la mayor abundancia de bacterias metanógenas acetoclásticas se cuantificó a profundidades de 4 a 6 cm (Cappenberg *et al.*, 1978).

Por lo que se refiere a las metilaminas, éstas son producidas a partir de la descomposición de sustancias como la colina, creatinina y betainina o por la reducción bacteriana del óxido de trimetilamina, que es un producto de excreción de los animales marinos (King, 1988). Las bacterias metanógenas capaces de utilizar metilaminas pertenecen a los géneros *Methanosarcina*, *Methanlobus*, *Methanohalobium*, *Methahalophilus* y *Methanococoides* (Holt *et al.*, 1994).

A pesar de que en el presente trabajo no se registró crecimiento de bacterias metanógenas a partir de metilaminas, no se debe descartar la importancia de éstas como sustrato, las metilaminas en una concentración aproximada de 10 mM son un sustrato importante en ambientes dulceacuícolas y en medios con una sulfatorreducción activa, donde el acetato es el principal sustrato para la sulfatorreducción. Ferdelman *et al.*, (1997) reportaron que en los sedimentos de plataforma continental la formación de metano fue casi exclusivamente a partir de metilaminas.

Yancey *et al.*, (1982), Winfrey y Ward (1983) y Oren (1988) establecieron que el metanol y

las metilaminas son substratos más especializados que sirven como precursores del metano en medios con un alto contenido de sales, especialmente las metilaminas que se producen en grandes cantidades durante los procesos de osmoregulación de los organismos marinos. Mathrani y Boone (1985) reportan que en los sedimentos donde el sulfato no es limitante, las bacterias sulfatorreductoras compiten efectivamente con las metanógenas principalmente por el acetato y el hidrógeno, por lo cual en estos ambientes las metilaminas y el metanol son los principales substratos para las bacterias metanógenas en este tipo de ambientes; asimismo, Franklin *et al.*, (1988) reportaron un promedio de bacterias metanógenas utilizadoras de metilaminas de  $5.2 \times 10^6$  bac/g sedimento seco en una marisma de Georgia.

El metanol y las metilaminas son los precursores del 5% y del 1% del metano formado, respectivamente. El metabolismo del metanol es relativamente rápido, pero las metilaminas se metabolizan más lentamente, además King *et al.*, (1983) al realizar estudios sobre el metabolismo anaerobio de diversos compuestos en sedimentos acuáticos, encontraron que aparentemente la producción de metano a partir de metilaminas es despreciable debido a que el potencial metabólico de las metilaminas, en conjunto con el del metanol, es el resultado tanto de la sulfatorreducción como de la metanogénesis; sin embargo, si se inhibe la actividad sulfatorreductora, una fracción significativa de metilaminas se convierte a metano.

Así, la importancia de la metanogénesis a partir de estos substratos dependerá de las entradas de los precursores de metilaminas al sistema como la colina o glicina, o precursores del metanol como la descomposición de la pectina (Schink y Zeikus, 1980). La ausencia de bacterias metanógenas utilizadoras de metilaminas en los sedimentos de Alvarado y Camaronera, pudo obedecer a que existiera una baja disponibilidad de los

sustratos que son metabolizados hasta estos compuestos (Lovley y Klug, 1983).

Como puede observarse el número de bacterias metanógenas está regulado por varios factores, incluyendo la disponibilidad del sustrato y la interacción con otros microorganismos.

El hecho de haber cuantificado bacterias sulfatorreductoras y metanógenas en el mismo estrato establece que ambos procesos pueden existir conjuntamente, aunque como propuso Cappenberg (1974) y Nedwell y Abram (1978), existe una exclusión competitiva de las bacterias metanógenas por las bacterias sulfatorreductoras.

Aunque en el presente estudio en ambas profundidades analizadas se presentaron las bacterias sulfatorreductoras y las metanógenas, es claro que existe una separación cualitativa de las zonas en las cuales la sulfatorreducción y la metanogénesis dominan, aumentando la metanogénesis justo por debajo de la región de sulfatorreducción. La razón para este comportamiento parece obedecer a la disponibilidad del aceptor de electrones y a una competencia por los sustratos comunes entre los dos grupos microbianos cuantificados. Como existe suficiente sulfato en los primeros centímetros del sedimento, las bacterias sulfatorreductoras metabolizan los principales productos resultantes de la fermentación y dominan sobre las bacterias metanógenas. A una mayor profundidad la cantidad de sulfato disponible disminuye limitando el crecimiento de las bacterias sulfatorreductoras y las bacterias metanógenas aumentan en número haciéndose más competitivas. Cappenberg (1974) determinó la mayor abundancia de bacterias sulfatorreductoras en los primeros centímetros de profundidad del sedimento y ésta disminuyó considerablemente durante el verano a causa de la disminución de la concentración de sulfatos.

Cappenberg (1975) reporta una interrelación ecológica denominada comensalismo entre las bacterias sulfatorreductoras y metanógenas en el limo del Lago Vechten, debido a que el número máximo de ambos grupos se presenta en diferentes estratos del sedimento. La relación implica una utilización del acetato producido por las bacterias sulfatorreductoras (*Desulfovibrio desulfuricans*), por las bacterias metanógenas (*Methanobacterium* spp.), pero no se localizan a la misma profundidad por la sensibilidad de las bacterias productoras de metano al ácido sulfhídrico generado por las sulfatorreductoras. El acetato producido por las bacterias sulfatorreductoras, puede difundirse y ser subsecuentemente utilizado como sustrato por las bacterias metanógenas.

### 9.3. Actividad cinética.

En los sedimentos de Alvarado y Camaronera al presentarse una producción de acetato, aunada a la de otros ácidos grasos volátiles (propionato, butirato) detectados en las cromatografías (Figs. 26-27), se podría inferir que en las muestras de los sedimentos analizadas existe una población microbiana fermentadora activa, que por medio de su metabolismo genera el substrato susceptible de ser utilizado por las bacterias sulfatorreductoras y metanógenas; aunque posiblemente la presencia continua de acetato también pudo obedecer a que éste se forma como un producto intermediario de la degradación incompleta del lactato y del propionato. La presencia de bacterias sulfatorreductoras utilizadoras de lactato y propionato queda demostrada con las cuantificaciones efectuadas de estos grupos nutricionales.

Debido a que se detectó un consumo de acetato, tanto en presencia como en ausencia de sulfatos, es factible proponer que el metabolismo de éste es el resultado tanto de la sulfatorreducción como de la metanogénesis, aunque aparentemente la última es más importante en los sedimentos de Alvarado, ya que la mínima concentración de acetato se determinó en las pruebas sin sulfatos; al no existir sulfatos en el medio, el desarrollo de las bacterias metanógenas se favoreció, permitiendo que éstas compitieran de manera más efectiva por el substrato disponible. En los sedimentos de Camaronera, en la temporada de secas cuando se presentó el mayor contenido de sulfatos, la competencia por el substrato se vio favorecida hacia la sulfatorreducción, puesto que en las pruebas cinéticas el consumo de acetato fue mayor en presencia de sulfatos. Por último, la baja actividad del acetato cuantificada en el mes de julio, aunado a las menores abundancias de las bacterias sulfatorreductoras y las metanógenas, apoya que en este mes existió un descenso del metabolismo anaerobio de la mineralización de la materia orgánica.

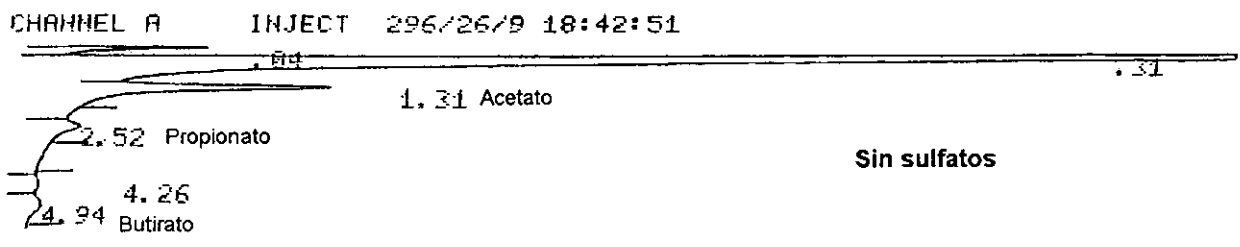
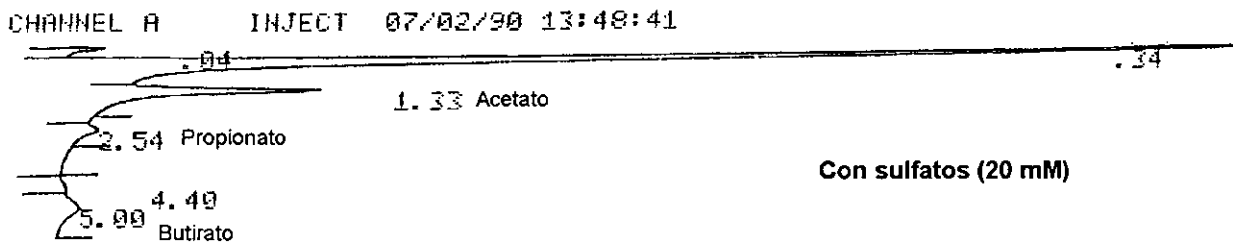
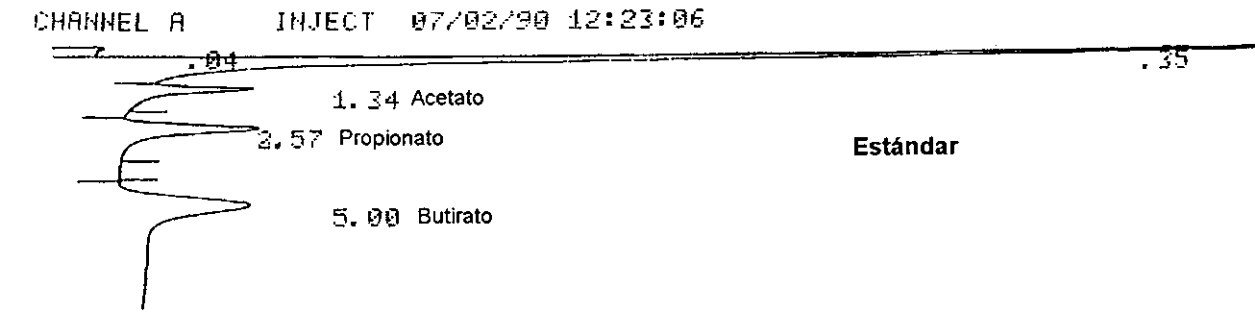
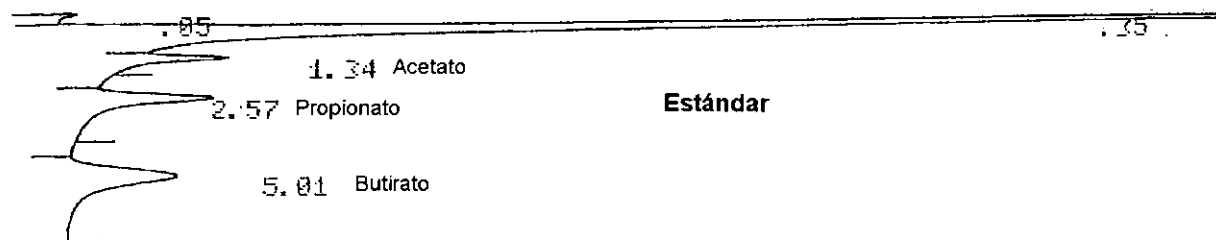


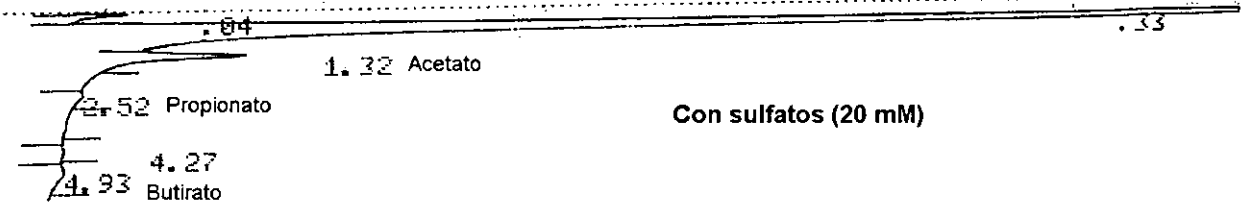
Figura 26. Cromatograma que muestra la producción de ácidos grasos en las pruebas de actividad con sedimentos de la laguna de Alvarado.



CHANNEL A INJECT 07/02/90 12:48:34



CHANNEL A INJECT 07/02/90 15:47:44



CHANNEL A INJECT 07/02/90 14:02:59

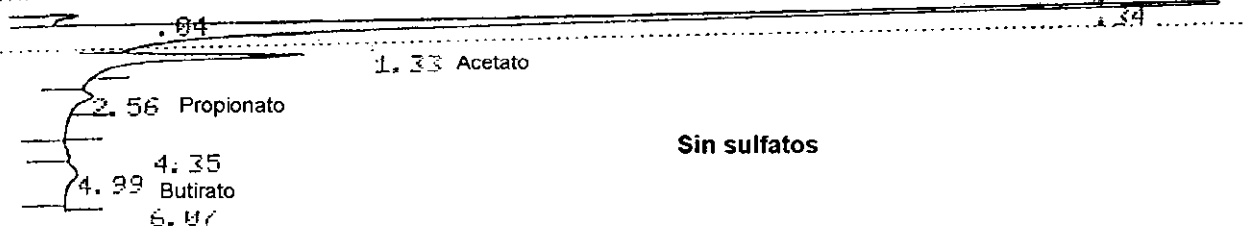


Figura 27. Cromatograma que muestra la producción de ácidos grasos en las pruebas de actividad con sedimentos de la laguna de Camaronera.

En reactores UASB el acetato es consumido principalmente por las bacterias metanógenas aun en presencia de sulfatos, dependiendo de la concentración de éstos en el reactor; el acetato removido en éstos a través de una sulfatorreducción representa tan sólo el 20%. Por lo cual la actividad metanogénica acetoclástica es superior, independientemente de la presencia o ausencia de sulfato (Laanbroek *et al.*, 1985; Visser *et al.*, 1993). Aunque en otras pruebas de actividad la producción de metano a partir de acetato comenzó cuando la concentración de sulfatos disminuyó (Winfrey y Ward, 1983).

Sin embargo, en otros estudios se reporta lo contrario a lo mencionado anteriormente, ya que cuando se adiciona molibdato como inhibidor de la sulfatorreducción, se inhibe en un 98.5% la oxidación del acetato y no se encontró producción de metano a partir de acetato (Winfrey y Ward, 1983). Por otro lado, Mountfort *et al.*, (1980) sugieren que la función de las bacterias sulfatorreductoras está en función de los niveles de sulfatos existentes, ya que oxidan el acetato a concentraciones elevadas, pero producen acetato a niveles bajos de sulfatos liberando substrato para los metanógenos. Los experimentos de Banat *et al.*, (1981) con inhibidores de la sulfatorreducción demuestran que las bacterias sulfatorreductoras son las principales responsables de la oxidación del acetato a CO<sub>2</sub> en sedimentos de marismas, mientras que la proporción de acetato metabolizado a metano es despreciable, siendo el caso contrario en ambientes dulceacuícolas.

Estudios con inhibidores, molibdato de sodio para las bacterias sulfatorreductoras y ácido 2-bromoetanosulfónico para las bacterias metanógenas, han demostrado que la actividad metanogénica en la oxidación de substratos orgánicos es menor en comparación con la sulfatorreducción en sedimentos de marismas (Dicker y Smith, 1985), si bien las actividades de las bacterias sulfatorreductoras y metanógenas no se excluyen mutuamente en sedimentos marinos, el flujo de carbono a través de la sulfatorreducción

es mucho más grande que a través de la metanogénesis (Gunnarsson y Rönnow, 1982; Senior *et al.*, 1982).

En sedimentos de un lago eutrófico las bacterias sulfatorreductoras compiten efectivamente con las metanógenas por el acetato disponible cuando aumenta la disponibilidad de sulfatos (Lovley y Klug, 1983). Sai-Ram *et al.*, (1993) mencionan que en los rellenos sanitarios, cuando se adicionan sulfatos se desarrollan las bacterias sulfatorreductoras, permitiéndose la disminución de los ácidos grasos volátiles, mientras que éstos se acumulan en ausencia de sulfatos al disminuir la actividad sulfatoreductora .

Oremland y Polcin (1982) y King *et al.*, (1983) reportan que con la presencia de sulfatos las bacterias sulfatorreductoras compiten con las metanógenas por el acetato, dando como resultado un descenso en la producción del metano, no obstante lo anterior, Sai-Ram *et al.*, (1993) en rellenos sanitarios, a partir del mismo sustrato y con una concentración de sólidos volátiles del 3%, encontraron que una concentración de 20 mM de sulfatos aumentó el contenido de metano, por tanto las bacterias sulfatorreductoras no compiten con las metanógenas en dichas condiciones; al parecer con un alto contenido de sulfatos las bacterias sulfatorreductoras utilizan rápidamente otros sustratos como fuente de carbono, tales como propionato y butirato en lugar del acetato.

#### **9.4. Consideraciones finales.**

Los flujos terminales de carbono y electrones durante los procesos de descomposición orgánica en los sistemas estuarino-lagunares comprenden la sulfatorreducción y la metanogénesis, las comunidades microbianas encargadas de efectuar dichos procesos aparentemente se adaptan a los cambios físicos y químicos registrados en la laguna Alvarado-Camaronera.

Ya sea con temperaturas cálidas, o con características dulceacuícolas y salinas la microbiota sulfatoreductora y metanogénica estuvo presente en el sistema de Alvarado-Camaronera, por lo cual se puede apreciar que tales microorganismos están adaptados al ambiente estuarino, siendo de tipo mesofílico y eurihalinos, con base en su crecimiento en los intervalos de temperatura y salinidad registrados en la laguna de Alvarado-Camaronera. Así mismo, los intervalos de pH y Eh determinados fueron los adecuados para el crecimiento de las bacterias sulfatoreductoras y metanógenas.

En el complejo lagunar de Alvarado-Camaronera, la mayor abundancia de bacterias sulfatoreductoras se presentó en los meses de "nortes" (enero y noviembre) y la mínima en el periodo de lluvias (julio).

Durante la época de "nortes" las condiciones ambientales existentes favorecieron el crecimiento de las poblaciones sulfatoreductoras, entre dichas condiciones estuvieron un alto contenido de carbohidratos y sólidos suspendidos volátiles (SSV). En la temporada de lluvias existe una gran abundancia de vegetales libres flotadores (principalmente lirio acuático), así como de algas verdes y rojas, esto, aunado a la mayor producción primaria por parte del manglar, propicia la acumulación de materia vegetal, que llega a constituir

una reserva importante de materia orgánica en épocas posteriores. Una vez concluída la época de lluvias, durante la temporada de "nortes" una gran cantidad del material orgánico de origen vegetal generado queda atrapado y se sedimenta, aportando más fuentes de carbono y de energía para las bacterias anaerobias. Aunado a lo anterior, destaca durante los meses de "nortes", la existencia de una fase sedimentaria más reductora y un menor porcentaje de arenas. Debido a que en el período de "nortes" las bacterias sulfatorreductoras fueron más abundantes, existió un mayor aporte de ácido sulfhídrico al medio, así que en esta época la remineralización del carbono orgánico por la sulfatorreducción es mayor.

Por el contrario, en el mes de julio las lluvias y la entrada de un mayor caudal por parte de los ríos (principalmente el Papaloapan), propiciaron una resuspensión de la fase sedimentaria superficial y un movimiento del agua intersticial. El movimiento del agua intersticial afecta los procesos fisiológicos, biogeoquímicos y ecológicos, la textura del sedimento y regula la tasa del movimiento del agua: el agua fluye lentamente a través de sedimentos limo-arcillosos debido a la presencia de un espacio intersticial reducido creado por el tamaño pequeño de las partículas, sucediendo lo contrario en sedimentos arenosos (Smith, 1966). Como resultado de que el agua fluye a una mayor velocidad en los sedimentos arenosos, en el mes de julio se registró una tendencia a la oxidación en el mismo, así como un descenso de la concentración de carbohidratos y SSV, factores que en conjunto, propiciaron un menor crecimiento de las poblaciones sulfatorreductoras, pudiendo también haber influido en éste el descenso en la concentración del aceptor de electrones determinada. Aunque como establecieron Nedwell y Abram (1978), el número de bacterias sulfatorreductoras no siempre está correlacionado con la tasa de sulfatorreducción, ya que en diferentes situaciones ecológicas es común que diversas variables ambientales, además del número bacteriano, ejerzan influencia sobre la

actividad bioquímica.

Lo anterior indica que la disponibilidad del donador de electrones (contenido de materia orgánica) y el potencial redox (Eh), más que la concentración del aceptor de electrones (sulfatos), fueron los factores determinantes para el desarrollo de las poblaciones sulfatorreductoras en el sistema lagunar analizado.

De la misma manera y como ha sido reportado en otros trabajos, el lactato es el sustrato preferido por las bacterias sulfatorreductoras, como lo comprueba el número cuantificado de estas bacterias en el complejo lagunar Alvarado-Camaronera, aunque esto no descarta la importancia del propionato y del acetato dentro del mismo, ya que como se mencionó anteriormente constituyen donadores de electrones importantes en ambientes caracterizados por la presencia de sales y sulfatos.

La variación estacional en las poblaciones metanógenas de los tipos nutricionales que emplean acetato e hidrógeno, fue similar a la presentada por las bacterias sulfatorreductoras, mientras que las utilizadoras de metanol tuvieron un comportamiento diferente. Con base en lo anterior, es posible establecer que para los dos primeros grupos nutricionales analizados, también la disponibilidad de sustratos, así como potenciales redox más negativos fueron los parámetros claves para el crecimiento de dichas poblaciones metanógenas, al respecto Ramamurthy *et al.*, (1990) registraron el número máximo de bacterias metanógenas durante la estación del postmonson, relacionándose dicha abundancia con Eh negativos y un contenido elevado de carbón orgánico en el sedimento. En lo que se refiere al grupo nutricional de bacterias metanógenas que utilizan metanol, las cuales aumentaron en la temporada de secas (mayo), la presencia de sulfatos y una mayor salinidad constituyeron los factores básicos que influyeron en su

abundancia, ya que al incrementarse el contenido de éstos, las bacterias metanógenas optan por sustratos menos especializados como el metanol. El metabolismo a partir de metanol y metilaminas contribuye a que las bacterias metanógenas mantengan su población en presencia de sulfatos, ya que aunque las bacterias sulfatorreductoras pueden competir con las metanógenas por hidrógeno y acetato, son competidores pobres por el metanol, y no se han reportado grupos nutricionales que utilicen las metilaminas.

En lo que se refiere a la utilización de sustratos, las bacterias metanógenas acetoclásticas e hidrogenofílicas tuvieron las máximas abundancias. En ambientes naturales, al parecer, el acetato y el  $H_2-CO_2$  son los principales precursores del metano (Sandbeck y Ward, 1981), mientras que el metanol y las metilaminas contribuyen con menos del 5% del metano producido (Phelps y Zeikus, 1985).

Especialmente, la dominancia de las bacterias sulfatorreductoras sobre las metanógenas en los primeros centímetros de la fase sedimentaria, se puede atribuir a la presencia constante de sulfatos en el medio que les permite competir de manera más efectiva con las metanógenas por los donadores de electrones, permitiendo que se mantengan metabólicamente activas a esta profundidad del sedimento, asimismo por los valores del potencial redox cuantificados en los primeros estratos, ya que las bacterias sulfatorreductoras no requieren condiciones tan reducidas para crecer como las metanógenas. En la profundidad donde se presentó un mayor contenido de sulfatos, la sulfatorreducción se llevo a cabo a expensas de ácidos grasos de cadena corta e hidrógeno, mientras que la metanogénesis se presentó principalmente a expensas de sustratos no competitivos como el metanol y las metilaminas (Oremland *et al.*, 1982; King, 1984), aunque también se desarrollaron las bacterias metanógenas acetoclásticas. Ramamurthy *et al.*, (1990), concluyeron que la metanogénesis y la sulfatorreducción se

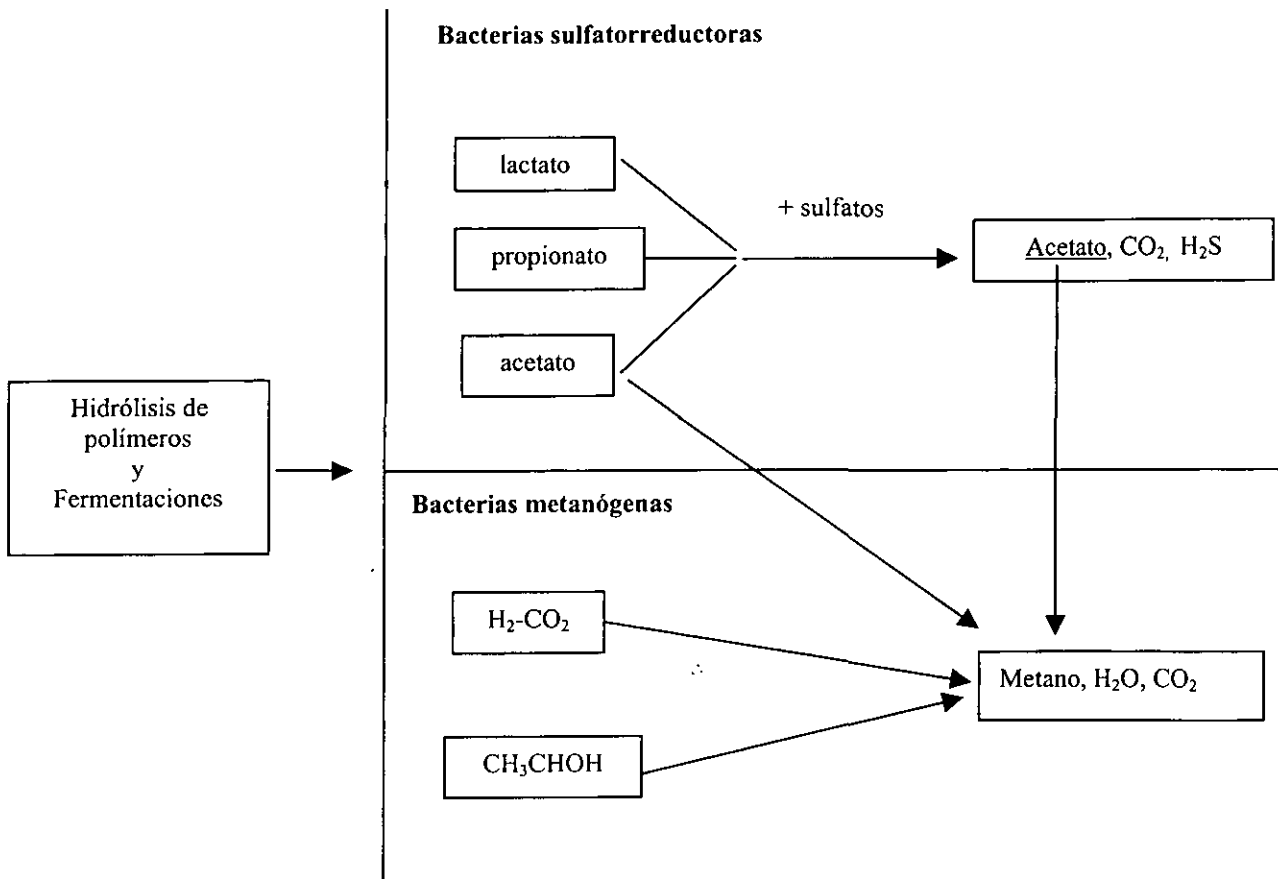
pueden presentar simultáneamente en un mismo estrato del sedimento, siempre y cuando exista un aporte adecuado de sustratos no competitivos (metanol y metilaminas) o que los sustratos competitivos sean abundantes (acetato,  $H_2-CO_2$ ), con base en los resultados obtenidos en el este estudio, al parecer ambas condiciones existen en el sedimento del sistema Alvarado-Camaronera.

La abundancia de bacterias sulfatorreductoras que utilizan lactato en los primeros centímetros del sedimento, aunada a la presencia de bacterias metanógenas acetoclásticas en zonas más profundas, implica la existencia de una relación ecológica, denominada comensalismo, entre las bacterias sulfatorreductoras y las metanógenas, la cual parece obedecer al hecho de que la metanogénesis es dependiente de la producción de acetato a partir de la degradación del lactato por medio de las bacterias sulfatorreductoras. Phelps y Zeikus (1985) encontraron que el lactato es el principal precursor del acetato.

En la laguna costera de Alvarado-Camaronera no se presenta limitación de sulfatos ni de materia orgánica, la presencia tanto de aceptores como de donadores de electrones permite una degradación anaerobia completa del carbono orgánico por medio de los procesos de sulfatorreducción y metanogénesis. De manera general, la degradación anaeróbica terminal de la materia orgánica en los sedimentos acuáticos, depende de la disponibilidad de sulfato como aceptor externo de electrones. En sedimentos dulceacuícolas, donde el sulfato está presente en cantidades limitadas, el metano y el bióxido de carbono, liberados durante la metanogénesis, son los principales productos de la remineralización; por el contrario, en ambientes marinos, la oxidación anaeróbica completa de la materia orgánica por medio de una sulfatorreducción es el proceso dominante (Widdel y Pfennig, 1981).



Puesto que el sulfato siempre está disponible en la laguna de Alvarado-Camaronera, se puede asumir que la degradación de la materia orgánica se lleva a cabo principalmente por medio del proceso de sulfatorreducción, sin descartar la actividad metanogénica, proponiéndose el siguiente esquema de mineralización:



## 10. CONCLUSIONES

1. En los sedimentos del complejo estuarino-lagunar de Alvarado-Camaronera la mineralización anaerobia del carbono orgánico hasta  $\text{CO}_2$  y  $\text{CH}_4$ , fue debida tanto al proceso de sulfatorreducción como de metanogénesis.
2. El máximo crecimiento de bacterias sulfatorreductoras utilizadoras de lactato y propionato se presentó en la temporada de "nortes", caracterizada por un contenido alto de carbohidratos, sólidos suspendidos volátiles y condiciones más reductoras en el sedimento.
3. El menor crecimiento de bacterias sulfatorreductoras utilizadoras de lactato y propionato se evaluó en la temporada de lluvias, asociada con bajos contenidos de carbohidratos, sólidos suspendidos volátiles y condiciones más oxidantes del sedimento en ambas estaciones del complejo lagunar.
4. Las bacterias sulfatorreductoras utilizadoras de lactato fueron las más abundantes, seguidas por los grupos nutricionales que emplearon propionato y acetato, en ambas estaciones.
5. La mayor abundancia de bacterias metanógenas acetoclásticas e hidrogenofílicas se presentó en la temporada de "nortes", caracterizada por un contenido alto de carbohidratos, sólidos suspendidos volátiles y condiciones más reductoras en el sedimento.

6. El mínimo crecimiento de bacterias metanógenas acetoclásticas e hidrogenofílicas se presentó en la temporada de lluvias, asociada con bajos contenidos de carbohidratos, sólidos suspendidos volátiles y condiciones más oxidantes del sedimento en ambas estaciones del ecosistema lagunar.
7. El máximo crecimiento de las bacterias metanógenas utilizadoras de metanol se obtuvo en la época de secas, caracterizada por un mayor contenido de sulfatos, situación que propicia la utilización de sustratos menos competitivos por las bacterias metanógenas en ambientes caracterizados por la presencia de sulfatos.
8. El acetato y el  $H_2-CO_2$  constituyeron los principales sustratos para la metanogénesis, seguidos por el metanol cuando la concentración de sulfatos aumenta.
9. Existe una dominancia de las bacterias sulfatorreductoras en los primeros 5 centímetros de la columna sedimentaria que determina los altos contenidos de ácido sulfhídrico evaluados en dicho estrato para ambas estaciones del complejo lagunar.
10. Existe una dominancia de las bacterias metanógenas a una mayor profundidad, 15 cm, por las condiciones más reducidas de la columna sedimentaria tanto en Alvarado como en Camaronera.
11. La actividad cinética a partir del acetato es ligeramente superior para la sulfatorreducción en comparación con la metanogénesis.

12. Existe una relación ecológica, denominada comensalismo, entre las bacterias sulfatorreductoras y las metanógenas, ya que las primeras producen el acetato que es utilizado por las segundas en el sedimento.
  
13. Los procesos de sulfatorreducción y metanogénesis involucrados en el reciclamiento anaerobio del carbono es superior en los meses asociados a la presencia de "nortes" y, disminuye en el mes relacionado con las lluvias en el sedimento del complejo esturino-lagunar de Alvarado-Camaronera.

## 11. LITERATURA CITADA

ABDOLLAHI, H. & D. B. NEDWELL. 1979. Seasonal temperature as a factor influencing bacterial sulfate reduction in a saltmarsh sediment. *Microbial Ecol.* 5: 73-79

ABRAM, J. W. & D. B. NEDWELL. 1978. Hydrogen as a substrate for methanogenesis and sulphate reduction in anaerobic saltmarsh sediment. *Arch. Microbiol.* 117: 93-97

ADAME, G., T. CASTRO M., H. FIGUEROA C., M. FIGUEROA P., A. GARCIA M., N. HERNANDEZ C., M. MARTINEZ V., A MORENO P., G. OLVERA A., G. PRIETO C., D. ROBLEDO C., V. TRUJILLO C., A TORRES R. A. & P. YAÑEZ D. 1989. Hidrología física y química de dos subsistemas lagunares estuarinos de Alvarado, Ver. *Mem. XIII Simp. Biol. de Campo.* 21

ALLEN, T. 1981. *Particle size measurement.* Chapman and Hall. New York, U.S.A. 678 p.

ALLER, R. C. & J. Y. YINGST. 1980. Relationships between microbial distributions and the anaerobic decomposition of organic matter in surface sediments of Long Island Sound, USA. *Mar. Biol.*: 29-42

ALMGREN, T. & I. HAGSTRÖM. 1974. The oxidation rate of sulphide in sea water. *Water Res.* 8: 395-400

ALPHENAAR, P.A., A. VISSER & G. LETTINGA. 1993. The effect of liquid upward velocity and hydraulic retention time on granulation in UASB reactors treating wastewater with a high sulphate content. *Biores. Technol.* 43: 249-258.

ALTAMIRANO, A. T. A., H. PLATA T., F. Z. FLORES P., R. VIZCAYA C., G. G. DEL VALLE G., R. GARCIA C., M. P. GOMEZ, A. E. DE SUCRE M. & P. RAMIREZ B. 1987. Herpetofauna del Estado de Veracruz. *Resúmenes IX Congr. Nal. Zool.* 219. En: Castañeda L. O. y F. Contreras E. 1994. *Golfo de México I.* (de Tamaulipas y Veracruz). Serie "Bibliografía comentada sobre Ecosistemas Costeros". Vol. III. UAMI-CONABIO. 615 p.

ALTAMIRANO, A. T. A., M. SORIANO S. & M. G. MARTINEZ H. 1985. Ictioplancton de la laguna de Alvarado, Veracruz, en el período 1981. *Tesis Profesional.* UNAM-ENEP-Iztacala. 133 p.

ALVAREZ, S. C. & J. F. LUNA F. 1990. Copépodos (Crustácea: Copepoda) en las lagunas costeras de Veracruz, México. *Res. VIII Simp. Intern. Biol. Mar.* 33. En: Castañeda L. O. y F. Contreras E. 1994. *Golfo de México I.* (de Tamaulipas y Veracruz). Serie "Bibliografía comentada sobre Ecosistemas Costeros". Vol. III. UAMI-CONABIO. 615 p.

ALVAREZ S. C. & J. F. LUNA F. 1991. Copépodos (Crustacea: Copepoda) colectados en la laguna de Alvarado, Veracruz durante 1989. *Res. XI Cong. Nal. Zool.* 1. En: Castañeda L. O. y F. Contreras E. 1994. *Golfo de México I.* (de Tamaulipas y Veracruz). Serie "Bibliografía comentada sobre Ecosistemas Costeros". Vol. III. UAMI-CONABIO. 615 p.

- APHA. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. 1989. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*.
- BAK, F. & F. WIDDEL. 1986a. Anaerobic degradation of indolic compounds by sulfate-reducing enrichment cultures, and description of *Desulfobacterium indolicum* gen no., sp. nov. *Arch. Microbiol.* 146: 170-176
- BAK, F. & F. WIDDEL. 1986b. Anaerobic degradation of phenol and phenol derivatives by *Desulfobacterium phenolicum* sp. nov. *Arch. Microbiol.* 146: 177-180
- BALBA, M. T. & D. B. NEDWELL. 1982. Microbial metabolism of acetate, propionate and butyrate in anoxic sediment from Colne Point saltmarsh, Essex, U. K. *J. Gen. Microbiol.* 128:1415-1422
- BALCH, W. E., G. E. FOX, L. J. MAGRUM, C. R. WOESE & R. S. WOLFE. 1979. Methanogens: reevaluation of a unique biological group. *Microbiol. Rev.* 43 (3): 260-296
- BANAT, I. M. & D. B. NEDWELL. 1983. Mechanisms of turnover of C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub> fatty acids in high-sulphate and low-sulphate anaerobic sediments. *FEMS Microbiology Letters.* 17: 107-110
- BANAT, I. M., E. B. LINDSTRÖM, D. B. NEDWELL & M.T. BALBA. 1981. Evidence for the existence of two distinct functional groups of sulphate-reducing bacteria in salt marsh sediment. *Appl. Environ. Microbiol.* 42: 985-992
- BARRERA-ESCORCIA, G., I. WONG-CHANG, A. S. SOBRINO-FIGUEROA, X. GUZMA-GARCIA, F. HERNANDEZ-GALINDO & F. SAAVEDRA-VILLEDA. 1999. Evaluación microbiológica de la Laguna de Tamiahua, Veracruz, en el ciclo 1994-1995. *Hidrobiológica.* 9(2): 125-134
- BERNER, R. A. 1974. Kinetic models for the early diagenesis of nitrogen, sulfur, phosphorus and silicon in anoxic marine sediments. *En: E. D. Goldberg (Ed.). The Sea.* John Wiley and Sons. U. S. A. 161-175
- BIGGS, R. B. 1967. The sediments of Chesapeake Bay. *En: Lauff (Ed.). Estuaries.* American Association for the Advancement of Science. U. S. A. 239-260
- BOONE, D. R., J. A. G. F. MENAIA, J. E. BOONE & R. A. MAH. 1987. Effects of hydrogen pressure during growth and effects of pregrowth with hydrogen on acetate degradation by *Methanosarcina* species. *Appl. Environ. Micro.* 53(1): 83-87
- CAPONE, D. G. & R. P. KIENE. 1988. Comparison of microbial dynamics in marine and freshwater sediments: contrasts in anaerobic carbon catabolism. *Limnol. Oceanogr.* 33: 725-749
- CAPPENBERG, T. E. 1974. Interrelations between sulfate-reducing and methane-producing bacteria in bottom deposits of a freshwater lake. II. Inhibition experiments. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 40: 297-306

- CAPPENBERG, T. E. & R. A. PRINS. 1974. Interrelations between sulfate-reducing and methane-producing bacteria in bottom deposits of a fresh-water lake. II. Experiments with <sup>14</sup>C-labeled substrates. *Antonie van Leeuwenhoek. J. Microbiol. Serol.* 40: 457-469
- CAPPENBERG, TH. E. 1975. A study of mixed continuous cultures of sulfate-reducing and methane-producing bacteria. *Microbiol Ecol.* 2: 60-72
- CAPPENBERG, TH. E., E. JONGEJAN & J. KAPER. 1978. Anaerobic breakdown processes of organic matter in freshwater sediments. *Microbiol. Ecol.* 91-99
- CARACO, N. F., J. J. COLE & G. E. LIKENS. 1989. Evidence for sulphate-controlled phosphorus released from sediments of aquatic systems. *Nature.* 341: 316-318
- CARRANZA-EDWARDS, A., M. GUTIERREZ E. & R. RODRIGUEZ T. 1975. Unidades morfoestructurales continentales de las costas mexicanas. *An. Centro Cienc. del Mar y Limnol. UNAM.* 2 (1): 81-88
- CASTAÑEDA, L. O. & F. CONTRERAS E. 1994. *Golfo de México I.* (de Tamaulipas y Veracruz). Serie "Bibliografía comentada sobre Ecosistemas Costeros". Vol. III. UAMI-CONABIO. 615 p.
- CHEE, B. 1981. Aspectos hidrológicos en la laguna de Alvarado, Veracruz. *Tesis Profesional.* UABC. 16 p.
- CHRISTENSEN, D. 1984. Determination of substrates oxidized by sulfate reduction in intact cores of marine sediments. *Limnol. Oceanogr.* 29: 189-192
- CHRISTIAN, R. R., J. A. HANSEN, R. E. HODSON & W. J. WIEBE. 1983. Relationships of soil, plant and microbial characteristics in silt-clay and sand, tall-form *Spartina alterniflora* marshes. *Estuaries.* 6: 43-49
- CLAYPOOL, G. E. and KAPLAN, I. R. 1974. The origin and distribution of methane in marine sediments. In: I. R. Kaplan (ed.). *Natural Gases in Marine Sediments.* Plenum, New York. 99-139
- CONRAD, R. 1999. Contribution of hydrogen to methane production and control of hydrogen concentrations in methanogenic soils and sediments. *FEMS Microbiol. Ecol.* 28: 193-202
- CONRAD, R., T. J. PHELPS & J. G. ZEIKUS. 1985. Gas metabolism evidence in support of the juxtaposition of hydrogen-producing and methanogenic bacteria in sewage sludge and lake sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 50: 595-601
- CONTRERAS, E. F. 1993. *Ecosistemas Costeros Mexicanos.* 1a. edición. CONABIO-UAMI. 415 p.
- CORDROWISH, R. 1985. A quick determination of dissolved and undissolved sulfides in cultures of sulfate reducing bacteria. *J. Petrol. Technol.* 1: 2-10
- DAVIS, R. A. Jr. 1997. *Principles of Oceanography.* Second Edition. Addison-Wesley Publishing Company. U.S.A. 505 p.

- DAY, J., W. CONNER, F. LEY-LOU, R. DAY & A. MACHADO NAVARRO. 1987. The productivity and composition of mangrove forests, Laguna de Términos, México. *Aquat. Bot.* 27: 267-284
- DE LA TORRE, A., S. I. DOMINGUEZ & L. A. SOTO. 1987. Inmigración de postlarvas planctónicas de camarones peneidos en la laguna de Alvarado, Ver. *Resúmenes VII Congr. Nal. Oceanogr.* 135. En: Castañeda L. O. y F. Contreras E. 1994. *Golfo de México I.* (de Tamaulipas y Veracruz). Serie "Bibliografía comentada sobre Ecosistemas Costeros". Vol. III. UAMI-CONABIO. 615 p.
- DICKER, H. J. & D. W. SMITH. 1985. Effects of organic amendments of sulfate reduction activity, H<sub>2</sub> consumption, and H<sub>2</sub> production in salt marsh sediments. *Microbiol. Ecol.* 11: 299-315
- DUBOIS, M., K. A. GILLES, J. K. HAMILTON, P. A. REBERS & F. SMITH. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28 (3): 350-356
- EMERY, K. O. 1938. Rapid method of mechanical analysis of sands. *J. Sedim. Petrol.* 8(3): 105-111
- ENGLER, R. M., J. M. BRANNON, J. ROSE & G. BIGHAM. 1977. A practical selective extraction procedure for sediment characterization. In: T. F. Yen (ed.). *Chem. Mar. Sedim.* 163-171
- FEDORAK, P. M., K. M. SEMPLE and D. W. S. WESTLAKE. 1987. A statistical comparison of two culturing methods for enumerating sulfate-reducing bacteria. *J. Microbiol. Methods.* 7: 19-27
- FENCHEL, T. 1969. The ecology of marine microbenthos. *Ophelia.* 6: 1-182
- FERDELMAN, T. G., C. LEE, S. PANTOJA, J. HARDER, B. M. BEBOUT & H. FOSSING. 1997. Sulfate reduction and methanogenesis in a *Thioploca*-dominated sediment off coast of Chile. *Geochem. Cosmochim. Acta.* 61: 3065-3079
- FLORES, M. R., A. LEMOS P., A. GUERRERO C. & R. GUTIERREZ C. 1978. Estudio microbiológico preliminar de la laguna de Tres Palos, Gro. *Res. VI Cong. Nal. Oceanogr.* 89.
- FLORES C., C. & M. L. MENDEZ. 1982. Contribución al conocimiento del ictioplancton de la laguna de Alvarado, Ver., México. *An. Inst. Cienc. del Mar y Limnol. UNAM.* 9 (1): 141-160
- FLORES, C. C. 1985. Estudio comparativo del ictioplancton de las lagunas costeras de Tamiahua, Alvarado y Términos, del Golfo de México. *Tesis de Maestría.* UNAM. 145 p.
- FOLK, R. L. 1969. *Petrología de rocas sedimentarias.* UNAM. México. 405 p.
- FRANKLIN, M. J., J. W. WILLIAM & W. B. WHITMAN. 1988. Populations of methanogenic bacteria in a Georgia salt marsh. *Appl. Environ. Microbiol.* 54: 1151-1157



FUKUI, M & S. TAKII. 1996. Microdistribution of sulfate-reducing bacteria in sediments of a hypertrophic lake and their response to the addition of organic matter. *Ecol. Res.* 11: 257-267

FUKUI, M., J. SUH, Y. YONEZAWA & Y. URUSHIGAWA. 1997. Major substrates for microbial sulfate reduction in the sediments of Ise Bay, Japan. *Ecol. Res.* 12: 201-209

GARCIA, K. L. 1988. Determinación de la tasa de crecimiento de *Callinectes sapidus* y *Callinectes rathbunae*, en el sistema lagunar de Alvarado, Veracruz. *Mem. XII Simp. Biol. de Campo. ENEP- Iztacala*, 27. En: Castañeda L. O. y F. Contreras E. 1994. *Golfo de México I.* (de Tamaulipas y Veracruz). Serie "Bibliografía comentada sobre Ecosistemas Costeros". Vol. III. UAMI-CONABIO. 615 p.

GARCIA, J. L. 1990. Taxonomy and ecology of methanogens. *FEMS Microbiol. Reviews.* 87: 297-308

GARCIA, M. E. 1980. *Apuntes de Climatología*. Offset Larios. México. 153 p.

GARCIA, M. J. & L. A. SOTO. 1990. Comunidades de macroinvertebrados epibentónicos del sistema lagunar Alvarado, Veracruz: composición y estructura. Res. II *Congr. Cienc. del Mar.* 105. En: Castañeda L. O. y F. Contreras E. 1994. *Golfo de México I.* (de Tamaulipas y Veracruz). Serie "Bibliografía comentada sobre Ecosistemas Costeros". Vol. III. UAMI-CONABIO. 615 p.

GIBLIN, A. E. & R. W. HOWARTH. 1984. Porewater evidence for a dynamic sedimentary iron cycle in salt marshes. *Limnol. Oceanogr.* 29: 47-63

GIBSON, G. R., G. T. MACFARLANE & J. H. CUMMINGS. 1988. Occurrence of sulphate-reducing bacteria in human faeces and the relationship of dissimilatory sulphate reduction to methanogenesis in the large gut. *J. Appl. Bacteriol.* 65: 103-111

GIBSON, G. R., R. J. PARKES & R. A. HERBERT. 1987. Evaluation of viable counting procedures for the enumeration of sulfate-reducing bacteria in estuarine sediments. *J. Microbiol. Methods.* 7: 201-210

GUNNARSSON, L. A. H. & P. H. RÖNNOW. 1982. Interrelationships between sulfate reducing and methane producing bacteria in coastal sediments with intense sulfide production. *Mar. Biol.* 69: 121-128

GUTIERREZ, M. F., R. TORRES A. & C. ALVAREZ S. 1990. Intercambio de materia y energía entre la laguna de Alvarado y la zona pantanosa adyacente. Informe Anual CONACyT:

HIGGINS, I. J., D. J. BEST, R. C. HAMMOND & D. SCOTT. 1981. Methane-oxidizing microorganisms. *Microbiol. Rev.* 45(4): 556-590

HINES, M. E. & J. D. BUCK. 1982. Distribution of methanogenic and sulfate-reducing bacteria in near-shore sediments. *Applied. Environ. Microbiol.* 43: 447-453

- HINES, M. E., D. A. BAZYLINSKI, J. B. TUGEL & W. B. LYONS. 1991. Anaerobic microbial biogeochemistry in sediments from two basins in the Gulf of Maine: evidence for iron and manganese reduction. *Est. Coast. Shelf Sci.* 32:313-324
- HOLT, J. G., N. KRIEG R., P. SNEATH H. A., J. STALEY T. & W. STANLEY T. 1994. The methanogens. *Bergey's Manual of Dterminative Bacteriology*. Ninth Edition. William & Wilkins. Baltimore, U.S.A. 719-735
- HOLT, J. G., N. KRIEG R., P. SNEATH H. A., J. STALEY T. & W. STANLEY T. 1994. Dissimilatory sulfate –or sulfur- reducing bacteria. *Bergey's Manual of Dterminative Bacteriology*. Ninth Edition. William & Wilkins. Baltimore, U.S.A. 335-346
- HOWARTH, R. W. & J. M. TEAL. 1979. Sulfate reduction in a New England salt marsh. *Limnol. Oceanogr.* 24: 999-1013
- HOWARTH, R. W. & S. MERKEL. 1984. Pyrite formation and the measurement of sulfate reduction in salt marsh sediments. *Limnol. Oceanogr.* 29: 598-608
- HOWARTH, R. W., A. E. GIBLIN, J. GALE, B. J. PETERSON & G. W. LUTHER. 1983. Reduced compounds in the pore waters of a New England salt marsh. *En: R. Hallberg (Ed.). Environ. Biochem. Ecol. Bullet. Stockholm.* 35: 132-152
- HOWES, B. J., J. W. H. DACEY and G. M. KING. 1984. Carbon flow through oxygen and sulfate reduction pathways in salt marsh sediments. *Limnol. Oceanogr.* 29: 1037-1051
- HOWES, B. L. 1985. Effects of sampling technique on measurements of porewater constituents in salt marsh sediments. *Limnol. Oceanogr.* 30 (1): 221-227
- HOWES, B. L., R. W. HOWARTH, J. M. TEAL & I. VALIELA. 1981. Oxidation-reduction potentials in a salt marsh. Spacial patterns and interactions with primary production. *Limnol. Oceanogr.* 26: 350-360
- HUNGATE, R. E. 1969. A roll tube method for cultivation of strict anaerobes. *In: J. R. Norris and D. W. Ribbons (ed.). Methods in Microbiology.* 3B: 117-132. Academic Press.
- INDEBRÉ, J., B. PENGERUD & I. DUNDAS. 1979. Microbial activities in a permanently stratified estuary. I. Primary production and sulfate reduction. *Mar. Biol.* 51: 295-304
- ISA, Z., S. GRUSENMEYER & W. VERSTRAETE. 1986. Sulfate reduction relative to methane production in high-rate anaerobic digestion: microbiological aspects. *Appl. Environ. Microbiol.* 51(3):580-587
- JONES, W. J. & M. J. B. PAYNTER. 1980. Populations of methane-producing bacteria and in vitro methanogenesis in salt marsh and estuarine sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 39: 864-871
- JONES, W. J., D. P. NAGLE, JR. & W. B. WHITMAN. 1987. Methanogens and the diversity of Archaeobacteria. *Microbiol. Rev.* 51:136-177

- JØRGENSEN, B. B. 1977. The sulfur cycle of a coastal marine sediment (Limfjorden, Denmark). *Limnol. Oceanogr.* 22: 814-832
- JØRGENSEN, B. B. 1982. Mineralization of organic matter in the sea-bed- the role of sulphate-reduction. *Nature.* 296: 643-645
- JØRGENSEN, B. B. & T. FENCHEL. 1974. The sulfur cycle of a marine sediment model system. *Mar. Biol.* 24: 189-201
- KARL, D. M. & B. D. TILBROOK. 1994. Production and transport of methane in oceanic particulate organic matter. *Nature.* 368: 732-734
- KING, G. M. & W. J. WIEBE. 1980. Tracer analysis of methanogenesis in salt marsh soils. *Appl. Environ. Microbiol.* 39: 877-881
- KING, G. M. 1988. Methanogenesis from methylated amines in a hypersaline algal mat. *Appl. Environ. Microbiol.* 54(1): 130-136
- KING, G. M. 1984. Utilization of hydrogen, acetate, and "noncompetitive" substrates by methanogenic bacteria in marine sediments. *Geomicrobiol. J.* 3: 275-306
- KING, G. M., M. J. KLUG and D. R. LOVLEY. 1983. Metabolism of acetate, methanol and methylated amines in intertidal sediments of Lowes Cove, Maine. *Appl. Environ. Microbiol.* 45 (6): 1848-1853
- KOSIUR, D. R. & A. L. WALFORD. 1979. Methane production and oxidation in Santa Barbara basin sediments. *Est. Coast. Mar. Sci.* 8: 379-385
- KRISTJANSSON, J. K., P. SCHÖNHEIT and R. K. THAUER. 1982. Different K<sub>2</sub> values for hydrogen of methanogenic bacteria and sulfate reducing bacteria: an explanation for the apparent inhibition of methanogenesis by sulfate. *Arch. Microbiol.* 131: 278-282
- LAANBROEK, H. J. & N. PFENNIG. 1981. Oxidation of short-chain fatty acids by sulfate-reducing bacteria in freshwater and in marine sediments. *Arch. Microbiol.* 128: 330-335
- LAANBROEK, H. J., J. P.BLOK and L. STEENHUIS. 1985. Variability in fermentation patterns of sugar-utilizing bacteria isolated from anaerobic, intertidal sediments. *Microbial. Ecol.* 11 (2): 117-126
- LAANBROEK, H. J., H. J. GEERLINGS, L. SIJTSMA & H. VELDKAMP 1984. Competition for sulfate and ethanol among *Desulfobacter*, *Desulfobulbus* and *Desulfovibrio* species isolated from intertidal sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 47: 329-334
- LANGMUIR, D. 1971. Eh-pH determination. *En: R. E. Conner (ed.) Proc. Sedim. Petrol.* Wiley-Interscience. 653 p.
- LANKFORD, R. R. 1977. Coastal lagoon of Mexico. Their origin and classification. *En: Wiley, M. (ed.) Estuarine Processes.* Academic Press Inc. 182-215
- LEHNINGER, A. L. 1980. *Bioquímica.* Segunda edición. Ed. Omega. Barcelona, España. 1117 p.

- LEIN, A. YU., M. V. IVANOV & M. V. VAINSTEIN. 1990. The balance of hydrogen sulphide in the deep section of the Black Sea. *Mikrobiologia*. 59: 656-664
- LIDSTROM, M. E. 1983. Methane consumption in Framvaren, an anoxic marine fjord. *Limnol. Oceanogr.* 28(6): 1247-1251
- LOKA BHARATHI, P. A. 1989. The occurrence of denitrifying colourless sulphur-oxidising bacteria in marine waters and sediments as shown by the agar shake technique. *FEMS Microbiol. Ecol.* 62: 335-342
- LOVLEY, D. R & M. J. KLUG. 1983. Methanogenesis from methanol and methylamines and acetogenesis from hydrogen and carbon dioxide in the sediments of a eutrophic lake. *Appl. Environ. Microbiol.* 45: 1310-1315
- LOVLEY, D. R. & J. G. FERRY. 1985. Production and consumption of H<sub>2</sub> during growth of *Methanosarcina* spp. on acetate. *Appl. Environ. Microbiol.* 49: 247-249
- LOVLEY, D. R., D. F. DWYER and M. J. KLUG. 1982. Kinetic analysis of competition between sulfate reducers and methanogens for hydrogen in sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 43: 1373-1379
- MAH, R. A. 1982. Methanogenesis and methanogenic partnerships. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* 297: 599-616
- MAH, R.A. & M.R. SMITH. 1981. The methanogenic bacteria. *En: P.S. Mortimer, H. Stolp, H.G. Trüper, A. Balows and H.G. Schlegel (ed). The prokaryotes. A handbook on habitats isolation and identification of bacteria: 948-977*
- MARTENS, C. S. 1984. Recycling of organic carbon near the sediment-water interface in coastal environments. *Bull. Mar. Sci.* 35: 566-575
- MARTENS, C. S. & R. A. BERNER. 1974. Methane production in the interstitial waters of sulfate-depleted marine sediments. *Science.* 185: 1167-1168
- MATHRANI, I. M. & D. R. BOONE. 1985. Isolation and characterization of a moderately halophilic methanogen from a solar saltern. *Appl. Environ. Microbiol.* 50: 140-143
- MECHALAS, B. J. 1974. Pathways and environmental requirements for biogenic gas production in the ocean. *In: I. R. Kaplan (ed.). Natural Gases in Marine Sediments.* Plenum Press. 11-25
- MILLER, E., C. M. BROWN, T. H. PEARSON and S. O. STANLEY. 1979. Some biologically important low molecular weight organic acids in the sediments of Loch Eil. *Mar. Biol.* 50: 375-383
- MITSUI, S. 1965. Dynamic aspects of nutrient uptake in the mineral nutrition of the rice plant. *Symposium Proceedings International Rice Research Institute.* John Hopkins University, Baltimore, MD. 53-62
- MOHANRAJU, R. & R. NATARAJAN. 1992. Methanogenic bacteria in mangrove sediments. *Hydrobiologia.* 247: 187-193

- MOHANRAJU, R., B. S. RAJAGOPAL & L. DANIELS. 1997. Isolation and characterization of a methanogenic bacterium from mangrove sediments. *J. Mar. Biotech.* 5: 147-152
- MOUNTFORT, D. O. and R. A. ASHER. 1979. Effect of inorganic sulfide on the growth and metabolism of *Methanosarcina barkeri* Strain DM. *Appl. Environ. Microbiol.* 37 (4): 670-675
- MOUNTFORT, D. O. & R. A. ASHER. 1981. Role of sulfate reduction versus methanogenesis in terminal carbon flow in polluted intertidal sediment of Waimea Inlet, Nelson, New Zealand. *Appl. Environ. Microbiol.* 42(2): 252-258
- MOUNTFORT, D. O., R. A. ASHER, E. L. MAYS & J. M. TIEDJE. 1980. Carbon and electron flow in mud and sandflat intertidal sediments at Delaware Inlet, Nelson, New Zealand. *Appl. Environ. Microbiol.* 39(4): 686-694
- MULDER, Q. 1984. The effects of high sulfate concentrations on the methane fermentation of waste water. *Prog. Ind. Microbiol.* 20: 133-134
- NEDWELL, D. B. & J. W. ABRAM. 1978. Bacterial sulfate reducing in relation to sulfur geochemistry in two contrasting areas of salt marsh sediment. *Est. Coast. Mar. Sci.* 6: 341-351
- NEDWELL, D. B. 1984. The input and mineralization of organic carbon in anaerobic aquatic sediments. *Adv. Microbial. Ecol.* 7:93-131
- NEDWELL, D. B. & J. W. ABRAM. 1979. Relative influence of temperature and electron donor and electron acceptor concentrations on bacterial sulfate reduction in saltmarsh sediment. *Microbiol. Ecol.* 5: 67-72
- ODUM, W. E. AND E. J. HEALD. 1972. Trophic analyses of an estuarine mangrove community. *Bull. Mar. Sci.* 22: 671-738
- ODUM, W. E. and E.J. HEALD. 1975. The detritus-based food web of an estuarine mangrove community. *En: M. Wiley (ed.) Estuarine Research . Academic Press. I:* 265-286
- OLLIVIER, B. M., R. A. MAH, J. L. GARCIA & D. R. BOONE. 1986. Isolation and characterization of *Methanogenium bourgense* sp. nov. *Int. Syst. Bacteriol.* 36: 297-301
- OREMLAND, R. S. & S. POLCIN. 1982. Methanogenesis and sulfate reduction: competitive and noncompetitive substrates in estuarine sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 44: 1270-1276
- OREMLAND, R. S. 1975. Methane production in shallow-water, tropical marine sediments. *Appl. Microbiol.* 30: 602-608
- OREMLAND, R. S., L. M. MARSH & S. POLCIN. 1982. Methane production and simultaneous sulphate reduction in anoxic, salt marsh sediments. *Nature.* 296 (5853):143-145.

- OREMLAND, R. S. & B. F. TAYLOR. 1978. Sulfate reduction and methanogenesis in marine sediments. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 49: 209-214
- OREN, A. 1988. Anaerobic degradation of organic compounds at high salt concentrations. *Antonie van Leeuwenhoek.* 54:267-277
- PARKES, R. J., G. R. GIBSON, I. MUELLER-HARVEY, W. J. BUCKINGHAM & R. A. HERBERT. 1989. Determination of the substrates for sulphate-reducing bacteria within marine and estuarine sediments with different rates of sulphate reduction. *J. Gen. Microbiol.* 135: 175-187
- PATRICK, W. H. JR. & R. A. KHALID. 1974. Phosphate release and sorption by soils and sediments: effect of aerobic and anaerobic conditions. *Science.* 186: 53-55
- PÉREZ GONZÁLEZ, M. L. & F. DE J. MORALES MANILLA. 1985. Investigación sobre metanogénesis en sedimentos de un ambiente costero asociado a la Laguna de Términos, Campeche. *Tesis de Maestría.* Fac. Ciencias Químicas. UNAM. 115 p
- PERKINS, E. J. 1974. *The Biology of Estuaries and Coastal Waters.* Academic Press. New York. 687 p.
- PETERSEN, B. J., R. W. HOWARTH & R. H. GARITT. 1986. Sulfur and carbon isotopes as tracers of salt-marsh organic matter flow. *Ecology.* 67(4): 865-874
- PFENNIG, N., F. WIDDEL and H. G. TRUPER. 1981. The dissimilatory sulfate-reducing bacteria. In: M. P. Starr, H. Stolp, H. G. Truper, A. Ballows and H. G. Schlegel (ed.). *The Prokaryotes. A handbook on habitats isolation and identification of bacteria.* Springer-Verlag, New York. 926-940
- PHELPS. T. J. & J. G. ZEIKUS. 1985. Effect of fall turnover on terminal carbon metabolism in Lake Mendota sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 50:1285-1291
- POMEROY, L. R. 1974. The ocean's food web: a changing paradigm. *Bio-Science.* 24: 499-504
- POMEROY, L. R., K. BANCROFT, J. BREED, R. R. CHRISTIAN, D. FRANKENBERG, J. R. HALL, L. G. MAURER, W. J. WIEBE, R. G. WIEGERT & R. L. WETZEL. 1977. Flux of organic matter through a salt marsh. In: M. Wiley (ed.). *Estuarine Processes.* Academic Press. II: 270-279
- POSTGATE, J. R. 1963. Versatile medium for the enumeration of sulfate-reducing bacteria. *Appl. Microbiol.* 11: 265-267
- PRESTON, M. R. & P. PRODDUTURU. 1992. Tidal variations of particulate carbohydrates in the Mersey Estuary. *Est. Coast. Shelf Sci.* 34: 37-48
- RAMAMURTHY, T., R. M. RAJU & R. NATARAJAN. 1990. Distribution and ecology of methanogenic bacteria in mangrove sediments of Pitchavaram, East Coast of India. *Indian J. Mar. Sciences.* 19: 269-273

- RAMIREZ, B. P. 1987. Estudio ornitofaunístico de Alvarado, Veracruz, México. (dic. 1984-mar. 1987). *Tesis Profesional*. UNAM-ENEP- Iztacala. 96 p.
- RAMIREZ, G. M. S. J & I. HERNANDEZ. 1988. Investigación biológico-pesquera para la obtención de jaiba suave *Callinectes* spp. en Alvarado, Veracruz. *Tesis Profesional*. UNAM-ENEP- Iztacala. 34 p.
- RAMM, A. E. L. 1992. Aspects of the biochemistry of sulphur in Lake Mpungwini, Southern Africa. *Est. Coast. Shelf Sci.* 34: 253-261.
- RAZ-GUZMAN A., G. DE LA LANZA E. & L. A. SOTO. 1987. Caracterización ambiental de la laguna de Alvarado, Ver., basada en la distribución de sedimentos y vegetación. *Resúmenes VII Congr. Nal. Oceanogr. En: Castañeda L. O. y F. Contreras E. 1994. Golfo de México I. (de Tamaulipas y Veracruz). Serie "Bibliografía comentada sobre Ecosistemas Costeros". Vol. III. UAMI-CONABIO. 615 p*
- REEBRUGH, W. S. & D. T. HEGGIE. 1974. Depth distributions of gases in shallow water sediments. In: I. R. Kaplan (ed.). *Natural Gases in Marine Sediments. Plenum Press. New York. 27-45*
- REEBURGH, W. S. 1969. Observations of gases in Chesapeake Bay sediments. *Limnol. Oceanogr.* 14:368-375
- REGUERO, M. y A. GARCIA-CUBAS. 1989. Moluscos de la laguna de Alvarado, Veracruz: sistemática y ecología. *An. Inst. Cienc. del Mar y Limnol. UNAM.* 16 (2): 279-306
- RIVAS, M. A. M., & E. MENDEZ G. 1990. Bacteriología sanitaria del ostión de piedra *Crassostrea iridescens* (Hanley, 1854) procedente de la Bahía de Puerto Viejo, Mazatlán, Sinaloa. *Res. VIII. Cong. Nal. Zool.* 59.
- RODINA, A. G. 1971. *Methods in Aquatic Microbiology*. University Park Press. London. 461 p.
- ROSALES, L., A. CARRANZA & U. ALVAREZ. 1986. Sedimentological and chemical studies in sediments from Alvarado Lagoon system, Veracruz, México. *Anales de Ciencias del Mar y Limnología. Universidad Nacional Autónoma de México.* 13(3): 19-28
- SAGEMAN, J., B. B. JØRGENSEN & O. GREEFF. 1998. Temperature dependence and rates of sulfate reduction in cold sediments of Svalbard, Arctic Ocean. *Geomicrobiol. J.* 15: 85-100
- SAI RAM, M., L. SINGH & S. I. ALAM. 1993. Effect of sulfate and nitrate on anaerobic degradation of night soil. *Biosource Technology.* 45: 229-232
- SANDBECK, K. A. & D. M. WARD. 1981. Fate of immediate methane precursors in low-sulfate, hot-spring algal-bacterial mats. *Appl. Environ. Microbiol.* 41: 775-782
- SANSONE, F. J. & C. S. MARTENS. 1981. Methane production from acetate and associated methane fluxes from anoxic coastal sediments. *Science* 211:707-709

- SCHINK, B. & J. G. ZEIKUS. 1980. Microbial methanol formation: a major end product of pectin metabolism. *Current Microbiol.* 4: 387-389
- SCHÖNHEIT, P., J. K. KRISTJANSSON & R. K. THAUER. 1982. Kinetic mechanism for the ability of sulfate reducers to out-compete methanogens for acetate. *Arch. Microbiol.* 132: 285—288
- SENIOR, E., E. B. LINDSTROM, I. M. BANAT & D. B. NEDWELL. 1982. Sulfate reduction and methanogenesis in the sediment of a saltmarsh on the east coast of the United Kingdom. *Appl. Environ. Microbiol.* 43: 987-996
- SEVILLA, M. L. & A. CHEE-BARRAGAN. 1974. Contribución al conocimiento hidrográfico de la laguna de Alvarado, Ver., México. V. *Congreso Nacional de Oceanografía*. 1974. Guaymas, Son., México.
- SKYRING, G. W. 1988. Acetate as the main energy substrate for the sulfate-reducing bacteria in Lake Eliza (South Australia) hypersaline sediments. *FEMS Microbiol. Ecol.* 53: 87-94
- SMITH, P. H. 1966. The microbial ecology of sludge methanogenesis. *Dev. Ind. Microbiol.* 7: 156-161
- SØRENSEN, J., D. CHRISTENSEN & B. B. JORGENSEN. 1981. Volatile fatty acids and hydrogen as substrates for sulfate-reducing bacteria in anaerobic marine sediment. *Appl. Environ. Microbiol.* 42: 5-11
- SØRENSEN, J., B. B. JORGENSEN & N. B. REVSBECH. 1979. A comparison of oxygen, nitrate and sulfate respiration in coastal marine sediments. *Microbiol. Ecol.* 5: 105-115
- STOLZ, J. F. 1986. Estructuras finas de estratificación de comunidades microbianas de la laguna Figueroa, Baja California, México. *MBI. LECT. BIOL.* 3 (1): 23-38
- STOLZ, J. F. 1990. Distribución de microbios fototróficos en el piso laminado con un colchon microbial para laguna Figueroa, Baja California, México. *Biosystems*, 23 (4): 345-358
- STRICKLAND, J. D. H. & T. R. PARSONS. 1972. *A Practical Handbook of Seawater Analysis*. Bulletin 167. Second edition. Fisheries Research Board of Canada. Ottawa, Canada. 310 p.
- STEEL, R. G. D. & J. H. TORRIE. 1980. *Principles and Procedures of Statistics. A Biometrical Approach*. Second edition. McGraw-Hill. New York, U.S.A. 632 p.
- TAKII, S. & M. FUKUI. 1990. Seasonal variations of population density and activity of sulfate-reducing bacteria in offshore and reed sediments of a hypertrophic freshwater lake. *Japanese J. Limnol. RIZAAU.* 51: 63-71
- TANNER, R. S. 1989. Monitoring sulfate-reducing bacteria: comparison of enumeration media. *J. Microbiol. Methods.* 10: 83-90



- TEAL, J. M. & J. KANWISHER. 1962. Gas exchange in a Georgia salt marsh. *Limnol. Oceanogr.* 6: 388-399
- TEAL, J. M. 1962. Energy flow in a salt marsh ecosystem of Georgia. *Ecology*, 39: 185-193
- THEEDE, H. 1969. Studies on the resistance of marine bottom invertebrates to oxygen deficiencies and hydrogen sulfide. *Mar. Biol.* 2: 325-332
- TOVILLA, H. C. 1990. Productividad primaria de los manglares del Golfo de México y el Pacífico Mexicano: laguna de Alvarado, Términos y barra de Tecuanapa. *Res. VII Cong. Nal. Oceanog.* 149. En: Castañeda L. O. y F. Contreras E. 1994. *Golfo de México I.* (de Tamaulipas y Veracruz). Serie "Bibliografía comentada sobre Ecosistemas Costeros". Vol. III. UAMI-CONABIO. 615 p.
- TOVILLA, C. & F. F. GARCIA M. 1990. Ecología de *Ruppia maritima* (L.) en un sistema lagunar del Golfo de México. *Resúmenes II Congr. Cienc. del Mar.* 134. En: Castañeda L. O. y F. Contreras E. 1994. *Golfo de México I.* (de Tamaulipas y Veracruz). Serie "Bibliografía comentada sobre Ecosistemas Costeros". Vol. III. UAMI-CONABIO. 615 p.
- TOVILLA, H. C. & E. GONZÁLEZ ANGELITO. 1994. Producción de hojarasca del manglar en tres sistemas lagunares del Golfo de México y el Pacífico. *Serie Grandes Temas de la Hidrobiología: Los Sistemas Litorales.* UAMI-UNAM. (2): 87-103
- TRAIN, R. E. 1979. *Quality Criteria for Water.* Castle House Publications. Great Britain. 256 p.
- UEKI, A., H. MINATO, R. AZUMA & T. SUTO. 1980. Enumeration and isolation of anaerobic bacteria in sewage digester fluids: enumeration of sulfate-reducers by the anaerobic roll tube method. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 26: 25-35
- UEKI, A., K. MATSUDA & CH. OHTSUKI. 1986. Sulfate-reduction in the anaerobic digestion of animal waste. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 32: 111-123
- VANCE, I. D. E. BRINK. 1994. Propionate-driven sulphate-reduction by oil-field bacteria in a pressurised porous rock bioreactor. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 40: 920-925
- VILLALOBOS F., A. S. GOMEZ A., V. ARENAS, J. CABRERA, G. DE LA LANZA E. & F. MANRIQUE. 1975. Estudios hidrobiológicos en la laguna de Alvarado, Ver., México (febrero-agosto 1966). *An. Inst. Biol. UNAM.* 46. Ser. Zool. 1: 1-34
- VISSER, A., I. BEEKSMAN, F. VAN DER ZEE, A. J. M. STAMS & G. LETTINGA. 1993. Anaerobic degradation of volatile fatty acids at different sulphate concentrations. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 40: 549-556
- VOGELS, G. D., J. T. KELTJENS & C. VAN DER DRIFT. 1988. Biochemistry of methane production. En: Alexander J. B. Zehnder (Ed.). *Biology of Anaerobic Microorganisms.* John Wiley and Sons. U.S.A. 707-770
- VOGELS, G.D. 1979. The global cycle of methane. *Antonie van Leeuwenhoek.* 45:347-352

- WAGNER, D., E. M. PFEIFFER & E. BOCK. 1999. Methane production in aerated marshland and model soils: effects of microflora and soil texture. *Soil Biol. Biochem.* 3: 999-1006
- WARD, D. M. & G. J. OLSON. 1980. Terminal processes in the anaerobic degradation of an algal-bacterial mat in a high-sulfate hot in spring. *Appl. Environ. Microbiol.* 40: 67-74
- WARD, T. E. & J. I. FREA. 1980. Sediment distribution of methanogenic bacteria in Lake Erie and Cleveland Harbor. *Appl. Environ. Microbiol.* 39: 597-603
- WESTERMANN, P. 1993. Wetland and swamp microbiology. In: Timothy E. Ford (ed.). *Aquatic Microbiology*. Blackwell Scientific Publications. Boston, USA. 215-238
- WESTERMANN, P. & B. K. AHRING. 1986. Terminal anaerobic carbon mineralization in an alder swamp. In: V. Jensen, A. Kjøller & L. H. Sørensen (eds.). *Microbial Communities in Soil*. Elsevier. Amsterdam. 489-491
- WETZEL, R. G. 1977. *Limnology*. Saunders College Publishing. Philadelphia, U. S.A. 743 p.
- WHELAN, T. 1974. Methane and carbon dioxide in coastal marsh sediments. In: I. R. Kaplan (ed.). *Natural Gases in Marine Sediments*. Plenum Press. 47-61
- WIDDEL, F. & N. PFENNIG. 1981. Studies on dissimilatory sulfate-reducing bacteria that decompose fatty acids. I. Isolation of new sulfate-reducing bacteria enriched with acetate from saline environments. Description of *Desulfobacter postgatei* gen. nov., sp. nov. *Arch. Microbiol.* 129: 395-400
- WIDDEL, R. 1988. Microbiology and ecology of sulfate and sulfur reducing bacteria. In: Alexander J. B. Zehnder (Ed.). *Biology of Anaerobic Microorganisms*. John Wiley and Sons. U.S.A. 469-586
- WILLIAMS, R. T. & R. L. CRAWFORD. 1984. Methane production in Minnesota peatlands. *Appl. Environ. Microbiol.* 47:1266-1271
- WINFIELD, A. I. & C. BEDIA S. 1991. Características del superorden peracárida en pastos marinos de Alvarado, Ver., estudio preliminar. *Res. XI Congr. Nat. Zool.* Cartel 1. En: Castañeda L. O. y F. Contreras E. 1994. *Golfo de México I.* (de Tamaulipas y Veracruz). Serie "Bibliografía comentada sobre Ecosistemas Costeros". Vol. III. UAMI-CONABIO. 615 p.
- WINFREY, M. R. & D. M. WARD. 1983. Substrates for sulfate reduction and methane production in intertidal sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 45: 193-199
- WINFREY, M. R. & J. G. ZEIKUS. 1977. Effect of sulfate on carbon and electron flow during microbial methanogenesis in freshwater sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 33: 275-281
- WINFREY, M. R. & J. G. ZEIKUS. 1979. Anaerobic metabolism of immediate methane precursors in Lake Mendota. *Appl. Environ. Microbiol.* 37: 244-253

WONG, CH. I. & G. BARRERA-ESCORCIA. 1996. Niveles de contaminación microbiológica en el Golfo de México. *En: A. V. Botello, J. L. Rojas G., J. A. Benítez y D. Zárate L. (Ed.). Golfo de México, Contaminación e Impacto Ambiental: Diagnóstico y Tendencias.* Universidad Autónoma de Campeche. SEP. EPOMEX. Serie Científica No. 5: 383-397

YANCEY, P. H., M. E. CLARK, S. C. HAND, R. P. BOWLUS & G. N. SOMERO. 1982. Living with water stress: evolution of osmolytic systems. *Science.* 217: 1214-1222

YAÑEZ-ARANCIBIA, A. 1986. *Ecología de la Zona Costera.* Primera Edición. AGT Editor, S. A. México. 189 p.

YEN, T. F. and J. I. S. TANG. 1977. Chemical aspects of marine sediments. *In: T. F. Yen (ed.). Chemistry of Marine Sediments.* 1-38

ZEHNDER, A. J. B. & T. D. BROCK. 1979. Methane formation and methane oxidation by methanogenic bacteria. *J. Bacteriol.* 137: 420-432

ZEIKUS, J. G. & M. R. WINFREY. 1976. Temperature limitation of methanogenesis in aquatic sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 31: 99-107

## 12. APENDICE METODOLOGICO

### 12.1. Bacterias Sulfatorreductoras

Este grupo de microorganismos se enumeró por medio del método del tubo rodado (roll tube) de Hungate (1969), usando una modificación al medio de cultivo de Posgate (1963) con lactato y propionato como sustratos.

Preparación del Medio de Cultivo.

Solución de $K_2HPO_4$	100.0 ml
Solución mineral BSR	100.0 ml
Resarzurina	1.0 ml
Extracto de levadura	1.0 g
$FeSO_4 \cdot H_2O$	0.5 g
Cisteína	0.25 g
Solución de ácido láctico	3.5 g (para evaluar bacterias que crecen con lactato)
Solución de ácido propiónico	10.0 ml (para evaluar bacterias que crecen con propionato)
Agar	15.0 g
Agua destilada	1000.0 ml
pH	8.0
Solución de $K_2HPO_4$	
$K_2HPO_4$	5.0 g
Agua destilada	1000.0 ml

### Solución Mineral BSR

NH <sub>4</sub> Cl	10.0 g
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20.0 g
CaCl <sub>2</sub> anhidro	0.8 g
MgSO <sub>4</sub> * 7H <sub>2</sub> O	2.0 g
Agua destilada	1000.0 ml
pH	7.0-7.4

Se mezclan las sustancias para formar el medio de cultivo que posteriormente se somete a ebullición tapando con un tapón de hule, bajo agitación constante bajo una atmósfera de N<sub>2</sub> hasta que se reduzca, se deja enfriar un poco y se introduce tibio a la cámara anaerobia para repartir 4.5 ml de la solución en los tubos de Hungate, los cuales, después de vaciado el medio se cierran con el septo de goma y el tapón de rosca. Terminando se sacan los tubos de la cámara y se esterilizan a 15 lb de presión durante 20 minutos.

### Preparación del Agua de Dilución

Para el agua de dilución se dispone como en el proceso descrito anteriormente, utilizando los mismos componentes que se emplearon para el medio de cultivo, exceptuando los substratos.

### Preparación de Soluciones Salinas

#### Solución 1

NaCl	25.0 g
Agua reducida	100.0 ml

#### Solución 2

NaCl	7.0 g
------	-------

Agua reducida 100.0 ml

Se ponen a hervir 100 ml de agua destilada bajo una atmósfera de  $N_2$ , una vez reducida se enfría y se introduce a la cámara anaerobia junto con el NaCl; dentro de la cámara se preparan las dos soluciones y se reparten en botellas de suero que se tapan con un septo de goma y se sacan de la cámara. En el exterior las botellas son selladas con una rosca metálica, se les cambia la atmósfera de  $N_2$  por una mezcla de  $N_2$ - $CO_2$  por 2 minutos y se esterilizan a 15 lb de presión durante 20 minutos.

#### Preparación de los Substratos

##### Solución de Ácido Propiónico

Acido propiónico	6.6 ml
Agua reducida	43.4 ml

Se ponen a hervir 50 ml de agua destilada bajo una atmósfera de  $N_2$ , una vez reducida se enfría y se lleva a la cámara anaerobia donde se vacían 43.4 ml en una botella de suero, se tapa con el septo de goma y se saca. Fuera de la cámara se sella el frasco con la rosca metálica y se le agrega a través del septo, con ayuda de una jeringa estéril, 6.6 ml del ácido propiónico. Se esteriliza a 15 lb de presión por 20 minutos.

#### Inoculación.

Dentro de la cámara anaerobia a los tubos de Hungate conteniendo el medio de cultivo, se les adiciona los mililitros de solución salina que sean necesarios para igualar las condiciones de salinidad encontradas en la zona de estudio; al mismo tiempo se extraen de los núcleos las muestras de sedimentos, se homogenizan y se procede con ellas a hacer una serie de

diluciones ( $10^{-1}$  a  $10^{-8}$ ) tanto para Alvarado como para Camaronera. Finalizando el trabajo, los tubos con las diluciones y los medios de cultivo se llevan al exterior.

Los medios de cultivo se funden con ayuda del autoclave y se mantienen en estado líquido a una temperatura constante de  $45^{\circ}\text{C}$  en un baño maría para poder comenzar con la inoculación. Durante la fase de siembra, bajo una atmósfera de  $\text{N}_2$ , se toma con la ayuda de una jeringa estéril 1 ml de cada una de las diluciones y a partir del mismo se inoculan 0.5 ml en cada tubo de Hungate, de tal manera que cada dilución queda sembrada por quintuplicado. Una vez inoculados los tubos se ruedan sobre un lecho de hielo y bajo el chorro del agua para permitir que el medio solidifique de manera uniforme alrededor de las paredes internas del tubo. Los tubos rodados se incuban a  $32^{\circ}\text{C}$  durante 7 días, al término de los cuales se contaron las colonias de color negro.

## 12.2. Bacterias Metanógenas

La microbiota metanógena se cuantificó por medio del número más probable (NMP), usando el medio de cultivo básico de Balch *et al.*, (1979) y como sustratos: acetato, metanol, metilaminas y una mezcla de  $\text{H}_2\text{-CO}_2$ .

### Preparación de la Solución Base

Solución mineral 1	50.0 ml
Solución mineral 2	50.0 ml
Solución de oligoelementos	10.0 ml
Solución de vitaminas	10.0 ml
Solución de $\text{FeSO}_4$ (0.2%)	1.0 ml
Solución de $\text{NiCl}_2$	10.0 ml

Resarzurina (0.1%)	1.0 ml
Extracto de levadura	1.0 g
Peptona	1.0 g
Agua destilada	1000.0 ml
pH	7.0-7.2

Bacterias acetoclásticas: 300 ml del medio base + 1.32 g de bicarbonato de sodio + 1.65 g de acetato de sodio + 0.165 g de cisteína.

Bacterias hidrogenofilicas: 330 ml del medio base + 1.32 g de bicarbonato de sodio + 0.165 g de cisteína.

Bacterias utilizadoras de metanol: 330 ml del medio base + 1.32 g de bicarbonato de sodio + 0.165g de cisteína.

Bacterias utilizadoras de metilaminas: 330 ml del medio base + 1.32 g de bicarbonato de sodio + 0.165 g de cisteína.

Se mezclan todas las sustancias menos la cisteína y se ajusta el pH a 7.0-7.2.

#### Solución Mineral 1

$\text{KH}_2\text{PO}_4$	6.0 g
Agua destilada	1000.0 ml

Mezclar las sustancias.

#### Solución Mineral 2



$(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$	6.0 g
NaCl	12.0 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	2.6 g
$\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	0.16 g
Agua destilada	1000.0 ml

Mezclar las sustancias.

#### Solución de Oligoelementos

Acido nitriloacético	1.5 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	3.0 g
$\text{MnSO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	0.5 g
NaCl	1.0 g
$\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0.1 g
$\text{CoCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	0.1 g
$\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	0.1 g
$\text{Zn}(\text{Cl}_2)/\text{SO}_4$	0.1 g
$\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$	0.01 g
$\text{AlK}(\text{SO}_4)_2$	0.01 g
$\text{H}_3\text{BO}_3$	0.01 g
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	0.01 g
Agua destilada	1000.0 ml

Disolver el ácido nitriloacético en el agua y ajustar con KOH el pH a 6.5, agregar los minerales y ajustar de nuevo el pH con KOH a 7.0. Conservar en refrigeración.

#### Solución de Vitaminas

Biotina (vit. H)	2.0 mg
Acido fólico	2.0 mg
Piridoxina HCL	10.0 mg
Tiamina HCL (vit. B <sub>1</sub> )	5.0 mg
Riboflavina (vit. B <sub>2</sub> )	5.0 mg
Acido nicotínico	5.0 mg
DL- pantotenato de calcio	5.0 mg
Cianocobalamina (Vit. B <sub>12</sub> )	0.1 mg
Acido p-aminobenzoico (PABA)	5.0 mg
Acido lipoico	5.0 mg
Agua destilada	1000.0 ml

Se mezclan todas las substancias.

#### Solución de NiCl<sub>2</sub>

NiCl <sub>2</sub>	5.0 mg
Agua destilada	100.0 ml

Se mezclan las substancias.

El medio ya preparado se somete a ebullición bajo una atmósfera de N<sub>2</sub> hasta que se reduzca, se deja enfriar un poco y se agrega la cisteína, se completa el enfriamiento para introducirlo a la cámara anaerobia. En el interior de la misma se reparten 4.5 ml de la solución en los tubos de Hungate, los cuales se cierran con el septo de goma y el tapón de rosca. Terminando la repartición del medio los tubos se sacan de la cámara y se acomodan para hacer el cambio de atmósferas durante 1 minuto para cada tubo:

Acetoclásticas: atmósfera de  $N_2-CO_2$

Hidrogenofilicas: mezcla de  $H_2-CO_2$

Utilizadoras de metanol: mezcla de  $N_2-CO_2$

Utilizadoras de metilaminas: mezcla de  $N_2-CO_2$

Al finalizar el cambio de atmósferas los tubos se esterilizan a 15 lb de presión durante 20 minutos.

#### Preparación del Agua de Dilución

Se sigue el procedimiento descrito anteriormente utilizando las mismas sustancias que las empleadas en el medio de cultivo, eliminando exclusivamente los substratos.

#### Preparación de los Substratos

##### Solución de Metanol

Metanol	29.2 ml
Agua reducida	100.0 ml

Se pone a hervir agua destilada bajo una atmósfera de  $N_2$  una vez reducida se enfria y se introduce a la cámara anaerobia en donde se vacían 70.8 ml en un frasco de suero, éste se tapa y se saca. Fuera de la cámara se sella con la rosca metálica y se le agregan 29.2 ml de metanol. Se esteriliza a 15 lb de presión por 20 minutos.

##### Solución de metilaminas

Metilaminas	21.5 ml
Agua reducida	50.0 ml

Se pone a hervir el agua destilada bajo una atmósfera de  $N_2$ , una vez reducida se enfria y se introduce a la cámara anaerobia donde se vacían 5.7 ml en cada tubo de Hungate, se tapan y

se sacan. Fuera de la cámara a cada tubo se le agregan 4.3 ml de metilaminas. Se esterilizan a 15 lb de presión durante 20 minutos.

#### Preparación de Diversas Soluciones

##### Solución de $\text{Na}_2\text{S}$

$\text{Na}_2\text{S}$	2.5 g
Agua reducida	100.0 ml

El  $\text{Na}_2\text{S}$  se lava con un poco de agua destilada, se seca y se pesa. Al mismo tiempo se somete a ebullición el agua destilada bajo una atmósfera de  $\text{N}_2$ , una vez reducida se enfría y se lleva a la cámara anaerobia junto con el  $\text{Na}_2\text{S}$ . Dentro de la cámara se prepara la solución y se reparte en varios tubos de Hungate, se tapan y se sacan de la cámara. Por último se esterilizan a 15 lb de presión durante 20 minutos.

##### Inoculación.

Dentro de la cámara anaerobia a los tubos de Hungate que tienen el medio de cultivo se les adicionan las siguientes soluciones:

- solución salina, los mililitros que sean necesarios para igualar las condiciones de salinidad encontradas en la zona.
- 0.1 ml de la solución de  $\text{Na}_2\text{S}$
- 0.25 ml de la solución de metanol, únicamente para las bacterias utilizadoras de metanol, de tal manera que se tenga una concentración final del sustrato de 3 g/l.
- 0.1 ml de la solución de metilaminas, únicamente para las bacterias utilizadoras de metilaminas, de tal manera que se obtenga una concentración final del sustrato de 100 mM.

Al mismo tiempo las muestras de sedimentos colectadas se extraen de los núcleos y se homogenizan para poder diluirlas ( $10^{-1}$  a  $10^{-8}$ ) con el agua preparada para el caso. Terminando ambos procesos se sacan los tubos de la cámara para comenzar la siembra.

La inoculación se lleva a cabo bajo una atmósfera de  $N_2-CO_2$ , tomándose con una jeringa estéril 1.0 ml de cada una de las diluciones; de este mililitro se siembran 0.2 ml en cada tubo de Hungate con el medio de cultivo, por lo tanto cada dilución estuvo inoculada por quintuplicado. Cuando se concluye la operación los tubos se incuban a  $32^{\circ}C$  durante un mes y medio, teniendo el cuidado de alimentar los tubos de hidrogenofílicas cada tercer día con la mezcla de  $H_2-CO_2$  durante 1 minuto.

Después del período de incubación se analizó la presencia de metano en los tubos en un Cromatógrafo de Gases Hewlett Packard 5850 con un detector de ionización de flama (FID) y las siguientes condiciones de operación:

temperatura del detector=  $220^{\circ}C$

temperatura del inyector=  $210^{\circ}C$

temperatura del horno=  $100^{\circ}C$

atenuación= 1

rango= 10

Los tubos en donde se detectó la presencia de metano se evaluaron como positivos y partir de éstos se calculó el número más probable (NMP) de bacterias con base en tablas probabilísticas.

### **12.3. Actividad Acetoclástica**

Preparación del Medio.

Solución mineral 1	25.0 ml
--------------------	---------

Solución mineral 2	25.0 ml
Solución de oligoelementos	5.0 ml
Solución de vitaminas	5.0 ml
Solución de NiCl <sub>2</sub>	5.0 ml
Solución de FeSO <sub>4</sub> (0.2%)	0.5 ml
Resarzurina (0.1%)	0.5 ml
Peptona	0.5 g
Extracto de levadura	0.5 g
Bicarbonato de sodio	1.4 g
Cisteína	0.25 g
Agua destilada	500.0 ml

Se mezclan todas las sustancias, excepto la cisteína y se ajusta el pH a 7.0-7.2; una vez preparado el medio se dividió en dos, uno para actividad acetoclástica sin sulfatos y el otro para actividad acetoclástica con sulfatos a una concentración 20 mM (éste se puede preparar desde el comienzo si a la solución mineral 2 se le agregan los sulfatos). Posteriormente los medios se someten a ebullición bajo una atmósfera de N<sub>2</sub> hasta que se reduzca, se deja enfriar un poco y se les agrega la cisteína. Totalmente fríos se introducen a la cámara anaerobia donde se repartirán 32 ml de los mismos a las botellas de suero, éstas se cierran con el tapón de goma y se sacan de la cámara. Ya en el exterior se sellan con la rosca metálica y se les cambia la atmósfera por una mezcla de N<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub> durante 2 minutos, se esterilizan a 15 lb de presión durante 20 minutos.

#### Preparación del Substrato

Acido acético glacial	3.0 ml
Agua reducida	100.0 ml

Se ponen a hervir 100 ml de agua destilada bajo una atmósfera de nitrógeno, una vez reducida se enfría y se introduce a la cámara anaerobia donde se vacían 9.7 ml en cada tubo de Hungate, se tapan y se sacan. Fuera de la cámara a cada tubo se le agrega 0.3 ml de ácido acético. Se esterilizan a 15 lb de presión durante 20 minutos.

#### Inoculación.

Dentro de la cámara anaerobia a cada botella de suero con el medio se le agregan 0.8 ml de la solución de  $\text{Na}_2\text{S}$  y 0.8 ml del substrato, excepto a las botellas que servirán de testigo; inmediatamente después se agregan 8.0 ml de los sedimentos acuáticos. Se sacan de la cámara.

#### Actividad.

Bajo una atmósfera de  $\text{N}_2$  se extraen 0.5 ml de la fase líquida de cada una de las muestras y se colocan en microtubos de centrifuga, a los que previamente se había adicionado 10  $\mu\text{l}$  de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  al 50%. Se centrifugan a velocidad máxima durante 20 minutos. Se conserva el sobrenadante en otro microtubo para el análisis cromatográfico; dicho análisis se efectuó en un Cromatógrafo de Gases marca Hewlett Packard con un detector de ionización de flama cuyas características eran:

temperatura del detector= 220°C

temperatura del inyector= 210°C

temperatura del horno= 200°C

atenuación= 1

rango= 4

cabe señalar que si la determinación tardaba en efectuarse las muestras se congelaban. La toma de muestras para actividad se hizo cada 4 horas (4 veces al día) durante 3 días

consecutivos. Entre cada toma las botellas con el inculo se guardaron en la incubadora a 32°C.