

Identificación de microorganismos heterótrofos en la desembocadura del Río Actopan Chachalacas, Veracruz.

Monroy-Dosta MC*, Castro-Mejía G, Ciprés-Chávez, Hernández-Sánchez A, Reyes-Ruiz AN, Castro-Mejía J y Ramirez-Tórres JA.

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. Licenciatura en Biología. Módulo Plagas y Enfermedades de un Recurso natural Renovable. Departamento El Hombre y su Ambiente. Laboratorio de Análisis Químico de Alimento Vivo. Calzada del Hueso 1100, Col. Villa Quietud, Coyoacán, México, D.F. C.P. 04960.

*Email responsable: monroydosta@hotmail.com

RESUMEN

Se realizó un estudio de la calidad del agua en la desembocadura del Río Actopan en Chachalacas, Veracruz, mediante la detección de microorganismos heterótrofos, para lo cual se recolectaron muestras de agua en tres zonas distintas (Puente, la Loma y la Bocana). Para la determinación de los grupos heterótrofos bacterianos se sembró 0.1 mL en medios para el crecimiento de microorganismos amonolíticos, quitinolíticos, celulolíticos, nitrificantes. Las cepas aisladas pertenecieron a las especies *Bacillus luteus*, *Serratia sp.*, *Vibrio sp.*, *Pseudomonas cepacia*, *Photobacterium damsela*, *Cytophaga sp.* y *Candida utilis*.

Palabras clave: Microorganismos heterótrofos, Río Actopan.

ABSTRACT

A water quality study was made in Rio Actopan mouth in Chachalacas, Veracruz, by detecting heterotrophic microorganisms in water samples collected in three different zones (Puente, La Loma and La Bocana). For determination of heterotrophic bacterial groups, 0.1 mL was seeded in growing culture media for amylolytic, chitinolytic, cellulolytic and nitrifying microorganisms. Isolated strains belong to *Bacillus luteus*, *Serratia sp.*, *Vibrio sp.*, *Pseudomonas cepacia*, *Photobacterium damsela*, *Cytophaga sp.* and *Candida utilis* species.

Key words: Heterotrophic microorganisms, Rio Actopan,

INTRODUCCIÓN

Los ecosistemas acuáticos de México, como los estuarios, ríos y lagunas costeras, representan una importante fuente de recursos energéticos y minerales, así como una alta productividad pesquera (Cisneros 2010). Sin embargo, estos biomas están sometidos desde hace ya varios años a la presión que el hombre ejerce sobre ellos al depositar directa o indirectamente sus desechos, tanto urbanos como industriales, produciendo un daño a los organismos que los habitan. Estos ecosistemas son sumamente frágiles, y con el paso del tiempo han ido sufriendo una transformación significativa, como cierre de comunicaciones entre lagunas y el mar, represas de ríos y principalmente contaminantes vertidos en estos (Villanueva y Botello 1992, Cisneros 2010). Es por ello que el estudio de los microorganismos heterótrofos en ambientes acuáticos resulta importante, debido a la relación tan estrecha entre estos organismos y su ecosistema, al ser capaces de adaptarse a una diversidad de ambientes son más eficientes en el modo de utilización de sustratos, dando lugar a una amplia diversidad fisiológica (Miravet, 2003). De ahí reside su importancia como bioindicadores de la presencia de materiales o sustancias contaminantes. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar la calidad microbiológica del

Microorganismos heterótrofos Río Actopan

Monroy-Dosta MC, Castro-Mejía G, Ciprés-Chávez, Hernández-Sánchez A, Reyes-Ruiz AN, Castro-Mejía J y Ramirez-Tórres JA.

agua del Río Actopan, mediante la detección microorganismos heterótrofos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Área de estudio

El Río Actopan se ubica en la Playa de Chachalacas dentro del municipio Úrsulo Galván, Veracruz entre las coordenadas 19°24'36.46" N – 96°20'16.31" O (Fig. 1).

Trabajo de campo

Recolección de muestras

Se identificaron tres zonas de muestreo vulnerables a contaminantes principalmente por actividad antropogénica: Zona A: Puente Úrsulo Galván, Zona B: La Loma de San Rafael y la

zona C: La Bocana. Con ayuda de frascos estériles de 100 ml de capacidad se tomaron muestras de agua en cada zona por triplicado.

Análisis microbiológico

Para la detección de microorganismos heterótrofos degradadores de quitina, celulosa, almidón, queratina y compuestos nitrogenados, se procedió a inocular 1 mL de muestra por triplicado en medios líquidos de celulosa y nitrógeno, así como siembra en placas de agar de quitina, almidón y queratina. Una vez inoculados, se incubaron a 72 horas a 30 °C. Después del periodo de incubación a los medios con nitrógeno se le agregaron los reactivos Nit1 y Nit2 (Biomerieux), tomando como positivos al cambio de la coloración del tubo del color rosa al púrpura. De todos los medios utilizados se aislaron los microorganismos a través de resiembras sucesivas en medio Infusión Cerebro

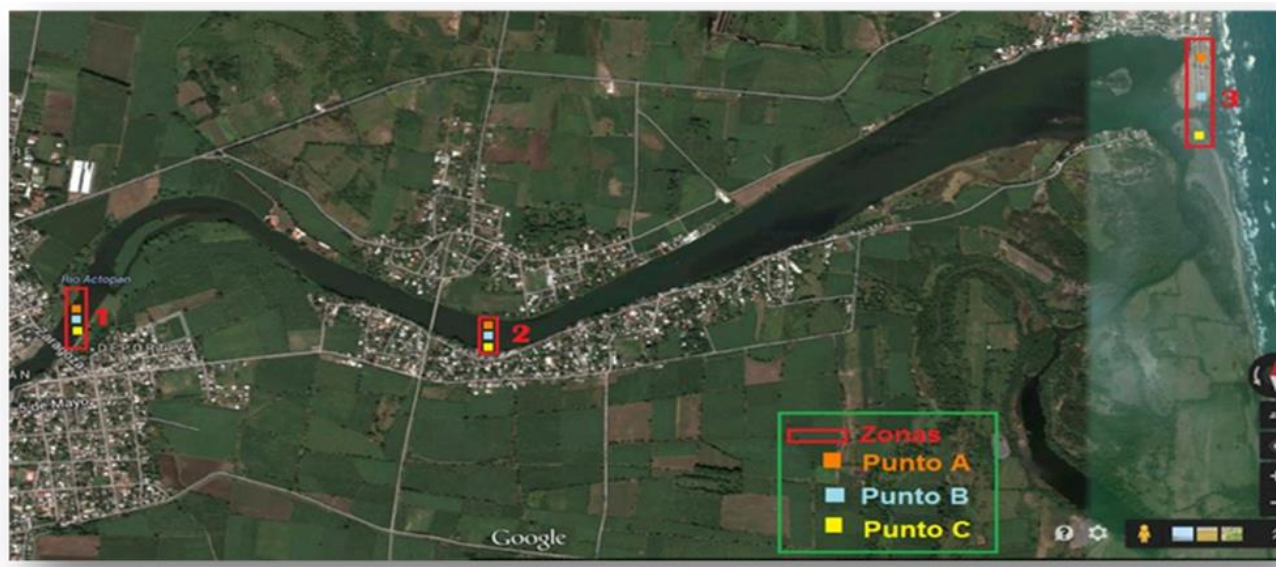


Fig. 1. Ubicación de la zona de estudio: desembocadura del Río Actopan en la Playa de chachalacas, Veracruz. Imagen tomada de Google Earth, 2014.

Microorganismos heterótrofos Río Actopan

Monroy-Dosta MC, Castro-Mejía G, Ciprés-Chávez, Hernández-Sánchez A, Reyes-Ruiz AN, Castro-Mejía J y Ramirez-Tórres JA.

Corazón (BHI), para posteriormente efectuar la tinción de Gram con el fin de observar la morfología celular con ayuda de un microscopio Olympus BZ600.

Abundancia bacteriana

Para determinar la abundancia de bacterias se efectuó el conteo directo en placa utilizando un contador de colonias de la marca SOL-BAT modelo Q-20.

Identificación bacteriana

A las cepas aisladas se les efectuaron pruebas microbiológicas convencionales para su identificación como: catalasa, oxidasa, óxido fermentación, movilidad e indol (Bergey & Holt 994). Finalmente, se confirmó la identificación de las cepas con el sistema API20E, API20NE, APICHL, API CHL 50 y el Programa Apiweb™ Biomerieux.

Análisis físicos y químicos

Los análisis considerados en este estudio fueron de temperatura, oxígeno disuelto, turbidez, amonio,

nitritos y nitratos, tomando 5mL de la muestra y analizados con el aparato multiparamétrico para determinar calidad de agua marca HANNA.

Análisis de datos

Para determinar si existía diferencias entre la abundancia bacteriana y la asociación entre las aribles abióticas se realizó un análisis de varianza y un análisis discriminante con la ayuda del paquete estadístico Systat 10.2.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos en esta investigación indican que el grupo heterótrofo que predominó fue el bacterias celulíticas con 43% del total, siendo las nitrificantes y quitinolíticas las menos abundantes con 14% (Fig. 2).

Con relación a la abundancia de microorganismos (UFC mL⁻¹) encontrados para cada zona de estudio, se determinó que la zona A (El Puente) alcanzó conteos de hasta de 628 x10⁶ UFC mL⁻¹, en

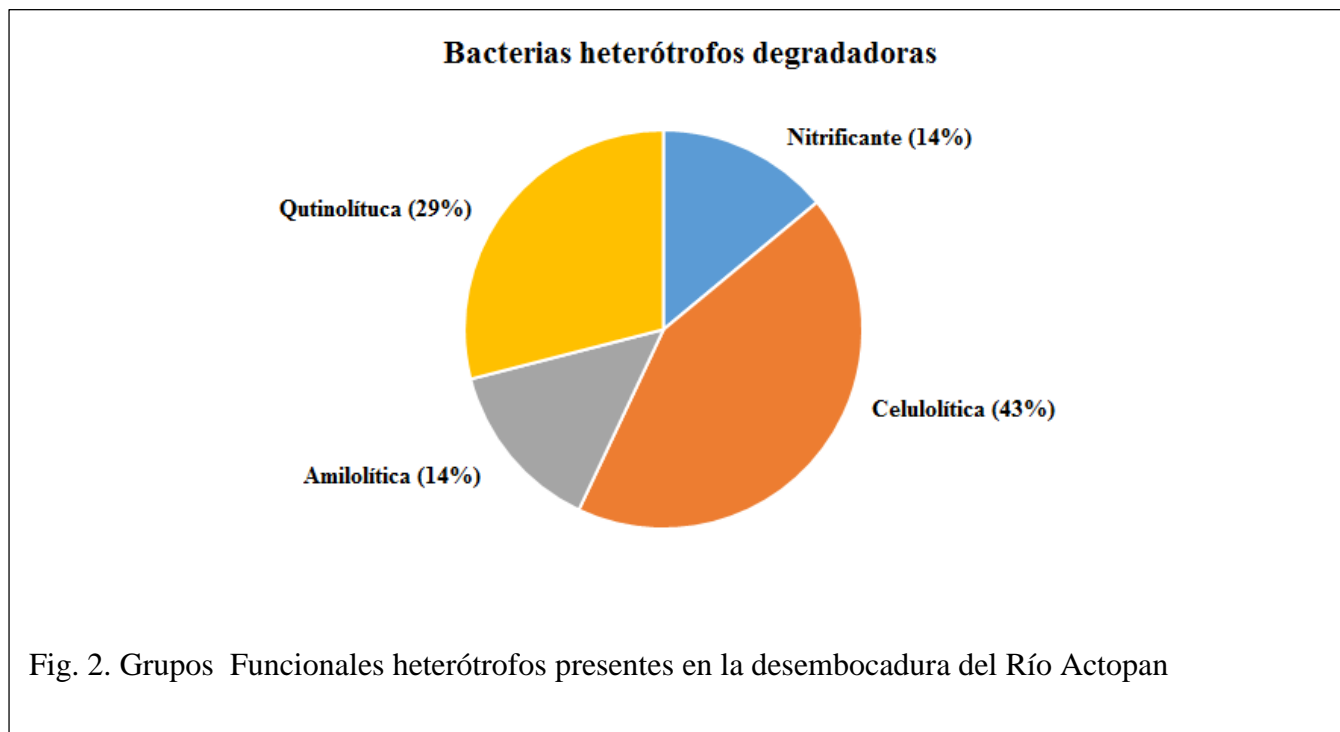


Fig. 2. Grupos Funcionales heterótrofos presentes en la desembocadura del Río Actopan

Microorganismos heterótrofos Río Actopan

Monroy-Dosta MC, Castro-Mejía G, Ciprés-Chávez, Hernández-Sánchez A, Reyes-Ruiz AN, Castro-Mejía J y Ramirez-Tórres JA.

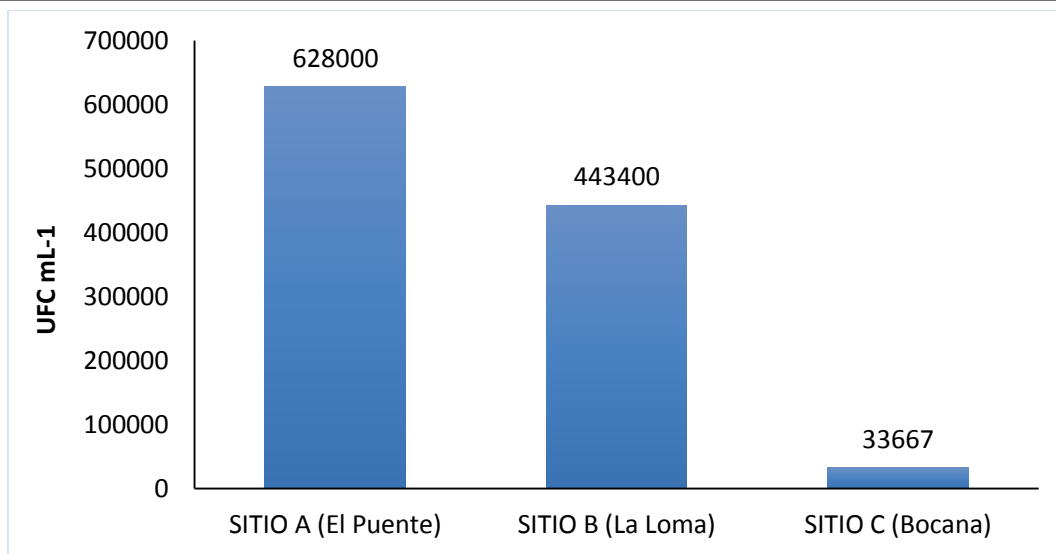


Fig. 3.- Abundancia (cel mL⁻¹) de bacterias heterótrofas aisladas en cada zona de estudio.

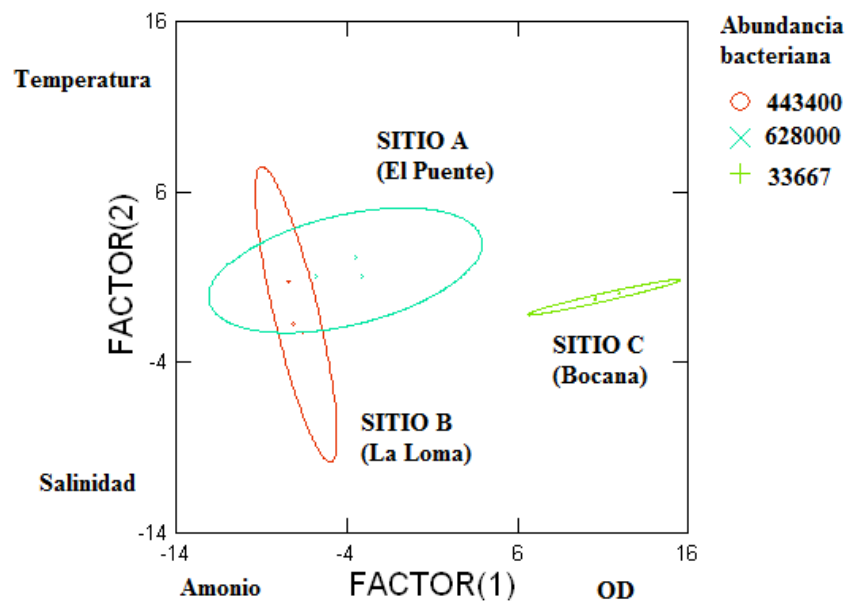


Fig. 4. Análisis discriminantes de las variables abióticas con respecto a la abundancia bacteriana entre las estaciones de muestreo del río Actopan.

Microorganismos heterótrofos Río Actopan

Monroy-Dosta MC, Castro-Mejía G, Ciprés-Chávez, Hernández-Sánchez A, Reyes-Ruiz AN, Castro-Mejía J y Ramirez-Tórres JA.

comparación con la zona C (Bocana) que presentó solo 33.667×10^6 UFC mL⁻¹ (Fig. 3).

Con relación a las especies identificadas se observó una mayor diversidad en la zona B, donde las especies dominantes se encuentran dentro del género *Bacillus*, en la zona C solo se identificaron en su mayoría representantes del género *Vibrio* (Tabla 1).

Tabla 1. Especies heterótrofas identificadas en las zonas de estudio.

Zona	Microorganismos heterótrofos	Grupo funcional
A	<i>Nitrospira sp</i>	Nitrificante
	<i>Pseudomonas cepacea</i>	Quitinolítica
	<i>Cytophaga spp.</i>	Celulolítica
	<i>Bacillus. luteus</i>	Nitrificante
B	<i>Pseudomona cepacea</i>	Nitroficante
	<i>Cytophaga spp.</i>	Celulolíticas
	<i>Candida utilis</i>	Alminolitica
	<i>Bacillus brevis,</i>	Nitrificante
	<i>Bacillus pumillus</i>	Quitinolíticas
C	<i>Bacillus luteus</i>	Nitrificante
	<i>Vibrio spp</i>	Celulolíticas
	<i>Vibrio harveyi</i>	Quitinolíticos

Al realizar el análisis de varianza entre los valores obtenidos de la abundancia de bacterias con cada una de las variables abióticas, se observa en la tabla... que la temperatura, salinidad, el oxígeno disuelto, nitritos, amonio y fosfatos marcan diferencias significativas (P<0.05) (Tabla 2.).

Al aplicar el análisis discriminante, se observó que las variables de oxígeno disuelto y temperatura las discrimina de manera positiva y las variables amonio y salinidad de forma negativa. Como se observa en la Fig. 4, la salinidad y el amonio agrupa a las estaciones que se encuentran río arriba; los niveles de oxígeno, salinidad y amonio separan la estación Bocana con respecto a las otras dos.

DISCUSIÓN

Como resultado de este estudio se puede establecer que las zonas del puente Úrsulo Galván y La Loma San Rafael, son las zonas con un mayor aporte de contaminantes ya que se obtuvieron mayores abundancias de bacterias heterótrofas y donde se identificaron a los cinco grupos funcionales: celulolíticas, gelatinasas, almidolíticas, nitrificantes y quitinolíticas; siendo los de mayor presencia el grupo degradador de celulosa, gelatinasa y de nitrógeno y se relaciona con la presencia de bacterias del género *Pseudomonas* ya que como

Tabla 2. Análisis de varianza entre la abundancia bacteriana y las variables abióticas en las tres zonas de muestreo.

	Turbidez	Temperatura	Salinidad	OD	Nitratos	Nitritos	Amonio	Fosfatos
Abundancia bacteriana	0.288	0.017*	0.0001*	0.0001*	0.312	0.0001*	0.001*	0.0001*

* valores significativos (P<0.05)

Microorganismos heterótrofos Río Actopan

Monroy-Dosta MC, Castro-Mejía G, Ciprés-Chávez, Hernández-Sánchez A, Reyes-Ruiz AN, Castro-Mejía J y Ramirez-Tórres JA.

lo menciona Alvarado (2012), éste género bacteriano tiene la capacidad de degradar una gran variedad de compuestos tóxicos (celulosa, Almidón, fenoles clorados, phenoxyacetatos, contenidos en pesticidas), siendo dichas bacterias comúnmente utilizadas para la biorremediación. También es importante señalar que en las zonas de estudio el vertido de residuos del ingenio azucarero incrementa la presencia de hidratos de carbono y celulosa al ambiente lo que influye directamente en el incremento de bacterias almidolíticas. Debido a ello la detección en este estudio de bacterias como *Vibrio sp.*, *Cytophaga spp.* y la levadura *C. utilis* ya que de acuerdo con Jiménez *et al.* (1994), estas especies poseen una gran capacidad degradadora de compuestos orgánicos celulósicos que utilizan como única fuente de carbono. Por otra parte Palmerín *et al.* 2011, sugiere que la presencia de estas bacterias se debe principalmente a la presencia de material vegetal fluctuante, e incluso desechos de papel y derivados industriales, que incrementa la masa microbiana heterótrofa. De igual manera, la presencia de *P. damsela* y *Serratia sp.*, sugiere un mayor aporte de detritus, ya que estas tienen la capacidad de degradar quitina formada principalmente por hongos filamentosos o exoesqueletos de artrópodos (Sastoque 2005), y como lo menciona Rheinheimer (1987), la materia orgánica suspendida o disuelta en el agua tiene importante papel como principal fuente de nutrición bacteriana, sobre todo heterótrofa, encontrándose más bacterias desintegradoras de quitina y celulosa adheridas a detritus, que de manera libre, siendo un medio favorable para el óptimo desarrollo de estos microorganismos.

Bacillus luteus estuvo presente en las zonas A y C, aunque de acuerdo a Subhash *et al.* (2014), las bacterias de este género habitan comúnmente en ambientes dulceacuícolas, pueden vivir en condiciones hipersalinas o salobres, lo que sugiere que en la zona estuarina, *B. luteus* puede desarrollarse y reproducirse. Comúnmente los microorganismos pertenecientes al género *Bacillus*, degradan materia orgánica, principalmente carbohidratos, y participan en el ciclo del Nitrógeno, ya que son capaces de fijar el Nitrógeno gaseoso (N₂). Así mismo Castillo *et al.* (2007), mencionan

que algunas bacterias del género *Bacillus* principalmente utilizan el almidón como fuente de energía, sugiriendo que probablemente en la zona estuarina existiera una pequeña cantidad de material vegetal arrastrado por el Río, siendo la única estación donde estuvo presente *B. luteus*.

BIBLIOGRAFÍA

- Alvarado-Castro JA. 2012. Identificación de bacterias heterótrofas de género *Pseudomonas* en dos temporadas climáticas del Lago Catemaco y la Laguna Sontecomapan, Veracruz, México. Tesis de Licenciatura. Departamento El Hombre y su Ambiente. Universidad Autónoma Metropolitana. México.
- Castillo-Vázquez NP, M Ortiz-Caro, GV Nevárez-Moorillón, A Quintero-Ramos, Ma.L Ballinas-Casarrubias, T Siqueiros-Cendón, O Paredes-López y Q Calvillo, Rascón-Cruz. 2007. Caracterización de bacterias degradadoras de celulosa y almidón. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad de Chihuahua. México.
- Chávez M. 2004. Análisis de la Composición de Bacterias Heterótrofas que Habitan los Sedimentos del Golfo de México. Informe final de servicio social. Departamento el Hombre y su Ambiente. Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco. México.
- Cisneros-Delgado ZF. 2010. Caracterización de bacterias heterótrofas en dos ecosistemas lagunares: Catemaco y Sontecomapan, Veracruz en dos temporadas climáticas invierno y primavera del año 2010. Informe final de servicio social. Departamento el Hombre y su Ambiente. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. México.
- Jiménez Madrazo CH, ALR Ramos y JL de la Escosura. 1994. Aislamiento ambiental de *Vibrio colerae* en aguas continentales en la provincia de Sevilla. Rev. Higiéncia Sanitaria Pública 1: 178-196.
- Kirchman DL. 2000. Microbial ecology of the oceans. Segunda edición. Editorial S.I willey. 542 pp.
- Ma.E Miravet, M Lugioyo, S Loza, D Enríquez, Y Delgado, M Carmenate y DMA. Pérez. 2009. Procedimientos para el monitoreo de la calidad ambiental en la zona marina costera a partir de microorganismos. Departamento de Microbiología-Necton. Instituto de Oceanología, CITMA. La Habana, Cuba.

Microorganismos heterótrofos Río Actopan

Monroy-Dosta MC, Castro-Mejía G, Ciprés-Chávez, Hernández-Sánchez A, Reyes-Ruiz AN, Castro-Mejía J y Ramirez-Tórres JA.

Miravet-Regalado Ma.E. 2003. Abundancia, actividad y diversidad de las bacterias heterótrofas en el Golfo de Batabanó y su uso como indicadoras ambientales. Departamento de Biología Marina. Instituto de oceanografía. MCTMA. La Habana, Cuba.

Rheinheimer G. 1987. Microbiología de las aguas. Editorial Acribia. 4ª edición. Zaragoza, España. 106-127 pp.

Sastoque Cala SE. 2005. Aislamiento y selección de microorganismos productores de quitinasas a partir de residuos de concha de camarón con potencial biocontrolador. Facultad de Ciencias. Carrera de

microbiología industrial, agrícola y veterinaria. Pontificia universidad javeriana. Bogotá, D.C.

Torres Ma.deR y F Bernal. 1985. Caracterización de la Biota Microbiana en la Zona Pantanosa del Bajo Rio Coatzacoalcos, Veracruz, México. Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa, México.

Villanueva SF y AV Botello. 1992. Metales pesados en la zona costera del Golfo de México y Caribe Mexicano: Una revisión. Laboratorio de Contaminación Marina. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología. UNAM. México.

Microorganismos heterótrofos Río Actopan

Monroy-Dosta MC, Castro-Mejía G, Ciprés-Chávez, Hernández-Sánchez A, Reyes-Ruiz AN, Castro-Mejía J y Ramirez-Tórres JA.