

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIHUAHUA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
CHIHUAHUA**

**DETERMINACIÓN DE PATÓGENOS E INDICADORES
MICROBIOLÓGICOS DE CONTAMINACIÓN DE MANGLARES CON
DIFERENTES GRADOS DE PERTURBACIÓN.**

POR:

Q.B.P. ILSE VIRIDIANA CORRAL DURÁN

**TESIS PRESENTADA COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN BIOTECNOLOGÍA**

CHIHUAHUA, CHIH., MÉXICO

JUNIO DEL 2021



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
CHIHUAHUA

Chihuahua, Chih., a 11 de agosto de 2021.

Oficio: 76/CA/SIP/21

Dr. Ildebrando Pérez Reyes
Secretario de Investigación y Posgrado
Facultad de Ciencias Químicas
Universidad Autónoma de Chihuahua
Presente:

Los integrantes del comité, informamos a Usted que efectuamos la revisión de la tesis intitulada: **"DETERMINACIÓN DE PATÓGENOS E INDICADORES MICROBIOLÓGICOS DE CONTAMINACIÓN DE MANGLARES CON DIFERENTES GRADOS DE PERTURBACIÓN"**, presentada por la estudiante **Q.B.P. Ilse Viridiana Corral Durán**, alumna del programa de Maestría en Ciencias en Biotecnología.

Después de la revisión, indicamos a la tesista las correcciones que eran necesarias efectuar y habiéndolas realizado, manifestamos que la tesis, de la cual adjuntamos un ejemplar, ha cumplido con los objetivos señalados por el Comité de Tesis, por lo que puede ser considerada como adecuada para que se proceda con los trámites para la presentación de su Examen de Grado.

Atentamente
"Por la ciencia para bien del hombre"

Dr. Oskar Alejandro Palacios López
Asesor de tesis

Dr. Jaime Raúl Adame Gallegos
Asesor de tesis



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
SECRETARÍA
INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

Dra. Guadalupe Virginia Nevárez Moorillón
Directora de tesis

Dr. Ildebrando Pérez Reyes
Secretario de Investigación y Posgrado

***El que suscribe certifica que las firmas que aparecen en esta acta, son auténticas, y las mismas que utilizan los C. Profesores mencionados.

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
Circuito Universitario
Campus Universitario #2 C.P. 31125
Tel. +52 (614) 236 6000
Chihuahua, Chihuahua, México
<http://www.fcq.uach.mx>



30 de Julio de 2021

Dr. Ildebrando Pérez Reyes
Secretario de Investigación y Posgrado
Facultad de Ciencias Químicas
Universidad Autónoma de Chihuahua
PRESENTE,

Estimado Dr. Pérez Reyes,

Por medio de la presente me permito informarle que he revisado la tesis “**DETERMINACIÓN DE PATÓGENOS E INDICADORES MICROBIOLÓGICOS DE CONTAMINACIÓN DE MANGLARES CON DIFERENTES GRADOS DE PERTURBACIÓN**”, que presenta la **Q.B.P. Ilse Viridiana Corral Durán**, pasante del programa de **Maestría en Biotecnología**.

Me permito solicitar que el documento sea ahora enviado a los miembros del Comité de Tesis, para su evaluación.

Sin más por el momento, agradezco su atención a la presente


Dra. Guadalupe Virginia Nevárez Moorillón
Directora



La presente tesis forma parte del proyecto “APROXIMACION MULTIDISCIPLINARIA PARA LA GENERACION DE INDICADORES DEL ESTADO DE CONSERVACION DE MANGLARES ARIDO-TROPICALES Y MEJORAMIENTO DE SU RESILENCIA MEDIANTE INGENIERIA DE INTERACCIONES PLANTA-MICROBIOMAS”. El trabajo contó con financiamiento del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, a través del FORDECYT, proyecto No. 297585.

El trabajo experimental se desarrolló en el Laboratorio de Microbiología III, de la Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Chihuahua.



DEDICATORIA

Llena de alegría, amor y esperanza, dedico este proyecto a cada uno de mis seres queridos, quienes han sido mis pilares para salir adelante, principalmente a mis padres, quienes fueron la base de este gran logro.

Es para mí una gran satisfacción poder dedicarles a ellos algo que con mucho esfuerzo, esmero y dedicación logré terminar.



AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer primeramente a Dios y a la Virgen de Guadalupe, quienes siempre me han acompañado y bendecido en el trayecto de mi vida y carrera.

A mis padres, quienes han sido el apoyo más grande que he tenido. Sin duda alguna son mi más grande ejemplo a seguir y mi más grande inspiración. Este trabajo es suyo, es el esfuerzo y dedicación que han puesto en mí y su gran apoyo incondicional, sin dejar a lado a mi perrito Whisky, quien me acompaño en todas mis noches de insomnio estudiando o esperándome a que llegara de esas largas rondas en la escuela.

A mi padre por enseñarme valiente y fuerte ante todas las adversidades, a tener carácter y ser una persona de bien en todos los sentidos. Mi ejemplo a seguir de pies a cabeza por ser un hombre maravilloso. Te agradezco padre, por no soltar mi mano y apoyarme incondicionalmente en cada uno de mis planes. Por estar a mi lado cada que necesito y sin duda alguna, por ser mi amigo. Gracias, por tanto, espero algún día poder recompensar tanto que has hecho por mí.

A mi madre por enseñarme los valores de la vida y no dejarme caer cuando más lo necesito. Mi amiga incondicional, tu gran amor, comprensión y apoyo han sido fundamental en cada paso que doy en mi vida, eres la pieza que complementa mis días y me llena de energía aun en los días malos. Eres mi inspiración y ejemplo a seguir por la maravillosa persona que eres. Gracias por nunca dejarme sola y por enseñarme a ser una mujer independiente y seguir mis sueños, tus consejos los llevo siempre en mi mente y tu amor incondicional. Cada paso que doy es por ti y para ti, nunca lo olvides.

A mis hermanos, quienes han sido pieza clave en mi vida y amo profundamente. Sin ustedes mi vida no sería la misma. Gracias por estar en cada momento importante, dándome su apoyo y cariño. Este logro también es suyo.

De igual manera agradezco infinitamente a mis abuelos, por siempre darme su bendición y amarme de la forma como lo hacen. Gracias por siempre querer lo mejor



para mí y apoyarme de la manera más hermosa que existe; creyendo en mí y alentándome día a día a ser alguien mejor, los amo con el alma.

A mis compañeros del laboratorio de Micro III y amigos, Yaneiry, Quetzal, Alex y Carolina, sin duda alguna la maestría no hubiera sido lo mismo sin ustedes. Compartimos momentos que siempre llevaré en mi corazón y agradezco a Dios por habernos cruzado en el camino de la ciencia. Fueron parte fundamental y un apoyo incondicional. Aún y cuando las cosas no salían bien, su apoyo y ánimos me ayudaron a llegar a la meta, meta que comparto con ustedes y agradezco inmensamente por ello. Los quiero muchísimo y deseo el mayor éxito en sus vidas.

Agradezco a la Dra. Vicky Nevárez, quien además de ejercer su papel de directora de tesis, me ha brindado su amistad y apoyo incondicional durante años. Gracias por siempre guiarme y enseñarme de la mejor manera, así como por hacerme sentir capaz que puedo y ayudarme a salir adelante. Siempre ha sido de mi admiración y lo seguirá siendo, sé que para usted sus logros de vida no son suficientes, pero en verdad admiro mucho su trabajo y a usted como persona. Gracias por tanto tiempo compartido y haberme aceptado en este lindo proyecto de maestría, además de confiar siempre en mí.

A mi novio Erick, por creer siempre en mí, alentarme a salir adelante y hacerme creer en mí misma. Gracias por estar a mi lado en tantos momentos difíciles, pero sobre todo por ayudarme a ser una mejor persona. Ha sido fundamental tu presencia en mi vida y el saber que cualquier plan que tenga en mi vida, estarás a mi lado apoyándome, te amo.

Por último, pero no menos importante, quiero agradecer a CONACYT por haberme apoyado y patrocinado durante los 2 años de mi carrera, ya que sin su apoyo no hubiera sido posible terminar la carrera.



ÍNDICE

I. ANTECEDENTES	1
1.1 Manglares	1
1.2 Contaminación y degradación de los manglares	2
1.3 Monitoreo de manglares	4
1.4 Manglares de Baja California Sur	5
1.4.1 Bahía Magdalena	6
1.4.2 El Mogote	7
1.4.3 Aeropuerto de La Paz (Cola de Ballena)	7
1.5 Microorganismos relacionados con la contaminación	8
1.6 Patógenos e indicadores de contaminación	9
1.6.1 Indicadores de contaminación fecal	9
1.6.2 Bacterias patógenas	11
1.6.3 Patógenos en manglares	14
II. JUSTIFICACIÓN	18
III. HIPÓTESIS	19
IV. OBJETIVO GENERAL	20
V. OBJETIVOS ESPECIFICOS	20
VI. MATERIALES Y MÉTODOS	21
6.1 Materiales	21
6.2 Métodos	22
6.2.1 Área de estudio	23
6.2.2 Sitios de muestreo	23
6.3 Métodos de análisis	29
6.3.1 Aislamiento de <i>Salmonella</i> sp.	29
6.3.2 Pruebas bioquímicas <i>Salmonella</i> sp.	31
6.3.3 Aislamiento de <i>Vibrio</i> sp. y <i>Aeromonas</i> sp.	32
6.3.4 Pruebas bioquímicas para la identificación de <i>Vibrio</i> sp. y <i>Aeromonas</i> sp. 33	
6.3.5 Recuento de microorganismos indicadores de calidad	37
6.3.6 Análisis estadístico	38
VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	40



7.1. Estandarización de metodologías	40
7.1.1. Estandarización de Filtración por membrana para bacterias indicadoras de calidad	40
7.1.2. Estandarización para el aislamiento de <i>Salmonella</i> sp.	43
7.1.3. Estandarización para el aislamiento de <i>Vibrio</i> sp. y <i>Aeromonas</i> sp.	45
7.2. Recuento de bacterias indicadoras de calidad	47
7.3. Presencia de bacterias patógenas	58
7.3.1. <i>Aeromonas</i> sp.	58
7.3.2. <i>Vibrio</i> sp.	62
7.3.3. <i>Salmonella</i> sp.	67
VIII. CONCLUSIÓN	68
IX. BIBLIOGRAFÍA	68
X. ANEXOS	82



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Lectura de placa CHROMagar Orientador	38
Tabla 2. Pruebas bioquímicas de <i>Aeromonas</i> sp. obtenidas de manglares árido-tropicales de Baja California Sur	61
Tabla 3. Características macroscópicas y microscópicas de bacterias <i>Aeromonas</i> aisladas de manglares árido-tropicales de Baja California Sur.....	62
Tabla 4. Pruebas bioquímicas de <i>Vibrio</i> sp. obtenidas de manglares árido-tropicales de Baja California Sur.	65
Tabla 5. Características macroscópicas y microscópicas de bacterias <i>Vibrio</i> aisladas de manglares árido-tropicales de Baja California Sur.	66
Tabla 6. Presencia de bacterias patógenas en manglares de Baja California sur.	66
Tabla 7. Recuento de bacterias indicadoras de calidad en manglar El Mogote.	83
Tabla 8. Recuento de bacterias indicadoras de calidad en manglar Bahía Magdalena.....	85
Tabla 9. Recuento de bacterias indicadoras de calidad en manglar Aeropuerto de La Paz.....	87
Tabla 10. Coordenadas geográficas de los puntos de muestreo en el manglar Aeropuerto de La Paz.....	89
Tabla 11. Coordenadas geográficas de los puntos de muestreo en el manglar Lagunitas (Sitio perturbado del manglar El Mogote).	89
Tabla 12. Coordenadas geográficas de los puntos de muestreo en el manglar El Mogote (Sitio conservado del manglar El Mogote).	89
Tabla 13. Coordenadas geográficas de los puntos de muestreo en el manglar San Carlos (Sitio conservado del manglar Bahía Magdalena).	89
Tabla 14. Coordenadas geográficas de los puntos de muestreo en el manglar Termoeléctrica CFE (sitio perturbado del manglar Bahía Magdalena).	90



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Manglares de Baja California Sur	6
Figura 2. Ciclo de contaminación y presencia de patógenos en manglares.	16
Figura 3. Localización de manglares árido-tropicales de Baja California Sur. . .	23
Figura 4. Localización y coordenadas geográficas de los puntos de muestreo del manglar Aeropuerto de La Paz.....	24
Figura 5. Localización y coordenadas geográficas de los puntos de muestreo del sitio perturbado del manglar El Mogote.....	26
Figura 6. Localización y coordenadas geográficas de los puntos de muestreo del sitio conservado del manglar El Mogote.....	27
Figura 7. Localización y coordenadas geográficas de los puntos de muestreo del sitio conservado del manglar Bahía Magdalena.....	28
Figura 8. Localización y coordenadas geográficas de los puntos de muestreo del sitio perturbado del manglar Bahía Magdalena.....	29
Figura 9. Metodología para el aislamiento de <i>Salmonella</i> sp. en sedimentos de manglares (NOM-242-SSA1-2009). Imagen creada en © BioRender 2021.....	30
Figura 10. Metodología para el aislamiento de <i>Vibrio</i> sp. y <i>Aeromonas</i> sp. Imagen creada en © BioRender 2021.	32
Figura 11. Identificación de cepas de <i>Vibrio</i> sp.....	33
Figura 12. Método de filtración por membrada para el recuento de bacterias indicadoras de calidad. Imagen creada en © BioRender 2021.....	37
Figura 13. Controles positivos de bacterias indicadoras por método de filtración de membrana de muestras de sedimento.....	41
Figura 14. Controles negativos de bacterias indicadoras por método de filtración de membrana de muestras de sedimento.....	42
Figura 15. Controles de <i>Salmonella typhi</i> en Agar Sulfito de Bismuto de muestras de sedimento.	43
Figura 16. Controles de <i>Salmonella typhi</i> en Agar Verde Brillante de muestras de sedimento.	44
Figura 17. Controles de <i>Vibrio cholerae</i> en agar TCBS de muestras de sedimento.	46
Figura 18. Controles de <i>Vibrio parahaemolyticus</i> en agar TCBS de muestras de sedimento.	46



Figura 19. Controles de <i>Aeromonas</i> sp. en Agar Base <i>Aeromonas</i>.	47
Figura 20. Recuentos de bacterias indicadoras (UFC/g) en sedimentos de manglares árido-tropicales de Baja California Sur.	48
Figura 21. Recuentos de bacterias indicadoras (UFC/g) de sedimentos en los sitios de manglares árido-tropicales de Baja California Sur.	49
Figura 22. Recuentos de bacterias indicadoras (UFC/g) en diferentes profundidades de sedimentos en el sitio conservado y perturbado del manglar Bahía Magdalena.	51
Figura 23. Recuentos de bacterias indicadoras (UFC/g) en diferentes profundidades de sedimentos en el sitio conservado y perturbado del manglar El Mogote.	54
Figura 24. Recuentos de bacterias indicadoras (UFC/g) en diferentes profundidades de sedimentos en manglar Aeropuerto de La Paz.	56
Figura 25. Tinción de Gram de colonias típicas de <i>Aeromonas</i> sp.	60
Figura 26. Tinción de Gram de colonias típicas de <i>Vibrio cholerae</i> y <i>Vibrio parahemolyticus</i>.	63



LISTA DE ABREVIACIONES

SMMN	Sistema de Monitoreo de Manglares de México
μm	Micrómetros
mm	Milímetros
g	Gramos
μL	Microlitros
mL	Mililitros
UFC	Unidades formadoras de colonias
h	Hora
min	Minutos
SCC	San Carlos
CFE	Termoeléctrica CFE
MM	Manglar el Mogote
ML	Manglar Lagunitas
CDB	Manglar aeropuerto de La Paz (Cola de ballena)
cm	Centímetros
$^{\circ}\text{C}$	Grado Celsius
ha	Hectáreas
SH_2	Sulfuro de hidrógeno
NaCl	Cloruro de sodio
H_2O_2	Peróxido de hidrógeno
O_2	Oxígeno
LIA	Agar Lisina y Hierro
MIO	Agar Motilidad, Indol, Ornitina



RESUMEN

Los manglares son ecosistemas costeros con gran biodiversidad y desempeñan un papel ecológico importante. Debido a la rápida industrialización y la descarga de aguas residuales, los manglares reciben diversos contaminantes, generando un impacto directo en la salud de plantas, animales y humanos. Por lo tanto, el objetivo del trabajo es evaluar la presencia de microorganismos patógenos e indicadores en manglares árido-tropicales prioritarios de Baja California Sur con diferente estado de perturbación. Se tomaron muestras de sedimento a diferentes profundidades para el aislamiento de bacterias patógenas como *Salmonella* sp., *Vibrio* sp., y *Aeromonas* sp. Asimismo, se realizó el conteo de bacterias indicadoras de calidad a través del método de filtración por membrana. Conforme los resultados obtenidos, se observaron diferencias estadísticamente significativas en el conteo de microorganismos indicadoras, entre los manglares y dentro de cada manglar, en los distintos sitios analizados. El Manglar Aeropuerto de La Paz fue el que obtuvo una mayor presencia de bacterias indicadoras de calidad aún a mayor profundidad (2.69 ± 0.39 UFC/g), por otro lado, el manglar Bahía Magdalena (2.15 ± 0.97 UFC/g) y El Mogote (1.46 ± 0.65 UFC/g) obtuvieron un mayor recuento de bacterias indicadoras en los sitios conservados a una menor profundidad. En el caso del aislamiento de bacterias patógenas se encontró la presencia de *Vibrio* sp. y *Aeromonas* sp. en cada uno de los manglares, pero no se obtuvieron cultivos de *Salmonella* sp. Los resultados indican que los manglares muestreados se encuentran afectados debido a que las deficientes prácticas en tratamientos de efluentes industriales y la mala disposición de residuos urbanos de comunidades aledañas, causando la presencia de microorganismos que presentan un riesgo para la salud humana y el ecosistema.

Palabras clave: Manglares, contaminación, bacterias patógenas, bacterias indicadoras



ABSTRACT

Mangroves are coastal ecosystems with a high biodiversity, with an important ecological role in the marine and terrestrial ecosystems. Mangroves receive various pollutants when close to human settlements, due to rapid industrialization and wastewater discharge, with the consequent direct impact on the health of plants, animals and humans. Therefore, the objective of this work was to evaluate the presence of pathogenic and indicator microorganisms in priority arid-tropical mangroves of Baja California Sur with different state of disturbance. Sediment samples were taken at different depths for the isolation of pathogenic bacteria such as *Salmonella* sp., *Vibrio* sp., and *Aeromonas* sp. In addition, indicator bacteria were counted using the membrane filtration method. According to the results, statistically significant differences were observed in the count of indicator microorganisms between mangroves and within each mangrove, in the different sites analyzed. The Aeropuerto de La Paz Mangrove was the one that obtained a higher presence of quality indicator bacteria even at greater depth (2.69 ± 0.39 CFU/g), on the other hand, the Bahía Magdalena mangrove (2.15 ± 0.97 CFU/g) and El Mogote (1.46 ± 0.65 CFU/g) obtained a higher count of indicator bacteria in the sites preserved at a shallower depth. In the case of pathogenic bacteria isolation, the presence of *Vibrio* sp. and *Aeromonas* sp. was found in each of the mangroves, but no cultures of *Salmonella* sp. were obtained. The results indicate that the sampled mangroves are affected due to deficient industrial effluent treatment practices and poor disposal of urban waste from nearby communities, causing the presence of microorganisms that present a risk to human health and the ecosystem.

Key words: Mangroves, contamination, pathogenic bacteria, indicator bacteria.



I. ANTECEDENTES

1.1 Manglares

Los manglares son definidos como ecosistemas que desempeñan un importante papel ecológico. Están conformados de vegetación dominante de árboles y arbustos leñosos que crecen en hábitats de inundación y altas concentraciones de salinidad (Hogarth, 2015). Se encuentran principalmente en las costas tropicales y subtropicales debido a sus características fisiológicas como la temperatura, por lo que se encuentran limitados en su expansión por los polos, ya que no toleran las bajas temperaturas (menor a 5°C) (Barizan et al., 2018). Se distribuyen principalmente entre las zonas terrestres y marinas y se desarrollan entre la desembocadura de ríos y arroyos, por lo que se encuentran expuestos a diversos factores de estrés. Por ello, las plantas de mangle han desarrollado diversas adaptaciones ante cambios constantes en concentraciones de salinidad, inundaciones regulares del suelo, los cambios en los sedimentos y las bajas concentraciones de oxígeno en el agua (López et al., 2016).

En los manglares se mantiene una gran biodiversidad y componentes bióticos que abarcan desde plantas, animales y organismos microbianos, ofreciendo una amplia gama de servicios ambientales a la humanidad (Reef et al., 2010). Actúan como refugios naturales para la reproducción y el desarrollo de diversas especies de flora y fauna, principalmente de vegetación restringida al ambiente intermareal, incluyendo grupos taxonómicos que juegan un papel importante en el ecosistema (Solomon, 2019).

Existe aproximadamente 80 especies de árbol mangle clasificados en más de 20 familias (Solomon, 2019). En México se encuentran principalmente los géneros de; *Rhizophora mangle*, o también llamado mangle rojo; *Laguncularia racemosa*, también denominado mangle blanco; *Avicennia germinans* que es conocido también como mangle negro y *Conocarpus erectus* o mangle botoncillo (Rodríguez et al., 2013).



El gran valor de los manglares va desde la riqueza de sus recursos naturales, como en los servicios ambientales que proporcionan. Actúan como sistemas de amortiguamiento en inundaciones, ya que reducen las olas causadas por vientos y mareas a través de la fricción que tiene el ecosistema, el ancho, la densidad y la forma de los árboles. Previenen la erosión del suelo mediante las raíces aéreas de los árboles y la retención de sedimentos, permitiendo la estabilización del suelo (Menéndez et al., 2020). Actúan como filtros biológicos, ya que permiten remover nutrientes y toxinas, atenúan la radiación solar, favorecen la creación de suelos y actúan como sumideros de bióxido de carbono, permitiendo que se acumule en la biomasa de los árboles (Acampora, 2016).

Estudios recientes demuestran que la biodiversidad en manglares se relaciona positivamente con su funcionalidad, que permite llevar a cabo diferentes actividades humanas para su sostenibilidad. Un ejemplo son las actividades antropogénicas, que permiten fomentar la reproducción de peces, moluscos entre otros alimentos, así como la producción de madera, combustible y medicinas (Carugati et al., 2018).

Existen diversos procesos clave de soporte vital para los manglares, tales como; el suelo, los ciclos biogeoquímicos, la productividad de las plantas o la regulación del clima que se producen principalmente por diversos microorganismos. Por lo tanto, es importante evaluar la estabilidad y el funcionamiento del ecosistema para que dichas funciones puedan preservarse (Griffiths y Philippot, 2012).

1.2 Contaminación y degradación de los manglares

Durante el siglo pasado, la mitad de la superficie ocupada por manglares a nivel mundial se ha transformado o drenado, y muchos de los manglares que existen hoy están gravemente amenazados (Alatorre et al., 2015). Los daños causados al ecosistema provocan grandes pérdidas de la biodiversidad y las funciones naturales. Esto conlleva a una disminución de la protección costera ante inundaciones, desastres naturales y la capacidad de sobreponerse ante daños y perturbaciones (Cotta et al., 2019). La degradación del manglar puede ser por causas tanto naturales como por actividades antrópicas como, la acuicultura, agricultura, ganadería, turismo y urbanización (País, 2005). Como causas naturales se



encuentran: el enriquecimiento de nutrientes, que es una amenaza grave para los ecosistemas costeros, incluye la proliferación de algas, la degradación de los arrecifes de coral y la pérdida de diversidad (Lovelock et al., 2009). Por otro lado, el cambio climático aumenta por largos plazos con impactos más graduales y aumenta el nivel del mar, intrusión salina y erosión del suelo (Barbier, 2016).

La urbanización ha aumentado en gran medida en los últimos años, abarcando hábitats de manglares debido a que es una zona de conversión del ambiente terrestre al marino. Alrededor del 50% de la población mundial viven cerca de las costas, lo que ha generado un allanamiento del suelo por la competencia del desarrollo urbano e industrial, conllevando a la desaparición de grandes extensiones de manglares (Seto et al., 2013).

Los manglares reciben una carga cada vez mayor de diversos contaminantes biológicos y químicos, causando contaminación y daños en los ecosistemas (Bordalo et al., 2002). Gran porcentaje de la basura que queda disponible en dichos ecosistemas corresponde a plástico; una subcategoría de estos mismos son los micro plásticos, que se consideran un problema mayor por su gran abundancia. La presencia de micro plásticos permite introducir compuestos orgánicos tóxicos y metales pesados al ambiente, causando diversos efectos adversos en especies que los acumulan, además de actuar como vectores de diversos microorganismos patógenos (Garcés y Arenas, 2019). Por otro lado, debido a las características que presentan los sedimentos del manglar, funcionan como un sumidero para diversos contaminantes, por contener una alta concentración de materia orgánica y por encontrarse en condiciones anaeróbicas (Shi et al., 2020). Además, poseen propiedades físicas y químicas que les permiten acumular materiales descargados, metales pesados y otros contaminantes al medio marino cercano a la costa, representado en sí, un reservorio para la absorción biológica y toxicidad. Con respecto a los metales pesados, estos no se pueden degradar biológicamente, pero se transfieren y se concentran en los tejidos vegetales desde los suelos y esto presenta efectos perjudiciales a largo plazo para las plantas (Defew et al., 2005).



Otra consecuencia es la aparición de hipoxia en los manglares y esto continúa avanzando debido a la mala disposición de efluentes tanto industriales como urbanos, misma que provoca un sobre enriquecimiento de nutrientes debido a una disminución de los niveles de oxígeno por largos periodos de tiempo, y genera una disminución de la biodiversidad. Tanto la estructura del ecosistema como el funcionamiento se ven completamente alterados (Rabalais et al., 2002).

Los conglomerados urbanos, el sistema de alcantarillado y el drenaje urbano son generalmente de baja eficiencia, lo que genera cargas crecientes de desechos en los ecosistemas. El alcance de la contaminación provoca aumentos en el número de microorganismos que pueden ser tanto bacterias indicadoras de contaminación fecal, como microorganismos patógenos. En este caso las aguas residuales domésticas son una de las principales fuentes de contaminación marina y debido a las condiciones de materia orgánica, se proporciona un ambiente favorable para el crecimiento o supervivencia de diferentes microorganismos que más adelante se tratarán específicamente (Abbu y Lyimo., 2007).

1.3 Monitoreo de manglares

Existen diversos programas que se encargan de monitorear los manglares a nivel nacional como el Sistema de Monitoreo de Manglares de México (SMMN). Su objetivo es identificar los cambios en el ecosistema para poder llevar a cabo la conservación y un mejor manejo del manglar mediante cuatro componentes principales:

- 1)** Distribución espacial de manglares por medio de la elaboración de mapas observando la expansión y cobertura de los manglares.
- 2)** Caracterización de los manglares con base a los grados de perturbación (a causas naturales o por el ser humano), amenazas (presentes y futuras) y distribución de especies.
- 3)** Colaboración con múltiples instituciones con el fin de retroalimentar, apoyar y fortalecer al sistema de monitoreo de manglares y en beneficio de los ecosistemas.



4) Dimensión social, a través de los índices de antropización y amenazas, que permite conocer la pérdida del ecosistema debido a las actividades acuícolas y de urbanización (CONABIO, 2021).

De igual forma, se cuenta con sistemas de monitoreo a nivel internacional como lo es la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (International Union for Conservation of Nature, en inglés) (IUCN, 2013) o la Alianza Global de Manglares (Global Mangrove Alliance) cuyos objetivos, son la conservación de los recursos naturales existentes (Adame a) et al., 2020).

La Convención Relativa a los Humedales de Importancia Internacional (La convención Ramsar) es un tratado intergubernamental mundial que se centra en un único sistema que son los manglares (Ramsar, 2015). Su misión es la conservación y el uso racional de los humedales mediante acciones locales y nacionales para detener la pérdida y degradación de los ecosistemas en conjunto con asociaciones internacionales (McInnes et al., 2017).

1.4 Manglares de Baja California Sur

A nivel mundial se han reportado un total de 13,776,000 hectáreas (ha) de manglares; México es el 4to. país con una mayor extensión representando el 5% de la cobertura total mundial. Para el año 2015 se reportaron un total de 775,555 ha a nivel nacional, siendo el Pacífico Norte el segundo lugar con una mayor superficie de manglares en el país con un total de 187,383 ha (24.2%), región a la que pertenecen los manglares en los que se enfoca esta investigación (Valderrama et al., 2017).

Baja California Sur pertenece a una región subtropical dentro de las latitudes 20° y 33° clasificándose como zona árida. Los manglares que se encuentran principalmente en climas áridos se caracterizan por experimentar bajas precipitaciones, altas temperaturas (mayores a los 18°C), bajas concentraciones de humedad e hipersalinidad causando un estrés fisiológico a la vegetación característica de dichos ecosistemas. Sin embargo, proporcionan grandes servicios ecosistémicos para la región, como la gran biodiversidad, altas tasas de secuestro de carbono, actividades como la pesca y también son denominados ecosistemas leñosos altamente productivos (Adame b) et al., 2020).

El presente trabajo se enfoca en tres áreas de estudio, en los manglares de El Mogote, Aeropuerto de La Paz y Bahía Magdalena (Figura 1).



Figura 1. Manglares de Baja California Sur

1.4.1 Bahía Magdalena

Bahía Magdalena es una laguna que se encuentra localizada a lo largo de la costa occidental del estado de Baja California Sur, entre los municipios de Comondú y La Paz. Se caracteriza por presentar un clima semiárido pudiendo alcanzar temperaturas de 35 a 40°C en verano y mínimas de 3 a 10°C en invierno. La zona costera de Bahía Magdalena se encuentra bajo la convención internacional Ramsar, ya que es considerada de importancia ecológica y prioritaria (Ortega et al., 2015).

Bahía Magdalena, es considerada desde un punto de vista ecológico y marino, como un centro de actividad biológica, ya que presenta un alto nivel de productividad primaria y secundaria, dado que en este ecosistema se encuentran altas densidades



de especies, que tienen importancia ecológica y comercial (Cruz et al., 2013). Este ecosistema actúa como corredor biológico y zona de refugio de diversas aves ya que alberga alrededor de 24 especies, por lo cual es designado como Área Natural Protegida. Además, es uno de los destinos más importantes para la migración y reproducción de la ballena gris. Por otro lado, alberga diversas especies de árbol mangle como son *Rhizophora mangle*, *Avicennia germinans* y *Laguncularia racemosa*, mismas que se encuentran bajo amenaza (Acosta y Vázquez, 2009). La gran afectación del ecosistema ha sido a causa de la tala de árboles y la fragmentación de la comunidad del manglar debido a la presencia de una central hidroeléctrica, así como la destrucción del hábitat por la instalación de fábricas de conserva para la pesquería y muelles (Acosta y Vázquez, 2009).

1.4.2 El Mogote

Mogote se encuentra en la porción Sur de la península de Baja California, al fondo de la Bahía de La Paz y en el municipio de La Paz con un área superficial de 9,184.07 ha y es considerado un sitio Ramsar criterio 4 y 5 (Anexo III) debido a que es el manglar más grande de la ensenada y es área de anidación de diversas aves vadeadoras. El Mogote es una laguna somera de 10 m. promedio de profundidad y una barrera arenosa que se comunica con la Bahía de La Paz con un canal de 4.5 km. aprox. de longitud y profundidad de 10 m. aproximadamente. Se encuentra compuesta básicamente por *Avicennia germinans* (mangle negro) y *Rhizophora mangle* (mangle rojo), además ésta última es endémica y son utilizados principalmente para brindar alimento, refugio y descanso. Por otro lado, es un sitio designado para la crianza de diversas especies marinas y terrestres, entre ellas peces, crustáceos, moluscos y principalmente aves. Este ecosistema es de gran valor hidrológico, ya que actúa como estabilizador de la línea costera, funciona como una red que permite retener energía sintética, producto del oleaje del mar y también permite la retención de sedimentos (ganancia de terrenos al mar). Esta zona es utilizada para uso recreativo y balneario, así como para la práctica de diversos deportes como buceo, pesca y veleo, entre otros (Mendoza, 2007).

1.4.3 Aeropuerto de La Paz (Cola de Ballena)

La información presentada en la literatura es escasa en el caso del manglar Aeropuerto de La Paz (Cola de Ballena) por lo que se pretende aportar más información de dicho sitio. Este ecosistema se encuentra en el suroeste de la ciudad de La Paz sobre la zona mareal a lo largo de la orilla de la laguna y se compone de arena lodosa. Se conoce que en este sitio la visita por personas ocurre muy esporádicamente.

1.5 Microorganismos relacionados con la contaminación

El ecosistema de manglar forma un puente entre los ecosistemas terrestres y marinos y en estos alberga una gran diversidad microbiana única. Existen comunidades microbianas de los manglares que son responsables del ciclo de nutrientes y juegan un papel importante y vital en la productividad, conservación y en la rehabilitación de los ecosistemas de manglares, tal como *Deltaprotobacteria*, *Gammaprotobacteria*, *Alphaprotobacteria*, *Betaprotobacteria* y *Epsilonprotobacteria* (Dhal et al., 2020).

Existen diferentes estudios en donde mencionan que, debido a la rápida industrialización y la descarga de aguas contaminantes o residuales, los manglares reciben una carga cada vez mayor de diferentes contaminantes biológicos y químicos. Esto ha ocasionado la presencia de diversos microorganismos, incluyendo *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. y *Vibrio* spp. entre otros, provocando contaminación en los alimentos debido a las aguas residuales que son vertidas en los ecosistemas. Como resultado de estas actividades, el nivel o la contaminación en el entorno costero es pobre y esto tiene importantes consecuencias socioeconómicas y riesgos microbiológicos potenciales para la salud humana (Fernández 2017; Poharkar et al., 2016).

Numerosos factores que incluyen antibiosis, materia orgánica, toxinas de algas, nutrientes disueltos, metales tóxicos y temperatura permiten la transferencia de diversos microorganismos y su supervivencia (Obiri y Jones, 2000). En los manglares, la supervivencia de los microorganismos está influenciada por las partículas de sedimento. Esta asociación es causada por diferentes desempeños ecológicos de sedimentos: 1) proporciona un lugar para la unión microbiana; 2) este



sirve como sustancia orgánica y aporta nutrientes para los microorganismos en forma favorable; 3) sirve como protector ante el estrés ambiental causado por los rayos UV y la luz solar; 4) como sustancia polimérica extracelular de bacterias, ya que mejora la floculación del sedimento permitiendo una mejor unión a las partículas para así crear una matriz de flocúlos. Debido a que tienen un comportamiento hidrodinámico, esto le confiere protección contra las mareas y las altas concentraciones de salinidad que causan que las bacterias no puedan sobrevivir (Karbadehi et al., 2017; Tournon et al., 2007).

1.6 Patógenos e indicadores de contaminación.

1.6.1 Indicadores de contaminación fecal

Para determinar la calidad microbiológica de los ecosistemas naturales y acuáticos, se utilizan microorganismos indicadores de contaminación fecal. El grupo incluye coliformes totales, termotolerantes, *E. coli* y enterococos que se encuentran principalmente en el tracto gastrointestinal de humanos y diversos animales de sangre caliente. La presencia de *E. coli* y enterococos se han relacionado más como un riesgo de salud pública en comparación con los otros grupos que comprenden los coliformes totales y fecales (Farnleitner et al., 2010; Larrea et al., 2013). El análisis de la calidad microbiológica se lleva a cabo mediante el recuento de las bacterias indicadoras de contaminación fecal (González et al., 2010). Existen diversas limitaciones, una de ellas es muerte de los microorganismos; al introducirse en cuerpos de agua (hábitat secundario) sus condiciones ambientales difieren al tracto gastrointestinal o materia fecal (hábitat primario), causando una gran limitación de reproducción y sobrevivencia de los microorganismos (Korajkic et al., 2019).

1.6.1.1 Coliformes totales

Dentro de los microorganismos indicadores se encuentra el grupo de coliformes totales, estos son definidos como facultativos, bacilos Gram negativos, no formadores de esporas y que son capaces de fermentar lactosa con la producción de ácido y gas a una temperatura de 32-35°C (Keeratipibul et al., 2016), son oxidasas negativas y presentan actividad enzimática de la β -galactosidasa. Entre los



coliformes totales se encuentran diferentes géneros como *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter* y *Klebsiella* (Sánchez et al., 2014).

1.6.1.2 Coliformes termotolerantes

Este grupo es conformado por un número menor de microorganismos. Se caracterizan por tener una alta tolerancia de temperaturas elevadas (hasta 45°C) y ser indol positivo (Del Pilar et al., 2005). La mayoría de estas bacterias están representadas por el género y especie de *E. coli*, pero se pueden encontrar también bacterias como *Citrobacter freundii* y *Klebsiella pneumoniae* (Whitlock et al., 2002). Su origen principalmente es en ambientes naturales y solo algunas veces forman parte de la microbiota o tracto gastrointestinal. Estas bacterias se utilizan en estudios de seguimiento de fuentes microbianas y permite una mejor evaluación de riesgos, remediación y evaluación del ambiente (Fernández, 2017).

1.6.1.3 *Escherichia coli*

E. coli pertenece a la familia Enterobacteriaceae, es un bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo y forma parte principalmente del tracto gastrointestinal del ser humano y diversos animales de sangre caliente. Es considerado el microorganismo más abundante de las bacterias facultativas intestinales (Jang et al., 2017). Con base en estudios epidemiológicos realizados en la década de los 80's, se encontraron altas concentraciones de *E. coli* en aguas recreativas, que se relacionaron con enfermedades gastrointestinales, esto llevó a clasificarlo como un indicador de contaminación fecal (Edberg et al., 2000). Dichas enfermedades gastrointestinales incluyen desde una diarrea leve o sanguinolenta, hasta poder causar síndrome urémico que afecta a los humanos de todas las edades (Vergine et al., 2015).

Según Vergine y colaboradores (2015), la sobrevivencia de *E. coli* y otras bacterias entéricas se ven influenciada por diversos factores ambientales. La disposición de materia orgánica, el pH, la temperatura, los nutrientes y humedad disponibles según el ambiente y la radiación solar. Esto conlleva a que este microorganismo no se duplique de manera correcta fuera de su hábitat natural, por lo que tiende a disminuir su concentración después de un evento de contaminación fecal.



1.6.1.4 ***Enterococcus***

Los enterococos son cocos Gram positivos no formadores de esporas. Tienen arreglo en cadena corta o pares, son anaerobios facultativos con metabolismo fermentativo y de crecimiento óptimo a 37°C y forman parte de la microbiota del tracto gastrointestinal del humano y en ocasiones se encuentran en el tracto genital la mujer (Larrea et al., 2013). Las infecciones causadas por *Enterococcus* comprende tracto urinario, septicemias, intraabdominales, endocarditis, entre otras (Quiñones et al., 2008).

Las especies más comunes en humanos son *Enterococcus faecalis* y *E. faecium* que son aisladas con mayor frecuencia en casos clínicos (90%) a comparación de *E. gallinarum*, *E. raffinosus*, *E. casseliflavus* y *E. avium* que son aisladas en una menor proporción. Una característica importante de *Enterococcus* es que tienen la capacidad de adaptarse y persistir en ambientes estresantes (Díaz et al., 2010).

1.6.2 **Bacterias patógenas**

1.6.2.1 ***Aeromonas* sp.**

Las *Aeromonas* son bacterias Gram negativas, oxidasa positiva (Stratev y Odeyemi, 2016). Tienen forma de bacilos, son anaerobias facultativas, no formadoras de esporas, autóctonas y ampliamente distribuidas en ambientes acuáticos (Daskalov, 20016). Estas especies son conocidas como agentes causantes de diversas enfermedades en los seres humanos como en los animales, especialmente en los países que se encuentran en desarrollo debido a la falta de higiene personal y la baja calidad del agua (Bastos et al., 2019). Estudios recientes han demostrado que algunas especies móviles de *Aeromonas* se están convirtiendo en patógenos alimentarios y acuáticos de gran importancia (Ordóñez y Bayona, 2019).

Diversas especies de *Aeromonas* que son considerados patógenos oportunistas como *Aeromonas hydrophila*, *A. caviae* y *A. veronii* biovar sobria, son agentes etiológicos de una amplia gama de enfermedades en el ser humano. Entre



ellas se encuentran infecciones extra e intraintestinales, bacteriemias, gastroenteritis, peritonitis y sepsias, y se dan principalmente en personas que se encuentran inmunocomprometidas (Batra et al., 2016; Fernández y Figueras, 2020).

Aunque es principalmente un residente de aguas dulces, las especies de *Aeromonas* pueden recuperarse de la capa epipelágica (\downarrow 200 m) del océano (a diferencia de las regiones bentónicas). Los estuarios son ideales para estos microorganismos, ya que las concentraciones de salinidad son sustancialmente más bajas allí que en las regiones más profundas (bentónicas) del océano (Janda y Abbott, 2010).

De acuerdo con Castro y colaboradores (2002), la transmisión de *Aeromonas* se da principalmente por el consumo de agua y/o alimentos contaminados como también por el contacto directo con ecosistemas acuáticos. Si la persona sufre de una herida cutánea, esto propicia que el microorganismo pueda infectar y causar daños al ser humano. También se ha relacionado un aumento de casos diarreicos dependiendo de la estación del año, debido a que la temperatura ambiente mayor a los 20°C, actúa como un factor importante para la distribución de *Aeromonas*, por lo tanto, se considera que el agua y diversos alimentos actúan como el principal transmisor del microorganismo (Hochedez et al., 2010).

1.6.2.2 *Salmonella* sp.

El género *Salmonella* es miembro de la familia *Enterobacteriaceae* (Winfield y Groisman, 2003). Son Gram negativos, móviles en la mayoría de los casos por la presencia de flagelos peritricos, a excepción de *Salmonella* Gallinarum y *Salmonella* Pullorum (Mezal et al., 2014). Se caracterizan por no fermentar la lactosa, no producir desaminasas y se identifican principalmente con base a sus propiedades bioquímicas (Rincón et al., 2011). Existen 2 especies de *Salmonella*: *Salmonella enterica* y *Salmonella bongori*. En las primeras encontramos a las *Salmonellas* de importancia médica que se dividen en 6 subespecies y en más de 2500 serotipos. Por otro lado, *S. bongori* se divide en 22 serotipos (Feasey et al., 2012; Lamas et al., 2018).

El género de *Salmonella* ha sido representado como de gran importancia para la salud pública a nivel mundial, ya que es una de las principales causas de enfermedades transmitidas por alimentos y causante de miles de muertes en el mundo. Tal como mencionan Odoch y colaboradores (2017), se ha estimado alrededor de 93,8 millones de enfermedades, provocando 155 000 muertes por año. Por otro lado, las enfermedades de *Salmonella* no tifoidea invasivas han llegado a causar 3.4 millones de casos con 681.316 muertes por año.

El género de *Salmonella* tiene una inclinación limitada al tracto digestivo de huéspedes tanto humanos como animales. Por lo tanto, la presencia de *Salmonella* en otros hábitats como el agua, el medio ambiente y los alimentos representa contaminación fecal (Jajere, 2019).

Se ha relaciona a los animales domésticos y salvajes como portadores potenciales de *Salmonella*. Con la dispersión de la excreta animal en el medio ambiente, esta bacteria se propaga (Stevens et al., 2009). Tales desechos fecales eventualmente se mezclan con los cuerpos de agua o medio ambiente, lo que resulta en la contaminación del ecosistema y la cadena alimentaria. Un punto importante para *Salmonella*, es que existen diversos factores importantes para su supervivencia e inclusive su diseminación como el clima, materia orgánica disponible, transporte entre otros, así como también del serotipo de la bacteria (Pires et al., 2014).

Se ha sugerido que los suelos, sedimentos, agua y vida silvestre contaminados pueden desempeñar un papel importante en la transmisión de *Salmonella* spp. a humanos debido a la capacidad de persistir en dichos ambientes (Poharkar et al., 2016). Existen otras vías de transmisión; vertical y horizontal. La primera es principalmente de serotipo *enteritidis*, y es causada por la infección de aves de corral o ganado bovino al contaminar sus productos alimenticios e inclusive transmitirse de la madre del feto al útero, por otro lado, la transmisión horizontal es principalmente por vía fecal oral o aerógena. La bacteria puede diseminarse a través del alimento, agua potable, portadores asintomáticos y mediante las heces de animales infectados con enfermedad clínica (Jajere, 2019; Zamora y Alvarado, 2017).



1.6.2.3 *Vibrio* sp.

Las especies de *Vibrio* son bacilos Gram negativos curvos, tolerantes a altas concentraciones de salinidad y alcalinidad. Estos microorganismos son estratégicamente copiotróficos y oportunistas (Wilks et al., 2003). Debido a las especies, difieren en su tendencia de causar enfermedades que van desde diarrea hasta infecciones tisulares, entre otras. Dentro de los géneros de *Vibrio* se encuentran 12 especies, las cuales son consideradas patógenas para el hombre, con base en la gravedad de enfermedad que provocan se encuentran *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus* (Leyva et al., 2013). Se ha descubierto que utilizan distintos compuestos orgánicos de carbono, como la quitina, el alginato y el agar. Estos hallazgos sugieren que estos pueden ejercer grandes impactos en los procesos biogeoquímicos en el ecosistema marino (Wang et al., 2004).

Este microorganismo se encuentra de manera natural en diversos ambientes acuáticos principalmente en entornos costeros que se caracterizan por ser de agua salada, para el caso de las especies patógenas, se encuentran principalmente en relación con clima tropical o templado (Leyva et al., 2013). Dichos microorganismos representan una gran amenaza para la industria de acuicultura y para los seres humanos, convirtiéndose en un problema de salud pública debido a que puede llegar a causar diversas enfermedades, tanto en humanos como animales, con consecuencias perjudiciales (Loo et al., 2020).

Las enfermedades causadas por *Vibrio* sp. se relacionan con la ingesta de agua o alimentos contaminados con materia fecal, por lo tanto, se ha denominado como la enfermedad de la pobreza, ya que está altamente ligada al saneamiento deficiente y la falta de agua potable (Carmona et al., 2018). Rebaudet y colaboradores (2013) describen diversos componentes ambientales de la cadena alimentaria que se han relacionado como supuestos reservorios de *Vibrio*, entre ellos se mencionan las cianobacterias, fitoplancton y zooplancton, debido a que contienen quitina el cual permite alimentar al microorganismo, por otro lado, se encuentran los bivalvos, diversos peces y aves y sedimentos acuáticos (Rebaudet et al., 2013).

1.6.3 Patógenos en manglares.



Hasta el día de hoy, hay una deficiencia en el seguimiento y evaluación del impacto ambiental del ecosistema de manglar. Sin embargo, ha sido evidente el deterioro del medio ambiente de los manglares debido a la presencia de diversos patógenos que es motivo de gran preocupación, debido a las consecuencias asociadas con la salud pública, los impactos en la biota de los manglares y la degradación de los recursos hídricos (Penha et al., 2011). Como consecuencia de las fuertes lluvias e inundaciones, los microorganismos patógenos se mezclan con los ríos hasta llegar a las aguas estuarinas y costeras, generando un impacto en las aguas recreativas y el cultivo de producto marino (Poharkar et al., 2017).

Una vez que los microorganismos alóctonos son introducidos en los manglares, pueden dispersarse a lo largo y ancho de otras regiones. Una vez inducidos en los ecosistemas, la exposición a patógenos es principalmente por una ingestión accidental del agua contaminada durante actividades recreativas o comerciales; como la pesca, pasear en bote, consumir alimentos provenientes de dichos ambientes o recolectados de agua contaminada (Martinez et al., 2004).

Un estudio realizado por Poharkar y colaboradores (2014), reportaron la presencia de *E. coli* en el ambiente del manglar, alimentos asociados al ecosistema y

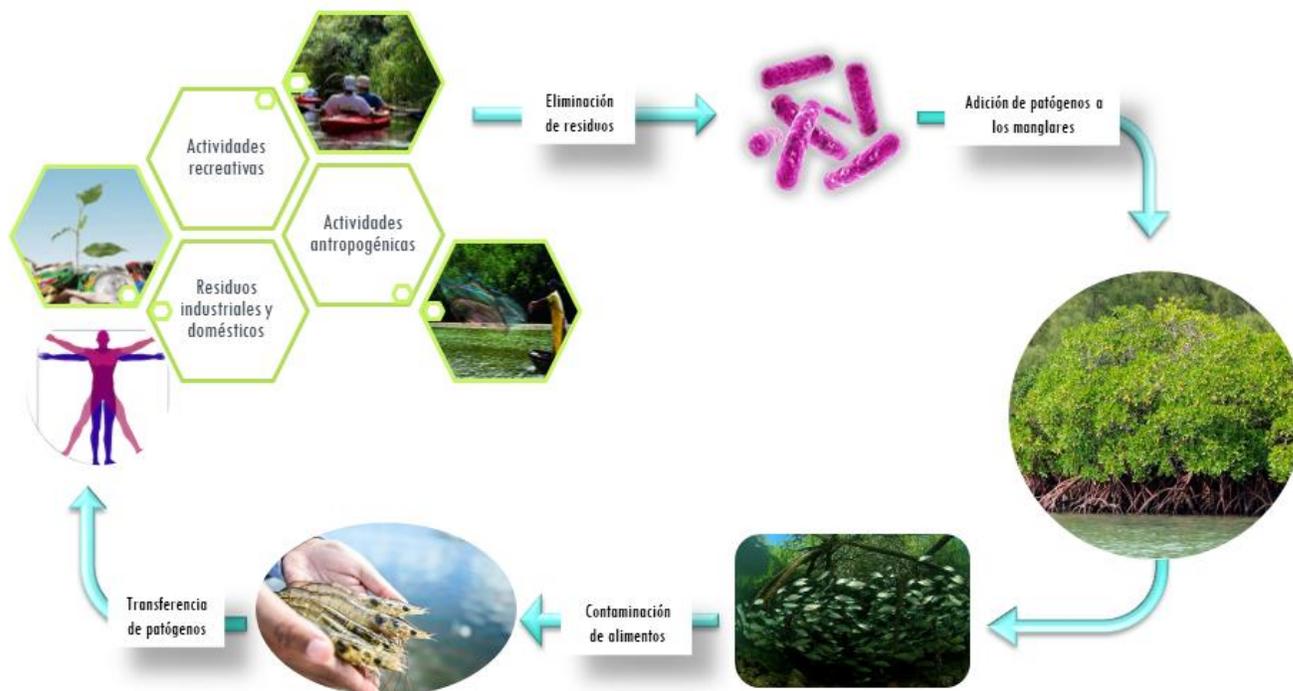


Figura 2. Ciclo de contaminación y presencia de patógenos en manglares.

casos clínicos. Por lo tanto, sugirieron la forma o el ciclo que comprende la presencia de patógenos en los manglares, iniciando con el ingreso de estos microorganismos a los manglares a través de descargas domésticas o industriales, sobreviven en el ecosistema, contaminan alimentos asociados y reingresan a los humanos completando el ciclo (Figura 2).

Diversos patógenos que están presentes de forma natural en el medio marino son autóctonos de los ecosistemas como, por ejemplo, *Aeromonas hydrophila*, *V. cholerae*, *V. vulnificus*, *V. parahaemolyticus* y *V. alginolyticus*. En el caso de *Aeromonas*, al ser ubicua en el medio marino, se ha notificado cada vez más casos de infecciones transmitidas por el agua y el consumo de mariscos, principalmente por el consumo de calamares, camarones y mejillones (Ottaviani et al., 2006). Debido a esto, la prevalencia de las especies de *Aeromonas* en dichos ecosistemas ha sido reconocida como un riesgo potencial para la salud. El otorgar este grado de importancia, ayudará a desarrollar métodos para el monitoreo y control de bacterias



relacionadas a alimentos marinos, acuicultura y los manglares asociados (Joseph et al., 2013).

Vibrio spp. por otro lado, se encuentran de forma natural en ambientes marinos y estuarinos y tiene un gran potencial epidémico de causar gastroenteritis grave. Se han notificado de aproximadamente 8000 personas con enfermedades por *Vibrio* spp. en EE. UU, de las cuales 5200 de las infecciones son de origen alimentario y 2800 son de otras fuentes (Dechet et al., 2008).

Salmonella, sin embargo, se investiga cada vez más en el medio ambiente por ser representativo como un reservorio de transmisión del microorganismo. Como se ha mencionado anteriormente, *Salmonella* está relacionado a brotes de origen alimentario principalmente causados por *S. entérica* y se ha observado contaminación de la carne de cangrejo y otros peces asociados que se encuentran en la zona de manglares, por lo tanto, el estudio del microorganismo en dichos ecosistemas sigue siendo de suma importancia (Lotfy et al., 2011).



II. JUSTIFICACIÓN

Debido a los desarrollos urbanos e industriales a lo largo de las costas, combinados con diversos factores ambientales, los manglares reciben diversos contaminantes, mismos que le generan un alto impacto al ecosistema. La baja eficiencia en el tratamiento de residuos urbanos e industriales generan cargas crecientes de desechos fecales, provocando aumento en el número de microorganismos fecales y presencia de microorganismos patógenos.

El gran valor de los manglares radica en la riqueza de sus recursos naturales, como en los servicios ambientales que proporcionan. Actúan como sistemas de amortiguamiento en inundaciones, previenen la erosión del suelo, actúan como filtros biológicos y actúan como sumideros de bióxido de carbono. Por otro lado, permiten llevar a cabo diferentes actividades humanas para su sostenibilidad.

Esta investigación permitirá contribuir al proyecto general FORDECYT “Aproximación multidisciplinaria para la generación de indicadores del estado de conservación de manglares árido-tropicales y mejoramiento de su resiliencia mediante ingeniería de interacciones planta-microbioma” con fin de identificar manglares prioritarios que se encuentren en estado perturbado y de esta manera obtener un diagnóstico más acertado del estado de salud para su restauración y mejoramiento de su resiliencia. El impacto de estos resultados permitirá obtener mejor conocimiento para concientizar a las sociedades de revertir la tendencia a la pérdida de manglares y garantizar que las generaciones futuras disfruten de los servicios ecosistémicos proporcionados por estos valiosos ecosistemas naturales.



III. HIPÓTESIS

Los manglares árido-tropicales de Baja California Sur se encuentran contaminados debido a las deficientes prácticas en actividades antropogénicas. Las descargas residuales depositadas en los ecosistemas y la perturbación causada por las actividades antropogénicas, se relacionan positivamente con la presencia de bacterias patógenas e indicadores de calidad, que presentan un riesgo para la salud humana y del ecosistema.



IV. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la contaminación de manglares árido-tropicales prioritarios de Baja California Sur por actividades antropogénicas, a través del aislamiento y caracterización de microorganismos indicadores de la calidad y patógenos.

V. OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Aislar e identificar microorganismos patógenos (*Salmonella* sp, *Vibrio* sp, *Aeromonas* sp.) en sedimentos de manglares árido-tropicales de la región de BCS
2. Evaluar la calidad microbiológica de manglares árido-tropicales de la región de BCS, mediante el análisis de indicadores de contaminación fecal.



VI. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Materiales

Muestras

- Sedimento de Manglares de Baja california Sur:
 - El Mogote
 - Aeropuerto de La Paz
 - Bahía Magdalena

Material biológico

- Cepa *Vibrio parahemolyticus*
- Cepa *Vibrio cholerae*
- Cepa *Aeromonas sp.*
- Cepa *Salmonella typhi*
- *Enterococcus faecalis* ATCC 29212
- *Escherichia coli*

Equipos

- Autoclave de presión Presto
- Campana de flujo laminar Labcono Purifier Class II, Type A2, Biosafety cabinet
- Campana de flujo laminar Nuair, Biological Safety Cabinets, Class II, Type A/B3
- Incubadora microbiológica Fisher Scientific 36°C± 1°C
- Balanza granataria Triple Beam Balance OHAUS (2610 g)
- Vortex Thermolyne, Maxi Mix Plus™
- Agitador apilable incubado MaxQ™ 8000, Thermo Scientific™; digital; de 10 °C por encima de la temperatura ambiente a 60 °C, 120 V, 60 Hz
- Soporte de filtro de vacío de vidrio de 47 mm, Merck™



Materiales.

- Asa de platino, níquel, 3mm de diámetro o 10 μ L (microlitros)
- Membrana de nitrocelulosa 0.45 μ m, MF-Millipore®
- Micropipetas volumétricas, Eppendorf® Research®
- Pipetas graduadas; capacidades 10mL, 5mL, 1mL
- Matraces Erlenmeyer de 500mL y/o capacidad apropiada
- Cajas Petri estériles desechables
- Tubos de ensaye de capacidades adecuadas
- Gradillas para tubos de ensaye
- Mecheros Bunsen o Fisher

Medios de cultivo

- Agar TCBS (agar de tiosulfato-citrato-bilis-sacarosa), BD Difco™
- BD BBL CHROMagar® Orientation
- Agar base para Aeromonas con ampicilina, Sigma-Aldrich®.
- Caldo Rappaport-vassiliadis soya (RVS), BD Difco™
- Caldo Muller-Kauffmann Tetrionato Novobiocina (MKTTn), Sigma-Aldrich®.
- Agar Verde Brillante, MCD Lab.
- Agar Sulfito de Bismuto, BD Bioxon™.
- Agar Soya Trypticaseina (TSA), BD Difco™

Pruebas bioquímicas

- Caldo nutritivo, BD Bioxon.
- Agar Lisina Hierro (LIA), DIBICO®.
- Agar Kligler Hierro, MCD Lab.
- Caldo de Rojo de Metilo (RM) y Vogues Proskauer (VP), MCD Lab.
- Agar Movilidad, Indol, Ornitina (MIO), DIBICO®.

6.2 Métodos

6.2.1 Área de estudio

El estudio se desarrolló en 3 manglares árido-tropicales de Baja California Sur: el manglar Bahía Magdalena, El Mogote y Aeropuerto de La Paz (Cola de ballena) (Figura 3). De cada uno de los manglares se seleccionaron diversos subsitios para el muestro con diferente grado de perturbación y se tomaron muestras de sedimento con ayuda de un nucleador de acero inoxidable a diferentes profundidades, de 0 a 15 cm, 15 a 30, 30 a 50 y en algunos casos 50 a 70 cm. Los sedimentos fueron obtenidos por el grupo de trabajo personal del CIBNOR y de la Facultad de Ciencias Químicas en el mes de noviembre del año 2019. Las muestras se colocaron en bolsas de polipropileno estériles, etiquetando cada una con sus datos correspondientes y se conservaron en frío (4°C) para ser transportadas al laboratorio de Microbiología III en la Facultad de Ciencias Químicas de la UACH en donde se realizó el análisis de cada una de las muestras.

Una vez recibidas las muestras de sedimento se secaron a temperatura ambiente tal como lo menciona la norma, NOM-021-RECNAT-2000 (DOF, 2003).



Figura 3. Localización de manglares árido-tropicales de Baja California Sur.

6.2.2 Sitios de muestreo

6.2.2.1 Aeropuerto La Paz (Cola de Ballena)

Las muestras recolectadas del manglar Aeropuerto de La Paz (identificadas como CDB en los muestreos) correspondieron a 8 subsitios: 5 correspondiendo al sitio perturbado y 3 como control de sitio conservado.

Los subsitios correspondientes al sitio perturbado (CDB1, CDB2, CDB3, CDB7, CDB8) se encuentran cerca de la planta tratadora de aguas negras la cual deposita efluentes en forma directa. Por otro lado, esta zona es caracterizada por ser una zona agrícola y parte de abanico aluvial de la región montañosa de la parte sur, esto en conjunto causa que los residuos y contaminantes pasen y se depositen directamente en el ecosistema. Los subsitios CDB4, CDB5 y CDB6 no reciben un impacto antrópico como tal si no de carácter urbano debido a que se encuentra cerca de las comunidades. Por último, el subsitio CDB7 presenta otro tipo de vegetación secundaria al manglar, se caracteriza por tener una contaminación de tipo antrópica. Está conformado por otro tipo de vegetación secundaria y suelo más grueso. A menudo las personas utilizan este lugar como zona para el establecimiento de negocios ambulantes (Figura 4).



Figura 4. Localización y coordenadas geográficas de los puntos de muestreo del manglar Aeropuerto de La Paz.



6.2.2.2 Manglar El Mogote

Las muestras recolectadas del manglar El Mogote correspondieron a un total de 8 subsitios; 4 subsitios corresponden al sitio perturbado y 4 corresponden al sitio conservado.

6.2.2.2.1 Sitio perturbado: Lagunitas

Este manglar es considerado perturbado, debido a que ha tenido afectaciones por eventos naturales como huracanes Juliette (2001) y Odile (2014). Como consecuencia de dichos eventos naturales se generó un asolvamiento de la boca mayor y boca menor (subsitio ML1 y ML2) que se conectaban directamente con la desembocadura del mar de la ensenada La Paz, lo que provocó casi el colapso de las lagunillas. Se han llevado a cabo la restauración de los canales para poder permitir el des taponamiento del lugar, pero ha resultado difícil debido a que dichos canales, por la acción del oleaje, permite que se vayan acumulando los sedimentos y por ende el taponamiento de las bocas principales de la entrada del agua al manglar.

Debido al colapso de las lagunillas, se ha observado un cambio de color en las aguas, inclusive un olor fuerte característico del agua que es evidencia de la descomposición (Figura 5).



Figura 5. Localización y coordenadas geográficas de los puntos de muestreo del sitio perturbado del manglar El Mogote.

6.2.2.2 Sitio conservado: El Mogote.

El manglar El Mogote se encuentra expuesto a diversos contaminantes o residuos que emergen de los alrededores, principalmente ante las condiciones de la ensenada de La Paz y a un posible impacto que se genera dentro de ella. Todos los contaminantes que salen de La Ensenada, pasan directamente por el ecosistema, causando la acumulación de gran cantidad de basura en las raíces del árbol mangle y, por ende, la afectación y contaminación del ecosistema (Figura 6).

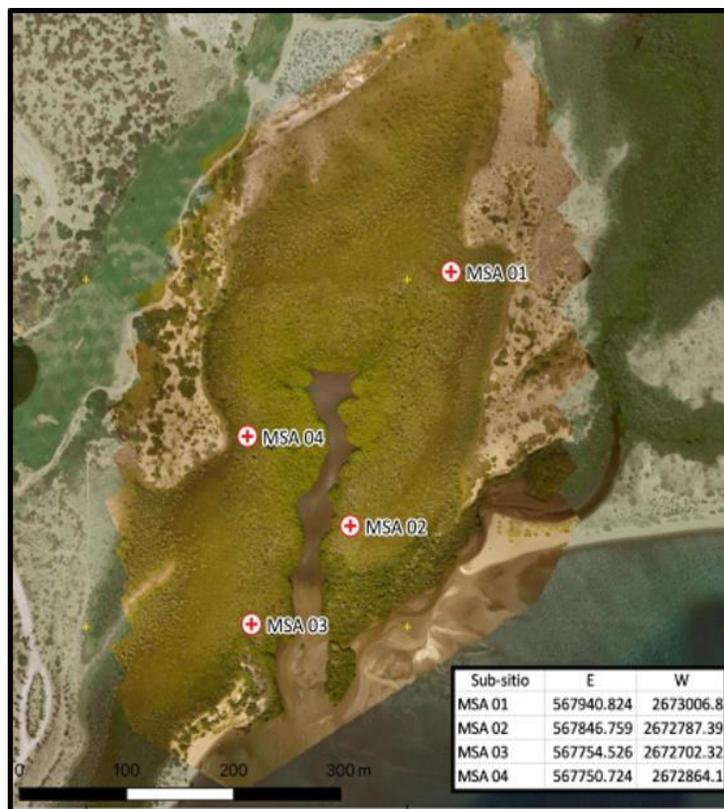


Figura 6. Localización y coordenadas geográficas de los puntos de muestreo del sitio conservado del manglar El Mogote.

6.2.2.3 Manglar Bahía Magdalena.

Las muestras recolectadas del manglar Bahía Magdalena fueron un total de 9 subsitios, 5 corresponden al sitio conservado del manglar y 4 al sitio perturbado.

6.2.2.3.1 Sitio conservado: San Carlos

El manglar San Carlos es constituido por grandes lagunas, donde se da el avistamiento de ballenas por lo cual es de gran importancia turística. Se ha observado gran contaminación urbana y antrópica, esto ha sido a causa del uso inadecuado del ecosistema, ya que se ha observado la mala disposición de grandes cantidades de desechos urbanos. Por otro lado, se sabe que el manglar San Carlos es la vía de acceso para pescadores, lo que ha generado el deterioro de la calidad del recurso hídrico. Con base a este problema, la selección de los subsitios para la

toma de muestra tuvo que ser reestructurada por los problemas que causaron las altas cantidades de basura presente y la imposibilidad para el grupo de trabajo de tomar las muestras de sedimento. Por otro lado, se observaron altas cantidades de residuos acuícolas provenientes de 2 puertos pesqueros cerca de la zona: López Mateos y San Carlos, los cuales vierten sus desechos directamente en el ecosistema (Figura 7).

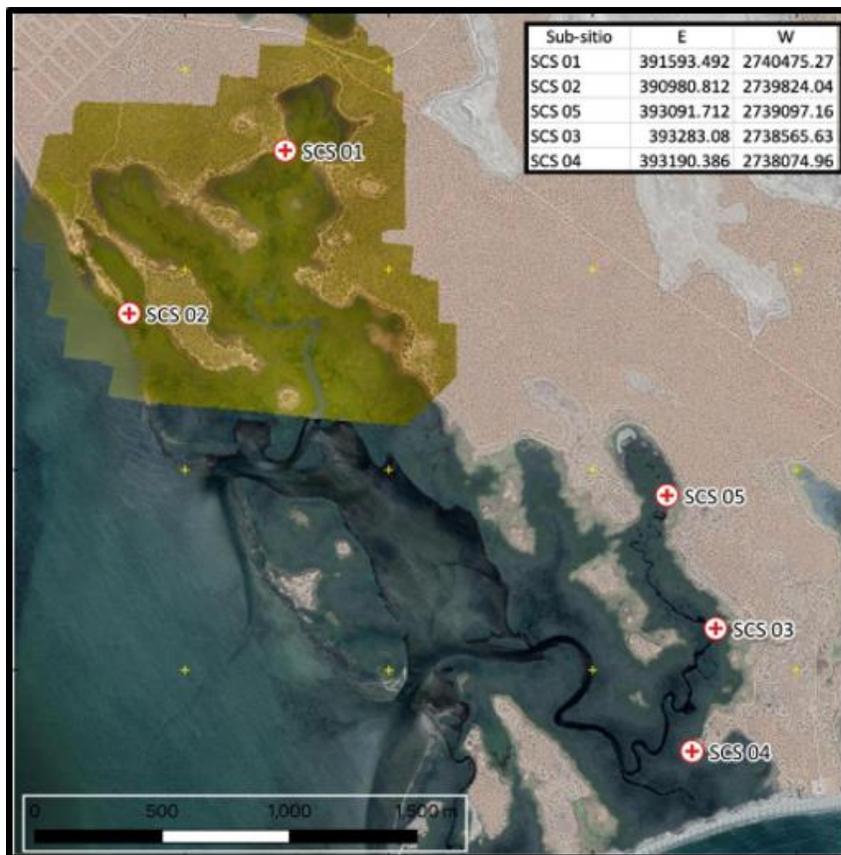


Figura 7. Localización y coordenadas geográficas de los puntos de muestreo del sitio conservado del manglar Bahía Magdalena.

6.2.2.3.2 CFE: sitio perturbado.

Se encuentra en la parte sur de Bahía Magdalena y es caracterizado por la presencia de la termoeléctrica CFE, en el extremo oeste la cual se encuentra el límite de la planta tratadora de la termoeléctrica de la CFE en donde se observa un canal el cual vierte desechos del agua de enfriamiento de la maquinaria o de las chimeneas

de la planta y estas son arrojadas directamente en esta zona por lo que se ha observado la muerte de gran parte del manglar (Figura 8).



Figura 8. Localización y coordenadas geográficas de los puntos de muestreo del sitio perturbado del manglar Bahía Magdalena.

6.3 Métodos de análisis

6.3.1 Aislamiento de *Salmonella* sp.

El aislamiento de *Salmonella* sp., se basó en la Norma Oficial Mexicana NOM-242-SSA1-2009 (DOF, 2011) (Figura 9).

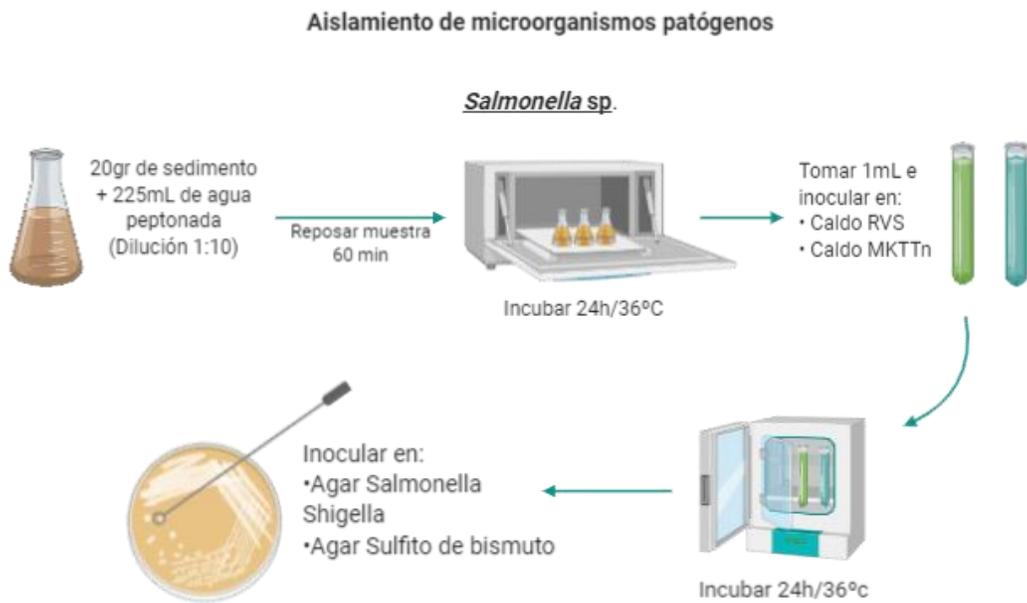


Figura 9. Metodología para el aislamiento de *Salmonella sp.* en sedimentos de manglares (NOM-242-SSA1-2009). Imagen creada en © BioRender 2021.

Para la preparación de la suspensión inicial se utilizaron 25 g de la muestra de sedimento en 225 mL de agua peptonada (pH 6.8) como medio de pre-enriquecimiento, para obtener una dilución 1:10. Luego se dejó reposar la muestra 60 minutos a temperatura ambiente para posteriormente dejar incubar a 35°C por 24 h. Previo a incubación se transfirió 1mL del cultivo de pre-enriquecimiento a un tubo con 10 mL de caldo Rappaport Vassilidiasis (RVS) (BD Difco™) y 1mL a un tubo conteniendo 10 mL de caldo Muller Kauffmann tetratonato novobiocina (MKTTn) (Sigma-Aldrich®) como medios de enriquecimiento selectivo. Luego de inocular la muestra en los tubos se dejaron Incubar, el caldo RVS a 41.5 °C ± 1 °C por 24 h ± 3 h y el caldo MKTTn a 36 °C ± 1 °C por 24 h ± 3 h.

Para el aislamiento, se inoculó a partir de los cultivos obtenidos, en 2 medios selectivos en placa: Agar sulfito de bismuto (BD Bioxon™) y Agar Verde Brillante (MCD Lab). Las placas se incubaron a 36 °C ± 1 °C durante 24 h ± 3 h.

Previo la incubación se seleccionaron 1 o más colonias de *Salmonella spp.* de acuerdo con las características mencionadas en la norma para su aislamiento e



identificación por tinción Gram y por medio de pruebas bioquímicas: Agar TSI, LIA, Urea y Citrato de Simmons.

6.3.2 Pruebas bioquímicas *Salmonella* sp.

Agar TSI (agar hierro tres azúcares): Este medio permite determinar la habilidad de las bacterias de fermentar hidratos de carbono y producir SH_2 .

Resultado positivo: pico alcalino/fondo ácido (K/A, pico violeta/fondo violeta)

Gas: Variable

SH_2 : Producción de SH_2 (Coloración negra del medio)

Agar LIA (agar lisina hierro): Se utiliza para la diferenciación de bacterias entéricas con la capacidad de fermentar azúcares. Evidencia la descarboxilación de la lisina a cadaverina poniendo en evidencia un viraje del indicador púrpura de bromocresol.

La formación de ácido sulfhídrico (SH_2) produce una coloración negra debido al sulfuro de hierro producido por la presencia del tiosulfato sódico.

Debido a la degradación de la glucosa, puede llevarse a la formación de gas y produce un viraje al color amarillo en el medio.

Resultado: pico alcalino/fondo alcalino (K/K, pico violeta/fondo violeta)

Gas: Variable

SH_2 : Producción de SH_2 (Coloración negra del medio)

Urea: La prueba consiste en identificar los microorganismos que contienen la enzima ureasa, dicha enzima cataliza la hidrólisis de la urea generando dióxido de carbono y amoníaco.

Resultado: no hay cambio de color del medio (no hidroliza la urea).

Citrato de Simmons: Se utiliza para identificar los microorganismos que pueden utilizar al citrato como fuente de carbono al igual que las sales de amonio del medio como fuente de nitrógeno lo que provoca una alcalinización del medio virando al indicador alcalino.

Resultado: Viraje del medio color azul por la presencia de azul bromotimol (Silva et al., 2008; Terragno et al., 2007).

6.3.3 Aislamiento de *Vibrio* sp. y *Aeromonas* sp.

Para el aislamiento de *Vibrio* sp. y *Aeromonas* sp. se basó en la metodología mencionada por Wang y colaboradores (2004) (Figura 10).

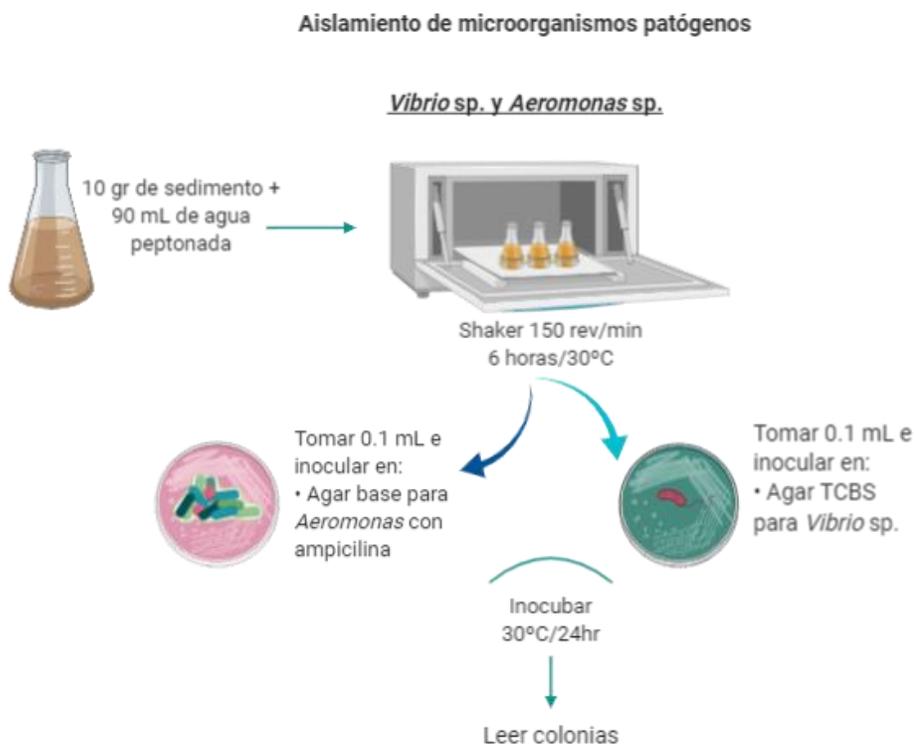


Figura 10. Metodología para el aislamiento de *Vibrio* sp. y *Aeromonas* sp. Imagen creada en © BioRender 2021.

Se tomaron 10 g de sedimento y se homogenizaron en 90 mL de agua peptonada (pH 8.6). Dicha solución se dejó incubando a 150 rpm a 30 °C por 12 h en una incubadora con agitación y temperatura controlada (MaxQ™ 8000, Thermo Scientific™)

Previa a su incubación, se tomó 0.1mL y se sembró en agar TCBS (BD Difco™) para *Vibrio* sp. y agar base *Aeromonas* suplementado con ampicilina (Sigma-Aldrich®) para *Aeromonas* por el método extendido en placa, por triplicado y se dejaron incubar las placas a 30 °C por 24 h. Se seleccionan las colonias amarillas

con un diámetro de 1 a 3 mm para previamente ser inoculadas en Agar Trypticaseína y Soja (TSA) (Difco™) y se dejaron incubar 37 °C por 24 h, luego se realizó tinción Gram para la confirmación de bacilos Gram negativos y se realizó la prueba de oxidasa (positiva) para diferenciar la presencia de enterobacterias. Las cepas negativas a la prueba de oxidasa se descartaron, mientras que las positivas se prosiguió a realizar pruebas bioquímicas (Figura 11).

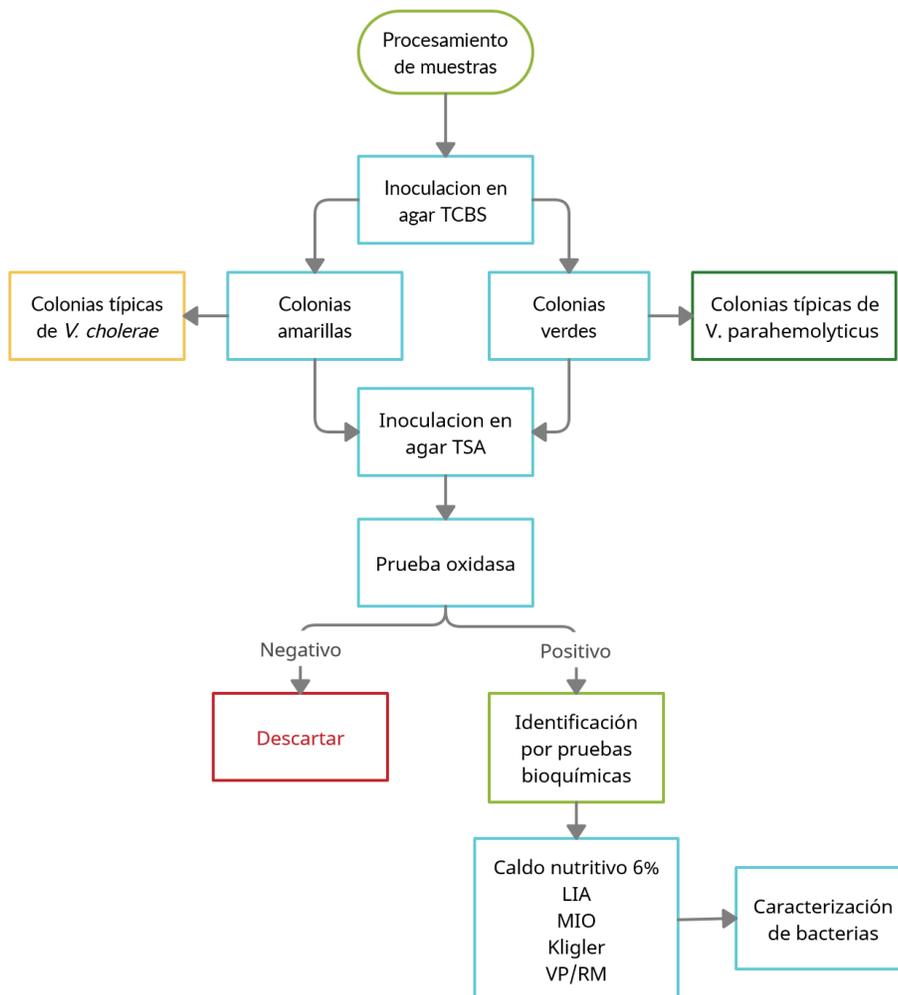


Figura 11. Identificación de cepas de *Vibrio* sp.

6.3.4 Pruebas bioquímicas para la identificación de *Vibrio* sp. y *Aeromonas* sp.



Oxidasa: Se utiliza como prueba diferencial de las enterobacterias para determinar la presencia de la enzima citocromo c oxidasa. El resultado positivo es por la detección de la enzima y al momento de oxidarse vira a purpura.

Resultado positivo: Vira a color purpura o rojo

Resultado negativo: No hay desarrollo de color

MIO. Se utiliza para identificar especies bacterianas pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae, para el caso de bacterias como *Vibrio* sp y *Aeromonas* sp. se adiciona NaCl al 1%. Permite identificar diferentes parámetros tal como lo indican sus siglas (MIO); motilidad, indol y ornitina.

Motilidad:

Resultado positivo: presencia de turbidez

Resultado negativo: ausencia de turbidez

Indol:

Resultado positivo: Halo rojo a la adición del reactivo de Kovacs

Resultado negativo: No hay formación del anillo

Ornitina:

Resultado positivo: Medio color morado

Resultado negativo: Medio color amarillo o fondo amarillo

Agar Lisina Hierro (LIA). Se utiliza para la diferenciación de bacterias entéricas con la capacidad de fermentar azúcares. Evidencia la descarboxilación de la lisina a cadaverina poniendo en evidencia un viraje del indicador púrpura de bromocresol.

La formación de ácido sulfhídrico (SH₂) produce una coloración negra debido al sulfuro de hierro producido por la presencia del tiosulfato sódico.

Debido a la degradación de la glucosa, puede llevarse a la formación de gas y produce un viraje al color amarillo en el medio.

Para la identificación de bacterias como *Vibrio* sp. y *Aeromonas* sp. se suplementa el medio con NaCl al 1%.

Descarboxilación de Lisina

Resultado positivo: Reacción alcalina del medio (Vira a color purpura)



Resultado negativo: Reacción ácida del medio (Vira a color amarillo)

Formación de SH₂

Resultado positivo: No hay producción de SH₂

Resultado negativo: Producción de SH₂ (Coloración negra del medio)

Desaminación de lisina:

Resultado positivo: No hay cambio de color en el medio

Resultado negativo: Vira a color rojo (pico) y color amarillo (fondo)

Gas

Resultado positivo: Sin producción de burbujas en el medio

Resultado negativo: Producción de burbujas en el medio

Aeromonas:

Resultado: Producción de gas en el medio

Agar Hierro Kliger. Se utiliza para diferenciar microorganismos que pueden fermentar glucosa y lactosa, así como la producción de ácido sulfhídrico. La fermentación de azúcares acidifica el medio generando un viraje del rojo de fenol a color amarillo que es el indicador ácido del medio. Al no haber fermentación el medio vira a color rojo. Para la identificación de bacterias como *Vibrio* sp. y *Aeromonas* sp. se suplementa el medio con NaCl al 1%.

Fermentación de glucosa/lactosa

Resultado positivo: Color amarillo del medio por fermentación de glucosa/
fondo amarillo

Resultado negativo: Color rojo del medio

Formación de SH₂

Resultado positivo: No hay producción de SH₂

Resultado negativo: Producción de SH₂ (Coloración negra del medio)

Gas

Resultado positivo: Sin producción de burbujas en el medio

Resultado negativo: Producción de burbujas en el medio

Aeromonas:

Resultado: Producción de gas en el medio



Crecimiento en caldo nutritivo. Prueba para diferenciar el crecimiento de especies de *Vibrio* y *Aeromonas*.

Especies de *Vibrio* en caldo nutritivo al 6%.

Resultado positivo: desarrollo de turbidez por crecimiento

Resultado negativo: ausencia de turbidez por falta de crecimiento

Especies de *Aeromonas* en caldo nutritivo al 3%.

Resultado positivo: desarrollo de turbidez por crecimiento

Resultado negativo: ausencia de turbidez por falta de crecimiento

Vogues-Proskauer. Permite determinar si un microorganismo utiliza la glucosa por medio de la vía butilén-glicólica generando acetoína. Esta acetoína es el acetil-metil-carbinol, que, en presencia de oxígeno atmosférico, y con α -naftol en un medio básico, produce un compuesto coloreado. Para la identificación de bacterias como *Vibrio* sp. y *Aeromonas* sp. se suplementa el medio con NaCl al 1%.

Resultado positivo: desarrollo de color rojo dentro de los 15 minutos.

Resultado negativo: no hay desarrollo de color.

Vibrio parahemolyticus

Resultado: no hay desarrollo de color.

Vibrio cholerae

Resultado: desarrollo de color rojo dentro de los 15 minutos.

***Aeromonas* sp.**

Resultado: desarrollo de color rojo dentro de los 15 minutos.

R rojo de Metilo. Permite determinar si un microorganismo puede metabolizar hidratos de carbono por la vía ácido-mixta. Para la identificación de bacterias como *Vibrio* sp. y *Aeromonas* sp. se suplementa el medio con NaCl al 1%.

Resultado positivo: El reactivo permanece rojo al agregar el indicador.

Resultado negativo: El reactivo se torna amarillo-naranja.

Vibrio parahemolyticus

Resultado: El reactivo se torna amarillo-naranja.

Vibrio cholerae

Resultado: El reactivo permanece rojo al agregar el indicador.

Aeromonas sp.

Resultado: El reactivo permanece rojo al agregar el indicador.

6.3.5 Recuento de microorganismos indicadores de calidad

Para la identificación de microorganismos indicadores, se realizó por el método de filtración por membrana propuesto por Ghaderpour y colaboradores (2014), con algunas modificaciones (Figura 12).

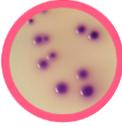
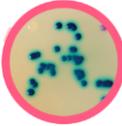


Figura 12. Método de filtración por membrana para el recuento de bacterias indicadoras de calidad. Imagen creada en © BioRender 2021.

Este método consiste en la filtración de la muestra de agua a través de una membrana estéril con un poro de diámetro igual a $0,45 \mu\text{m}$. Se toma 4 g de sedimento y se homogeniza la muestra en 36 mL de solución salina para obtener una dilución 1:10. Luego se homogeniza la muestra por 2 minutos en el vortex, permitiendo que los microorganismos se desprendan de las partículas de sedimento. Previo a este paso se realizó una dilución 10^{-2} en 10 mL de solución salina por triplicado, después se filtró la solución a través de un filtro de nitrocelulosa de $0,45$

mm. Una vez filtrada la muestra, se retira la membrana y se coloca sobre la superficie del CHROMagar® Orientation (BD BBL) para la enumeración de *Enterobacteriaceae* y enterococos Gram-positivos, y recuento total de placas, respectivamente. Todas las pruebas se realizaron por duplicado; posteriormente se incuban las cajas en posición invertida a una temperatura de 37+/-0.5 °C por un periodo de 24 horas para realizar el conteo de las bacterias indicadoras de calidad con base a sus características macroscópicas (Tabla 1).

Tabla 1. Lectura de placa CHROMagar Orientador

Características macroscópicas	Microorganismo	Colonias típicas
	<i>E. coli</i>	Rosa oscuro a rojizo
	<i>Enterococcus</i>	Azul turquesa
	<i>Klebsiella</i> <i>Enterobacter</i>	Azul metálico
	<i>Citrobacter</i>	Azul metálico con halo rojo

Fuente: CHROMagar™ Orientation. For isolation and differentiation of urinary tract pathogens

Se cuentan las colonias presuntivas para cada indicador en la placa del CHROMagar orientador y se realiza el cálculo para la obtención de las UFC.

$$\frac{UFC}{mL} = \frac{(No. de colonias por placa)(Factor de dilución *)}{mL de la muestra filtrada}$$

*Factor de dilución: Inversa de dilución

6.3.6 Análisis estadístico



Para determinar la diferencia en el recuento de bacterias indicadoras de calidad en los manglares, se realizó un análisis de varianza anidado ($P < 0.05$), para poder comparar la diferencia entre los sitios de cada manglar, considerando las variables: Manglar, Manglar-sitio, Manglar-sitio-subsitio, Manglar-sitio-subsitio-profundidad. En los casos en que se determinó una diferencia significativa o altamente significativa entre los tratamientos, se utilizó un análisis de medias por medio de la prueba de Tukey ($P < 0.05$). Los análisis estadísticos se realizaron con Minitab 20.0.

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Estandarización de metodologías

7.1.1 Estandarización de Filtración por membrana para bacterias indicadoras de calidad.

Para la estandarización de la metodología de filtración por membrana se basó en lo propuesto por Ghaderpour y colaboradores (2014) con modificaciones. Para poder estandarizar y validar la metodología, se tomaron en cuenta los controles positivos y negativos ante la presencia de bacterias indicadoras por lo que se utilizaron muestras de sedimento de la presa El Rejón de Chihuahua, Chih. Las muestras se esterilizaron y secaron en el horno a 90°C por 48h a excepción de una parte para el control positivo, que se secó al medio ambiente. El control positivo se realizó de 2 maneras; 1) se tomó 30gr de sedimento sin esterilizar (solamente secado al ambiente) y se agregó a 170 mL de solución salina al 0.85%, 2) se tomaron 30 g del sedimento estéril y se agregaron a 170 mL de solución salina al 0.85%, luego se agregaron asadas de bacterias *Escherichia coli* para asegurar la presencia de bacterias y por último se llevaron a filtración cada una de las muestras (por triplicado). Cada una de las muestras se mezclaron por un periodo de 5 min en el vortex y previamente ser filtrados, los filtros se retiraron bajo condiciones asépticas y se inocularon en el CHROMagar. Las placas inoculadas fueron incubadas 37°C por 24hr para observar el crecimiento de las bacterias indicadoras (Figura 13).

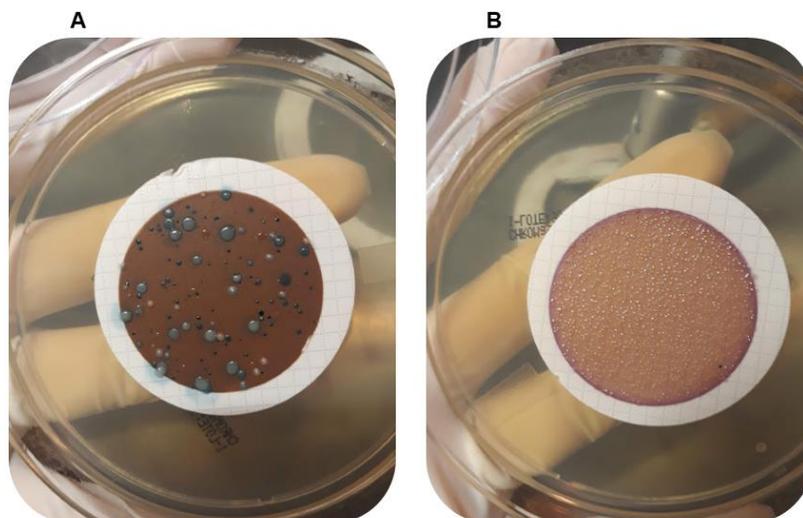


Figura 13. Controles positivos de bacterias indicadoras por método de filtración de membrana de muestras de sedimento.

A) Muestra de sedimento sin esterilizar, secada a medio ambiente. B) Muestra de sedimento inoculada con *Escherichia coli*.

Para los controles negativos se utilizaron 30 g de sedimento estéril y se agregaron a 170 mL de solución salina 0.85%, las muestras se mezclaron por 5 min en el vortex para previamente ser filtradas. Previa su filtración, se tomaron los filtros de nitrocelulosa y se inocularon en las placas de CHROMagar. Por otro lado, se tomó muestra de sedimento estéril y se inoculó directamente en la placa de CHROMagar para confirmar la ausencia de bacterias indicadoras de calidad (Figura 14).

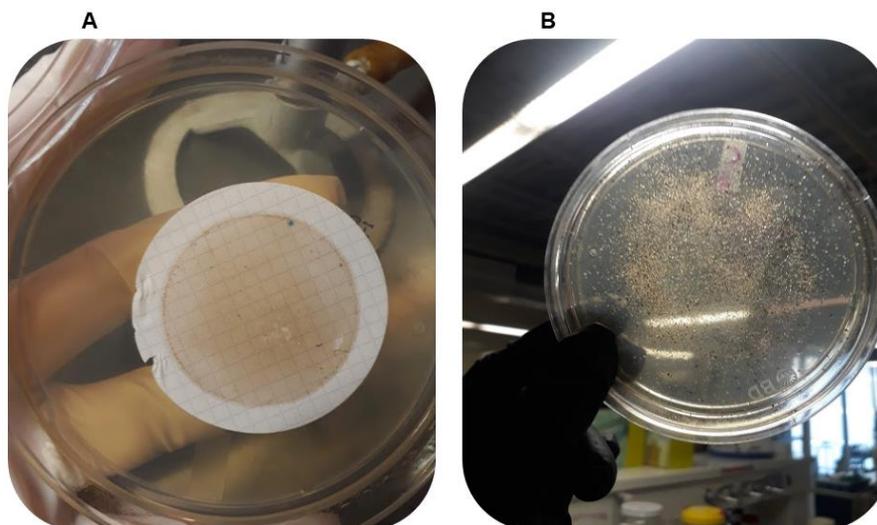


Figura 14. Controles negativos de bacterias indicadoras por método de filtración de membrana de muestras de sedimento.

A) Muestra de sedimento esterilizado y secado en horno. B) Muestra de sedimento estéril.

Uno de los problemas que se enfrenta al trabajar con muestras de sedimentos de manglares y el control de calidad por medio de microorganismos indicadores de contaminación fecal, es que no existen parámetros o un límite de bacterias indicadoras permisibles en sedimentos específicamente de manglares.

Ghaderpour y colaboradores (2014), analizaron el sistema estuarino de la Reserva Forestal de Manglares de Matang, ya que se han encontrado afectados por asentamientos humanos y la acuicultura. El análisis se realizó mediante la evaluación de bacterias indicadoras fecales y la presencia de bacterias patógenas en muestras de agua y sedimento por medio del método de filtración por membrana. Los resultados obtenidos mostraron altos niveles de bacterias indicadoras aguas debajo de una aldea de pescadores, por lo tanto, lo relacionaron como una fuente de contaminación antropogénica. Conforme los resultados de enterococos, fueron mayor en muestras de sedimento, contrario a coliformes totales y *E. coli*, los cuales fueron menores.

Una de las ventajas de la utilización del CHROMagar orientador, es que permite fácilmente el crecimiento de Enterobacterias y enterococos, así como la fácil

identificación debido a las características macroscópicas que presenta cada una de las colonias. Por otro lado, la utilización de la técnica de filtración por membrana, tal como menciona Ghaderpour y colaboradores (2014), permite la retención de los microorganismos en la membrana debido al tamaño del poro. Esto facilita la obtención de las bacterias y en conjunto con el CHROMagar, permite el fácil aislamiento de los microorganismos.

7.1.2 Estandarización para el aislamiento de *Salmonella* sp.

Para la estandarización y verificación de la metodología para el aislamiento de *Salmonella* sp. se establecieron controles positivos y negativos.

Para los controles positivos, se tomaron 25 g del sedimento estéril, y se agregaron a 225 mL de agua peptonada. Para verificar la presencia de bacterias de *Salmonella*, se agregaron asadas de la cepa *Salmonella typhi*, mientras que para los controles negativos no se agregó *Salmonella* a la muestra. Las muestras se dejaron incubar 36°C por 24 h. Previa su incubación en medios de pre-enriquecimiento, se transfirió 1 mL de la muestra a caldos de enriquecimiento selectivo y por último se realizó la inoculación en placas de medios selectivos.

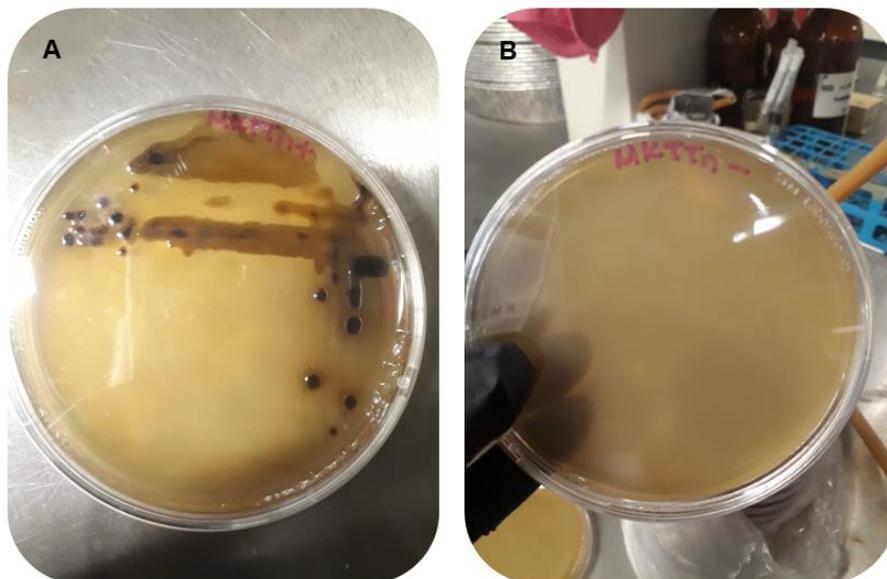
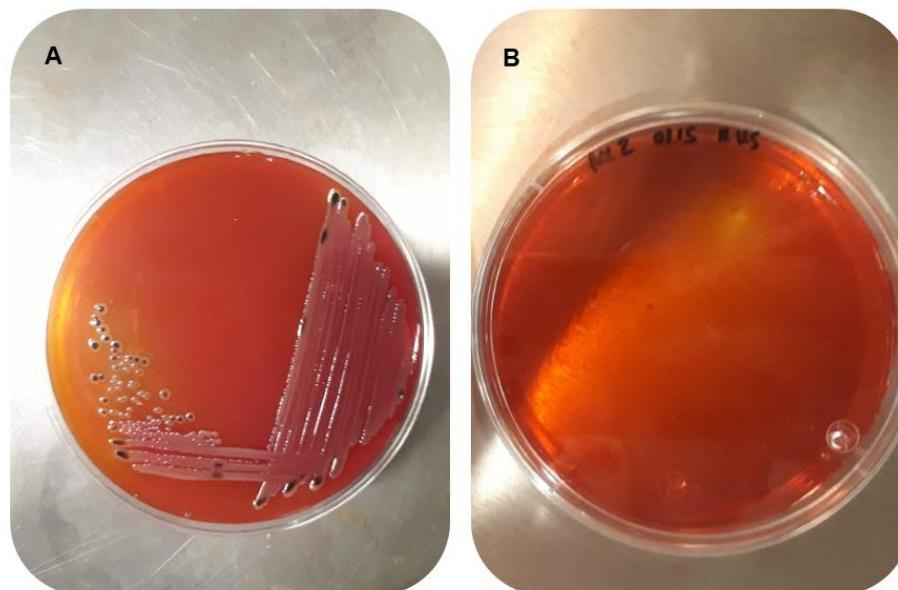


Figura 15. Controles de *Salmonella typhi* en Agar Sulfito de Bismuto de muestras de sedimento.

A) Control positivo B) Control Negativo.**Figura 16. Controles de *Salmonella typhi* en Agar Verde Brillante de muestras de sedimento.****A) Control positivo B) Control Negativo.**

Debido a que no hay una metodología específica para el aislamiento de *Salmonella* spp. en sedimentos marinos, se utilizó la metodología de la NOM-242-SSA1-2009 (DOF, 2011) y estudios realizados en el aislamiento principalmente en alimentos. Un estudio realizado por Lotfy y colaboradores (2011) evaluaron la presencia de *Salmonella* en el río Nilo y el canal El Mansouria, en Egipto durante el año 2009-2010. El análisis se realizó de muestras de insectos acuáticos, peces y agua por medio de un proceso de pre enriquecimiento en agua peptonada y enriquecimiento en medios selectivos (caldo Rappaport-Vassiliadis) con base a la técnica de número más probable. Como resultado se obtuvieron altos valores de *Salmonella* en cada una de las muestras analizadas, principalmente en los peces e insectos acuáticos, indicando que podrían actuar como buenos bioindicadores de enfermedades zoonóticas. Debido a los buenos resultados obtenidos por el trabajo realizado y a la utilización de medios enriquecedores tal como lo indica la Norma, se consideró que la metodología era apta para establecerse en muestras de sedimento.



7.1.3 Estandarización para el aislamiento de *Vibrio* sp. y *Aeromonas* sp

Para la estandarización de la metodología para el aislamiento de *Vibrio* sp. y *Aeromonas* sp, se basó en lo propuesto por Wang y colaboradores (2004) realizando modificaciones. Para poder validar la metodología, se realizaron los controles positivos y negativos para cada una de las bacterias. En el caso de los controles positivos, se utilizó 10 g de muestra de sedimento previamente esterilizado y se homogenizaron en 90 mL de agua peptonada (10 g de peptona de carne y 5 g de cloruro de sodio en 1000 mL a un pH de 8.6), luego se agregaron asadas de las cepas de *Vibrio parahemolyticus* y *Vibrio cholerae*. Para el caso de *Aeromonas* sp. se agregaron asadas de la cepa de *Aeromonas* sp.

Previa la inoculación de las bacterias, se dejaron incubando las muestras a 150 rpm a 30°C por 12 h en una incubadora con agitación y temperatura controlada (MaxQ™ 8000, Thermo Scientific™). Luego de su incubación, se inocularon 0.1 mL de las muestras en cada uno de los agares selectivos para *Vibrio* sp. y *Aeromonas* sp. por triplicado y se dejaron incubar las placas a 30° C por 24 h.

Para el control positivo de *Vibrio cholerae* se observaron colonias amarillas (Figura 17), para *Vibrio parahemolyticus* se observaron colonias verdes (Figura 18) y en el caso de *Aeromonas* se observaron colonias verdes (Figura 19).

Para el caso de los controles negativos, se utilizó sedimento estéril y no se agregaron asadas de bacterias para observar la ausencia de crecimiento de cada uno de los microorganismos.

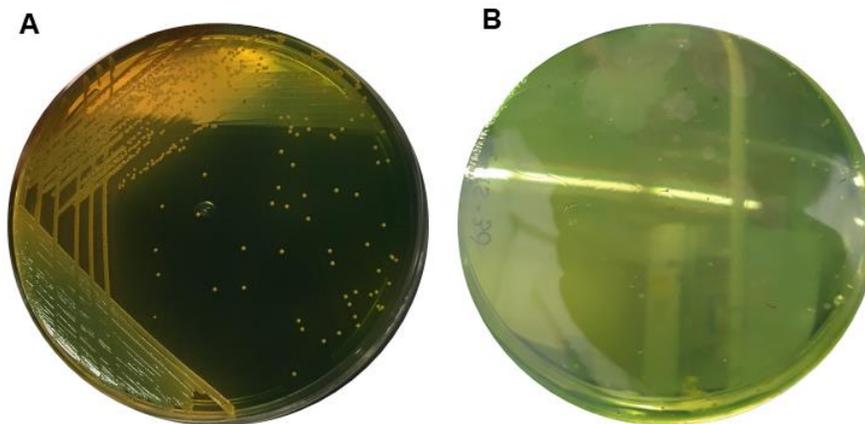


Figura 17. Controles de *Vibrio cholerae* en agar TCBS de muestras de sedimento.
A) Control positivo B) Control negativo

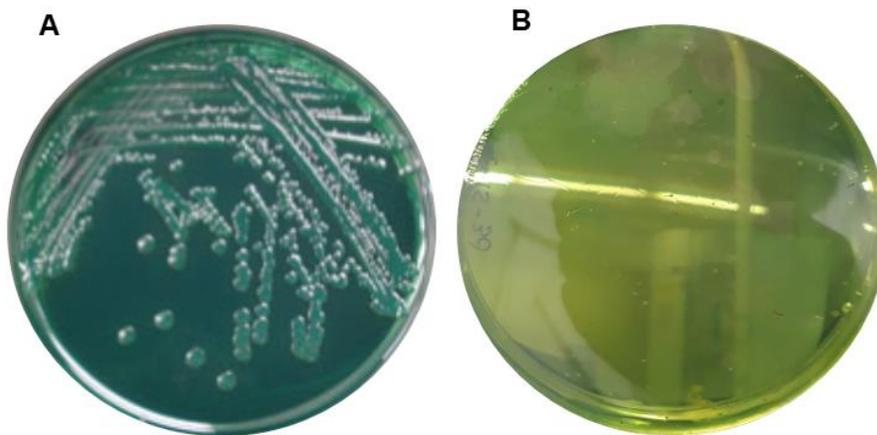


Figura 18. Controles de *Vibrio parahaemolyticus* en agar TCBS de muestras de sedimento.
A) Control positivo B) Control negativo

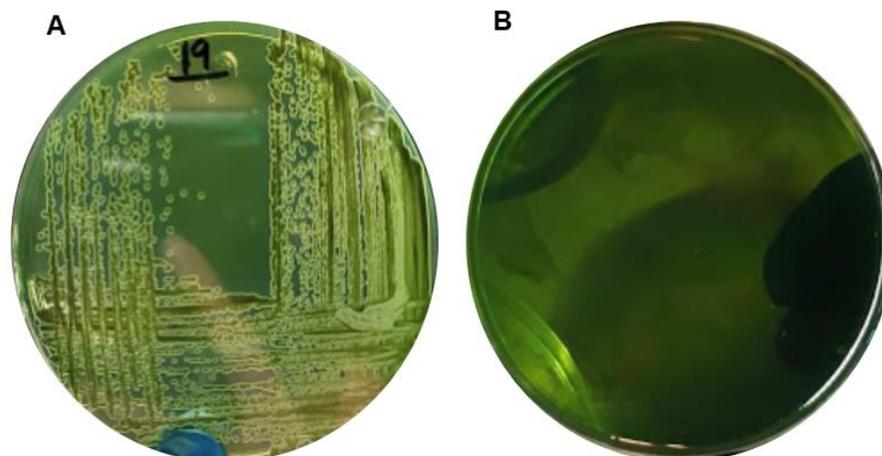


Figura 19. Controles de *Aeromonas* sp. en Agar Base *Aeromonas*.
A) Control positivo B) Control Negativo.

7.2 Recuento de bacterias indicadoras de calidad

El recuento de bacterias indicadoras en los manglares mostró diferencias estadísticamente significativas en cada uno de los ecosistemas, en el manglar Aeropuerto de La Paz se observó una mayor concentración de 2.69 ± 0.80 UFC/g, comparado con bahía Magdalena de 2 ± 0.89 UFC/g y El Mogote 1.31 ± 0.39 UFC/g (Figura 20).

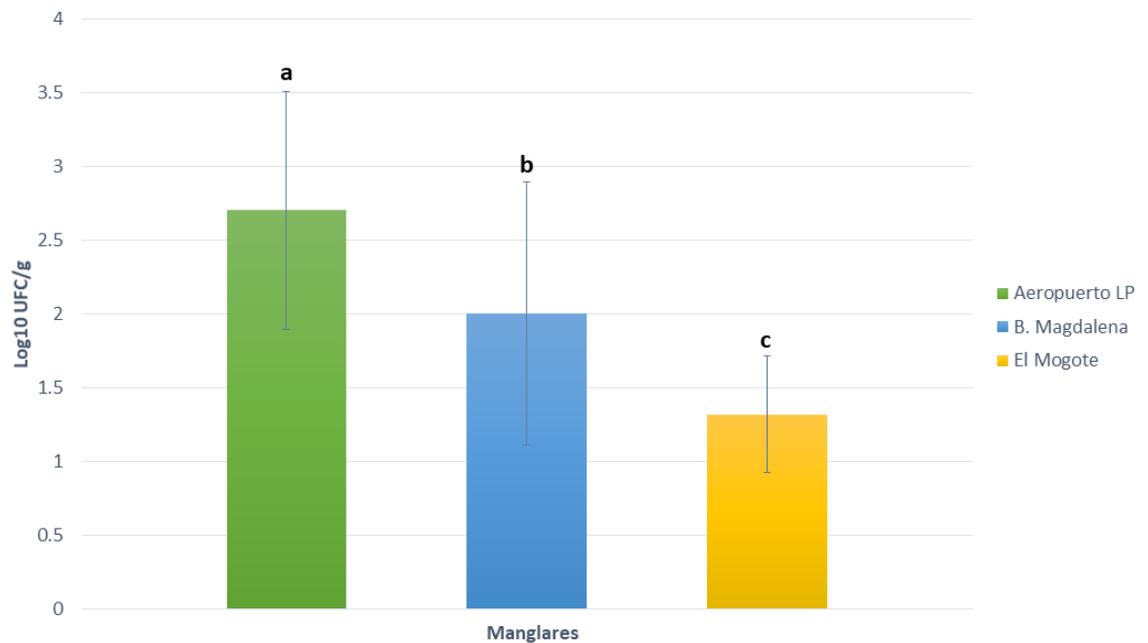


Figura 20. Recuentos de bacterias indicadoras (UFC/g) en sedimentos de manglares árido-tropicales de Baja California Sur

Los resultados se muestran como barras que representan la media \pm DS. Las letras diferentes indican que hay diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Al realizar una comparación de los sitios dentro de los manglares, se observaron diferencias estadísticamente significativas en cada uno de ellos (Figura 21).

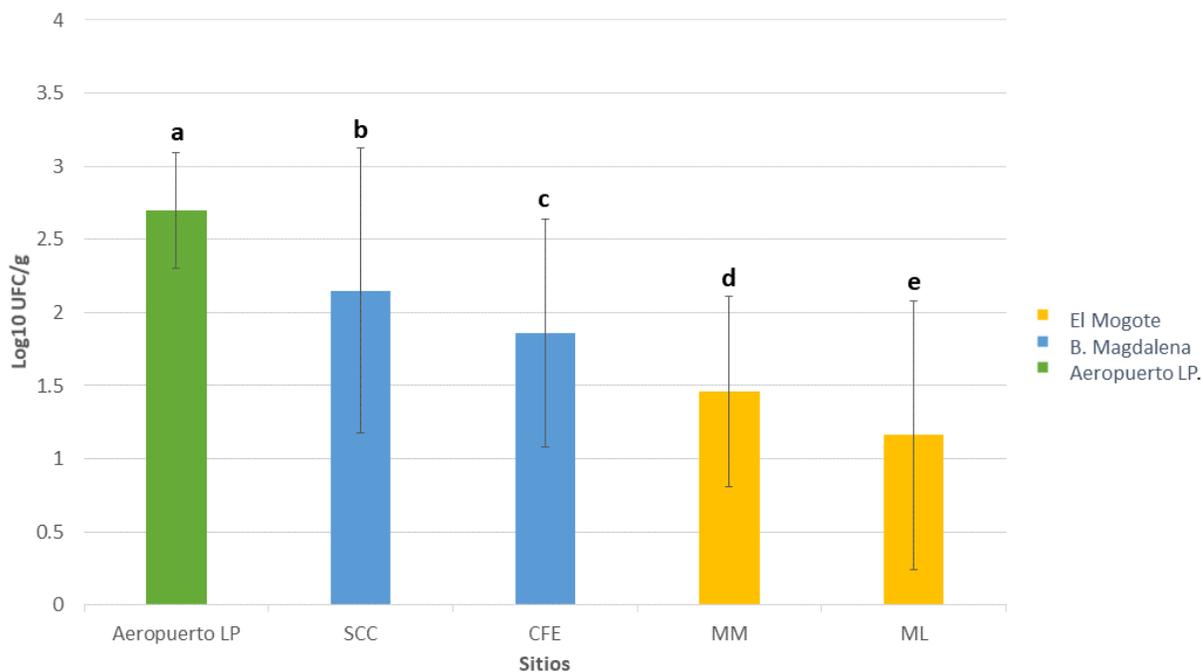


Figura 21. Recuentos de bacterias indicadoras (UFC/g) de sedimentos en los sitios de manglares árido-tropicales de Baja California Sur.

El manglar Bahía Magdalena se conforma por su sitio conservado San Carlos (SCC) (n=45) y su sitio perturbado Termoeléctrica (CFE) (n=45); El manglar El Mogote (MM) (n=39) se conforma por su sitio conservado El Mogote (MM) y su sitio perturbado Manglar Lagunitas (ML) (n=36); El manglar Aeropuerto de La Paz es considerado sitio perturbado (n=69). Los resultados se muestran como barras que representan la media \pm DS. Las letras diferentes indican que hay diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Se encontró una alta concentración de las bacterias indicadoras en el manglar Aeropuerto de La Paz (2.69 ± 0.80), esto se relacionó a los contaminantes que recibe el manglar, al ser una zona agrícola activa y encontrarse cerca de comunidades y de la planta tratadora de aguas negras; dichos residuos llegan y se depositan en el manglar causando la contaminación por microorganismos indicadores. Por otro lado, en el manglar Bahía Magdalena se encuentra el sitio conservado San Carlos (SCC), con una concentración de 2.15 ± 0.97 UFC/g mayor que el sitio perturbado de la Termoeléctrica (CFE) con una concentración de 1.86 ± 0.77 UFC/g. Esta diferencia se relaciona directamente a las actividades que se llevan a cabo en cada uno de los sitios del manglar. San Carlos es denominado una zona acuícola activa, existen 2 puertos pesqueros cerca: López Mateos y San Carlos, de los cuales, sus residuos



son depositados directamente en el ecosistema debido a que es muy común encontrar restos de bivalvos por gran parte del manglar.

Por otro lado, los contaminantes urbanos han contribuido a la afectación del manglar debido al mal manejo que se ha dado en la disposición de los residuos. Esto en conjunto con residuos acuícolas contribuyen a una carga mayor de bacterias indicadoras. En el sitio perturbado se ha encontrado afectado por los residuos que son vertidos directamente de la planta de la Termoeléctrica de la CFE, lo que ha ocasionado muerte de parte del manglar. El alto impacto generado en el ecosistema, ha disminuido la presencia de materia orgánica y, por ende, una disminución en la concentración de bacterias indicadoras debido a la poca resistencia que tienen a factores estresantes (Neogi et al., 2018).

Lo mismo pasa con el manglar Lagunitas, que tiene un menor recuento de bacterias indicadoras de calidad (1.16 ± 0.92 UFC/g). Debido al alto impacto generado por la tormenta tropical Juliette (2001) y el huracán Odile (2014), ha provocado procesos de asolvamiento de la boca mayor y la boca menor del manglar, llevando al ecosistema a una situación de colapso. Tal como mencionan autores (Haller et al., 2009; Karbasdehi et al., 2017), el estrés generado por el colapso del manglar, genera una incapacidad de los microorganismos para sobrevivir, razón por la cual, el sitio perturbado obtuvo un menor recuento de bacterias indicadoras.

El caso del manglar El Mogote, se encontró una concentración de 1.46 ± 0.65 UFC/g, que se relaciona por los contaminantes que salen de la ensenada de La Paz y su impacto que se genera dentro de ella. Dichos residuos se quedan en los árboles de mangle, ya que actúan como redes (Acampora, 2016) y por medio de la sedimentación, estos microorganismos pueden persistir gracias a que el sedimento y la materia orgánica disponible actúa como potenciador para su sobrevivencia.

Conforme los resultados obtenidos del manglar Bahía Magdalena, se encontró una mayor cantidad de bacterias indicadoras de calidad en el sitio conservado principalmente en los subsitios SCC2, SCC3 y SCC5 en cada una de sus profundidades.

El subsitio SCC2 obtuvo un recuento total de 2.94 UFC/ g y en cada una de sus profundidades 0-15 cm (2.93 ± 0.31 UFC/g), 15-30 cm (3 ± 1.03) y 30-50 cm (2.88 ± 0.98) mostrando resultados estadísticamente iguales (Figura 22).

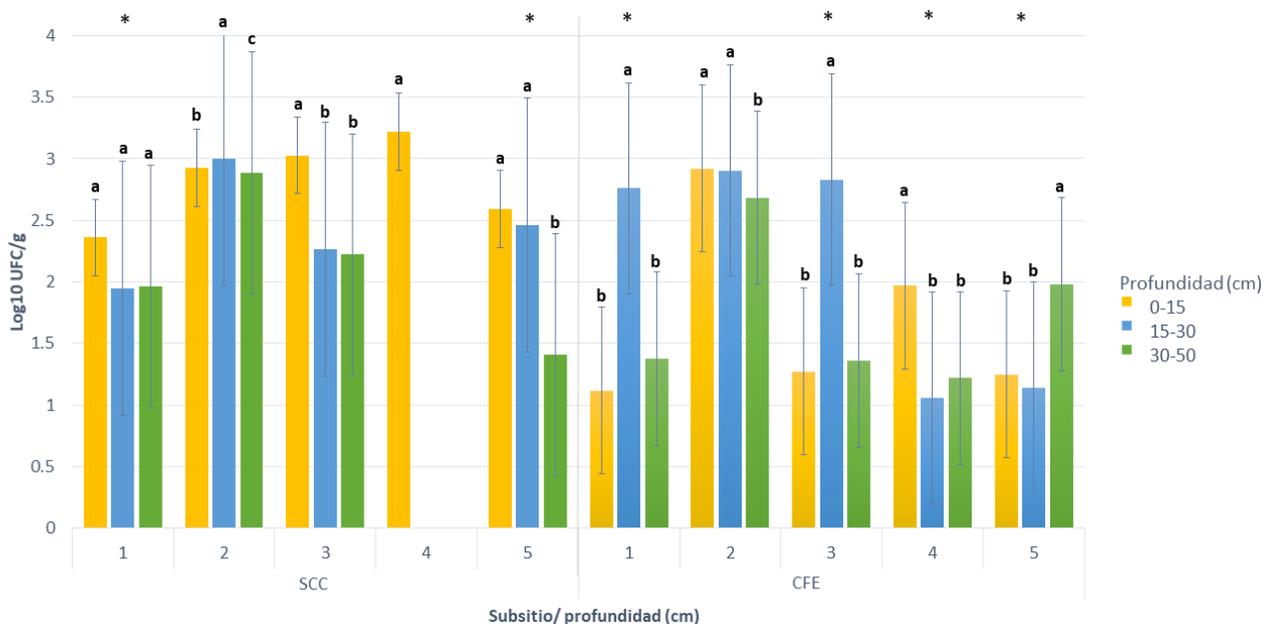


Figura 22. Recuentos de bacterias indicadoras (UFC/g) en diferentes profundidades de sedimentos en el sitio conservado y perturbado del manglar Bahía Magdalena.

Sitio conservado, San Carlos (SCC) con 5 subsitios de muestreo (1-5) (n=45); Sitio perturbado, Termoeléctrica (CFE) con 5 subsitios de muestreo (1-5) (n=45). Los resultados se muestran como barras que representan la media \pm DS. Las letras iguales indican que no hay diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Tukey ($p < 0.05$). Los asteriscos (*) indican que no hay diferencias significativas entre los subsitios de cada sitio del manglar.

Este subsitio se encuentra en contacto directo con el mar abierto, debido a esto, la presencia de bacterias indicadoras se relaciona por los contaminantes que recibe en forma directa.

Cervantes y colaboradores (2020), mencionan que dicho manglar se encuentra afectado por los desechos que son vertidos del Puerto San Carlos que carecen de un correcto tratamiento de aguas residuales. También, se añade el sistema de alcantarillado que bombea agua directamente al ecosistema cuando hay inundaciones en temporada de tormentas y ciclones. Por último, la industria



pesquera descarga continuamente residuos del tratamiento y conservación de los productos marinos sin tratamiento alguno.

Los subsitios SCC3 y SCC5 son considerados más alejados a la contaminación directa que recibe el manglar, por lo tanto, se relaciona a los contaminantes antrópicos depositados en el sitio. En comparación con los resultados del subsitio SCC2 y la concentración de bacterias aún a altas profundidades, se relaciona a la disposición de materia orgánica en el sitio y debido a la acción del oleaje. Gracias al movimiento de las olas, existe un recambio de contaminantes y residuos que permiten acarrear microorganismos y ser suspendidos en el sedimento aun a altas profundidades (Lee et al., 2006).

Un factor importante para la presencia de bacterias es la temporada en la cual se tomaron las muestras como en este caso en el mes de noviembre. Cervantes y colaboradores (2020) observaron una disminución de la concentración de bacterias coliformes en muestras tomadas en noviembre en comparación con marzo, con una disminución de cerca del 50% que se relacionó con la temperatura ya que no es favorable para el crecimiento microbiano (Cervantes et al., 2020).

El sitio de la Termoeléctrica de la CFE (sitio perturbado) obtuvo un menor recuento de bacterias indicadoras en comparación con el sitio conservado. Los subsitios que obtuvieron un mayor conteo fueron el CFE2 (2.84 UFC/g) en sus 3 profundidades mostrando resultados estadísticamente similares (Figura 22), dicho subsitio es la boca del manglar, por lo que los contaminantes que pasan directamente por el mar, quedan depositados en el ecosistema. De acuerdo con Cervantes y colaboradores (2020), existen diversas embarcaciones que llegan al puerto como las de la Armada de México y las que transportan hidrocarburos del petróleo para la Termoeléctrica de la CFE, de las cuales descargan residuos y provocan derrames de petróleo, grasas y aceites, dichos contaminantes han causado gran afectación al ecosistema. Resultados similares se obtuvieron del subsitio CFE1 a una profundidad de 15-30 cm (2.83 ± 0.85 UFC/g) ya que este subsitio es el más cercano a la boca del manglar.



Por otro lado, los resultados del subsitio CFE4, el cual se encuentra cerca del canal donde vierten los desechos de la Termoeléctrica de la CFE, mostró un conteo menor de bacterias indicadoras comparado con los demás subsitios de 1.41 UFC/g. Esto se atribuye a la afectación que han causado dichos residuos en esa parte del manglar, ya que ha llevado a la muerte de la vegetación del manglar en gran medida, por lo que se relaciona a una menor disposición de materia orgánica para la sobrevivencia de los microorganismos, Como describe Haller y colaboradores (2009), a una menor profundidad, hay una menor disposición de materia orgánica, afectando a la población bacteriana.

En el caso del subsitio CFE3, hubo una mayor presencia de bacterias indicadoras principalmente a una profundidad de 15-30 cm (2.83 ± 0.85), en comparación con el sitio perturbado CFE4. Al encontrarse cerca del vertimiento de desechos de la Termoeléctrica de CFE, los residuos alcanzan a llegar al subsitio CFE3. Debido a la vegetación presente y las condiciones óptimas de materia orgánica, permiten una mejor adaptación y sobrevivencia de los microorganismos en el sitio.

Uno de los manglares que obtuvo un menor recuento de bacterias indicadoras de calidad fue el manglar El Mogote. Se observó que no hubo diferencias altamente significativamente dentro de los subsitios, pero si hubo una mayor presencia de bacterias indicadoras aún en altas profundidades en el sitio conservado a comparación del sitio perturbado (Figura 23). Dicho comportamiento se atribuye a lo mencionado con Haller y colaboradores (2009) y Karbasdehi y colaboradores (2017), donde mencionan que la disponibilidad de materia orgánica en sedimentos, así como diversos factores estresantes y parámetros ambientales (radiación UV), influyen directamente en la sobrevivencia de microorganismos coliformes.

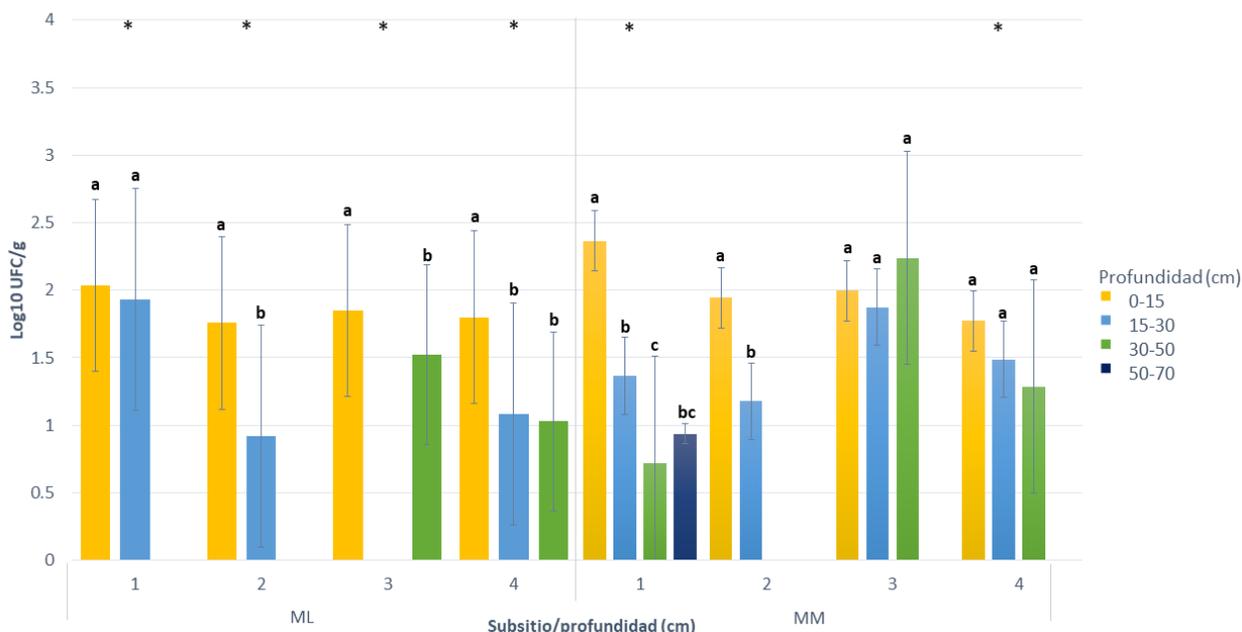


Figura 23. Recuentos de bacterias indicadoras (UFC/g) en diferentes profundidades de sedimentos en el sitio conservado y perturbado del manglar El Mogote.

Sitio conservado, Manglar el Mogote (MM) con 4 subsitios de muestreo (1-4) (n=39); Sitio perturbado, Manglar Lagunitas (ML) con 4 subsitios de muestreo (1-4) (n=36). Los resultados se muestran como barras que representan la media ±DS. Las letras iguales indican que no hay diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Tukey ($p < 0.05$). Los asteriscos (*) indican que no hay diferencias significativas entre los subsitios de cada sitio del manglar.

Dicho lo anterior se relacionó a lo obtenido en el manglar perturbado Lagunitas, debido a que dicho ecosistema se encuentra en colapso por el taponamiento de la boca mayor y menor del manglar. El recuento de los subsitios ML1, ML2 y ML3 (Figura 23) fue mayor en una profundidad más superficial (0-15 cm) de 1.32, 0.89 y 1.12 UFC/g respectivamente, en comparación a una mayor profundidad de 30-50 cm. En algunos sitios no hubo presencia de los microorganismos indicadores de calidad, esto es debido a la ausencia de materia orgánica disponible para las bacterias como se mencionó anteriormente en comparación con el subsitio ML4.

El sitio conservado del manglar El Mogote obtuvo un mayor recuento de bacterias indicadoras en el subsitio MM3 principalmente a una profundidad mayor de



30 a 50 cm con un total de 2.24 ± 0.78 UFC/g. Este subsitio se encuentra en la boca del manglar por lo que todos los contaminantes provenientes de la ensenada de La Paz pasan y se quedan depositados en el ecosistema. Tanto el subsitio MM1 y MM4 son considerados los más conservados, ya que se encuentran más alejados de la entrada de los contaminantes. Sin embargo, se observó presencia de bacterias indicadoras estadísticamente similares al sitio cercado a la boca del manglar (MM3) por lo que se propone que dicha contaminación está afectando hasta los lugares más alejados y conservados del ecosistema.

El manglar Aeropuerto de La Paz fue el que obtuvo un mayor recuento de bacterias indicadoras, principalmente en los subsitios CDB4, CDB5, CDB6 en cualquiera de sus profundidades (Figura 24); estos se encuentran cerca de la urbanización y reciben un alto impacto de contaminación. Por otro lado, los subsitios CDB1, CDB2, CDB3 y CDB7 se encuentran cerca de la planta tratadora de aguas negras, la cual deposita efluentes y contaminantes en forma directa, a pesar de que sus efluentes lleven un tercer tratamiento, los químicos utilizados han causado daños al ecosistema. Sin embargo, esta área es caracterizada por ser zona agrícola activa y forma parte de abanico aluvial de la región montañosa de la parte sur, esto como consecuencia, ha generado la presencia de bacterias indicadoras de calidad en el ecosistema lo cual es un riesgo, tanto para el ecosistema (por los contaminantes) como para el ser humano.

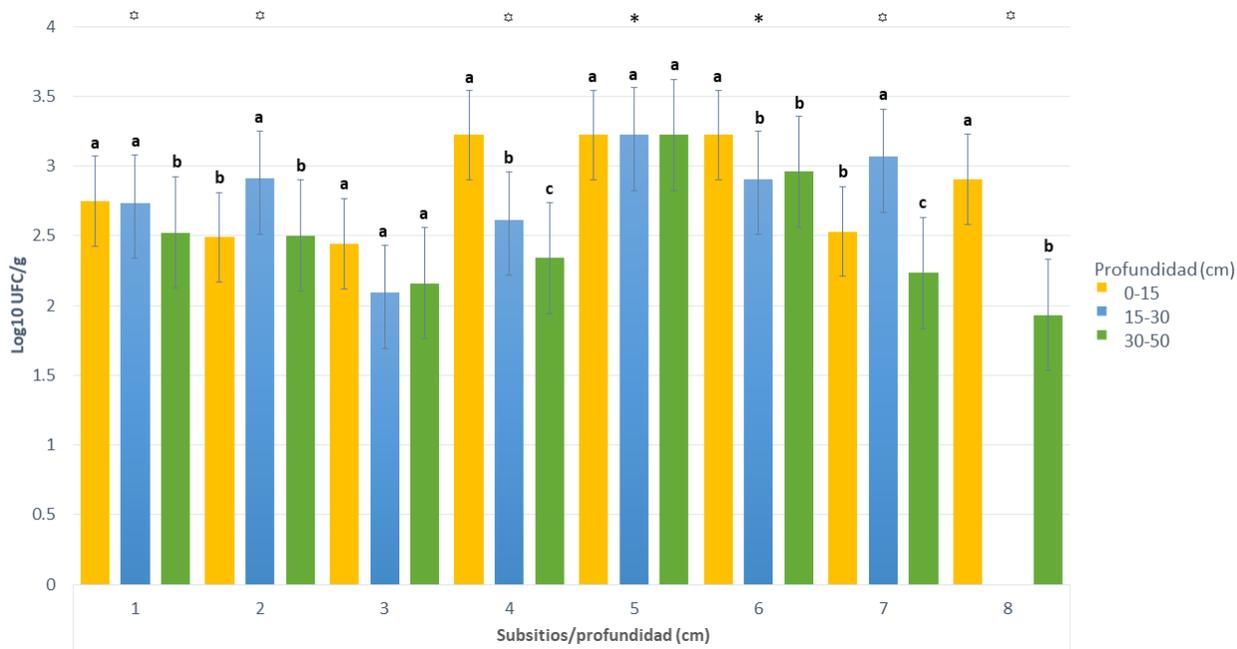


Figura 24. Recuentos de bacterias indicadoras (UFC/g) en diferentes profundidades de sedimentos en manglar Aeropuerto de La Paz.

Los resultados se muestran como barras que representan la media \pm DS (n=69). Las letras iguales indican que no hay diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Tukey ($p < 0.05$). Los asteriscos (*, ⊛) indican que no hay diferencias significativas entre los subsitios de cada sitio del manglar.

Estudios realizados en otros países, han reportado altas concentraciones de bacterias indicadoras en manglares y relacionado la presencia de dichos microorganismos con la contaminación principalmente por actividades antropogénicas, tal como se relaciona en el presente estudio. Como es el caso del estudio presentado por Abbu y Lymo (2007), donde evaluaron la contaminación por medio de bacterias fecales en manglares que se encuentran a lo largo de la costa de Dar es Salaam en Tanzania. Se analizaron 2 manglares; Rasi Dege y Mtoni Kijichi, este último se encuentra afectado principalmente por actividades antropogénicas.

Los resultados del recuento de bacterias indicadoras fueron significativamente más altas en el manglar afectado Mtoni Kijichi debido al alto contenido de aguas residuales domésticas que llegan al manglar. Sin embargo, se observaron altas concentraciones de nutrientes que se asoció con los altos niveles de coliformes



fecales. Debido a las descargas de aguas residuales, se crea un ambiente favorable para la sobrevivencia y persistencia de diversos microorganismos tal como se ha relacionado en esta investigación (Abbu y Lymo., 2007).

Por otro lado, un estudio realizado en el Golfo Pérsico por Karbasdehi y colaboradores (2017), tuvo como objetivo la cuantificación de bacterias indicadoras en ecosistemas marinos con el fin de relacionarlo a los contaminantes que reciben diariamente, que son causadas debido a diversas actividades humanas y factores fisicoquímicos. El alto contenido de bacterias indicadoras se relacionó principalmente con el turismo y al encontrarse cerca de puertos pesqueros y zonas donde se lleva a cabo la acuicultura. De acuerdo con la Ley General de Pesca y Acuicultura Sustentable con reforma en 2018, en zonas pesqueras de jurisdicción del gobierno federal, se evita la presencia de residuos contaminantes que pongan en riesgo la salud pública, así como los que atenten contra la inocuidad alimenticia de los productos acuícolas. Se menciona además que el Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura (Inapesca) y la secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SADER), tienen la facultad de crear un fondo para la prevención y erradicación de enfermedades infecciosas.

Por otro lado, Karbasdehi y colaboradores (2017) mencionan que los productos marinos pueden actuar como filtradores y permiten acumular altos niveles de microorganismos como los coliformes. Sin embargo, las descargas de las embarcaciones y escurrimientos de granjas acuícolas son otro medio que afecta a los ecosistemas, provocando un alto contenido de contaminación fecal tal como se mostró en sus resultados.

Otro punto importante a considerar es el papel que tienen las partículas de sedimentos marinos en la distribución de microorganismos como bacterias indicadoras. Un estudio presentado en Reino Unido (Gao et al., 2013), demostró que los microorganismos, principalmente los enterococos se encontraron en mayores concentraciones en muestras de sedimento en comparación con muestras de agua del estuario Severn. Diversos factores fueron punto clave para la distribución de los enterococos en las muestras de sedimento, incluyendo condiciones climáticas, por lo

que se encontró una mayor concentración en primavera a comparación de un clima más seco. Por otro lado, las diferentes fases de la marea juegan un papel positivo en la distribución de los microorganismos a lo largo del estuario, debido a que permitían un mayor recambio de ríos y desagües. Durante el alto flujo de mareas, dominaron las concentraciones de microorganismos resuspendidos en las muestras de sedimento, desempeñando un papel dominante en los niveles de bacterias en comparación con la columna de agua.

7.3 Presencia de bacterias patógenas

A continuación, se presentan los resultados presuntivos de bacterias patógenas en muestras de sedimento, a partir del uso de pruebas bioquímicas, por lo que se requeriría la identificación por medio de biología molecular.

7.3.1 *Aeromonas* sp

La presencia de *Aeromonas* se encontró en el manglar Aeropuerto de La Paz, en los subsitios CDB1, CDB6, CDB7 y CDB8. El subsitio CDB1 y CDB7 corresponden a los sitios que se encuentran cerca de la planta tratadora de aguas negras, además recibe residuos por ser parte de la zona agrícola, es por eso que se relaciona la presencia de dicho microorganismo en los subsitios, ya que, como menciona Janda y Abbott (2010), *Aeromonas* se asocia con animales de origen marino y la mala disposición de residuos en conjunto con los escurrimientos por lluvias, permiten que dichos microorganismos sean acarreados depositándose en el ecosistema.

Una característica importante del subsitio CBD7, es que es una zona comerciante activa y diversas personas suelen tener sus negocios ambulantes en dicho sitio, por otro lado, la presencia de *Aeromonas* se encontró de igual manera en el subsitio CDB6 (Figura 23), el cual se encuentra cerca de las comunidades de El Conchalito de La Paz. La presencia de *Aeromonas* sp. en dichos subsitios representa un alto riesgo tanto para el ecosistema como para el ser humano, ya que diversas especies de *Aeromonas* pueden llegar a ser perjudiciales para la salud del ser humano.



Por otro lado, se encontró presencia de *Aeromonas* en el sitio conservado del manglar Bahía Magdalena. Como se mencionó anteriormente, el sitio San Carlos recibe alto contenido de contaminantes principalmente de las embarcaciones pesqueras, por lo que se relaciona con la presencia de dicho microorganismo principalmente en el subsitio SCC2. Sin embargo, la presencia de *Aeromonas* en los subsitios SCC4 y SCC5 se relaciona a los contaminantes antrópicos que recibe el manglar.

Estudios como el publicado por Ghaderpour y colaboradores (2014), evaluaron la calidad de los manglares de Matang en Malaysia con la finalidad de identificar si existe riesgo en dichos ecosistemas por la presencia de bacterias patógenas. Debido a los asentamientos humanos y las actividades que se llevan a cabo en dichos ecosistemas, como la acuicultura, los manglares reciben altas concentraciones de contaminantes. Como resultado, obtuvieron una mayor presencia de *Aeromonas* sp en muestras de agua del manglar Matang en Malasia, en comparación con las muestras de sedimento. Dichos resultados se relacionaron al recambio constante de contaminantes por la corriente que se encuentra en el manglar. De igual manera el estudio presentado por Odeyemi y Ahmad (2017), demostraron que la presencia de *Aeromonas* en manglares de Malasia, representan un alto riesgo para la salud ya que conforme sus resultados obtenidos, ya que lograron aislar *Aeromonas* sp. tanto de muestras de sedimentos como de agua y diversos productos marinos como los bivalvos.

Dicho lo anterior, es importante la identificación de bacterias patógenas que representan un riesgo para la salud principalmente por las actividades y beneficios que aportan al ser humano y las afectaciones que provocan la presencia o consumo de microorganismos como *Aeromonas* sp.

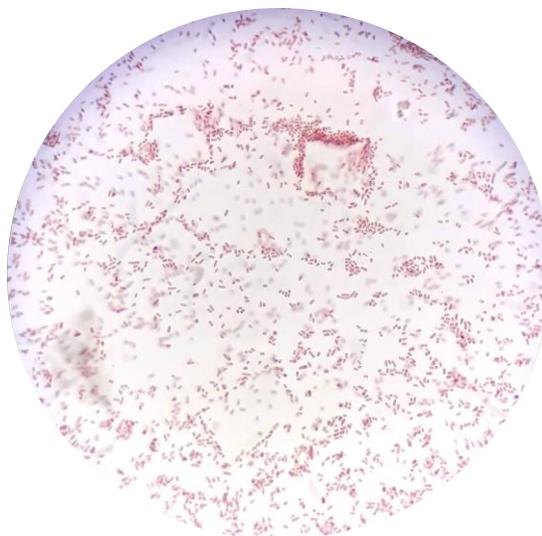


Figura 25. Tinción de Gram de colonias típicas de *Aeromonas sp.*

Tabla 2. Pruebas bioquímicas de *Aeromonas* sp. obtenidas de manglares árido-tropicales de Baja California Sur

Muestra	MIO			LIA			Kliger			Caldo nutritivo al 3%	VP ³	RM ⁴	Oxidasa
	Ornitina	Indol	Motilidad	Dx. Lisina ¹	Ds. Lisina ²	SH ₂	Gas	Glucosa/Lactosa	Gas				
CDB1 15-30	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+
CDB6 30-50	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+
CDB7 0-15	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+
CDB7 15-30	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+
CDB8 0-15	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+
SCC2 0-15	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+
SCC5 0-15	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+
SCC4 30-50	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+

Muestra: Indica el Sitio, subsitio y profundidad.

1. Descarboxilación de lisina.
2. Desaminación de Lisina
3. Vogues Proskauer
4. Rojo de Métilo

Tabla 3. Características macroscópicas y microscópicas de bacterias *Aeromonas* aisladas de manglares árido-tropicales de Baja California Sur.

Muestra	CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS			CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS		
	Color col.	Consistencia	tamaño	Gram	Forma	Arreglo
CDB1 15-30	Verdes	Mucoide	chicas	Negativa	Bacilos	separados
CDB6 30-50	Verdes	Mucoide	chicas	Negativa	Bacilos	separados
CDB7 0-15	Verdes	Mucoide	chicas	Negativa	Bacilos	separados
CDB7 15-30	Verdes	Mucoide	chicas	Negativa	Bacilos	separados
CDB8 0-15	Verdes	Mucoide	chicas	Negativa	Bacilos	separados
SCC2 0-15	Verdes	Mucoide	chicas	Negativa	Bacilos	separados
SCC5 0-15	Verdes	Mucoide	chicas	Negativa	Bacilos	separados
SCC4 30-50	Verdes	Mucoide	chicas	Negativa	Bacilos	separados

Muestra: Indica el Sitio, subsitio y profundidad.

7.3.2 *Vibrio sp.*

Debido a las características macroscópicas y microscópicas (Figura 25), así como las pruebas bioquímicas se identificó la presencia de bacterias de *Vibrio cholerae* y *Vibrio parahaemolyticus* en el manglar Aeropuerto de La Paz, en el sitio conservado y perturbado de Bahía Magdalena y el sitio conservado del manglar El Mogote.

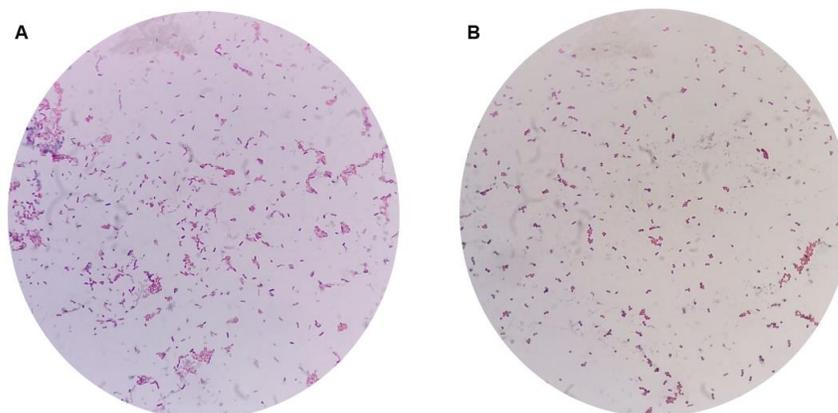


Figura 26. Tinción de Gram de colonias típicas de *Vibrio cholerae* y *Vibrio parahaemolyticus*.

A) Bacilos Gram negativos presuntos *Vibrio cholerae* B) Diplococcos Gram negativos presuntos *Vibrio parahaemolyticus*.

La importancia de la presencia de dichos microorganismos radica en el subsitio el cual fueron presentes. En el caso del sitio conservado del manglar Bahía Magdalena se encontró la presencia de *V. cholerae* y *V. parahaemolyticus* en el subsitio SCC2 y SCC5. A pesar de ser microorganismos ubicuos de ecosistemas marinos, la posible presencia de bacterias patógenas es de gran impacto para el ecosistema y las personas que tienen contacto directo con los manglares, así como la diseminación de la bacteria. Por otro lado, en el sitio perturbado se encontró en los subsitios CFE3 y CFE4, los cuales se encuentran cerca de la descarga de residuos de la Termoeléctrica de la CFE (Figura 18).

En el subsitio CFE3, se encontró la presencia de *Vibrio* sp. a una profundidad de 0-15 cm, lo cual se relaciona al constante recambio de sedimentos y contaminantes. Por otro lado, en el subsitio más afectado CFE4, se encontró a una profundidad de 30-50 cm debido a la perturbación generada en el ecosistema. Dicho lo anterior se relaciona a lo publicado por Hassard et al (2016) y Neogi et al (2018), donde los factores estresantes llevan a los microorganismos a una competencia para poder obtener los recursos necesarios para su sobrevivencia.



Por último, la presencia de *Vibrio* sp. en el sitio conservado del manglar El Mogote fue principalmente en la boca del manglar (MM3) (Figura 21), tal como se mencionó anteriormente, la presencia de bacterias en dicho subsitio se relaciona a la entrada de contaminantes acarreado microorganismos y su disposición en diferentes profundidades es debido a la presencia de materia orgánica disponible.

Un estudio realizado por Perkins y colaboradores (2014), demostró la capacidad que tienen diversos patógenos como *Vibrio* sp. de persistir en sedimentos estuarinos aun en diversas condiciones. Conforme los resultados presentados, se observó una mayor presencia de *Vibrio* sp. en sedimento a comparación de la columna de agua respectivamente. Debido a esto, se relacionó a la composición de las partículas de sedimento, ya que promueven la abundancia de diversos microorganismos en dichos ecosistemas. Por lo tanto, los datos presentados proporcionan una predicción de los riesgos a la salud que presenta la presencia de dichos microorganismos, basados en la re-suspensión y transporte de sedimentos.

De igual manera, Wang y colaboradores (2004) aislaron diversas especies de *Aeromonas* sp. y *Vibrio* sp. del manglar Mai Po que se encuentra en Hong Kong. También evaluaron parámetros ambientales que permiten el crecimiento y desarrollo de dichos microorganismos patógenos. Tanto *Aeromonas* sp. como *Vibrio* sp. fueron aislados de las muestras de sedimento y agua, lo que indicó una posible propagación proveniente del río Shenzhen el cual recibe gran cantidad de aguas residuales e industriales. En la temporada de verano, los parámetros ambientales como la temperatura, el pH y la salinidad, influyeron positivamente en el crecimiento de *Vibrio* sp. y *Aeromonas* sp. Debido a la adaptación de los patógenos a los parámetros ambientales, se relacionó con la posible sobrevivencia de los microorganismos en el manglar Mai Po, lo cual es considerado una amenaza potencial para la salud pública y la salud animal.

Tabla 4. Pruebas bioquímicas de *Vibrio* sp. obtenidas de manglares árido-tropicales de Baja California Sur.

Muestra	MIO			LIA				Kliger			Caldo nutritivo al 6%	VP ³	RM ⁴	Oxidasa
	Ornitina	Indol	Motilidad	Dx. Lisina ¹	Ds. Lisina ²	SH ₂	GaS	Glucosa/Lactosa	Gas	SH ₂				
CFE3 0-15	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+
CFE3 0-15	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+
CFE4 30-50	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+
MM3 15-30	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+
MM3 30-50	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+
SCC2 0-15	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+
SCC5 0-15	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
SCC5 15-30	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
CDB1 0-15	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
CDB1 15-30	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
CDB1 30-50	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
CDB4 30-50	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
CDB6 15-30	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
CDB6 30-50	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+

Muestra: Indica el Sitio, subsitio y profundidad.

1. Descarboxilación de lisina.
2. Desaminación de Lisina
3. Vogues Proskauer
4. Rojo de Métilo

Tabla 5. Características macroscópicas y microscópicas de bacterias *Vibrio* aisladas de manglares árido-tropicales de Baja California Sur.

<i>Muestra</i>	CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS			CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS		
	Color colonias	Consistencia	tamaño	Gram	Forma	Arreglo
CFE3 0-15	Amarillas	Creмосa	Pequeña	Negativa	Bacilos	Separados
CFE3 0-15	Verdes	Creмосa	Pequeña	Negativa	Cocos	Diplococcus
CFE4 30-50	Verdes	Mucosas	Pequeña	Negativa	Cocos	Diplococcus
MM3 15-30	Verdes	Mucosas	Pequeña	Negativa	Cocos	Diplococcus
MM3 30-50	Verdes	Mucosas	Pequeña	Negativa	Cocos	Diplococcus
SCC2 0-15	Verdes	Mucosas	Pequeña	Negativa	Cocos	Diplococcus
SCC5 0-15	Amarillas	cremosa	Pequeña	Negativa	Bacilos	Separados
SCC5 15-30	Amarillas	Creмосa	Pequeña	Negativa	Bacilos	Separados
CDB1 0-15	Amarillas	Creмосa	Pequeña	Negativa	Bacilos	Separados
CDB1 15-30	Amarillas	Creмосa	Pequeña	Negativa	Bacilos	Separados
CDB1 30-50	Amarillas	Mucosas	Pequeña	Negativa	Bacilos	Separados
CDB4 30-50	Verdes	Mucosas	Pequeña	negativa	Cocos	Diplococcus
CDB6 15-30	Verdes	Mucosas	Pequeña	negativa	Cocos	Diplococcus
CDB6 30-50	Verdes	Mucosas	Pequeña	negativa	Cocos	Diplococcus

Muestra: Indica el Sitio, subsitio y profundidad.

Tabla 6. Presencia de bacterias patógenas en manglares de Baja California sur.

<i>Vibrio cholera</i>			<i>Vibrio parahemolyticus</i>			<i>Aeromonas sp.</i>		
Sitio	Subsitio	Profundidad (cm)	Sitio	Subsitio	Profundidad (cm)	Sitio	Subsitio	Profundidad (cm)
CFE	3	0-15	CFE	3	0-15	SCC	2	0-15
SCC	5	0-15	CFE	4	30-50	SCC	5	0-15
SCC	5	15-30	MM	3	15-30	SCC	4	30-50
CDB	1	0-15	SCC	2	0-15	CDB	1	15-30
CDB	1	15-30	CDB	4	30-50	CDB	6	30-50
CBD	1	30-50	CDB	6	15-30	CDB	7	0-15
			CDB	6	30-50	CDB	7	15-30
						CDB	8	0-15



7.3.3 *Salmonella* sp.

En ninguna de las muestras de los manglares se encontró la presencia de *Salmonella* sp.. Existen diversos factores ambientales que pueden afectar la presencia del microorganismo en ecosistemas acuáticos como los manglares. Una vez ingresada *Salmonella* a los cuerpos de agua se ven afectadas por diversos factores estresantes como la radiación UV, las altas concentraciones de salinidad y la temperatura, provocando que el microorganismo no sobreviva ante dichas condiciones (Acuña et al., 2011; Berthe et al., 2008).

Por otro lado, la evaluación epidemiológica de la Secretaría de Salud (2021) ha evidenciado la ausencia de casos de *Salmonella* sp. en Baja California Sur, por lo que confirma que no hay una diseminación de la bacteria por la población hacia los manglares por medio de residuos urbanos entre otros.



VIII. CONCLUSIÓN

La presencia de bacterias indicadoras de calidad en los manglares permitió verificar que los ecosistemas reciben contaminación debido al origen de dichos microorganismos. Uno de los manglares que se encontró más contaminado es el manglar Aeropuerto de La Paz como consecuencia del alto impacto antrópico y urbano.

En los sitios conservados de los manglares se encontró una mayor presencia de bacterias indicadoras de calidad en comparación con los sitios perturbados, dicha presencia se relacionó a la continua contaminación que reciben los ecosistemas día con día. Las deficientes prácticas en tratamientos de efluentes industriales y la mala disposición de residuos urbanos de comunidades aledañas, así como el impacto antrópico que reciben los manglares, han permitido la presencia de diversos microorganismos patógenos, lo que conlleva un alto riesgo para la salud humana y para el ecosistema tanto para los servicios que provee como para las funciones del manglar.

IX. BIBLIOGRAFÍA



- Abbu, A. A., y Lyimo, T. J. (2007). Assessment of fecal bacteria contamination in sewage and non-sewage impacted mangrove ecosystems along the coast of dar es salaam. *Tanzania Journal of Science*, 33, 27–40. <https://doi.org/10.4314/tjs.v33i1.44273>
- Acosta, V. J., y Vázquez, A. D. (2009). Caracterización del sitio de manglar Bahía Magdalena, en Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). *Sitios de manglar con relevancia biológica y con necesidades de rehabilitación ecológica*. CONABIO. México, D.F. 18 pp.
- Acuña, J. A, Torres, C., Pucci, G.N, y Pucci, O. H. (2011). Evaluación del tiempo de vida de bacterias potencialmente patógenas en sedimentos marinos. *Revista de La Sociedad Venezolana de Microbiología*, 31(2), 124–129.
- Adame, G. J. R., Nevárez, M. G. V., Palacios, L. O. A., & Rivera, Ch. B. (2020 a). Monitoreo e impacto antropogénico en manglares de México Monitoring and anthropogenic impact on mangroves in Mexico. *CienciAcierta*, 64, 1–8.
- Adame, M. F., Reef, R., Santini, N. S., Najera, E., Turschwell, M. P., Hayes, M. A., Masque, P., y Lovelock, C. E. (2020 b). Mangroves in arid regions: Ecology, threats, and opportunities. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 248, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2020.106796>
- Alatorre, L. C., Sanchez, S. S., Miramontes-Beltr, S., Medina, R. J., Torres-Olave, M. E., Bravo, L. C., Wiebe, L. C., Granados, A., Adams, D. K., Anchez, E. S., & Uc, M. (2015). Temporal changes of NDVI for qualitative environmental assessment of mangroves: Shrimp farming impact on the health decline of the arid mangroves in the Gulf of California (1990-2010). *Journal of Arid Enviroments*, 125, 98–109. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2015.10.010>
- Acampora, B. H. A. D. (2016). Los manglares como infraestructura verde: el caso de la región metropolitana de Florianópolis, costa Sur de Brasil. A: Seminario Internacional de Investigación en Urbanismo. "VIII Seminario



Internacional de Investigación en Urbanismo, Barcelona-Balneário Camboriú, junio 2016". Barcelona: DUOT, 2016.

Barbier, E. B. (2016). The protective service of mangrove ecosystems: A review of valuation methods. *Marine Pollution Bulletin*, 109(2), 676–681. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.01.033>

Barizan, S. R., Zhai, L., Romañach, S. S., DeAngelis, D. L., Lye Koh, H., Li, Y., Yean Teh, S., y Sulaiman Raja Barizan, R. (2018). Conservation and restoration of mangroves: Global status, perspectives, and prognosis. *Ocean and Coastal Management*, 154, 72–82. <https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2018.01.009>

Bastos, R., Pessoa, G., Felix De Oliveira, W., Santa, D., Marques, C., Tereza, M., Correia, S., Verônica, E., Maciel De Carvalho, M., Breitenbach, L. C., y Coelho, B. (2019). The genus *Aeromonas*: A general approach. *Microbial Pathogenesis*, 130, 81–94. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.02.036>

Batra, P., Mathur, P., y Misra, M. C. (2016). *Aeromonas* spp.: An Emerging Nosocomial Pathogen. *Journal of Laboratory Physicians*, 8(1), 1–4. <https://doi.org/10.4103/0974-2727.176234>

Berthe, T., Touron, A., Leloup, J., Deloffre, J., y Petit, F. (2008). Faecal indicator bacteria and sedimentary processes in estuarine mudflats (Seine, France). *Marine Pollution Bulletin*, 57(1–5), 59–67. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2007.10.013>

Bordalo, A. A., Onrassami, R., y Dechsakulwatana, C. (2002). Survival of faecal indicator bacteria in tropical estuarine waters (Bangpakong River, Thailand). *Journal of Applied Microbiology*, 93(5), 864–871. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2002.01760.x>

Carmona, T., F., Yuste, J. R., y del Pozo, J. L. (2018). Cólera y otras infecciones del género *Vibrio*. *Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 12(50), 2952-2962. <https://doi.org/10.1016/j.med.2018.02.012>



- Carugati, L., Gatto, B., Rastelli, E., lo Martire, M., Coral, C., Greco, S., y Danovaro, R. (2018). Impact of mangrove forests degradation on biodiversity and ecosystem functioning. *Scientific Reports*, 8(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-31683-0>
- Castro, E., G., Aguilera, M. G., Cerezo, S. G., Hernandez, C. H., Chacón, M. R., Falgás, L. S., ... & Salvat, M. J. F. (2002). El género *Aeromonas*. ¿Un patógeno importante en México?. *Enfermedades infecciosas y microbiología*, 22(4), 206-216.
- Cervantes, D. R., Santos, E. J., Rodríguez, H. J. J., y Marmolejo, R. A. J. (2020). Estudio integral de la calidad del agua en el litoral del puerto San Carlos, Baja California Sur, México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 36(3), 927–943. <https://doi.org/10.20937/RICA.53776>
- CONABIO. (2021, March 6). *Sistema de Monitoreo de Manglares de México (SMMM)*. Biodiversidad Mexicana. <https://www.biodiversidad.gob.mx/monitoreo/smmm>
- Cotta, S. R., Cadete, L. L., Van Elsas, J. D., Andreote, F. D., y Dias, A. C. F. (2019). Exploring bacterial functionality in mangrove sediments and its capability to overcome anthropogenic activity. *Marine Pollution Bulletin*, 141, 586–594. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.03.001>
- Cruz, E, Víctor, H., Morales. Z, M., Navia, A. F., Rguez, J. M., y del Monte, P. (2013). Análisis funcional de la red trófica de Bahía Magdalena Baja California Sur, México. *Latin american journal of aquatic research*, 41(3), 519–544.
- Daskalov, H. (2006). The importance of *Aeromonas hydrophila* in food safety. *Food Control*, 17(6), 474–483. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2005.02.009>
- Dechet, A. M., Yu, P. A., Koram, N., y Painter, J. (2008). Nonfoodborne *Vibrio* infections: an important cause of morbidity and mortality in the United States, 1997–2006. *Clinical Infectious Diseases*, 46(7), 970-976.



- Defew, L. H., Mair, J. M., y Guzman, H. M. (2005). An assessment of metal contamination in mangrove sediments and leaves from Punta Mala Bay, Pacific Panama. *Marine Pollution Bulletin*, 50(5), 547–552. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2004.11.047>
- Del Pilar, M., Pulido, A., De Navia, S. L. A., Torres, E., y Prieto, G. (2005). Indicadores microbiológicos de contaminación de las fuentes de agua. *Nova*, 3(4), 69–79.
- Dhal, P. K., Kopprio, G. A., & Gärdes, A. (2020). Insights on aquatic microbiome of the Indian Sundarbans mangrove areas. *PLoS ONE*, 15(2), 1–18. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0221543>
- Diario Oficial de la Federación. (2011, February 10). *Norma Oficial Mexicana NOM-242-SSA1-2009, Productos y servicios. Productos de la pesca frescos, refrigerados, congelados y procesados. Especificaciones sanitarias y métodos de prueba*. http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5177531&fecha=10/02/2011. Fecha de consulta: 10 de febrero del 2021.
- Diario Oficial de la Federación. (2003). *Norma oficial mexicana nom-021-semarnat-2000 que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis*. Fecha de consulta: 10 de febrero del 2021.
- Díaz P. M., Rodríguez M. C., y Zhurbenko, R. (2010). Aspectos fundamentales sobre el género *Enterococcus* como patógeno de elevada importancia en la actualidad. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 48(2), 147–161.
- Edberg, S. C., Rice, E. W., Karlin, R. J., y Allen, M. J. (2000). *Escherichia coli*: The best biological drinking water indicator for public health protection. *Journal of Applied Microbiology Symposium Supplement*, 88(29), 1–11. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2000.tb05338.x>



- Farnleitner, A. H., Ryzinska P. G., Reischer, G. H., Burtscher, M. M., Knetsch, S., Kirschner, A. K. T., Dirnböck, T., Kuschnig, G., Mach, R. L., y Sommer, R. (2010). *Escherichia coli* and enterococci are sensitive and reliable indicators for human, livestock and wildlife faecal pollution in alpine mountainous water resources. *Journal of Applied Microbiology*, 109(5), 1599–1608. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2010.04788.x>
- Feasey, N. A., Dougan, G., Kingsley, R. A., Heyderman, R. S., y Gordon, M. A. (2012). Invasive non-typhoidal *Salmonella* disease: An emerging and neglected tropical disease in Africa. In *The Lancet* (Vol. 379, Issue 9835, pp. 2489–2499). [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)61752-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)61752-2)
- Fernández, S. M. T. (2017). Determinación de coliformes totales y fecales en aguas de uso tecnológico para las centrifugas. ICIDCA. *Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, 51(2), 70-73. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223154251011>
- Fernández, B. A., y Figueras, M. J. (2020). An update on the genus *Aeromonas*: Taxonomy, epidemiology, and pathogenicity. *Microorganisms*, 8(1), 1–39. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8010129>
- Ghaderpour, A., Nasori, K. N. M., Chew, L. L., Chong, V. C., Thong, K. L., & Chai, L. C. (2014). Detection of multiple potentially pathogenic bacteria in Matang mangrove estuaries, Malaysia. *Marine pollution bulletin*, 83(1), 324-330.
- Gao, G., Falconer, R. A., & Lin, B. (2013). Modelling importance of sediment effects on fate and transport of enterococci in the Severn Estuary, UK. *Marine pollution bulletin*, 67(1-2), 45-54.
- Garcés, O. O., y Arenas, M. R. B., (2019). Impactos de la contaminación por basura marina en el ecosistema de manglar de la Ciénaga Grande de Santa Marta, Caribe colombiano. *Journal of Marine and Coastal Sciences*, 145–165. <https://doi.org/10.15359/revmar.11-2.8>



González, A. M., Paranhos, R., Lutterbach, M. S., Gonzalez, A. M., Paranhos, R., y Lutterbach, M. S. (2010). Relationships between fecal indicators and pathogenic microorganisms in a tropical lagoon in Rio de Janeiro, Brazil. *Environmental monitoring and assessment*, 164, 207–219. <https://doi.org/10.1007/s10661-009-0886-9>

Griffiths, B. S., y Philippot, L. (2012). Insights into the resistance and resilience of the soil microbial community. *FEMS microbiology reviews*, 37(2), 112–129. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2012.00343.x>

Haller, L., Poté, J., Loizeau, J. L., y Wildi, W. (2009). Distribution and survival of faecal indicator bacteria in the sediments of the Bay of Vidy, Lake Geneva, Switzerland. *Ecological Indicators*, 9(3), 540–547. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2008.08.001>

Hassard, F., Gwyther, C. L., Farkas, K., Andrews, A., Jones, V., Cox, B., y Malham, S. K. (2016). Abundance and Distribution of Enteric Bacteria and Viruses in Coastal and Estuarine Sediments-a Review. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1–31. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01692>

Hochedez, P., Hope-Rapp, E., Olive, C., Nicolas, M., Beaucaire, G., y Cabié, A. (2010). Bacteremia caused by *Aeromonas hydrophila* complex in the Caribbean Islands of Martinique and Guadeloupe. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 83(5), 1123–1127. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2010.10-0063>

Hogarth, P. T. (2015). *The Biology of Mangroves and Seagrasses* (Third Edition). Oxford University Press.

IUCN, International Union for Conservation of Nature (2013). Support grows for mangroves. Disponible en: <https://www.iucn.org/content/support-grows-mangroves>. Fecha de consulta: 3 de mayo de 2021.

Jajere, S. M. (2019). A review of *Salmonella enterica* with particular focus on the pathogenicity and virulence factors, host specificity and antimicrobial



resistance including multidrug resistance. *Veterinary World*, 12, 504–521.
<https://doi.org/10.14202/vetworld.2019.504-521>

Janda, J. M., y Abbott, S. L. (2010). The Genus *Aeromonas*: Taxonomy, Pathogenicity, and Infection. *Clinical microbiology reviews*, 23(1), 35–73.
<https://doi.org/10.1128/CMR.00039-09>

Jang, J., Hur, H. G., Sadowsky, M. J., Byappanahalli, M. N., Yan, T., & Ishii, S. (2017). Environmental *Escherichia coli*: ecology and public health implications—a review. *Journal of Applied Microbiology*, 123(3), 570–581.
<https://doi.org/10.1111/jam.13468>

Joseph, A. V., Sasidhara, R. S., Nair, H. P., & Bhat, S. G. (2013). Occurrence of potential pathogenic *Aeromonas* species in tropical seafood. *Veretinary Word*, 6(6), 300–306. <https://doi.org/10.5455/vetworld.2013.300-306>

Karbasdehi, V. N., Dobaradaran, S., Nabipour, I., Ostovar, A., Arfaeina, H., Vazirizadeh, A., Mirahmadi, R., Keshtkar, M., Ghasemi, F. F., & Khalifei, F. (2017). Indicator bacteria community in seawater and coastal sediment: the Persian Gulf as a case. *Journal of Enviromental Health Science & Engineering*, 15(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/s40201-017-0266-2>

Keeratipibul S., Nieto A., G., Martin, N. H., TrmčíTrmčřTrmčř, A., Hsieh, T., Boor, K. J., & Wiedmann, M. (2016). The evolving role of coliforms as indicators of unhygienic processing conditions in dairy foods. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1–8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01549>

Korajkic, A., Wanjugi, P., Brooks, L., Cao, Y., & Harwood, V. J. (2019). Persistence and Decay of Fecal Microbiota in Aquatic Habitats. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 83(4), 1–26.
<https://doi.org/10.1128/MMBR.00005-19>

Lamas, A., Miranda, J. M., Regal, P., Vázquez, B., Franco, C. M., & Cepeda, A. (2018). A comprehensive review of non-enterica subspecies of *Salmonella*



enterica. Microbiological Research, 206, 60–73.
<https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.09.010>

Larrea, M. J. A., Rojas, B. M. M., Romeu, Á. B., Rojas, H. N. M., & Heydrich, P. M. (2013). Bacterias indicadoras de contaminación fecal en la evaluación de la calidad de las aguas: revisión de la literatura. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 44(3), 24–33.

Lee, C. M., Lin, T. Y., Lin, C. C., Kohbodi, G. N. A., Bhatt, A., Lee, R., & Jay, J. A. (2006). Persistence of fecal indicator bacteria in Santa Monica Bay beach sediments. *Water Research*, 40(14), 2593–2602.
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.04.032>

Ley General de pesca y acuicultura sustentable, Reforma del 24 - 04 - 2018. Diario oficial de la Federación de los Estados Unidos Mexicanos. Ciudad de México, México. Fecha de consulta: 9 de agosto del 2021.

Leyva, C., V., Puig, P., Y., Espino H., M., Pereda L., G., Portela L., N., Luis M., P., Roble, O., Castillo, L. v, Peña, P. Y., & Hernández, E. M. (2013). Especies patógenas de *Vibrio* aisladas en alimentos de origen marino. *Revista Cubana de Alimentación y Nutrición*, 23(1), 31–43.

Loo, K. Y., Letchumanan, V., Law, J. W. F., Pusparajah, P., Goh, B. H., Ab Mutalib, N. S., He, Y. W., & Lee, L. H. (2020). Incidence of antibiotic resistance in *Vibrio* spp. *Reviews in Aquaculture*, 12(4), 2590–2608.
<https://doi.org/10.1111/raq.12460>

López, A. J., Roberts, C. M., Tilley, A., Hawkins, J. P., & Cooke, R. G. (2016). Mangroves and people: Lessons from a history of use and abuse in four Latin American countries. In *Forest Ecology and Management*, 368, 151-162. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2016.03.020>

Lotfy, N. M., Hassanein, M. A., Abdel G., F. Kh., Taweel, G. E., & Bassem, S. M. (2011). Detection of *Salmonella* Spp in Aquatic Insects, Fish and Water by



MPN-PCR Related papers. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 3(1), 58–66.

Lovelock, C. E., Ball, M. C., Martin, K. C., & Feller, I. C. (2009). Nutrient Enrichment Increases Mortality of Mangroves. *PLoS ONE*, 4(5), 1–4. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0005600>

Martinez, U. J., Liebana, E., Garcia, M. L., Perez, P. P., & Saco, M. (2004). Characterization of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium from Marine Environments in Coastal Waters of Galicia (Spain). *Applied and Environmental Microbiology*, 70(7), 4030–4034. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.7.4030-4034.2004>

McInnes, R. J., Simpson, M., Lopez, B., Hawkins, R., & Shore, R. (2017). Wetland Ecosystem Services and the Ramsar Convention: An Assessment of Needs. *Wetlands*, 37, 123–134. <https://doi.org/10.1007/s13157-016-0849-1>

Menéndez, P., Losada, I. J., Torres O., S., Narayan, S., & Beck, M. W. (2020). The Global Flood Protection Benefits of Mangroves. *Scientific Reports*, 10(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-61136-6>

Mendoza, S. R. (2007). Humedales “El Mogote-Ensenada de la Paz”. Ficha informativa de los humedales RAMSAR (FIR). México, DF.

Mezal, E. H., Sabol, A., Khan, M. A., Ali, N., Stefanova, R., Mezal, A. H., & Khan, A. A. (2014). Isolation and molecular characterization of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis from poultry house and clinical samples during 2010. *Public Health Resources*, 38, 67–74. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.08.003>

Neogi, S. B., Lara, R., Alam, M., Harder, J., Yamasaki, S., & Colwell, R. R. (2018). Environmental and hydroclimatic factors influencing *Vibrio* populations in the estuarine zone of the Bengal delta. *Environmental monitoring and assessment*, 190(10), 1-16.



- Obiri, D. K., & Jones, K. (2000). Intertidal sediments as reservoirs for hippurate negative campylobacters, *salmonella* and faecal indicators in three eu recognised bathing waters in north west england. *Water Research*, 34(2), 519–527. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(99\)00146-3](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(99)00146-3)
- Odeyemi, O. A., & Ahmad, A. (2017). Population dynamics, antibiotics resistance and biofilm formation of *Aeromonas* and *Vibrio* species isolated from aquatic sources in Northern Malaysia. *Microbial pathogenesis*, 103, 178-185.
- Odoch, T., Wasteson, Y., L'Abée-Lund, T., Muwonge, A., Kankya, C., Nyakarahuka, L., ... & Skjerve, E. (2017). Prevalence, antimicrobial susceptibility and risk factors associated with non-typhoidal *Salmonella* on Ugandan layer hen farms. *BMC veterinary research*, 13(1), 1-10. DOI: 10.1186/s12917-017-1291-1
- Ordóñez. G. O, & Bayona. M. R. (2019). Impactos de la contaminación por basura marina en el ecosistema de manglar de la Ciénaga Grande de Santa Marta, Caribe colombiano. *Revista de Ciencias Marinas y Costeras*, 11(2), 143–165. <https://doi.org/10.15359/revmar.11-2.8>
- Ortega, R. A., Pinkus, R. M. J., Espitia, M. I. C., La Paz, B. C. S., & Mérida, Y. (2015). *Las áreas naturales protegidas y la investigación científica en México*. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste SC, La Paz BCS, Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, Yucatán y Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, México. 447-472.
- Ottaviani, D., Santarelli, S., Bacchiocchi, S., Masini, L., Ghittino, C., & Bacchiocchi, I. (2006). Occurrence and characterization of *Aeromonas* spp. in mussels from the Adriatic Sea. *Food Microbiology*, 23(5), 418–422. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2005.08.001>
- País, G. D. L. M. G. (2005). Importancia económico-ambiental del ecosistema manglar. *Economía y Desarrollo*, 138(1), 111–134. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=425541308005>



- Perkins TL, Clements K, Baas JH, Jago CF, Jones DL, Malham SK, et al. (2014) Sediment Composition Influences Spatial Variation in the Abundance of Human Pathogen Indicator Bacteria within an Estuarine Environment. *PLoS ONE* 9(11): e112951. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112951>
- Penha, L., Torres, P., Cannicci, S., Narciso, L., & Paula, J. (2011). Monitoring anthropogenic sewage pollution on mangrove creeks in southern Mozambique: A test of *Palaemon concinnus* Dana, 1852 (Palaemonidae) as a biological indicator. *Environmental Pollution*, 159, 636–645. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.09.029>
- Pires, A. F. A., Funk, J. A., & Bolin, C. (2014). Risk factors associated with persistence of *Salmonella* shedding in finishing pigs. *Preventive Veterinary Medicine*, 116(1–2), 120–128. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2014.06.009>
- Poharkar, Doijad, Swapnil., Kerkar, Savita., & Barbuddhe, S. (2017). Pathogenic Bacteria of Public Health Significance in Estuarine Mangrove Ecosystem Translational Centre for Molecular epidemiology of *Listeria monocytogenes*. *Marine Pollution and Microbial Remediation*, 239–256. https://doi.org/10.1007/978-981-10-1044-6_15
- Poharkar, K., Kerkar, S., D'costa, D., Doijad, S., & Barbuddhe, S. B. (2016). Mangrove Ecosystems: An Adopted Habitat for Pathogenic *Salmonella* spp. *Water Environment Research*, 88(3), 264–271. <https://doi.org/10.2175/106143016X14504669767733>
- Poharkar, Kerkar, Savita., Doijad, S. P., & Barbuddhe, S. B. (2014). Prevalence and genetic profiles of *Escherichia coli* from mangroves and mangrove associated foods off Goa, India. *Marine Pollution Bulletin*, 85, 86–91. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.06.018>
- Quiñones, P. D., Marrero, D., Falero, B., Tamargo, I., Llop, A., Kobayashi, N., & Campo, R. del. (2008). Susceptibilidad antimicrobiana y factores de



- virulencia en especies de *Enterococcus* causantes de infecciones pediátricas en Cuba. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 60(2), 123–129.
- Rabalais, N. N., Turner, R. E., & Wiseman, W. J. (2002). Gulf of México hypoxia, “the dead zone.” *Annual Review of Ecology and Systematics*, 33, 235–263. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.33.010802.150513>
- Rebaudet, S., Sudre, B., Faucher, B., & Piarroux, R. (2013). Cholera in Coastal Africa: A systematic review of its heterogeneous environmental determinants. *Journal of Infectious Diseases*, 208(1), 1–9. <https://doi.org/10.1093/infdis/jit202>
- Reef, R., Feller, I. C., & Lovelock, C. E. (2010). Nutrition of mangroves. *Tree Physiology*, 30, 1148–1160. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpq048>
- Rincón, A., Paola, D., Rueda, R., Yesid, R., Medina, V., & Carolina, J. (2011). Transmisión de *Salmonella entérica* a través de huevos de gallina y su importancia en salud pública. *Revista de La Universidad Industrial de Santander. Salud*, 43(2), 167–177. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=343835702008>
- Rodríguez, Z. M. T., Troche, S. C., Vázquez, L. A. D., Márquez, M. J. D., Vázquez, B. B., Valderrama, L. L., Velázquez, S. S., Cruz, L. M. I., Ressler, R., Uribe, M. A., Galindo, L. C., Fueyo, M. D. L., Jiménez, R. R., Díaz, G. J., Acosta, V. J., & Cerdeira, E. S. (2013). *Manglares de México: extensión, distribución y monitoreo*. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México D.F. 128 pp.
- Sánchez, S. Á. M., Arboleda, V. J. W., Rivera, G. H. F., & Valle, M. R. H. (2014). Analysis of coliforms and sulfate-reducing bacteria in reservoirs aquifer of Corrales de San Luis Beltran, Atlantico, Colombia. *Medicina y Laboratorio*, 20(9–10), 453–466.
- Secretaria de Salud (2021). *Boletín Epidemiológico Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica Sistema Único de Información*. Sistema Único de



Información. <https://www.gob.mx/salud/documentos/boletinepidemiologico-sistema-nacional-de-vigilancia-epidemiologica-sistema-unico-de-informacion-261547>. Fecha de consulta: 30 de mayo del 2021.

Seto, K. C., Parnell, S., & Elmqvist, T. (2013). A global outlook on urbanization. *Urbanization, Biodiversity and Ecosystem Services: Challenges and Opportunities: A Global Assessment* (1–12). https://doi.org/10.1007/978-94-007-7088-1_1

Shi, C., Yu, L., Chai, M., Niu, Z., & Li, R. (2020). The distribution and risk of mercury in Shenzhen mangroves, representative urban mangroves affected by human activities in China. *Marine Pollution Bulletin*, 151, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.110866>

Solomon, R. A. J. (2019). Status of pollination ecology studies on mangroves. *Advances in Pollen Spore Research*, 37, 199–233. <https://www.researchgate.net/publication/335260721>

Stevens, M. P., Humphrey, T. J., & Maskell, D. J. (2009). Molecular insights into farm animal and zoonotic *Salmonella* infections. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1530), 2708–2723. <https://doi.org/10.1098/rstb.2009.0094>

Stratev, D., & Odeyemi, O. A. (2016). Antimicrobial resistance of *Aeromonas hydrophila* isolated from different food sources: A mini-review. *Journal of Infection and Public Health*, 9(5), 535–544. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2015.10.006>

Touron, A., Berthe, T., Gargala, G., Fournier, M., Ratajczak, M., Servais, P., & Petit, F. (2007). Assessment of faecal contamination and the relationship between pathogens and faecal bacterial indicators in an estuarine environment (Seine, France). *Marine Pollution Bulletin*, 54(9), 1441–1450. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2007.05.009>



Valderrama, L. L. H., Rodríguez, Z. M. T., Troche, S. C., Velázquez, S. S., Villeda, C. E., Alcántara, M. J. A., Vázquez, B. B., Cruz, L. M. I., & Ressler, R. (2017). *Manglares de México: actualización y exploración de los datos del sistema de monitoreo 1970/1980-2015*. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Ciudad de México, 128 pp.

Vergine, P., Saliba, R., Salerno, C., Laera, G., Berardi, G., & Pollice, A. (2015). Fate of the fecal indicator *Escherichia coli* in irrigation with partially treated wastewater. *Water Research*, 85, 66–73. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.08.001>

Wang, Y., PC, L., Qian, P., & Gu, J. D. (2004). Effects of UV, H₂O₂ and Fe³⁺ on the growth of four environmental isolates of *Aeromonas* and *Vibrio* species from a mangrove environment. *Microbes and environments*, 19(2), 163-171.

Whitlock, J. E., Jones, D. T., & Harwood, V. J. (2002). Identification of the sources of fecal coliforms in an urban watershed using antibiotic resistance analysis. *Water Research*, 36(17), 4273–4282. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(02\)00139-2](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(02)00139-2)

Wilks, D., Farrington, M., & Rubenstein, D. (2003). *The Infectious Diseases Manual* (Second Edition). Blackwell Science.

Winfield, M. D., & Groisman, E. A. (2003). Role of nonhost environments in the lifestyles of *Salmonella* and *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(7), 3687–3694. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.7.3687-3694.2003>

Zamora, S. R., & Alvarado, M. A. (2017). Preharvest *Salmonella* Risk Contamination and the Control Strategies. In *Current Topics in Salmonella and Salmonellosis*. 193–213. InTech. <https://doi.org/10.5772/67399>

X. ANEXOS

ANEXO I Resultado de recuento de bacterias indicadoras en manglares de Baja California Sur.

Tabla 7. Recuento de bacterias indicadoras de calidad en manglar El Mogote.

Sitio conservado (MM), sitio perturbado (ML).

<i>Manglar</i>	<i>sitio</i>	<i>subsitio</i>	<i>profundidad</i>	<i>Conteo log</i>
<i>El Mogote</i>	MM	1	0-15	2.42759429
	MM	1	0-15	2.36983407
	MM	1	0-15	2.29593344
	MM	1	15-30	1.80843605
	MM	1	15-30	1.04139269
	MM	1	15-30	1.24715461
	MM	1	30-50	0.6368221
	MM	1	30-50	0.6368221
	MM	1	30-50	0.88460658
	MM	1	50-70	0.88460658
	MM	1	50-70	1.04139269
	MM	1	50-70	0.88460658
	MM	2	0-15	1.90848502
	MM	2	0-15	1.97466518
	MM	2	0-15	1.94283449
	MM	2	15-30	1.32221929
	MM	2	15-30	1.32221929
	MM	2	15-30	0.88460658
	MM	2	30-50	0
	MM	2	30-50	0
	MM	2	30-50	0
	MM	3	0-15	2.07065345
	MM	3	0-15	1.90848502
	MM	3	0-15	2.00432137
	MM	3	15-30	1.73506635
	MM	3	15-30	1.85125835
	MM	3	15-30	1.57595719
	MM	3	15-30	2.33108972
	MM	3	30-50	2.15936664
	MM	3	30-50	2.31736679
	MM	4	0-15	1.85125835
	Continuación de tabla 7			
MM	4	0-15	1.67821478	
MM	4	0-15	1.78532984	
MM	4	15-30	1.44195684	



MM	4	15-30	1.44195684
MM	4	15-30	1.57595719
MM	4	30-50	0.88460658
MM	4	30-50	1.53571597
MM	4	30-50	1.44195684
ML	1	0-15	1.89023467
ML	1	0-15	2.04532298
ML	1	0-15	2.16928247
ML	1	15-30	1.87118361
ML	1	15-30	2.18845974
ML	1	15-30	1.73506635
ML	1	30-50	0
ML	1	30-50	0
ML	1	30-50	0
ML	2	0-15	2.56545426
ML	2	0-15	2.70271767
ML	2	0-15	0
ML	2	15-30	2.75663611
ML	2	15-30	0
ML	2	15-30	0
ML	2	30-50	0
ML	2	30-50	0
ML	2	30-50	0
ML	3	0-15	1.76092485
ML	3	0-15	1.92599927
ML	3	0-15	1.85125835
ML	3	15-30	0
ML	3	15-30	0
ML	3	15-30	0
ML	3	30-50	1.53571597
ML	3	30-50	1.49136169
ML	3	30-50	1.53571597
ML	4	0-15	1.73506635
ML	4	0-15	1.95904139
ML	4	0-15	1.70757018
Continuación de tabla 7			
ML	4	15-30	0.88460658
ML	4	15-30	1.04139269
ML	4	15-30	1.32221929



ML	4	30-50	1.04139269
ML	4	30-50	0.88460658
ML	4	30-50	1.1563472

Tabla 8. Recuento de bacterias indicadoras de calidad en manglar Bahía Magdalena. Sitio conservado (SCC), sitio perturbado (CFE).

<i>Manglar</i>	<i>sitio</i>	<i>subsitio</i>	<i>profundidad</i>	<i>Conteo log</i>
<i>Bahía Magdalena</i>	CFE	1	0-15	1.156347
	CFE	1	0-15	1.156347
	CFE	1	0-15	1.041393
	CFE	1	15-30	2.800029
	CFE	1	15-30	2.705579
	CFE	1	15-30	2.77403
	CFE	1	30-50	1.156347
	CFE	1	30-50	1.64673
	CFE	1	30-50	1.322219
	CFE	2	0-15	2.926514
	CFE	2	0-15	2.888928
	CFE	2	0-15	2.944976
	CFE	2	15-30	2.923071
	CFE	2	15-30	2.917855
	CFE	2	15-30	2.865893
	CFE	2	30-50	2.644439
	CFE	2	30-50	2.676084
	CFE	2	30-50	2.733197
	CFE	3	0-15	1.322219
	CFE	3	0-15	1.247155
	CFE	3	0-15	1.247155
	CFE	3	15-30	2.849829
	CFE	3	15-30	2.82456
	CFE	3	15-30	2.815799
	CFE	3	30-50	2.070653
	CFE	3	30-50	2.004321
	CFE	3	30-50	0
	CFE	4	0-15	2.070653
	CFE	4	0-15	1.830375
	CFE	4	0-15	2.004321
CFE	4	15-30	0.884607	
Continuación de tabla 8				
CFE	4	15-30	1.041393	
CFE	4	15-30	1.247155	
CFE	4	30-50	1.156347	
CFE	4	30-50	1.247155	

	CFE	4	30-50	1.247155
	CFE	5	0-15	1.247155
	CFE	5	0-15	1.247155
	CFE	5	0-15	1.247155
	CFE	5	15-30	1.386202
	CFE	5	15-30	0.884607
	CFE	5	15-30	1.156347
	CFE	5	30-50	1.925999
	CFE	5	30-50	1.925999
	CFE	5	30-50	2.082785
	SCC	1	0-15	2.357299
	SCC	1	0-15	2.281033
	SCC	1	0-15	2.438279
	SCC	1	15-30	1.760925
	SCC	1	15-30	1.830375
	SCC	1	15-30	2.249606
	SCC	1	30-50	2.045323
	SCC	1	30-50	1.678215
	SCC	1	30-50	2.169282
	SCC	2	0-15	2.936681
	SCC	2	0-15	2.909021
	SCC	2	0-15	2.938353
	SCC	2	15-30	3.000434
	SCC	2	15-30	2.985726
	SCC	2	15-30	3.003317
	SCC	2	30-50	2.871767
	SCC	2	30-50	2.885173
	SCC	2	30-50	2.894501
	SCC	3	0-15	3.041787
	SCC	3	0-15	3.029789
	SCC	3	0-15	3.011852
	SCC	3	15-30	2.33109
	SCC	3	15-30	2.117271
	SCC	3	15-30	2.344392
	SCC	3	30-50	2.427594
	SCC	3	30-50	2.117271
	SCC	3	30-50	2.117271
	SCC	4	0-15	3.222109
	SCC	4	0-15	3.222109
	SCC	4	0-15	3.222109
	SCC	4	15-30	0
	SCC	4	15-30	0
Continuación de tabla 8	SCC	4	15-30	0
	SCC	4	30-50	0
	SCC	4	30-50	0
	SCC	4	30-50	0



SCC	5	0-15	2.699838
SCC	5	0-15	2.565454
SCC	5	0-15	2.510992
SCC	5	15-30	2.536979
SCC	5	15-30	2.443524
SCC	5	15-30	2.399674
SCC	5	30-50	1.575957
SCC	5	30-50	1.491362
SCC	5	30-50	1.156347

Tabla 9. Recuento de bacterias indicadoras de calidad en manglar Aeropuerto de La Paz.

<i>Manglar</i>	<i>sitio</i>	<i>subsitio</i>	<i>profundidad</i>	<i>Conteo log</i>
<i>Aeropuerto de La Paz</i>	CDB	1	0-15	2.727812
	CDB	1	0-15	2.778874
	CDB	1	0-15	2.735865
	CDB	1	15-30	2.669936
	CDB	1	15-30	2.778874
	CDB	1	15-30	2.754093
	CDB	1	30-50	2.536979
	CDB	1	30-50	2.515432
	CDB	1	30-50	2.515432
	CDB	2	0-15	2.541163
	CDB	2	0-15	2.506505
	CDB	2	0-15	2.422152
	CDB	2	15-30	2.92134
	CDB	2	15-30	2.809111
	CDB	2	15-30	3.000434
	CDB	2	30-50	2.584708
	CDB	2	30-50	2.536979
	CDB	2	30-50	2.382017
	CDB	3	0-15	2.52418
	CDB	3	0-15	2.303196
CDB	3	0-15	2.49739	
CDB	3	15-30	2.117271	
CDB	3	15-30	2.094588	
CDB	3	15-30	2.058173	
CDB	3	30-50	1.925999	
Continuación de tabla 9				
CDB	3	30-50	2.19774	
CDB	3	30-50	2.357299	
CDB	4	0-15	3.222109	



	CDB	4	0-15	3.222109
	CDB	4	0-15	3.222109
	CDB	4	15-30	2.61735
	CDB	4	15-30	2.637823
	CDB	4	15-30	2.584708
	CDB	4	30-50	2.337792
	CDB	4	30-50	2.337792
	CDB	4	30-50	2.344392
	CDB	5	0-15	3.222109
	CDB	5	0-15	3.222109
	CDB	5	0-15	3.222109
	CDB	5	15-30	3.222109
	CDB	5	15-30	3.222109
	CDB	5	15-30	3.222109
	CDB	5	30-50	3.222109
	CDB	5	30-50	3.222109
	CDB	5	30-50	3.222109
	CDB	5	30-50	3.222109
	CDB	6	0-15	3.222109
	CDB	6	0-15	3.222109
	CDB	6	0-15	3.222109
	CDB	6	15-30	2.885173
	CDB	6	15-30	2.92134
	CDB	6	15-30	2.914343
	CDB	6	30-50	2.92134
	CDB	6	30-50	2.885173
	CDB	6	30-50	3.067319
	CDB	7	0-15	2.510992
	CDB	7	0-15	2.515432
	CDB	7	0-15	2.561499
	CDB	7	15-30	3.067319
	CDB	7	15-30	3.103005
	CDB	7	15-30	3.028436
	CDB	7	30-50	2.281033
	CDB	7	30-50	2.117271
	CDB	7	30-50	2.303196
	CDB	8	0-15	2.82456
	CDB	8	0-15	2.92134
	CDB	8	0-15	2.970502
Continuación de tabla 9				
	CDB	8	30-50	2.018423
	CDB	8	30-50	1.830375
	CDB	8	30-50	1.942834

ANEXO II. Coordenadas geográficas de puntos de muestreo de manglares de Baja California Sur.

Tabla 10. Coordenadas geográficas de los puntos de muestreo en el manglar Aeropuerto de La Paz.

<i>Subsitio</i>	<i>E</i>	<i>W</i>
<i>CDB 1</i>	565850.679	2666887.49
<i>CDB 2</i>	565430.093	2666784.22
<i>CDB 3</i>	566079.227	2667056.61
<i>CDB 4</i>	566386.151	2667320.77
<i>CDB 5</i>	565964.107	2667369.72
<i>CDB 6</i>	566131.12	2667347.92
<i>CDB 7</i>	565966.44	2666812.58

Tabla 11. Coordenadas geográficas de los puntos de muestreo en el manglar Lagunitas (Sitio perturbado del manglar El Mogote).

<i>Subsitio</i>	<i>E</i>	<i>W</i>
<i>ML 1</i>	568422.247	2673648.71
<i>ML 2</i>	568467.056	2673556.57
<i>ML 3</i>	568389.444	2673515.39
<i>ML 4</i>	568412.876	2673420.91

Tabla 12. Coordenadas geográficas de los puntos de muestreo en el manglar El Mogote (Sitio conservado del manglar El Mogote).

<i>Subsitio</i>	<i>E</i>	<i>W</i>
<i>MM 1</i>	567940.824	2673006.8
<i>MM 2</i>	567846.759	2672787.39
<i>MM 3</i>	567754.526	2672702.32
<i>MM 4</i>	567750.724	2672864.1

Tabla 13. Coordenadas geográficas de los puntos de muestreo en el manglar San Carlos (Sitio conservado del manglar Bahía Magdalena).

<i>Subsitio</i>	<i>E</i>	<i>W</i>
<i>SCC 1</i>	391593.462	2740475.27
<i>SCC 2</i>	390980.812	2739824.04

SCC 3	393283.08	2738565.63
SCC4	393190.386	2738074.96
SCC 5	393091.712	2739097.16

Tabla 14. Coordenadas geográficas de los puntos de muestreo en el manglar Termoeléctrica CFE (sitio perturbado del manglar Bahía Magdalena).

Subsitio	E	W
CFE 1	389153.895	2745043.58
CFE 2	389080.133	2745209.34
CFE 3	389188.179	2745404.39
CFE 4	389387.974	2745361.6

ANEXO III. Criterios para la Identificación de Humedales de Importancia Internacional y lineamientos para su aplicación.

<p>Grupo A de los Criterios</p> <p>Sitios que comprenden tipos de humedales representativos, raros o únicos</p>		<p>Criterio 1: Un humedal deberá ser considerado de importancia internacional si contiene un ejemplo representativo, raro o único de un tipo de humedal natural o casi natural hallado dentro de la región biogeográfica apropiada.</p>
--	--	--

<p>Grupo B de los Criterios</p> <p>Sitios de importancia internacional para conservar la diversidad biológica</p>	<p>Criterios basados en especies y comunidades ecológicas</p>	<p>Criterio 2: Un humedal deberá ser considerado de importancia internacional si sustenta especies vulnerables, en peligro o en peligro crítico, o comunidades ecológicas amenazadas.</p>
		<p>Criterio 3: Un humedal deberá ser considerado de importancia internacional si sustenta poblaciones de especies vegetales y/o animales importantes para mantener la diversidad biológica de una región biogeográfica determinada.</p>
		<p>Criterio 4: Un humedal deberá ser considerado de importancia internacional si sustenta especies vegetales y/o animales cuando se encuentran en una etapa crítica de su ciclo biológico, o les ofrece refugio cuando prevalecen condiciones adversas.</p>
	<p>Criterios específicos basados en aves acuáticas</p>	<p>Criterio 5: Un humedal deberá ser considerado de importancia internacional si sustenta de manera regular una población de 20.000 o más aves acuáticas.</p>
		<p>Criterio 6: Un humedal deberá ser considerado de importancia internacional si sustenta de manera regular el 1% de los individuos de una población de una especie o subespecie de aves acuáticas.</p>
	<p>Criterios específicos basados en peces</p>	<p>Criterio 7: Un humedal deberá ser considerado de importancia internacional si sustenta una proporción significativa de las subespecies, especies o familias de peces autóctonas, etapas del ciclo biológico, interacciones de especies y/o poblaciones que son representativas de los beneficios y/o los valores de los humedales y contribuye de esa manera a la diversidad biológica del mundo.</p>
		<p>Criterio 8: Un humedal deberá ser considerado de importancia internacional si es una fuente de alimentación importante para peces, es una zona de desove, un área de desarrollo y crecimiento y/o una ruta migratoria de la que dependen las existencias de peces dentro o fuera del humedal.</p>
	<p>Criterios específicos basados en otros taxones</p>	<p>Criterio 9: Un humedal deberá ser considerado de importancia internacional si sustenta habitualmente el 1% de los individuos de la población de una especie o subespecie dependiente de los humedales que sea una especie animal no aviaria.</p>

ANEXO IV. Análisis estadístico de bacterias indicadoras de calidad en manglares árido-tropicales de Baja California Sur.

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Manglar	2	67.077	33.5387	352.97	0.000
Sitio (Manglar)	2	3.806	1.9031	20.03	0.000



Subsitio (Manglar, sitio)	21	40.531	1.9301	20.31	0.000
Profundidad (Manglar, sitio, subsitio)	52	72.251	1.3894	14.62	0.000
Error	156	14.823	0.0950		
Total	233	200.356			

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Manglar N Mean Grouping

Aeropuerto LP 69 2.69208 A

B. Magdalena 90 2.00349 B

El Mogote 75 1.31698 C

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Sitio (Manglar) N Mean Grouping

C. ballena (Aeropuerto LP) 69 2.69208 A

SCC (B. Magdalena) 45 2.15156 B

CFE (B. Magdalena) 45 1.85543 C

MM (El Mogote) 39 1.47403 D

ML (El Mogote) 36 1.15993 E

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

subsitio (Manglar, sitio) N Mean Grouping

5(Aeropuerto LP, C. ballena) 9 3.22211 A

6(Aeropuerto LP, C. ballena) 9 3.02900 A B

2(B. Magdalena, SCC) 9 2.93611 A B C

2(B. Magdalena, CFE) 9 2.83566 A B C

4(Aeropuerto LP, C. ballena) 9 2.72513 A B C D

1(Aeropuerto LP, C. ballena) 9 2.66814 B C D E

2(Aeropuerto LP, C. ballena) 9 2.63382 B C D E F

7(Aeropuerto LP, C. ballena) 9 2.60980 B C D E F

3(B. Magdalena, SCC) 9 2.50426 B C D E F G

8(Aeropuerto LP, C. ballena) 6 2.41801 C D E F G H

3(Aeropuerto LP, C. ballena) 9 2.23065 D E F G H I

5(B. Magdalena, SCC) 9 2.15335 E F G H I

1(B. Magdalena, SCC) 9 2.09004 F G H I

3(El Mogote, MM) 9 1.99484 G H I J

3(B. Magdalena, CFE) 9 1.82019 H I J K

1(B. Magdalena, CFE) 9 1.75100 I J K

4(El Mogote, MM) 9 1.51522 J K L

5(B. Magdalena, CFE) 9 1.45593 J K L

4(B. Magdalena, CFE) 9 1.41435 K L M

1(El Mogote, MM) 12 1.34660 K L M

1(El Mogote, ML) 9 1.32217 K L M

4(El Mogote, ML) 9 1.30358 K L M

3(El Mogote, ML) 9 1.12233 L M

4(B. Magdalena, SCC) 9 1.07404 L M

2(El Mogote, MM) 9 1.03945 L M



2(EI Mogote, ML)

9 0.89165

M

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Profundidad (Manglar, sitio, subsitio)	N	Mean	Grouping
1(B. Magdalena, SCC, 4)	3	3.22211	A
1(Aeropuerto LP, C. ballena, 4)	3	3.22211	A
1(Aeropuerto LP, C. ballena, 6)	3	3.22211	A
1(Aeropuerto LP, C. ballena, 5)	3	3.22211	A
2(Aeropuerto LP, C. ballena, 5)	3	3.22211	A
3(Aeropuerto LP, C. ballena, 5)	3	3.22211	A
2(Aeropuerto LP, C. ballena, 7)	3	3.06625	A B
1(B. Magdalena, SCC, 3)	3	3.02781	A B C
2(B. Magdalena, SCC, 2)	3	2.99649	A B C D
3(Aeropuerto LP, C. ballena, 6)	3	2.95794	A B C D
1(B. Magdalena, SCC, 2)	3	2.92802	A B C D
1(B. Magdalena, CFE, 2)	3	2.92014	A B C D E
2(Aeropuerto LP, C. ballena, 2)	3	2.91029	A B C D E
2(Aeropuerto LP, C. ballena, 6)	3	2.90695	A B C D E
1(Aeropuerto LP, C. ballena, 8)	3	2.90547	A B C D E
2(B. Magdalena, CFE, 2)	3	2.90227	A B C D E
3(B. Magdalena, SCC, 2)	3	2.88381	A B C D E
2(B. Magdalena, CFE, 3)	3	2.83006	A B C D E F
2(B. Magdalena, CFE, 1)	3	2.75988	A B C D E F G
1(Aeropuerto LP, C. ballena, 1)	3	2.74752	A B C D E F G
2(Aeropuerto LP, C. ballena, 1)	3	2.73430	A B C D E F G
3(B. Magdalena, CFE, 2)	3	2.68457	A B C D E F G
2(Aeropuerto LP, C. ballena, 4)	3	2.61329	A B C D E F G
1(B. Magdalena, SCC, 5)	3	2.59209	A B C D E F G H
1(Aeropuerto LP, C. ballena, 7)	3	2.52931	A B C D E F G H I
3(Aeropuerto LP, C. ballena, 1)	3	2.52261	A B C D E F G H I
3(Aeropuerto LP, C. ballena, 2)	3	2.50123	A B C D E F G H I
1(Aeropuerto LP, C. ballena, 2)	3	2.48994	A B C D E F G H I
2(B. Magdalena, SCC, 5)	3	2.46006	A B C D E F G H I J
1(Aeropuerto LP, C. ballena, 3)	3	2.44159	A B C D E F G H I J K
1(EI Mogote, MM, 1)	3	2.36445	A B C D E F G H I J K L
1(B. Magdalena, SCC, 1)	3	2.35887	A B C D E F G H I J K L
3(Aeropuerto LP, C. ballena, 4)	3	2.33999	A B C D E F G H I J K L M
3(EI Mogote, MM, 3)	3	2.26927	A B C D E F G H I J K L M N
2(B. Magdalena, SCC, 3)	3	2.26425	A B C D E F G H I J K L M N
3(Aeropuerto LP, C. ballena, 7)	3	2.23383	A B C D E F G H I J K L M N
3(B. Magdalena, SCC, 3)	3	2.22071	A B C D E F G H I J K L M N
3(Aeropuerto LP, C. ballena, 3)	3	2.16035	A B C D E F G H I J K L M N
2(Aeropuerto LP, C. ballena, 3)	3	2.09001	A B C D E F G H I J K L M N
1(EI Mogote, ML, 1)	3	2.03495	A B C D E F G H I J K L M N
1(EI Mogote, MM, 3)	3	1.99449	A B C D E F G H I J K L M N
3(B. Magdalena, CFE, 5)	3	1.97826	C D E F G H I J K L M N
1(B. Magdalena, CFE, 4)	3	1.96845	C D E F G H I J K L M N
3(B. Magdalena, SCC, 1)	3	1.96427	C D E F G H I J K L M N
2(B. Magdalena, SCC, 1)	3	1.94697	D E F G H I J K L M N
1(EI Mogote, MM, 2)	3	1.94199	D E F G H I J K L M N



2(EI Mogote, ML, 1)	3	1.93157	DEFGHIJKLMN
3(Aeropuerto LP, C. ballena, 8)	3	1.93054	DEFGHIJKLMN
1(EI Mogote, ML, 3)	3	1.84606	EFGHIJKLMN
1(EI Mogote, ML, 4)	3	1.80056	FGHIJKLMN
1(EI Mogote, MM, 4)	3	1.77160	FGHIJKLMN
1(EI Mogote, ML, 2)	3	1.75606	FGHIJKLMN
2(EI Mogote, MM, 3)	3	1.72076	GHIJKLMN
3(EI Mogote, ML, 3)	3	1.52093	HIJKLMN
2(EI Mogote, MM, 4)	3	1.48662	IJKLMN
3(B. Magdalena, SCC, 5)	3	1.40789	JKLMN
3(B. Magdalena, CFE, 1)	3	1.37510	KLMN
2(EI Mogote, MM, 1)	3	1.36566	KLMN
3(B. Magdalena, CFE, 3)	3	1.35832	LMN
3(EI Mogote, MM, 4)	3	1.28743	LMN
1(B. Magdalena, CFE, 3)	3	1.27218	MN
1(B. Magdalena, CFE, 5)	3	1.24715	N
3(B. Magdalena, CFE, 4)	3	1.21689	N
2(EI Mogote, MM, 2)	3	1.17635	
2(B. Magdalena, CFE, 5)	3	1.14239	
1(B. Magdalena, CFE, 1)	3	1.11803	
2(EI Mogote, ML, 4)	3	1.08274	
2(B. Magdalena, CFE, 4)	3	1.05772	
3(EI Mogote, ML, 4)	3	1.02745	
4(EI Mogote, MM, 1)	3	0.93687	
2(EI Mogote, ML, 2)	3	0.91888	
3(EI Mogote, MM, 1)	3	0.71942	
3(EI Mogote, MM, 2)	3	0.00000	
3(B. Magdalena, SCC, 4)	3	0.00000	
3(EI Mogote, ML, 2)	3	0.00000	
2(EI Mogote, ML, 3)	3	0.00000	
3(EI Mogote, ML, 1)	3	-0.00000	
2(B. Magdalena, SCC, 4)	3	-0.00000	

Profundidad (Manglar, sitio, subsitio) Grouping

- 1(B. Magdalena, SCC, 4)
- 1(Aeropuerto LP, C. ballena, 4)
- 1(Aeropuerto LP, C. ballena, 6)
- 1(Aeropuerto LP, C. ballena, 5)
- 2(Aeropuerto LP, C. ballena, 5)
- 3(Aeropuerto LP, C. ballena, 5)
- 2(Aeropuerto LP, C. ballena, 7)
- 1(B. Magdalena, SCC, 3)
- 2(B. Magdalena, SCC, 2)
- 3(Aeropuerto LP, C. ballena, 6)
- 1(B. Magdalena, SCC, 2)
- 1(B. Magdalena, CFE, 2)
- 2(Aeropuerto LP, C. ballena, 2)
- 2(Aeropuerto LP, C. ballena, 6)
- 1(Aeropuerto LP, C. ballena, 8)
- 2(B. Magdalena, CFE, 2)
- 3(B. Magdalena, SCC, 2)
- 2(B. Magdalena, CFE, 3)
- 2(B. Magdalena, CFE, 1)



1(Aeropuerto LP, C. ballena, 1)				
2(Aeropuerto LP, C. ballena, 1)				
3(B. Magdalena, CFE, 2)				
2(Aeropuerto LP, C. ballena, 4)				
1(B. Magdalena, SCC, 5)				
1(Aeropuerto LP, C. ballena, 7)				
3(Aeropuerto LP, C. ballena, 1)				
3(Aeropuerto LP, C. ballena, 2)				
1(Aeropuerto LP, C. ballena, 2)				
2(B. Magdalena, SCC, 5)				
1(Aeropuerto LP, C. ballena, 3)				
1(EI Mogote, MM, 1)				
1(B. Magdalena, SCC, 1)				
3(Aeropuerto LP, C. ballena, 4)				
3(EI Mogote, MM, 3)				
2(B. Magdalena, SCC, 3)				
3(Aeropuerto LP, C. ballena, 7)	O			
3(B. Magdalena, SCC, 3)	OP			
3(Aeropuerto LP, C. ballena, 3)	OPQ			
2(Aeropuerto LP, C. ballena, 3)	OPQ	R		
1(EI Mogote, ML, 1)	OPQ	R		
1(EI Mogote, MM, 3)	OPQ	R	S	
3(B. Magdalena, CFE, 5)	OPQ	R	S	
1(B. Magdalena, CFE, 4)	OPQ	R	S	
3(B. Magdalena, SCC, 1)	OPQ	R	S	
2(B. Magdalena, SCC, 1)	OPQ	R	S	
1(EI Mogote, MM, 2)	OPQ	R	S	
2(EI Mogote, ML, 1)	OPQ	R	S	
3(Aeropuerto LP, C. ballena, 8)	OPQ	R	S	
1(EI Mogote, ML, 3)	OPQ	R	S	
1(EI Mogote, ML, 4)	OPQ	R	S	
1(EI Mogote, MM, 4)	OPQ	R	ST	
1(EI Mogote, ML, 2)	OPQ	R	ST	
2(EI Mogote, MM, 3)	OPQ	R	ST	
3(EI Mogote, ML, 3)	OPQ	R	ST	
2(EI Mogote, MM, 4)	OPQ	R	ST	
3(B. Magdalena, SCC, 5)	OPQ	R	ST	
3(B. Magdalena, CFE, 1)	OPQ	R	ST	
2(EI Mogote, MM, 1)	OPQ	R	ST	
3(B. Magdalena, CFE, 3)	OPQ	R	ST	
3(EI Mogote, MM, 4)	OPQ	R	ST	
1(B. Magdalena, CFE, 3)	OPQ	R	ST	
1(B. Magdalena, CFE, 5)	OPQ	R	ST	
3(B. Magdalena, CFE, 4)	OPQ	R	ST	
2(EI Mogote, MM, 2)	OPQ	R	ST	
2(B. Magdalena, CFE, 5)	PQ	R	ST	
1(B. Magdalena, CFE, 1)	Q	R	ST	
2(EI Mogote, ML, 4)	Q	R	ST	
2(B. Magdalena, CFE, 4)		R	STU	
3(EI Mogote, ML, 4)		R	STU	



4(EI Mogote, MM, 1)	STU
2(EI Mogote, ML, 2)	STU
3(EI Mogote, MM, 1)	TU
3(EI Mogote, MM, 2)	U
3(B. Magdalena, SCC, 4)	U
3(EI Mogote, ML, 2)	U
2(EI Mogote, ML, 3)	U
3(EI Mogote, ML, 1)	U
2(B. Magdalena, SCC, 4)	U

Means that do not share a letter are significantly different.