



**EDUCACIÓN**  
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO  
NACIONAL DE MÉXICO

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



SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA

TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE BOCA DEL RÍO  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

**“VARIACIÓN ESPACIO TEMPORAL DE LA ACTIVIDAD PROTEOLÍTICA  
BACTERIANA EN LA REGIÓN COSTERA CENTRAL DE VERACRUZ.”**

**TESIS**

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

PRESENTA

**LIC. URIEL IVÁN SAAVEDRA MARTINEZ**

*DIRECTOR DE TESIS*

*M. en C. CHRISTIAN REYES VELÁZQUEZ*

*CODIRECTOR DE TESIS*

**DRA. MARÍA DEL REFUGIO CASTAÑEDA CHÁVEZ**

ASESORES

**DRA. FABIOLA LANGO REYNOSO**

**DR. PEDRO CÉSAR REYNA GONZÁLEZ**

OCTUBRE 2022

BOCA DEL RÍO, VERACRUZ, MÉXICO



Km. 12 Carretera Veracruz-Córdoba, Boca del Río, Ver. C.P. 94290.  
Tel. (229) 690 5010 ext. 113 depi\_bdelrio@tecnm.mx | technm.mx | bdelrio.tecnm.mx



**2023**  
AÑO DE  
**Francisco**  
**VILLA**  
EL REVOLUCIONARIO DEL PUEBLO



### ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

Número Registro: A-01417-170122

En la ciudad de Boca del Río, Ver., siendo las 10:00 horas del día 23 del mes de noviembre de 2023 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Consejo del Posgrado de la Maestría en Ciencias en Ingeniería Ambiental del ITBOCA, para examinar la Tesis de Grado titulada:

**"VARIACION ESPACIO TEMPORAL DE LA ACTIVIDAD PROTEOLITICA BACTERIANA EN LA REGION COSTERA CENTRAL DE VERACRUZ"**

Que presenta el (la) alumno(a):

**URIEL IVAN SAAVEDRA MARTINEZ**  
Aspirante al Grado de:

**Maestro en Ciencias en Ingeniería Ambiental**

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

#### LA COMISIÓN REVISORA:

  
M. en C. CHRISTIAN REYES VELAZQUEZ

Director

  
DRA. FABIOLA LANGO REYNOSO  
Asesor

  
DRA. MARIA DEL REFUGIO CASTAÑEDA  
CHAYER  
Co-Director

  
DR. PEDRO CESAR REYNA GONZALEZ  
Asesor





**EDUCACIÓN**  
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



INSTITUTO TECNOLÓGICO  
NACIONAL DE MÉXICO

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

Boca del Río, Ver **22/NOVIEMBRE/2023**

**ASUNTO: AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN**

**URIEL IVAN SAAVEDRA MARTINEZ  
PASANTE DEL PROGRAMA MAESTRÍA EN  
CIENCIAS EN INGENIERÍA AMBIENTAL  
PRESENTE**

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

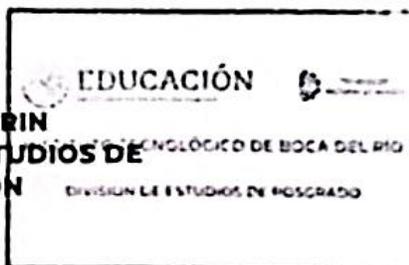
**"VARIACION ESPACIO TEMPORAL DE LA ACTIVIDAD PROTEOLITICA BACTERIANA EN LA REGION COSTERA CENTRAL DE VERACRUZ"**

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

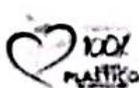
**ATENTAMENTE**

*Excelencia en Educación Tecnológica®  
Por nuestros mares responderemos*

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



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



Km. 12 Carretera Veracruz-Córdoba, Boca del Río, Ver. C.P. 94290.  
Tel. (229) 690 5010 ext. 113 depi\_borlio@tecnm.mx | tecnm.mx | borlio.tecnm.mx



**2023**  
**Francisco**  
**VILLA**



## RESUMEN

Un total de 101 colonias de bacterias marinas presentaron actividad proteolítica, las cuales fueron aisladas en la zona costera de 6 sitios de muestreo en 3 temporadas climáticas, se evaluó la formación de halos transparentes en Agar R-2A suplementado con 5% de caseína, cloruro de sodio al 3%, a un pH de 7, durante 5 días. Se demostró que la abundancia de bacterias con actividad proteolítica  $KW-H(2,72)=0.7337$ ,  $p=0.692$  y la actividad enzimática  $KW-H(2,101)=0.364$ ,  $p=0.833$  en diferentes temporadas climáticas no poseen diferencias significativas estadísticamente, encontrando a su vez dos cepas que presentaron un alto Índice Enzimático: la primera con un  $IE=2.666$  localizada en Temporada de Lluvias en playa Farallón y la segunda con un  $IE=2.333$  en Temporada de Estiaje en la playa de Villa del Mar. Así mismo tampoco existieron diferencias significativas estadísticamente entre la abundancia de bacterias con actividad proteolítica  $KW-H(5,72)=4.0131$ ,  $p=0.5475$  y la actividad enzimática  $KW-H(5,101)=6.4218$ ,  $p=0.267$  con respecto a los sitios de muestreo, aunque se pudo observar una mayor abundancia en la playa de Boca del Río durante la Temporada de Estiaje y una menor presencia en la Temporada de Lluvias en Farallón. Estos hallazgos sugieren que, a pesar de las variaciones estacionales, la zona central de Veracruz mantiene una saludable bioestabilidad en términos de contaminación proteica.

**Palabras clave:** bacterias productoras de proteasas, variación espacio-temporal, sedimento.

## ABSTRACT

A total of 101 colonies of marine bacteria presented proteolytic activity, which were isolated in the coastal zone of 6 sampling sites in 3 climatic seasons, the formation of transparent halos was evaluated in R-2A Agar supplemented with 5% casein, 3% chloride sodium, at a pH of 7, for 5 days. It was shown that the abundance of bacteria with proteolytic activity  $KW-H(2,72)=0.7337$ ,  $p=0.692$  and enzymatic activity  $KW-H(2,101)=0.364$ ,  $p=0.833$  in different climatic seasons do not have statistically significant differences. In turn, two strains were found that presented a high Enzyme Index: the first with an  $EI=2.666$  located in the Rainy Season on Farallon beach and the second with an  $EI=2.333$  in the Dry Season on the Villa del Mar beach. Likewise There were also no statistically significant differences between the abundance of bacteria with proteolytic activity  $KW-H(5,72)=4.0131$ ,  $p=0.5475$  and enzymatic activity  $KW-H(5,101)=6.4218$ ,  $p=0.267$  with respect to the sampling sites. Although a greater abundance could be observed on the Boca del Río beach during the Dry Season and a lower presence in the Rainy Season in Farallon. These findings suggest that, despite seasonal variations, the central area of Veracruz maintains healthy biostability in terms of protein contamination.

**key words:** protease-producing bacteria, spatio-temporal variation, sediment.

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero agradecer al Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnología (CONAHCYT), por el apoyo económico que me ha brindado durante este periodo de estudio de maestría. El cual ha sido fundamental para mi desarrollo académico y profesional.

A mi director de tesis el Maestro Christian Reyes Velázquez, quien estuvo constantemente presente a lo largo de esta investigación, su apoyo, tanto dentro como fuera del aula, ha sido invaluable. Su dedicación y su empatía ha sido clave para superar los desafíos que se han ido presentando a lo largo del desarrollo de esta tesis. En verdad muchas gracias.

A mi codirectora la Doctora María Del Refugio Castañeda Chávez, por su apoyo constante y dedicación en la supervisión de la infraestructura, el material y el papeleo académico necesario para llevar a cabo esta investigación.

A los miembros de mi comité académico, la Doctora Fabiola Lango Reynoso y el Doctor Pedro César Reyna González, por sus observaciones y recomendaciones en cada junta de comité.

A la Maestra Marimar Lara Acosta, quien me guio en la investigación experimental y me brindo su apoyo incondicional durante todo este proceso.

A todos mis compañeros y amigos que hice durante más de estos dos últimos años cuyos nombres son demasiados para mencionar individualmente. Aprecio sinceramente el que se hallan cruzado nuestros caminos y por la gran solidaridad y compañerismo que han marcado esta etapa de mi vida.

A Mónica Danira Alonso Domínguez, quien me brindo su apoyo y amistad a lo largo de todo este proceso y me enseñó una nueva forma de ver la vida con su propio toque característico.

## **DEDICATORIA**

Quiero expresar mi profundo agradecimiento a mis padres, Carmen Ruth Martínez Pérez y Rafael Saavedra Hernández, así como a mi hermano, Rafael Yair Saavedra Martínez, por su apoyo no solo durante este periodo, sino a lo largo de toda mi vida. Gracias por todo aquello que me han dado; sé que no podré devolverles completamente lo que han hecho por mí. Espero que este logro los llene de orgullo.

## ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN .....	14
2. MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL .....	17
2.2 Litoral .....	21
2.2.1 Interacción entre bacterias y los sedimentos .....	21
2.3 Posibles impactos generados por las actividades antropogénicas en la zona litoral .....	22
2.3.1 Influencia de las actividades antropogénicas en la calidad costera .....	24
2.4 Temporadas climáticas .....	27
2.5 Bacterias.....	29
2.5.1 Hidrolasas .....	29
2.5.2 Bacterias Proteolíticas .....	30
2.5.3 Crecimiento Bacteriano.....	31
2.5.4 Medios de cultivo .....	32
2.6 Importancia biotecnológica .....	33
2.6.1 Biotecnología Blanca. ....	33
2.6.2 Biotecnología gris .....	34
2.6.3 Biotecnología azul .....	35
3. MARCO DE REFERENCIA .....	35
3.1 Antecedentes .....	35
3.1.1 Actividad proteolítica bacteriana en agua superficial de ambientes marinos .....	35
3.1.2 Actividad proteolítica bacteriana en sedimentos acuáticos.....	36
3.1.3 Actividad proteolítica bacteriana en desechos de pescado .....	36
3.1.4 Actividad proteolítica bacteriana en desechos de otros organismos acuáticos ...	37
3.1.5 Actividad proteolítica bacteriana en suelos .....	37
3.1.6 Actividad proteolítica bacteriana proveniente de diferentes industrias .....	38
3.2. Bacterias proteolíticas un nuevo enfoque para la detección de desechos orgánicos de origen proteico .....	39
3.3 Vacío del conocimiento .....	40
3.2.1 Frontera del conocimiento .....	41
3.3 Referencia geográfica .....	42
4. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN .....	43
4.2 Planteamiento Del Problema.....	43
4.3 Pregunta De Investigación.....	44
4.4 Delimitación del problema .....	44

5. JUSTIFICACIÓN .....	45
6. HIPÓTESIS 6.1 General .....	46
6.2 Particulares .....	46
7. OBJETIVOS .....	47
7.1 General .....	47
7.2 Particulares .....	47
8. MATERIALES Y MÉTODOS .....	48
8.1 Primera Etapa Observacional. ....	48
8.1.1 Área de Estudio. ....	48
8.1.2 Recolección de muestras. ....	49
8.2 Segunda Etapa Investigación Experimental .....	50
8.2.1 Procesamiento Físico-Químico .....	50
8.2.3 Procesamiento Biológico .....	52
8.3 Tercera Etapa Investigación explicativa .....	58
9. RESULTADOS Y DISCUSIONES .....	60
9.1 Descripción de los puntos de muestreo. ....	60
9.1.1 Playa Farallón .....	60
9.1.2 Playa de Antepuerto .....	62
9.1.3 Playa de Villa del Mar .....	63
9.1.4 Playa de Mocambo .....	65
9.1.5 Playa de Boca del Rio .....	65
9.1.6 Antón Lizardo .....	67
9.2 Sedimento .....	68
9.3 Materia Orgánica .....	69
9.3.1 Correlación entre el porcentaje materia orgánica y la abundancia de bacterias con actividad proteolítica y el índice enzimático .....	77
9.3.2 Correlación entre materia orgánica y índice enzimático de bacterias con actividad proteolítica .....	79
9.4 Parámetros de Referencia .....	83
9.4 Proporción de abundancia de bacterias proteolíticas .....	83
9.5 Índice Enzimático .....	91
10. CONCLUSIÓN .....	100
11. RECOMENDACIONES .....	102
12. LITERATURA CITADA .....	103

## Índice de Cuadros

Cuadro 1. Teorías y modelo utilizado en el Marco Teórico. ....	18
Cuadro 2. Evaluación de impactos ambientales en las diferentes ciudades costeras del Centro de Veracruz. ....	60
Cuadro 3 Valores medios de la unidad de medida del porcentaje de materia orgánica encontradas en playas de Veracruz durante tres temporadas climáticas y en seis sitios de muestreo. ....	71
Cuadro 4 Valores medios de la unidad de medida del porcentaje de materia orgánica de las playas de Veracruz durante tres temporadas climáticas. ....	73
Cuadro 5 Prueba de Bonferroni para porcentaje de materia orgánica con respecto a las temporadas climáticas. ....	74
Cuadro 6 Valores medios de la unidad de medida del porcentaje de materia orgánica de las playas de Veracruz de Veracruz en seis sitios de muestreo. ....	76
Cuadro 7 Matriz de Correlaciones entre porcentaje de materia orgánica y la abundancia de bacterias con actividad proteolítica. ....	77
Cuadro 8 Matriz de Correlaciones entre porcentaje de materia orgánica y el índice enzimático. ....	79
Cuadro 9 Valores medios de la unidad de medida de la abundancia de colonias de bacterias proteolíticas aisladas de la playa de Veracruz durante tres temporadas climáticas y seis sitios de muestreo. ....	85
Cuadro 10 Valores medios de la unidad de medida de la abundancia de colonias de bacterias proteolíticas aisladas de playas de Veracruz durante tres temporadas climáticas. ....	85
Cuadro 11 Valores medios de la unidad de medida de la abundancia de colonias de bacterias proteolíticas aisladas de playas de Veracruz de los seis puntos de muestreo. ....	89
Cuadro 12 Valores medios de la unidad de medida del Índice Enzimático de bacterias proteolíticas aisladas de playas de Veracruz durante tres temporadas climáticas y seis sitios de muestreo. ....	92
Cuadro 13 Valores medios de la unidad de medida del Índice Enzimático de colonias de bacterias proteolíticas aisladas de playas de Veracruz durante tres temporadas climáticas. ....	95
Cuadro 14 Valores medios de la unidad de medida del Índice Enzimático de colonias de bacterias proteolíticas aisladas de playas de Veracruz de los seis puntos de muestreo. ....	97

## Índice de Figuras

Figura 1 Crecimiento bacteriano a lo largo del tiempo .....	17
Figura 2 Representación esquemática de cómo la resistencia antibiótica se origina a través de selección natural. ....	18
Figura 3 Esquema de la digestión anaeróbica de la materia orgánica (Moraes et al., 2015). ....	31
Figura 4 Curva de crecimiento bacteriano con sus correspondientes ecuaciones (Varela y Grotiuz, 2008). ....	32
Figura 5 Esquema del Funcionamiento Normal del Ciclo del Nitrógeno en Medios Acuáticos. ....	39
Figura 6 Ubicación de los sitios de muestreo en la Región Costera Central de Veracruz, fuente propia. ....	49
Figura 7 Sonda Multiparametrica HANNA HI98195 PH/ORP .....	51
Figura 8 Instalaciones del Laboratorio de Investigación de Recursos Acuáticos previo al procesamiento biológico. ....	53
Figura 9 Esquema de diluciones seriadas. ....	54
Figura 10 Selección de posibles cepas con actividad proteolítica .....	55
Figura 11 Colonias bacterianas con y sin actividad proteolítica: izquierda colonia que no presenta actividad proteolítica, derecha colonia con alta actividad proteolítica. ....	56
Figura 12 Medición de los halos transparentes formados por acción de las proteasas. ....	57
Figura 13 Esquema del procesamiento biológico. ....	57
Figura 14 Playa preservada de Farallón. ....	62
Figura 15 Vista del Puerto de Veracruz. ....	63
Figura 16 Playa de Villa del Mar en temporada de turismo. ....	64
Figura 17 Playa de Mocambo en temporada de estiaje. ....	65
Figura 18 Playa de Boca del Rio, en dos temporadas climáticas diferentes, estiaje derecha y lluvias izquierda. ....	67
Figura 19 Playa de Antón Lizardo durante la temporada de lluvias. En la foto de la izquierda, se puede observar el arroyo Giote en el fondo. ....	68
Figura 20 Porcentaje de materia orgánica en sedimento costero en los seis puntos de muestreo durante las tres temporadas climáticas. ....	70
Figura 21 Efecto combinado del porcentaje de materia orgánica en los seis sitios de muestreo durante las tres temporadas climáticas. ....	71
Figura 22 Grafica de caja Wisner de porcentaje de materia orgánica con respecto a las temporadas climáticas. ....	73
Figura 23 Grafica de caja Wisner de porcentaje de materia orgánica con respecto a los sitios de muestreo. ....	76

Figura 24 Graficas de distribución del porcentaje de materia orgánica y la abundancia de bacterias con actividad proteolítica.....	79
Figura 25 Graficas de distribución del porcentaje de materia orgánica el índice enzimático.....	81
Figura 26 Efecto combinado de la proporción de bacterias proteolíticas en las tres temporadas climáticas en los seis sitios de muestreo. ....	84
Figura 27 Grafica de caja Wisner de la proporción de bacterias proteolíticas con respecto a las temporadas climáticas.....	85
Figura 28 Grafica de caja Wisner de la proporción de bacterias proteolíticas con respecto a los sitios de muestreo.....	89
Figura 29 Porcentaje de bacterias con actividad proteolítica con respecto a las temporadas climáticas.....	90
Figura 30 Porcentaje de bacterias con actividad proteolítica con respecto los sitios de muestreo. ....	90
Figura 31 Efecto combinado de Índice Enzimático en las tres temporadas climáticas en los seis sitios de muestreo.....	92
Figura 32 Grafica de caja Wisner del Índice Enzimático con respecto a las temporadas climáticas. ....	95
Figura 33 Grafica de caja Wisner del Índice Enzimático con respecto a los sitios de muestreo. ....	97
Figura 34 Conexiones entre investigaciones realizadas en bacterias con actividad proteolítica en ambientes marinos y salados. ....	99

## 1. INTRODUCCIÓN

Los humanos tienen un impacto negativo en los sistemas costeros, amenazando el equilibrio ecológico incluso a nivel microscópico. Los efluentes generados por las diferentes actividades antropogénicas son una fuente de contaminantes. Esta situación deriva de la gran capacidad del ser humano de modificar las materias primas para su propio beneficio (Hidalgo et al., 2016). La zona costero central de Veracruz es un ejemplo claro de ello, debido a que las diversas actividades económicas generan presiones antropogénicas que impactan los servicios ecosistémicos. Estas actividades, son fundamentales para la economía local, pero conllevan a modificaciones y desarrollos constantes en la región (Lango-Reynoso, 2019)

Estos contaminantes, que son liberados en las aguas cercanas a la costa, abarcan una amplia variedad de productos químicos y otros elementos, siendo la materia orgánica un componente destacado. Esta materia orgánica, a su vez, contiene nutrientes como el nitrógeno y el fósforo, los cuales pueden afectar considerablemente los delicados equilibrios naturales del ecosistema marino (Rodó, 2016).

Las fuentes de nitrógeno son descompuestas por bacterias con actividad proteolítica, es decir, bacterias capaces de liberar enzimas fuera de sus células para descomponer proteínas mediante un proceso de hidrólisis. Este proceso rompe el enlace de tipo amida, que es la unión entre el grupo amino (-NH<sub>2</sub>) de un aminoácido y el grupo carboxilo (-COOH) de otro aminoácido. Como resultado, se forman compuestos de menor peso molecular, como péptidos y aminoácidos libres en el entorno. Estos compuestos pueden ser transportados al agua o pueden quedar inmovilizados, ya sea bióticamente o abióticamente, en el sedimento (Molina Trincado, 2002; Torres Alvarado et al., 2006).

Estas bacterias juegan un papel importante en el funcionamiento de los ecosistemas marinos, en donde se encuentran involucradas en proceso de biorremediación del medio ambiente, por la reabsorción de una parte de la materia orgánica y su reincorporación a la cadena trófica y su activa participación en los ciclos biogeoquímicos (Cabello, 2004)

El desarrollo y sobrevivencia de estos microorganismos dependen principalmente de la disponibilidad de elementos, orgánicos e inorgánicos, que son usados como fuentes de energía y por la capacidad de adaptarse a diversas condiciones fisicoquímicas, como la temperatura, pH o presión (Barbier, 2011).

En medios con perturbación antropogénica es común encontrar bacterias que estén adaptadas a estas condiciones, debido a que utilizan los recursos que tienen disponibles en el ambiente, incluyendo a los que nosotros consideramos como contaminantes. Aunado a ello las bacterias poseen genes de resistencia que les adaptarse a condiciones extremas, por lo que se pueden encontrar poca diversidad de bacterias pero en altas concentraciones en zonas altamente contaminadas, es por ello que es fundamental caracterizar cada una de las zonas costeras, para poder determinar las diferentes condiciones en las que se puede encontrar bacterias con actividad proteolítica (Sussmann et al., 2002).

La relevancia de las bacterias proteolíticas radica en su potencial como una opción biológica para llevar a cabo la biorremediación en zonas costeras. Actualmente, la biorremediación se destaca por sus bajos costos operativos y su eficacia. Obtener bacterias con capacidad proteolítica del mismo entorno donde se pretende realizar el proceso de remediación ofrece ventajas significativas.

La adaptación de estos microorganismos a las condiciones fisicoquímicas específicas del medio les proporciona una mayor supervivencia y una capacidad mejorada para mitigar los contaminantes que se buscan eliminar. Este enfoque, además de ser económicamente eficiente, capitaliza la adaptación natural de las bacterias al entorno, potenciando así la efectividad del proceso de biorremediación en zonas costeras (Vázquez et al., 2008).

Por otro lado, estas bacterias podrían desempeñar un papel importante como indicadoras, ofreciéndonos información sobre la calidad del agua y proporcionando datos sobre el posible riesgo para la salud pública. En muchas ocasiones, los principales bioindicadores bacterianos utilizados para evaluar la contaminación del agua, como coliformes y enterococos, están vinculados a bacterias presentes en la flora saprofita intestinal. Sin embargo, se tiende a pasar por alto otros grupos bacterianos esenciales para el reciclaje y la transformación de nutrientes (Herrera y Suárez, 2005).

Además la generación de enzimas proteolíticas (proteasas microbianas) tiene un papel importante en la biotecnología, ya que a partir de ellas se encuentran sustentadas gran cantidad de industrias como lo son la farmacéutica, la industria alimentaria, procesamiento de carnes, detergentes y tratamientos médicos (Hamdani et al., 2019). Algunas comunidades bacterianas se encuentran en condiciones antagonistas a veces creadas por el ser humano, lo que las hacen poseer diferentes características bioquímicas y metabólicas

que les permite sobrevivir en hábitats adversos siendo estos microorganismos muy útiles en diferentes campos biotecnológicos (Ramírez et al., 2004).

Por lo cual su estudio e importancia ha ido aumentando con el pasar del tiempo, enfocándose en la búsqueda de cepas fuertes y resistentes que posean alta capacidad proteolítica o propiedades únicas que favorezcan a un proceso industrial (Ramkumar et al., 2018). Pero estas investigaciones no otorgan ningún peso al lugar de donde son obtenidas las colonias bacterianas y como estas se encuentran interrelacionadas con el medio ambiente y su posible uso como un nuevo tipo de bioindicador para conocer si existen variaciones en el aumento de contaminantes orgánicos, en este caso proteínas.

El propósito de este trabajo fue, con base lo anteriormente mencionado, analizar la distribución y la abundancia de las poblaciones bacterianas que presentan actividad proteolítica en los sedimentos en las playas localizadas en la región costera central de Veracruz. Con el objetivo de comprender la dinámica de estas poblaciones y evaluar las variables ambientales que ejercen influencia sobre ellas. Este estudio también contribuyó al conocimiento de los procesos de degradación de proteínas en los ecosistemas costeros de México. Es importante destacar que, hasta la fecha la relación entre la procedencia de las muestras y estas comunidades no ha sido objeto de investigación, lo que plantea una nueva vía de estudio en busca de nuevos bioindicadores que puedan proporcionar información valiosa sobre el medio ambiente.

## 2. MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL

Este capítulo se encuentran las teorías que son abordados dentro de este trabajo, partiendo de un modelo pasando por una teoría constitutiva hasta llegar a la teoría general. Continuando con los principales conceptos que son empleados para la comprensión del problema de investigación.

### 2.1 Teorías científicas

En el Cuadro 1 se muestra dos teorías y un modelo.

Se toma el modelo matemático de crecimiento bacteriano porque es la base para la determinación de la presencia de bacterias proteolíticas las cuales se encuentran en un sistema cerrado y bajo condiciones de laboratorio. El crecimiento bacteriano suele representarse a través de una curva de crecimiento logarítmico, en donde se grafica el número de organismos con respecto al tiempo, bajo condiciones favorables para el crecimiento como se observa en la Figura 1 (Garre Pérez et al., 2016). Este modelo se basado en la Teoría de la Evolución por la adaptación dado el crecimiento de (Cuadrado, 1995) bacterias en diferentes ambientes.

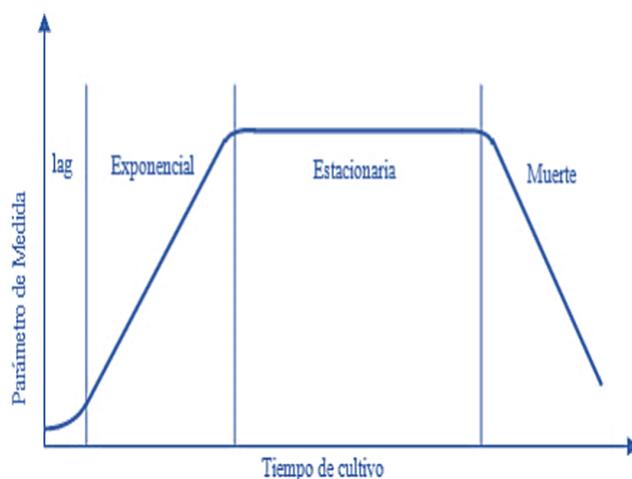


Figura 1 Crecimiento bacteriano a lo largo del tiempo (Cobas et al.,2007).

La teoría de la evolución tiene como principal exponente es Charles Darwin en 1958 con la publicación de su libro el origen de las especies, donde habla de la selección natural que consolidó a la evolución como teoría. La determinación de la presencia de bacterias

en medios contaminados por el hombre es una prueba que reafirma esta teoría. Esto se debe a que existe naturalmente una selección de las bacterias mas fuertes en un medio contaminado, de las cuales pocas sobrevivirán y generarán una nueva población que posee un mayor nivel de resistencia a este tipo de contaminación como se muestra en la Figura 2.

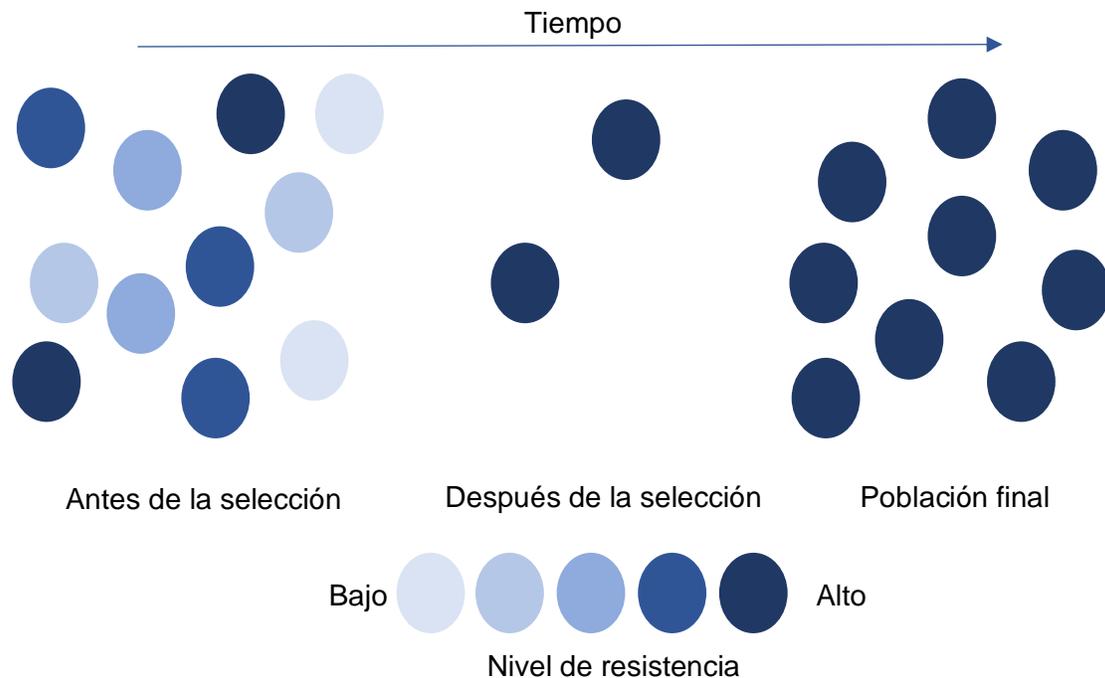


Figura 2 Representación esquemática de cómo la resistencia antibiótica se origina a través de selección natural (Resistencia a antibióticos, 2020).

Finalmente se tomó la teoría general de los sistemas la cual es atribuida a George Wilhem Friedrich Hegel, quien nos habla que un todo está conformado por la suma de sus partes y estas están interrelacionadas y son interdependientes entre sí (Cuadrado, 1995), es por ello que es tomada como teoría general en esta investigación.

Cuadro 1. Teorías y modelo utilizado en el Marco Teórico.

<b>Teoría General</b>	<b>Teoría Constitutiva</b>	<b>Modelo</b>
<p><b>Teoría General de Sistemas</b></p> <p>Su propósito es estudiar a los sistemas a partir de la suma de sus partes para conformar un todo, este principio se puede aplicar a cualquier nivel en el campo de la investigación.</p>	<p><b>Teoría de la Evolución</b></p> <p>Esta teoría está basada en la selección natural, la cual nos dice que la sobrevivencia de las especies será regida por la supervivencia de los organismos más aptos o aquellos que muestren adaptaciones tanto fenotípicas como genéticas para poderse desarrollar adecuadamente en su medio.</p>	<p><b>Modelo Matemático del Crecimiento Bacteriano</b></p> <p>Es el aumento de la población de una determinada especie bacteriana reflejada con el paso del tiempo.</p>
<p>Contexto:</p> <p>Dominio: Es universal puede contemplar todo lo que existe</p> <p>Supuestos: Todos los sistemas se encuentran conformados por diversas partes las cuales interactúan entre sí, por lo que son interdependientes y se encuentran relacionadas a diferentes niveles otorgándoles un comportamiento complejo.</p> <p>Marco: El todo va ser más que la suma de sus partes, este todo determina la naturaleza de sus partes, para comprender sus</p>	<p>Contexto:</p> <p>Dominio: Todos los seres vivos.</p> <p>Supuestos: Es el resultado de las adaptaciones que tienen los organismos hacia los distintos ambientes lo que generará cambios en su material genético (ADN) que se propaga en una determinada población a través del tiempo.</p> <p>Marco: Constituye la base científica de la diversidad de especies y el conocimiento de poseer antepasados en común.</p>	<p>Contexto:</p> <p>Dominio: Bacterias.</p> <p>Supuestos: Aumento del número de bacterias a lo largo del tiempo.</p> <p>Marco: Constituye a la suma de todos los ciclos celulares de bacterias siendo consideradas que se encuentran en un ambiente aislado y con los suficientes recursos para crecer.</p> <p>Definiciones: Aplica para el crecimiento bacteriano en ambientes controlados.</p>

partes no se puede aislar del todo, estas están interrelacionadas o interdependientes.

Definiciones: Aplica en la mayoría del comportamiento de los sistemas complejos.

Principios Fundamentales: Conceptos: Sistemas complejos, dependientes.	Principios Fundamentales: Conceptos: seres vivos, adaptación, antepasado común, genotipo, fenotipo, herencia y relaciones filogenéticas.	Proposiciones Conceptos: ciclo celular, población, crecimiento, desarrollo.
---	---	--

Generalidades: Es vista como un estudio interdisciplinario, que intenta encontrar las propiedades comunes a entidades, observando todos los niveles de realidad.

Generalidades: La herencia se encuentra en los genes (ADN) en el núcleo de las células, lo que hace que las características sean hereditarias.

Generalidades:  
 $N=N_0 2^n$   
 $N$ = número de bacterias  
 $N_0$ = número de células en el momento actual  
 $n$ = generaciones  
 $n=t/O$   
 $O$ = tiempo de generación  
 $T$ = tiempo

Productos: Explica de muchas maneras la teoría de la evolución, mediante las interacciones de los organismos con el medio.	Productos: Modelo matemático de crecimiento bacteriano dependiendo del entorno en el que se encuentre.	Productos: Hipótesis: El crecimiento de la población bacteriana en determinado tiempo se verá influenciada por las condiciones del medio en que se encuentre.
---	---	--

Pruebas:

---

## Hechos

Aplicación en la determinación de la presencia de bacterias proteolíticas en descargas de desechos pesqueros y la aplicación de estas para su remediación.

(Cuadrado, 1995; Garre Pérez, 2016; González, 1992)

## 2.2 Litoral

La zona litoral al ser el punto de conexión entre los ambientes marino, terrestre y aéreo, se caracteriza por su alta dinámica (Benseny, 2006). Este ecosistema alberga una gran diversidad biológica de especies marinas y terrestres, convirtiéndola en un hábitat único y de gran valor ecológico. Sin embargo, esta zona se enfrenta a numerosas presiones debido a la actividad humana lo que amenaza su equilibrio. Además de su importancia ecológica, esta área es utilizada para fines socio-económicos debido a los diversos servicios ambientales que brindan al hombre (Lango-Reynoso et al., 2019), por lo que no es raro que la zona litoral se encuentre contaminada por diversos tipos de desperdicios generados por las actividades antropogénicas que se llevan a su alrededor. El crecimiento poblacional, el desarrollo económico y el cambio climático son factores que plantean amenazas para la zona litoral nivel mundial, incluyendo el retroceso de la tierra debido al aumento del nivel del mar (Schlacher et al., 2008).

### 2.2.1 Interacción entre bacterias y los sedimentos

Las bacterias presentes en los sedimentos costeros destacan por su alta cantidad, diversidad y actividad, ya sea que ocupen la columna de agua o residan en el propio sedimento (Urakawa et al., 1999). Diversos factores, como la temperatura, los nutrientes, la salinidad, la contaminación y la depredación, entre otros, pueden modificar la composición de estas comunidades bacterianas. Estos factores pueden variar en intensidad en diferentes sistemas acuáticos; por ejemplo, la contaminación generada por actividades humanas puede

tener un impacto más pronunciado en áreas urbanas en contraste con entornos costeros no alterados (Horner-Devine et al., 2004).

Además, las oscilaciones en la carga de materia orgánica y la disponibilidad de oxígeno disuelto en la zona costera pueden influir en el metabolismo de ciertas poblaciones bacterianas mermando otras, lo que se refleja un flujo de compuestos a través de la interfaz entre el agua y sedimento. En las zonas costeras existen variaciones en los cambios de las cargas de materia orgánica, lo cual afecta los procesos relacionados con la descomposición y reciclaje de la materia orgánica en los sedimentos costeros (Molina Trincado, 2002).

El análisis de variables ambientales, como la temperatura, el pH o la geografía, en relación con las diferencias observadas entre las diversas comunidades microbianas, arrojan luz sobre la capacidad de microorganismos capaces de adaptarse a variaciones ambientales. Lo que da una mejor comprensión de la ecología microbiana y su evolución (Lozupone y Knight, 2007).

### **2.3 Posibles impactos generados por las actividades antropogénicas en la zona litoral**

La franja costera mexicana posee un alto valor debido a los servicios ambientales que esta ofrece, como es el turismo, la pesca y el comercio debido a la compleja diversidad de ecosistemas que contribuyen a diferentes actividades antropogénicas que pueden ser llevadas en la costa (Zárate-Lomelí, 2004).

Por otro lado, mar siempre ha sido visto y utilizado como una fuente “inagotable” de recursos económicos para la satisfacción de la demanda de la población humana. Asimismo, es empleado como vertedero de residuos y contaminantes provenientes de diversas actividades humanas, afectando el equilibrio ecológico presente en los mares y océanos (FAO, 2018).

La globalización que se ha dado en las últimas décadas ha generado un aumento acelerado de diferentes actividades económicas, que deriva en un crecimiento desordenado en puntos clave en zonas costeras dando lugar a problemas ambientales por el espacio y el uso de los servicios ambientales lo cual a generado un deterioro visible en la calidad de vida por la

generación de residuos y contaminantes ejerciendo una presión constante en la costa (Lara-Lara et al., 2008).

En la Zona Metropolitana de Veracruz se ha registrado un crecimiento durante la última década, donde se ha priorizado el crecimiento urbano, turístico, residencial y portuario (Lango-Reynoso et al., 2019), afectando la zona costera con la destrucción de hábitats y de servicios ambientales, generando nuevos puntos de contaminación por las descargas de aguas contaminadas por diferentes actividades antropogénicas.

El sistema que presenta una mayor presión humana son las zonas intermareales donde se encuentren playas arenosas (Finkl y Krupa, 2003), estas otorgan servicios ambientales de esparcimiento recreación y mantenimiento de línea de costa, pero en el corredor turístico Veracruz-Boca del Río se ha visto la destrucción de estos hábitats por el crecimiento urbano, el aumento de las actividades recreativas en temporadas altas y la modificación del ambiente para la protección de la línea de costa (Sánchez Domínguez, 2015).

Los diversos desechos en el corredor turístico se han dado por el cambio de uso de suelo, la alta densidad poblacional, el incremento de depósitos de residuos y contaminantes, poca valorización y falta de planes para el manejo de residuos que desembocan en el mar (Reyna-González et al., 2022). El aumento de la concentración de los desechos en puntos específicos genera contaminación biológica, afectando al ecosistema en formas que aún no han sido debidamente estudiadas (FAO, 2018).

Cabe señalar que Aké-Castillo et al. (2014) dividen en tres la zona central de Veracruz debido los diferentes tipos de contaminación generada por las diferentes actividades antropogénicas, siendo estos intensos, moderados y severos, los contaminación severa se encuentran vinculada al desarrollo urbano y a la presencia de basura, por otro lado la contaminación intensa se da por actividades de turismo e industria, finalmente considera como contaminación moderada aquella que se encuentra relacionada con la destrucción del hábitat y la que generan las pesquerías junto con la acuicultura, siendo el agua el elemento más afectado repercutiendo directamente con la zona costera.

### **2.3.1 Influencia de las actividades antropogénicas en la calidad costera**

#### **Impacto de la actividad portuaria en la calidad del entorno costero**

Los puertos son considerados fuentes puntuales de contaminación costera, sin embargo, gran parte de esta contaminación proviene de las ciudades e industrias circundantes que vierten sus desechos en las aguas portuarias. Además, debido a su ubicación los puertos también reciben aguas de escorrentías de sus propias superficies, las cuales están expuestas a efluentes industriales que aportan en pequeñas concentraciones de una multitud de sustancias altamente tóxicas. Los residuos aceitosos generados por la limpieza de tanques, el remplazo de aceites y las actividades de carga y descarga de productos contribuyen también a la contaminación de puerto (Cámara, 1989).

El crecimiento de la población alrededor del puerto y su integración a este trae consigo acondicionamiento estético, sanitario de las aguas y de sedimentos portuarios, por lo que es importante implementar políticas para garantizar la calidad del entorno costero (Cámara, 1989).

Las actividades portuarias generan diversos tipos de residuos que requieren una gestión adecuada. Estos residuos incluyen aceites y grasas provenientes de la lubricación de las embarcaciones, contaminación térmica causada por la refrigeración de motores, metales pesados disueltos en el agua debido a estructuras metálicas, aguas residuales provenientes de los servicios sanitarios de las embarcaciones, y residuos de actividades marinas como anzuelos, cables, redes, cabos, aguas de sentina, agua de lastre y residuos domésticos como envases de plástico, metal, vidrio, papel y cartón

El puerto de Veracruz se encuentra ubicado estratégicamente en la Zona Central del Golfo de México convirtiéndolo en el principal puerto de entrada a México desde el Atlántico. Debido a su actividad comercial y distribución de grandes volúmenes de carga, el puerto requiere una economía sólida para su funcionamiento (Domínguez Pérez, 1990).

#### **Efectos de la actividad turística en la calidad del entorno costero**

El turismo es ampliamente reconocido a nivel global como una de las actividades económicas más importantes, gracias a su crecimiento constante y a su capacidad para generar ingresos y empleo. No obstante, en las zonas costeras donde el turismo se desarrolla, tanto el este sector como las comunidades locales comparten recursos, lo que

puede dar lugar a conflictos. Estas interacciones tienen un impacto significativo en la calidad de vida de los residentes locales (Chávez-Dagostino et al., 2018).

Según Barrera-Escorcia y Namihira-Santillán (2004), se ha observado que las poblaciones de bacterias coliformes no siguen un patrón estacional constante; pero sin embargo, se ha registrado un aumento en la cantidad de estos microorganismos en momentos de alta actividad turística. Esto sugiere que las condiciones sanitarias en las zonas costeras se deterioran con la afluencia turística, lo cual está asociado al incremento de dichos organismos.

De acuerdo con Ramos-Ortega et al. (2008), la franja costera, donde se concentra la mayoría de las actividades humanas de interacción directa, como las turísticas, exhibe signos de contaminación microbiológica. Este fenómeno se atribuye al incremento poblacional que acompaña la temporada de turismo, lo que resulta en niveles de contaminantes que exceden los límites aceptables.

### **Influencia de la urbanización en la calidad del entorno costero**

La influencia de la urbanización en la calidad del entorno costero se manifiesta a través de diversos efectos, entre los cuales destaca la contaminación bacteriológica derivada de aguas residuales urbanas. La presencia de bacterias patógenas en el agua contaminada puede dar lugar a enfermedades especialmente a través de organismos filtrador los cuales actúan como bioacumuladores de este tipo de contaminación (Cámara, 1989).

Otro aspecto relevante es el enriquecimiento de nutrientes debido al aumento masivo de aguas residuales urbanas ricas en nitrógeno y de fosforo derivados de excretas humanas y por el empleo masivo de detergentes. Este tipo de contaminación se observa en zonas de poca renovación de agua, las cuales son sometidas a un constante aporte de aguas residuales urbanas contaminadas (Cámara, 1989)

En el caso particular de las aguas residuales urbanas la urea es una de las principales fuentes de nitrógenos que ingresa a ambientes acuáticos. La cantidad de urea presente en el agua dependerá de las plantas de tratamiento de aguas residuales y su eficiencia para la eliminación del nitrógeno (Glibert et al., 2006).

## **Contribución de la industria pesquera a la degradación de la calidad costera**

Las actividades pesqueras recolectan organismos marinos con fines alimenticios y descargan sus desechos en zonas particulares. Se ha demostrado que la presencia de estos desechos pesqueros puede generar cambios en los parámetros físicos como es son la turbidez y la temperatura, así como cambios en los parámetros químicos en pH, en la demanda química de oxígeno y en la demanda biológica de oxígeno (Ventura y Flores, 2017). El principal contenido de los desechos pesqueros es materia orgánica suspendida y diluida, viseras, grasas y aceites, heces, sangre, mucus y agua de mar. Comúnmente a esta mezcla de diferentes compuestos orgánicos y agua de mar es conocida como sanguaza en varias partes del mundo.

Guzmán Serrano y Pastor Lorenzo (2020) y Ventura Cueva (2017) mencionan que la generación de la sanguaza se da por la mala manipulación del pescado desde su extracción hasta su procesamiento. Las más altas concentraciones de sanguaza se dan en la descarga del pescado, a esto se le suman otros factores como la temperatura del lugar, el tamaño y la cantidad de organismos capturados y la posterior limpieza que se hace en las embarcaciones al acabar la jornada laboral.

La sanguaza esta principalmente conformada por sangre y materia orgánica, la sangre está conformada por una parte fluida denominada plasma y de tres grupos celulares: Los hematíes que se encargan de la oxigenación, los trombocitos: coagulantes y los leucocitos que sistema de defensa del organismo (Alvis, 2006). Todos estos compuestos generan un caldo de cultivo el cual es rico en productos nitrogenados principalmente proteínas y aminoácidos que serán aprovechados por distintos organismos que se encuentren presentes en el ambiente.

El desarrollo de la pesquería ribereña produce diversos impactos en los distintos componentes de los ecosistemas. Uno de estos impactos el cual es el que se encuentra como problema de investigación es la recepción de la contaminación biológica en el cuerpo marino costero, afectando posiblemente a las poblaciones de organismos que viven a su alrededor. Según el Ministerio de la Producción (2009), existen principalmente cinco tipos de impactos, el primero está relacionado con los cambios físico-químicos de agua de mar que rodea algún efluente pesquero, la alteración de algunos ciclos biogeoquímicos, modificación en la diversidad de especies, cambios estéticos y variación en el tiempo que el ecosistema requiere para regresar a su punto de equilibrio.

El principal cambio físico como se había mencionado anteriormente es la incrementación de la turbidez, debido al aumento de las partículas de suspensión y por las grasas y aceites presentes en la sanguaza. Los cambios químicos se dan por la entrada de grandes concentraciones de materia orgánica que desencadenan una serie de procesos en la columna de agua. Disminuyendo el contenido de oxígeno disuelto, modifica el pH del agua y la oxidación-reducción de los sedimentos.

La alteración en los ciclos biogeoquímicos se da por la degradación de la materia orgánica que llega al cuerpo de agua, esta materia orgánica se mineraliza produciendo nitratos, amonio y fosfatos que producen eutrofización en el ambiente.

La modificación de la diversidad de especies se da por los diversos cambios mencionados anteriormente que se dan en la columna de agua, si se da la disminución de la concentración del oxígeno en el agua los organismos se ven forzados a desplazarse a otros sitios donde encuentren las condiciones óptimas para su crecimiento y desarrollo o mueren por las condiciones anoxicas del medio. La turbidez en el agua afecta en la entrada de luz solar, lo cual puede ser muy perjudicial para los organismos autótrofos.

Los cambios estéticos están dados por el aumento de la fertilidad del agua que provoca el aumento de fitoplancton y de bacterias, además de cambios en la transparencia y color y la aparición de olores desagradables.

Finalmente, la resiliencia se ve afectada por las altas concentraciones de materia orgánica que están siendo agregadas a la columna de agua crónicamente, provocando que el sistema tarde cada vez más tiempo en regresar a su punto de equilibrio.

## **2.4 Temporadas climáticas**

La zona costera Veracruzana presenta un patrón climático estacional influenciado por la circulación atmosférica-oceánica, lo cual genera cambios en la energía del oleaje, distribución de sedimentos, variaciones de temperatura y corrientes litorales (Salas-Pérez y Granados-Barba, 2008) Este patrón climático se caracteriza por la influencia de la circulación atmosférica y los efectos del océano, lo cual tiene impacto en varios aspectos, como:

1. Energía del oleaje: Los cambios en la circulación atmosférica y oceánica afectan la energía y la dirección del oleaje en la zona costera de Veracruz.

2. Distribución de sedimentos: La circulación marina y los patrones de corrientes modifican la distribución de sedimentos a lo largo de la costa veracruzana.
3. Temperaturas: Las condiciones climáticas en la zona urbana de Boca del Río y Veracruz se caracterizan por ser cálidas y húmedas, con lluvias principalmente durante el verano. Además, se destaca por tener un clima soleado con poca variación térmica. Durante la temporada de "Nortes", que ocurre de noviembre a febrero, los vientos del norte suelen ser violentos (Tejeda Martínez, 1995).
4. Temporadas climáticas: Debido a las condiciones climáticas, se pueden identificar tres temporadas en la zona costera veracruzana:
  - a) Temporada de Lluvias (junio a octubre): Durante esta temporada, se registran las mayores precipitaciones en la zona costera de Veracruz. Las lluvias intensas pueden tener un impacto significativo en el litoral, ya que contribuyen al aumento del caudal de los ríos y a la descarga de sedimentos al mar. Esto puede resultar en cambios en la morfología de las playas, erosión costera y modificaciones en la dinámica de las corrientes marinas. Además, la presencia de lluvias afecta la calidad del agua en las zonas costeras e influyen en la actividad biológica y ecológica.
  - b) Temporada de Nortes (noviembre a febrero): Durante esta temporada, se experimenta la influencia de los vientos del norte, que son vientos fuertes y predominantes en la zona. Estos vientos generan cambios en la circulación marina, produciendo corrientes que se desplazan de norte a sur a lo largo del litoral. El oleaje puede ser más intenso y se pueden formar corrientes de resaca, lo que afecta la dinámica de las playas y la distribución de sedimentos.
  - c) Temporada de Estiaje (marzo a junio): En esta temporada, se caracteriza por una disminución en la cantidad de lluvias y un incremento en la temperatura. Los vientos del norte suelen ser menos intensos, lo que influye en una menor agitación del oleaje en comparación con la temporada de Nortes. Las corrientes marinas pueden variar, pero en general, la circulación tiende a ser más tranquila en esta época del año.
5. Circulación marino-costera: Durante la temporada de lluvias, las corrientes marinas tienden a fluir de sur a norte en la zona costera veracruzana. Sin embargo, en

condiciones de "Nortes", la circulación se invierte, con las corrientes moviéndose de norte a sur debido a la influencia de los vientos (Pérez, 2012).

La zona costera Veracruzana experimenta variaciones estacionales en su clima y condiciones marinas debido a la circulación atmosférica-oceánica, lo cual tiene efectos significativos en la energía del oleaje, distribución de sedimentos, temperaturas y corrientes marinas en la región.

## **2.5 Bacterias**

Las bacterias son consideradas como los organismos más pequeños, poseen varios componentes de las células eucariotas y pueden ser encontradas en todos los ecosistemas existentes en la tierra ocupando infinidad de nichos ecológicos que varían entre sí en sus características fisicoquímicas. Las bacterias son de suma importancia en nuestro planeta, debido a que sus metabolismos poseen varias aplicaciones prácticas que hacen que la vida como la conocemos exista (Varela y Grotiuz, 2008). Se entiende como metabolismos a aquellas reacciones químicas que se dan en las células, esta es aprovechada por el ambiente para la reducción de materia orgánica presente en este (Rodas, 2016).

### **2.5.1 Hidrolasas**

Dependiendo de la función que tiene cada una de las enzimas se pueden obtener una clasificación en la cual se añade el sufijo ASA:

- Oxidoreductasas
- Transferasas
- Hidrolasas
- Liasas
- Isomerasas
- Ligasas

Las hidrolasas tienen como función específica la realizan la degradación de moléculas mediante la hidrólisis de éteres (C-O-C), esterés (C-O-O-) y aminoácidos (CO-NH), las enzimas proteolíticas se desempeñan en la hidrolización de proteínas degradando las uniones de los aminoácidos (CO-NH), a su vez se encuentran clasificadas en endopeptidasas y exopeptidasas, las primeras realizan la hidrolización de uniones peptídicas

en el interior de la cadena de la proteína y las segundas comienzan en los extremos de la cadena de la proteína (Valeria, 2019).

### **2.5.2 Bacterias Proteolíticas**

Se conoce como bacterias proteolíticas a todas aquellas bacterias que pueden romper biopolímeros a constituyentes más pequeños, es decir realizan hidrolisis para el rompimiento de proteínas dando la formación de aminoácidos con ayuda del agua (Rodas y Botello, 2016). Este proceso se realiza por acción de enzimas extracelulares llamadas proteasas o peptidasas, que rompen la unión peptídica generando péptidos, aminos, amonio y aminoácidos libres (Figuroa et al., 1997). Como productos finales se obtiene a los ácidos orgánicos, amonio, dióxido de carbono y pequeñas cantidades de hidrogeno diatómico (Parra, 2015).

Se encuentran en diversos ambientes tanto acuáticos como terrestres y están distribuidas en plantas, animales y microorganismos. Participan en diversos procesos fisiológicos poseyendo una alta especificidad dependiendo del sustrato o el medio en el que se encuentren (Marroquín et al., 2019). Dado que son fisiológicamente necesarias para los organismos, estas se encuentran en una gran diversidad de lugares como lo son plantas animales y microorganismos (Rao et al., 1998), por ejemplo muchas enzimas proteolíticas se encuentran en el estómago de los peces las cuales le ayudan a la digestión, encontrándose con mayor frecuencia a la pepsina que hidroliza enlaces peptídicos produciendo peptonas y polipéptidos (Acuicultura, 2012).

Con la presencia de sanguaza se da la degradación proteica por la acción enzimática de algunas bacterias, dando lugar a procesos oxidativos. Como producto final de todo este proceso se da la mineralización de algunos productos. La degradación de proteínas no provoca un cambio drástico en el pH del mar debido a la gran extensión en la cual se está derramando la sanguaza, además de la formación de amonio y ácidos bioquímicos (Ministerio de la Producción, 2009).

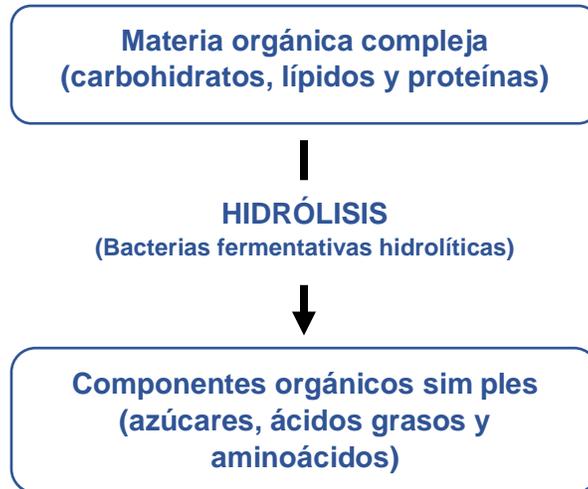


Figura 3 Esquema de la digestión anaeróbica de la materia orgánica, Fuente (Moraes et al., 2015).

### 2.5.3 Crecimiento Bacteriano

Para el estudio de cepas bacterianas que posean actividad proteolítica se necesita iniciar con su cultivo, este proceso se realiza en laboratorio y se da para la propagación de crecimiento de determinada cepa bacteriana. Se realiza mediante el control de las condiciones ambientales y los nutrientes requeridos para cada microorganismo. Para ello se debe saber cuáles son las condiciones más adecuadas o los requisitos mínimos que necesitan las bacterias para realizar el cultivo y saber igualmente estos requisitos si se requiere aislar una población bacteriana específica. Los cultivos nos van a permitir la obtención de millones de bacterias que se encontraran en colonias aisladas, un segundo cultivo aislando cada una de estas colonias permitirá la obtención de un cultivo puro (Varela y Grotiuz, 2008).

Se considera como crecimiento bacteriano al aumento en el número total de células bacterianas dentro de una población en determinado tiempo, el cual puede ser cuantificado directa o indirectamente. Dentro de este crecimiento se distinguen 4 fases por la cual pasa una población bacteriana:

- a) Fase de latencia
- b) Fase exponencial
- c) Fase estacionaria

#### d) Fase de muerte

En la Figura 4 se puede observar cada una de estas fases. En la fase de latencia existe poco crecimiento, las células empiezan a sintetizar enzimas que serán utilizadas más adelante para la actividad metabólica. En la fase exponencial se da el máximo crecimiento bacteriano, este dependerá del organismo y de las condiciones ambientales. La fase estacionaria es cuando el crecimiento disminuye hasta convertirse en una asíntota, se da por el agotamiento de los recursos o de las condiciones experimentales, en este punto existe un equilibrio entre el número de células nuevas y las que mueren. La fase de muertes es el aumento de la mortalidad presentándose una disminución considerable de células bacterianas (Benintende y Sanchez, 2002).

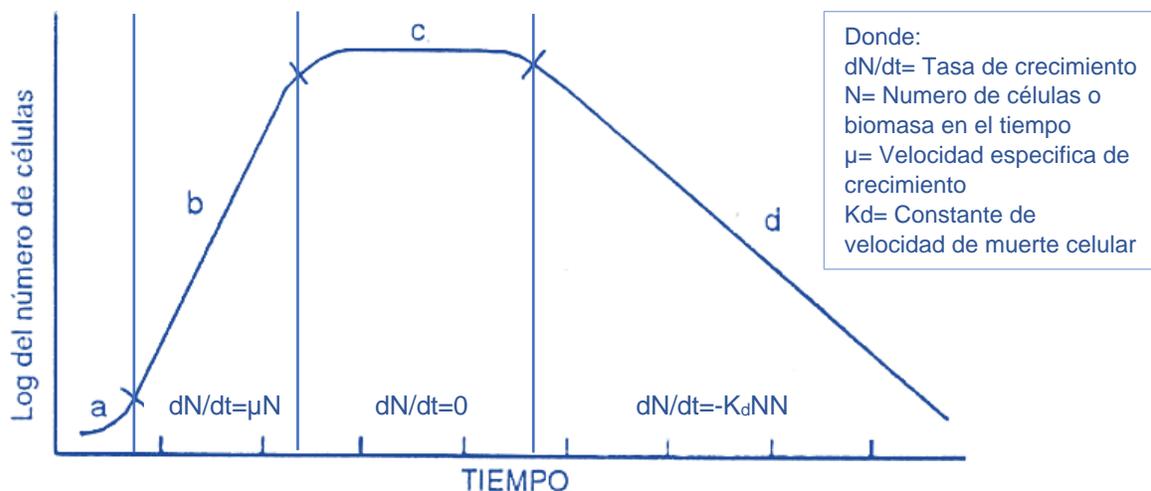


Figura 4 Curva de crecimiento bacteriano con sus correspondientes ecuaciones (Varela y Grotiuz, 2008).

Dentro de la determinación de la presencia de microorganismo proteolíticos se pueden llevar a través de distintas técnicas analíticas de degradación: por degradación de urea, degradación de leche y degradación de gelatina (Jorge, 2020).

#### 2.5.4 Medios de cultivo

Es una mezcla de nutrientes que se requieren para el crecimiento de las bacterias, dependiendo de las necesidades de cada población de organismos, estos deben de estar en cantidades apropiadas que permitan un adecuado crecimiento. Hay que tener en cuenta de que, aunque cada población bacteriana es distinta todas ellas mantienen la misma composición química en cada una de sus células (Varela y Grotiuz, 2008).

Para los distintos cultivos bacterianos existen tres tipos de medios los líquidos, los semisólidos y los sólidos, estos últimos son empleados para el aislamiento bacteriano, mientras que los líquidos son para el enriquecimiento de una población bacteriana. Los medios compuestos principalmente de agar con caseína o leche en polvo son utilizados para la determinación y el aislamiento de bacterias proteolíticas, siendo este un medio selectivo que permite el desarrollo de bacterias proteolíticas, pero inhibe el desarrollo de las demás bacterias (Inat Trigueros, 2016).

## **2.6 Importancia biotecnológica**

Actualmente se utiliza a la biotecnología para la restauración y mejora de procesos productivos en la constante búsqueda de conocimientos, bienes y servicios de interés humano. Este tipo de tecnología es aplicada en la utilización de técnicas, procesos y métodos para la incorporación de organismos vivos y/o aspectos derivados de los mismos. Dentro de este campo esta la clonación de genes de proteasas bacterianas para la sobreproducción de enzimas que tienen diversas aplicaciones comerciales en las industrias alimentaria, de detergentes y farmacéutica (Rao et al., 1998).

Las proteasas tienen una amplia gama de aplicaciones, principalmente en las industrias de detergentes y alimentos. Teniendo en cuenta la tendencia reciente de desarrollar tecnologías respetuosas con el medio ambiente, se espera que las proteasas se utilicen en procesos de biorremediación. La demanda de enzimas para diferentes aplicaciones varía mucho. Las enzimas proteolíticas se utilizan ampliamente en la industria farmacéutica para producir medicamentos, en las industrias de alimentos y detergentes son utilizadas como preparados crudos, en la industria del cuero pueden ser utilizadas para su procesamiento y la reducción de la contaminación ambiental que esta provoca (Rao et al., 1998).

### **2.6.1 Biotecnología Blanca.**

A este tipo de biotecnología se le denomina blanca ya que se encuentra relacionada a la producción, transformación o degradación de compuestos o moléculas mediante la utilización de sistemas y procesos biológicos. Una de sus ramas es la estabilización de enzimas y células con base de la comprensión del medio y el control de las variables que se encuentran en algún proceso de producción. Por su alta eficiencia, especificidad crean

menos residuos, son respetuosos con el medio ambiente, fáciles de usar, seguros y eficientes a bajas concentraciones (Daboor et al., 2012; Sánchez Montero, 2009).

La biotecnología blanca se encuentra en búsqueda de organismos con ciertas características, que sean eficientes en la degradación de proteínas, que tengan una alta competitividad y por su alta especificidad que sean adecuados para determinada industria (Rodas y Botello, 2016).

Las enzimas producidas por la actividad proteolítica poseen un gran potencial biotecnológico, se utilizan en diversas industrias por razones económicas, religiosas y culturales. Se encuentran en diversos procesos productivos como lo son la elaboración de quesos, cervezas, tiernización de carnes, panificación aditivos de polvos en detergentes, manufactura de cueros, en la industria textil, uso farmacológico y médicos (Llorente, 2002). Su principal aplicación es a nivel industrial debido a la facilidad de obtención de productos que serían imposibles y/o costosos por otros métodos físicos químicos (Sánchez Montero, 2009). La digestión bacteriana anaeróbica que se da en las proteínas es empleada en la industria alimentaria para la reducción de gastos y la reducción de la contaminación ambiental (Moraes et al., 2015).

### **2.6.2 Biotecnología gris**

Esta biotecnología se encuentra enfocada en las aplicaciones tecnológicas que ayuden al medio ambiente, mediante la creación de y/o utilización de recursos y procesos que den a soluciones para la protección y remediación del ambiente (Sánchez Montero, 2009). La utilización de bacterias en medios contaminados es una alternativa viable debido a la capacidad que poseen estos microorganismos para absorber diferentes tipos de contaminantes empleándolos dentro de su metabolismo para la síntesis de elementos que son necesarios para su sobrevivencia (Galindo et al., 2020).

La detección de determinadas cepas bacterianas nos proporciona información del medio, por lo que puede ser consideradas como indicadores de contaminación y en algunos casos también pueden ser empleadas como posibles biorremediadores de la misma contaminación.

### **2.6.3 Biotecnología azul**

Cuando se habla de biotecnología azul se refieren a aquella tecnología biológica que es de origen marino, debido a la gran variabilidad de condiciones ambientales marinas existen gran cantidad de organismo adaptados a estos medios. Siendo el mar un centro de atención en la búsqueda de nuevos hallazgos para satisfacer nuestras necesidades en la oferta de productos marinos, aumentar la seguridad y control de contaminantes encontrados en el agua y el desarrollo industrial (Hernández Hernández, 2020).

## **3. MARCO DE REFERENCIA**

### **3.1 Antecedentes**

#### **3.1.1 Actividad proteolítica bacteriana en agua superficial de ambientes marinos**

Existen investigaciones sobre la actividad proteolítica bacteriana en ambientes marinos, estos trabajos fueron realizados a partir de la toma de muestras de agua marina superficial. La toma de muestras de dos de ellas se encuentra relacionadas con efluentes pesqueros, mientras que la otra fue obtenida cerca de una isla en la Antártica. Castro et al. (2012) aislaron 10 cultivos de bacterias generadoras de proteasas extracelulares provenientes aguas superficiales de efluentes pesqueros, encontrando que la mayoría de los cultivos presento actividad proteolítica. Sánchez et al. (2004)

extrajeron proteasas extracelulares de bacterias marinas provenientes de aguas contaminadas por la pesquería, determinaron las condiciones ambientales para su óptimo desarrollo (concentración de NaCl, temperatura y pH) hallando que todas las bacterias son halotolerantes, psicotróficas y alcalófilas moderadas e identificaron al género *Pseudomonas* sp. Como poseedora de la mayor actividad proteolítica. Y Vázquez et al. (2008) obtuvieron 33 aislados bacterianos obtenidos de muestras de agua marina de la isla Rey Jorge en la Antártida, de los cuales se aisló e identificó una cepa de *Pseudoalteromonas* sp. Como aquella que posee la mayor actividad proteolítica. Estas investigaciones otorgan nuevo conocimiento de las redes tróficas y de las condiciones que necesitan los microorganismos para poder ser utilizados ambiental y comercialmente.

### **3.1.2 Actividad proteolítica bacteriana en sedimentos acuáticos**

Li et al. (2017) determinaron la diversidad bacteriana productora de proteasa en sedimentos marinos, obtuvieron 121 aislados bacterianos, los cuales se caracterizaron por el tipo de proteasa, utilizando ARNr 16S encontrando 4 filos y que la diversidad depende de cada sitio de muestreo. Prihanto et al. (2020) aislaron e identificaron bacterias halófitas productivas de proteasas obtenidas de los suelos de los estanques de sal, mostrando que uno de los seis aislados bacterianos tenía la capacidad de producir proteasas, siendo identificado como *Amilocua faciens*. Estos trabajos nos proporcionan nueva información sobre la diversidad bacteriana en el sedimento acuático y la identificación y caracterización de cepas bacterianas que pueden ser utilizadas como productoras de proteasas.

### **3.1.3 Actividad proteolítica bacteriana en desechos de pescado**

Wibowo et al. (s.f.) aislaron bacterias productoras de colagenasa a partir de residuos de pez globo, seleccionaron colonias e identificaron los distintos parámetros (temperatura, pH, concentración de sustrato, presión osmótica, concentración de inóculo y velocidad de agitación) para su óptimo crecimiento. Swapna et al. (2011) aislaron y caracterizaron de posibles bacterias de ácido láctico (bacterias proteolíticas y bacterias lipolíticas) a partir de desechos de viseras de pescado de agua dulce, los

cuales fueron expuestos a antibióticos encontrando que son sensibles a cefalotina y clindamicina y resistentes al cotrimoxazol y la vancomicina. Daboor et al. (2012) aislaron la actividad enzimática de colagenasa de residuos de pescado, determinaron los distintos efectos de diálisis KSCN, inhibidores enzimáticos y diferencias en el pH y temperatura. Ramkumar et al. (2018) utilizaron los desechos intestinales de *Sardinella longiceps* para la producción de proteasas alcalina termotolerante para ser utilizada como detergente. Demostrando que es compatible con todos los detergentes comerciales. Y Rebah y Miled (2013) realizaron una revisión del procesamiento de pescado para la producción de enzimas microbianas. Todas estas investigaciones se encuentran basadas en que los desechos de la industria de pescado generan un problema ambiental y de salud. Una de las soluciones que plantean es la hidrolización para su eliminación de este, siendo también una fuente de nutrientes para el crecimiento microbiano, con posible aplicación para la recuperación de proteínas y lípidos. Minimizando su impacto ambiental y proporcionando una alternativa industrial para su utilización.

#### **3.1.4 Actividad proteolítica bacteriana en desechos de otros organismos acuáticos**

Algunas otras investigaciones buscan la presencia de actividad proteolítica bacteriana en otros organismos acuáticos que son de importancia económica. Cornejo et al. (2021) aislaron e identificaron diferentes cepas de bacterias pertenecientes al desperdicio de camarón para su posible tratamiento y obtención de subproductos. Encontraron que el 96.88% de las cepas analizadas presentaban actividad proteolítica y utilizaron el método ARNr 16 s para la identificación bacteriana. Amin (2018) investigo la presencia de proteasas marinas en tractos gastrointestinales de abulón para su utilización como probióticos en la acuicultura. Asilando diez cepas bacterianas e identificando a la que poseía una mayor actividad proteolítica, identificándola también a través del método de ARNr 16s como *Bacillus amyloliquefaciens*.

#### **3.1.5 Actividad proteolítica bacteriana en suelos**

También se han realizado investigaciones de la presencia de actividad proteolítica bacteriana en suelos Zaragoza Carmona (2011) realizo una investigación sobre el aislamiento de cepas del género *Bacillus* que se encontraban presentes en el suelo y que tenían la capacidad de producir proteasas. Aisló diecisiete cepas de las cuales trece

presentaron actividad proteolítica con potencial uso en la industria de los detergentes. Hamdani et al. (2019) aislaron e identificaron bacterias proteolíticas en lodos en los que se encuentran cerdos, obteniendo diez cepas bacterianas de las cuales dos tienen potencial como bacterias proteolíticas. Rahman et al. (2018) aislaron bacterias productoras de proteasas a partir de muestras de suelo de desechos de curtiduría de la industria del cuero, realizaron una caracterización e identificación con ARNr 16s mostrando que la cepa con mayor actividad proteolítica es *Bacillus subtilis*.

### **3.1.6 Actividad proteolítica bacteriana proveniente de diferentes industrias**

Rodas y Botello (2016) realizaron una investigación de actividad hidrolítica de aislados bacterianos para el tratamiento de efluentes de frigorífico, encontrando quince bacterias productoras de enzimas extracelulares en condiciones naturales. Curi (2014) evaluó la actividad proteolítica y lipolíticas de cepas bacterianas provenientes de efluentes de curtiembre obteniendo 39 cepas de las cuales el 41% presentó actividad proteolítica y 51% actividad lipolítica. Estas investigaciones concluyeron la presencia de estos microorganismos y que poseían alto potencial enzimático. Y Masi et al. (2021) realizaron una caracterización e identificación de la producción de proteasas alcalinas por bacterias a partir de un efluente industrial de cuero.

En la industria láctea se han hecho investigaciones por la presencia de actividad proteolítica en los desechos de estos residuos. Tennalli et al. (2012) aislaron bacterias de suelo que poseían residuos lácteos para caracterizar su actividad proteolítica y determinar las condiciones óptimas (periodo de incubación, pH, Temperatura) en donde se da el mayor desarrollo de la actividad enzimática, encontrando dos cepas que pueden ser utilizadas para producción a gran escala. Mayta-Apaza et al. (2021), evaluaron la diversidad bacteriana y de proteínas de la hidrólisis del suero de la leche y del desecho de pescado. Encontraron variaciones en la diversidad microbiana y en los cambios bioquímicos durante la hidrólisis o degradación de este compuesto, existió un cambio de pH y de nutrientes conforme se avanzó en los días hasta la estabilización de la fermentación gracias al crecimiento poblacional del filo Firmicutes.

Appleby (1955) aisló bacterias proteolíticas del rumen de tres ovejas en condiciones

anaeróbicas seleccionando solo aquellas que pudieron utilizar caseína, obteniendo varias cepas bacterianas en donde se encontró en mayor medida a *Bacillus lincheni*.

Finalmente Hamid et al. (2019) a partir de muestras de residuos de vertedero aislaron e identificaron ocho cepas bacterianas proteolíticas psicotróficas, purificando 18.45 veces a la cepa que presento la mayor actividad proteolítica.

### 3.2. Bacterias proteolíticas un nuevo enfoque para la detección de desechos orgánicos de origen proteico

Como ya se ha mencionado las múltiples acciones de origen humano ejercen una influencia significativa en el área litoral, donde la descarga de aguas residuales no tratadas o con tratamiento insuficiente introduce elementos externos de naturaleza química y biológica al ambiente. La contaminación en el entorno costero es frecuente y produce variados impactos en el equilibrio del ecosistema (Torres y Calva, 2004).

Las bacterias heterótrofas son organismos claves para la transformación y reciclaje de los diferentes compuestos que llegan a los ambientes marinos, como se muestra en la Figura 5. Muchos tipos de bacterias se encuentran asociadas algún tipo de contaminación producida por el hombre por lo cual pueden ser considerados como

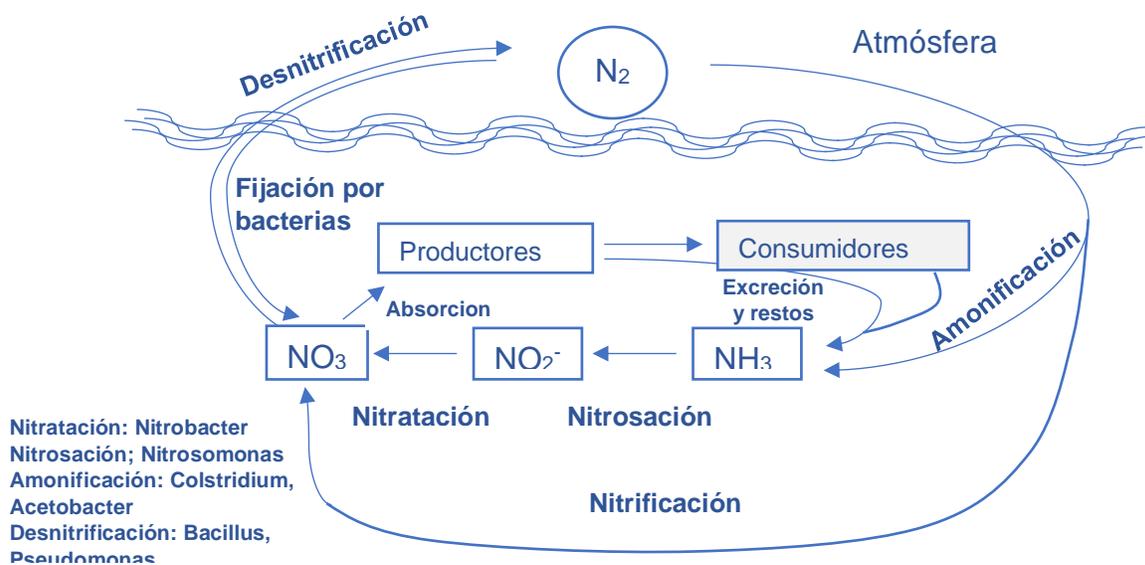


Figura 5 Esquema del Funcionamiento Normal del Ciclo del Nitrógeno en Medios Acuáticos, modificado de (Agroforesteria 2011).

bioindicadores de la calidad de agua del mar en lo que se refiere a su contenido con la materia orgánica, nutrientes y materia fecal (Herrera y Suárez, 2005). Estos indicadores nos permiten reconocer tendencias o acontecimientos que no pueden ser observados directamente, por lo que pueden ser usados como instrumentos de medición de las condiciones del ambiente costero en tiempo real (Polanía, 2010). A su vez la cantidad de indicadores bacteriológicos guarda una correlación con los atributos físicos y químicos del agua (su calidad), además del uso de esta y factores demográficos. Por lo general, la presencia elevada de indicadores microbiológicos se observa en temperaturas altas y en áreas próximas a los puntos de vertido (Torres y Calva, 2004).

Para el estudio de la presencia de proteínas en entornos acuáticos debido a las diversas descargas residuales no ha sido ampliamente explorada. Esto se debe en gran parte al hecho de que la determinación de este parámetro a menudo se lleva a cabo mediante el método de Kjeldahl, que permite medir el nitrógeno orgánico y el nitrógeno amoniacal presentes en las muestras (Rice et al., 2012). Aunque este método proporciona una indicación indirecta de la presencia de proteínas, su uso es menos común en comparación con otros métodos de análisis de contaminantes en el agua. Sin embargo, comprender el impacto de las proteínas derivadas de las descargas residuales en los ecosistemas acuáticos es esencial para evaluar la calidad del agua y desarrollar estrategias efectivas de gestión ambiental. En este contexto, se sugiere la posibilidad de usar bacterias con actividad proteolítica como indicadores biológicos de la contaminación por fuentes nitrogenadas en la zona costera. Delgado et al. (1992) sugieren la inclusión de nuevos microorganismos indicadores para realizar un control de la calidad del agua, asimismo que relaciones pueden estar presentes entre los parámetros microbiológicos y fisicoquímicos del ambiente.

### **3.3 Vacío del conocimiento**

El actual conocimiento no abarca como las variaciones climáticas como las lluvias, nortes y estiaje, en conjunto con las variaciones espaciales que existen en la zona costera central de México, afectan a las bacterias con actividad proteolítica. En lo que involucra su abundancia, la cantidad de enzimas extracelulares que secretan al ambiente, su diversidad y el papel que desempeñan en el ambiente. Aunado a ello se ignora si las variaciones en las características fisicoquímicas en los sedimentos

costeros y las diversas actividades humanas en la zona litoral influyen dentro de estas comunidades bacterianas.

### **3.2.1 Frontera del conocimiento**

El enfoque y justificaciones son generalizados en las investigaciones que buscan la presencia de actividad proteolítica bacteriana en distintos ambientes, tanto terrestres como acuáticos, debido a la importancia que estas enzimas tienen en el mercado industrial. Como se ha mencionado las bacterias con actividad proteolítica se utilizan en la obtención de detergentes, la producción de alimentos, la industria del cuero, la generación de productos farmacéuticos y la gestión de residuos (Castro et al., 2012). Por otro lado, la falta gestión de residuos es una problemática que afecta al medio ambiente y a sus recursos naturales. A pesar de existen algunas investigaciones entre las que destaca Cornejo et al. (2021); (Curi, 2014; Figueroa et al., 1997) enfocadas en la reutilización de los residuos orgánicos dejados por las distintas industrias y en su aprovechamiento para la obtener productos con beneficio económico. Por otro lado, hay una escasa cantidad de investigaciones que aborden la contaminación de origen orgánico, más específicamente proteico, en aguas dulces y marinas, y que se centren en resolver el daño causado al medio ambiente. En otras palabras, aunque se sabe que este tipo de bacterias existen medios contaminados, pero no se tiene conocimiento de cómo son sus interacciones con el ambiente y contaminantes más específicos, y cómo afectan en su crecimiento, abundancia su relación con otras especies de bacterias o niveles tróficos más altos.

Li et al. (2017) reconoce que gran parte de los procesos que llevan las bacterias en ambientes acuáticos aún son en su mayoría desconocidos. Considerando que las proteínas constituyen una parte significativa de la biomasa de los organismos y son productos de desecho tanto de los propios organismos como de las diversas actividades antropogénicas, es importante conocer su papel que desempeñan en la cadena trófica. Esto se debe a que se encargan en los primeros procesos en la mineralización de los componentes organismos para la reintegración en los ciclos biogeoquímicos.

### **3.3 Referencia geográfica**

El Estado de Veracruz se puede dividir en tres regiones: Norte, Centro y Sur, debido a su extensión territorial en relación con el mar. Esta investigación se encuentra enfocada en la región costera central de Veracruz, ya que es la que presenta una mayor diversidad de actividades antropomórficas dentro del desarrollo económico, pesquero y urbano. Se seleccionaron seis puntos de muestreo en esta área, uno de los cuales se consideró como punto focal, ya que representa de manera más precisa las diversas actividades antropogénicas que se llevan a cabo en la zona litoral (Boca del Río). Debido a esta intensa actividad humana, se considera que esta zona es más vulnerable a la presión social que enfrenta.

En este contexto, la vulnerabilidad se define como el grado en que tanto el ecosistema natural como el social pueden resultar afectados por los cambios derivados de las actividades humanas y el cambio climático. La vulnerabilidad depende tanto de la sensibilidad de un sistema a los cambios climáticos como de su capacidad para adaptarse a dichos cambios (Botello, 2011).

Así mismo se eligió a la playa de Farallón como blanco. Esta elección se basó en el hecho de que se puede considerar una "playa preservada" debido a la baja presencia de actividades humanas a su alrededor.

La playa de Farallón se encuentra caracterizada por su relativo aislamiento y su estado natural de preservación. La ausencia de una alta urbanización y la escasa influencia del ser humano en la zona hacen que sea un área de interés para realizar comparaciones de la vulnerabilidad de los ecosistemas costeros. Con lo que se busca obtener una perspectiva más clara de los posibles impactos antropogénicos que podrían afectar el entorno costero.

## 4. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

### 4.2 Planteamiento Del Problema

La actividad proteolítica bacteriana ha sido objeto de numerosos estudios en diversos entornos, abarcando desde desechos de pescado hasta otros organismos acuáticos, sedimentos y diferentes tipos de industrias que generan proteínas como subproducto. Sin embargo, es importante destacar que la actividad proteolítica bacteriana en ambientes acuáticos ha recibido menos atención en comparación con otros entornos.

La mayoría de las investigaciones existentes se han centrado en la actividad proteolítica bacteriana en aguas superficiales, generalmente relacionándola con un tipo específico de contaminante. Ejemplo de ello son las investigaciones realizadas por Castro et al. (2012), Sánchez et al. (2004) y Vázquez et al. (2008)

Por otro lado, se han llevado a cabo pocos estudios que se centren en la actividad proteolítica bacteriana en los sedimentos marinos, y únicamente se han identificado dos investigaciones relevantes sobre este tema, llevadas a cabo por Li et al. (2017) Prihanto et al. (2020).

Sin embargo, existe una carencia notable de investigaciones que aborden su atención en la obtención de muestras de sedimentos costeros y en el análisis correspondiente de la secreción de enzimas proteolíticas por parte de las bacterias en estos sedimentos. Este aspecto es de gran importancia ya que la ubicación geográfica de las muestras puede influir en la presencia, abundancia o actividad enzimática de estas bacterias y en su interacción con el entorno.

Además, es crucial adquirir un mayor entendimiento sobre como las variaciones estacionales y climáticas afectan a estos microorganismos, así como comprender su respuesta a las perturbaciones de origen humano que ocurren en su entorno.

Es imperativo abordar este vacío en la investigación para obtener una comprensión más completa de la actividad proteolítica bacteriana en los ecosistemas acuáticos. Esto nos permitirá evaluar su importancia ecológica, entender su papel en los ciclos biogeoquímicos y desarrollar estrategias de gestión y conservación efectivas para

mantener la salud y la sostenibilidad de los ambientes acuáticos.

### **4.3 Pregunta De Investigación**

¿Cuál es la variación de la actividad proteolítica bacteriana por las diferentes actividades antropogénicas, con respecto al tiempo y el espacio en la región costera central de Veracruz?

### **4.4 Delimitación del problema**

Esta investigación se centra en el aspecto ambiental y busca determinar si existe una variación en la abundancia de colonias de bacterias con actividad proteolítica, así como si presentan una variación en el Índice Enzimático con respecto a las diferentes temporadas y sitios de muestreo.

Las muestras fueron recolectadas en la zona central del Estado de Veracruz, con su posterior procesamiento en las instalaciones del Tecnológico de Boca del Río. El trabajo experimental se llevó a cabo en el Laboratorio de Investigación en Recursos Acuáticos (LIRA). Cabe destacar que parte del financiamiento de esta investigación provino de otro proyecto titulado “Índice bacteriano y de potencial biotecnológico para medir el grado de contaminación por hidrocarburos en la zona intermareal de playas arenosas en la zona metropolitana de Veracruz”.

## 5. JUSTIFICACIÓN

Las actividades antropogénicas, como la pesca, la urbanización y la descarga de desechos industriales, tienen un impacto significativo en la introducción de residuos orgánicos en el medio marino. Estos residuos, contribuyen con el ingreso de proteínas al medio marino, generando caldos de cultivos enriquecidos con compuestos nitrogenados, creando condiciones propicias para el florecimiento de bacterias proteolíticas (Castro et al., 2012). Los estudios realizados sobre este tipo de bacterias se encuentran centrados en su aislamiento y su caracterización (Cornejo et al., 2021; Hamdani et al., 2019; Tennalli et al., 2012), omitiendo la variación de la actividad proteolítica bacteriana que se da por distintos factores espaciales y temporales. Por lo cual se propone un análisis de esta actividad enfocado en la procedencia de las muestras y como estas se ven afectadas por los cambios debido a las actividades antropogénicas que se llevan a cabo a su alrededor y a las modificaciones físicoquímicas del clima. Lo cual aportara una visión más clara del papel que desempeñan las bacterias en el medio ambiente y que sigue siendo desconocidas dentro de las comunidades marinas (Li et al., 2017). Además de ser consideradas como posibles bioindicadores de la degradación de la calidad de agua por parte de los efluentes antropogénicos, otorgando información sobre el grado de contaminación ambiental. Asimismo, podrían ser utilizadas como agentes remediadores en estos ambientes, contribuyendo así no solo a ampliar nuestra comprensión de la dinámica bacteriana en entornos marinos afectados por la actividad humana, sino también al desarrollo de nuevas estrategias y técnicas de conservación para estos ecosistemas marinos

## **6. HIPÓTESIS**

### **6.1 General**

La contaminación por las diferentes actividades antropogénicas en la región costera central de Veracruz genera una variación en la actividad proteolítica bacteriana debido a las diversas características en los sitios de muestreo y temporadas climáticas, siendo mayor en sitios con actividad pesquera y en temporada de lluvia por la aportación y retención de fuentes nitrogenadas provenientes de la zona epicontinental.

### **6.2 Particulares**

- Los distintos sitios de muestreo poseen diversas características, las cuales modifican los efluentes provocados por las actividades antropogénicas que se reflejara en la abundancia y en la producción de proteasas provenientes de bacterias con actividad proteolitica.
- El efecto de las distintas temporadas sobre la actividad proteolítica bacteriana se verá influenciado por los cambios ambientales que se presentan en cada temporada (lluvias, nortes y estiaje).
- Existe una correlación entra la actividad proteolítica bacteriana y el porcentaje de Materia orgánica presente en el sedimento.

## **7. OBJETIVOS**

### **7.1 General**

Determinar la variación espacio-temporal de la actividad proteolítica bacteriana en muestras de sedimentos que se encuentran asociados a diferentes actividades antropogénicas de la región costera central de Veracruz.

### **7.2 Particulares**

- Identificar y caracterizar cada uno de los sitios de muestreo que se encuentran asociados a diferentes actividades antropogénicas
- Determinar si la actividad proteolítica bacteriana, que ayudan a la degradación de residuos orgánicos provenientes de diferentes actividades antropogénicas.
- Establecer el efecto que poseen los sitios de muestreo, las mareas y las temporadas con respecto a la actividad proteolítica bacteriana.
- Comprobar si existe relación entre la actividad proteolítica bacteriana y la Materia orgánica en sedimento.

## 8. MATERIALES Y MÉTODOS

Durante la investigación, se realizaron muestreos en tres periodos climáticos distintos que abarcaron fechas de lluvias (22 de septiembre de 2022), nortes (17 de noviembre de 2022) y estiaje (18 de abril de 2023).

### 8.1 Primera Etapa Observacional.

En el estudio, se llevó a cabo una caracterización detallada de cada uno de los puntos de muestreo con el objetivo de observar y comprender la magnitud del impacto antropogénico en la zona costera central de Veracruz. Se reconoce que estas actividades humanas pueden tener repercusiones en la microbiota bacteriana presente en el área.

#### 8.1.1 Área de Estudio.

El área de estudio se compone de cinco playas ubicadas en la zona central de Veracruz, distribuidas en los municipios de Veracruz, Boca del Río y Alvarado. A continuación, se detallan las coordenadas geográficas de cada playa, en orden de sur a norte:

- 1) Antón Lizardo (19° 03' 26.23" N 96° 00' 25.52" O)
- 2) Boca del Río (19° 05' 59.85" N 96° 06' 19.09" O)
- 3) Mocambo (19° 08' 02.78" N 96° 06' 05.62" O)
- 4) Villa del Mar (19° 11' 05.41" N 96° 07' 25.87" O)
- 5) Antepuerto (19° 11' 51.30" N 96° 07' 46.15" O)

Además de estas playas, se seleccionó una sexta muestra en la playa Farallón, ubicada en el norte del estado de Veracruz, en el Municipio de Actopan. Las coordenadas geográficas de la playa Farallón son:

- 6) Farallón (19° 38' 30.68" N 96° 23' 37.41" O)

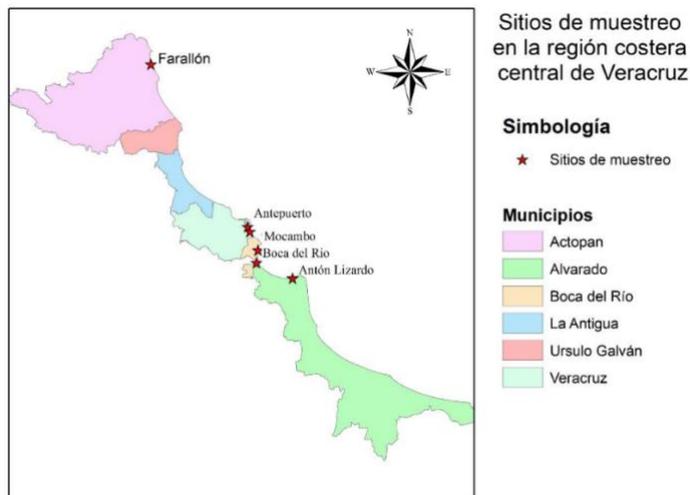


Figura 6 Ubicación de los sitios de muestreo en la Región Costera Central de Veracruz,  
Fuente propia.

Se realizó una descripción detallada de cada punto de muestreo, documentando las actividades antropogénicas presentes en cada sitio. Se recopilaron fotografías y se tomaron notas para complementar la información obtenida. Además, se realizaron investigaciones bibliográficas para obtener descripciones de las principales actividades económicas y la geomorfología de cada una de las playas en el momento del estudio.

La documentación de las actividades antropogénicas incluyó aspectos como la presencia de infraestructuras turísticas, como hoteles, restaurantes y zonas comerciales, así como actividades pesqueras, recreativas y de transporte marítimo. Se registraron también posibles fuentes de contaminación, como vertidos de aguas residuales, y se analizó el impacto de las actividades humanas en la zona costera.

### 8.1.2 Recolección de muestras.

Para llevar a cabo la recolección de muestras de sedimento en cada una de las playas, se siguió el siguiente procedimiento:

Se llevó a cabo la determinación de la localización de la marea alta y baja en cada playa, estableciendo los puntos de muestreo correspondientes. Para la recolección de sedimentos costeros y la obtención de bacterias proteolíticas, se emplearon guantes de nitrilo y jeringas

veterinarias de 60 ml. Este proceso se realizó en cada punto de muestreo, tomando muestras duplicadas tanto en altamar como en bajamar.

La inserción de la jeringa en el suelo fue vertical y constante, se llevó a cabo con una velocidad lenta y uniforme. Posteriormente, la jeringa fue extraída suavemente, girándola continuamente para recuperar la mayor cantidad posible de muestra. Cada muestra recolectada se depositó en bolsas estériles específicas para muestreo microbiológico, concretamente en bolsas Nasco Whirlpack de 100 ml.

Cada bolsa fue etiquetada de manera adecuada y colocada en frascos de plástico de boca ancha de 1000 ml para facilitar su transporte. Con el objetivo de preservar la integridad de las muestras durante el transporte, se almacenaron en hieleras a una temperatura de 4°C. Posteriormente, las muestras fueron trasladadas al Instituto Tecnológico de Boca del Río, específicamente al Laboratorio de Investigación de Recursos Acuáticos, sección de Microbiología.

Durante el proceso de recolección de muestras, se registraron datos relevantes de temperatura y pH en cada punto de muestreo para contextualizar los resultados obtenidos.

Este procedimiento asegura una adecuada recolección de las muestras de sedimento, permitiendo su posterior análisis en el laboratorio.

## **8.2 Segunda Etapa Investigación Experimental**

### **8.2.1 Procesamiento Físico-Químico**

Parte de las muestras fueron procesadas para Conductividad Absoluta y Materia Orgánica.

Conductividad:

Se procedió a la preparación de una mezcla, consistente en una parte de sedimento por tres partes de agua destilada. La mezcla fue agitada vigorosamente para asegurar una distribución homogénea de los componentes. La medición de la conductividad de la solución resultante se llevó a cabo utilizando un medidor multiparamétrico HANNA HI98195 PH/ORP.

Es importante señalar que, debido a la naturaleza del suelo arenoso y costero, no se realizó un proceso de filtración del agua. En cambio, se permitió que la muestra sedimentara antes de llevar a cabo la medición. Este enfoque se adoptó para adaptarse a las características

específicas del suelo, garantizando así resultados representativos y precisos en el análisis de la conductividad de la solución.



Figura 7 Sonda Multiparametrica  
HANNA HI98195 PH/ORP

Materia Orgánica:

Para determinar la cantidad de materia orgánica en el sedimento, se utilizó el Método de Walkey y Black, el cual se basa en la oxidación del carbono orgánico mediante una solución de dicromato de potasio y ácido sulfúrico concentrado. A continuación, se describe el procedimiento seguido:

Se seleccionó una cantidad precisa de 0.5 gramos de sedimento, que previamente había sido secado y tamizado con un tamiz de 0.5 mm para garantizar homogeneidad. Estos sedimentos se distribuyeron en matraces Erlenmeyer de 500 ml, duplicando las muestras, y se procesó un blanco como referencia.

A cada muestra se le añadieron 10 ml de dicromato de potasio al 1N, asegurándose de que el líquido entrara en contacto con todo el suelo mediante un suave giro del matraz. Posteriormente, se incorporaron 20 ml de ácido sulfúrico concentrado a la suspensión mediante una pipeta, girando nuevamente el matraz durante un minuto.

La mezcla resultante se dejó reposar durante aproximadamente media hora en una superficie no conductora de calor. Luego, se adicionaron 200 ml de agua destilada a cada matraz mediante una probeta, seguido por la adición de 5 ml de ácido fosfórico concentrado utilizando una pipeta.

Finalmente, para concluir la preparación de las muestras, se incorporaron entre 5 y 10 gotas de un indicador de difenilamina. El siguiente paso consistió en titular la solución con sulfato ferroso amoniacal al 1N, observando el cambio de color de marrón a verde oscuro como indicador del final del proceso.

Este procedimiento permitió determinar la cantidad de materia orgánica presente en las muestras de sedimento. Se utilizó un factor de corrección específico para suelos mexicanos (factor 1.298), ya que este método detecta aproximadamente entre el 70% y el 84% del carbono orgánico total (Janitzky., 1986). La titulación con sulfato ferroso amoniacal permitió obtener resultados cuantitativos al observar el cambio de color en la solución.

Se utilizaron los siguientes cálculos.

Porcentaje de carbono orgánico

$$\% \text{ C orgánico} = \left( \frac{V_{\text{Blanco}} - V_{\text{muestra}}}{G_{\text{Muestra}}} \right) (N)(0.39) mfc$$

Donde:

$V_{\text{Blanco}}$  = Es el volumen del sulfato ferroso amoniacal gastado en la valoración del blanco.

$V_{\text{muestra}}$  = Es el volumen del sulfato ferroso amoniacal gastado en cada una de las muestras.

$G_{\text{Muestra}}$  = Es el peso de la muestra empleada en gr.

( $N$ ) = Es la normalidad exacta del sulfato ferrosos amoniacal.

$mfc$  = Es el factor de corrección por humedad.

Porcentaje de materia orgánica

$$\% \text{ Materia Organica} = (\% \text{ C orgánico})(1.724)$$

### 8.2.3 Procesamiento Biológico

Para el procesamiento biológico de las muestras recolectadas se siguieron los siguientes pasos:

En el área de Microbiología del Laboratorio de Investigación de Recursos Acuáticos del Instituto Tecnológico de Boca del Río, se llevó a cabo el procesamiento de las muestras. Se emplearon las metodologías descritas por Castro et al. (2012); Li et al. (2017) y Sánchez et al. (2004) para la determinación y obtención de cepas proteolíticas a partir de sedimentos marinos.

El procedimiento biológico se realizó íntegramente en una campana de flujo laminar, garantizando un entorno controlado y libre de contaminantes. La asepsia se mantuvo rigurosamente mediante la utilización de un mechero, contribuyendo así a prevenir la contaminación cruzada durante todo el proceso.



Figura 8 Instalaciones del Laboratorio de Investigación de Recursos Acuáticos previo al procesamiento biológico.

Dilución seriada.

Las muestras recolectadas se sometieron a un proceso de dilución seriada al décimo (10-1, 10-2, 10-3). Para llevar a cabo este procedimiento, se empleó agua de mar filtrada mediante un tamiz de 0.24 micras, que fue esterilizada y purificada mediante luz ultravioleta durante 30 minutos.

Basándose en las muestras de sedimentos marinos recolectadas, se tomó 1 gramo de peso húmedo de cada muestra. Posteriormente, se preparó una serie de tubos de ensayo numerados de acuerdo con la dilución a realizar (10-1, 10-2, 10-3).

En el primer tubo de ensayo, se añadieron 9 ml de agua de mar filtrada y estéril, constituyendo la "dilución inicial". Se procedió a mezclar adecuadamente la muestra en el tubo para lograr una homogeneización.

A continuación, se tomó 1 ml de la dilución inicial y se transfirió al segundo tubo de ensayo, al cual se le añadieron 9 ml adicionales de agua de mar filtrada y estéril. Este proceso se

repitió con el tercer tubo de ensayo, obteniendo así una dilución de 100 veces con respecto a la muestra original, como se muestra en la Figura 9.

Una vez completada la preparación de todas las diluciones, se homogeneizó cada tubo de ensayo para garantizar una distribución uniforme de los microorganismos presentes en cada muestra diluida.

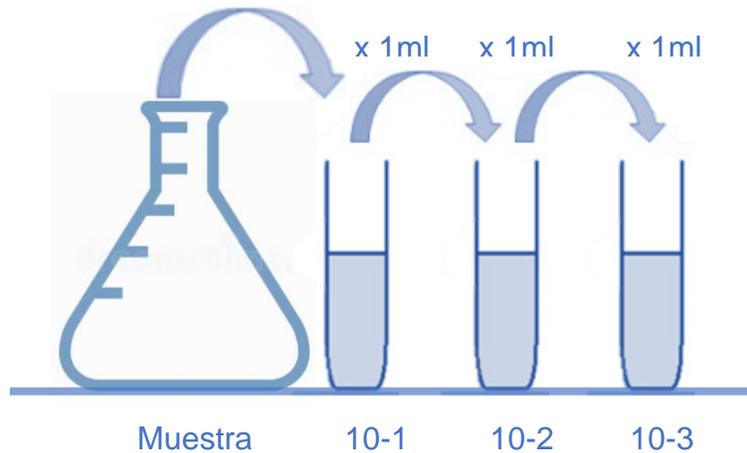


Figura 9 Esquema de diluciones seriadas.

Aislamiento y recuento de bacterias marinas.

El procedimiento de aislamiento y recuento de bacterias marinas se llevó a cabo de la siguiente forma:

Se tomaron alícuotas de 0.1 ml de la dilución 10-3, que contiene las bacterias presentes en la muestra de sedimento marino. Estas alícuotas se sembraron en placas de Petri estériles que contenían agar R-2A suplementado con 5% de caseína y 3% de cloruro de sodio, a un pH de 7. Las placas se incubaron a una temperatura de 35°C durante 48 horas. Durante este tiempo, las bacterias presentes en la muestra crecieron y formaron colonias visibles en el agar.

Tras el período de incubación, se procedió a realizar un conteo meticuloso de las colonias bacterianas formadas en el agar. Este procedimiento permitió determinar con precisión el número total de colonias bacterianas presentes en la muestra analizada.

Es importante destacar que se utilizó agar R-2A (Sigma-Aldrich Lot: BCCB0054) como medio de cultivo. Este medio ha sido desarrollado específicamente para el estudio de bacterias

presentes en agua potable. Contiene caseína como fuente de hidrógeno y carbono, cloruro de sodio para mantener la presión osmótica, y otros componentes como glucosa, piruvato, almidón, sulfato magnésico y fosfato potásico que favorecen el crecimiento de las bacterias y su recuperación.

Los reactivos utilizados, como la peptona de caseína (BD Bioxon) y el cloruro de sodio (A y t lote:290909), cumplieron con las características necesarias para el crecimiento y desarrollo de las bacterias, así como para la detección de enzimas proteolíticas extracelulares.



Figura 10 Selección de posibles cepas con actividad proteolítica

Selección de posibles cepas proteolíticas y la purificación:

Después de observar la formación de halos transparentes alrededor de las colonias que indican posible actividad proteolítica, se tomaron alícuotas de los cultivos bacterianos.

Con un asa bacteriológica estéril, se procedió a realizar la primera estría en la placa de agar R-2A suplementado con 5% de caseína, cloruro de sodio al 3%, y a un pH de 7. Para esterilizar el asa microbiológica, se calentó en la llama de un mechero hasta que estuvo al rojo vivo. Posteriormente, se permitió que el asa se enfriara durante unos segundos tocando ligeramente la superficie del agar no inoculado en un área alejada de las colonias.

Luego, se llevó a cabo la segunda estría perpendicular a la primera, creando una estría cruzada. Entre la formación de cada estría, se esterilizó nuevamente el asa microbiológica repitiendo los pasos de calentamiento y enfriamiento. Además, se realizó un arrastre de bacterias de una estría a otra para disminuir la carga bacteriana.

Cada placa de Petri con sus estrías cruzadas se incubó nuevamente a 35°C durante 48 a 72 horas para permitir el crecimiento de las bacterias.



Figura 11 Colonias bacterianas con y sin actividad proteolítica: izquierda colonia que no presenta actividad proteolítica, derecha colonia con alta actividad proteolítica.

#### Evaluación de la Actividad Proteolítica:

Se sembró cada posible cepa proteolítica en agar R2A suplementado con 5% de caseína y 3% de cloruro de sodio, a un pH de 7, utilizando palillos de madera esterilizados para realizar micropuntos en cajas de Petri divididas en 4.

Se realizaron mediciones del crecimiento de cada cepa y de la formación de halos transparentes alrededor de las colonias durante un período de 5 días, tomando medidas cada 24 horas.

La capacidad hidrolítica se evaluó mediante la formación de halos transparentes alrededor de las colonias. Estos halos fueron medidos durante los cinco días de observación.

Para estimar la actividad proteolítica, se utilizó el índice enzimático (IE), que correlaciona el diámetro de los halos formados por la hidrólisis ( $D_h$ ) con el diámetro de la colonia ( $D_c$ ). La fórmula para calcular el IE es:

$$IE = \frac{D_h}{D_c} \text{ (Rodas y Botello, 2016)}$$

Según el criterio establecido por Lealem y Gashe (1994), se consideraron microorganismos con una eficiente producción de enzimas extracelulares aquellos con un  $IE \geq 2,0$ .

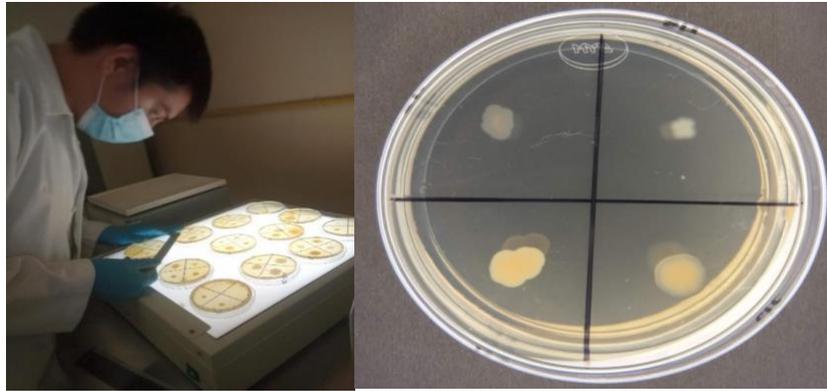


Figura 12 Medición de los halos transparentes formados por acción de las proteasas.

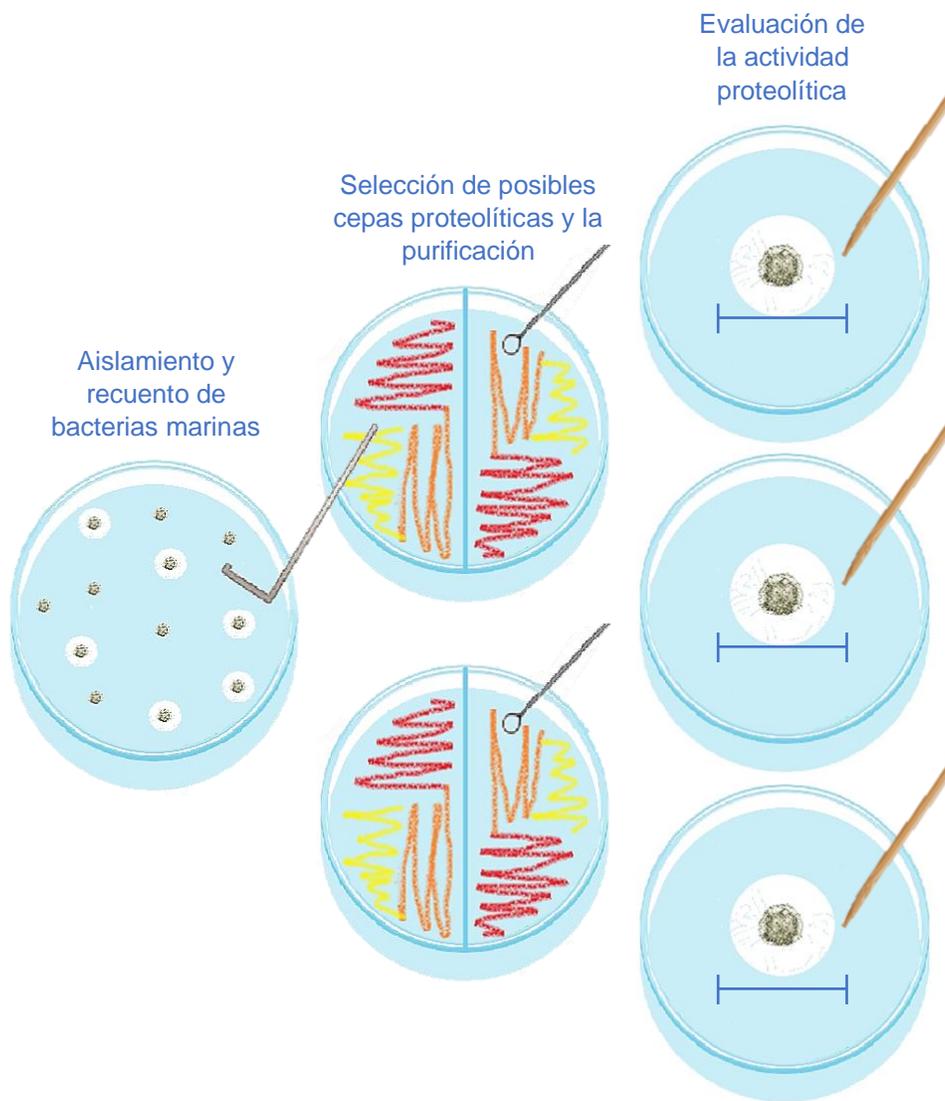


Figura 13 Esquema del procesamiento biológico.

### **8.3 Tercera Etapa Investigación explicativa**

En la tercera etapa de la investigación explicativa, se realizó un análisis estadístico para comparar las varianzas entre las medias de los diferentes grupos obtenidos. A continuación, se describen los pasos que se llevaron a cabo:

Prueba de normalidad y homogeneidad:

Se llevó a cabo una prueba de normalidad (Levene) para verificar si los datos seguían una distribución normal. Los resultados de estas pruebas determinaron si se debía realizar un análisis paramétrico o no paramétrico.

Análisis de Varianza (ANOVA):

En caso de que los datos siguieran una distribución normal y las varianzas fueran homogéneas, se llevó a cabo un ANOVA para comparar las medias de los diferentes grupos. Esta prueba permitió determinar si existían diferencias significativas entre las muestras.

Prueba de Kruskal-Wallis:

Cuando los datos no seguían una distribución normal o las varianzas no eran homogéneas, se optó por realizar una prueba de Kruskal-Wallis, una prueba no paramétrica similar al ANOVA. Esta prueba también posibilitó la comparación de medias entre los grupos y la identificación de diferencias significativas.

Interpretación de los resultados:

En caso de que la hipótesis nula fuera confirmada en las pruebas (indicando que no existían diferencias significativas), se concluyó que no había diferencias estadísticamente significativas entre las muestras. En cambio, si la hipótesis nula fue rechazada (indicando diferencias significativas), se procedió a realizar pruebas de correlación para determinar qué grupos eran diferentes y cuáles eran iguales. La elección del estadístico de correlación dependió de si los datos mostraban o no normalidad.

Pruebas de Correlación:

Posteriormente, se realizaron pruebas de correlación para explorar relaciones específicas en los datos. Se llevaron a cabo dos análisis de correlación:

Una correlación entre los niveles de materia orgánica y la abundancia de cepas proteolíticas, con el fin de evaluar si existe una relación entre la cantidad de materia orgánica en el ambiente y la presencia de bacterias con actividad proteolítica.

Otra correlación entre los niveles de materia orgánica y el índice enzimático para analizar si la materia orgánica está relacionada con la actividad enzimática en el ecosistema acuático.

## 9. RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 9.1 Descripción de los puntos de muestreo.

Las playas donde se obtuvieron las muestras se encuentran en el corredor turístico Veracruz-Boca del Río, a excepción de Farallón, que corresponde a una playa preservada del municipio de Actopan, y Antón Lizardo, ubicada en el municipio de Alvarado. Los demás puntos se encuentran en la delimitación de la zona central de Veracruz, en donde de acuerdo con Lango-Reynoso et al. (2019) se ha observado que las características originales de estas playas han sido alteradas debido a la urbanización y a su promoción como destino turístico.

Se han identificado diversas actividades antropogénicas que han tenido lugar a lo largo de la Costa Central de Veracruz, y su impacto en la calidad ecológica del litoral ha sido documentado por García-Salgado (2005). El Cuadro 2 presenta estos impactos, mostrando cómo han deteriorado la calidad del ambiente costero.

Cuadro 2. Evaluación de impactos ambientales en las diferentes ciudades costeras del Centro de Veracruz.

Ciudad	Pesca y Acuicultura	Agricultura	Industria	Turismo y Recreación	Puertos	Desarrollo Urbano	Presencia de Basura	Destrucción del Hábitad	Descarga de Aguas Residuales	Moda
Veracruz	2	0	3	3	5	4	4	2	5	2
Boca del Río	3	0	0	4	0	2	3	4	4	4
Antón Lizardo	3	1	0	1	1	1	4	1	3	1

Escala de los impactos 0 = Sin presencia 1 = Ligero 2 = Moderado 3 = Intenso 4 = Severo 5 = Extremo

#### 9.1.1 Playa Farallón

La playa de Farallón se encuentra ubicada en el municipio de Actopan, en la Costa de Veracruz, es una playa que se destaca por su belleza natural y su condición de playa preservada.

Posee una extensa franja de arena, seguida por guijarros y rocas que se encuentran en constante movimiento por las corrientes y el oleaje. Su entorno está rodeado de vegetación costera y cuenta con una gran diversidad de flora y fauna. Se considera a Farallón una playa preservada debido a que su estado de conservación se encuentra relativamente intacto y tiene una falta de desarrollo humano a gran escala. A diferencia de otras playas de la zona que han experimentado modificaciones por el ser humano.

Esta condición preservada se debe principalmente a su ubicación remota, su acceso limitado y que presenta una profundidad considerable cerca de la línea de costa. La playa no cuenta con mucha infraestructura turística ni con una gran afluencia de visitantes, lo que ha permitido preservar su ecosistema y mantener su aspecto natural.

La elección de esta playa como blanco en esta investigación se debió a su condición de playa preservada y a su falta de exposición de fuentes conocidas de contaminación. Al seleccionarla se busca establecer una referencia base para comparar la abundancia y calidad de las enzimas proteolíticas generadas por bacterias en el sedimento, en contraste con los otros sitios de muestreo en donde se sospecha que están afectados por contaminación antropogénica.

Dado que no hay una presencia significativa de actividades humanas en su playa, se espera que los niveles de bacterias con actividad proteolítica sean mínimos. Esto proporciona una base de comparación para evaluar la calidad del sedimento costero en las otras playas que sí están expuestas a diferentes fuentes de contaminación orgánica, como descargas de aguas residuales, desechos de pesca, actividades recreativas o flujo de aguas pluviales contaminadas.



Figura 14 Playa preservada de Farallón.

### 9.1.2 Playa de Antepuerto

La playa de Antepuerto se encuentra ubicada en la zona central de Veracruz, se ubica en la zona urbana y es una de las áreas costeras más importantes de la región debido a su ubicación estratégica dentro del puerto de Veracruz, siendo este uno de los puertos más importantes del país.

La playa está caracterizada por un ambiente animado y concurrido, es un punto de encuentro popular tanto para turistas como para residentes, especialmente durante las temporadas vacacionales y fines de semana. Se puede encontrar una gran variedad de servicios y facilidades en sus alrededores, como restaurantes, bares, hoteles y áreas de descanso.

Es importante destacar que, debido a su ubicación, la playa del antepuerto está sujeta a ciertos impactos ambientales relacionados con la actividad portuaria, como la presencia de sedimentos, la alteración de las corrientes marinas y la presencia de desechos sólidos. También uno de los principales problemas de contaminación en esta playa es la descarga de aguas residuales provenientes de las áreas urbanas que han generado un aumento considerable en su volumen dado por el crecimiento urbano y la alta densidad poblacional.

Por otro lado Lango-Reynoso et al. (2019) mencionan que en Antepuerto de Veracruz se han producido modificaciones en el transporte de arenas a lo largo de la costa. Esta

zona es históricamente una de las ciudades más antiguas de América y con la llegada de los españoles, fue también una de las primeras en modificar su línea de costa. Como resultado el mayor impacto antropogénico actual en esta área se atribuye a las zonas portuarias y la descarga de aguas residuales.

En relación con la sensibilidad a la contaminación, Schlacher et al. (2008) señalan que las playas protegidas suelen ser más sensibles a la contaminación en comparación con aquellas que están expuestas. Esto se debe a que las playas protegidas, al estar resguardadas de las corrientes y el oleaje, tienen menor capacidad de dilución y dispersión de los contaminantes, lo que aumenta su vulnerabilidad a los impactos negativos.



Figura 15 Vista del Puerto de Veracruz.

### **9.1.3 Playa de Villa del Mar**

La playa de Villa del Mar también está situada en la zona urbana, por lo que goza de una gran afluencia del turismo debido a su ubicación privilegiada. Es común encontrar en esta playa palapas, comercios, lanchas y una gran cantidad de visitantes disfrutando de sus servicios e instalaciones. Se encuentra enclavada entre dos escolleras de rocas, lo que alteran el movimiento de sedimentos y se observa un gradiente de usos y actividades recreativas que disminuye a medida que se avanza hacia el sur (Pérez, 2012; Sánchez Domínguez, 2015).

El turismo en la playa de Villa del Mar es una parte fundamental de su dinámica, ya que cuenta con una amplia de actividades y servicios para los visitantes. A lo largo de la

playa, se pueden encontrar hoteles, resorts, restaurantes, bares y tiendas. Además de ofrecer diversas actividades recreativas.

La presencia de bañistas y turistas en la playa pueden dar lugar a la deposición de desechos humanos, como orina y heces, que contienen proteínas provenientes de la actividad metabólica del cuerpo humano, además el consumo de alimentos en la playa genera residuos, como restos de comida, envases de alimentos y utensilios de cocina desechables, que contienen proteínas provenientes de los alimentos consumidos.

Siendo esta una de las playas más antiguas y concurridas de la zona, se han registrado casos de contaminación bacteriana de origen entérico (Garduño, 2000). Esto se atribuye a la presencia de actividades humanas intensivas, como el turismo y la urbanización, que contribuyen a la introducción de contaminantes al medio ambiente costero.

Además, se ha investigado que la presencia de las escolleras tiene un impacto en las variables ambientales que afectan las actividades turísticas y la composición y diversidad de este entorno, tienen a tener un doble efecto: el de erosión por una parte y la acreción o aumento de sedimento por otra (Valadez Rocha, 2013). Es probable que la alteración de los procesos naturales, como el flujo de sedimentos y la dinámica de las corrientes, influya en la calidad y la salud del ecosistema costero de Villa del Mar.



Figura 16 Playa de Villa del Mar en temporada de turismo.

#### 9.1.4 Playa de Mocambo

La playa de Mocambo posee poca pendiente y se ubica entre dos espigones, por lo que la corriente litoral es paralela a la línea de costa (Sánchez Domínguez, 2015). Esta no colinda directamente con la zona urbana, aunque se encuentra muy cerca de un parque acuático.

Esta playa posee una gran cantidad de puestos de comida que se encuentran a lo largo de la costa en comparación con los otros sitios de muestreo. Estos puestos ofrecen una variedad de alimentos y bebidas, sin embargo, esta concentración de puestos de comida puede tener un impacto en la calidad del agua y los sedimentos de la playa.

Los desechos generados por los puestos de comida, como restos de comida contribuyen al aumento de proteínas en la playa. Estos desechos pueden ser arrastrados por el viento o las corrientes hacia el agua y los sedimentos costeros, lo que potencialmente afecta la calidad ecológica de la playa.

Valadez Rocha (2013) ha reportado la presencia de Enterococos por encima del límite máximo permitido, reportándose una mayor cantidad de estos en la época de estiaje.



Figura 17 Playa de Mocambo en temporada de estiaje.

#### 9.1.5 Playa de Boca del Rio

Esta playa se encuentra en la desembocadura del Rio Jamapa, la cual ha experimentado modificaciones debido a la construcción de escolleras para la conservación de la playa Santa Ana, alterando el movimiento natural del sedimento, reteniéndolo y erosionando las áreas (Lango-Reynoso et al., 2019).

En esta zona litoral, se puede observar un desarrollo significativo de infraestructura urbana, turística y cultural. Sin embargo, este desarrollo ha generado impactos antropogénicos, especialmente asociados al turismo y la descarga de aguas residuales, así como la destrucción del hábitat (Ortiz-Lozano et al., 2015)

El Río Jamapa es parte integral de la playa recibiendo un gran aporte de sedimentos epicontinentales provenientes de sistemas fluviales cercanos. Esta entrada de agua tiene un impacto en la composición y características del entorno costero, como lo son nutrientes, provenientes de aguas residuales tratadas como no tratadas. Los compuestos nitrogenados y fosfatados son algunos de los principales contaminantes del agua en esta área. Estos nutrientes están fuertemente influenciados por el régimen pluvial, con las mayores descargas ocurriendo entre julio y octubre (Aké-Castillo et al., 2014).

La combinación de la desembocadura del Río Jamapa, el desarrollo urbano y turístico, la presencia de pesca y la descarga de aguas residuales, generan un impacto significativo en la calidad del agua y de los sedimentos en esta playa.

Es relevante señalar que el sedimento de esta playa se ve significativamente influenciado por las estaciones climáticas. Durante los períodos de lluvias, la playa experimenta una reducción drástica en su tamaño, llegando a ser de tan solo uno a dos metros, mientras que, en la estación de estiaje, se amplía considerablemente a más de 10 metros.



Figura 18 Playa de Boca del Rio, en dos temporadas climáticas diferentes, estiaje derecha y lluvias izquierda.

### 9.1.6 Antón Lizardo

La playa de Antón Lizardo posee un ambiente más tranquilo y menos concurrido. Esto se debe en parte a la limitada infraestructura turística en la zona, también tiene una estrecha relación con la actividad pesquera. Los pescadores locales utilizan estas aguas para capturar una variedad de especies marinas,

La Playa de Antón Lizardo se ubica en el pueblo del mismo nombre. Aunque experimenta una alta afluencia turística en ciertas épocas del año, la mayor parte del tiempo permanece relativamente tranquila, con poca afluencia de visitantes. Uno de sus rasgos distintivos es la presencia de numerosas embarcaciones que descansan en la arena. Estas embarcaciones a menudo son reconocidas por la variedad de artes de pesca que llevan a bordo.

El arroyo Gioté se ubica en las proximidades de la playa de Antón Lizardo, este arroyo no es tan prominente como otros cuerpos de agua en la región, pero su presencia puede tener un impacto significativo en la dinámica de la playa y en la vida marina circundante.

Durante la temporada de lluvias, la playa se llena de residuos y materiales arrastrados por los ríos, incluyendo madera y basura, que son depositados en la playa. El aumento del agua en el arroyo Gioté durante este período conduce a una conexión más intensa con el mar, lo que contribuye a la interacción con la playa.



Figura 19 Playa de Antón Lizardo durante la temporada de lluvias. En la foto de la izquierda, se puede observar el arroyo Giotte en el fondo.

## 9.2 Sedimento

Se decidió tomar muestras únicamente del sedimento y no de la columna de agua debido a varias razones. En primer lugar, se ha observado que las mayores concentraciones de bacterias se encuentran en el sustrato, es decir, en el sedimento. Esto se debe a que las bacterias tienen una mayor capacidad de adherirse al sedimento, lo que les proporciona resguardo contra condiciones ambientales adversas y la depredación por parte de otros organismos.

Además, el sedimento ofrece a las bacterias una mayor disponibilidad de alimento en comparación con la columna de agua. Al acumularse en el sedimento, se forma una capa de material orgánico en descomposición que sirve como fuente de nutrientes para las bacterias. Esto les proporciona una mayor cantidad de alimento y favorece su crecimiento y actividad metabólica.

Botello et al. (2005) respaldan esta idea al señalar que las bacterias presentes en el sedimento exhiben una mayor concentración y diversidad, debido a que obtienen resguardo de las condiciones ambientales adversas y a la depredación.

### 9.3 Materia Orgánica

Como se puede apreciar en la Figura 20 se registraron porcentajes promedio de materia orgánica en sedimentos. En Farallón los porcentajes variaron entre 0.37% y 0.15%, en Antepuerto se encontraron valores de 0.30% y 0.06%, Villa del Mar mostro valores de 0.29% y 0.9% de y finalmente Mocambo obtuvo valores 0.49% y 0.08%. En todas estas playas se observó que el mayor contenido de materia orgánica se registró durante la temporada de nortes, mientras que la menor cantidad se presentó en la temporada de estiaje. La temporada de lluvias se encontró en un punto intermedio entre estas dos temporadas. Estos porcentajes de materia orgánica por debajo de 0.5% coinciden con los reportados por González (2002) en zonas intermareales para la zona del alto Golfo de California presente en playas arenosas.

Los porcentajes promedio de materia orgánica para las playas de Boca del Río y Antón Lizardo se distribuyen de la siguiente manera: Boca del Río registra un 0.27% en la temporada de lluvias y un 0.20% en la temporada de estiaje. Por su parte, Antón Lizardo presenta un 0.32% en la temporada de lluvias y un 0.08% en la temporada de estiaje. Esta variación está relacionada con la ubicación geográfica de estas playas, ya que se encuentran en la zona sur de los puntos de muestreo e interaccionan con fuentes pluviales.

Durante la temporada de lluvias en estas playas, se produce un aumento marcado en la cantidad de materia orgánica. Esto se debe a la interacción de estas playas con fuentes fluviales epicontinentales, como el Río Jamapa para Boca del Río y el Arroyo Giotte para Antón Lizardo. Estas fuentes fluviales transportan una mayor cantidad de materia orgánica e inorgánica que se acumula en el sedimento, lo que provoca el incremento durante la temporada de lluvias (Bueno Zamora, 1978)

Por otro lado, en las demás temporadas, la cantidad de materia orgánica tiende a ser más constante en el caso de Boca del Río. Mientras que en Antón Lizardo la interacción con un arroyo intermitente, da un aumento de materia orgánica que solo se refleja durante la temporada de lluvias y disminuye en las demás estaciones, similar a lo observado en las otras playas en temporada de estiaje.

Este fenómeno destaca la influencia significativa de las condiciones climáticas y la

interacción con las fuentes fluviales en la composición de la materia orgánica en los sedimentos costeros de estas playas. Además, dado que se trata de zonas intermareales o de transición, también entran en juego otros factores importantes, como la composición del sedimento (tamaño de grano, forma, composición mineralógica) y las fuerzas físicas a las que están expuestos (mareas, oleajes y corrientes). Asimismo, las áreas expuestas a la atmósfera también desempeñan un papel crucial, ya que están sujetas a influencias del aire (Carranza-Edwards, 1994)

### Porcentaje de Materia Orgánica en Sedimento Costero

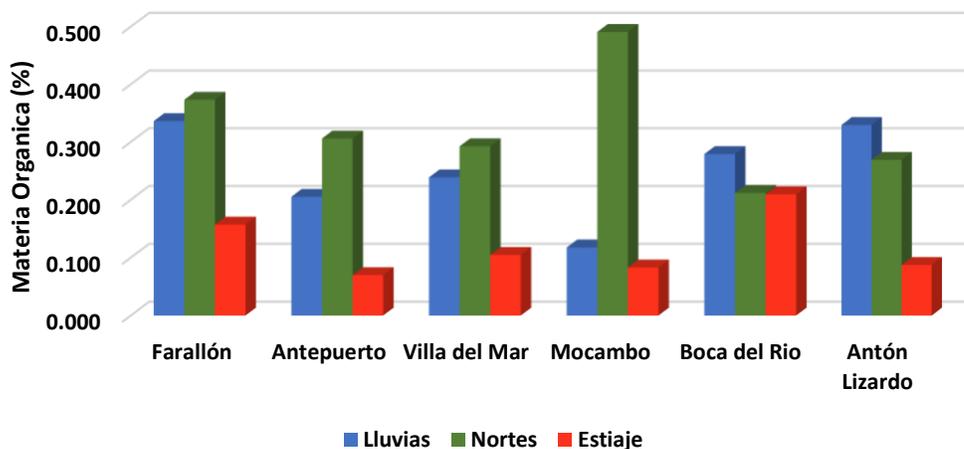


Figura 20 Porcentaje de materia orgánica en sedimento costero en los seis puntos de muestreo durante las tres temporadas climáticas.

Se realizó una prueba de Levene para evaluar la igualdad de varianzas (homocedasticidad de Varianza) para saber qué tipo de análisis era necesario realizar paramétrico o no paramétrico. Se analizó el porcentaje de materia orgánica (variable dependiente) encontradas en cada sitio de muestreo y temporadas climáticas (variables independientes), este análisis se llevó a cabo con el programa Statistica 7, en donde tenemos:

Ho:  $P > 0.05$  Los grupos tienen varianzas iguales y no existen diferencias significativas estadísticamente.

Ha:  $P < 0.05$  los grupos tienen varianza diferente y si existen diferencias significativas estadísticamente

Se obtuvo una  $P < 0.05$  (valor de F 5.2281, valor de p 0.000001) por lo tanto Ho se

rechaza y  $H_a$  se acepta por lo que existen diferencias significativas entre las varianzas lo que no cumple con el supuesto homocedasticidad de varianzas, por lo que se realizó una prueba no paramétrica.

Se realizaron pruebas no paramétricas Kruskal-Wallis para observar si existen diferencias significativas entre las variables espacio-temporales.

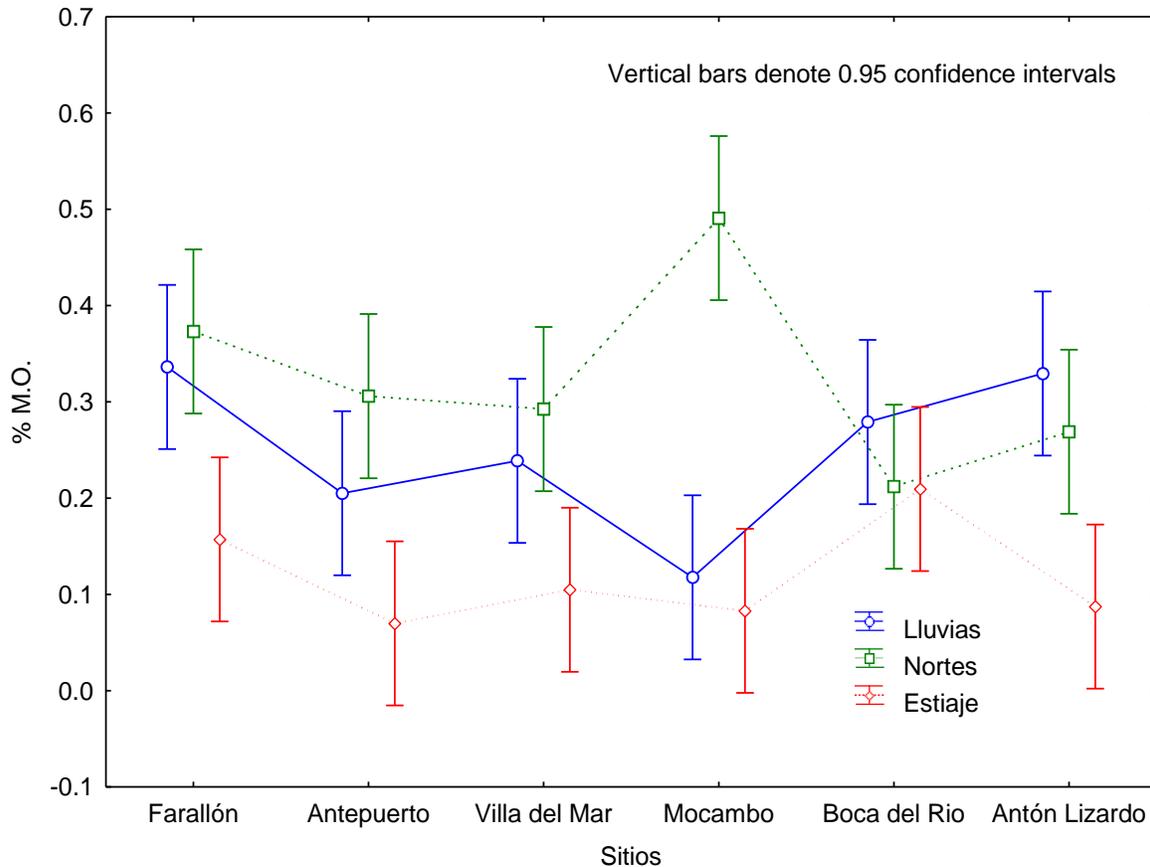


Figura 21 Efecto combinado del porcentaje de materia orgánica en los seis sitios de muestreo durante las tres temporadas climáticas.

Cuadro 3 Valores medios de la unidad de medida del porcentaje de materia orgánica encontradas en playas de Veracruz durante tres temporadas climáticas y en seis sitios de muestreo.

Temp/Sitio	Farallón	Antepuerto	Villa del Mar	Mocambo	Boca del Rio	Antón Lizardo
Lluvias	0.34 ± 0.10	0.21 ± 0.06	0.24 ± 0.05	0.12 ± 0.10	0.28 ± 0.04	0.33 ± 0.10
Nortes	0.37 ± 0.05	0.31 ± 0.09	0.29 ± 0.02	0.49 ± 0.04	0.21 ± 0.10	0.27 ± 0.19
Estiaje	0.16 ± 0.12	0.07 ± 0.05	0.10 ± 0.03	0.08 ± 0.03	0.21 ± 0.08	0.09 ± 0.08

Como se puede observar en la Figura 22, existe una diferencia estadísticamente significativa en el porcentaje de materia orgánica durante las tres temporadas climáticas (lluvias, nortes y estiaje)  $KW-H(2,72) = 29.2206$ ,  $p = 0.0000005$ . De acuerdo con el Cuadro 4 el mayor porcentaje se encuentra en la temporada de nortes, con un valor de  $0.32 \pm 0.13$  seguido por la temporada de lluvias con  $0.25 \pm 0.11$  y finalmente la temporada de estiaje con  $0.12 \pm 0.08$ . Estos valores forman tres grupos claramente distintos en términos de contenido de materia orgánica.

En este contexto, los resultados indican que las temporadas climáticas (el parámetro independiente) ejercen una influencia significativa en el contenido de materia orgánica (el parámetro dependiente). En otras palabras, las estaciones del año tienen un efecto en la cantidad de materia orgánica presente en los sedimentos costeros.

Según Valdor y Pérez (2017), el porcentaje de materia orgánica en la costa está influenciado por cuatro factores principales: la cantidad de agua que filtra la arena, el tiempo que el agua permanece en contacto con la arena, el contenido orgánico presente en la columna de agua y la temperatura que regula la tasa metabólica de los organismos descomponedores. En relación con los resultados, se observó que durante la temporada de estiaje existe una disminución significativa en el contenido de materia orgánica en las playas costeras, la cual está relacionada con la reducción de escorrentías y el aumento de la actividad metabólica ya que las tasas enzimáticas están reguladas en las comunidades microbianas por la temperatura. En contraste, durante la temporada de nortes existe un incremento en el porcentaje de materia orgánica, lo que podría atribuirse al aumento de la cantidad de agua filtrada en la arena debido al aumento del oleaje provocado por los vientos.

Cuadro 4 Valores medios de la unidad de medida del porcentaje de materia orgánica de las playas de Veracruz durante tres temporadas climáticas.

Temporada	Lluvia	Nortes	Estiaje
$\bar{x} \pm D.S$	$0.25 \pm 0.11^a$	$0.32 \pm 0.13^b$	$0.12 \pm 0.08^c$

Valores con superíndice a representa valores de medias de grupos iguales

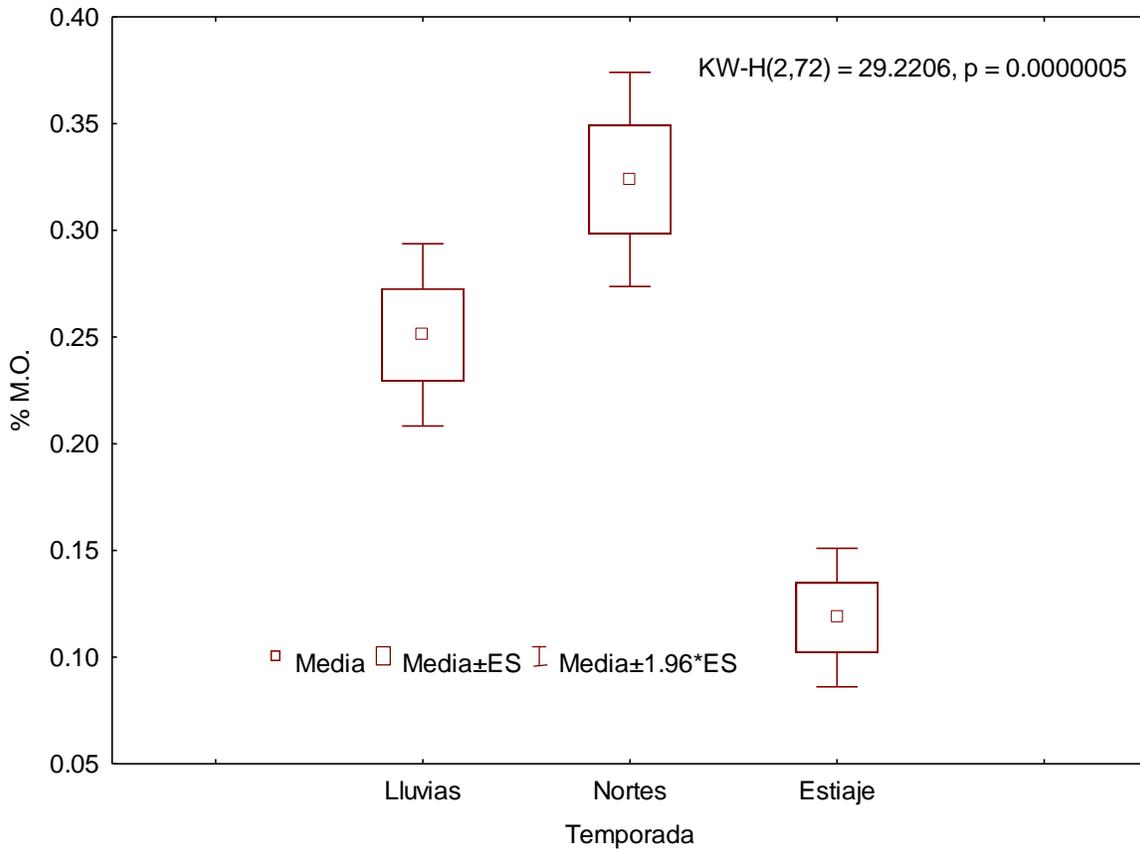


Figura 22 Grafica de caja Wisner de porcentaje de materia orgánica con respecto a las temporadas climáticas.

Cuadro 5 Prueba de Bonferroni para porcentaje de materia orgánica con respecto a las temporadas climáticas.

MS=0.0072, df=54.00

Temporada	Lluvias	Nortes	Estiaje
Lluvias		0.013412	0.000005
Nortes	0.013412		0.000000
Estiaje	0.000005	0.000000	

La Figura 23 revela que no se aprecian diferencias estadísticamente significativas en cuanto al porcentaje de materia orgánica entre los seis sitios de muestreo KW-H(5,72) = 3.6352, p = 0.6030, lo que sugiere que la cantidad de materia orgánica en la zona intermareal no parece depender significativamente de las condiciones ambientales o de la influencia antropogénica en su entorno.

Dado que al tratarse de playas arenosas poseen un tamaño de grano similar, por lo que se podría esperar que su capacidad para retener materia orgánica no varíe significativamente entre ellas, a menos que exista una fuente puntual de contaminación. Es importante recordar que también la materia orgánica disuelta se origina en el mar en concentraciones significativas y tiene múltiples fuentes, tanto de origen antropogénico como natural. Esta materia orgánica a menudo se concentra debido a la acción de las olas, formando una espuma amarilla que se acumula en las playas y sirve como alimento para diversas especies (Valdor y Pérez, 2017). Por lo tanto, no es sorprendente encontrar cantidades similares de materia orgánica en la Playa Farallón, que se considera preservada en términos de contaminación.

En la Figura 23 y el Cuadro 6 se observa que las playas de Antepuerto ( $0.19 \pm 0.12^a$ ), Villa del Mar ( $0.21 \pm 0.09^a$ ) y Boca del Río ( $0.23 \pm 0.08^a$ ) muestran una menor variabilidad en los datos de porcentaje de materia orgánica, posiblemente debido a las diferentes presiones tanto antropogénicas como naturales que enfrentan de manera constante a lo largo del año. En el caso de Antepuerto y Villa del Mar, al estar ubicadas dentro del puerto de Veracruz, están continuamente expuestas a aguas residuales procedentes de la urbanización circundante, a los desechos portuarios y ocasionalmente al turismo en el caso de Villa del Mar. Por otro lado, la playa de Boca

del Río se encuentra junto al Río Jamapa, el cual, aunque experimenta variaciones en su caudal a lo largo del año, siempre transporta una carga constante de materia orgánica.

En contraste, las playas de Mocambo ( $0.23 \pm 0.20^a$ ) y Antón Lizardo ( $0.23 \pm 0.16^a$ ) presentan una mayor variabilidad en los porcentajes de materia orgánica, esta variabilidad se puede explicar de la siguiente manera: en el caso de Mocambo, la playa experimenta fluctuaciones debido al turismo, con temporadas altas y bajas de visitantes, además, no está tan influenciada por la urbanización circundante, lo que contribuye a su variabilidad. En el caso de Antón Lizardo, la dispersión de datos se debe a la interacción con el Arroyo Gote, el cual es intermitente aportando materia orgánica a la playa, también se ha observado una acumulación de residuos vegetales en la playa durante la temporada de lluvias, como se ilustra en la Figura 19 lo que aporta una gran cantidad de materia orgánica proveniente del continente.

Por último, la concentración de materia orgánica en la playa de Farallón ( $0.29 \pm 0.13^a$ ) muestra una dispersión de datos intermedia, pero destaca por tener la media más elevada. Esto puede explicarse en función de la geomorfología particular de la playa. Aunque se trata de una playa arenosa, su perfil se encuentra más elevado en comparación con otras playas. Como se ha mencionado previamente, esta playa presenta una gran profundidad a pocos metros de la orilla, y el desnivel entre la zona intermareal y el mar es bastante pronunciado. Estas características favorecen una mayor filtración de materia orgánica en la playa de Farallón en comparación con otras playas que no poseen un desnivel tan marcado lo que es un factor principal de aumento de concentración de materia orgánica según Valdor y Pérez (2017). Además, al estar ubicada en una zona expuesta con corrientes de viento, se podrían generar surgencias ricas en materia orgánica que también contribuyen al aumento en su concentración, pero para poderlo corroborar se debe hacer un análisis a largo plazo del patrón local del viento y ver si existe una marcada persistencia direccional (Castro y Contreras, 1992).

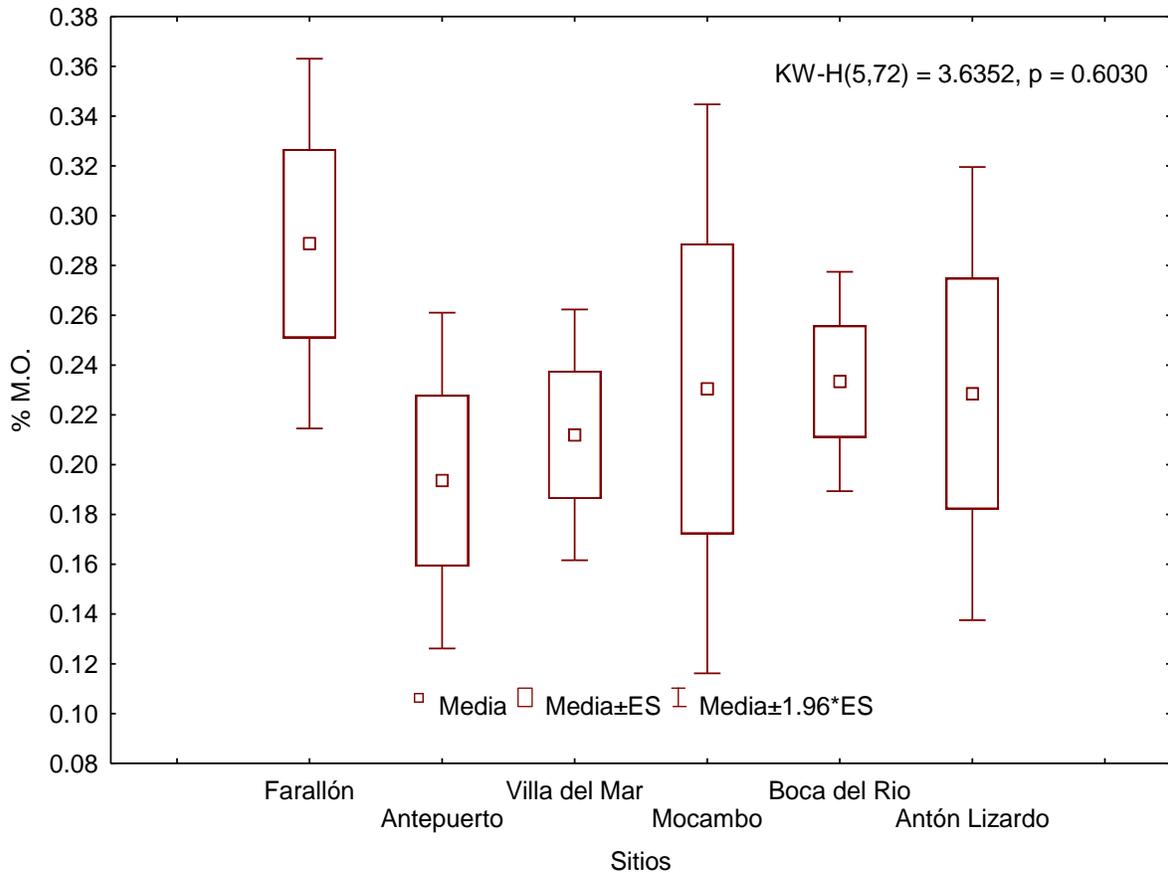


Figura 23 Grafica de caja Wisner de porcentaje de materia orgánica con respecto a los sitios de muestreo.

Cuadro 6 Valores medios de la unidad de medida del porcentaje de materia orgánica de las playas de Veracruz de Veracruz en seis sitios de muestreo.

Sitios	Farallón	Antepuerto	Villa del Mar	Mocambo	Boca del Rio	Antón Lizardo
□ ±D.S	0.29 ± 0.13 <sup>a</sup>	0.19 ± 0.12 <sup>a</sup>	0.21 ± 0.09 <sup>a</sup>	0.23 ± 0.20 <sup>a</sup>	0.23 ± 0.08 <sup>a</sup>	0.23 ± 0.16 <sup>a</sup>

Valores con superíndice a representa valores de medias de grupos iguales

### 9.3.1 Correlación entre el porcentaje materia orgánica y la abundancia de bacterias con actividad proteolítica y el índice enzimático

Para analizar la correlación entre la materia orgánica y la abundancia de cepas con actividad proteolítica y el índice enzimático, se empleó la correlación de Spearman. Esta elección se basó en los resultados de la prueba de Homogeneidad de Varianza de Levene's, que indicaron que los datos no cumplían con los supuestos de normalidad necesarios para un análisis paramétrico. Para realizar la prueba de correlación se utilizó el programa Jamovi 2.3.2.1. de acceso libre.

#### Correlación entre materia orgánica y la abundancia de bacterias con actividad proteolítica

Para la correlación de Spearman se tiene los siguientes supuestos:

H0: Coeficiente de correlación = 0,  $P > 0.05$

Ha: Coeficiente de correlación  $\neq 0$ ,  $P < 0.05$

Cuadro 7 Matriz de Correlaciones entre porcentaje de materia orgánica y la abundancia de bacterias con actividad proteolítica.

		Porcentaje de M.O.	Abundancia de bacterias proteolíticas
Porcentaje de M.O.	Rho de Spearman	—	
	valor p	—	
Abundancia de bacterias proteolíticas	Rho de Spearman	-0.110	—
	valor p	0.359	—

Cuadro 7 Matriz de Correlaciones entre porcentaje de materia orgánica y la abundancia de bacterias con actividad proteolítica.

---

Porcentaje de M.O.	Abundancia de bacterias proteolíticas
-----------------------	---

---

En la matriz de correlaciones entre porcentaje de materia orgánica y la abundancia de bacterias con actividad proteolítica, se observó una correlación de -0.110, que es negativa. De acuerdo con Martínez Ortega et al. (2009), esta correlación se clasifica como escasa o nula en la escala, lo que indica que no existe una relación lineal apreciable.

El valor p fue mayor que 0.05, lo que lleva a aceptar la hipótesis nula. En consecuencia, podemos concluir que estadísticamente no existe una relación significativa entre las variables, es decir, entre el porcentaje de materia orgánica y la abundancia de bacterias proteolíticas

En la Figura 24, se observa que tanto la gráfica del porcentaje de materia orgánica como la de la abundancia de bacterias proteolíticas no siguen una distribución normal. Ambos gráficos exhiben una marcada dispersión de los datos, lo que indica que las observaciones están ampliamente distribuidas. Esta falta de normalidad en la distribución de datos resalta la variabilidad significativa en el porcentaje de materia orgánica y la abundancia de bacterias proteolíticas en las muestras de sedimentos costeros.

La presencia de tal dispersión en los datos sugiere que múltiples factores pueden estar influyendo en estas mediciones y que se trata de un sistema complejo. Esta variabilidad podría deberse a una serie de factores que no han sido considerados para este estudio.

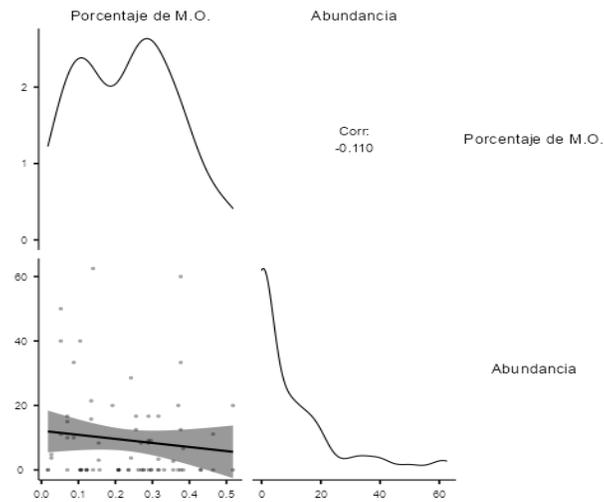


Figura 24 Graficas de distribución del porcentaje de materia orgánica y la abundancia de bacterias con actividad proteolítica.

### 9.3.2 Correlación entre materia orgánica y índice enzimático de bacterias con actividad proteolítica

Para la correlación de Spearman se tiene los siguientes supuestos:

H0: Coeficiente de correlación = 0,  $P > 0.05$

Ha: Coeficiente de correlación  $\neq 0$ ,  $P < 0.05$

Cuadro 8 Matriz de Correlaciones entre porcentaje de materia orgánica y el índice enzimático.

		Porcentaje de M.O.	Índice Enzimático
Porcentaje de M.O.	Rho de Spearman	—	
	valor p	—	
Índice Enzimático	Rho de Spearman	-0.079	—

Cuadro 8 Matriz de Correlaciones entre porcentaje de materia orgánica y el índice enzimático.

	Porcentaje de M.O.	Índice Enzimático
valor p	0.435	—

De manera similar, en la matriz de correlaciones entre el porcentaje de materia orgánica y el índice enzimático, se observó una correlación de -0.079, la cual es negativa. Según la escala de correlación mencionada por Martínez Ortega et al. (2009), es una correlación que se clasifica como escasa o nula, lo que sugiere la ausencia de una relación lineal apreciable entre ambas variables.

El valor p resultó es mayor que 0.05, lo que conduce a la aceptación de la hipótesis nula. Por lo tanto, podemos concluir que estadísticamente no existe una relación significativa entre las variables analizadas, es decir, entre el porcentaje de materia orgánica y la abundancia de bacterias proteolíticas

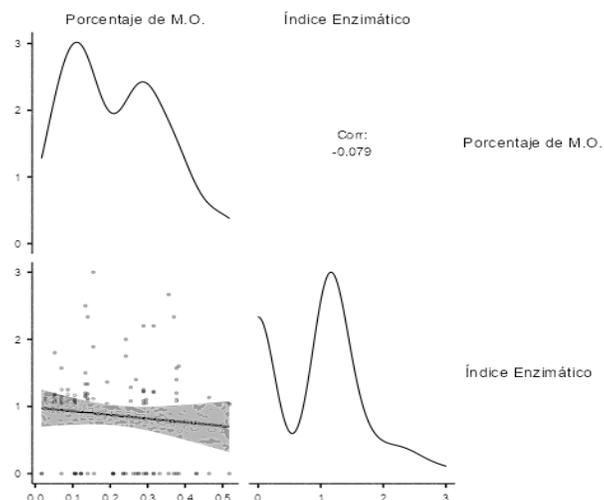


Figura 25 Graficas de distribución del porcentaje de materia orgánica el índice enzimático.

En la Figura 25, se aprecian las distribuciones del porcentaje de materia orgánica y el índice enzimático, en ambas representaciones gráficas muestran que no siguen una distribución normal. Además, se nota una alta dispersión de los datos en el gráfico que relaciona el índice enzimático con el porcentaje de materia orgánica.

También, Li et al. (2017), determinó concentraciones de carbono orgánico y nitrógeno utilizando un analizador de CHNS/O y llevó a cabo correlaciones con la abundancia de especies de bacterias con actividad proteolítica. Sus resultados coinciden con los obtenidos, ya que no encontró correlaciones significativas entre los índices o la composición de la diversidad bacteriana y las concentraciones de carbono orgánico y nitrógeno.

El hecho de que no se haya observado una correlación significativa entre el porcentaje de materia orgánica y la abundancia de bacterias con actividad proteolítica, así como con su índice enzimático, puede atribuirse a varios factores. En primer lugar, el porcentaje de materia orgánica se consideró como una medida indirecta o de referencia para estimar la cantidad de nitrógeno presente en el ambiente. Es importante recordar que la materia orgánica, según la definición de Darnell (1967), engloba una amplia gama de materiales biogénicos en varios estados de descomposición microbiana, representando un recurso potencial de energía para los consumidores.

La materia orgánica está compuesta por diversos componentes, como nutrientes, carbohidratos, lípidos, proteínas, ácidos nucleicos y otros compuestos orgánicos, y sus proporciones pueden variar significativamente que se encuentran biodisponibles para los organismos bentónicos y que rápidamente son mineralizados (Galbis Valiente, 2014). Esta variabilidad en la composición de la materia orgánica puede ser la razón subyacente de la falta de correlación entre el porcentaje de materia orgánica y la abundancia, así como el índice enzimático de las bacterias con actividad proteolítica. La cantidad de bases nitrogenadas contenidas en la materia orgánica y que pueden ser degradadas por estas bacterias es desconocida a partir de estos resultados.

Es importante considerar que en esta zona no solo están presentes bacterias con

actividad proteolítica, sino que existen otros mecanismos de secreción por parte de bacterias hidrolíticas que participan en la degradación de materia orgánica que coexisten en la misma comunidad bacteriana. Además de la degradación de proteínas, existen bacterias que se especializan en la degradación de otros compuestos orgánicos presentes en esta zona costera (Rodas, 2016).

Además, la investigación sobre la competencia y la ecología dentro de comunidades bacterianas ha sido limitado hasta el momento, del Giorgio y Williams (2005) resaltan la necesidad de realizar estudios enfocados en la comprensión de los ciclos de nitrógeno y carbono en las playas. Es posible que haya interacciones más complejas y mecanismos de regulación que aún no se comprenden completamente. Las bacterias no operan de manera aislada, sino que interactúan y compiten dentro de un ecosistema microbiano diverso (Li et al., 2017).

En este contexto, es fundamental llevar a cabo investigaciones más detalladas y específicas para comprender la dinámica de estas comunidades bacterianas en la degradación de diferentes compuestos orgánicos y cómo estas interacciones afectan la ecología microbiana en el ambiente costero. En este sentido se resalta la importancia de obtener una comprensión más profunda del metabolismo de las playas que ya ha sido resaltada por lo que Valdor y Pérez (2017). Lo que contribuirá a obtener una visión más completa de los procesos biogeoquímicos en estas zonas y cómo contribuyen a la transformación de la materia orgánica.

Finalmente, es importante señalar que existen otros factores, como los mencionados por Sospedra Ciscar (2011), que desempeñan un papel crucial en la disponibilidad de nutrientes en los ecosistemas costeros. Estos factores incluyen la radiación solar, la temperatura del agua, la presencia de organismos bentónicos, las propiedades fisicoquímicas del agua y la composición, así como la granulometría de los sedimentos, la cual no ha sido de gran interés para este estudio. Todos estos elementos, en su conjunto, proporcionan información valiosa para comprender la función que desempeña el ambiente costero, ya sea como un sumidero que retiene nutrientes o como una fuente que los libera al entorno marino.

#### **9.4 Parámetros de Referencia**

Como se mencionó anteriormente, se recopilaron algunos parámetros de referencia en cada uno de los sitios, incluyendo el pH, la temperatura y la conductividad del agua. Estos parámetros son fundamentales para evaluar la calidad ambiental y la salud de los ecosistemas costeros, ya que proporcionan información crucial sobre las condiciones físicas y químicas del entorno marino. En cuanto al pH, no se registraron variaciones significativas en ninguna de las playas o temporadas climáticas. Por otro lado, la temperatura del agua mostró fluctuaciones, oscilando entre 24°C y 33°C. Es importante destacar que estas variaciones de temperatura se deben a la hora del día en que se tomaron las muestras y se mantienen dentro del rango típico de las condiciones climáticas registradas, por lo que no se consideró un factor significativo en este estudio.

Por otro lado, es importante destacar que la conductividad absoluta del agua de mar se basa en la cantidad de iones disueltos por unidad de volumen (lo que conocemos como salinidad) y en la movilidad de estos iones, que a su vez depende de factores como la temperatura y la presión. La conductividad se mide en mS/cm (mili-Siemens por centímetro).

Durante el estudio, se observó una disminución en la conductividad del agua en Boca del Río en comparación con los otros lugares, especialmente durante la temporada de lluvias. Este fenómeno se debe a la descarga del Río Jamapa, que aporta agua dulce y disminuye la salinidad en esa área. También se notó una disminución menos pronunciada en la temporada de nortes. En contraste, durante la temporada de estiaje, la conductividad en Boca del Río se igualó a la de los otros sitios.

#### **9.4 Proporción de abundancia de bacterias con actividad proteolítica**

De cada uno de los sitios y temporadas se contabilizó la cantidad de bacterias presentes en el sedimento en la dilución  $10^3$ , también se obtuvo la cantidad de bacterias que presentan actividad proteolítica y se realizó una proporción entre la abundancia que hay de bacterias proteolíticas en comparación con todas las bacterias que crecieron en el medio R2A obteniendo así la proporción de abundancia de bacterias proteolíticas encontradas en cada sitio y temporada.

Se realizó una prueba de Levene para evaluar la igualdad de varianzas (homocedasticidad de Varianza), se analizó la abundancia de cepas proteolíticas (variable dependiente) encontradas en cada sitio de muestreo y temporadas climáticas (variables independientes).

Ho:  $P > 0.05$  Los grupos tiene varianzas iguales y no existen diferencias significativas estadísticamente.

Ha:  $P < 0.05$  los grupos tienen varianza diferente y si existen diferencias significativas estadísticamente.

Se obtuvo una  $P < 0.05$  (valor de F: 3.3718 y valor de p: 0.00034) por lo tanto Ho se rechaza y Ha se acepta por lo que existen diferencias significativas entre las varianzas lo que no cumple con el supuesto homocedasticidad de varianzas, por lo que se realizó una prueba no paramétrica.

Se realizaron pruebas no paramétricas.

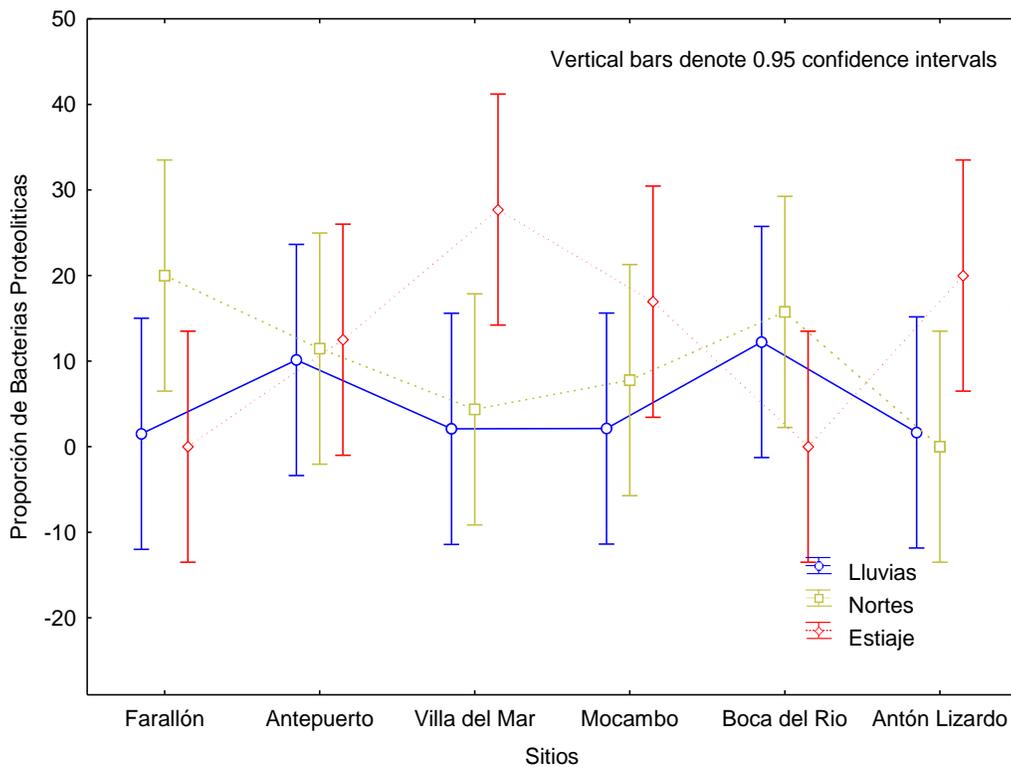


Figura 26 Efecto combinado de la proporción de bacterias proteolíticas en las tres temporadas climáticas en los seis sitios de muestreo.

Cuadro 9 Valores medios de la unidad de medida de la abundancia de colonias de bacterias proteolíticas aisladas de la playa de Veracruz durante tres temporadas climáticas y seis sitios de muestreo.

Temp / Sitio	Farallón	Antepuerto	Villa del Mar	Mocambo	Boca del Rio	Antón Lizardo
Lluvias	1.51 ± 1.76	10.13 ± 5.86	2.08 ± 4.17	2.12 ± 2.48	12.24 ± 13.03	1.67 ± 3.33
Nortes	20.00 ± 28.28	11.46 ± 15.73	4.36 ± 5.04	7.78 ± 9.69	15.74 ± 5.08	0.00 ± 0.00
Estiaje	0.00 ± 0.00	12.50 ± 18.93	27.71 ± 26.90	16.94 ± 16.86	0.00 ± 0.00	20.00 ± 21.60

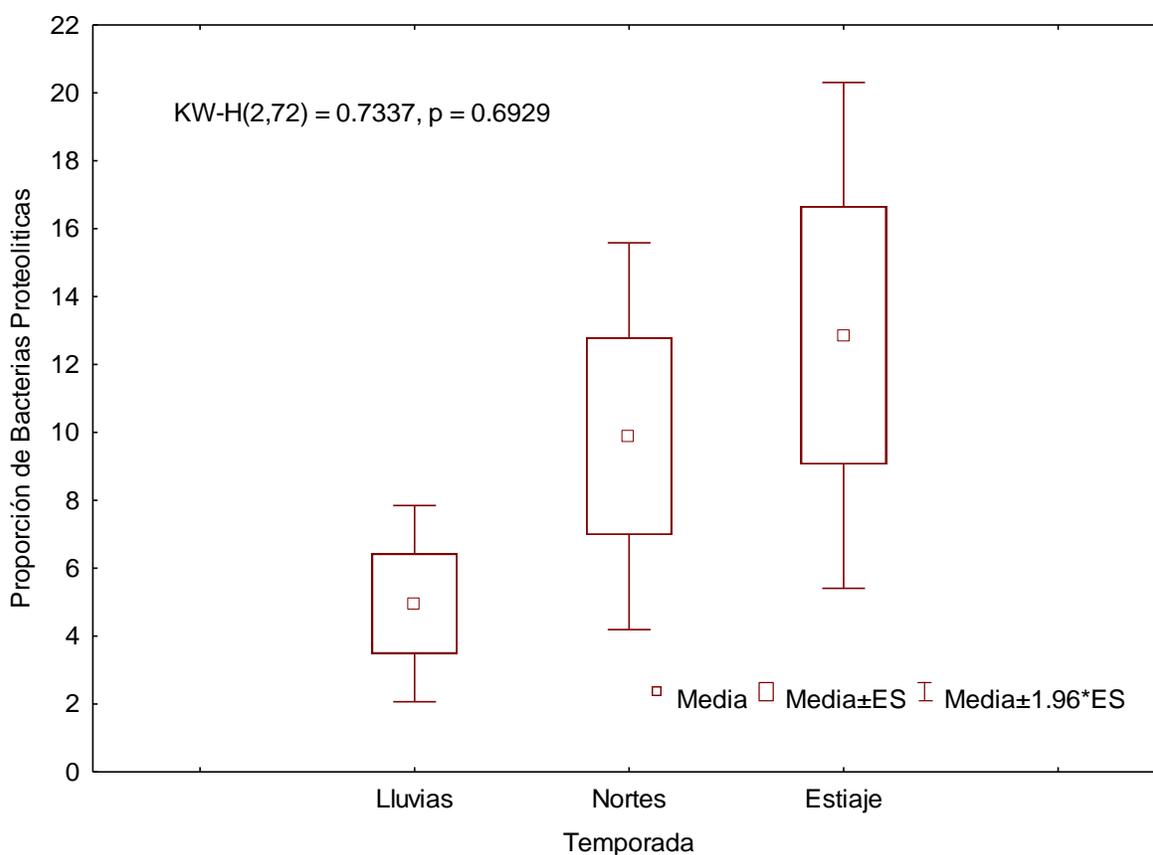


Figura 27 Grafica de caja Wisner de la proporción de bacterias proteolíticas con respecto a las temporadas climáticas.

Cuadro 10 Valores medios de la unidad de medida de la abundancia de colonias de bacterias proteolíticas aisladas de playas de Veracruz durante tres temporadas climáticas.

Temporada	Lluvia	Nortes	Estiaje
$\bar{x} \pm D.S$	$4.96 \pm 7.22^a$	$9.89 \pm 14.24^a$	$12.86 \pm 18.62^a$

Valores con el mismo superíndice representa valores de medias de grupos iguales

Se realizó una prueba de Kruskal-Wallis entre la proporción de bacterias proteolíticas con respecto a las tres temporadas climáticas lluvia, nortes y estiaje para determinar si las medianas de estos grupos son diferentes teniendo que:

Ho:  $P > 0.05$  todas las muestras provienen de la misma población (distribución).

Ha:  $P < 0.05$  al menos una muestra proviene de una población con una distribución distinta.

En la Figura 27, se aprecia que al analizar la proporción de bacterias proteolíticas en relación con las temporadas climáticas, se obtuvo un valor  $KW-H(2,72) = 0.7337$ ,  $p = 0.6929$ . Estos resultados indican que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. Sin embargo, se puede notar una tendencia creciente entre los valores promedio de la unidad de medida, como se muestra en el Cuadro 10, donde durante la temporada de lluvias se obtuvo un valor de  $(4.96 \pm 7.22^a)$ , durante la temporada de nortes se registró  $(9.89 \pm 14.24^a)$  y en la temporada de estiaje se obtuvo  $(12.86 \pm 18.62^a)$ . Por lo tanto, la media de proporción de bacterias proteolíticas muestra una tendencia a ser menor durante la temporada de lluvia, aumentar en la temporada de nortes y alcanzar niveles significativamente mayores en la temporada de estiaje.

Esta variación estacional podría explicarse por la constante aportación de fuentes nitrogenadas al sistema costero durante la temporada de lluvias, lo que resulta en una proporción relativamente estable de bacterias proteolíticas. Según mencionan Torres y Calva (2004), durante los episodios de lluvia, cuando el flujo de escorrentías se incrementa, las bacterias se re-suspenden y su cantidad en la columna de agua aumenta y en el sedimento se mantiene más estable. Por el contrario, las bacterias tienden a presentar una mayor concentración en el lecho de sedimentos de los ecosistemas debido a su unión con las partículas de terrígenas. Estas partículas, junto con las bacterias, son depositadas en el sedimento durante las épocas de sequía, es

por ello que se puede notar un aumento en su abundancia.

Se realizó una prueba de Kruskal-Wallis entre la proporción de bacterias proteolíticas con respecto a los seis sitios de muestreo Farallón, Antepuerto, Villa del Mar, Mocambo, Boca del Rio y Antón Lizardo teniendo que:

Ho:  $P > 0.05$  todas las muestras provienen de la misma población (distribución).

Ha:  $P < 0.05$  al menos una muestra proviene de una población con una distribución distinta.

En la Figura 28, se aprecia que al analizar la proporción de bacterias proteolíticas en relación con los sitios de muestreo, se obtuvo un valor  $KW-H(5,72) = 4.0131$ ,  $p = 0.5475$ . Estos resultados indican que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

Como se puede observar en el Cuadro 11, todos los sitios de muestreo mostraron una desviación estándar que osciló entre 10.15 y 18.85. Contrariamente a las expectativas iniciales, las medias no experimentaron una variación significativa como se esperaba debido a que en los sitios existe un comportamiento diferenciado de las características espaciales que influyen en la cantidad de energía liberada por las olas en la playa. Factores como el aumento en la altura de las olas o la intensidad de las mismas, que desempeñan un papel crucial en una cadena alimentaria compleja, las condiciones en la capa intermareal de arena son altamente variables y dinámicas, especialmente en las playas tropicales, que se caracterizan por albergar una gran variedad de especies (Feng et al., 2016; Schlacher et al., 2008). Sin tomar en cuenta los problemas de contaminación que surge por las actividades antropogénicas como es el caso de las playas de Villa del Mar y Antepuerto en las que el volumen del agua portuaria presenta una escasa renovación por lo cual no es capaz de asimilar la alta cantidad de residuos que son capturados por esta, por lo que aparecen sustancias ajenas a estas (Cámara, 1989)

Por otro lado, las playas de Villa del Mar, Mocambo y Antón Lizardo son destinos turísticos ubicados en el centro de Veracruz. Durante la época de Semana Santa, estas playas experimentaron un aumento en la afluencia turística, lo que probablemente debería influir en el aporte de nutrientes al sistema costero. Cabe mencionar que estos

nutrientes no se pudieron medir de manera precisa, este incluyendo la urea, que se encuentra en diferentes proporciones en la orina, el sudor y las heces humanas.

Glibert et al. (2006), han señalado la relación entre el enriquecimiento de urea en las zonas costeras y las modificaciones en las comunidades microbianas que se benefician de este nutriente. Asimismo Aké-Castillo et al. (2014) han destacado que el aumento en la concentración de compuestos que contienen urea puede ser un factor en la eutrofización de las comunidades microbianas costeras, ya que la urea tiende a ser asimilada más rápidamente que otros compuestos nitrogenados, por lo tanto se esperaría una diferencia significativa estadísticamente de la abundancia de bacterias proteolíticas en estas tres playas.

En el caso de Boca del Río, que presenta la menor desviación estándar la cual se encuentra asociada como se mencionó anteriormente, con la influencia del río Jamapa. Debido a esta influencia, el ingreso de nutrientes en este punto se considera más constante, lo que resulta en una menor variabilidad en la abundancia de cepas proteolíticas. Hakspiel-Segura et al. (2015) mencionan que la limitación de nutrientes parece ser el factor principal que regula la abundancia bacteriana en el ambiente planctónico. Sin embargo, cuando existe un suministro constante de proteínas, cabría esperar la presencia de una zona de alta productividad de enzimas proteolíticas, por lo que nos dice que el río aporta la suficiente cantidad de fuentes nitrogenadas durante las tres temporadas climáticas para que la abundancia sea más constante en esta zona.

Finalmente, la playa preservada de Farallón si muestra una mayor desviación estándar pero la menor media de los seis sitios, claramente se encuentra influenciada por las temporadas climáticas de la zona.

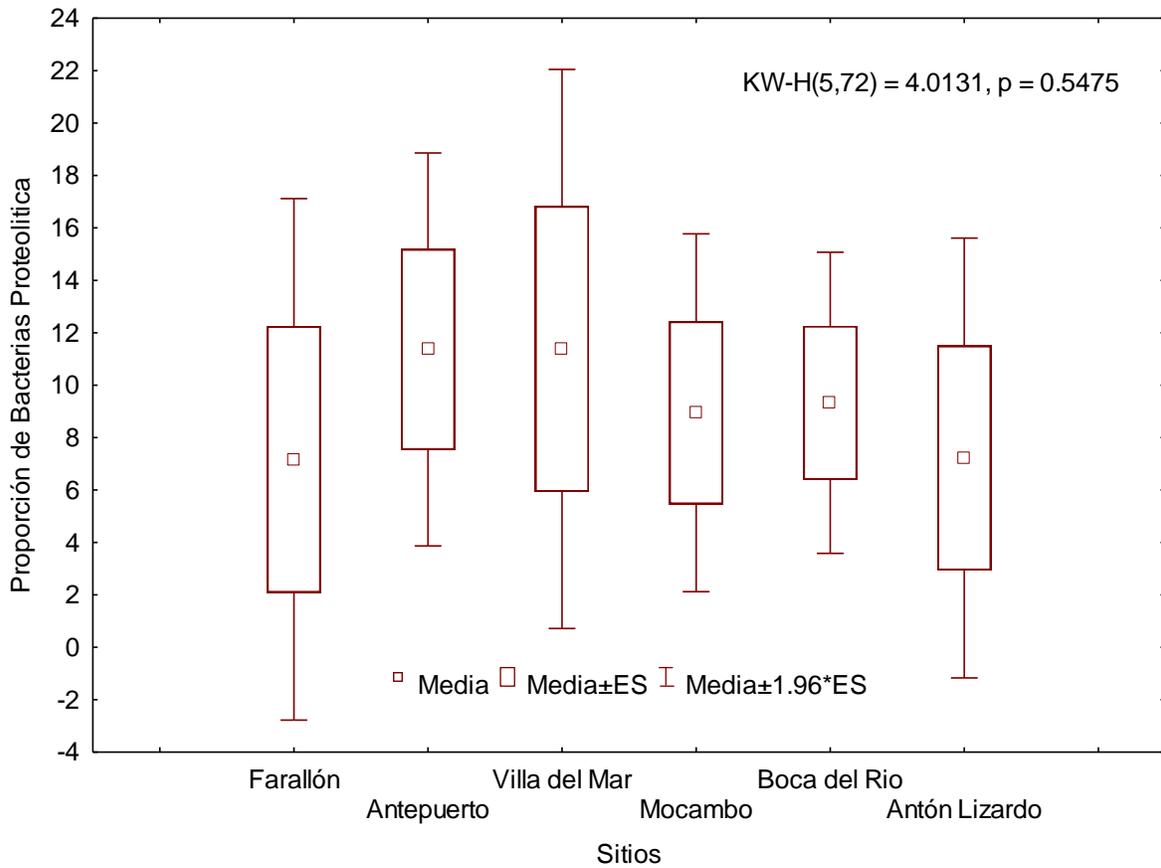


Figura 28 Grafica de caja Wisner de la proporción de bacterias proteolíticas con respecto a los sitios de muestreo.

Cuadro 11 Valores medios de la unidad de medida de la abundancia de colonias de bacterias proteolíticas aisladas de playas de Veracruz de los seis puntos de muestreo.

Sitios	Farallón	Antepuerto	Villa del Mar	Mocambo	Boca del Rio	Antón Lizardo
□ ±D.S	7.17 ± 17.59 <sup>a</sup>	11.36 ± 13.25 <sup>a</sup>	11.38 ± 18.85 <sup>a</sup>	8.95 ± 12.06 <sup>a</sup>	9.33 ± 10.15 <sup>a</sup>	7.22 ± 14.83 <sup>a</sup>

Valores con mismo superíndice representa valores de medias de grupos iguales

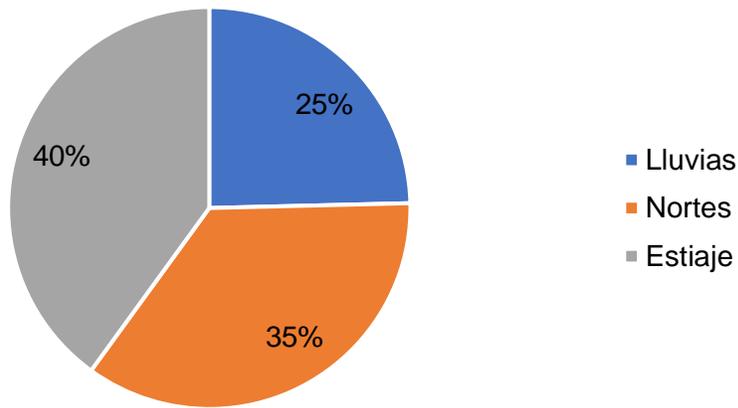


Figura 29 Porcentaje de bacterias con actividad proteolítica con respecto a las temporadas climáticas.

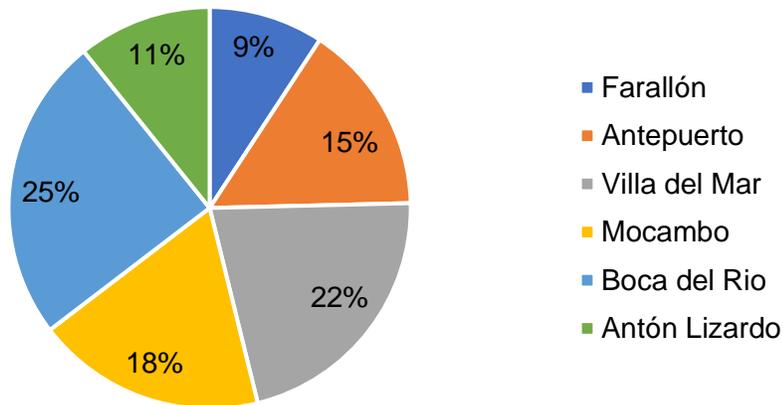


Figura 30 Porcentaje de bacterias con actividad proteolítica con respecto los sitios de muestreo.

En los ecosistemas costeros, las bacterias son influenciadas por diversos factores ambientales como la temperatura, la radiación solar, la sedimentación, la depredación y la exposición a sustancias tóxicas. Estos factores colectivamente aumentan su tasa de mortalidad (Torres y Calva, 2004). En consonancia con esto, al observar las Figuras 29 y 30, podemos identificar gráficamente que la playa de Boca del Río presenta la mayor abundancia de bacterias con actividad proteolítica, especialmente durante la temporada de estiaje. Por lo tanto, si se busca obtener una alta abundancia de estas

bacterias para un estudio de diversidad específico en torno a alguna playa, se recomendaría realizarlo en la playa de Boca del Río durante la temporada de estiaje

Por otro lado, si se llegara a presentar un aumento significativo de la contaminación basada en proteínas en la zona costera central de Veracruz y se quisiera llevar a cabo una bioremediación de manera eficiente, sería aconsejable considerar la utilización de organismos obtenidos localmente en el mismo lugar afectado o donde se encuentre una mayor abundancia de bacteria y presente las mismas condiciones climáticas que en este caso sería la playa de Boca del Río. Esto se alinea con lo mencionado por Curi (2014), quien destaca que el uso de bacterias aisladas autóctonas de los sitios afectados ofrece diversas ventajas. Estos microorganismos presentan una adaptación mínima o nula a las condiciones locales y poseen características que les ayudan a sobrevivir y prosperar en el entorno específico.

### **9.5 Índice Enzimático**

El comportamiento de la actividad proteolítica se analizó con el Índice Enzimático, en donde 101 colonias de bacterias presentaron producción de proteasas extracelulares en las muestras de sedimento costero obtenido de diferentes sitios.

Se realizó una prueba de Levene's que evaluar la igualdad de varianzas para saber qué tipo de análisis era necesario realizar paramétrico o no paramétrico. Se analizó el Índice Enzimático (variable dependiente) respecto a los sitios de muestreo y las temporadas climáticas (variable independiente).

Ho:  $P > 0.05$  Los grupos tiene varianzas iguales y no existen diferencias significativas estadísticamente.

Ha:  $P < 0.05$  los grupos tienen varianza diferente y si existen diferencias significativas estadísticamente.

Se obtuvo una  $P < 0.05$  (valor de F 3.0544 y valor de p 0.00037) por lo tanto Ho se rechaza y Ha se acepta por lo que existen diferencias significativas entre las varianzas lo que no cumple con el supuesto homocedasticidad de varianzas, por lo que se realizó una prueba no paramétrica.

Se realizaron pruebas no paramétricas para observar si existen diferencias significativas entre las variables espacio-temporales.

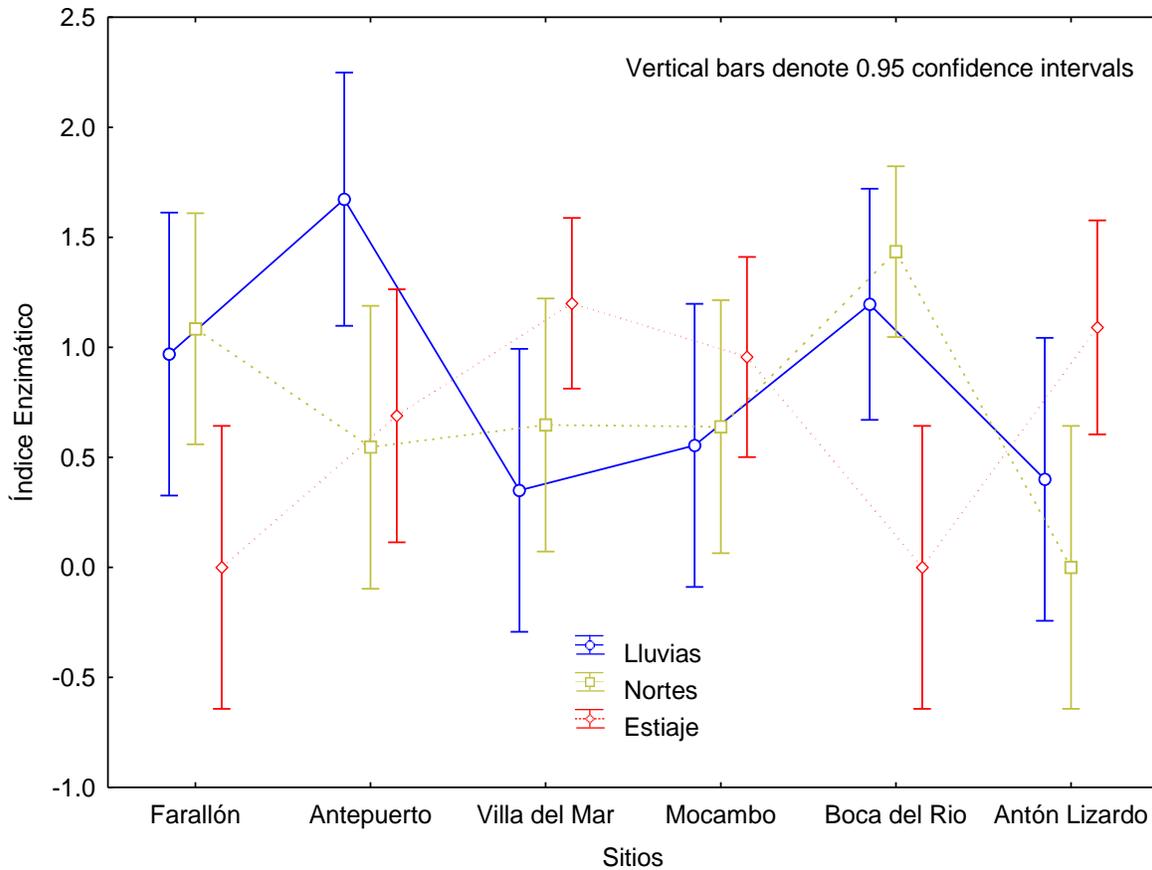


Figura 31 Efecto combinado de Índice Enzimático en las tres temporadas climáticas en los seis sitios de muestreo.

Cuadro 12 Valores medios de la unidad de medida del Índice Enzimático de bacterias proteolíticas aisladas de playas de Veracruz durante tres temporadas climáticas y seis sitios de muestreo.

Temp/Sitio	Farallón	Antepuerto	Villa del Mar	Mocambo	Boca del Rio	Antón Lizardo
Lluvias	1.51 ± 1.76	10.13 ± 5.83	2.08 ± 4.17	2.12 ± 2.48	12.24 ± 13.03	1.67 ± 3.33
Nortes	20.00 ± 28.28	11.46 ± 15.73	4.36 ± 5.04	7.78 ± 9.69	15.74 ± 5.08	0.00 ± 0.00
Estiaje	0.00 ± 0.00	12.50 ± 18.93	27.71 ± 26.90	16.94 ± 16.86	0.00 ± 0.00	20.00 ± 21.60

Se realizó una prueba de Kruskal-Wallis entre el Índice Enzimático con respecto a las tres temporadas climáticas lluvias nortes y estiaje teniendo que:

Ho:  $P > 0.05$  todas las muestras provienen de la misma población (distribución).

Ha:  $P < 0.05$  al menos una muestra proviene de una población con una distribución distinta.

Como se puede apreciar en la Figura 32, el valor obtenido de la prueba de medias fue  $KW-H(2,101) = 0.364$ ,  $p = 0.8336$ . Esto indica que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los Índices Enzimáticos y las tres temporadas climáticas. Los valores medios y la desviación estándar muestran una tendencia descendente. Como se observa en el Cuadro 13 durante la temporada de lluvias, se registró el mayor promedio ( $0.91 \pm 0.94$ ), seguido de la temporada de nortes ( $0.88 \pm 0.73$ ), siendo la temporada de estiaje la que presentó el valor más bajo ( $0.81 \pm 0.63$ ). Por lo tanto, se puede afirmar que durante la temporada de lluvias se presenta la máxima cantidad de enzimas generadas por bacterias con actividad proteolítica, y que la cantidad de enzimas secretadas por estos microorganismos disminuye a medida que se acerca la temporada de estiaje.

Las medias de todas las muestras presentaron un IE por debajo de 1 considerando que para determinar una buena selección de actividad enzimática el índice enzimático debe ser mayor o igual a 2 (Lealem y Gashe, 1994) por lo que se dice que en la zona central de Veracruz no se encontró una temporada en particular que aumentara el índice enzimático por lo que tanto las variaciones fisicoquímicas que se encuentran dentro del ambiente no influye de manera significativa el aumento o disminución de secreción de enzimas extracelulares por bacterias con actividad proteolítica.

Por otro lado, se observa una tendencia contrapuesta entre el Índice Enzimático y la abundancia de cepas proteolíticas en función de las estaciones climáticas. El Índice Enzimático muestra un patrón en el que es más alto durante la temporada de lluvias, disminuye en la temporada de nortes y alcanza su punto más bajo en la temporada de estiaje.

En contraste, la abundancia de cepas proteolíticas sigue una tendencia inversa: es

menor en la temporada de lluvias, aumenta en la de nortes y alcanza su máximo nivel durante la temporada de estiaje.

Estos resultados sugieren que, durante las diferentes temporadas climáticas, se establece un equilibrio entre la cantidad de bacterias presentes en el ambiente y la cantidad de enzimas que secretan. Considerando que un área acuática es saludable cuando sus condiciones biológicas se encuentran balanceadas (Pérez, 2012) en este contexto esto podría indicar la presencia de un equilibrio constante en la degradación de proteínas en el entorno. Es decir, las condiciones estacionales parecen influir en la actividad enzimática y en la abundancia de las bacterias proteolíticas de manera equilibrada. Aunque no se encontró una correlación positiva entre el índice enzimático y la abundancia de bacterias en relación al porcentaje de materia orgánica en la zona costera, parece que estas últimas sí se ven influenciadas por la cantidad de fuentes nitrogenadas presentes en el ambiente.

Por lo que es importante tener en cuenta que las tres temporadas climáticas (norte, lluvias y estiaje) jugaron un papel crucial en el desarrollo de la actividad proteolítica. Estas temporadas presentaron diferentes características físico-químicas y también hubo cambios en las actividades humanas en el área de estudio debido al turismo y las temporadas de veda.

En resumen, este estudio propone una estrategia de regulación de la secreción de enzimas proteolíticas que no se había descrito previamente. Esta regulación parece estar influenciada por las estaciones climáticas y merece un análisis más detallado en futuras investigaciones centradas en el metabolismo y la regulación de la materia orgánica en los entornos marinos.

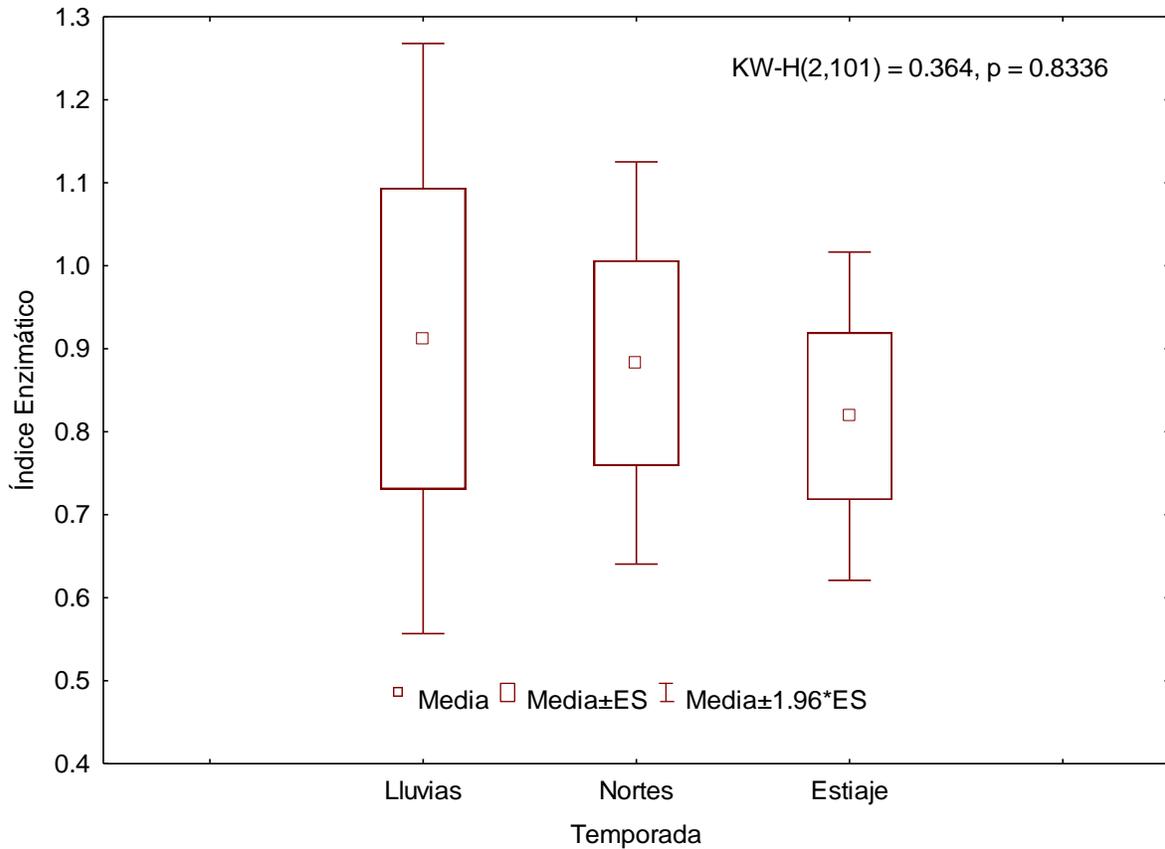


Figura 32 Grafica de caja Wisner del Índice Enzimático con respecto a las temporadas climáticas.

Cuadro 13 Valores medios de la unidad de medida del Índice Enzimático de colonias de bacterias proteolíticas aisladas de playas de Veracruz durante tres temporadas climáticas.

Temporada	Lluvia	Nortes	Estiaje
□ ±D.S	0.91 ± 0.94 <sup>a</sup>	0.88 ± 0.73 <sup>a</sup>	0.81 ± 0.63 <sup>a</sup>

Valores con el mismo superíndice representa valores de medias de grupos iguales

Se realizó una prueba de Kruskal-Wallis entre el Índice Enzimático con respecto a los seis sitios de muestreo Farallón, Antepuerto, Villa del Mar, Mocambo, Boca del Río y Antón Lizardo teniendo que:

Ho: P>0.05 todas las muestras provienen de la misma población (distribución).

Ha:  $P < 0.05$  al menos una muestra proviene de una población con una distribución distinta.

En la Figura 33, se aprecia que al analizar el Índice Enzimático en relación con los sitios de muestreo, se obtuvo un valor  $KW-H(5,101) = 6.4218$ ,  $p = 0.2673$ . Estos resultados indican que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

Los valores del Índice Enzimático, como se muestra en el Cuadro 14, exhibieron variaciones en las medias y desviaciones estándar en cada uno de los sitios de muestreo. Estos valores fueron los siguientes: Farallón ( $0.74 \pm 0.96$ ), Antepuerto ( $0.99 \pm 0.83$ ), Villa del Mar ( $0.89 \pm 0.66$ ), Mocambo ( $0.76 \pm 0.51$ ), Boca del Río ( $1.09 \pm 0.81$ ) y Antón Lizardo ( $0.61 \pm 0.70$ ). A pesar de no encontrar diferencias estadísticamente significativas entre los sitios de muestreo y el Índice Enzimático, se puede observar que la mayor actividad proteolítica bacteriana se registró en Boca del Río, seguido por Antepuerto, Villa del Mar y Mocambo. Estos sitios están ubicados en la zona interurbana de Veracruz centro y Boca del Río, y esta mayor actividad parece estar relacionada con las actividades pesqueras y urbanas presentes en sus alrededores. Estas actividades económicas generan presiones antropogénicas que impactan los servicios ambientales de la zona costera central de Veracruz las cuales son actividades que impactan en la economía local (Lango-Reynoso et al., 2019; Sánchez Domínguez, 2015).

En contraste, los extremos más alejados que se encuentran en contacto con un mar más abierto, como Farallón y Antón Lizardo, muestran medias más bajas en comparación con los sitios mencionados anteriormente.

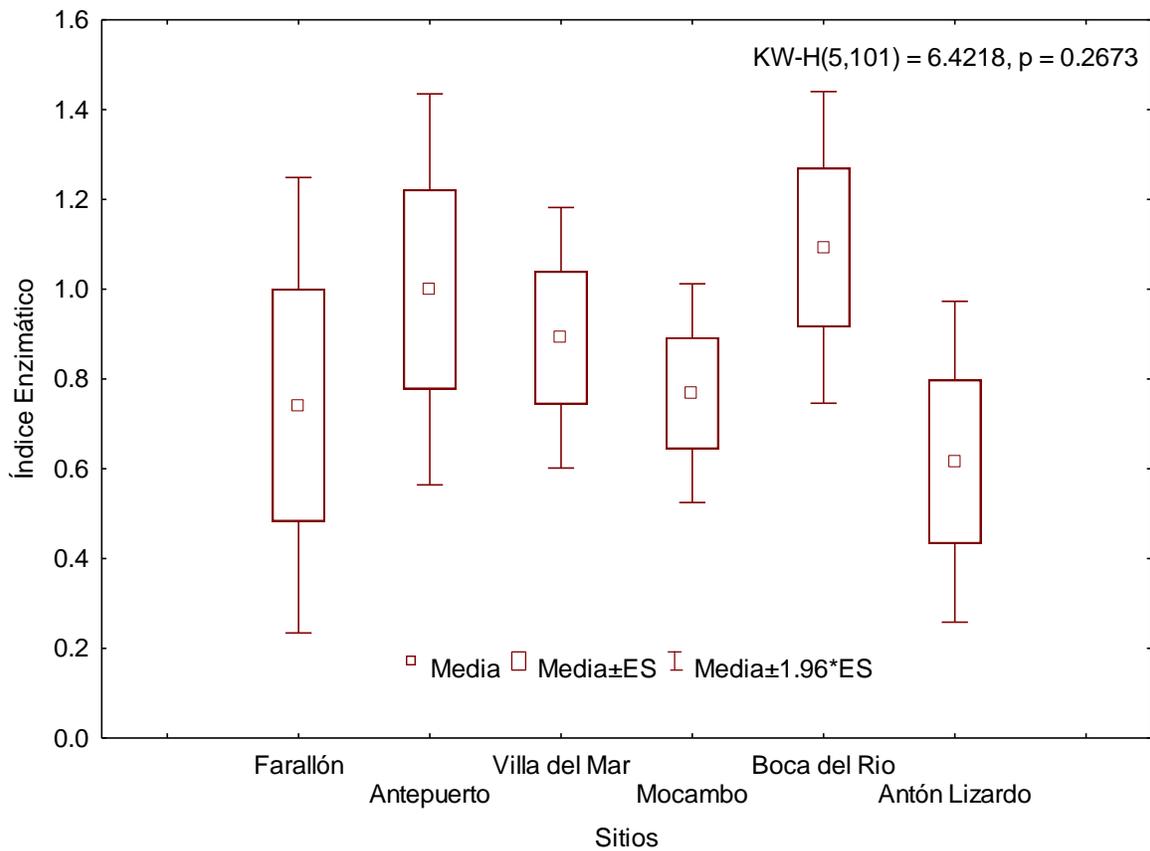


Figura 33 Grafica de caja Wisner del Índice Enzimático con respecto a los sitios de muestreo.

Cuadro 14 Valores medios de la unidad de medida del Índice Enzimático de colonias de bacterias proteolíticas aisladas de playas de Veracruz de los seis puntos de muestreo.

Sitios	Farallón	Antepuerto	Villa del Mar	Mocambo	Boca del Rio	Antón Lizardo
□±D.S	0.74 ± 0.96 <sup>a</sup>	0.99 ± 0.83 <sup>a</sup>	0.89 ± 0.66 <sup>a</sup>	0.76 ± 0.51 <sup>a</sup>	1.09 ± 0.81 <sup>a</sup>	0.61 ± 0.70 <sup>a</sup>

Valores con el mismo superíndice representa valores de medias de grupos iguales

Dos cepas presentaron un Índice Enzimático (IE) mayor a dos teniendo por lo que tienen una eficiente producción de enzimas extracelulares según Lealem y Gashe (1994), una

fue encontrada en la Temporada de Lluvias en la playa de Farallón con un IE=2.666 y la segunda en la Temporada de Estiaje en la playa de Villa del Mar en marea alta con un IE=2.333. Estas dos cepas presentaron un mayor halo de actividad enzimática luego de 5 días de incubación a 35°C; sin embargo, el comportamiento de las demás cepas encontradas es más homogéneo con bajos índices enzimáticos. Este resultado es coincidente con el reportado por Sánchez et al. (2004) quienes analizaron proteasas extracelulares por bacterias marinas aisladas de aguas contaminadas con efluentes pesqueros encontrando solamente una cepa con alta actividad proteolítica.

Encontrar únicamente dos colonias bacterianas con un alto índice enzimático podría deberse a la variación en la actividad proteolítica extracelular. Esta variación puede existir no solo entre diferentes cepas, sino incluso dentro del mismo género bacteriano como sugieren Estevao y Pucci (2005). Por lo tanto, estas colonias podrían ser calificadas como "variantes" ya que, desde una perspectiva poblacional, su capacidad para secretar una cantidad significativamente mayor de enzimas extracelulares se considera una característica inusual o atípica dentro de la misma población.

Sabiendo de que las bacterias son una fuente atractiva de enzimas proteolíticas debido a su cultivo eficiente y facilidad de manipulación, combinado con la comprensión de que las especies de las playas pueden abarcar amplios rangos geográficos en respuesta a diferentes condiciones morfológicas y climáticas, como se ha señalado por Schlacher et al. (2008), abre la posibilidad de considerar estas dos colonias para posibles estudios para aplicaciones biotecnológicas. Estas aplicaciones pueden incluir el uso de estas bacterias en la producción de enzimas proteolíticas de interés industrial o, potencialmente, en procesos de biorremediación si la zona central de Veracruz experimenta un aumento en la contaminación debida a fuentes nitrogenadas.



Figura 34 Conexiones entre investigaciones realizadas en bacterias con actividad proteolítica en ambientes marinos y salados.

En la Figura 34 se representa las relaciones y conexiones entre diversas investigaciones relacionadas con bacterias que poseen actividad proteolítica en ambientes marinos y salinos. Los datos de esta figura se obtuvieron de <https://researchrabbitapp.com>, Como se puede apreciar y como se mencionó al principio, existen pocas investigaciones enfocadas en el estudio de este tipo de bacterias que se encuentran de forma libre e interactúan constantemente con el ambiente. También se puede observar que no existe conexión entre estas investigaciones, lo cual se debe a que se centran en la búsqueda de cepas con alto Índice Enzimático para su uso en biotecnología, como es el caso de (Prihanto et al., 2020; Sánchez et al., 2004; Tropeano et al., 2013; Vázquez et al., 2008), mientras que la investigación de Li et al. (2017) es pionera en determinar la diversidad de estos microorganismos en toda una bahía.

Es la primera investigación registrada que intenta examinar el metabolismo en la zona intermareal de las playas durante diferentes temporadas y en sitios expuestos a diversas actividades antropogénicas.

## 10. CONCLUSIÓN

A pesar de no haber encontrado diferencias estadísticamente significativas entre la abundancia y el índice enzimático de las bacterias con actividad proteolítica en relación al tiempo y la ubicación en la zona central de Veracruz, este estudio se considera pionero. Es el primero en comparar la variación de este tipo de bacterias entre diferentes estaciones y sitios de muestreo, centrándose en el metabolismo presente en el sedimento de la zona intermareal.

Este enfoque propone la posible utilización de estos microorganismos como bioindicadores. Aunque no se han identificado diferencias estadísticas significativas, esto no determina si pueden o no ser eficaces como bioindicadores. Sería beneficioso investigar áreas conocidas por estar contaminadas por desechos orgánicos que se encuentre más presente las proteínas para poder comparar su presencia y actividad en esas zonas.

En este sentido, debido a que existe una alta diversidad de bacterias marinas que se encuentran en esta zona, se tiene dificultad para la cuantificación y monitoreo de las bacterias comúnmente utilizadas como indicadoras, debido a las altas que imperan en el Estado. Por lo cual se intentaba determinar si el análisis de bacterias con capacidad proteolítica podía ser un nuevo indicador de la contaminación a base de productos nitrogenados en la zona tropical mexicana.

Por otro lado, el hecho de que solo dos colonias presenten un alto índice enzimático sugiere que la zona central de Veracruz se mantiene en un estado de equilibrio en lo que respecta a la contaminación de origen proteico, independientemente de la temporada climática en la que nos encontremos.

Este hallazgo sugiere que, a pesar de las variaciones estacionales, la zona central de Veracruz mantiene una saludable bioestabilidad en términos de contaminación proteica. Esto tiene importantes implicaciones para la conservación de los ecosistemas costeros en la región, ya que sugiere que las actividades humanas no están teniendo un impacto significativo en la presencia de estas bacterias proteolíticas, lo que es un indicio positivo para la calidad del agua y la salud ambiental en la zona. Sin embargo, se necesita una

investigación adicional para confirmar estos resultados y comprender mejor las dinámicas detrás de esta aparente estabilidad.

## 11. RECOMENDACIONES

Para obtener una comprensión más completa del ciclo biogeoquímico del nitrógeno en la zona central de Veracruz y su relación con las bacterias con actividad proteolítica, se sugiere llevar a cabo un estudio de correlación entre la abundancia y el índice enzimático de estas bacterias y el contenido de nitrógeno total en el ambiente. Se recomienda utilizar el método de Kjeldahl para la medición precisa del nitrógeno total. Esta investigación proporcionaría información valiosa sobre cómo estas bacterias responden a las variaciones en los niveles de nitrógeno y cómo podrían influir en el ciclo biogeoquímico del nitrógeno en esta región costera.

Además, se sugiere llevar a cabo un estudio similar en una zona que experimente una alta descarga de fuentes nitrogenadas, ya sea debido a la actividad pesquera intensiva o a la presencia de mataderos con liberación de sanguaza. Este enfoque permitiría comparar los resultados con los obtenidos en la zona central de Veracruz, donde se ha observado una aparente estabilidad en la actividad proteolítica bacteriana. El contraste entre estas dos áreas podría revelar diferencias significativas y proporcionar una comprensión más profunda de cómo las fuentes de nitrógeno afectan a las bacterias proteolíticas en diferentes contextos.

Por otro lado, es importante señalar que esta investigación se basó en la abundancia de las colonias de bacterias que presentan actividad proteolítica, considerándolas como una población única. Un paso crucial para futuras investigaciones sería realizar un análisis de la diversidad bacteriana en cada una de las playas y evaluar si esta diversidad varía según el sitio de obtención de las muestras y las condiciones de la temporada climática.

## 12. LITERATURA CITADA

- Acuicultura, F. O. E. (2012). *La nutrición y alimentación en piscicultura*. Fundación Observatorio Español de Acuicultura. <https://books.google.com.mx/books?id=NEqkj2By-kEC>
- Aké-Castillo, J. A., Okolodkov, Y. B., Rodríguez-Gómez, C. F., y Campos-Bautista, G. (2014). Florecimientos algales nocivos en Veracruz: especies y posibles causas (2002-2012). *Golfo de México. Contaminación e Impacto Ambiental: Diagnóstico y Tendencias*. México: UAC, UNAM-ICMyL, CINVESTAV-Mérida, 133-146.
- Alvis, G. (2006). La hematología como herramienta indicadora de la salud en los peces. *Rev Electron Ing En Prod Acuicola*, 2(2), 4.
- Amin, M. (2018). Marine protease-producing bacterium and its potential use as an abalone probiont. *Aquaculture Reports*, 12, 30-35.
- Appleby, J. C. (1955). The isolation and classification of proteolytic bacteria from the rumen of the sheep. *Microbiology*, 12(3), 526-533.
- Barbier, E. B., Hacker, S. D., Kennedy, C., Koch, E. W., Stier, A. C., y Silliman, B. R. (2011). The value of estuarine and coastal ecosystem services. *Ecological monographs*, 81(2), 169-193.
- Barrera-Escorcia, G., y Namihira-Santillán, P. E. (2004). Contaminación microbiológica en la zona costera de Akumal, Quintana Roo, México. *Hidrobiologica*, 14(1), 27-35.
- Benintende, S., y Sanchez, C. (2002). Crecimiento bacteriano. *Cátedra Microbiología Agrícola*, 3.
- Benseny, G. (2006). El espacio turístico litoral. *Aportes y transferencias*, 10(2), 102-122.
- Botello, A. V. (2011). *Vulnerabilidad de las zonas costeras mexicanas ante el cambio climático*. Universidad Autónoma de Campeche. <https://books.google.com.mx/books?id=5DQlrgEACAAJ>
- Botello, A. V., Osten, J. R., Gold-Bouchot, G., y Agraz- Hernández, C. (2005). *Golfo de México: contaminación e impacto ambiental: diagnóstico y tendencias*. Univ. J. Autónoma de Tabasco.
- Bueno Zamora, J. L. (1978). *Evaluación de la calidad del agua en la Bahía de Acapulco*, Gro Universidad Autónoma de Nuevo León].

- Cabello, P., Roldan, M. D., y Moreno-Vivian, C. (2004). Nitrate reduction and the nitrogen cycle in archaea. *Microbiology*, 150(11), 3527-3546.
- Cámara, L. P. (1989). Contaminación Portuaria. *Revista Digital del Cedex*(69), 89-89.
- Carranza-Edwards, A. (1994). Zonificación del perfil de playa. *Geounam*, 2, 26-32.
- Castro, A., Capa, W., y Chávez, J. (2012). *Proteasas extracelulares producidas por bacterias extremófilas aisladas del ambiente marino*.
- Castro, A., y Contreras, R. (1992). Índices de surgencia costera inducida por el viento para la región nororiental de Venezuela. *La sardina (Sardinella ciurita) su medio ambiente y explotación en el oriente de Venezuela*, IRD Editions, Paris.
- Chávez-Dagostino, R. M., Bravo-Olivas, M. L., y Maldonado-Ibarra, Ó. A. (2018). El efecto del turismo en la calidad de vida de comunidades pesqueras en la costa de Jalisco, México. *Ciencia Pesquera*, 26(1), 101-109.
- Ciclo del Nitrógeno en el Suelo (8 de noviembre 2011): En Agroforestería  
<https://agroforesteria.wordpress.com/2011/11/08/ciclo-del-nitrogeno-en-el-suelo/>
- Cornejo, S. S., Buleje, V., Salvatierra, L., y Jaramillo, M. L. (2021). Isolation and identification of proteolytic, amylolytic, lipolytic, and chitinolytic bacteria from shrimp waste. *Revista peruana de biología*, 28(1), e18353-e18353.
- Cobas, H., Pavoni, S., Zayas, A., Rodríguez, F., Álvarez, E., y Contreras, R. (2007). Aplicación de la Voltametría en el Análisis del Crecimiento Microbiológico. VII Congreso de la Sociedad Cubana de Bioingeniería. La Habana, Cuba,
- Cuadrado, A. G. (1995). Notas sobre la teoría general de sistemas. *Revista general de información y documentación*, 5(1), 197.
- Curi, M. A. (2014). Evaluación de la actividad proteolítica y lipolítica de cepas para el tratamiento de efluentes de curtiembre. *Industrial data*, 17(1), 65-70.
- Daboor, S. M., Budge, S. M., Ghaly, A. E., Brooks, M. S., y Dave, D. (2012). Isolation and activation of collagenase from fish processing waste.
- Darnell, R. M. (1967). Organic detritus in relation to the estuarine ecosystem. *Estuaries*, 83, 376-382.
- del Giorgio, P. A., y Williams, P. I. B. (2005). The global significance of respiration in aquatic ecosystems: from single cells to the biosphere. *Respiration in aquatic ecosystems*, 1.

- Delgado, M., García, H., Hormigo, F., de la Torre, A. H., y Marante, R. A. (1992). Análisis microbiológico y fisicoquímico del agua de piscinas de la isla de Tenerife. *Revista de Sanidad e Higiene pública*, 66(1), 281-289.
- Domínguez Pérez, O. (1990). El Puerto de Veracruz: la modernización a finales de Siglo XIX.
- Estevao, B., y Pucci, O. H. (2005, 12/09). Caracterización de Bacterias con Actividad Proteolítica Aisladas de Muestras de Merluza (*Merluccius Hubbsi*). *FABICIB*, 8(1), 9-22. <https://doi.org/10.14409/fabicib.v8i1.731>
- FAO. (2018). *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2018. Cumplir los objetivos de desarrollo sostenible*. Licencia: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- Feng, Z., Reniers, A., Haus, B. K., Solo-Gabriele, H. M., y Kelly, E. A. (2016). Wave energy level and geographic setting correlate with Florida beach water quality. *Marine pollution bulletin*, 104(1-2), 54-60.
- Fernández-Tito, C. E. (2003). Relación entre la demanda bioquímica de oxígeno (DBQ) ya la demanda química de oxígeno (DQO) para sanguaza de pescado.
- Figueroa, V., Food, y Nations, A. O. o. t. U. (1997). *Tratamiento Y Utilización de Residuos de Origen Animal, Pesquero Y Alimenticio en la Alimentación Animal*. FAO. <https://books.google.com.mx/books?id=ssK1bNa3XsMC>
- Finkl, C. W., y Krupa, S. L. (2003). Environmental impacts of coastal-plain activities on sandy beach systems: hazards, perception and mitigation. *Journal of Coastal Research*, 132-150.
- Galbis Valiente, L. (2014). Influencia de la materia orgánica sobre los flujos de nutrientes en la interfase sedimento-agua.
- Galindo, L. A. G., Rivas, A. C., Melendez, J. P., y Mayorquín, N. (2020). Alternativas microbiológicas para la remediación de suelos y aguas contaminados con fertilizantes nitrogenados. *Scientia et technica*, 25(1), 172-183.
- García-Salgado, M. (2005). Environmental evaluation and development problems of the Mexican Coastal Zone. *Ocean & Coastal Management*, 48(2), 161-176.
- Garduño, A. (2000). *Determinacion del grado de contaminacion fecal en playas de recreo del Puerto de Veracruz, Mexico, en base al aislamiento cuantitativo de los generos Salmonella y Shigella* [Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México, México].

- Garre Pérez, A., Egea Larrosa, J. A., y Fernández Escámez, P. S. (2016). Modelos matemáticos para la descripción del crecimiento de microorganismos patógenos en alimentos.
- Glibert, P. M., Harrison, J., Heil, C., y Seitzinger, S. (2006). Escalating worldwide use of urea—a global change contributing to coastal eutrophication. *Biogeochemistry*, 77, 441-463.
- González, A. (2002). *Relación de la infauna con las características del sedimento en planicies de marea del Alto Golfo de California* Tesis de maestría en Ciencias). Centro de Investigación Científica y de ...].
- Guzmán Serrano, W. I., y Pastor Lorenzo, J. D. (2020). Efecto de microorganismos eficaces en el tratamiento de sanguaza proveniente de la empresa pesquera Panafoods SAC.
- Hakspiel-Segura, C., Canosa-Torrado, A., y Niño-García, J. P. (2015). Variación espacial y temporal del bacterioplancton en un reservorio de alta montaña en los Andes colombianos. *Hidrobiologica*, 25(1), 62-73.
- Hamdani, S., Asstiyani, N., Astriany, D., Singgih, M., y Ibrahim, S. (2019). Isolation and identification of proteolytic bacteria from pig sludge and protease activity determination. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science,
- Hamid, B., Jehangir, A., Baba, Z. A., Wani, M. A., y Khan, I. (2019). *Isolation and characterization of psychrotrophic proteolytic bacteria from landfill site under temperate climatic conditions of Kashmir Himalaya* (2167-9843).
- Hernández Hernández, S. E. (2020). Biotecnología marina (el mar como fuente de sustancias con potencial biomédico y/o biotecnológico).
- Herrera, A., y Suárez, P. (2005). Indicadores bacterianos como herramientas para medir la calidad ambiental del agua costera. *Interciencia*, 30(3), 171-176.
- Hidalgo, G., Castañeda-Chávez, M., Granados-Barba, A., y Brenda Elizabeth, B. (2016). Environmental variability of tropical sandy beaches across an anthropic gradient: the case of central Veracruz (Southwestern Gulf of Mexico). *International Journal of Environmental Research*, 10(4), 481-490.
- Horner-Devine, M. C., Carney, K. M., y Bohannon, B. J. (2004). An ecological perspective on bacterial biodiversity. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 271(1535), 113-122.

- Inat Trigueros, C. (2016). Estudio sobre el crecimiento de bacterias proteolíticas y lipolíticas en leche y quesos obtenidos a partir de cabras tratadas con Enrofloxacin.
- Janitzky, P. (1986). Organic Carbon (Walkley-Black. Field and laboratory procedures used in a soil chronosequence study(1648), 34.
- Jorge, L. F. (2020). *Métodos analíticos de microbiología general y aplicada*. Editorial Unimagdalena. <https://books.google.com.mx/books?id=XJbaDwAAQBAJ>
- Lango-Reynoso, F., Botello, A. V., y Castañeda-Chávez, M. (2019). Temas selectos de vulnerabilidad costera en el estado de Veracruz. *México: Universidad Autónoma de Campeche. Instituto de Ecología, Pesquerías y Oceanografía del Golfo de México (EPOMEX)*.
- Lara-Lara, J. R., Arenas-Fuentes, V., Bazán-Guzmán, C., Díaz-Castañeda, V., Escobar-Briones, E., García-Abad, M. d. I. C., Gaxiola-Castro, G., Robles-Jarero, G., Sosa-Avalos, R., y Soto-González, L. (2008). Los ecosistemas marinos. *Capital natural de México, 1*, 135-159.
- Lealem, F., y Gashe, B. (1994). Amylase production by a Gram-positive bacterium isolated from fermenting tef (*Eragrostis tef*). *Journal of Applied bacteriology, 77*(3), 348-352.
- Li, Y., Wu, C., Zhou, M., Wang, E. T., Zhang, Z., Liu, W., Ning, J., y Xie, Z. (2017). Diversity of cultivable protease-producing bacteria in Laizhou bay sediments, Bohai Sea, China. *Frontiers in microbiology, 8*, 405.
- Llorente, B. E. (2002). *Aislamiento, purificación, caracterización y producción in vitro de peptidasas de alcaucil coagulantes de la leche* Universidad Nacional de La Plata].
- Lozupone, C. A., y Knight, R. (2007). Global patterns in bacterial diversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences, 104*(27), 11436-11440.
- Marroquín, A., Olivares, J., Diaz, P., y L., C. (2019). *La ciencia y las mujeres en Mexico*. Handbooks-©ECORFAN.
- Martínez Ortega, R. M., Tuya Pendás, L. C., Martínez Ortega, M., Pérez Abreu, A., y Cánovas, A. M. (2009). El coeficiente de correlación de los rangos de Spearman caracterización. *Revista Habanera de Ciencias Médicas, 8*(2), 0-0.
- Masi, C., Gemechu, G., y Tafesse, M. (2021). Isolation, Screening, Characterization and Identification of Alkaline Protease Producing Bacteria from Leather Industry Effluent.

- Mayta-Apaza, A. C., García-Cano, I., Dabrowski, K., y Jiménez-Flores, R. (2021). Bacterial Diversity Analysis and Evaluation Proteins Hydrolysis During the Acid Whey and Fish Waste Fermentation. *Microorganisms*, 9(1), 100.
- Ministerio de la Producción. (2009). *Guía para la actualización del plan de manejo ambiental para que los titulares de los establecimientos industriales pesqueros alcancen el cumplimiento de los límites máximos permisibles (LMP) aprobados por decreto supremo n° 010- 2008-produce*.
- Molina Trincado, V. A. (2002). Flujos de nitrógeno orgánico disuelto (NOD), un indicador de la capacidad degradadora de los sedimentos costeros de Chile Central (36° S).
- Moraes, B. S., Zaiat, M., y Bonomi, A. (2015). Anaerobic digestion of vinasse from sugarcane ethanol production in Brazil: Challenges and perspectives. *Renewable and Sustainable energy reviews*, 44, 888-903.
- Ortiz-Lozano, L., Granados-Barba, A., Espejel, I., Salas-Pérez, J., y González-Gándara, C. (2015). La zona costera de Veracruz a Antón Lizardo: un análisis sobre la vulnerabilidad de sus servicios ambientales. *E-Bios*, 2(8), 151-178.
- Parra, H. R. A. (2015). Digestión anaeróbica: mecanismos biotecnológicos en el tratamiento de aguas residuales y su aplicación en la industria alimentaria. *Producción+ limpia*, 10(2), 142-159.
- Pérez, M. d. I. Á. (2012). *Estructura comunitaria de la macrofauna bentónica y su relación con la perturbación ambiental en la zona intermareal de Playa Villa del Mar, Veracruz, Golfo de México* [Tesis de Maestría, Universidad Veracruzana].
- Polanía, J. (2010). Indicadores biológicos para el monitoreo de puertos en Colombia. *Gestión y Ambiente*, 13(3), 75-86.
- Prihanto, A. A., Nurdiani, R., Muyasharoh, H., y Afifah, J. (2020). Identification of Protease-Producing Halophilic Bacteria Isolated from Salt-Pond Soil. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 12(1), 181-187.
- Rahman, M. S., Islam, M. R., Mondol, O. K., Rahman, M. S., Sabrin, F., y Zohora, U. S. (2018). Screening of protease producing bacteria from tannery wastes of leather processing industries at Hazaribag, Bangladesh. *Jahangirnagar University Journal of Biological Sciences*, 7(1), 23-34.

- Ramírez, N., Sandoval, A., y Serrano, J. (2004). Las bacterias halófilas y sus aplicaciones biotecnológicas. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 24(1-2), 12-23.
- Ramkumar, A., Sivakumar, N., Gujarathi, A. M., y Victor, R. (2018). Production of thermotolerant, detergent stable alkaline protease using the gut waste of *Sardinella longiceps* as a substrate: Optimization and characterization. *Scientific reports*, 8(1), 1-15.
- Ramos-Ortega, L. M., Vidal, L. A., Vilardy, S., y SAAVEDRA-DÍAZ, L. (2008). Análisis de la contaminación microbiológica (coliformes totales y fecales) en la Bahía de Santa Marta, Caribe colombiano. *Acta Biológica Colombiana*, 13(3), 87-98.
- Rao, M. B., Tanksale, A. M., Ghatge, M. S., y Deshpande, V. V. (1998). Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. *Microbiology and molecular biology reviews*, 62(3), 597-635.
- Rebah, F. B., y Miled, N. (2013). Fish processing wastes for microbial enzyme production: a review. *3 Biotech*, 3(4), 255-265.
- Resistencia a antibioticos (4 de marzo 2020): En wikipedia [https://es.wikipedia.org/wiki/Resistencia\\_a\\_antibi%C3%B3ticos](https://es.wikipedia.org/wiki/Resistencia_a_antibi%C3%B3ticos)
- Reyna-González, P. C., Paredes-Lizama, D. E., Lango-Reynoso, F., Castañeda-Chávez, M. d. R., y Montoya-Mendoza, J. (2022). Incorporación del análisis espacial para la caracterización de residuos y su impacto en el sistema de lagunas interdunarias de la ciudad de Veracruz, México. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 38.
- Rice, E. W., Bridgewater, L., y Association, A. P. H. (2012). *Standard methods for the examination of water and wastewater* (Vol. 10). American public health association Washington, DC.
- Rodas, E. (2016). Actividad hidrolítica de aislados bacterianos con potencial aplicación en el tratamiento de efluentes de frigorífico. *Revista Colombiana de Ciencia Animal-RECIA*, 8(1), 37-43.
- Rodas, E., y Botello, W. (2016). Actividad hidrolítica de aislados bacterianos con potencial aplicación en el tratamiento de efluentes de frigorífico. *Revista Colombiana de Ciencia Animal-RECIA*, 8(1), 37-43.
- Salas-Pérez, J. d. J., y Granados-Barba, A. (2008). Oceanographic characterization of the Veracruz reefs system. *Atmósfera*, 21(3), 281-301.

- Sánchez Domínguez, B. E. (2015). El género *Enterococcus* como contaminante en la zona intermareal en playas arenosas de Veracruz-Boca del Río.
- Sánchez Montero, J. M. (2009). Biotecnología blanca e industria farmacéutica. *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia*,
- Sánchez, T., León, J., Woolcott, J., y Arauco, K. (2004). Proteasas extracelulares producidas por bacterias marinas aisladas de aguas contaminadas con efluentes pesqueros. *Revista peruana de biología*, 11(2), 179-186.
- Schlacher, T. A., Schoeman, D. S., Dugan, J., Lastra, M., Jones, A., Scapini, F., y McLachlan, A. (2008). Sandy beach ecosystems: key features, sampling issues, management challenges and climate change impacts. *Marine ecology*, 29, 70-90.
- Sospedra Ciscar, J. (2011). Flujos de nutrientes a través de la interfase sedimento-agua en fondos de arenas finas y su relación con los factores físico-químicos del sedimento.
- Sussmann, O., Mattos, L., y Restrepo, A. (2002). Resistencia bacteriana. *Univ Med*, 43(1), 20-26.
- Swapna, H. C., Amit Kumar, R., Halami, P. M., y Sachindra, N. M. (2011). Isolation and characterization of potential lactic acid bacteria (LAB) from freshwater fish processing wastes for application in fermentative utilisation of fish processing waste. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42, 1516-1525.
- Tejeda Martínez, A. (1995). Consideraciones climáticas y de riesgos meteorológicos para la planeación urbana en Veracruz y Boca del Río.
- Tennalli, G., Udupudi, B., y Naik, P. (2012). Isolation of proteolytic bacteria and characterization of their proteolytic activity. *International Journal of Advances in Engineering, Science and Technology (IAEST)*, 2(3).
- Torres Alvarado, M. d. R., Fernández, F., Barriga Sosa, I. d. I. Á., y Ramírez Vives, F. (2006). Dinámica de las bacterias anaeróbicas en las fases terminales de la mineralización de la materia orgánica en el sedimento de los ecosistemas Carretas-Pereyra y Chantuto-Panzacola. *Hidrobiologica*, 16(2), 183-195.
- Torres, A. R., y Calva, B. L. G. (2004). Contaminación bacteriológica: problemas en las zonas costeras *ContactoS*, 51, 57-68.
- Tropeano, M., Vázquez, S., Coria, S., Turjanski, A., Cicero, D., Bercovich, A., y Mac Cormack, W. (2013). Extracellular hydrolytic enzyme production by proteolytic bacteria from the Antarctic. *Polish Polar Research*, 253-267-253-267.

- Urakawa, H., Kita-Tsukamoto, K., y Ohwada, K. (1999). Microbial diversity in marine sediments from Sagami Bay and Tokyo Bay, Japan, as determined by 16S rRNA gene analysis. *Microbiology*, 145(11), 3305-3315.
- Valadez Rocha, V. (2013). Evaluación de la vulnerabilidad de las playas ante los efectos no deseados por la construcción de obras de protección costera en la Zona Metropolitana de Veracruz.
- Valdor, M. L., y Pérez, J. L. (2017). *Importancia de las playas arenosas en el reciclaje de la materia orgánica* Universidad de Vigo].
- Valeria, L. (2019). *Antecedentes, características generales de las enzimas* Universidad Nacional Agraria de la Selva, J. Tingo Maria, Peru.
- Varela, G., y Grotiuz, G. (2008). Fisiología y metabolismo bacteriano. *Uruguay, Editorial Cefa*, 43-58.
- Vázquez, S., Hernández, E., y Mac Cormack, W. (2008). Extracellular proteases from the Antarctic marine *Pseudoalteromonas* sp. P96-47 strain. *Revista Argentina de microbiología*, 40(1), 63-71.
- Ventura Cueva, S. P. (2017). Tratamiento de sanguaza de pescado del mercado de ancón utilizando micro-nanoburbujas de aire a escala laboratorio.
- Ventura, S., y Flores, J. V. (2017). Treatment of sanguaza from Ancon market using air micro-nanobubbles at laboratory scale. *Journal of Nanotechnology*, 1(2), 46-58.
- Wibowo, R. L. M. S. A., Fitriyanto, N. A., Pertiwiningrum, A., y Bachruddin, Z. (s.f.). Isolation of Bacteria Producing Enzyme Collagenase From Waste of Pufferfish (*Arothron reticularis*) Skin. International Seminar on Tropical Animal Production (ISTAP),
- Zaragoza Carmona, J. A. J. (2011). Aislamiento de cepas de bacillus sp. productoras de proteasas con potencial uso industrial.
- Zárate-Lomelí, D. (2004). Instrumentos para la gestión y el manejo de la zona costera de México. *El manejo costero en México. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Centro de Ecología, Pesquerías y Oceanografía del Golfo de México, CETYS-Universidad, Universidad de Quintana Roo*, 39-50.