



**EDUCACIÓN**  
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA

TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE BOCA DEL RÍO

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

**BACTERIAS SULFATO-REDUCTORAS COMO INDICADORAS  
DE CONTAMINACIÓN EN SEDIMENTOS DE LOS PANTANOS  
DE MACUSPANA, TABASCO.**

**TESIS**

**QUE COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS EN INGENIERÍA AMBIENTAL**

**PRESENTA:**

**I.B.Q. FÁTIMA JAEL OLVERA MUÑOZ**

**DIRECTOR DE TESIS:**

**M.C. CHRISTIAN REYES VELÁZQUEZ**

**CO-DIRECTOR:**

**DRA. MARÍA DEL REFUGIO CASTAÑEDA CHÁVEZ**

**ASESORES:**

**DRA. MAGNOLIA GRICEL SALCEDO GARDUÑO**

**MC. ROSA ELENA ZAMUDIO ALEMÁN**

**NOVIEMBRE 2021**

**BOCA DEL RÍO, VERACRUZ,**



**ACTA DE REVISIÓN DE TESIS**

Número Registro: **A-01003-070120**

En la ciudad de Boca del Río, Ver., siendo las 10:00 horas del día 05 del mes de noviembre de 2021 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Consejo del Posgrado de la Maestría en Ciencias en Ingeniería Ambiental del ITBOCA, para examinar la Tesis de Grado titulada:

**"BACTERIAS SULFATO-REDUCTORAS COMO INDICADORAS DE CONTAMINACIÓN EN SEDIMENTOS DE LOS PANTANOS DE MACUSPANA, TABASCO"**

Que presenta el (la) alumno(a):

**FÁTIMA JAEL OLVERA MUÑOZ**

Aspirante al Grado de:

**Maestro en Ciencias en Ingeniería Ambiental**

Después de escuchar las opiniones sobre el documento escrito e intercambiar puntos de vista, los miembros de la Comisión manifestaron SU APROBACIÓN, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes para su defensa ante el jurado correspondiente.

**LA COMISIÓN REVISORA:**

**M.C. CHRISTIAN REYES VELÁZQUEZ**  
Director

**DRA. MARIA DEL REFUGIO CASTAÑEDA  
CHAVEZ**  
Co-Director

**DRA. MAGNOLIA GRISEL SALCEDO GARDUÑO**  
Asesor

**M.C. ROSA ELENA ZAMUDIO ALEMÁN**  
Asesor





Instituto Tecnológico de Boca del Río  
Departamento de División de Estudios de Posgrado e Investigación

**Boca del Río, Ver 29/OCTUBRE/2021**

**ASUNTO: AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN**

**FÁTIMA JAEL OLVERA MUÑOZ  
PASANTE DEL PROGRAMA MAESTRÍA EN  
CIENCIAS EN INGENIERÍA AMBIENTAL  
PRESENTE**

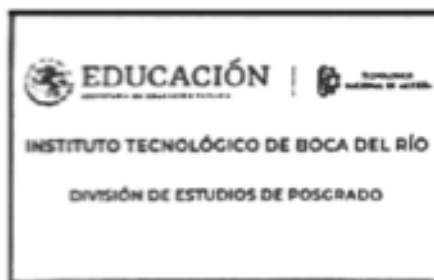
De acuerdo con el fallo emitido por los integrantes del Comité Revisor de la **TESIS PARA OBTENCIÓN DE GRADO**, desarrollada por usted cuyo título es:

**"BACTERIAS SULFATO-REDUCTORAS COMO INDICADORAS DE CONTAMINACIÓN EN SEDIMENTOS DE LOS PANTANOS DE MACUSPANA, TABASCO"**

Esta División de Estudios de Posgrado e Investigación le concede **AUTORIZACIÓN** para que proceda a su impresión.

**ATENTAMENTE**  
*Excelencia en Educación Tecnológica®  
Por nuestros mares responderemos*

**DR. JUAN DAVID GARAY MARIN  
JEFE DE LA DIVISION DE ESTUDIOS DE  
POSGRADO E INVESTIGACIÓN**



c.c.p. Coordinación del Programa MCIAMB  
c.c.p. Expediente



Km. 12 Carr. Veracruz-Córdoba, Boca del Río, Ver.  
C.P. 94290. Tel. (229) 690 5010 ext. 102  
dir01\_bdelrio@tecnm.mx  
tecnm.mx | bdelrio.tecnm.mx





Instituto Tecnológico de Boca del Río  
Departamento de División de Estudios de Posgrado e Investigación

Boca del Río, Ver., 05/NOVIEMBRE/2021  
Asunto: CONSTANCIA DE  
NO INCONVENIENCIA

**LIC. ANA OLIVIA AVENDAÑO CHINCOYA**  
**JEFA DEL DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES**  
**Presente.**

**AT'N. LIC. SONIA CONCEPCIÓN SOLÍS SOLÍS**  
**GESTOR DE TITULACIÓN**  
**Presente.**

Por medio del presente, me permito hacer constar que el(a) candidato(a) a Maestro en Ciencias en Ingeniería Ambiental C. FÁTIMA JAEL OLVERA MUÑOZ, de la generación agosto 2019 – julio 2021 con número de control 19990512, cumplió con todos los requisitos para su liberación como tesista, mismos que incluyen la presentación del manuscrito final de tesis autorizado por su director de tesis M.C. CHRISTIAN REYES VELÁZQUEZ, y él envío del artículo derivado de su tesis de grado a una revista indexada.

Por lo anterior no tengo inconveniente en que realice los trámites correspondientes para el acto recepcional para la obtención del grado de Maestro en Ciencias, en la fecha y hora que defina el candidato con su Director de tesis.

Sin otro particular y para los fines legales que corresponda, quedo de usted.

**ATENTAMENTE**

*Excelencia en Educación Tecnológica®*  
*Por nuestros mares responderemos*

Vo.Bo.

**DR. JUAN DAVID GARAY MARIN**  
**JEFE DE LA DIVISION DE ESTUDIOS DE**  
**POSGRADO E INVESTIGACIÓN**

**M.C. CHRISTIAN REYES VELÁZQUEZ**  
**DIRECTOR DE TESIS**





Boca del Río, Veracruz, 17/julio/2021  
Asunto: **CESION DE DERECHOS Y NO PLAGIO**

**H. CONSEJO DE POSGRADO**  
**PROGRAMA DE POSGRADO MAESTRIA EN CIENCIAS EN INGENIERIA AMBIENTAL**  
**TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO/ INSTITUTO TECNOLÓGICO DE BOCA DEL RÍO**  
**PRESENTE**

En la Ciudad de Veracruz, Veracruz a los 17 días del mes Julio del año 2021. El que suscribe FÁTIMA JAEL OLVERA MUÑOZ por mi propio derecho y en calidad de autor de la tesis titulada: "BACTERIAS SULFATO REDUCTORAS COMO INDICADORAS DE CONTAMINACIÓN EN SEDIMENTOS DE LOS PANTANOS DE MACUSPANA, TABASCO." en lo sucesivo la "TESIS") manifiesto que cedo a título gratuito la totalidad de los derechos patrimoniales de autor que sobre ella me corresponden, a favor del Tecnológico Nacional de México (en lo sucesivo el "TecNM"). Lo anterior en términos de los antecedentes y consideraciones siguientes:

- I. Que la presente cesión de derechos de la "TESIS" se transfiera en virtud de lo estipulado en los establecido en los Lineamientos para la Operación de los Estudios de Posgrado en el Tecnológico Nacional de México, sin reservarme acción legal de ningún tipo.
- II. Manifiesto bajo protesta de decir verdad, que la "TESIS" es original, inédita y propia, no existiendo impedimento de ninguna naturaleza para la cesión de derechos que se está haciendo, respondiendo además por cualquier acción de reivindicación, plagio u otra clase de reclamación que al respecto pudiera sobrevenir.
- III. Que la titularidad de derechos de autor de la "TESIS" en términos del artículo 27 de la Ley Federal del Derecho de Autor (reproducción, en todas sus modalidades, transformación o adaptación, comunicación pública, distribución y en general cualquier tipo de explotación que de la "TESIS" se pueda realizar por cualquier medio conocido o por conocer, son propiedad única y exclusiva del "TecNM", adquiriendo el derecho de reproducción en todas sus modalidades, el derecho de transformación o adaptación, comunicación pública, distribución y en general cualquier tipo de uso que de la "TESIS" se pueda realizar por cualquier medio conocido o por conocer. La cesión de derechos se realiza con carácter permanente e irrevocable.
- IV. El TecNM podrá exhibir la "TESIS" a través de cualquier medio, en cualquier parte del mundo, incluso ser modificada, comprendida, traducida y de cualquier forma explotada en su totalidad o parcialidad.
- V. Que no he otorgado, ni otorgaré por ningún motivo, consentimiento alguno para la utilización de la "TESIS" por cualquier medio y su materialización en productos o servicios de cualquier naturaleza, a favor de ninguna persona física o moral, distinta a el "TecNM".
- VI. Estoy enterado del contenido y alcance legal de la presente cesión de derechos, firmando al final del presente documento para su certificación.

Señalo como correo electrónico para recibir futuras notificaciones: fatimajael@hotmail.com.

Agradeciendo de antemano sus atenciones, le envío un cordial saludo

**ATENTAMENTE**

**Fátima Jael Olvera Muñoz**

NOMBRE Y FIRMA DEL ESTUDIANTE DE POSGRADO

c.c.p. Archivo





## **AGRADECIMIENTOS**

En primera instancia, agradezco al cuerpo académico de la División de Estudios y Posgrados de Investigación del Instituto Tecnológico de Boca del Río, por brindarme la oportunidad de desarrollar mis competencias en el ámbito de investigación.

Al M.C. Christian Reyez Velázquez por su asesoría y disposición en el desarrollo del presente proyecto de investigación y, de igual manera, a las Dras. María del Refugio Castañeda Chávez y Magnolia Salcedo Garduño por su disposición, observaciones y recomendaciones.

Al CONACYT por el apoyo económico brindado durante la realización de este proyecto.

Al Tecnológico Nacional de México como a sus docentes en el camino, por haber contribuido en mi formación, así como en mis estudios de licenciatura y posgrado.

Gracias por el apoyo brindado a todos los alumnos, compañeros y docentes del Laboratorio de Investigaciones y Recursos Acuáticos LIRA, por aportarme conocimientos y experiencias en estos años. Así como también, agradezco el apoyo y palabras de aliento de mis compañeros de generación.

<b>ÍNDICE</b>	<b>PÁGINA</b>
ÍNDICE DE FIGURAS.....	9
ÍNDICE DE TABLAS.....	11
ÍNDICE DE ABREVIATURAS.....	12
RESUMEN.....	13
ABSTRACT.....	14
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>15</b>
<b>2. ANTECEDENTES.....</b>	<b>17</b>
<b>3. MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>18</b>
<b>3.1 Ecosistemas Acuáticos.....</b>	<b>18</b>
<b>3.2 Indicadores de Contaminación en Sedimentos.....</b>	<b>19</b>
<b>3.3 Bacterias Sulfato-Reductoras.....</b>	<b>20</b>
<b>3.4 Bioquímica de Reducción.....</b>	<b>21</b>
<b>3.5 Tecnologías Emergentes.....</b>	<b>22</b>
<b>4. JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>25</b>
<b>5. OBJETIVOS.....</b>	<b>26</b>
<b>5.1 General.....</b>	<b>26</b>
<b>5.2 Particulares.....</b>	<b>26</b>
<b>6. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>27</b>
<b>6.1 Área de Estudio.....</b>	<b>27</b>
<b>6.2 Tipo de Investigación.....</b>	<b>29</b>
<b>6.3 Metodología.....</b>	<b>30</b>
<b>6.3.1 Tamaño de Muestra.....</b>	<b>30</b>
<b>6.3.2 Selección de Sitios de Muestreo.....</b>	<b>31</b>
<b>6.3.3 Métodos e Instrumentos de Recolección.....</b>	<b>34</b>
<b>6.3.4 Desarrollo Experimental.....</b>	<b>33</b>



6.3.5 Técnicas de Análisis de Datos .....	40
7. RESULTADOS.....	41
8. DISCUSIÓN .....	79
9. CONCLUSIÓN.....	80
10. REFERENCIAS.....	81

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Descripción	Página
1	Ciclo de azufre .....	24
2	Ubicación del estado de Tabasco.....	27
3	Ubicación de Macuspana, hidrología y Reserva de la Biosfera Pantanos de Centla.....	28
4	Diagrama metodológico de bloques.....	30
5	Sitios de muestreo.....	32
6	Pesaje de sedimento.....	41
7	Pesaje de sales.....	41
8	Agua destilada esterilizada.....	41
9	Disolución de sales.....	41
10	Materiales para la columna Winogradsky.....	42
11	Sedimento y fuente de carbono.....	42
12	Columnas ensambladas temporada de lluvia y estiaje.....	42
13	Pozo Cabo 4; 24 sept.....	43
14	Pozo Cabo 4; 28 sept.....	43
15	Arroyo Salida; 24 sept.....	46
16	Arroyo Salida; 28 sept.....	46
17	Arroyo Bifurcación; 24 sept.....	49
18	Arroyo Bifurcación; 28 sept.....	49
19	Arroyo Boca; 28 sept.....	52
20	Arroyo Boca; 1 oct.....	52
21	Hormiguero; 28 sept.....	55
22	Hormiguero; 1 oct.....	55

23	Chipote; 28 sept.....	58
24	Chipote; 1 oct.....	58
25	Quemador; 28 sept.....	61
26	Quemador; 1 oct.....	61
27	Naranjos; 28 sept.....	64
28	Naranjos; 1 oct.....	64
29	Patrones de solución.....	67
30	Curva de calibración.....	67
31	Toma de muestra.....	68
32	Materiales.....	69
33	Diluciones.....	68
34	Materiales UV-VIS.....	68
35	Preparación de muestra.....	68
36	Espectrofotómetro UV-VIS.....	69
37	Preparación de la muestra.....	69
38	Toma de lectura.....	69
39	Variación en las concentraciones de la T1.....	70
40	Variación en las concentraciones de la T2.....	70
41	Variación en los resultados de pH.....	71
42	Determinación de pH.....	72
43	Histograma de normalidad.....	74
44	Diagrama de cajas y bigotes sitios.....	75
45	Diagrama de cajas y bigotes temporadas.....	77

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla</b>	<b>Descripción</b>	<b>Página</b>
1	Tipos de ecosistemas acuáticos costeros.....	18
2	Reacción e interpretación del metabolismo sulfato-reductor.....	23
3	Sitios de muestreo.....	31
4	Períodos de muestreo por temporada .....	32
5	Evidencia fotográfica de prueba piloto.....	35
6	Datos del desarrollo experimental.....	37
7	Periodos.....	38
8	Pozo Cabo 4.....	44
9	Arroyo Salida.....	47
10	Arroyo Bifurcación.....	50
11	Arroyo Boca.....	53
12	Hormiguero.....	56
13	Chipote.....	59
14	Quemador.....	62
15	Naranjos.....	65
16	Concentración de sulfatos promedio.....	69
17	Resultados de pH promedio.....	71
18	Estadística descriptiva de los datos.....	73
19	Prueba de Levene.....	73
20	Resultados de los sitios de muestreo.....	76
21	Resultados de las temporadas de muestreo.....	77

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

<b>Abreviatura</b>	<b>Concepto</b>
HC	Hidrocarburos
MOO	Microorganismos
ASR	Actividad sulfato-reductora
BHCC's	Bacterias hidrocarbonoclastas
BSR	Bacterias sulfato-reductoras
pH	Potencial de hidrógeno
°C	Temperatura en grados centígrados
ATP	Adenosín trifosfato
APS	Adenosín fosfosulfato
PPi	Pirofosfato inorgánico
AMP	Adenosín monofosfato
PAPS	Fosfoadenosín fosfosulfato
ha	Hectáreas
km <sup>2</sup>	Área, kilómetros cuadrados
g	Peso, gramos
cm	Longitud, centímetros
ml	Volumen, mililitros
PE	Polietileno
LIRA	Laboratorio de Investigación de Recursos Acuáticos

## RESUMEN

### **Bacterias sulfato-reductoras como indicadores de contaminación en sedimentos de los pantanos de Macuspana, Tabasco.**

**Palabras clave:** bacterias sulfato-reductoras, potencial biotecnológico, bioindicador, columnas Winogradsky, Pantanos de Macuspana.

En el estado de Tabasco se encuentra la Reserva de la Biosfera Pantanos de Centla, hábitat de especies registradas en riesgo y locación de sitios arqueológicos. Con base en datos de la Semarnat, esta zona cuenta con 15 áreas de humedales considerados con mayor extensión en el continente americano que comprende un total de 302,706 ha. Además, cuenta con una rica variedad biológica.

Sin embargo, debido a las actividades antropogénicas en el año 2018, se registró un fenómeno ocurrido en la zona de río protegida conocida como “Los Bitzales”, comprendida en los municipios de Centro, Centla y Macuspana. Acciones relacionadas con el sector hidrocarburos, ocasionaron afectaciones a la salud y economía de los habitantes, así como la muerte y deterioro de flora y fauna, en particular de la especie protegida de manatíes.

Debido al deterioro constante de la zona afectada, surge la propia resiliencia ecológica del ecosistema, que consiste en la capacidad del mismo para preservar su estructura y funcionalidad, de esta manera conserva su estado original sin alterar sus características. Por tal motivo, es común encontrar microorganismos presentes en el medio que se encarguen de mantener el equilibrio, debido a esto es frecuente la presencia de bacterias sulfato-reductoras.

Las bacterias sulfato-reductoras son microorganismos anaerobios que en su metabolismo reducen los sulfatos a sulfuros de hidrógeno y al combinarse con metales pesados logran precipitarlos del medio. Su fundamento bioquímico, se basa en las reacciones óxido-reducción que se producen en la cadena respiratoria o transportadora de electrones de las células, cuyo fin es la obtención de energía.

Al identificar la actividad sulfato-reductora en el medio se considera la presencia de bacterias con esta capacidad, por lo tanto, la abundancia de su fuente de nutrientes.

Es por lo anterior que el presente proyecto de investigación propone determinar la influencia espacio-temporal de la actividad sulfato-reductora y su posible potencial como indicadores de contaminación en sedimentos de los Pantanos de Macuspana, Tabasco.

## ABSTRACT

### **Sulfate-reducing bacteria as indicators of contamination in sediments of the Macuspana swamps, Tabasco.**

**Key words:** sulfate-reducing bacteria, biotechnological potential, bioindicator, Winogradsky columns, Macuspana swamps

In Tabasco is located the Reserva de la Biosfera Pantanos de Centla, habitat of registered species at risk and location of archaeological sites. Based on Semarnat data, this location has 15 wetland areas with the greatest extent in the American continent, which comprises a total of 302,706 ha. In addition, it has a rich biological variety.

However, due to anthropogenic activities in 2018, a phenomenon occurred in the protected river area known as “Los Bitzales”, included in the municipalities of Centro, Centla and Macuspana. Actions related to the hydrocarbon sector affected the health and economy of the inhabitants, as well as the death and risk of flora and fauna, particularly the protected species of manatees.

Due to the constant risk of the affected area, the ecological resistance of the ecosystem arises, which consists in its capacity to preserve its structure and functionality, thus preserving its original state without altering its characteristics. For this reason, it is common to find microorganisms present in the environment that are responsible for maintaining balance, since the presence of sulfate-reducing bacteria is frequent.

Sulfate-reducing bacteria are anaerobic microorganisms that in their metabolism, reduce sulfates to hydrogen sulphides and when combined with heavy metals, they manage to precipitate and separating them from the medium. Its biochemical foundation is based on the oxide-reduction reactions that take place in the respiratory or electron transport chain of cells, whose purpose is to obtain energy.

When identifying the sulfate-reducing activity in the medium, the presence of bacteria with this capacity is considered, therefore, the abundance of its source of nutrients.

For this reason, this research project proposes to determine the spatio-temporal influence of sulfate-reducing activity and its potential as indicators of contamination in sediments of the Macuspana swamps, Tabasco.

## 1. INTRODUCCIÓN

El municipio de Macuspana se encuentra en la región del Usumacinta, en la zona de los pantanos en el estado de Tabasco. Colinda con los municipios de Centro, Central, Jonuta, Jalapa y Tacotalpa (Gobierno de Tabasco, 2019).

Con base en datos obtenidos de la Secretaría de Educación Pública (2019), dentro de las principales actividades económicas realizadas en el municipio de Macuspana se encuentran: la fabricación de productos a base de minerales no metálicos, la industria química, minera y, la extracción de petróleo y gas.

Los modelos que rigen actualmente este desarrollo económico ocasionan el deterioro de los ecosistemas, de modo que, perjudican el equilibrio entre los procesos biofísicos y humanos (Menchaca y Alvarado, 2011) originando un impacto antropogénico.

Como resultado, se obtiene, la pérdida y alteración de ecosistemas, pérdida de biodiversidad, contaminación del agua, suelo y aire, disminución de la disponibilidad de agua (SEMARNAT, 2008) e incluso, daños en la salud de los seres humanos (Santiago, 2018).

Sirva de ejemplo, el fenómeno ocurrido en la zona de río protegida conocida como Los Bitzales, comprendida en los municipios de Centro, Centla y Macuspana, Tabasco, en el año 2018. Éste fenómeno se suscitó a causa de actividades relacionadas con el sector relacionado al uso de hidrocarburos (HC), lo que ocasiona afectaciones a la salud y economía de los habitantes, así como la muerte y deterioro de flora y fauna, en particular de la especie protegida de manatíes (Senado de la República, 2018).

Por tal motivo, se genera la necesidad de buscar métodos de evaluación del estado ambiental de los ecosistemas que sean precisos, económicos, fáciles de implementar y que permitan la detección de perturbaciones ambientales que pongan en peligro la biodiversidad, la salud humana, el tiempo y el costo económico, esto mediante el uso de bioindicadores.

Así mismo, se definen a las especies indicadoras como “aquellas que por sus características como sensibilidad a las perturbaciones ambientales, distribución, abundancia, dispersión, éxito reproductivo, etc., pueden ser usadas como estimadoras del estatus de otras especies o condiciones ambientales de interés”. Se consideran particulares de muestras sedimentarias en los ecosistemas y de acuerdo a su concentración pueden referenciar la presencia de determinados contaminantes como: metales pesados, pesticidas, HC (González, *et al.*, 2014) y drenajes mineros ácidos (Sacaca, *et al.*, 2009), por lo tanto se estiman con uso potencial biotecnológico para la realización de métodos de evaluación del impacto antropogénico.

La biota bacteriana considerada con uso potencial en biorremediación de sistemas acuáticos, son los microorganismos (MOO) naturales existentes en el medio, estos se encargan de descomponer o degradar sustancias peligrosas a otras de carácter menos tóxico para el ambiente y la salud humana (Arroyo y Quesada, 2013).

De acuerdo con Arroyo y Quesada (2013), el fundamento bioquímico de los MOO sulfato-reductores (SR), se basa en las reacciones de óxido-reducción que se producen en la cadena respiratoria o transportadora de electrones de las células, cuyo fin es la obtención de energía.

La cadena inicia con un sustrato orgánico externo al MOO que actúa como dador de electrones, de modo que, la actividad metabólica de la célula degrada y consume dicha sustancia. Los aceptores más utilizados por los MOO son el oxígeno, nitratos, hierro, sulfatos y dióxido de carbono.

Al utilizar el oxígeno la respiración microbiana se produce en condiciones aerobias, sin embargo, si utiliza los sulfatos o dióxido de carbono la respiración se producirá en condiciones anaerobias.

De ésta manera, las bacterias sulfato reductoras (BSR), reducen el sulfato hasta sulfuro de hidrógeno en condiciones anaerobias. Posteriormente, éste se combina con metales pesados precipitándolos como sales de sulfuro dando como resultado la reducción de la acidez del agua mediante la formación de bicarbonato por la oxidación de compuestos orgánicos y a su vez, precipitan los metales pesados disueltos (Sacaca, *et al.*, 2009).



Dicho de otra manera, la importancia de la biorremediación en los ecosistemas mediante el uso de BSR, radica en la disminución porcentual del contaminante presente y por consecuencia, la reducción del impacto ambiental ocasionado por las actividades antropogénicas (Narváez-Flórez, *et al.*, 2008).

Por consiguiente, éste proyecto de investigación propone el uso de BSR como indicadores de contaminación en sedimentos de los Pantanos de Macuspana, Tabasco, así como el establecer la influencia del sitio y la temporada para su muestreo.

## **2. ANTECEDENTES**

La contaminación de suelos y cuerpos de agua es un problema ambiental común en México y el mundo, por lo que es importante el estudio de bacterio biota con potencial de biorremediación (Sacaca, 2009).

En la literatura, diversos autores han relacionado la precipitación de sulfatos y metales pesados con microorganismos como las BSR, en donde, a través de su metabolismo logran la reducción del contaminante presente en el medio.

Estudios publicados por Soledad (2006); Gutierrez *et al.* (2009); Méndez (2010); Juárez (2006); Neria (1998); Gelvez (2008); Sacaca (2009); Duque (2015) y Andrade (2010), demuestran que las BSR juegan un rol importante en los ciclos biogeoquímicos, principalmente en el ciclo de azufre, en donde reducen el sulfato a sulfuro de hidrógeno que a su vez, se combina con los metales pesados precipitándolos.

### 3. MARCO TEÓRICO

#### 3.1 Ecosistemas acuáticos

Los ecosistemas acuáticos epicontinentales se definen como todas aquellas aguas superficiales que se distribuyen en los continentes. Existen de tipo lótico y léntico, los primeros se caracterizan por ser aguas fluviales en constante movimiento, por otro lado, los lénticos abarcan aguas terrestres estancadas (Cervantes, 2018; López, s.f.). Dentro de esta clasificación de ecosistemas acuáticos, existen los costeros que se definen a todos aquellos cuerpos de agua que se encuentran en la zona litoral, manteniendo una comunicación permanente o temporal con el mar y que pueden o no, estar conectados a sistemas dulceacuícolas. Se consideran dentro de este tipo los siguientes definidos en la siguiente tabla.

Tabla 1. Tipos de ecosistemas acuáticos costeros.

Tipo	Definición
Marismas	Terreno localizado a orillas del mar que se encuentra inundado por mareas y sus sobrantes, o por el encuentro de las aguas marinas con la desembocadura de los ríos.
Laguna Costera	Es una depresión de la zona costera que tiene una comunicación permanente protegida de las fuerzas del mar por una barrera paralela a la línea de costa.
Estero	Se denomina así a un cuerpo de agua formado en un canal natural o en antiguos brazos de un delta de río cerrado. Alterna sus períodos de estancamiento y circulación determinados por la marea.
Estuario	Es un cuerpo de agua semicerrado, con una conexión libre con el mar, dentro del cual el agua de mar se diluye con el agua dulce del drenaje terrestre.

Fuente: elaboración propia mediante información documental de Cervantes (1994)

La presente propuesta de investigación, considera para su análisis los esteros y lagunas ubicadas en el estado de Tabasco, las cuales en conjunto con albuferas, ríos y arroyos, tienen una superficie de 29,800 ha. Éstas zonas están siendo constantemente impactadas en consecuencia a las actividades antropogénicas realizadas en los alrededores.

Por lo anterior, se deriva que el objetivo principal de conservación de estos ecosistemas, es mantener sus entornos naturales en un estado óptimo de composición de especies nativas, su estructuración, su funcionalidad y sus ciclos ambientales (Sánchez, 2018).

### **3.2 Indicadores de contaminación en sedimentos**

Considerando la literatura de Zuarth y Vallarino (2014), se define a un organismo bioindicador, como una especie o grupo de especies que poseen características ambientales particulares como: sensibilidad a las perturbaciones ambientales, distribución, abundancia, dispersión y éxito reproductivo, con relación a un conjunto de variables físicas o químicas. Estas especies pueden presentar cambios en su presencia y distribución espacial, morfología o conducta cuando las condiciones del sistema ecológico se alteran (Terneus-Jácome y Yánez, 2018; Rosenberg y Resh, 1993).

Los ecosistemas, al sufrir este tipo de modificaciones graduales en sus características físicas y biológicas modelan su identidad. Sin embargo, el impacto de las actividades antropogénicas tales como la fragmentación de los hábitats, la contaminación ambiental y la sobreexplotación de recursos han ocasionado alteraciones drásticas sobre los ecosistemas, lo que impide que los organismos se adapten (Zuarth y Vallarino, 2014).

De forma particular, los ecosistemas acuáticos, ya sean cuerpos de agua continentales, costeros o marinos, presentan características físicas y químicas a las que se les ha denominado con el término calidad de agua. No obstante, dadas las actividades antropogénicas los organismos sensibles se convierten en bioindicadores (De la Lanza y Hernández, 2014).

De la Lanza *et al.*, (2011) afirman que el empleo de bioindicadores en diversos países está enfocado no solo en medir la salud del ecosistema acuático, sino también en determinar el impacto económico de los seres humanos. Por lo tanto, se deben asociar al desarrollo sustentable, mediante programas de monitoreo e indicadores sujetos al avance de su conocimiento. Características como la cantidad y tipo de organismos vivos o muertos, puede ayudar a determinar el grado de impacto al que ha sido sometido un cuerpo de agua.

Metcalfe (1989) enumeró los principales requisitos para el uso de indicadores biológicos: deben ser sensibles y rápidos ante la presencia de distintos contaminantes con una amplia respuesta frente a un variado espectro de clases y grados de estrés. Deben ser ubicuos, abundantes y de fácil muestreo, con un tamaño de muestra adecuado para su determinación en el laboratorio, relativamente sedentarios para reflejar las condiciones locales. Además, los estadios del ciclo vital deben ser suficientemente largos para permitir determinar un registro de la calidad del ambiente.

### **3.3 Bacterias sulfato-reductoras**

Las bacterias sulfato reductoras son microorganismos anaerobios metabólicamente versátiles (Valenzuela, 2015.). Comprenden diversos grupos de bacterias y arqueas que obtienen energía reduciendo compuestos que poseen azufre en su molécula, incluyendo compuestos orgánicos e inorgánicos con azufre oxidado (IVAMI, 2006). Son capaces de formar sulfuros a partir de la reducción de sulfatos, los cuales precipitan con metales presentes en el ecosistema y, de ese modo, pueden ser separados del medio líquido, además del sulfato, las BSR, pueden emplear otros compuestos oxidados de azufre como aceptores finales de electrones, entre ellos sulfitos y tiosulfatos (Vicente, 2006; IVAMI, 2006.).

Se encuentran presentes en ecosistemas acuáticos y terrestres, algunos de los factores ambientales que más influyen en su crecimiento y desarrollo son: la temperatura, el potencial de hidrógeno (pH) y la concentración de  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{O}_2$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Mn}^{4+}$  y  $\text{SO}_4^{2-}$  (Gelvez, *et al.*, 2008).

Con base en la literatura de Vicente (2006) y Gibson (1990), se consideran sus siguientes características:

- De acuerdo a su fisiología, se pueden dividir en tres grupos: gram negativas, positivas y arqueobacterias.
- Llevan a cabo el proceso de reducción desasimilatoria de sulfato, el ion resultante es utilizado como un oxidante para la degradación de una fuente orgánica de carbono.
- Considerando sus características morfológicas pueden identificarse como bacilos, vibrios, cocos, espirilos, entre otros.

- Sus capacidades oxidativas y metabólicas varían de acuerdo al género.
- Requieren ausencia de oxígeno para su crecimiento y un potencial redox bajo, aproximadamente 0 a -100 mV.
- Crecen bajo condiciones leves alcalinas, en un rango de pH entre 7 a 7.8, no obstante, se han reportado BSR capaces de tolerar un pH de 4, y algunas especies en ambientes de 9.5.
- La mayoría de las BSR se consideran mesófilas, es decir, con un crecimiento óptimo en el rango de temperatura de 25 a 40 °C.

### 3.4 Bioquímica de reducción

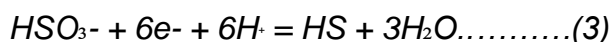
Con base en Parra (2008), la reducción de sulfatos ( $\text{SO}_4^{-2}$ ) a sulfuro de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{S}$ ), ocurre en tres diferentes fases en donde, a causa de las reacciones de óxido-reducción, se reducen ocho electrones para realizar la conversión.

El principio bioquímico de reducción, se basa en que la enzima adenosín trifosfato (ATP) sulfurilasa cataliza la unión del ion sulfato a un fosfato del ATP, originando la formación de adenosín fosfosulfato (APS) y pirofosfato inorgánico Ppi (1). En la desasimilatoria del sulfato, la porción sulfato de la APS se reduce directamente a sulfito ( $\text{SO}_3^{-2}$ ) con la separación de adenosín monofosfato AMP (2).



En la reducción asimilatoria se añade otro fósforo al APS para formar fosfoadenosin fosfosulfato (PAPS), lo que reduce la porción sulfato.

En ambos casos, el primer producto de la reducción del sulfato es el sulfito. Una vez formado el sulfito, las reducciones siguientes se producen con mayor rapidez (3).



Algunos organismos incapaces de llevar a cabo la reducción desasimilatoria de sulfato, son capaces de realizar la reducción desasimilatoria de sulfito, probablemente porque, aunque son capaces de convertir el sulfito a sulfuro hidrógeno, carecen del sistema APS, por tanto, son incapaces de reducir el sulfato a sulfito.

Las BSR realizan un transporte de electrones basado en citocromos, transfiriendo electrones desde la fuente de energía al ion sulfato en el APS y al sulfito. El citocromo de las BSR se caracteriza como "c" electronegativo, llamado citocromo c3. Éste no se encuentra en organismos que utilizan otros aceptores de electrones.

El hidrógeno molecular ( $H_2$ ) generado de algunos donadores de electrones o procedente del medio, transfiere electrones a la enzima hidrogenasa, situada en el periplasma y asociada con el citocromo c3. Cuando los átomos de hidrógeno (H) del  $H_2$  se oxidan, los protones  $H^+$  permanecen fuera de la membrana, mientras que los electrones se transfieren a través de ella generando un gradiente de protones que puede ser usado para la síntesis de ATP.

### **3.5 Tecnologías Emergentes**

Acorde con estudios realizados por la Universidad San Martín (2017) se sabe que, los procesos redox, son los que se consideran como las tecnologías aplicadas a la descontaminación de sistemas contaminados. Éste proceso, consiste en reacciones químicas en las que un agente oxidante produce una oxidación a un agente reductor al captar los electrones que éste libera (Narváez-Flórez, (2008), en general, este tipo de reacciones son aceleradas por microorganismos de manera natural en ecosistemas contaminados, ésta microbiota se puede considerar como bioindicador de la situación actual en la que se encuentre el ecosistema.

Los microindicadores habitan en todos los ecosistemas, siendo una parte importante en la funcionalidad de los mismos.

Por ejemplo, las bacterias y hongos edáficos descomponen la materia orgánica liberando dióxido de carbono y agua, además de energía y nutrientes (Díaz, *et al.*, 2017), caracterizándose por el comportamiento de los microorganismos procedentes de los sistemas contaminados.

Considerando la literatura de Luptakova (2007), la importancia biotecnológica de las BSR radica en las reacciones metabólicas que realizan en el ambiente, mostradas en la Tabla No. 2, así como el impacto económico que tienen en sectores industriales y zonas ecológicas.

Tabla 2. Reacción e interpretación del metabolismo sulfato-reductor.

Reacción	Interpretación
$4 \text{H}_2 + \text{SO}_4^{-2} \rightarrow \text{S}^{-2} + 4 \text{H}_2\text{O}$	Reducción autotrófa de sulfatos. Fuente de energía: hidrógeno gaseoso.
$2 \text{CH}_3\text{CHOHCOO}^- + \text{SO}_4^{-2} \rightarrow 2 \text{CH}_3\text{COO}^- + 2 \text{HCO}_3^- + \text{H}_2\text{S} \dots\dots\dots(\mathbf{a})$	Reducción heterótrofa de sulfatos Fuente de energía: sustancias orgánicas simples
$4 \text{CH}_3\text{COCOONa} + 5 \text{MgSO}_4 \rightarrow 5 \text{MgCO}_3 + 2 \text{Na}_2\text{CO}_3 + 5 \text{H}_2\text{S} + 5\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \dots\dots\dots(\mathbf{b})$	Considerando la oxidación heterótrofa incompleta <b>(a)</b> y la completa <b>(b)</b>
$\text{Me}^{2+} + \text{H}_2\text{S} \rightarrow \text{MeS} + 2\text{H}^+$	En la respiración anaeróbica de BSR, se produce una considerable cantidad de $\text{H}_2\text{S}$ gaseoso, el cual reacciona fácilmente en agua con los cationes de metales pesados formando sulfitos.

Fuente: elaboración propia mediante literatura

Rehm y Reed (1981), dicen que el rol ecológico de las BSR, resulta de su participación en el ciclo biogeoquímico del azufre (Figura 1), en donde ocurren las transformaciones metabólicas asimilatorias o desasimilatorias.

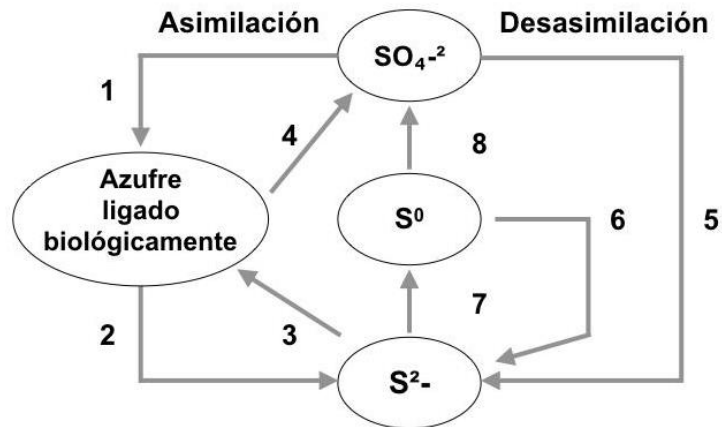


Figura 1. Ciclo del azufre. Fuente: elaboración propia mediante literatura

1. Reducción asimilatoria de sulfato por plantas, hongos y bacterias;
2. Muerte y descomposición por hongos y bacterias;
3. Asimilación de sulfuro por bacterias y plantas;
4. Excreción de sulfato por los animales;
5. Bacterias reductoras de sulfato desasimilatorio;
6. Bacterias desasimiladoras reductoras de azufre;
7. Bacterias oxidantes de sulfuro fototrófico y quimiotrófico;
8. bacterias oxidantes de azufre fototrófico y quimiotrófico.

Cabe destacar que, la mayoría de los organismos, como plantas, hongos y bacterias son capaces de realizar una reducción asimilatoria de sulfato a sulfuro, sin embargo, pocos son los organismos que realizan el metabolismo anaeróbico desasimilatorio del azufre. Éstos grupos incluyen MOO como: Desulfovibrio, Desulfotomaculum, Desulfomonas (Neria, 1998); fototóxicos anaeróbicos oxidantes: Thiobacillus, Sulfolobus, Thiospira y, quimiotróxicos: Thibacillus denitrificans, Thiomicrospira denitrificans, entre otros.

Por lo anterior, se considera que la actividad de las BSR de reducir el sulfato dentro de su metabolismo es parte importante de los procesos bioenergéticos, representando un papel como MOO activo dentro de los ciclos ambientales y las tecnologías industriales (Luptakova, 2007).



#### **4. JUSTIFICACIÓN**

A raíz de las afectaciones ambientales que se han suscitado a causa de las actividades antropogénicas, los bioindicadores de contaminación juegan con un papel sumamente importante para la evaluación de los ecosistemas en donde se encuentran.

Considerando lo mencionado anteriormente, el problema de investigación en el cual se enfoca el presente protocolo de investigación consiste, en la aplicación de métodos de evaluación del estado ambiental de los ecosistemas que sean precisos, económicos, fáciles de implementar y que permitan la detección de perturbaciones ambientales que pongan en peligro la biodiversidad, la salud humana, el tiempo y el costo económico.

Lo anterior, lográndose a través del uso de bioindicadores con potencial biotecnológico en sistemas acuáticos, e identificando, mediante la comparación de resultados, la variación espacio-temporal de la actividad sulfato-reductora en sedimentos procedentes de los sitios de estudio.

Cabe destacar que, en la literatura consultada diversos autores concuerdan en que, uno de los métodos que cumple con las características necesarias para éste tipo de evaluación, es el uso de microorganismos indicadores de contaminación con potencial biotecnológico en biorremediación, dada su aplicación y su uso bioindicador.

Por lo que el presente protocolo de investigación, propone determinar la influencia de las temporadas y los sitios sobre la actividad sulfato-reductora, su posible potencial como indicador de contaminación en sedimentos de los sitios de estudio y, el realizar una identificación bioquímica de las BSR presentes en el análisis de sedimentos.

## **5. OBJETIVOS**

### **5.1 General**

Determinar la influencia de las temporadas y los sitios sobre la actividad sulfato-reductora y su posible potencial como indicador de contaminación en sedimentos de los Pantanos de Macuspana, Tabasco.

### **5.2 Particulares**

- Analizar la actividad sulfato-reductora en sedimentos de los Pantanos de Macuspana.
- Evaluar la variación espacio-temporal de la actividad sulfato-reductora.
- Estimar el uso potencial de las bacterias sulfato-reductoras como indicadoras de contaminación.

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1 Área de Estudio

- Macrolocalización

El área de estudio se encuentra ubicada en el país México, municipio de Macuspana, en el estado Tabasco, ubicado en la región sureste de la República Mexicana sus coordenadas geográficas extremas son: 18°39'03", 17°15'03" de latitud norte y 90°59'15", 94°07'48" de longitud oeste, en donde se asientan sus 17 municipios. Colinda al norte con el Golfo de México y Campeche; al este con Campeche y la República de Guatemala; al sur con Chiapas; al oeste con Veracruz de Ignacio de la Llave (SEMARNAT, 2018).

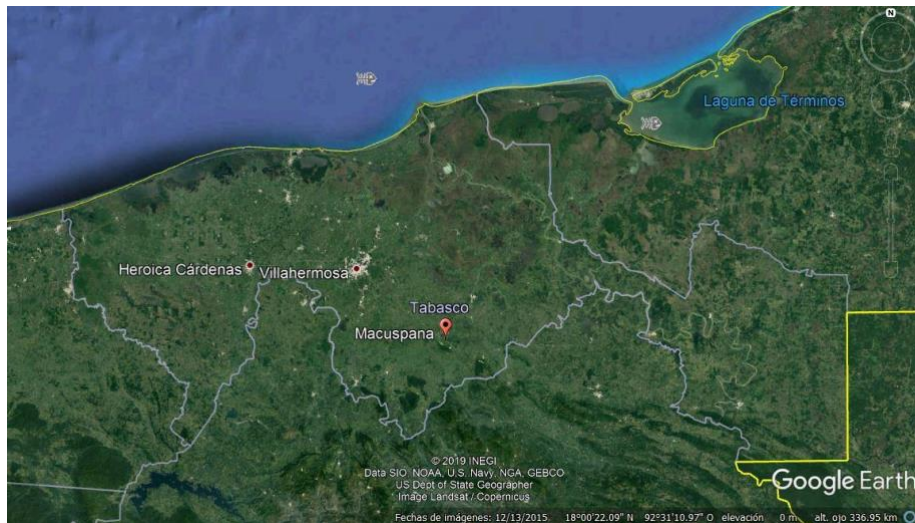


Figura 2. Ubicación de Tabasco

Fuente: Google Earth

- Microlocalización

En la Figura 6, se muestra parte de la Reserva de la Biosfera Pantanos de Centla (RBPC) y el Río Bitzal. La RBPC cuenta con una superficie total de 302, 706 hectáreas (ha) y 6,280 ha que corresponden a Macuspana. Como se observa, se encuentra en color azul verdoso la ubicación de la RBPC y en contraste, de color lila, se observa la superficie de 25.27 km<sup>2</sup> del estado Tabasco (Gobierno del Estado, 2019) y sus municipios en división política, resaltando en color amarillo a Macuspana con 2.437 km<sup>2</sup> de superficie (Gobierno del Estado, 2019). De color azul se observan las ramificaciones en cuanto a la hidrología de la zona.

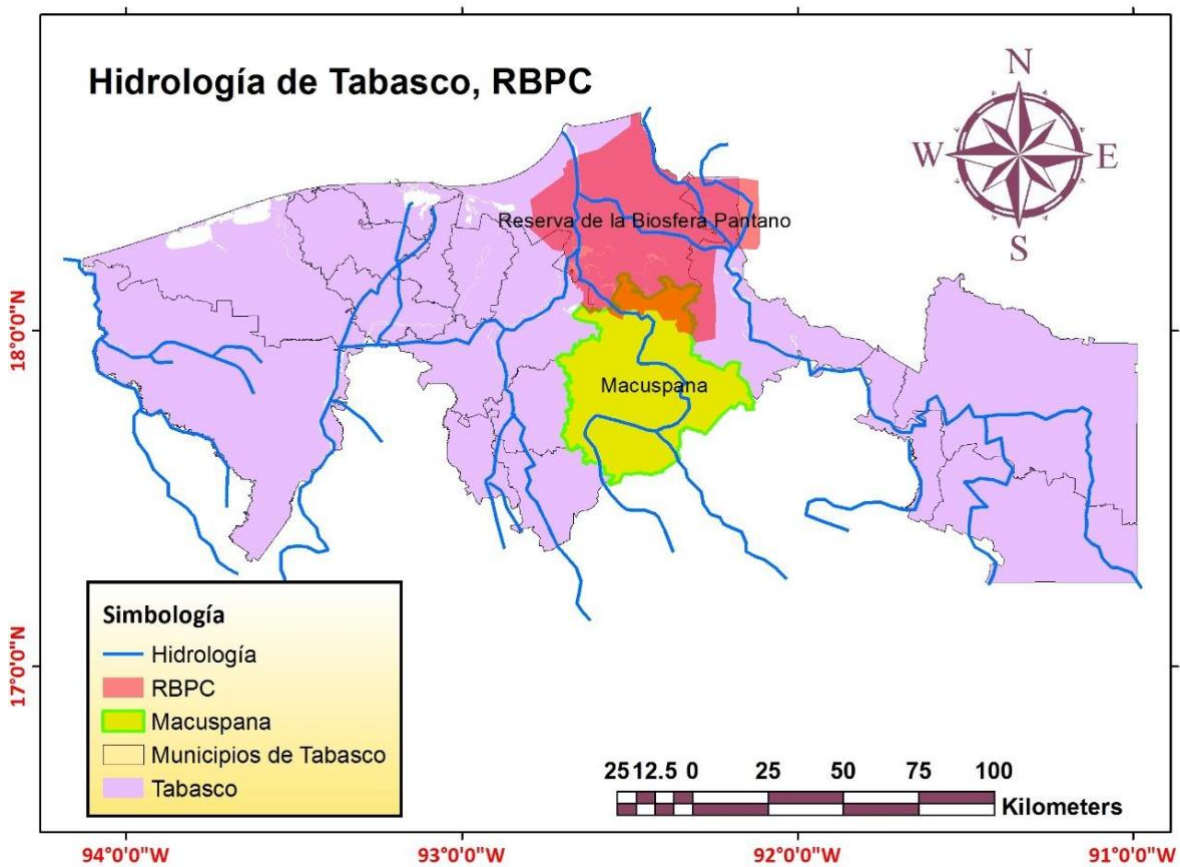


Figura 3. Ubicación de Macuspana, hidrología y RBPC.

Fuente: elaboración propia mediante SIG

## 6.2 Tipo de Investigación

Para definir el tipo de la presente investigación, se consideró la literatura de Monje (2011), la cual nos indica que, la investigación cuantitativa es un proceso sistemático con una metodología específica, como el definir las fases implicadas en la investigación, tales como: fase conceptual, planeación, empírica, analítica y de difusión. Debe realizarse con una estructura lógico-numérica que oriente a la obtención de respuestas adecuadas a los problemas de investigación.

Por otro lado, Rodríguez y García (2011), dicen que la investigación cualitativa plantea que observadores competentes y cualificados puedan informar con objetividad, claridad y precisión acerca de sus propias observaciones, experiencias, opiniones, valores, entre otros.

Además, clasifican cuatro fases para éste tipo de investigación: preparatoria, de campo, analítica e informativa.

Al mismo tiempo, se deben considerar el tipo de variables que se van a utilizar para realizar cada fase de la investigación, ya sea cualitativa o cuantitativa.

Cienfuegos M.A. y Cienfuegos A. (2016), dicen que las variables cualitativas o discretas, presentan sus datos de forma categórica, denotando atributos clasificados en categorías o clases, mientras que, las variables cuantitativas o numéricas se conforman por la experimentación, mediante el uso de operaciones aritméticas y la aplicación de la estadística paramétrica.

Por lo anterior mencionado, se considera que ésta investigación será de tipo cuantitativa y cualitativa. Ya que se tomarán en cuenta tanto variables cualitativas como cuantitativas para la resolución del problema de investigación, desde el diseño de la investigación, metodología, análisis de campo, experimentación, observación, estadística, hasta la obtención y análisis de resultados y, por ultimo, su difusión.

### 6.3 Metodología

Para determinar la influencia de las temporadas y los sitios sobre la actividad sulfato-reductora y su posible uso potencial como indicador de contaminación en sedimentos de los Pantanos de Macuspana, Tabasco, se realizaron las siguientes actividades del diagrama metodológico (Fig. 4).

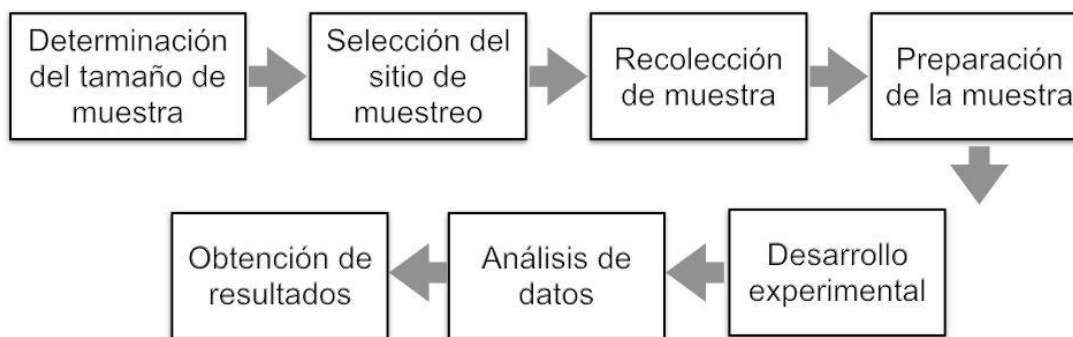


Figura 4. Diagrama metodológico de bloques

Fuente: elaboración propia

#### 6.3.1 Tamaño de Muestra

El tamaño de muestra se determinó considerando la disponibilidad de sedimento para la realización del desarrollo experimental, resultando de 41 a 300 gramos (g) de muestra colectada en sitio, por cada punto de muestreo.

### 6.3.2 Selección de Sitios de Muestreo

En específico, se consideraron nueve sitios para realizar el muestreo. Los puntos se mencionan en la Tabla a continuación.

Tabla No. 3 Sitios de muestreo

ID	Sitio de muestreo	Localización	
		Latitud	Longitud
1	Canal Valencia	18°01'46.90"	-92°35'36.99"
2	Pozo "Cabo 4"	18°03'44.50"	-92°19'48.90"
3	Arroyo El Llano (Salida)	18°05'30.40"	-92°17'56.40"
4	Arroyo El Llano (Bifurcación)	18°04'45.60"	-92°17'22.90"
5	Arroyo El Llano (Boca)	18°05'43.80"	-92°18'12.00"
6	Pozo El Hormiguero	18°04'39.10"	-92°16'60.00"
7	Pozo El Chipote	18°07'11.40"	-92°22'21.70"
8	Pozo Quemador	18°07'13.80"	-92°23'18.80"
9	Naranjos	18°07'35.60"	-92°19'17.30"

Fuente: elaboración propia

Por otra parte, la ubicación de los puntos de muestreo se observan en la siguiente Figura.



Figura 5. Sitios de muestreo

Fuente: elaboración propia mediante SIG

De igual manera, para realizar la variación de las condiciones en la actividad sulfato-reductora de sedimentos, se realizará una comparación entre los sitios anteriormente mencionados y las siguientes temporadas.

Tabla No. 4 Períodos de muestreo por temporada

Temporada	Período (mes)
Estiaje	Noviembre-Mayo
Lluvia	Junio-Octubre

Fuente: Coras-Merino, *et al.*, 2005



### 6.3.3 Métodos e Instrumentos de Recolección

Para la recolección de muestras, se consideraron los criterios establecidos en el Anteproyecto de Norma Mexicana PROY-NMX-AA-121-SCFI-2005, que delimita “Aguas naturales epicontinentales, costeras y marinas - muestreo”.

De cada sitio se recolectó una muestra de 1000 g, es decir, 9000 g en total, considerando de 10 a 20 centímetros (cm) de profundidad para cada sitio. Las muestras fueron almacenadas en bolsas de polietileno (PE) y etiquetadas según corresponda con los siguientes datos: fecha, hora, localidad, muestreador, coordenadas, colector y observaciones. Posteriormente, fueron nuevamente almacenadas en bolsas de plástico color negro, evitando así la fotodegradación de los componentes. Para su transporte al Instituto Tecnológico de Boca del Río, Laboratorio de Investigación de Recursos Acuáticos (LIRA) fueron retenidas en una hielera a una temperatura de 4°C.

### 6.3.4 Desarrollo experimental

- Objetivo 1. Analizar la actividad sulfato-reductora en sedimentos de los Pantanos de Macuspana.

La actividad sulfato-reductora se determinó mediante la aplicación del método de Winogradsky. Para su desarrollo se utilizaron columnas de plástico y vidrio de diferentes capacidades dependiendo de la cantidad de sedimento a utilizar. Primero se determinó el peso de la muestra considerando la disponibilidad del sedimento, resultando de 41 a 300 gramos (g) de muestra colectada en sitio por cada punto de muestreo.

Con base en la literatura, se decidió utilizar en promedio 4 g de una base sulfato ( $\text{CaSO}_4$ ) y 4 g de un agente tamponador de pH ( $\text{CaCO}_3$ ). Como fuente de carbono se seleccionó el papel bond debido a su eficiencia para el crecimiento de las bacterias sulfato reductoras.

Para comenzar el armado de las columnas en primera instancia se pesó el sedimento a utilizar en una balanza granataria marca Adam, modelo TBB 2610T, posteriormente en una balanza de precisión marca Adam, modelo CQT202, se pesó el agente tamponador y la base de sulfato considerando la cantidad de sedimento que se iba a someter al período de enriquecimiento.

De igual manera se pesó la fuente de carbono papel bond considerando la cantidad de sedimento.

Ya con los materiales necesarios, se procedió a adicionarlos a la columna. Primeramente se acomodó el sedimento en el fondo de cada columna utilizando la presión necesaria para evitar espacios vacíos evitando las burbujas de aire.

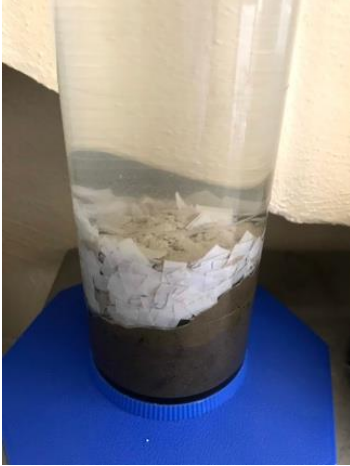

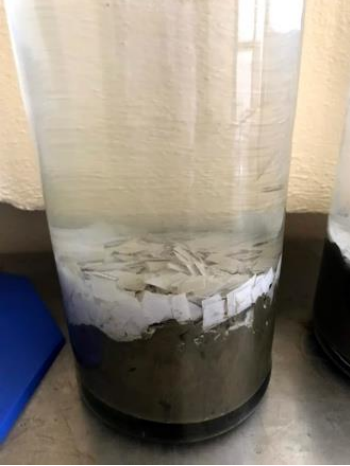
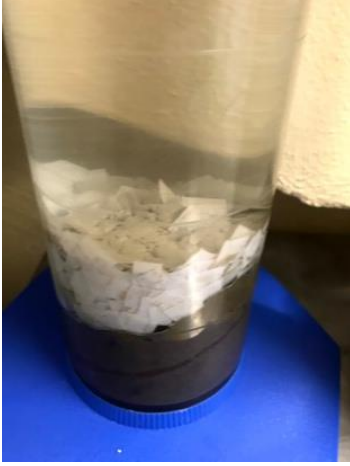



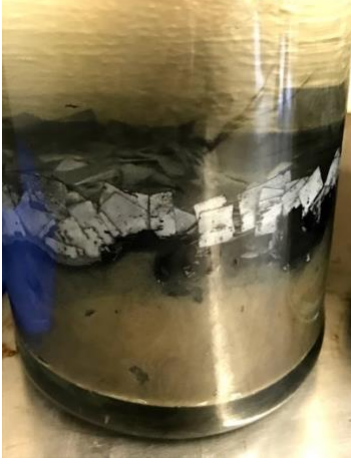

Posteriormente se colocó la fuente de carbono y se llenó la columna a media capacidad de agua destilada esterilizada en la autoclave marca Man-olve, modelo M-35DC, para así poder adicionar el agente tamponador y la base de sulfato previamente disueltos en agua destilada esterilizada.










Para finalizar, se aumentó el nivel de agua de cada columna dejando aproximadamente 5 cm de aire en la parte superior y, para crear condiciones aproximadas a un ambiente anaerobio, la columna se selló con papel aluminio y kraft.

Antes de comenzar con el armado de todas las columnas, se realizó una prueba piloto del sitio de muestreo “Canal Valencia” en sus dos temporalidades con el objetivo de analizar su comportamiento; la cual tuvo un periodo de enriquecimiento de 7 meses y 10 días, comenzando el día 3 de marzo y finalizando el día 13 de octubre del año 2020.

A continuación se muestra la evidencia fotografica obtenida durante el periodo de enriquecimiento, en donde “A” corresponde a la toma de muestra con fecha 4 de abril 2019 (estiaje); “B” 18 julio 2019 (lluvia) y “C” 4 de diciembre 2019.

Tabla 5. Evidencia fotográfica de prueba piloto

A	B	C
<b>6 de marzo</b>		
		
<b>10 de marzo</b>		
		
<b>17 de marzo</b>		
		

A	B	C
<b>12 de mayo</b>		
		
<b>22 de septiembre</b>		
		
<b>13 de octubre</b>		
		

Como se puede observar, en la evidencia “A” se presentó el compartamiento de una reacción óxido reducción debido a la coloración rojiza resultante, la cual comenzó a destacar a partir de 11 días en el enriquecimiento.

Así mismo, en las otras dos columnas se presenta la singular coloración negra que denota la liberación de agentes azufrados.

A continuación se muestran los pesos utilizados de cada temporada para cada punto así como la cantidad de agua esterilizada, las sales utilizadas y el peso de la fuente de carbono.

Tabla No. 6 Datos del desarrollo experimental

Punto de muestreo	Agua destilada esterilizada (ml)	Sedimento (g)	CaCO <sub>3</sub> CaSO <sub>4</sub> (g)	Fuente de carbono (g)
<b>Temporada 1</b>				
Pozo Cabo 4	1,270	300	4	8
Arroyo Salida	1,160	300	4	7.83
Arroyo Bifurcación	1,050	133	1.5	3
Arroyo Boca	3,000	300	4	10
Hormiguero	3,050	300	4	10
Chipote	930	60	1	2
Quemador	3,020	300	4	10
Naranjos	3,090	300	4	10
<b>Temporada 2</b>				
Pozo Cabo 4	1,840	200	2	6
Arroyo Salida	910	100	1	3
Arroyo Bifurcación	2,910	300	4	10
Arroyo Boca	540	41	0.5	1.5
Hormiguero	840	300	4	10
Chipote	3,150	300	4	10
Quemador	3,000	157	1.5	3
Naranjos	2,000	186	2	6

Fuente: elaboración propia, 2020

Con base en la literatura el período de enriquecimiento se considera de aproximadamente 6 semanas, sin embargo, debido a las circunstancias de salud y la disposición del tiempo, las columnas asimilaron un período de enriquecimiento de 8 a 11 semanas dependiendo de la fecha en la que fue ensamblada.

A continuación en la tabla se enlistan las fechas de ensamble y de muestreo.

Tabla No. 7 Períodos

<b>Punto de muestreo</b>	<b>Fecha de ensamble</b>	<b>Fecha de muestreo</b>	<b>Período de enriquecimiento</b>
<b>Temporada 1 Lluvia</b>			
Pozo Cabo 4	28 de septiembre 2020	4 de diciembre 2020	9 semanas 4 días
Arroyo Salida	28 de septiembre 2020	7 de diciembre 2020	10 semanas
Arroyo Bifurcación	28 de septiembre 2020	8 de diciembre 2020	10 semanas 1 día
Arroyo Boca	1 de octubre 2020	9 de diciembre 2020	10 semanas 2 días
Hormiguero	1 de octubre 2020	10 de diciembre 2020	10 semanas 3 días
Chipote	1 de octubre 2020	11 de diciembre 2020	10 semanas 4 días
Quemador	1 de octubre 2020	12 de diciembre 2020	10 semanas 5 días
Naranjos	1 de octubre 2020	14 de diciembre 2020	11 semanas
<b>Temporada 2 Estiaje</b>			
Pozo Cabo 4	22 de Septiembre 2020	19 de Noviembre 2020	8 semanas 2 días
Arroyo Salida	22 de Septiembre 2020	20 de Noviembre 2020	8 semanas 3 días
Arroyo Bifurcación	22 de Septiembre 2020	24 de Noviembre 2020	9 semanas
Arroyo Boca	24 de Septiembre 2020	25 de Noviembre 2020	9 semanas 1 día
Hormiguero	24 de Septiembre 2020	27 de Noviembre 2020	9 semanas 3 días
Chipote	24 de Septiembre 2020	1 de Diciembre 2020	10 semanas
Quemador	24 de Septiembre 2020	2 de Diciembre 2020	10 semanas 1 día
Naranjos	24 de Septiembre 2020	3 de Diciembre 2020	10 semanas 2 días

Fuente: elaboración propia, 2020

Para realizar la toma de muestras de agua de cada columna, primero se reunieron los materiales, fue necesario esterilizar 16 pipetas de 10 ml para tomar la muestra, una pipeta se utilizó por columna.

De igual manera, disponer de mínimo 3 matraces aforados de 25 ml con tapa para depositar la muestra debido a que el muestreo se realizó de 3 alturas diferentes para cada columna, de la parte superior, media e inferior, posteriormente se llevó al aforo hasta alcanzar los 25 ml.

Se utilizaron en total 48 matraces para el muestreo. Así mismo, se utilizó una piseta con agua destilada esterilizada y una piseta con alcohol ambas para los enjuagues, un pipeteador, cinta masking, papel y un vaso de precipitado.

Los matraces aforados se etiquetaron dependiendo de su altura, es decir 1 para la parte superior, 2 para la parte media y 3 para la parte inferior.

Para cada altura se realizaron como mínimo 3 diluciones en un volumen de 25 ml, las cuales fueron etiquetadas, D1, D2, y D3 según corresponda su dilución partiendo de 10 ml de la original y así sucesivamente.

Antes de realizar la lectura de las muestras en el espectrofotómetro UV-VIS a 430 nm, con base en la literatura, fue necesario elaborar una curva de calibración para poder comparar los resultados obtenidos de las muestras con una solución patrón de ácido sulfúrico a diferentes concentraciones.

Después de varias experimentaciones, se determinó que se utilizarían los patrones de 0.5, 10 y 10 mg/L de concentración ya que en esta combinación, el coeficiente de correlación resultó de 0.9969, es decir, las variables se correlacionan directamente.

Posteriormente para realizar la lectura en el espectrofotómetro, se tomaron 10 ml de muestra de cada matraz aforado y se depositaron en frascos de vidrio, con base en la literatura, a cada frasco se le añadieron 0.5 ml de una solución acondicionadora con el objetivo de que proporcionara un medio para que los iones sulfato se mantuvieran en suspensión mientras se realizaba la lectura.

Esta solución se compuso de 15 ml de agua destilada esterilizada, 1.5 ml de ácido clorhídrico, 5 ml de alcohol isopropílico, 3.75 ml de cloruro de sodio y 2.5 ml de glicerol. Finalmente la muestra se colocó en celdas de cuarzo para su lectura.

- Objetivo 2. Evaluar la variación espacio-temporal de la actividad sulfato-reductora.

Para la evaluación de la variación espacio-temporal de la actividad sulfato-reductora en la muestra sedimentaria, se realizó la estadística descriptiva para con los resultados obtenidos de la experimentación mediante el uso del software Statistics, considerando las dos temporadas del ciclo anual y cada sitio de muestreo.

Finalmente, en el sitio y temporada en donde se encontró una mayor actividad sulfato-reductora, se consideró como el sitio con mayor tasa poblacional de BSR.

- Objetivo 3. Estimar el uso potencial de las bacterias sulfato-reductoras como indicadores de contaminación.

Para realizar esta estimación, fue necesario analizar las características de cada sitio y comparar parámetros tales como la presencia o aumento de la población bacteriana, su acumulación, la capacidad degradativa y la adaptación a las perturbaciones ambientales.

### **6.3.5 Técnicas de Análisis de Datos**

Los datos resultantes del desarrollo experimental, se analizaron considerando la estadística descriptiva. Ya que ésta se encarga de realizar la recopilación, organización, procesamiento, análisis y la interpretación de cada resultado. No obstante, para su visualización se elaboraron gráficos, tablas e imágenes representativas.



## 7. RESULTADOS

- Objetivo 1. Analizar la actividad sulfato-reductora en sedimentos de los Pantanos de Macuspana.

*Metodología. Preparación de materiales para el armado*



Figura 6. Pesaje de sedimento



Figura 7. Pesaje de sales



Figura 8. Agua destilada esterilizada



Figura 9. Disolución de sales

## Armado de las Columnas de Winogradsky



Figura 10. Materiales para la columna



Figura 11. Sedimento y f. carbono

## Columnas ensambladas



Figura 12. Columnas ensambladas de las 2 temporadas

## Pozo Cabo 4

A continuación se presentan las evidencias fotográficas del procedimiento experimental realizado para el sitio "Pozo Cabo 4", en donde la figura 13 muestra la primera fotografía tomada 2 días después de su ensamble. Posteriormente, la figura 14 muestra el avance obtenido 6 días después en donde ya se presenta la actividad sulfato reductora.

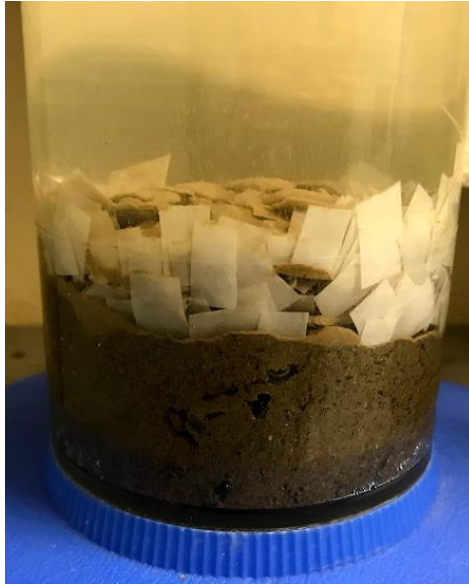


Figura 13. 24 de septiembre 2020

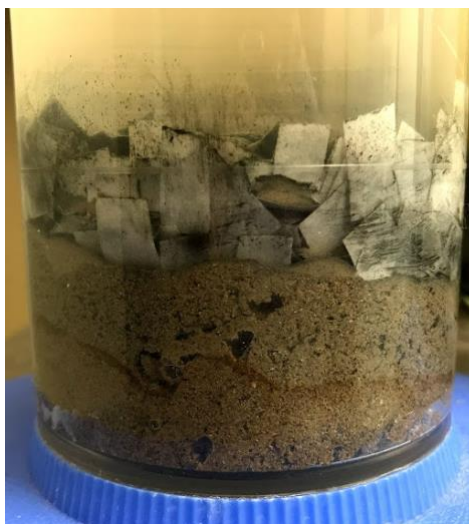






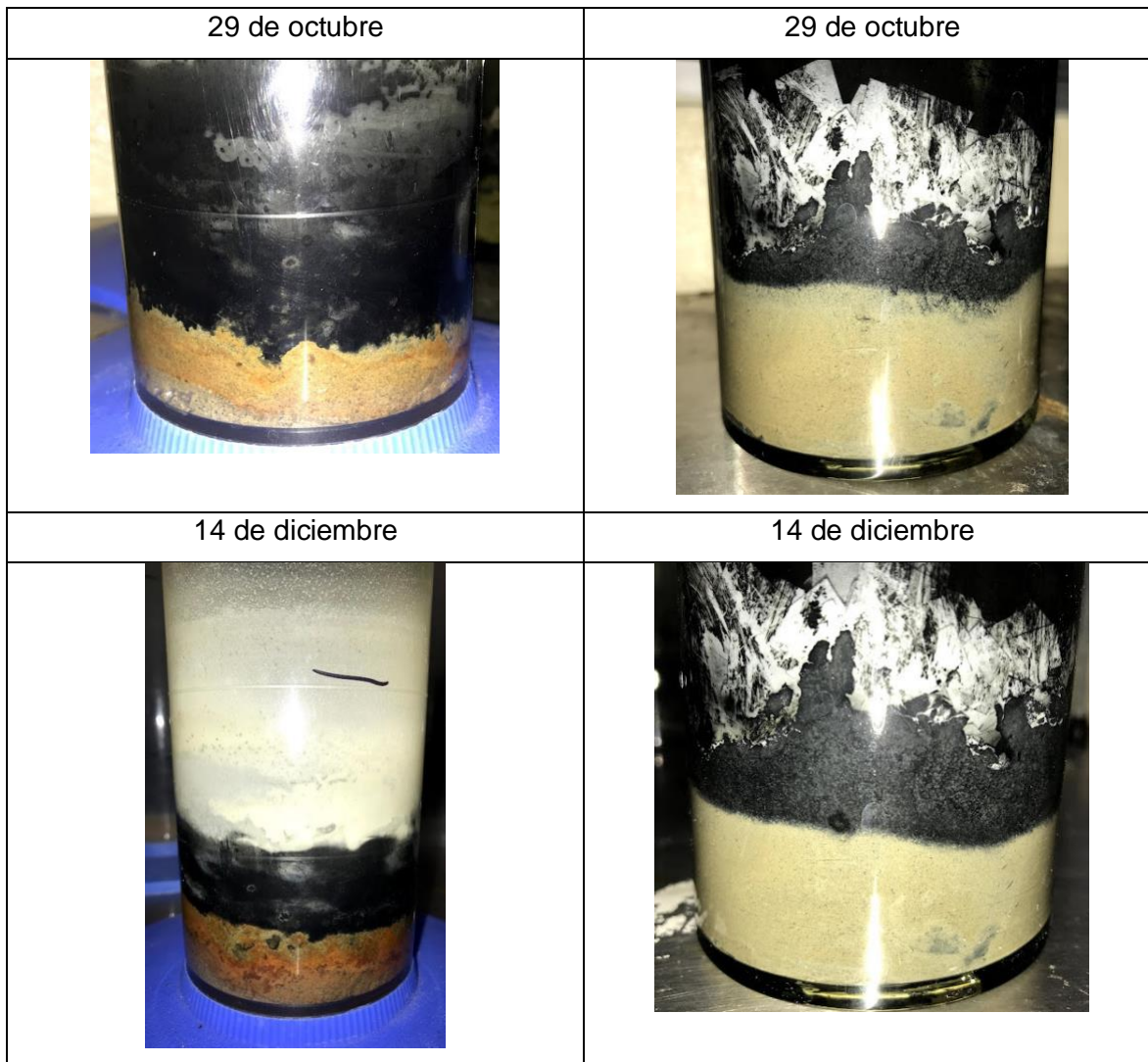


Figura 14. 28 de septiembre 2020

Tabla 8. Periodo de enriquecimiento Pozo Cabo 4

Estiaje	Lluvia
<b>Pozo Cabo 4</b>	
1 de octubre	1 de octubre
	
8 de octubre	8 de octubre
	
13 de octubre	13 de octubre
	



Como se puede observar en la tabla 8, la columna de estiaje tuvo un periodo de enriquecimiento del 22 de septiembre al 19 de noviembre del 2020, un total de 8 semanas y 2 días de enriquecimiento. Mientras que la temporada de lluvia tuvo un periodo del 28 de septiembre al 4 de diciembre del mismo año, cumpliendo un total de 9 semanas y 4 días en enriquecimiento.

En comparación con ambas temporadas, se puede observar una mayor actividad sulfato reductora en el sedimento de la temporada de estiaje, ya que en la temporada de lluvia únicamente se observó la presencia de un precipitado de metales pesados en consecuencia a una reacción de óxido reducción.

## Arroyo Salida

A continuación se presentan las evidencias fotográficas del procedimiento experimental realizado para el sitio "Arroyo Salida", en donde la figura 15 muestra la primera fotografía tomada 2 días después de su ensamble. Posteriormente, la figura 16 muestra el avance obtenido 6 días después.



Figura 15. 24 de septiembre 2020

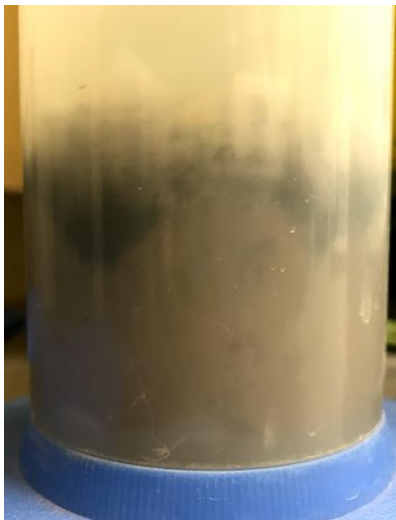












Figura 16. 28 de septiembre 2020

Tabla 9. Periodo de enriquecimiento. Arroyo salida

Estiaje	Lluvia
<b>Arroyo Salida</b>	
1 de octubre	1 de octubre
	
8 de octubre	8 de octubre
	
13 de octubre	13 de octubre
	

29 de octubre	29 de octubre
	
14 de diciembre	14 de diciembre
	

Como se puede observar en la tabla 9, la columna de estiaje tuvo un periodo de enriquecimiento del 22 de septiembre al 20 de noviembre del 2020, un total de 8 semanas y 3 dias de enriquecimiento. Mientras que la temporada de lluvia tuvo un periodo del 28 de septiembre al 7 de diciembre del mismo año, cumpliendo un total de 10 semanas en enriquecimiento.

En ambas temporadas se puede observar una actividad sulfato reductora debido a la presencia de un precipitado de metales pesados en consecuencia a una reacción de óxido reducción.



## Arroyo Bifurcación

A continuación se presentan las evidencias fotográficas del procedimiento experimental realizado para el sitio “Arroyo Bifurcación”, en donde la figura 17 muestra la primera fotografía tomada 2 días después de su ensamble. Posteriormente, la figura 18 muestra el avance obtenido 6 días después.

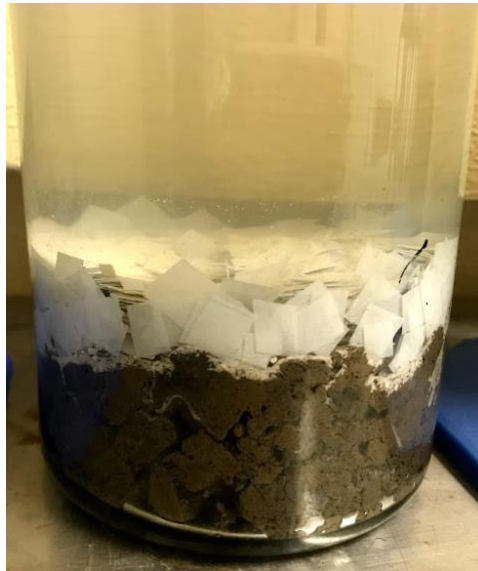

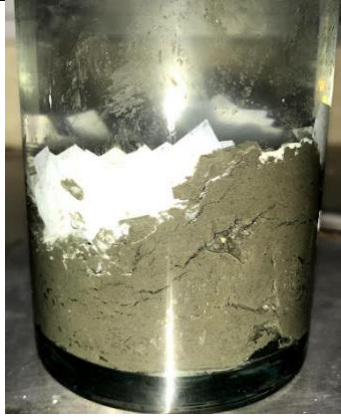






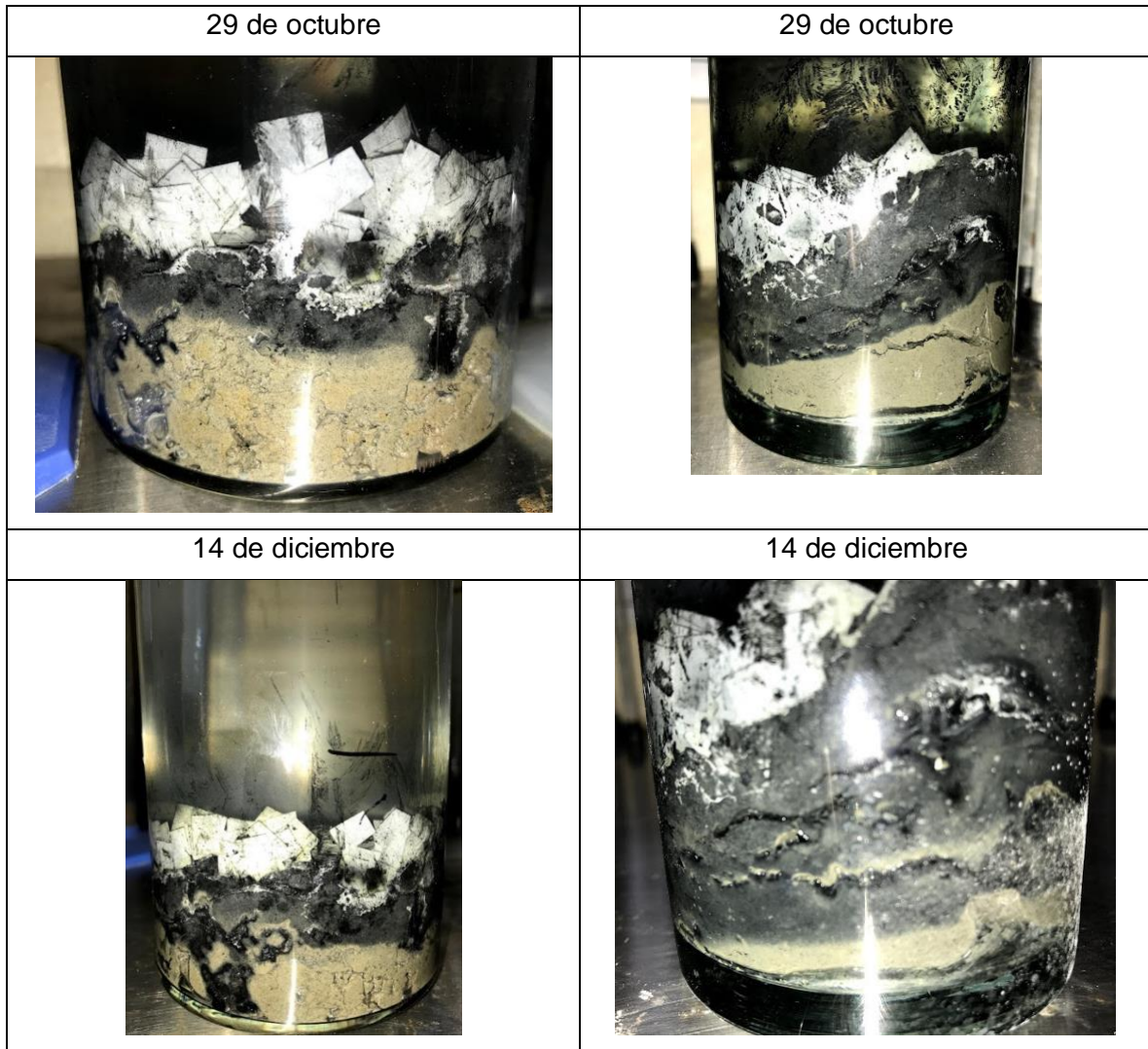
Figura 17. 24 de septiembre 2020



Figura 18. 28 de septiembre 2020

Tabla 10. Periodo de enriquecimiento. Arroyo bifurcación

Estiaje	Lluvia
<b>Arroyo Bifurcación</b>	
1 de octubre	1 de octubre
	
8 de octubre	8 de octubre
	
13 de octubre	13 de octubre
	



Como se puede observar en la tabla 10, la columna de estiaje tuvo un periodo de enriquecimiento del 22 de septiembre al 24 de noviembre del 2020, un total de 9 semanas de enriquecimiento. Mientras que la temporada de lluvia tuvo un periodo del 28 de septiembre al 8 de diciembre del mismo año, cumpliendo un total de 10 semanas y 1 día en enriquecimiento.

En ambas temporadas se puede observar una actividad sulfato reductora debido a la presencia de un precipitado de metales pesados en consecuencia a una reacción de óxido reducción.

Además, en a temporada de estiaje se puede observar un comportamieto SR en el sedimento.

## Arroyo Boca

A continuación se presentan las evidencias fotográficas del procedimiento experimental realizado para el sitio "Arroyo Boca", en donde la figura 19 muestra la primera fotografía tomada 4 días después de su ensamble. Posteriormente, la figura 16 muestra el avance obtenido 7 días después.






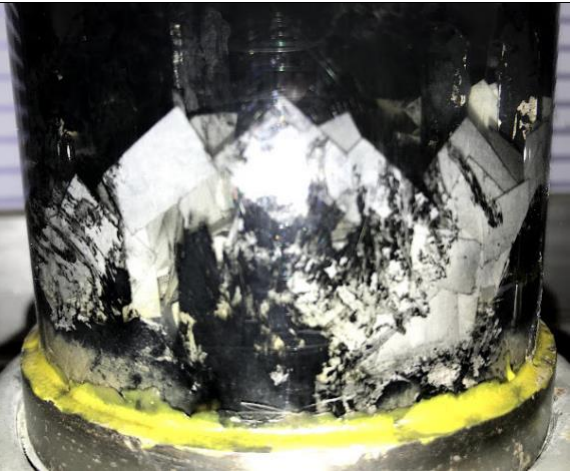


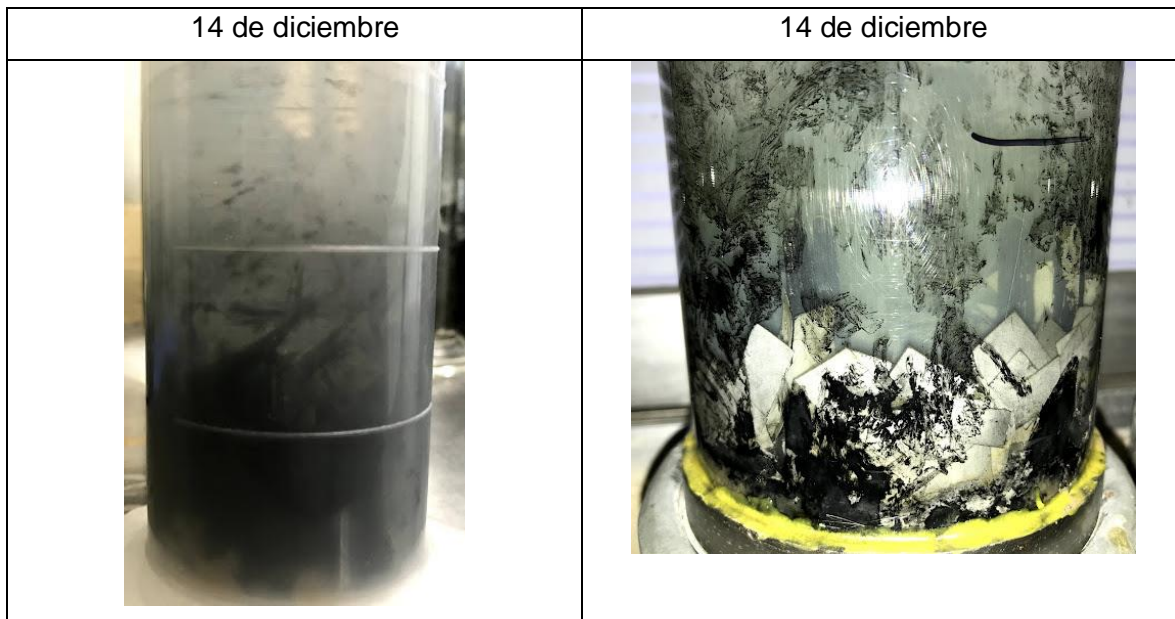
Figura 19. 28 de septiembre 2020



Figura 20. 1 de octubre 2020

Tabla 11. Periodo de enriquecimiento. Arroyo Boca

Estiaje	Lluvia
<b>Arroyo Boca</b>	
8 de octubre	8 de octubre
	
13 de octubre	13 de octubre
	
29 de octubre	29 de octubre
	



Como se puede observar en la tabla 11, la columna de estiaje tuvo un periodo de enriquecimiento del 24 de septiembre al 25 de noviembre del 2020, un total de 9 semanas y 1 día de enriquecimiento.

Mientras que la temporada de lluvia tuvo un periodo del 1 de octubre al 9 de diciembre del mismo año, cumpliendo un total de 10 semanas y 2 días en enriquecimiento.

En ambas temporadas se puede observar una actividad sulfato reductora debido a la presencia de un precipitado de metales pesados en consecuencia a una reacción de óxido reducción sin cambios significativos en el sedimento.

## Hormiguero

A continuación se presentan las evidencias fotográficas del procedimiento experimental realizado para el sitio "Hormiguero", en donde la figura 21 muestra la primera fotografía tomada 4 días después de su ensamble. Posteriormente, la figura 22 muestra el avance obtenido 7 días después.









Figura 21. 28 de septiembre 2020

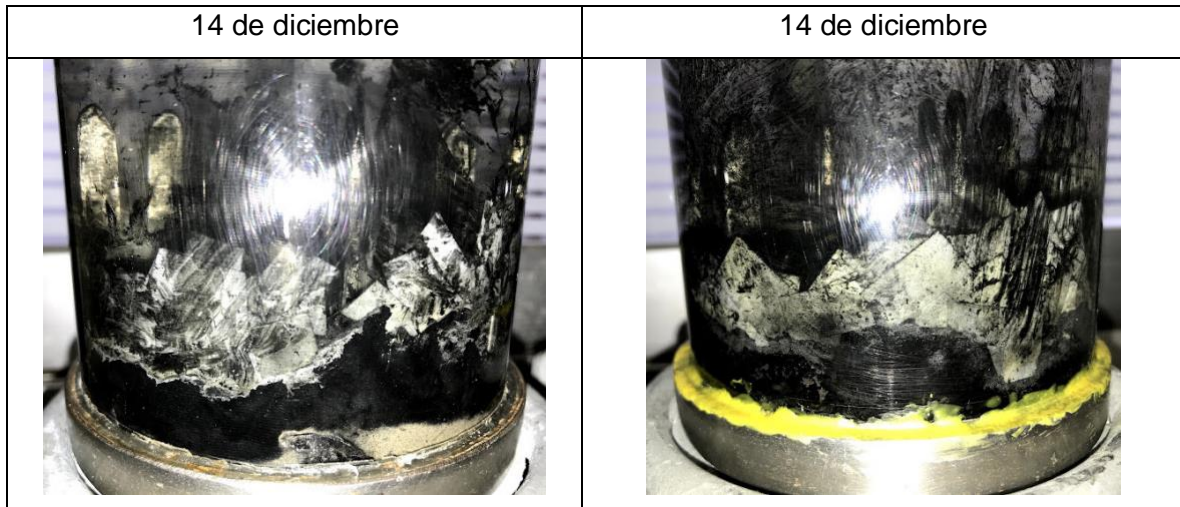


Figura 22. 1 de octubre 2020

Tabla 12. Periodo de enriquecimiento. Hormiguero

Estiaje	Lluvia
<b>Hormiguero</b>	
8 de octubre	8 de octubre
	
13 de octubre	13 de octubre
	
29 de octubre	29 de octubre
	





Como se puede observar en la tabla 12, la columna de estiaje tuvo un periodo de enriquecimiento del 24 de septiembre al 27 de noviembre del 2020, un total de 9 semanas y 3 días de enriquecimiento.

Mientras que la temporada de lluvia tuvo un periodo del 1 de octubre al 10 de diciembre del mismo año, cumpliendo un total de 10 semanas y 3 días en enriquecimiento.

En ambas temporadas se puede observar una actividad sulfato reductora debido a la presencia de un precipitado de metales pesados en consecuencia a una reacción de óxido reducción sin cambios significativos en el sedimento.

## Chipote

A continuación se presentan las evidencias fotográficas del procedimiento experimental realizado para el sitio "Chipote", en donde la figura 23 muestra la primera fotografía tomada 4 días después de su ensamble. Posteriormente, la figura 24 muestra el avance obtenido 7 días después.









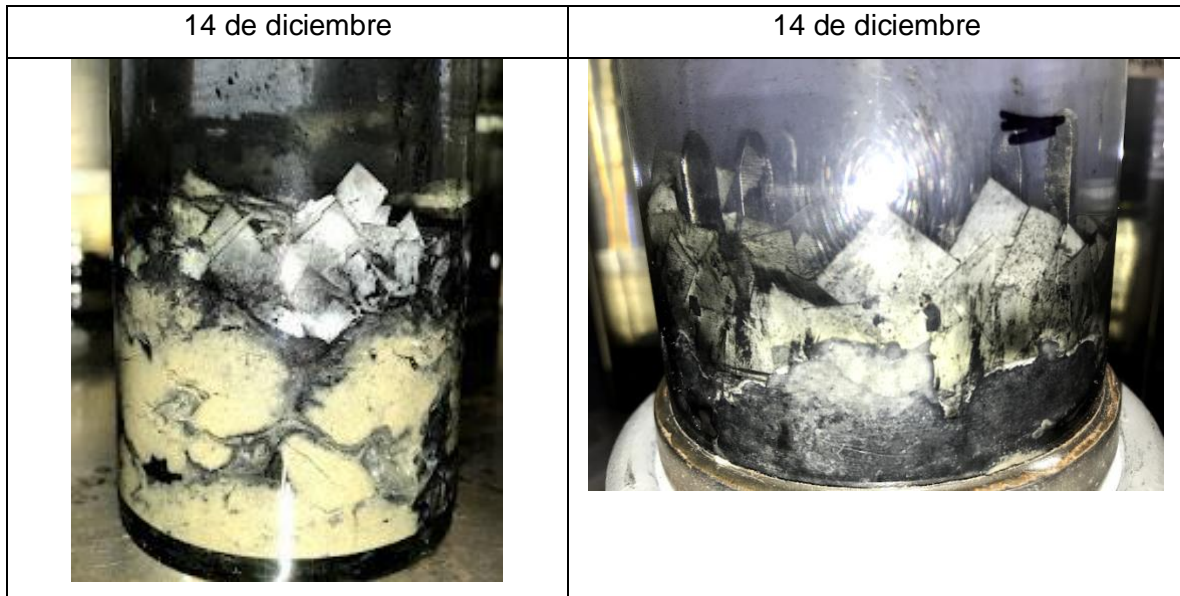
Figura 23. 28 de septiembre 2020



Figura 24. 1 de octubre 2020

Tabla 13. Periodo de enriquecimiento. Chipote

Estiaje	Lluvia
<b>Chipote</b>	
8 de octubre	8 de octubre
	
13 octubre	13 de octubre
	
29 de octubre	29 de octubre
	



Como se puede observar en la tabla 13, la columna de estiaje tuvo un periodo de enriquecimiento del 24 de septiembre al 1 de diciembre del 2020, un total de 10 semanas de enriquecimiento.

Mientras que la temporada de lluvia tuvo un periodo del 1 de octubre al 11 de diciembre del mismo año, cumpliendo un total de 10 semanas y 4 días en enriquecimiento.

En ambas temporadas se puede observar una actividad sulfato reductora debido a la presencia de un precipitado de metales pesados en consecuencia a una reacción de óxido reducción, de igual forma podemos observar un cambio mínimo en la coloración del sedimento de la temporada de estiaje.

## Quemador

A continuación se presentan las evidencias fotográficas del procedimiento experimental realizado para el sitio "Quemador", en donde la figura 25 muestra la primera fotografía tomada 4 días después de su ensamble. Posteriormente, la figura 26 muestra el avance obtenido 7 días después.

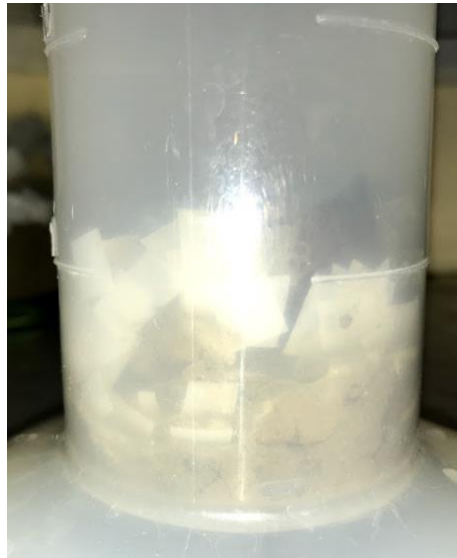


Figura 25. 28 de septiembre 2020

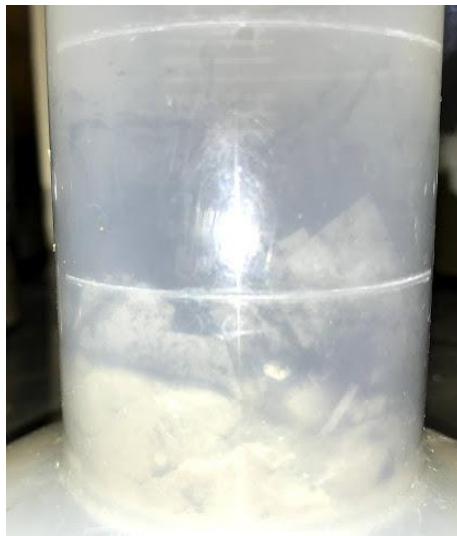










Figura 26. 1 de octubre 2020

Tabla 14. Periodo de enriquecimiento. Quemador

Estiaje	Lluvia
<b>Quemador</b>	
8 de octubre	8 de octubre
	
13 de octubre	13 de octubre
	
29 de octubre	29 de octubre
	

14 de diciembre	14 de diciembre
	

Como se puede observar en la tabla 14, la columna de estiaje tuvo un periodo de enriquecimiento del 24 de septiembre al 2 de diciembre del 2020, un total de 10 semanas y 1 día de enriquecimiento.

Mientras que la temporada de lluvia tuvo un periodo del 1 de octubre al 12 de diciembre del mismo año, cumpliendo un total de 10 semanas y 5 días en enriquecimiento.

En ambas temporadas se puede observar una actividad sulfato reductora debido a la presencia de un precipitado de metales pesados en consecuencia a una reacción de óxido reducción.

## Naranjos

A continuación se presentan las evidencias fotográficas del procedimiento experimental realizado para el sitio "Naranjos", en donde la figura 27 muestra la primera fotografía tomada 4 días después de su ensamble. Posteriormente, la figura 28 muestra el avance obtenido 7 días después.

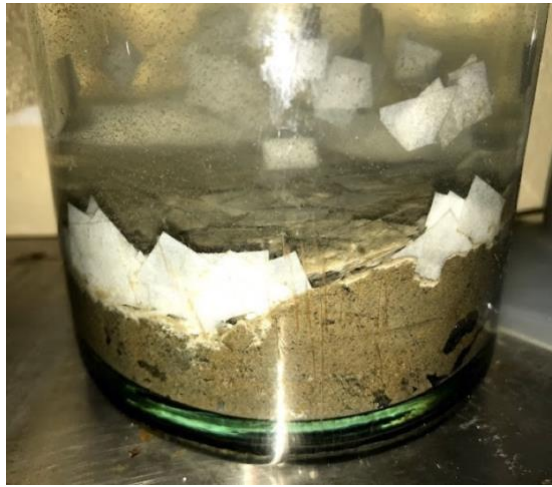


Figura 27. 28 de septiembre 2020

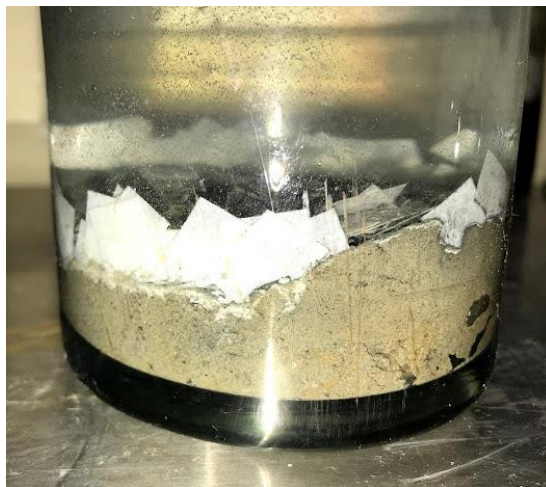










Figura 28. 1 octubre 2020



Tabla 15. Periodo de enriquecimiento. Naranjos

Estiaje	Lluvia
<b>Naranjos</b>	
8 de octubre	8 de octubre
	
13 de octubre	13 de octubre
	
29 de octubre	29 de octubre
	

14 de diciembre	14 de diciembre
	

Como se puede observar en la tabla 15, la columna de estiaje tuvo un periodo de enriquecimiento del 24 de septiembre al 3 de diciembre del 2020, un total de 10 semanas y 2 días de enriquecimiento.

Mientras que la temporada de lluvia tuvo un periodo del 1 de octubre al 14 de diciembre del mismo año, cumpliendo un total de 11 semanas en enriquecimiento.

En ambas temporadas se puede observar una actividad sulfato reductora debido a la presencia de un precipitado de metales pesados en consecuencia a una reacción de óxido reducción.

## Solución patrón y curva de calibración



Figura 29. Patrones

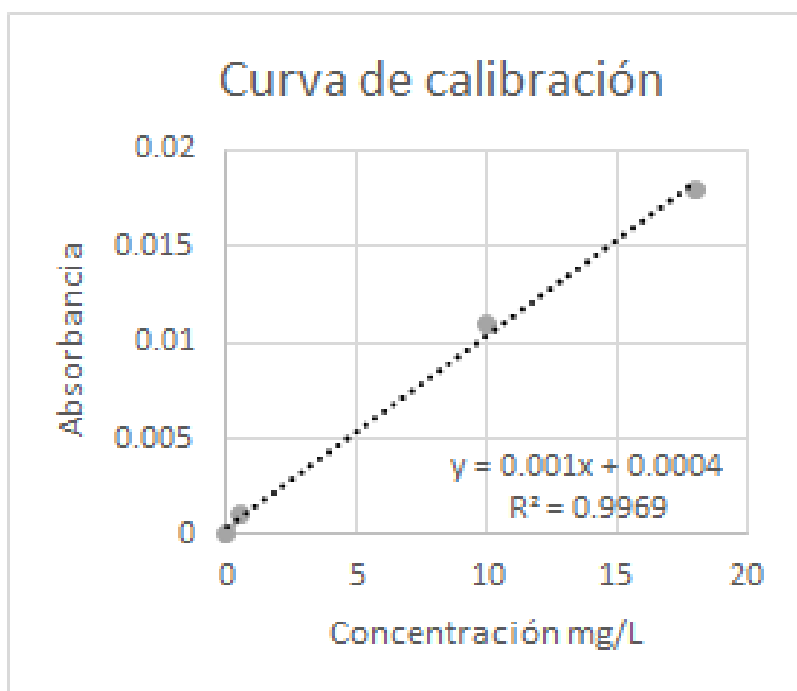


Figura 30. Curva de calibración

*Toma de muestra de las columnas y diluciones*



Figura 31. Toma de muestra



Figura 32. Materiales

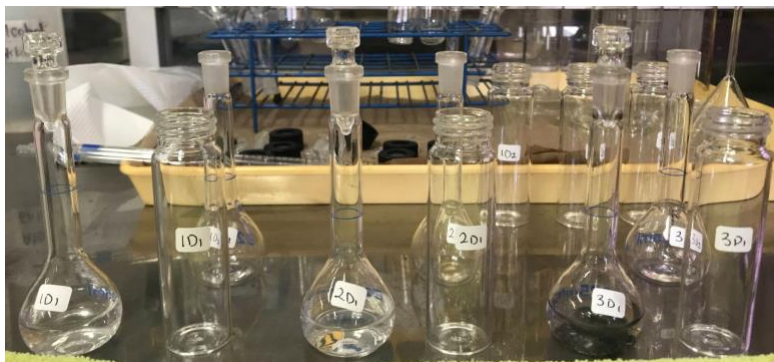


Figura 33. Diluciones

*Lectura en espectrofotómetro UV-VIS*



Figura 34. Materiales para lectura



Figura 35. Preparación de muestra

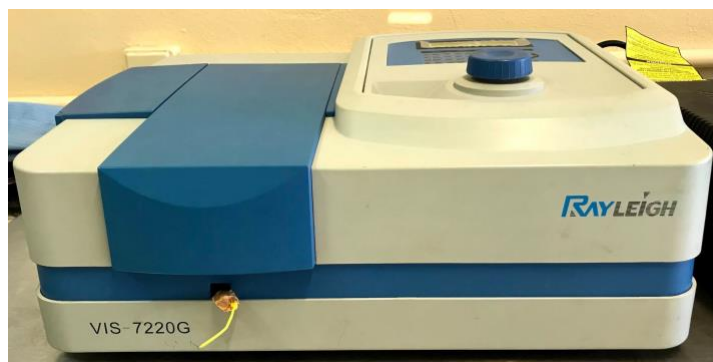


Figura 36. Espectrofotómetro UV-VIS



Figura 37. Preparación de la muestra

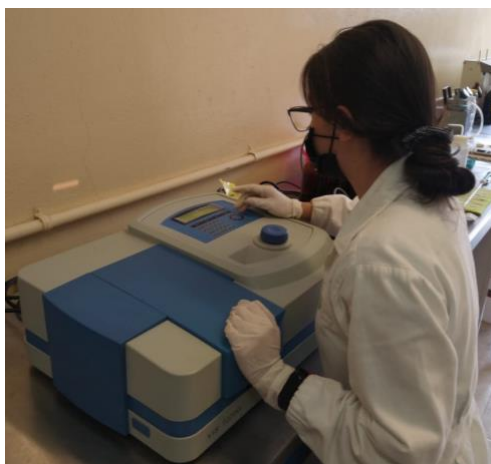


Figura 38. Toma de lectura

### Resultados obtenidos

Con base en la ecuación de la línea recta de tipo  $y = m x + b$ , su resultante de la curva de calibración  $y = 0.0001 x + 0.0004$ , sustituyendo y dado el valor de su absorbancia, se despejó la variable  $x$  considerada como la concentración de sulfatos en la muestra. De esta manera se completó la Tabla 7, en donde se reporta la concentración en promedio de las dos temporadas junto con su desviación estándar.

Tabla No. 16 Concentración de sulfatos promedio (mg/L)

	P.Cabo 4	A.Salida	Bifurcación	A.Boca	Hormiguero	Chipote	Quemador	Naranjos
<b>Lluvia</b>	72.05±0.5	104±0.176	52.37±0.176	4±0.466	37.75±0.113	52.62±0.00	16.6±0.282	25.78±2.220
<b>Estiaje</b>	3.67±0.00	29.05±0.21	48.45±0.070	30.81±2.036	0±0	7±0.466	41.55±1.060	2.16±0.233

Fuente: desarrollo experimental, 2020.

En la Figura 39 se muestra la gráfica resultante de la temporada de lluvias (T1), en la cual se puede observar la variación en la concentración de los diferentes sitios de muestreo, de igual manera en la Figura 40 para la temporada de estiaje (T2).

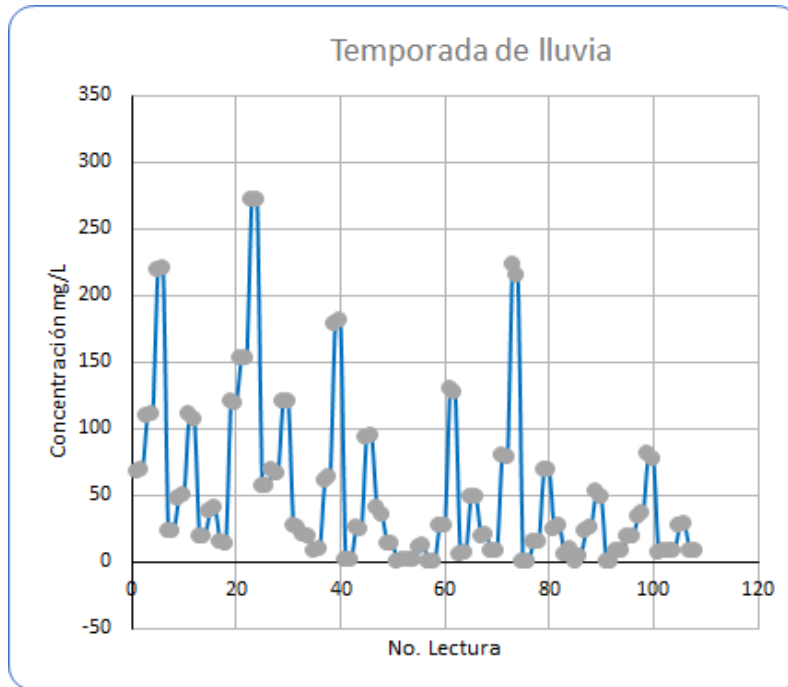


Figura 39. Variación en las concentraciones de la T1

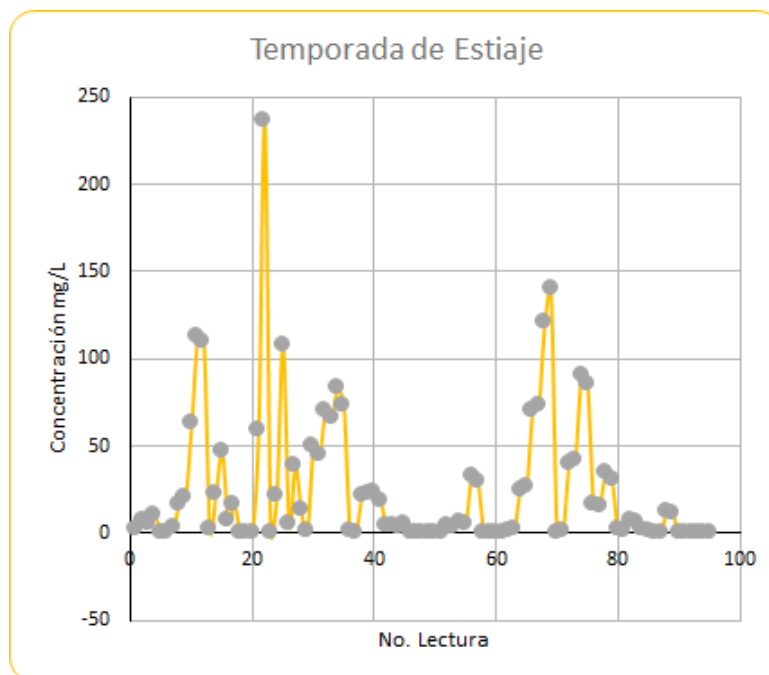


Figura 40. Variación en las concentraciones de la T2.

### Determinación de pH

En la tabla a continuación se muestran los resultados obtenidos de la medición de pH para cada punto de muestreo.

Tabla No. 17 Resultados de pH promedio

	P. Cabo 4	A.Salida	Bifurcación	A.Boca	Hormiguero	Chipote	Quemador	Naranjos
<b>Lluvia</b>	6.23±0.02	6.33±0.04	6.30±0.07	6.56±0.15	6.99±0.17	7.26±0.13	7.03±0.11	6.86±0.04
<b>Estiaje</b>	6.92±0.05	6.69±0.11	6.87±0.17	6.73±0.03	6.60±0.27	6.94±0.06	6.98±0.09	6.81±0.05

Fuente: desarrollo experimental, 2020.

En la Figura 41, se muestra la variabilidad en los resultados de pH obtenidos para cada temporada.

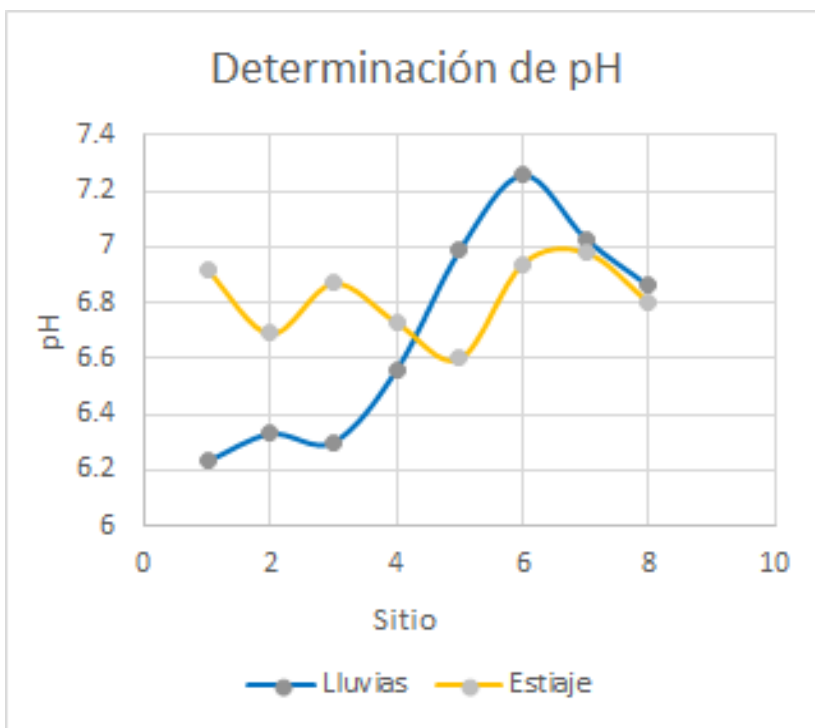


Figura 41. Variación en los resultados de pH



Figura 42. Determinación de pH

- Objetivo 2. Evaluar la variación espacio-temporal de la actividad sulfato-reductora.

#### *Estadística descriptiva*

Para estimar la variación espacio-temporal se realizó un análisis estadístico. Primero se comprobó si los datos cumplían con los dos supuestos principales del análisis de varianza, la prueba de Levene y la curva de normalidad, con base en los resultados se determinó que los datos son de comportamiento no paramétrico, debido a esto se optó por realizar la prueba de Kruskal Wallis en donde la variable respuesta fue la concentración de sulfato y los factores a considerar fueron los sitios y las temporadas.

Durante la temporada de estiaje la concentración de sulfatos tuvo un valor medio de  $20.33 \pm 18.71$  mg/L. Por otra parte, la temporada de lluvia obtuvo una concentración de  $45.834 \pm 30.932$  mg/L.



Tabla No. 18 Resultados de la estadística descriptiva de los datos y su duplicado

	Concentración SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> mg/L	pH
<b>N</b>	32	32
<b>Media</b>	33.086	6.760
<b>Mediana</b>	29.285	6.845
<b>Moda</b>	3.67	múltiple
<b>Suma</b>	1,058.740	216.350
<b>Mínimo</b>	0.000	6.210
<b>Máximo</b>	104.370	7.270
<b>Varianza</b>	800.3234	0.0837
<b>Desviación estándar</b>	28.289	0.289
<b>Error estándar</b>	5.001	0.0511

Fuente: Obtenido de análisis estadístico mediante Statistics, 2021.

*Datos no paramétricos*

Tabla No. 19 Resultados de la prueba de Levene

<b>Efecto de cuadro medio</b>	0.467899
<b>Error de cuadro medio</b>	0.000000
<b>Valor de F</b>	4.562559
<b>Valor de P</b>	0.000000

Fuente: Obtenido de análisis estadístico mediante Statistics, 2021

Como se puede observar el valor de P en la prueba de Levene resultó ser menor a 0.05 por lo que se acepta la hipótesis alterna y se rechaza la hipótesis nula, el supuesto nos indica que si existen diferencias estadísticas significativas en las observaciones.

**Si  $p \geq 0.05$   $\therefore H_0$  = No existen diferencias estadísticas significativas entre las observaciones**  
**Si  $p < 0.05$   $\therefore H_a$  = Sí existen diferencias estadísticas significativas entre las observaciones**

Por otra parte, en el histograma se muestra que los datos no se adecuan a una curva de normalidad en donde el comportamiento esperado de los datos esta representado por la curva en color rojo.

Esto puede deberse a que el comportamiento de los microorganismos en el ambiente es variable, por tal motivo la naturaleza de los datos.

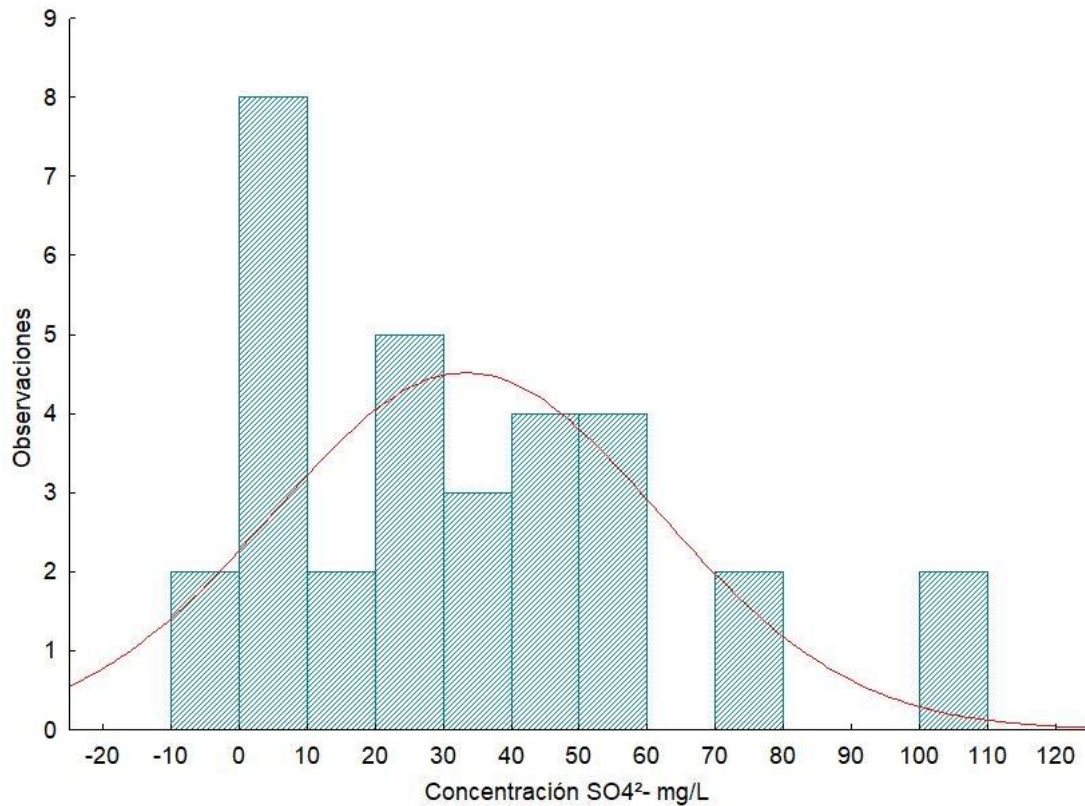


Figura 43. Histograma de normalidad

Sitios.

A continuación en esta gráfica se muestran los resultados obtenidos de la concentración de sulfatos, en donde los valores con literales diferentes expresan datos con diferencias estadísticas significativas.

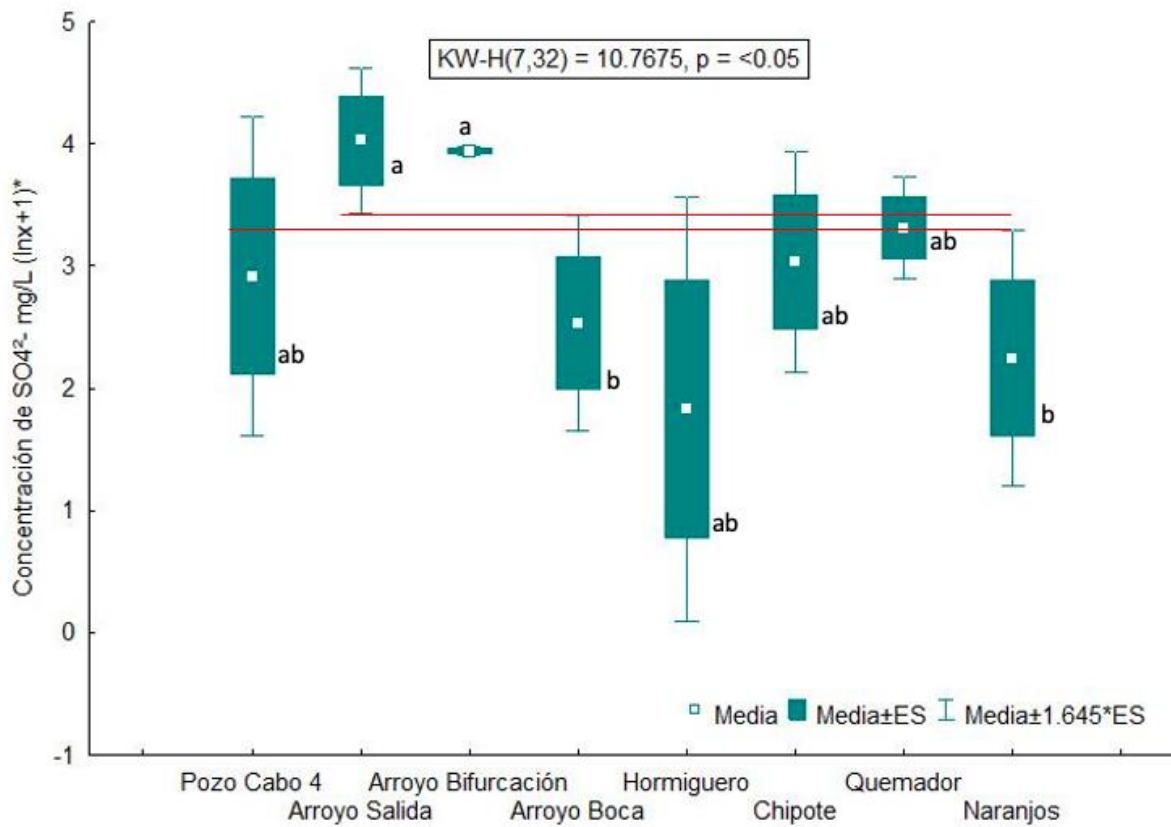


Figura 44. Diagrama de cajas y bigotes

Se puede observar que los sitios arroyo salida y bifurcacion son los que presentan la mayor concentración, siendo este ultimo el que cuenta con una menor dispersion entre sus datos, por el contrario se observa que el sitio hormiguero es el que cuenta con una dispersion mayor.

Además, se logra apreciar que el pozo cabo 4 no presenta una diferencia significativa con arroyo salida, bifurcacion, y arroyo boca, lo mismo se observa con hormiguero, chipote y quemador.

Por otra parte el sitio arroyo boca y naranjos no expresan diferencias estadísticas significativas.

Tabla No. 20 Resultados de los sitios de muestreo

Sitios	Media
1.-P. Cabo 4	37.862 ± 39.483 <sup>ab</sup>
2.-A.Salida	66.522 ± 43.270 <sup>a</sup>
3.-Bifurcación	50.412 ± 2.268 <sup>a</sup>
4.-A.Boca	17.405 ± 15.525 <sup>b</sup>
5.-Hormiguero	18.875 ± 21.795 <sup>ab</sup>
6.-Chipote	29.810 ± 26.340 <sup>ab</sup>
7.-Quemador	29.075 ± 14.418 <sup>ab</sup>
8.-Naranjos	14.722 ± 14.557 <sup>b</sup>

Fuente: Obtenido de análisis estadístico mediante Statistics, 2021

Temporadas.

Por lo que se refiere a las temporadas, visualmente se observa que hay una diferencia estadística significativa entre las concentraciones de estiaje y lluvias, siendo esta en la que se aprecia una mayor concentración de sulfatos.

Esto puede deberse al acarreo de sedimentos y con este al traslado de microorganismos, de igual manera a los deslaves y el desbordamiento propio de la temporada de lluvias.

Además, de acuerdo a la literatura los sulfatos se pueden encontrar en casi todas las aguas naturales y es uno de los principales componentes disueltos de la lluvia.

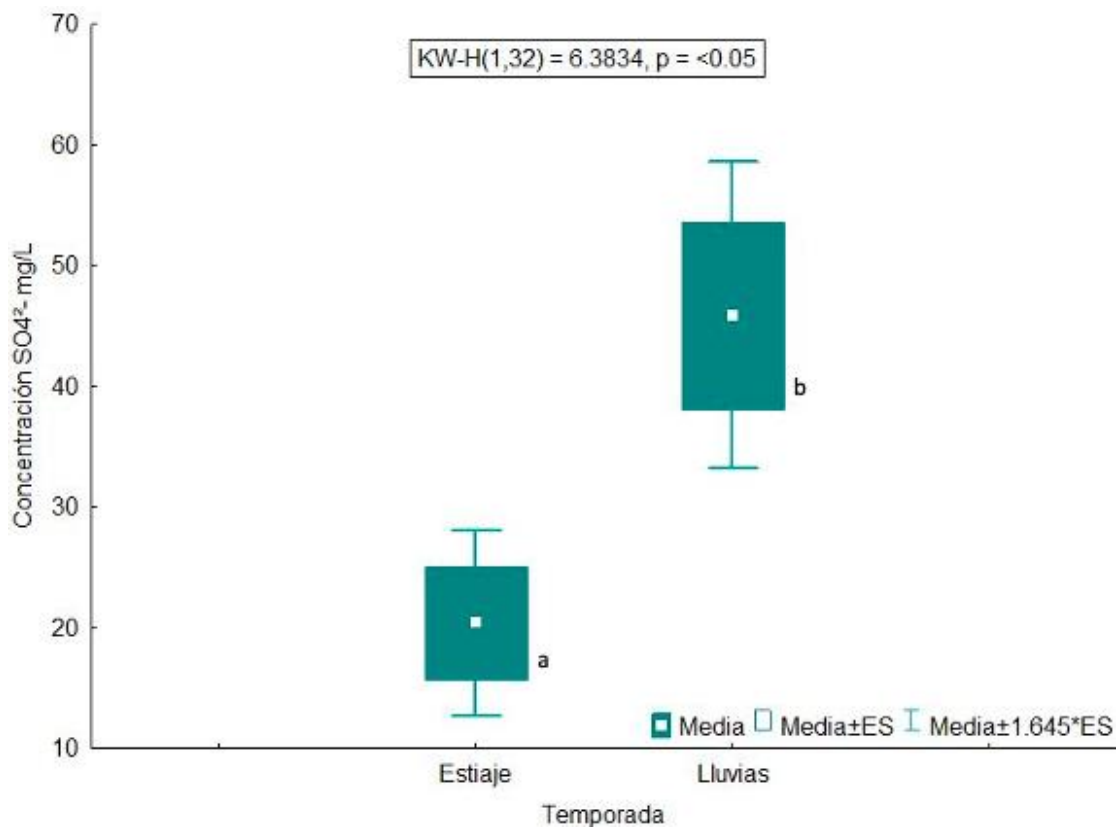


Figura 45. Diagrama de cajas y bigotes

Se consideró un nivel de confianza del 95%.

Tabla No. 21 Resultados de las temporadas de muestreo

Temporadas	Media
1.-Estiaje	20.336 ± 18.719 <sup>a</sup>
2.-Lluvias	45.834 ± 30.932 <sup>b</sup>

Fuente: Obtenido de análisis estadístico mediante Statistics, 2021

- Objetivo 3. Estimar el uso potencial de las bacterias sulfato-reductoras como indicadores de contaminación.

Para dar cumplimiento al objetivo 3 se analizaron los criterios establecidos en la metodología, los cuales fueron los siguientes:

1. Presencia o aumento en la población

Se observó un crecimiento constante de las BSR en algunos de los sitios durante el periodo de enriquecimiento que asimilaron las columnas.

2. Acumulación

De acuerdo a lo esperado, se observó una acumulación de las sulfato reductoras en la parte inferior de la columna, zona predominante de las bacterias dada su naturaleza y las condiciones ambientales del medio.

3. Adaptación

Con base en el análisis visual de las columnas se infiere que las BSR lograron adaptarse al medio condicionado.

4. Análisis espacio-temporal

Considerando los resultados obtenidos se estima una menor influencia de la variable espacial en comparación con la temporal.

## 8. DISCUSIÓN

Se demostró que en la temporada de lluvia la concentración de sulfatos más alta fue en el sitio de Arroyo Salida de 272 mg/L, el cual tuvo un periodo de enriquecimiento de 2 meses y 16 días.

A través de la coloración negro intenso que se observó en las columnas durante el periodo de enriquecimiento se denota la presencia de microorganismos reductores de sulfato debido a la precipitación de sulfuro de metales pesados (enlace entre el azufre y un elemento metálico) como hierro o manganeso.

Esto sucede en consecuencia, a una relación de oxidación-reducción en donde el agente oxidante que es el sulfato pierde sus electrones al donarlos al agente reductor que es el sulfuro.

Por otra parte, el valor más bajo fue de 0 mg/L en el sitio Quemador con un periodo de enriquecimiento de 2 meses y 13 días. Aunque se observa la presencia de metales pesados en los valores mínimos, puede deberse a la presencia de tiosulfato ( $S_2O_3^{2-}$ ) como agente oxidante en lugar del sulfato ( $SO_4^{2-}$ ).

En la temporada de estiaje, la concentración de sulfatos más alta fue en el sitio de Bifurcación, el cual tuvo un periodo de enriquecimiento de 2 meses y 16 días con 237 mg/L.

El valor más bajo se obtuvo en el sitio Hormiguero, en el cual todas las mediciones realizadas en promedio, fueron menores a 0 mg/L a pesar de que tuvo el mismo periodo de enriquecimiento que el sitio Bifurcación, esto puede deberse a la naturaleza del sitio de muestreo, o a las actividades antropológicas realizadas en el mismo.

Considerando los resultados del análisis estadístico descriptivo, se demostró que hubo mayores niveles de concentración en la temporada de lluvias con un resultado de  $45.83 \pm 30.93$  en comparación a la temporada de estiaje, en donde se obtuvo un valor de  $20.33 \pm 18.71$  naturalmente, el sulfato es un componente disuelto en el agua de lluvia y dada la naturaleza del sitio de muestreo en donde se presenta el acarreo de sedimentos y deslaves, es común encontrar este tipo de microorganismos.

Debido a lo anterior, la influencia de las temporadas y los sitios sobre la actividad sulfato reductora se ve impactada por diversos factores de la zona de muestreo, ya sean las condiciones naturales o las actividades antropológicas.

## **9. CONCLUSIÓN**

Con base en los resultados obtenidos, existe un efecto en la variabilidad de las concentraciones bacterianas en consecuencia a la temporalidad, lo que provoca que los sitios no se vean expresados en las concentraciones.

Además, se puede determinar que en esta región en donde la temporada de lluvia tiene una mayor influencia sobre la temporalidad, se compromete el uso de las BSR como posibles bioindicadoras de contaminación.

En otras palabras, las BSR cumplen con la mayoría de los criterios analizados para considerar su uso como bioindicadoras de contaminación, sin embargo se demostró que en sitios como Tabasco en donde la lluvia causa gran influencia no sean consideradas adecuadas.



## 10. REFERENCIAS

Acciona Sustentabilidad. (2017). Desarrollo sobre-poblacional, causas y consecuencias. Disponible en: <https://www.sostenibilidad.com/desarrollo-sossobrepoblaciontenible/causas-consecuencias/>

Andrade, V. (2010). Evaluación del potencial de generación de sulfuro por la acción de las bacterias sulfato reductoras y sus posibles aplicaciones en el tratamiento de los drenajes ácidos de Mina.

Arroyo, M., y Quesada, R. (2002). "Aplicación de sistemas de biorremediación de suelos y aguas contaminadas por hidrocarburos." Div. Protección Ambiental de Suelos, España. [Consultado: 25 de octubre 2019].

Canelon, A. (s.f.). Los 3 ríos principales de Tabasco. Disponible en: <https://www.lifeder.com/rios-tabasco/>

Cervantes, M. (1994.) Guía regional para el conocimiento, manejo y utilización de los humedales del noroeste de México. ITESM-Campus Guaymas/CECARENA/ Wetlands for the Americas, México.

Cervantes, M. (2018). Conceptos fundamentales sobre ecosistemas acuáticos y su estado en México. Disponible en: <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones2/libros/533/conceptos.pdf>

Cienfuegos, M.A. y Cienfuegos, A. (2007). Lo cuantitativo y cualitativo en la investigación. Un apoyo a su enseñanza. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/ride/v7n13/2007-7467-ride-7-13-00015.pdf>

Cruz Bautista, Patricia, Martínez Dávila, Juan Pablo, Osorio Acosta, Francisco, López Romero, Gustavo, Estrella Chulin, Néstor, & Regalado López, José. (2017). Marco epistémico para estudiar los agroecosistemas. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 8(1), 159-170. <https://dx.doi.org/10.29312/remexca.v8i1.79>

Duque, C. (2015). Revisión de potencial biológico de las bacterias sulfato-reductoras para la mitigación de metales pesados contaminantes en aguas de uso industrial.

Gelvez, G., Laverde, D. y Escalante, H. (2008). Remoción de metales pesados de drenajes ácidos de minas de carbón usando bacterias sulfato reductoras. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/3420/342030279009.pdf>

Gibson, G. (1990). Physiology and ecology of the sulphate-reducing bacteria. <https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2672.1990.tb01575.x>

Gobierno de Tabasco, (2019). “Macuspana.” Disponible en: <https://tabasco.gob.mx/macuspana> [Consultado: 24 de octubre 2019].

González, C. A., Vallarino, A., Pérez, J. C. Y Low, A. (2014). “Bionindicadores: Guardianes de nuestro futuro ambiental.” Colegio de la Frontera Sur en col. Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático. [Consultado: 24 de octubre 2019].

Guitierrez, A.V., Terrazas, L.E. y Álvarez, M.T. (2009). Cultivo a escala de laboratorio de bacterias sulfato-reductoras acidificas y su aplicación en procesos de biorremediación utilizadas para la precipitación de metales pesados.

Hernández, M. A. (2014). Transformación de los sistemas naturales por actividades antropogénicas. *México: CONABIO*.

Hincapié, J. P. (2017). Elementos ontológicos, epistemológicos y metodológicos para la construcción de un marco teórico de estudio. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/cuco/v18n45/0123-1472-cuco-18-45-00086.pdf>

INEGI. (2018). Agua, Tabasco. Disponible en: <http://cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/tab/territorio/agua.aspx?tema=me&e=27>

INEGI. (2015). Crecimiento poblacional. Disponible en: <http://cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/tab/poblacion/dinamica.aspx?tema=me&e=27>

Instituto Valenciano de Microbiología, IVAMI. (2006). Bacterias reductoras de sulfato: Importancia. Disponible: <https://www.ivami.com/es/microbiologia-de-alimentos/5444-bacterias-productoras-de-h2s-reductoras-de-sulfato-reductoras-de-sulfuro-reductoras-de-azufre-y-otras-moleculas-con-azufre-cultivo-cualitativo-y-cuantitativo-e-identificacion-molecular>

Juárez, R., Rodríguez, A., Torres, L. y Jiménez, B. (2006). Caracterización de bacterias con capacidad sulfato-reductora y su aplicación en el proceso de biodesulfuración de combustóleo mexicano.

Junta de andalucía. (s.f.) Ecosistemas acuáticos. Disponible en: [http://www.juntadeandalucia.es/averroes/centros-tic/14005663/helvia/aula/archivos/repositorio/0/159/html/pedro\\_lopez/carpeta\\_pln/apuntes/archivos\\_apuntes/ECOB14.pdf](http://www.juntadeandalucia.es/averroes/centros-tic/14005663/helvia/aula/archivos/repositorio/0/159/html/pedro_lopez/carpeta_pln/apuntes/archivos_apuntes/ECOB14.pdf)

Legismex. (s.f.). PROY-NMX-AA-121-SCFI-2005. Disponible en: <http://legismex.mty.itesm.mx/normas/aa/nmx-AA-05/proy-nmx-aa-121-scfi-2005.pdf>

Luptakova, A. (2007). Importance of sulphate-reducing bacteria in environment. Department of mineral biotechnologies, Institute of Geotechnics. <https://pdfs.semanticscholar.org/f3d2/ecb1dab5f73df8b615b54f16d32dc66b4f8d.pdf>

Menchaca Dávila, M. d. S. y E. L. Alvarado Michi (2011). "Efectos antropogénicos provocados por los usuarios del agua en la microcuenca del Río Pixquiac." Revista mexicana de ciencias agrícolas 2: 85-96.

Méndez, J.F. (2010). Determinación de existencia y cuantificación de bacterias sulfato-reductoras en sedimentos del lago de xochimilco.

Monje, C.A. (2011). Metodología de la investigación cuantitativa y cualitativa. Guía didáctica. Disponible en: <https://www.uv.mx/rmipe/files/2017/02/Guia-didactica-metodologia-de-la-investigacion.pdf>

Municipios. (2019). Todos los municipios de Tabasco. Disponible en: <https://www.municipios.mx/tabasco/>

Neria, I. Hernández-Rodríguez, C. Wang, E. Ramírez, F. Romero, J. y Amaya, M. (1998). Identificación de bacterias sulfato reductoras presentes en un consorcio anaeróbico aislado de oleoductos.

Para todo México. (2019). Hidrología del estado de Tabasco. Disponible en: <https://www.paratodomexico.com/estados-de-mexico/estado-tabasco/hidrologia-tabasco.html>

Parks Watch. (2004). Reserva de la Biosfera, Pantanos de Centla. Disponible en: <https://www.parkswatch.org/parkprofile.php?l=spa&country=mex&park=pcbr&page=phy>

Parra, D.C. (2008). Aislamiento y caracterización bioquímica y morfológica de bacterias reductoras de sulfato (BSR) provenientes de aguas de producción de un campo petrolero.

Rehm, H.J. y Reed, G. Biotechnology, Vol. 6b, Verlag Chemie GmbH, Weuheim, 1981, 473-475.

Sacaca, C., et al. (2009). "Diversidad y distribución de bacterias sulfato reductoras en sedimentos de lagunas de la cuenca Milluni contaminada por desechos mineros." *Biofarbo* **17**(2): 39-50. [Consultado: 24 de octubre 2019].

Sánchez, O. (2018). Ecosistemas acuáticos: diversidad, procesos, problemática y conservación. Disponible en: <https://micrositios.inecc.gob.mx/publicaciones/libros/533/ecosistemasa.pdf>

Santiago, V. (2018). "Mueren manatíes y otros animales en Tabasco por supuesta contaminación de metales." *Aristegui Noticias*. Disponible en:

<https://aristeguinoticias.com/1008/mexico/mueren-manaties-y-otros-animales-en-tabasco-por-supuesta-contaminacion-de-metales/> [Consultado: 24 de octubre 2019].

Secretaría de Educación Pública. (2019). “Actividades económicas en tu municipio.” Disponible en: <http://www.decidetusestudios.sep.gob.mx/vista/despues-del-bachillerato/actividades-economicas-municipio> [Consultado: 24 de octubre 2019].

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2008). “Impacto humano en el medio ambiente.” Disponible en: [http://www.semarnat.gob.mx/archivosanteriores/informacionambiental/Documents/05\\_serie/yelmedioambiente/1\\_impacto\\_humano\\_v08.pdf](http://www.semarnat.gob.mx/archivosanteriores/informacionambiental/Documents/05_serie/yelmedioambiente/1_impacto_humano_v08.pdf) [Consultado: 24 de octubre 2019].

Senado de la República. (2018) “Proposición con punto de acuerdo, sobre la contaminación en las aguas de los municipios de Macuspana, Centla y Centro, del estado de Tabasco, causando la muerte de manatíes, especie en peligro de extinción.” Disponible en: [https://infosen.senado.gob.mx/sgsp/gaceta/64/1/2018-11-06-1/assets/documentos/PA\\_Sen.Balboa\\_muerte\\_manaties.pdf](https://infosen.senado.gob.mx/sgsp/gaceta/64/1/2018-11-06-1/assets/documentos/PA_Sen.Balboa_muerte_manaties.pdf) [Consultado: 24 de octubre 2019].

Valenzuela, R. (2015). Bioprecipitación de cobre por sulfato-reducción en un reactor anaerobio de lodos granulares expandidos. Disponible en: <http://www.bidi.uson.mx/TesisIndice.aspx?tesis=22284>

Vicente, M. (2006). Uso de bacterias sulfato-reductoras inmovilizadas para la precipitación de metales pesados.