



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 MEXICO

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE BOCA DEL RÍO

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

**“CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA DE BACTERIAS HETERÓTROFAS EN PLAYAS
DE LA ZONA COSTERA CENTRAL DE VERACRUZ CON DIFERENTE GRADO DE
PERTURBACIÓN ANTROPOGÉNICA”**

TESIS

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

PRESENTA

VINIZA UREÑA RODRÍGUEZ

DIRECTOR DE TESIS

MC. CHRISTIAN REYES VELÁZQUEZ

CO-DIRECTOR

DRA. MARIA DEL REFUGIO CASTAÑEDA CHAVEZ

ASESOR

DR. ALEJANDRO GRANADOS BARBA

ASESOR

DRA. ISABEL ARACELI AMARO ESPEJO

7 DE JUNIO DEL 2023 BOCA DEL RIO, VERACRUZ.



Km. 12 Carretera Veracruz-Córdoba, Boca del Río, Ver. C.P. 94290.

Tel. (229) 690 5010 ext. 113 depi_bdelrio@tecnm.mx | tecnm.mx | bdelrio.tecnm.mx



2023
Francisco
VILLA
EL REVOLUCIONARIO DEL NOROCCIDENTE



ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

Número Registro: **A-01315-150921**

En la ciudad de Boca del Río, Ver., siendo las 12:00 horas del día 23 del mes de junio 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:

"CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA DE BACTERIAS HETERÓTROFAS EN PLAYAS DE LA ZONA COSTERA CENTRAL DE VERACRUZ CON DIFERENTE GRADO DE PERTURBACIÓN ANTROPOGÉNICA"
Que presenta el (la) alumno(a):

VINIZA UREÑA RODRÍGUEZ

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:

MC. CHRISTIAN REYES VELÁZQUEZ
Director

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

DR. ALEJANDRO GRANADOS BARBA
Asesor

DRA. ISABEL ARACELI AMARO ESPEJO
Asesor





Boca del Río, Ver., **7/JUNIO/2023**

Asunto: **CONSTANCIA DE
NO INCONVENIENCIA**

ING. VICTOR HUGO MUÑOZ ROBLEDO
JEFE DEL DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
Presente.

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

Por medio del presente, me permito hacer constar que el(a) candidato(a) a Maestro en Ciencias en Ingeniería Ambiental **C. VINIZA UREÑA RODRÍGUEZ**, de la generación marzo 2021-marzo 2023 con número de control **21990014**, cumplió con todos los requisitos para su liberación como tesista, mismos que incluyen la presentación del manuscrito final de tesis autorizado por su director de tesis **MC. CHRISTIAN REYES VELÁZQUEZ** y el envío del artículo derivado de su tesis de grado a una revista indexada.

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

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

A T E N T A M E N T E

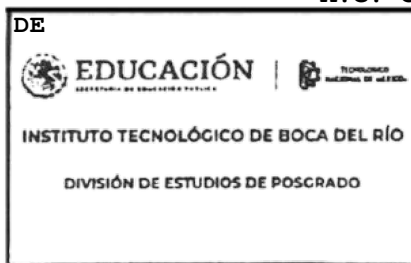
Excelencia en Educación Tecnológica®
Por nuestros mares responderemos

Vo.Bo.

DR. JUAN DAVID GARAY MARIN
JEFE DE LA DIVISION DE ESTUDIO DE
POSGRADO E INVESTIGACION

M.C. CHRISTIAN REYES VELÁZQUEZ
DIRECTOR DE TESIS

c.c.p. Coordinador de MCIAMB
c.c.p. Expediente



Boca del Río, Ver **7/JUNIO/2023**

ASUNTO: AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN

VINIZA UREÑA RODRÍGUEZ
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:

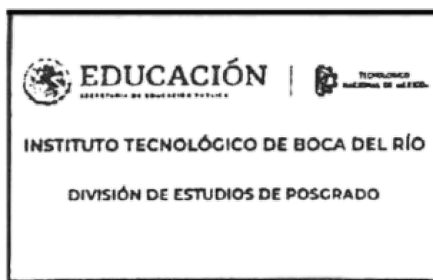
“CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA DE BACTERIAS HETERÓTROFAS EN PLAYAS DE LA ZONA COSTERA CENTRAL DE VERACRUZ CON DIFERENTE GRADO DE PERTURBACIÓN ANTROPOGÉNICA”

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



DEDICATORIA

A Niza, por ser mi compañera una vez más, por su apoyo incondicional, por ayudarme en aquellos momentos en los que no encontraba una respuesta, por escucharme y aconsejarme, por enseñarme con paciencia y dedicación temas de Bioquímica que me resultaban muy complejos, por esas noches de desvelos llenos de risas en donde charlábamos sobre este trabajo que al final he logrado completar.

A mi Bichito precioso, a ti Viani por ser luz en mi sendero, por hacerme querer ser mejor cada día.

A mis padres, por la confianza que han puesto en mí y por apoyarme en cada una de mis decisiones, por su paciencia y comprensión.

A ti mi Dios, porque una vez reafirmo que las cosas pasan por algo, que hay sucesos que tienen que ocurrir para hacernos más fuertes, confiables y decididos.

A ti que escribiste esto, por poner todo el corazón en lo que haces, por demostrarte que puedes seguir avanzando aun sin importar los obstáculos.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Instituto Tecnológico de Boca del Río (ITBoca) por abrirme las puertas y poder así, desarrollar mi trabajo de investigación y al mismo tiempo al CONACYT por haberme otorgado una beca para realizar mis estudios de Maestría.

Al MC. Christian Reyes Velázquez por su guía y orientación durante todo el proceso de la investigación, por animarme y motivarme a participar en congresos científicos, por la revisión continua del trabajo de tesis.

A mi codirectora, la Dra. María del Refugio Castañeda Chávez por todo el apoyo para que este trabajo se realizara con éxito, por brindarme los recursos y estar al pendiente en cada paso del proceso.

A mis asesores, el Dr. Alejandro Granados Barba por compartir conmigo todos sus conocimientos sobre las playas, así como sus acertados comentarios que me hicieron replantearme varios puntos de este trabajo y a la Dra. Isabel Araceli Amaro Espejo por sus observaciones muy exactas en la revisión del manuscrito.

A la MC. Juana Karina Arvizu Coyotzi por brindarme su conocimiento y apoyo para la recogida de muestras en campo.

A Kati Sobrevilla, con quien inicié esta aventura, por brindarme una amistad sincera; por compartir conmigo noches de desvelos y esperarme hasta tarde cuando el trabajo se ponía difícil; por ser mi compañera de viajes y anécdotas que recordaré por siempre.

A Susana Almaraz, quien me demostró que si hay voluntad todo se puede lograr, por sus ánimos y consejos, me llevo de ti una amistad muy bonita.

Agradezco también a mi compañero Ricardo Martínez, por el apoyo brindado cuando recién inicié mi estadía en el ITBoca, y por compartir conmigo sus conocimientos en el laboratorio del área microbiológica.

A mis compañeros y amigos de laboratorio Laura, Marimar y Ángel, por compartir tantos momentos divertidos en las tardes del LIRA.

Por último y no menos importante, a los chicos de servicio social quienes me brindaron su apoyo y me dieron la oportunidad de enseñarles técnicas de microbiología.

A todos ustedes, infinitamente gracias.

RESUMEN

Antes de las actividades antropogénicas, el océano costero global era un sistema autótrofo neto, a partir de la actividad humana y el cambio de la tierra se han alterado drásticamente el transporte de sedimentos y bioelementos a la zona costera, propiciando un debate sobre si esta zona es autótrofa o heterótrofa. Se realizó un estudio exploratorio de cinco playas arenosas de la zona costera central del estado de Veracruz; tres playas urbanas (Antepuerto, Villa del Mar y Mocambo), dispuestas sobre un gradiente de actividades antropogénicas en la Zona Metropolitana de Veracruz (ZMV) y dos playas naturales, no urbanizadas (Farallón y Arroyo Gioté) alejadas de la ZMV. Lo anterior, con la finalidad de conocer las concentraciones y características bioquímicas de los grupos bacterianos heterótrofos encontrados durante dos temporadas contrastantes en la región, estiaje y lluvias. Al mismo tiempo, se ofrece un amplio panorama de lo que se encuentra al estudiar a fondo la parte microbiológica de los sedimentos marinos; además de conocer la influencia de dicho gradiente antropogénico sobre la capacidad bacteriana. Se recolectaron muestras de sedimentos marinos superficiales en cada sitio utilizando un nucleador de 60 cm³, mismas que se llevaron al laboratorio para su preservación por medio de la técnica de microcosmos. Se realizaron diluciones seriadas con solución madre de fosfatos para cuantificar la concentración de grupos heterótrofos (UFC/g), siguiendo la técnica de Cuenta en Placa y, mediante análisis estadísticos, se determinó el factor con mayor efecto sobre la concentración obtenida. Asimismo, se aislaron cultivos puros en medio TSA y, haciendo uso de una batería de pruebas diversas, se analizaron las capacidades metabólicas, enzimáticas y de tolerancia a la salinidad y temperatura para determinar las características bioquímicas de los grupos aislados. Dentro de los resultados obtenidos, se encontraron concentraciones más altas en dos playas urbanas, Mocambo y Villa del Mar (2.9E+06 UFC/10 g y 2.6E+06 UFC/10g, respectivamente). Los estadísticos mostraron que el factor sitio ejerce mayor efecto sobre las concentraciones de bacterias heterótrofas que el factor temporada, mientras que, la caracterización bioquímica demostró la capacidad de las bacterias heterótrofas a adaptarse a las condiciones del medio al responder positivamente a la gran mayoría de las pruebas a las que fueron sometidas. La presencia de bacterias heterótrofas demostró ser un reflejo del grado de perturbación antropogénica que presenta cada playa, teniendo tendencia a concentrarse principalmente en aquellas cercanas al núcleo urbano, por otra parte, fue evidente que el gradiente de perturbación antropogénica no influyó en la diversidad de características bioquímicas, lo que conlleva a plantear el estudio de las playas de forma individual.

Palabras clave: bacterias heterótrofas, bioquímica, playas, zona costera.

ABSTRACT

Prior to anthropogenic activities, the global coastal ocean was a net autotrophic system, human activity and land change have drastically altered the transport of sediments and bioelements to the coastal zone, leading to debate on whether this zone is autotrophic or heterotrophic. An exploratory study of five sandy beaches in the central coastal zone of the state of Veracruz was carried out; three urban beaches (Antepuerto, Villa del Mar and Mocambo), arranged on a gradient of anthropic activities in the Veracruz Metropolitan Area (ZMV) and two undeveloped natural beaches (Farallón and Arroyo Giote) far from the ZMV. The above, in order to know the concentrations and biochemical characteristics of the heterotrophic bacterial groups found during two contrasting seasons in the region, dry season and rainy season. At the same time, a broad panorama of what is found when studying in depth the microbiological part of marine sediments is offered; in addition to knowing the influence of said anthropogenic gradient on bacterial capacity. Samples of superficial marine sediments were collected at each site using a 60 cm³ corer, which was taken to the laboratory for preservation using the microcosm technique. Serial dilutions were made with phosphate stock solution to quantify the concentration of heterotrophic groups (UFC/g), following the Plate Count technique and, through statistical analysis, the factor with the greatest effect on the concentration obtained was determined. Likewise, pure cultures were isolated in TSA medium and, using a battery of diverse tests, the metabolic, enzymatic and tolerance to salinity and temperature capacities were analyzed to determine the biochemical characteristics of the isolated groups. Among the results obtained, higher concentrations were found in two urban beaches, Mocambo and Villa del Mar (2.9E+06 CFU/10g and 2.6E+06 CFU/10g, respectively). The statistics showed that the site factor exerts a greater effect on the concentrations of heterotrophic bacteria than the season factor, while the biochemical characterization demonstrated the ability of heterotrophic bacteria to adapt to environmental conditions by responding positively to the vast majority of the tests to which they were subjected. The presence of heterotrophic bacteria proved to be a reflection of the degree of anthropogenic disturbance that each beach presents, with a tendency to concentrate mainly on those close to the urban nucleus, on the other hand, it was evident that the anthropogenic disturbance gradient did not influence the diversity of characteristics. biochemical, which leads to consider the study of the beaches individually.

Keywords: heterotrophic bacteria, biochemistry, beaches, coastal zone.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	i
ABSTRACT	ii
ÍNDICE GENERAL.....	iii
ÍNDICE DE CUADROS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL.....	3
2.1 Zona costera.....	3
2.1.1 Contaminación de la zona marino-costera.....	3
2.1.2 Sectores de impacto en la zona costera	4
2.1.3 Biogeoquímica de las costas	4
2.1.4 Ciclo del carbono en las zonas costeras.....	5
2.2 Playas.....	7
2.2.1 Tipo de playas	8
2.2.2 Sedimentos	8
2.2.3 Sistema intersticial.....	9
2.2.5 El oxígeno en un sistema intersticial.....	9
2.2.6 Nutrientes en los sedimentos de playas	10
2.3 La playa como sistema ambiental	11
2.4 Perturbación antropogénica	12
2.5 Teoría de la evolución de las especies	13
2.6 Teoría de la homeostasis.....	13
2.7 Bacterias heterótrofas	13
2.8 Usos de bacterias en la biotecnología.....	14
III. MARCO DE REFERENCIA	15
3.1 Antecedentes.....	15
3.2 Área de estudio.....	16
IV. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	17
4.1 Situación Problemática	17
4.2 Delimitación del problema.....	17
4.3 Planteamiento del Problema	19
4.4 Vacío del conocimiento	19

4.5 Frontera del conocimiento.....	19
4.6 Justificación	19
4.7 Pregunta de investigación.....	20
V. HIPÓTESIS.....	21
VI. OBJETIVOS	22
6.1 General.....	22
6.2 Específicos	22
VII. MATERIAL Y MÉTODOS	23
7.1 Selección de los sitios de estudio	23
7.1.1 Descripción de los sitios de estudio.....	24
7.2 Muestreo.....	25
7.2.1 Recolección y transporte de las muestras	26
7.3 Trabajo de laboratorio.....	26
7.4 Mantenimiento de las muestras	27
7.5 Análisis microbiológico de las muestras.....	28
7.5.1 Preenriquecimiento.....	28
7.5.2 Cuantificación bacteriana	29
7.5.3 Caracterización bacteriana.....	30
7.6 Pruebas bioquímicas	35
7.6.1 Oxidasa.....	35
7.6.2 Catalasa	36
7.6.3 Citrato de Simmons	36
7.6.4 Fermentación de hidratos de carbono	37
7.6.5 Resistencia a la temperatura	38
7.6.6 Resistencia a 0% y 10% de NaCl	39
7.7. Descripción del análisis de los datos.....	39
7.7.1 Cálculo de la concentración de heterótrofas aerobias	39
7.7.2 Determinación del factor con mayor influencia sobre las concentraciones de bacterias heterótrofas.....	40
7.7.3 Integración de datos de las características bioquímicas	40
VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	41
8. 1 Concentración de bacterias heterótrofas.....	41
8.2 Identificación del factor con influencia en las concentraciones de bacterias heterótrofas.....	43

8.2.1 Análisis estadístico (temporalidad climática y sitio muestreado)	44
8.2.2 Estadísticos descriptivos	44
8.2.3 Gráficos estadísticos	45
8.3 Determinación de las características bioquímicas de los grupos bacterianos heterótrofos	47
8.3.1 Número de aislados por sitio de muestreo.....	47
8.3.2 Diversidad bioquímica	49
8.3.3 Pruebas metabólicas y enzimáticas (resultados)	51
8.3.4 Pruebas de tolerancia a la temperatura y salinidad	57
IX. CONCLUSIONES	60
X. RECOMENDACIONES	61
XI. REFERENCIAS	62
APÉNDICE 1. PREPARACIÓN DE REACTIVOS	77
APÉNDICE 2. PREPARACIÓN DE AGARES Y MEDIOS DE CULTIVO	79
APÉNDICE 3. GALERÍA DE PRUEBAS BIOQUÍMICAS Y ENZIMÁTICAS	82

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Sectores que influyen en el deterioro de la zona costera y sus fuentes de impacto. ...4	
Cuadro 2. Diferencias entre las playas estudiadas en base a sus incidencias antropogénicas. 24	
Cuadro 3. Productos y reactivos utilizados en la caracterización bioquímica de los sitios de estudio.33	
Cuadro 4. Aplicaciones biotecnológicas de la enzima catalasa.36	
Cuadro 5. Procedimiento de selección de la dilución óptima.40	
Cuadro 6. Promedio de la variable respuesta UFC/10 g por playa durante las temporadas de estiaje y lluvias.41	
Cuadro 7. Estadístico descriptivo de la concentración de bacterias heterótrofas (UFC/10 g) durante dos temporadas climáticas.44	
Cuadro 8. Estadístico descriptivo de la concentración de bacterias heterótrofas (UFC/10 g) de los sitios muestreados.45	
Cuadro 9. Número de aislados en los diferentes sitios de estudio durante estiaje y lluvias.48	
Cuadro 10. Respuesta de las bacterias heterótrofas a la batería de pruebas realizadas49	
Cuadro 11. Número de grupos bacterianos capaces de descarboxilar la Lisina y Ornitina.56	
Cuadro 12. Número de grupos bacterianos que generan productos estables ácidos y neutros.56	

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo del carbono en la zona costera. Principales reservorios y flujo de carbono orgánico e inorgánico. Elaborado a partir de Ver et al. (1999).	6
Figura 2. Playa típica de arena. Elaborado a partir de McLachlan & Brown (2006).....	7
Figura 3. Tipo de playas. Desde un estado reflexivo (parte inferior de la figura) hasta un estado disipativo (parte superior de la figura). Elaborado a partir de Bermúdez et al. (2003).	8
Figura 4. Gradiente químico en a) playa de arena fina con baja energía, capas reducidas de bajo oxígeno y disipativas; b) playa de arena gruesa completamente oxigenada de alta energía del tipo intermedio o reflexiva. Obtenido de McLachlan & Turner (1994).	10
Figura 5. Interacción de los ciclos de nitrógeno y fósforo en función de las concentraciones de oxígeno en la zona costera. Elaborado a partir de Voss et al. (2011).	11
Figura 6. Las playas de arena como sistemas socioecológicos, mostrando sus principales componentes biofísicos y sociales, servicios ecosistémicos, así como los principales impulsores y presiones que las afectan. Obtenido de Defeo et al. (2021).	12
Figura 7. Esquema de la situación problemática en playas.	18
Figura 8. Ubicación de los sitios de muestreo. Elaborado en ArcGIS.	23
Figura 9. Playas de la zona costero central de Veracruz. A) Farallón, B) Antepuerto, C) Villa del Mar, D) Mocambo, E) Arroyo Giote.	25
Figura 10. Ubicación de transectos a diferentes niveles de marea.	26
Figura 11. Proceso de recogida de muestra. A) Toma de muestra con nucleador, B) Vertido de muestra en bolsa estéril, C) Muestras recolectadas depositadas en hielera.	26
Figura 12. Diagrama de actividades realizadas en la fase experimental del proyecto.	27
Figura 13. Técnica de microcosmos. A) Solución salina, B) Pesado de muestra, C) Vaciado de muestra en solución salina.	28
Figura 14. Tubos preenriquecidos con solución reguladora de fosfatos.	29
Figura 15. Procedimiento para la elección de la dilución óptima a emplear en la técnica de Cuenta en Placa. Elaborado en BioRender.	29
Figura 16. Ejecución de la técnica Cuenta en Placa para el conteo de colonias. Elaborado en BioRender.	30
Figura 17. Conteo del creimiento bacteriano. A) Técnica de conteo, B) Crecimiento en medio Cuenta en Placa perteneciente a la playa Farallón, C) Duplicado.	30
Figura 18. Procedimiento para el aislamiento de colonias. Elaborado en BioRender.	31
Figura 19. Bacterias aisladas en el proceso de siembra. Descripción: A) Colonia grande, amarillenta, aparentemente circular, reseca y plana, con textura en el interior, B) Colonia mediana, circular, crema, viscosa rellena, C) Colonia pequeña, circular, crema, viscosa rellena.	32
Figura 20. Aislamiento de cultivos puros en cajas Petri. A) Crecimiento de una colonia aislada de color crema con textura viscosa, B) Crecimiento de una colonia aislada de color amarillento con textura viscosa, C) Crecimiento de una colonia aislada de color crema con textura reseca.	32
Figura 21. Procedimiento para preparar batería de pruebas en tubos de ensayo. Elaborado en BioRender.	35
Figura 22. Crecimiento bacteriano sobre la superficie del medio TSA.	35
Figura 23. Concentración de bacterias aerobias heterótrofas durante las temporadas de estiaje y lluvias.	42

Figura 24. Gráfica de cajas de la relación concentración de bacterias heterótrofas en función de la temporada en donde “a” representa similitud entre los datos.....	46
Figura 25. Relación de la concentración de bacterias heterótrofas en función del sitio, en donde “a” agrupa a las cajas con datos similares y “b” agrupa a las cajas con datos similares que se diferencian de “a”.	47
Figura 26. Porcentaje de grupos heterótrofos aislados para las temporadas de estiaje y lluvias.	48
Figura 27. Variación porcentual de bioquímicas durante la temporada climática de estiaje. En donde Ox: Oxidasa, Cat: Catalasa, Cit: Citrato, HC: Hidratos de carbono y Temp: Temperatura.	50
Figura 28. Variación porcentual de bioquímicas durante la temporada climática de lluvias. En donde Ox: Oxidasa, Cat: Catalasa, Cit: Citrato, HC: Hidratos de carbono y Temp: Temperatura.	50
Figura 29. Porcentajes de la presencia de la enzima oxidasa.....	52
Figura 30. Porcentajes de la presencia de la enzima catalasa.....	53
Figura 31. Porcentajes de la capacidad degradadora de citrato como única fuente de carbono.	54
Figura 32. Porcentajes de la degradación de los hidratos de carbono.	55
Figura 33. Porcentajes del crecimiento bacteriano a 42°C.....	57
Figura 34. Porcentajes del crecimiento bacteriano con 0% de NaCl.	58
Figura 35. Porcentajes del crecimiento bacteriano con 10% de NaCl.	59

I. INTRODUCCIÓN

Las regiones costeras son espacios ampliamente variables en características físicas, geomorfológicas, bióticas y climáticas que, sumado a su gran belleza para el ojo humano, su alta accesibilidad y los múltiples servicios ecosistémicos que ofrecen, son preferidas como sitios recreativos y de vivienda para la creciente población humana (Martínez *et al.*, 2007). Desde un enfoque ecológico-económico, los sistemas costeros incluyen servicios de regulación como la estabilización de la costa, la regulación de nutrientes, el secuestro de carbono, la desintoxicación de aguas contaminadas y la eliminación de desechos; servicios de aprovisionamiento como el suministro de alimentos, recursos energéticos y productos naturales; servicios recreativos tales como medios de vida costeros, transporte marítimo, turismo y recreación nacionales e internacionales (Béné *et al.*, 2011). Convirtiéndose estos servicios costeros de gran valor, no solo para las comunidades locales que viven en la zona (especialmente en los países en desarrollo), sino también para las economías nacionales y el comercio mundial (Peterson & Lubchenco, 1997; Martínez *et al.*, 2007; Béné *et al.*, 2011; Defeo *et al.*, 2021).

Existe evidencia que sugiere que la degradación del hábitat y la calidad del agua, así como los cambios en la estructura y la abundancia de las pesquerías, han sido el resultado de aumentos en el desarrollo comercial y residencial, agricultura, ganadería, suelo y pérdida de sedimentos (Werner & Blanton, 2019). Dado que los recursos de las zonas costeras son atractivos para las personas, las costas del mundo son puntos focales para las actividades humanas (Culliton *et al.*, 1990; Martínez *et al.*, 2007; Yan *et al.*, 2020), como la pesca, acuicultura, agricultura, silvicultura, minería, petroquímica, energía eléctrica, portuaria, urbanismo, turismo y recreación (DOF, 2018).

La zona costera experimenta una severa presión antrópica cuyo efecto sinérgico la pone en riesgo; si bien, los fenómenos naturales moldearon el medio costero en el pasado, el futuro será definido por procesos naturales y antropogénicos operando de manera conjunta (Werner & Blanton, 2019), adquiriendo relevancia los estudios de monitoreo y evaluación ambiental de la costa; sin embargo, estos se han centrado en los cambios morfológicos y en el uso del suelo, así como en los efectos ecológicos, ambientales y socioeconómicos del cambio (Boak & Turner, 2005). Las actividades humanas y la erosión han alterado los patrones espaciales y del uso del suelo provocando grandes cambios en la estructura y el valor del ecosistema costero (Murray *et al.*, 2019; Yan *et al.*, 2020; Bushra *et al.*, 2021). Se alteran las condiciones límite de las marejadas ciclónicas con pérdida de hábitats y erosión (Wang *et al.*, 2016; Smith *et al.*, 2021); asimismo, se vierten contaminantes como aguas residuales industriales y municipales (Yu *et al.*, 2021) afectando el valor del servicio ecosistémico de la costa (Wang *et al.*, 2021).

La zona costera se ha convertido en un reservorio de contaminantes que pueden ser tóxicos y peligrosos para la biota y la salud humana (Aguilar, 2010), o que pueden cambiar las condiciones ambientales e hidrológicas como temperatura, pH y salinidad. En el caso de los microorganismos se puede propiciar que ciertos grupos se adapten a sobrevivir a pesar de estos cambios drásticos (Martínez-Alonso & Gaju, 2005) adquiriendo relevancia ecológica al ser capaces de degradar compuestos contaminantes dentro de los sistemas ambientales conformando un frente contra dicho deterioro (Kieft *et al.*, 1997; Boschker *et al.*, 2001; Pucci *et al.*, 2009).

Las bacterias como reguladores del flujo de material contaminante dentro de un sistema ambiental tienen la capacidad de detectar cambios externos y responder en consecuencia, ajustando su comportamiento a señales específicas como alteraciones en la temperatura y limitación de nutrientes o modificando su entorno local para facilitar el crecimiento, demostrando su versatilidad metabólica y su adaptabilidad a condiciones variantes (Semenov, 2022). Las bacterias al igual que otros microorganismos suelen presentar cambios en la composición de sus comunidades a lo largo de ciertos períodos de tiempo, estas se adaptan a las condiciones ambientales prevalecientes provocando una rotación de especies, por lo que patrones estacionales son capaces de regir y producir la floración de una gran diversidad bacteriana (Yannarell & Kent, 2009). Es de gran importancia conocer la diversidad de microorganismos que habitan los ambientes costeros presionados, ya que permite evaluar la resistencia que ellos tienen a las perturbaciones antropogénicas y si son capaces de degradar materiales contaminantes usándolos como fuente de energía (Martínez-Alonso & Gaju, 2005; Gómez-García *et al.*, 2006).

El estudio de la variación espacio-temporal de bacterias heterótrofas en una zona presionada por actividades antropogénicas, además de brindar información sobre la distribución cuantitativa, provee conocimientos sobre los cambios en el estado de dicho espacio, al ser comparada la abundancia de estas bacterias durante diferentes períodos. Se genera una línea base de información precedente para futuras investigaciones que contemplen el deterioro de la zona costera desde un enfoque microbiológico y para la implementación de un posterior programa de monitoreo ambiental. Es por esto, que el objeto de estudio en este trabajo de investigación fueron las bacterias heterótrofas, se analizaron sus características bioquímicas para la generación de conocimiento aplicable a potencial biotecnológico y se obtuvieron las concentraciones de la presencia durante las temporadas de lluvias y estiaje.

II. MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL

2.1 Zona costera

La zona costera es el espacio en donde ocurre la interacción entre continente y el mar y, en consecuencia, se produce una mezcla de agua dulce con agua salada; estando expuesta así a un estado de cambio constante, la cual varía de forma natural de acuerdo al régimen de corrientes y olas, clima y la actividad biológica (Steer *et al.*, 1997; Millennium Ecosystem Assessment, 2005). Una definición más completa que involucra a la actividad humana como principal responsable de alterar la ecología y el desmejoramiento en la salud de sistemas ambientales dentro de una zona costera es:

“Zona costera es la franja de tierra firme y espacio oceánico adyacente (agua y tierra sumergida), en la cual la ecología terrestre y el uso del suelo afectan directamente la ecología del espacio oceánico y viceversa. La zona costera es una franja de ancho variable que bordea los continentes, los mares interiores y los grandes lagos. Funcionalmente, es la amplia interfase entre tierra y agua donde los procesos de producción, consumo e intercambio ocurren a altas tasas de intensidad. Ecológicamente, es un área de dinámica actividad biogeoquímica, pero con limitada capacidad para sostener varias formas de uso humano. Geográficamente, la frontera terrestre de la zona costera es necesariamente vaga. Los océanos pueden afectar el clima hasta muy adentro de la tierra” (Ketchum, 1972). Obtenido de Steer *et al.* (1997).

Por lo tanto, las zonas costeras son uno de los entornos más complejos del planeta porque todos los procesos terrestres, marinos y atmosféricos interactúan para darles forma. Constituyéndose al mismo tiempo como áreas de transición entre los principales biomas y, encontrándose entre las más productivas y diversas del mundo, con un alto valor ecológico y económico (Iglesias *et al.*, 2015).

2.1.1 Contaminación de la zona marino-costera

El término de contaminación costera responde a la introducción de sustancias o cualquier forma de energía en el medio ambiente costero, que produzca o pueda producir efectos adversos en el ecosistema debido a cambios en sus características físicas, químicas y/o biológicas (GESAMP, 1980; Béné *et al.*, 2011; Botero *et al.*, 2018); sin embargo, en la actualidad, la definición es más amplia y se incluye el evitar poner en riesgo a la salud pública, el impedimento para realizar actividades recreativas, el bienestar económico y la conservación y utilización de estos espacios dentro de los objetivos del desarrollo sostenible (Naciones Unidas, 2014).

Dentro de las principales fuentes de contaminación marino-costera destacan las descargas de basura de los vertederos a lo largo de la costa o riberas de los ríos, el vertido de basura en las playas; el turismo y el uso recreativo de las costas; las actividades del sector pesquero y los astilleros de desguace. Por otra parte, las inundaciones y otros sucesos relacionados con las tormentas drenan la basura hacia el mar, donde se hunde hasta el fondo o es arrastrada por los

remolinos costeros y las corrientes oceánicas. Así como también, los aparejos de pesca abandonados, perdidos o descartados, la actividad de navegación y los vertidos legales e ilegales (Appah, 2022).

2.1.2 Sectores de impacto en la zona costera

El acelerado desarrollo socioeconómico constituye un factor de presión ambiental, que parte de la explotación en exceso de los recursos naturales y los efectos que ocasionan los desechos derivados de la actividad humana. El cuadro 1 muestra el impacto tanto de daños como de cambios físicos, químicos y biológicos que experimentan las zonas costeras al estar expuestas a diversas actividades antrópicas.

Cuadro 1. Sectores que influyen en el deterioro de la zona costera y sus fuentes de impacto.

Actividad	Impacto o acumulación de compuestos	Fuente
Agrícola	Químicos derivados de pesticidas, herbicidas y fertilizantes	Escorrentía
Acuícola	Expansión descontrolada	Actividad acuícola
Forestal	Introducción de sedimentos	Dragados, erosión y escorrentía
Industrial	Introducción de metales pesados	Efluentes industriales, descargas urbanas, rellenos sanitarios, depósitos de basuras peligrosas
Infraestructura	Afectación de hábitats intermareales y obstrucción de flujos naturales de agua	Obras de construcción (corredores de desarrollo, núcleos comerciales, carreteras, puentes, aeropuertos, etc.)
Minería	Erosión y recesión del frente de playa	Extracción de arena
Portuaria	Petróleo, hidrocarburos y productos químicos tóxicos	Derrame, fuga, descargas industriales y escorrentía
Turismo y recreación	Reducción de biodiversidad, agotamiento de recursos, riesgos a la salud humana, acumulación de nutrientes y exceso de patógenos	Desarrollo turístico y recreativo
Asentamientos humanos	Basura, desechos químicos, fecales, lixiviados y otros derivados de actividades socioeconómicas	Escorrentía, cauces de ríos, descarga de residuales, agrícolas e industriales
Construcción costera	Erosión, cambios naturales en el flujo de corrientes, cambios en el nivel del mar	Obras de protección

Fuente: Elaboración propia a partir de Clark (1995); Steer *et al.* (1997); Ver *et al.* (1999); Escobar (2002); Baisre (2008); López (2021).

2.1.3 Biogeoquímica de las costas

La zona costera es el receptáculo inmediato de prácticamente todos los sólidos y solutos transferidos de la tierra al mar, pero también tiene interacciones bidireccionales importantes con el océano abierto, incluida la exportación neta de carbono, metales traza y micronutrientes (Cowie & Woulds, 2011). Las actividades humanas se han convertido en un factor geológico cada vez

más importante con respecto a la zona costera a través de cuatro perturbaciones ambientales principales (Ver *et al.*, 1999):

- 1) Emisiones de carbono (C), nitrógeno (N) y azufre (S) por la quema de combustibles fósiles.
- 2) Cambios en las actividades de uso de la tierra que resultan en emisiones de C gaseoso, mayores cargas disueltas y de partículas, transporte de materia orgánica y retroalimentaciones a la producción biológica.
- 3) Aplicación de fertilizantes inorgánicos que contienen nitrógeno y fósforo.
- 4) Descargas de aguas residuales que contienen C, N y fósforo (P) orgánicos reactivos.

De acuerdo con Rabouille *et al.* (2001), el modelo biogeoquímico de los ciclos elementales Carbono, Nitrógeno y Oxígeno en el océano costero describe la dinámica de los procesos de transferencia y sus interacciones (producción primaria, mineralización, deposición de sedimentos y enterramiento).

2.1.4 Ciclo del carbono en las zonas costeras

Debido a la poca profundidad de la zona costera, una parte muy significativa de la producción primaria se transfiere a los sedimentos. La alta tasa de sedimentación de material detrítico de origen continental aumenta, al mismo tiempo, la tasa de conservación de C orgánico en sedimentos marinos (Wollast, 1993). Al ser regiones de mayor productividad biológica en comparación con las aguas superficiales oceánicas promedio, los convierte en un reservorio importante en el ciclo global del carbono (figura 1).

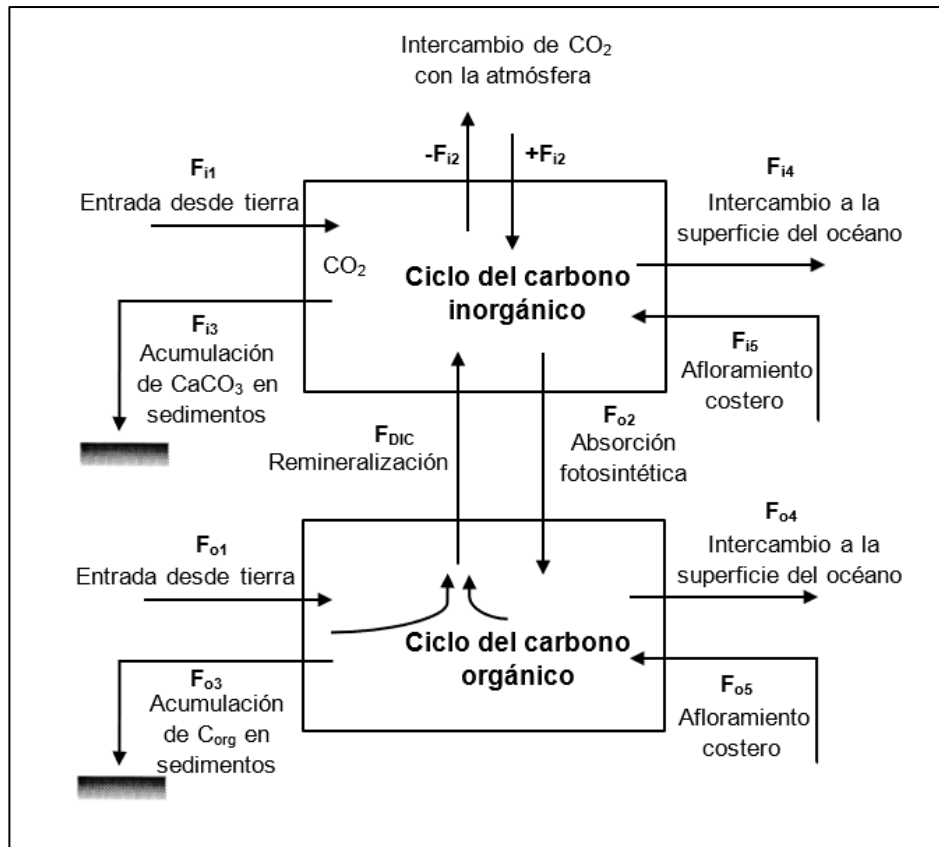


Figura 1. Ciclo del carbono en la zona costera. Principales reservorios y flujo de carbono orgánico e inorgánico. Elaborado a partir de Ver et al. (1999).

El reservorio de carbono inorgánico intercambia CO₂ con la atmósfera ($\pm F_{i2}$) y recibe entradas de carbono inorgánico disuelto de la tierra a través de los ríos, la escorrentía superficial y el flujo de agua subterránea (F_{i1}), del CO₂ liberado por la precipitación de carbonato de calcio y a través del transporte desde las profundidades oceano (F_{i5}). Las salidas de carbono inorgánico se realizan a través de la salida neta de agua de la zona costera (F_{i4}), deposición y acumulación de carbonato de calcio, formado en la zona costera, en sedimentos costeros (F_{i3}), y uso de CO₂ en la fotosíntesis (F_{o2}). El ciclo del carbono inorgánico está vinculado al ciclo orgánico a través de procesos de reducción y oxidación impulsados biológicamente, correspondientes a la producción primaria (F_{o2}) y respiración y descomposición (F_{DIC} , en donde DIC es carbono inorgánico disuelto). De manera análoga al ciclo del carbono inorgánico, hay aportes de carbono orgánico desde la tierra (disuelto y en partículas, F_{o1}) y por transporte de carbono orgánico disuelto desde las profundidades del océano, esto se conoce como afloramiento costero (F_{o5}). La eliminación de carbono orgánico de la zona costera se realiza a través de la salida neta al mar abierto (F_{o4}); la acumulación en los sedimentos costeros (producidas *in situ* y derivados de la tierra, F_{o3}); y respiración y descomposición o remineralización (F_{DIC}) (Ver et al., 1999).

2.2 Playas

El término playa se define comúnmente como “la acumulación de sedimentos no consolidados que está limitada por la línea de marea baja en el margen hacia el mar y por el límite de la acción de las olas de tormenta en el lado hacia tierra” y como “la porción estrecha de una costa que se extiende desde la profundidad de cierre (la profundidad a la que la acción de las mareas y las olas deja de causar un movimiento significativo de sedimentos hacia la tierra/hacia el mar en el fondo del mar) tierra adentro hasta que se encuentra un cambio abrupto en la pendiente o un límite físico” (Daniels, 1999).

Las playas son un entorno extremadamente dinámico en donde la arena y el agua están siempre en movimiento (Chapman, 1983; McLachlan & Defeo, 2017), están sujetas a un alto número de presiones humanas y condiciones climáticas que físicamente alteran sus tres funciones básicas: ser reserva de biodiversidad, proveer protección a la costa y reunir las necesidades de recreación humana (James, 2000). Por su parte, Ariza *et al.* (2010) mencionan tres premisas sobre la importancia que tienen las playas como sistema ambiental:

- Son ecosistemas con todas las funciones ecológicas y la estructura de cualquier otro ecosistema costero y, en varias ocasiones, con fuertes vínculos con dunas, praderas de pastos marinos y arrecifes de coral.
- Son la defensa más natural ante eventos climáticos extremos, protegiendo las zonas del interior y recuperándose como ejemplo de resiliencia.
- Son la unidad de producción más valiosa sobre cualquier ecosistema en el mundo.

La figura 2 muestra las características que comúnmente presentan las playas de arena.

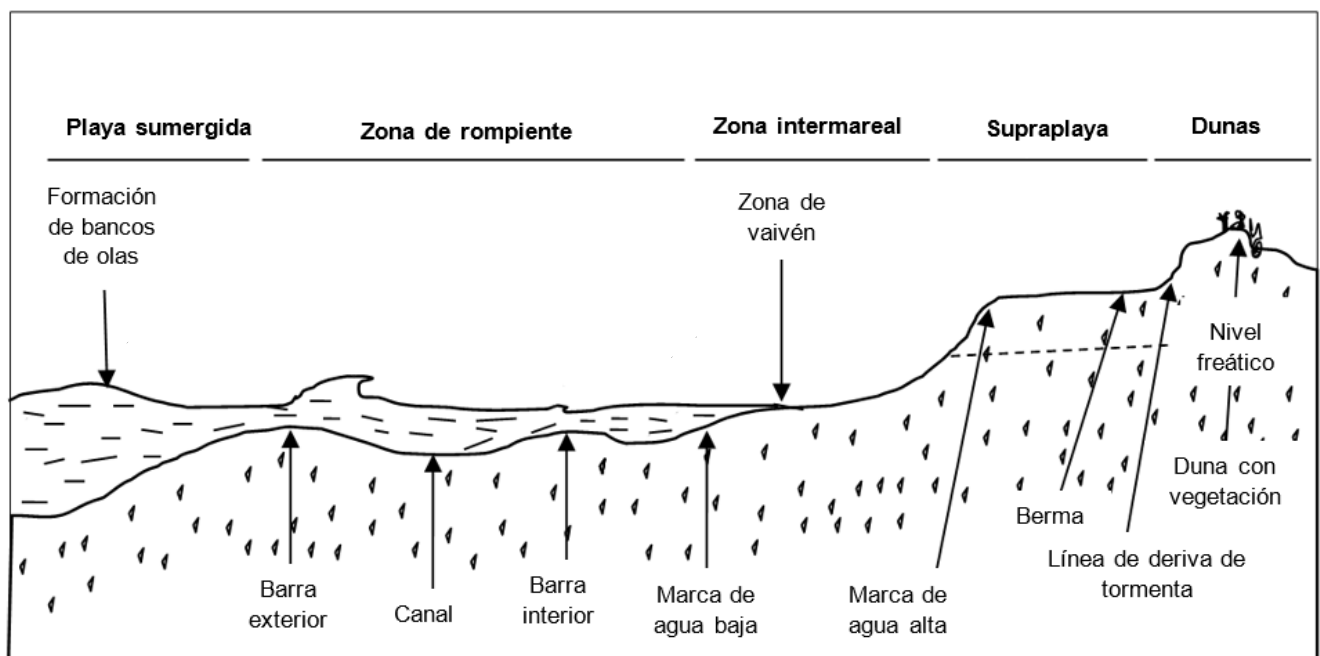


Figura 2. Playa típica de arena. Elaborado a partir de McLachlan & Brown (2006).

2.2.1 Tipo de playas

Las playas se clasifican formas distintas de acuerdo con su dominio de olas (figura 3):

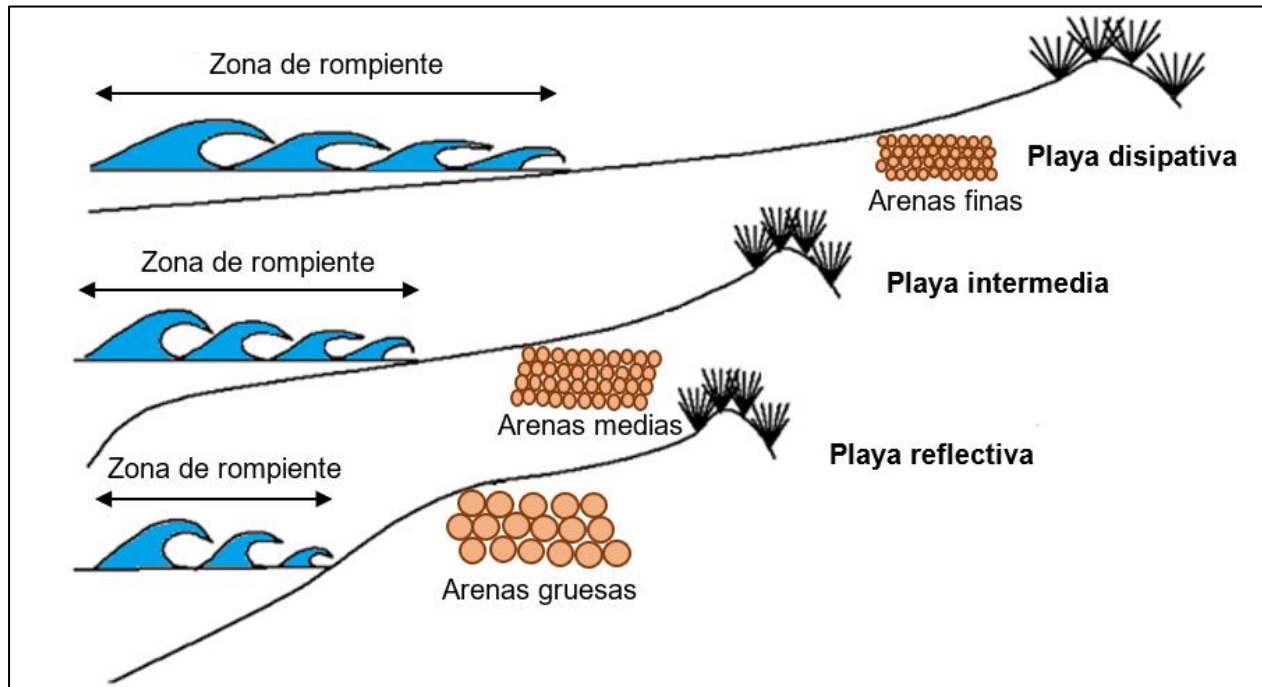


Figura 3. Tipo de playas. Desde un estado reflexivo (parte inferior de la figura) hasta un estado disipativo (parte superior de la figura). Elaborado a partir de Bermúdez *et al.* (2003).

Un estado reflexivo se produce cuando las condiciones son tranquilas y/o se presentan sedimentos gruesos, los cuales se almacenan en la playa intermareal y en la costa; se caracterizan por no tener zona de surf y la aparición de olas muy cercanas justo en la cara de la playa, poseen cúspides y ondulaciones cortas causadas por las olas de borde y generalmente la amplitud de marea es pequeña. La cara de la playa se caracteriza por un escalón en la orilla inferior (donde las olas entrantes y el reflujo chocan y depositan sedimentos) y por una berma (o plataforma) sobre el talud intermareal. La energía de las olas se refleja en esa cara de la playa, a medida que las olas más grandes cortan una playa y esparcen sus sedimentos para formar una zona de surf, una playa tan reflexiva da paso a una serie de formas intermedias. Por su parte, un estado disipativo se caracteriza por olas lo suficientemente fuertes y sedimentos suficientemente finos, la playa es plana y se encuentra erosionada al máximo, además, el sedimento se almacena en una amplia zona de surf con posibles bancos de arena paralelos a la playa. Aquí, la energía de las olas se disipa en la zona de rompientes en lugar de reflejarse en la cara de la playa (McLachlan & Brown, 2006).

2.2.2 Sedimentos

El cuerpo arenoso de una playa consiste en granos de sedimento y los espacios porosos entre ellos, constituyendo estos últimos el sistema intersticial. Este sistema lacunar es importante como hábitat para organismos y para la filtración de agua de mar. Las partículas de sedimento que definen el sistema intersticial suelen ser mezclas de varias fuentes, que a menudo han sido

reelaboradas e incorporadas previamente a lo largo del tiempo geológico en una serie de ambientes costeros (McLachlan & Defeo, 2017). En medios marinos, los sedimentos tienen la capacidad de acumular altas concentraciones de sustancias tóxicas provenientes de las actividades antropogénicas (Aguilar, 2010), en consecuencia, la alteración de sedimentos por la entrada de sustancias no deseadas produce algunos efectos negativos en las propiedades de las zonas costeras, afecta a la biodiversidad, la oceanografía, la dinámica de las playas y a la distribución de la vida marina en su hábitat (Escobar, 2002; Aguilar, 2010).

2.2.3 Sistema intersticial

Los sistemas intersticiales fueron descritos por Pearse *et al.* (1942), como "*grandes sistemas digestivos y de incubación*" debido a su rol en la mineralización de materiales orgánicos y el reciclaje de nutrientes. Gran parte de la liberación de nutrientes puede ser regulada y regida por la salida y difusión del agua, pero las tormentas que reelaboran el sedimento también son fuerzas importantes para la liberación episódica de nutrientes almacenados. La mayor parte de la mineralización del material orgánico ocurre en la primera parte del proceso de filtración y los componentes más refractarios se descomponen más lentamente. Por lo tanto, la actividad microbiana se concentra cerca de la zona de entrada donde comienzan las vías de percolación intersticial. De acuerdo con Cowie & Woulds (2011) y Voss *et al.* (2011) las playas de la zona costera son un sumidero y no una fuente de nitrógeno y fósforo para el océano abierto. Sin embargo, a largo plazo, las playas deben estar en equilibrio y devolver al mar todos los nutrientes que reciben. Cuanto más vigorosa sea la circulación de agua intersticial y más rápida sea la tasa de lavado, menores serán las concentraciones de nutrientes y viceversa (McLachlan & Brown, 2006).

2.2.5 El oxígeno en un sistema intersticial

Fenchel & Riedl (1970) nombraron a las playas expuestas "*ventanas de alta energía*" debido a las grandes fuerzas hidrodinámicas que actúan sobre ellas y que las mantienen constantemente oxigenadas a diferencia de aquellas que se encuentran protegidas y que propician condiciones de anoxia influenciada por una menor hidrodinámica (menor energía). La disponibilidad de oxígeno generalmente disminuye en la arena, es por esto que dentro del sistema intersticial es crucial para determinar el estado redox de los nutrientes, la distribución vertical de condiciones redox y niveles de actividad microbiológica (McLachlan & Brown, 2006). La figura 4 representa las diferencias de la actividad redox en dos playas con diferente energía de oleaje, una más intensa que otra.

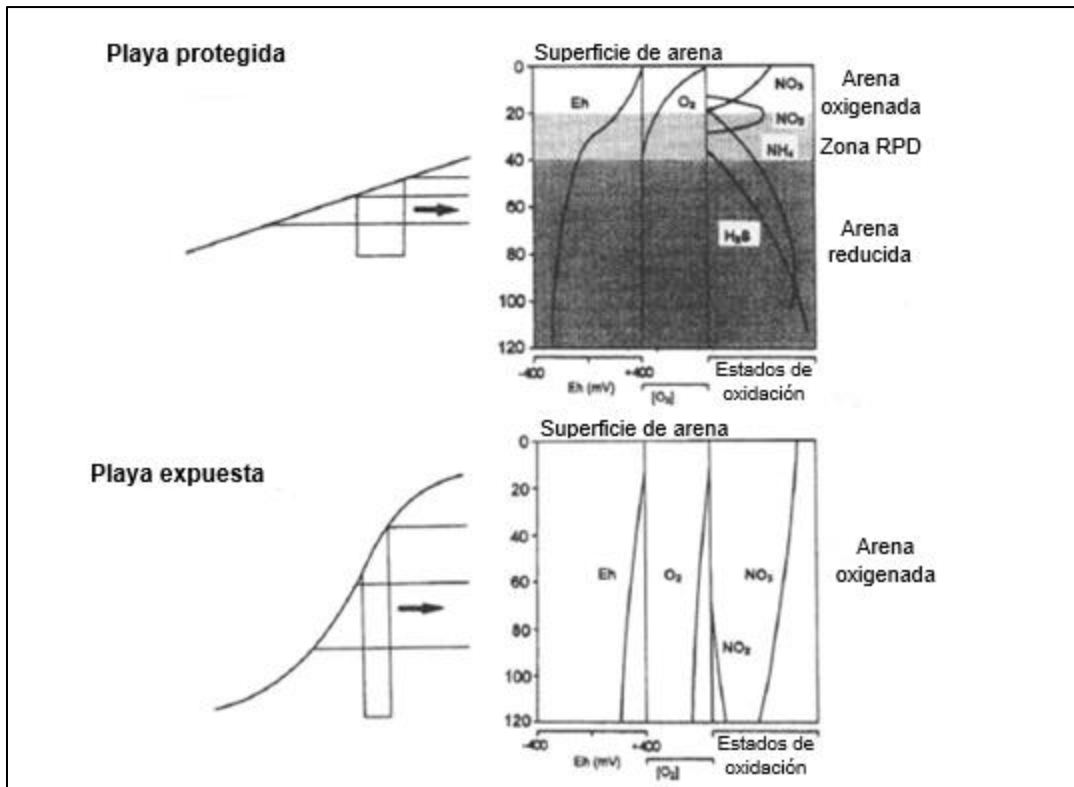


Figura 4. Gradiente químico en a) playa de arena fina con baja energía, capas reducidas de bajo oxígeno y disipativas; b) playa de arena gruesa completamente oxigenada de alta energía del tipo intermedio o reflexiva. Obtenido de McLachlan & Turner (1994).

La alta demanda biológica de oxígeno en arenas finas contribuye a la baja disponibilidad de oxígeno. Por lo que, cuanto mayor fina sea la arena menor será su permeabilidad y su volumen de filtración, por ende, mayores serán las poblaciones microbianas retenidas y, en consecuencia, la demanda de oxígeno es mayor a diferencia de aquellos sistemas intersticiales con arenas gruesas (McLachlan & Brown, 2006). Fenchel & Riedl (1970) definen tres zonas redox, la primera es una capa superior oxigenada con arena "amarilla"; la segunda es una zona de transición gris o discontinuidad de potencial redox (RPD), donde el oxígeno se vuelve limitante y se produce un cambio de condiciones oxidantes a reductoras; y la tercera es una capa reducida o negra decolorada por sulfuros de hierro y distinguida por compuestos tóxicos reducidos como H_2S y NH_4 .

2.2.6 Nutrientes en los sedimentos de playas

El material orgánico que ingresa a las playas está constituido por materia orgánica disuelta (DOM) o materia orgánica particulada (POM), principalmente derivado de nitrógeno en forma de nitrato o amoníaco o derivado del fósforo en forma de fosfato, los cuales ingresan por filtración del agua. Cuanto más vigorosa sea la circulación de agua intersticial y más rápida sea la tasa de lavado, menores serán las concentraciones de estos nutrientes (playas expuestas). De manera representativa se muestran las interacciones entre los ciclos de nitrógeno y fósforo con relación a la presencia de oxígeno.

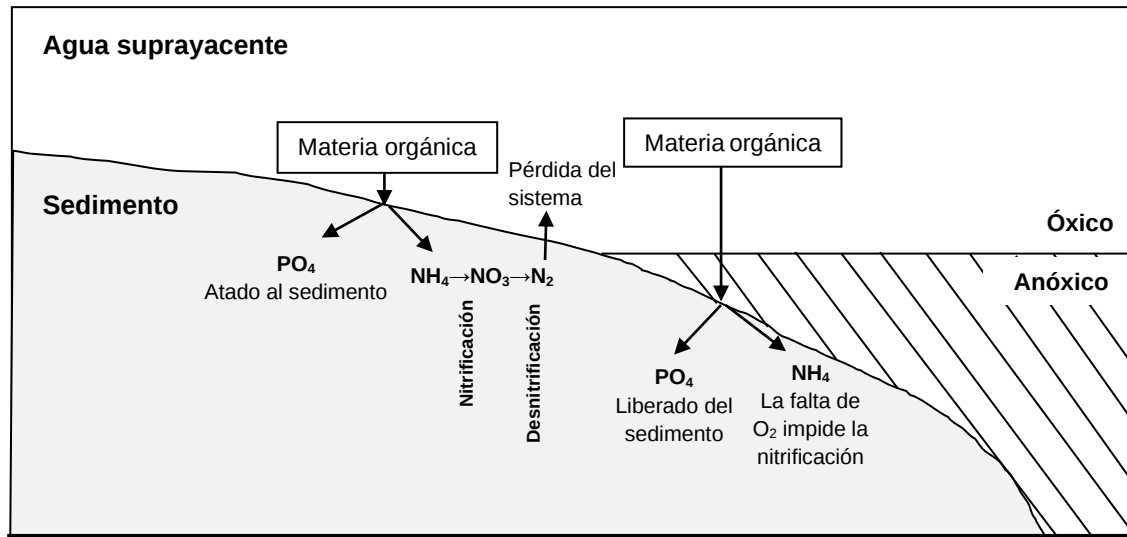


Figura 5. Interacción de los ciclos de nitrógeno y fósforo en función de las concentraciones de oxígeno en la zona costera. Elaborado a partir de Voss *et al.* (2011).

Las zonas costeras son presionadas por el exceso de aportes de nutrientes, ya que forman la zona de transición entre el medio terrestre y el marino (Voss *et al.*, 2011). La demanda de oxígeno es particularmente alta en los sedimentos ricos en materia orgánica, los procesos y las condiciones redox en los sedimentos costeros son importantes para el ciclo y el destino del nitrógeno y el fósforo, así como del carbono (figura 5).

2.3 La playa como sistema ambiental

La importancia ecosistémica de las playas se resume en la capacidad que tienen para brindar servicios de recreación; comida; disipación de olas y amortiguación asociada contra tormentas y aumento del nivel del mar; asimilación de materiales orgánicos y contaminantes; mantenimiento de la biodiversidad, así como sitios de cría y anidación para diversos taxones, como peces, tortugas marinas, aves playeras y mamíferos marinos; almacenamiento de agua en acuíferos de dunas y descarga de aguas subterráneas; y filtración de agua y mineralización y reciclaje de nutrientes, mismos que están condicionados por presiones antropogénicas próximas o distales que parten de impactos ecológicos y socioeconómicos (Defeo *et al.*, 2009; Barbier *et al.*, 2011). El MEA (2005) reconoce la importancia de los servicios ecosistémicos para el bienestar humano, especialmente al promover un desarrollo urbano sostenible y resiliente (Avendaño *et al.*, 2020).

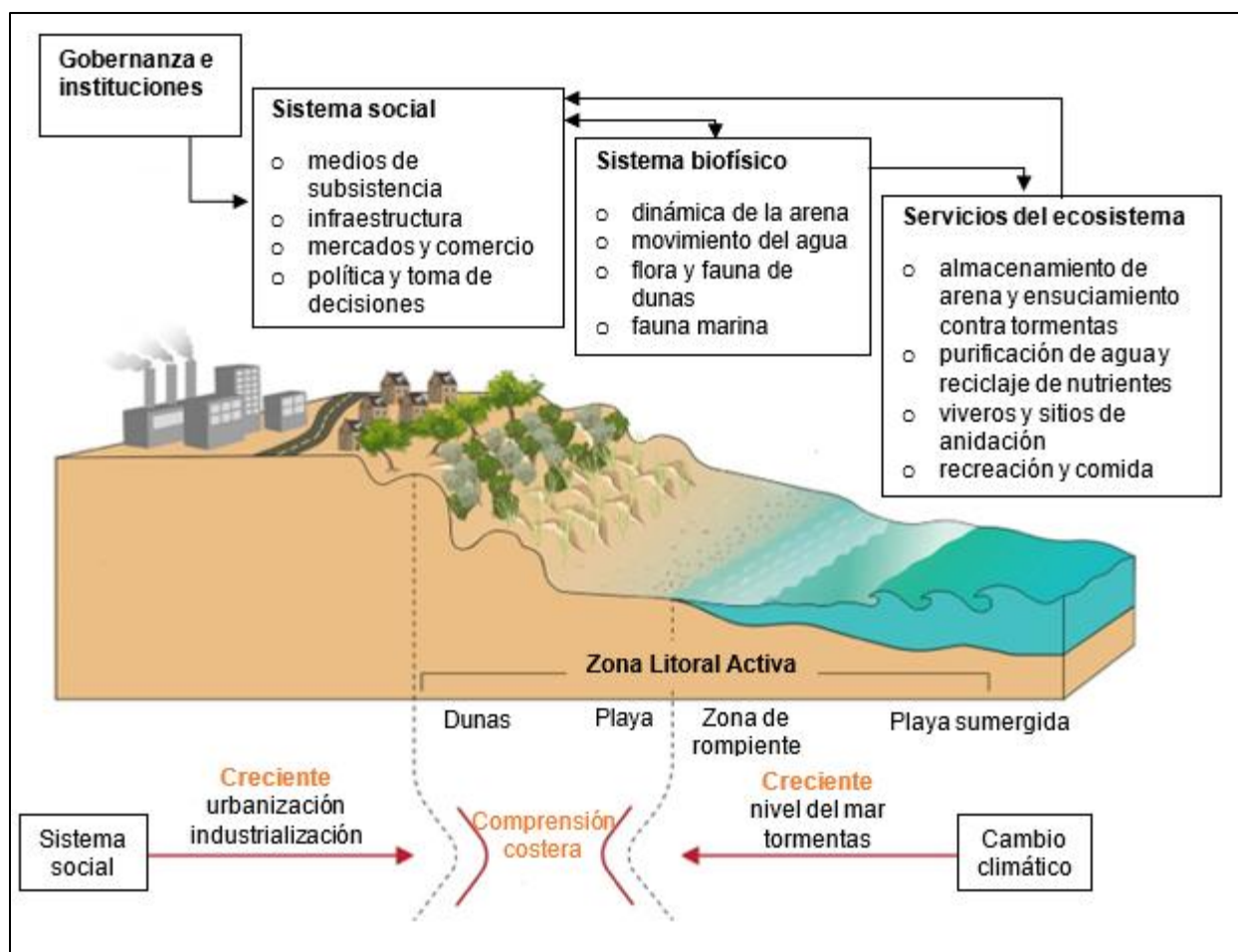


Figura 6. Las playas de arena como sistemas socioecológicos, mostrando sus principales componentes biofísicos y sociales, servicios ecosistémicos, así como los principales impulsores y presiones que las afectan. Obtenido de Defeo *et al.* (2021).

La figura 6 refleja la interacción entre los elementos biofísicos (biota y medio ambiente) y humanos (económico, cultural, ético y sociopolítico) que en desequilibrio pueden llegar a ser impulsores de cambios repentinos e irreversibles en la función y estructura del ecosistema de playas, al mismo tiempo, muestra como un creciente desarrollo antrópico junto con el aumento de eventos naturales, ejercen presión sobre la costa.

2.4 Perturbación antropogénica

La perturbación antropogénica puede entenderse como la introducción de sustancias o de energía en un medio ambiente, ya sea de forma directa o indirecta por acción del hombre, que en su momento desencadene o pueda llegar a desencadenar daños a los recursos y a la vida de organismos vivos presentes en este, riesgos para la salud humana, deterioro de la calidad del agua, o como un impedimento para seguir realizando actividades que comúnmente se hacen en ese espacio (Escobar, 2002). Rubio (2016) indicó que la palabra perturbación como una serie de incidencias en el ambiente capaces de alterar la disponibilidad de los recursos pudiendo llegar a

irrumper en el equilibrio de un ecosistema, poniendo a prueba la capacidad de las especies de persistir en un espacio perturbado. Para hacer referencia al grado de perturbación que sufre un ecosistema debido a las presiones que los seres humanos generan sobre este, usualmente es utilizado el concepto de calidad ambiental (Aguilar, 2010). Y este término por su parte, puede entenderse como un estado de equilibrio entre la naturaleza y los procesos físicos, geoquímicos y biológicos derivados de la acción humana (RGPEIA, 2004).

2.5 Teoría de la evolución de las especies

La adaptación es un término que se puede definir como la capacidad que tienen los organismos en adoptar las características del entorno y adaptar las propias para poder sobrevivir y mantenerse en un espacio determinado (Celis-Bustos *et al.*, 2017). La teoría de la selección natural de Charles Darwin, en el área de la microbiología es tomada como base para poder explicar la evolución de las bacterias a lo largo del tiempo y su capacidad para adquirir ciertos rasgos que les den las características de persistir en ambientes con cierto grado de estrés. Esta teoría va de la mano con la Teoría de adaptación de Lamarck de 1809 para tratar de explicar cómo se da la evolución de las especies, la cual se basa principalmente en que la evolución de los organismos está influenciada por cambios fenotípicos y genotípicos derivados de variaciones en el ambiente y que estos cambios se van transfiriendo de forma hereditaria (Koonin & Wolf, 2009).

2.6 Teoría de la homeostasis

La homeostasis es un término empleado para explicar la evolución de las especies, acuñado por Walter Cannon, tomando como base los estudios realizados por Claude Bernard (siglo XIX) sobre los medios internos fisiológicos, los cuales se identifican como aquellos medios en donde las variables son constantes permitiendo que la vida en ella pueda desarrollarse (González, 2008). En su monografía *La Sabiduría del Cuerpo* publicado en 1932, Cannon conceptualiza la palabra homeostasis para hacer referencia a aquellos procesos fisiológicos que en forma de un conjunto coordinado se encargan de mantener a un medio interno constante, regulando los impactos del ambiente y la respuesta de los organismos. Dejando claro que la homeostasis implica dinamismo por su variación siempre constante (Aréchiga, 2000). Para Betancourt & Asencio (2016) cada especie en un entorno representa un papel importante en el desarrollo ecosistémico, ciertas especies, mediante reacciones químicas y biológicas intentan mantener el equilibrio entre ellos mismos y el ambiente por medio de mecanismos fisiológicos, esto es, mantienen un flujo energético entre las variables externas (usualmente conocido como estrés) e internas.

2.7 Bacterias heterótrofas

Las bacterias son uno de los eslabones más importante para el flujo de la materia orgánica en el ecosistema marino (Azam *et al.*, 1983; Cole *et al.*, 1988). En el mar, se encuentran distribuidas en toda su extensión, tanto vertical como horizontalmente en la columna de agua (Cifuentes *et al.*, 2003), y su concentración suele ser mayor en las zonas costeras debido al aporte de las

eskorrentías y los ríos (Seoánez, 2000). Las bacterias heterótrofas obtienen energía de la oxidación de compuestos orgánicos, los carbohidratos (en particular la glucosa), los lípidos y las proteínas son los compuestos que se oxidan con mayor frecuencia. Todas las bacterias heterótrofas requieren compuestos orgánicos preformados. Estos compuestos que contienen carbono y nitrógeno son sustratos de crecimiento, que se utilizan tanto de forma aeróbica como anaeróbica (Jurtshuk, 1996).

Evans (2004) clasificó a las bacterias heterótrofas como exclusivos degradadores de materia orgánica. Para Azam *et al.* (1983) y Montes *et al.* (2021) constituyen un grupo muy importante por su actividad degradadora y mineralizadora que forma parte de la capacidad de autodepuración del ecosistema marino, ponen a disposición de los productores primarios elementos nutritivos y el sustrato utilizado lo transforman en biomasa microbiana. Es por esto, que el proceso de degradación de la materia orgánica se considera la actividad fundamental de las bacterias heterótrofas (Miravet-Regalado, 2003) por su papel central en el flujo de materia orgánica (Azam *et al.*, 1983; Cole *et al.*, 1988; Evans, 2004; Montes *et al.*, 2021), el reciclaje de nutrientes y la geoquímica de sedimentos, entre otros. Además, se encargan de transferir energía hacia los siguientes niveles tróficos del ecosistema y ser una fuente de amplia biodiversidad (de la Rosa & González-Farías, 1995; Kirchman, 2000).

2.8 Usos de bacterias en la biotecnología

Los microorganismos juegan un papel importante en el mantenimiento de la estructura y función del ecosistema. El uso de microorganismos y/o sus metabolitos en industrias biotecnológicas representa un proceso sostenible y eficiente con un gran número de aplicaciones plausibles (Torres-León *et al.*, 2023). Las bacterias constituyen la mayor parte de los microorganismos y poseen potencial en muchas aplicaciones importantes, desde la limpieza ambiental hasta el descubrimiento de fármacos (Das & Dash, 2015). Mediante el desarrollo de técnicas biotecnológicas se propicia la identificación rápida de moléculas novedosas, la nomenclatura precisa de microorganismos o la mejora de cepas de especies conocidas que parten de la participación de técnicas de manipulación genética. Las bacterias se utilizan también en la síntesis de diversas sustancias químicas, moléculas de combustible, polímeros industriales y cepas genéticamente modificadas que son importantes para el medio ambiente debido a su capacidad de descomposición o adsorción (Maurya *et al.*, 2021), además de la producción de alimentos y aplicaciones industriales (Vitorino & Bessa, 2017).

III. MARCO DE REFERENCIA

3.1 Antecedentes

Por su capacidad mineralizadora, el reciclaje de nutrientes y su interacción con los diferentes niveles tróficos (Azam *et al.*, 1983; Montes *et al.*, 2021), en varios países del mundo, se han utilizado a las bacterias heterótrofas para conocer cambios en el estado de un ambiente presionado por fuerzas ajenas a este durante un período dado; variaciones en la concentración de estas bacterias y el incremento de la tasa de mineralización son indicadores de un cambio gradual de las condiciones ambientales, reflejando el impacto ambiental que ha tenido lugar (Seoáñez, 2000). La escorrentía de agua dulce, la transferencia de nutrientes y materia orgánica derivados de asentamientos humanos que llegan a los ecosistemas costeros a través de la descarga de ríos ejercen influencia sobre las concentraciones de bacterias, además de otros factores como la temporalidad climática y condiciones ambientales que afectan parámetros fisicoquímicos induciendo a que cada ecosistema presente una dinámica diferente (Chénard *et al.*, 2019). Ejemplo de esto, son los trabajos realizados por:

Algunos estudios han demostrado lo anterior, tal como reportaron Prasad *et al.* (2015) en donde examinaron la influencia de la descarga de ríos y aguas residuales urbanas en la abundancia de bacterias heterótrofas a lo largo de la costa este de India, los resultados obtenidos mostraron que la presencia de bacterias heterótrofas presentaba una relación lineal de acuerdo con la magnitud de descarga, y al mismo tiempo, observaron que las concentraciones no estaban influenciadas por la descarga directa de agua dulce, pero sí por el uso recreativo, la industria naviera, las actividades pesqueras, las aguas residuales domésticas e industriales.

Dos años más tarde Montes *et al.* (2021) determinaron las concentraciones de bacterias heterótrofas y *Vibrio* de muestras de agua de la Zona Arrecifal Los Cóbanos en El Salvador, los resultados obtenidos fueron atribuidos a aportes nutrimentales de nitrógeno y fósforo provenientes de aguas de recambio de granjas camaroneras y actividades domésticas y comerciales; encontraron que la dinámica de bacterias heterótrofas se relaciona directamente con la temperatura, la salinidad y la turbidez en los sitios estudiados; además, corroboraron lo expuesto por Aldunate *et al.* (2018) quienes reportaron que las variaciones en la velocidad del viento influyen en la diversidad de comunidades bacterianas derivado de las diferencias en las concentraciones de oxígeno.

Srinivas *et al.* (2021) utilizaron bacterias heterótrofas indicadoras (*Escherichia coli* y *Enterococcus*) y patógenas (*Aeromonas hydrophila*, *Enterobacter aerogens*, *Escherichia coli* cepa O157:H7, *Shigella dysenteriae* y *Vibrio parahaemolyticus*) aisladas de dos Islas cercanas a la costa de India, para determinar la influencia de las actividades antropogénicas sobre su abundancia y distribución, además lograron identificar que el conteo de heterótrofas varía con respecto al hábitat, durante la floración del fitoplancton o a los cambios estacionales.

Estudios recientes realizados en playas del estado de Veracruz abarcan problemáticas puntuales, como la contaminación fecal o calidad ambiental en playas que son utilizadas con fines turísticos y/o de recreación (Sánchez-Domínguez *et al.*, 2015; Pastenes-Felizola, 2017); aislamiento de aquellas bacterias con capacidad degradadora de hidrocarburos, principalmente por las actividades portuarias y de extracción del petróleo (Díaz-Torres, 2018; Narciso-Ortiz *et al.*, 2020;

Sandoval-Herazo *et al.*, 2020); el uso de bioindicadores de contaminación en la zona costera (García, 2017; Carvajal-Gómez, 2018) y el estudio en relación a la presencia de metales pesados (de la Cruz-Sánchez, 2018). No existe algún reporte en específico que nombre las características bioquímicas de las bacterias heterótrofas contenidas en los sedimentos; sin embargo, los últimos trabajos sí inducen a la presencia de heterótrofas en estos sitios.

En relación a esto, Pérez-Ruiz (2012) e Hidalgo-Rodríguez (2017) destacaron la diversidad y composición de organismos en el ambiente intermareal de las playas del estado como consecuencia de altas cargas de material orgánico contenida en los sedimentos finos dentro de las estructuras de protección; Garduño & Pérez (2000) reportaron contaminación microbiológica animal y humano, valores que durante el estudio del 2012 rebasan el máximo permisible, mientras tanto, Landeros-Sánchez *et al.* (2012) sugieren que actividades antrópicas como la ganadería, la agricultura, la pesca, la acuicultura y derivados de la industria han producido deterioro de la calidad del agua en los sistemas de la red hidrológica en la zona, alterando las concentraciones de parámetros fisicoquímicos y biológicos llegando a sobrepasar de igual forma los límites permisibles por normas mexicana (Landeros-Sánchez *et al.*, 2012). García-Fuentes *et al.* (2014) reportaron valores altos de bacterias patógenas y metales pesados (Zamudio-Alemán *et al.*, 2014). Por su parte Valadéz-Rocha (2013) encontró que las playas urbanas eran más vulnerables a sufrir cambios en sus dinámicas sedimentarias por los efectos de obras de protección. Dichas obras ejercen cambios en los sedimentos, provocando impactos negativos sobre los hábitats marinos adyacentes (Pérez-Ruiz, 2012; Valadéz-Rocha, 2013).

3.2 Área de estudio

La superficie del estado de Veracruz abarca un 3.7% de todo el país, tiene colindancia al lado norte con Tamaulipas y el Golfo de México; al lado este con el Golfo de México, Tabasco y Chiapas; y al lado sur con Chiapas y Oaxaca; mientras que al oeste con Puebla, Hidalgo y San Luis Potosí. Conforme al INEGI (Instituto Nacional Estadística y Geografía), la temperatura media anual del estado es de 23°C y la máxima promedio de 32°C, presentándose una mínima de 13°C en el mes de enero. El clima en la región es del tipo cálido y húmedo con lluvias abundantes en el verano y parte del otoño y una estación seca corta en los meses de abril a mayo (Salas-Pérez & Granados-Barba, 2008). La precipitación media es de 1 500 mm anuales, durante el verano. Veracruz comprende un extenso litoral que consta de 745 km, aproximadamente el 29.3% de la costa del golfo de México, además, cuenta con 11 cuencas hidrológicas que drenan directamente al Golfo, entrando en contacto con la zona marina por medio de ríos y lagos y drenando su agua hacia la plataforma continental. El viento en el golfo de México sopla con dirección este-sureste en otoño-primavera y con dirección este-noroeste durante primavera-invierno (Salas-Pérez & Granados-Barba, 2008). La dinámica de los vientos presenta tres patrones diferentes en todo el año, en invierno los vientos llegan a alcanzar una velocidad de 140km/h desde el norte a lo largo de todo el estado, mientras que en verano (suradas) ocurre lo contrario y estos alcanzan hasta 80 km/h; el tercer patrón se presenta cuando hay cambio de dirección del viento, cuando esto sucede los vientos se alinean con dirección de este a oeste y generan corriente superficiales hacia el sur y norte del estado, al sur hacia Coatzacoalcos y al Norte hacia Tampico, paralelamente (Ortiz-Lozano *et al.*, 2010).

IV. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

4.1 Situación Problemática

En los años 90's, cerca del 60% (5,500 millones) de la población mundial habitaba las costas o zonas aledañas a ésta (PNUMA,1992; Wang *et al.*, 2016). Para el año 2100, se estima que este porcentaje aumentará un 15% (11,000 millones), siendo mayor este incremento en países en vías de desarrollo. Como resultado de este incremento poblacional, se tendrá una mayor demanda del espacio para vivir, trabajar y desarrollar actividades productivas (Culliton *et al.*, 1990; Steer *et al.*, 1997). En efecto, esta demanda de recursos naturales para satisfacer sus necesidades será mayor y, en consecuencia, el aumento de la presión antrópica sobre los ecosistemas costeros (Ruiz-Fernández *et al.*, 2014).

Los ambientes costeros están continuamente expuestos a contaminación por medios externos, el crecimiento poblacional junto con el arribo de zonas urbanas y el desarrollo industrial que se tiene actualmente son precursores de grandes impactos ambientales, lo que deriva en deterioro; contaminación por residuos urbanos, agrícolas e industriales; sobreexplotación de los recursos naturales y pesqueros e, incluso, conflictos por los espacios y recursos disponibles (Ruiz-Fernández *et al.*, 2014; SEMARNAT, 2018). En términos particulares, las principales problemáticas de las que se han establecido registros y que favorecen a la contaminación de las playas dentro de las zonas costeras son aquellas que parten de las actividades portuarias, turísticas, pesqueras y el mal manejo que se tiene de estos recursos. Dentro de estas categorías, destacan aquellos procesos que involucran la demanda de recursos costeros para usos turísticos los cuáles funcionan como zonas de recreación y a su vez son generadoras de un alto desarrollo económico y hotelero con el fin de satisfacer las necesidades de este sector (Herrera & Suárez, 2005).

Por otra parte, los derrames de hidrocarburos se van acumulando y distribuyendo en el ambiente hasta producir contaminación (Sandoval-Herazo *et al.*, 2020), su eliminación puede ser natural, pero resulta ser muy lenta, por lo que la recuperación de una zona contaminada puede durar muchos años (Martínez-Alonso & Gaju, 2005). Además, los efluentes industriales y domésticos de las descargas residuales contienen concentraciones de sustancias tóxicas que afectan la calidad de las aguas costeras (Echeverri-Jaramillo *et al.*, 2010; Yu *et al.*, 2021). Los nutrientes contenidos en las aguas residuales y la escorrentía en las tierras costeras son factores que producen eutrofización y, por consiguiente, esto afecta a las actividades de pesca, pues la tasa poblacional de las especies se ven reducidas (Polanía, 2010). La contaminación fecal es otra problemática que tiene gran impacto y pone en peligro la integridad y salud de los usuarios de estos recursos (Badilla-Aguilar & Mora-Alvarado, 2019).

4.2 Delimitación del problema

Por los grandes atractivos que ofrecen, hoy en día las playas del estado de Veracruz son de las más visitadas en todo el Golfo de México. La estructura que presenta la costa, así como sus recursos, propicia a que se le dé un uso distinto dependiendo la zona, por lo que podemos

identificar espacios destinados a actividades de turismo y recreación, así como otras generadoras de valor monetario (Ortiz-Lozano *et al.*, 2010). Además, con el aumento de la demanda de turistas, se fueron modificando las estructuras urbanas, ejemplo de ello: la ampliación del bulevar, remodelación del Malecón y del acuario, construcción de zonas hoteleras y centros comerciales (Gallegos-Jiménez, 2008). Con el arribo de asentamientos humanos y un crecimiento urbano-portuario desordenado se han generado cambios importantes en la zona costera, dando lugar a conflictos ambientales que ponen en riesgo a las playas y coadyuvan a su deterioro (Cataneo-Nieto, 2017). Es por esto, que se muestra (figura 7) cómo los problemas políticos, económicos y sociales impactan a los ecosistemas marinos, condicionando la falta de estrategias para la mitigación de las causas que originan el deterioro en la calidad de las playas.

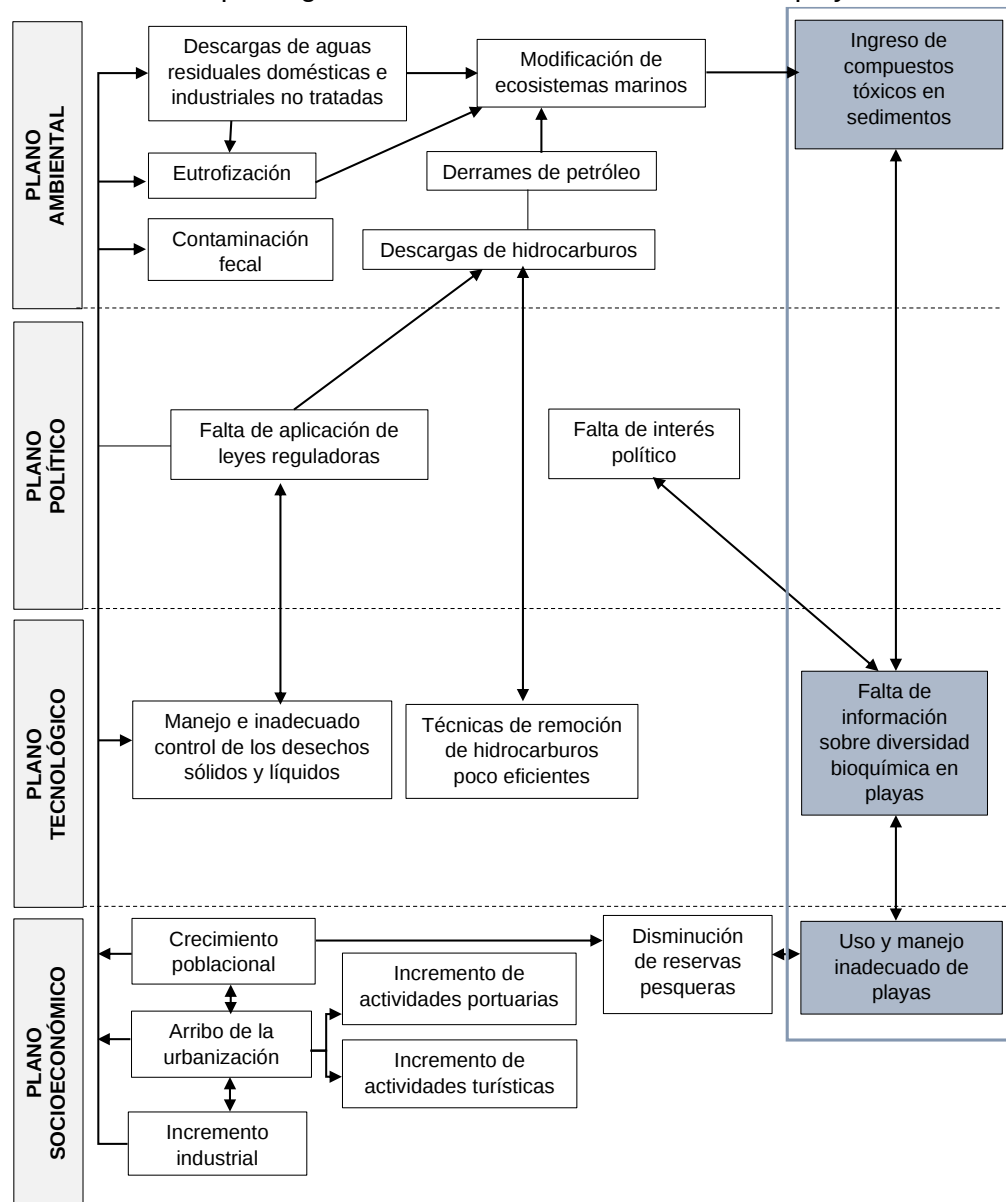


Figura 7. Esquema de la situación problemática en playas.

4.3 Planteamiento del Problema

En el esquema anterior (figura 7), se observan los factores con influencia en el desarrollo de esta investigación, los cuales se ubican dentro de los planos ambiental, tecnológico y socioeconómico. A lo largo del proyecto, se aborda el estudio microbiológico de las playas, específicamente, se explora la capacidad que tienen las bacterias heterótrofas de utilizar diversos compuestos que tienen su origen en las actividades antropogénicas que se realizan en zonas aledañas, así como al uso y manejo que se tiene de las playas.

4.4 Vacío del conocimiento

Conforme a la búsqueda de investigaciones realizadas acerca de las playas del estado de Veracruz, se observó que no existe algún trabajo en específico que nombre las características bioquímicas de las bacterias contenidas en los sedimentos. Los últimos estudios, abarcan problemáticas puntuales como la contaminación fecal en playas que son utilizadas con fines turísticos y/o de recreación; aislamiento de aquellas bacterias con capacidad degradadora de hidrocarburos, principalmente por las actividades portuarias y de extracción del petróleo, así como de la presencia de metales pesados.

4.5 Frontera del conocimiento

Existe información sobre organismos en sedimentos marinos con características que fueron adquiriendo a partir de su exposición y adaptabilidad al entorno. El rol que juegan las bacterias en un ecosistema es importante, ya que son capaces de degradar compuestos contaminantes de origen orgánico (Kieft *et al.*, 1997, Boschker *et al.*, 2001; Pucci *et al.*, 2009). Para su crecimiento, aprovechan a los contaminantes como fuente esencial de carbono logrando, al mismo tiempo, la biodegradación por medios microbianos (Gómez-García *et al.*, 2006). La diversidad de especies microbianas, entre ellos los grupos heterótrofos y su capacidad de metabolizar compuestos, resultan ser vitales para la eliminación de contaminantes (Pucci *et al.*, 2009).

4.6 Justificación

Las bacterias heterótrofas se han vuelto relevantes en los últimos años, ya que dentro de sus características integran alta resistencia a compuestos tóxicos, resistencia a cambios en el ambiente y una capacidad degradadora significativa (Abalos *et al.*, 2004). Baisre (2008) explica que, debido a la naturaleza de las fuentes y las rutas de transporte, la mayoría de los contaminantes que entran al medio marino a partir de fuentes terrestres, son liberados cerca de la costa donde son reciclados y atrapados; es por esto que la zona costera representa una reserva genética con el potencial de ser utilizada en sectores como medicina y biotecnología (Martínez *et al.*, 2007). Contar con estos conocimientos permite generar propuestas biotecnológicas para la resolución de problemáticas ambientales (Martínez-Trujillo & García-Rivero, 2012), además, caracterizar a los organismos involucrados en el proceso de biodegradación resulta de gran importancia para comprender, evaluar y desarrollar estrategias de biorremediación (Echeverri-Jaramillo *et al.*, 2010; Barrios-San Martín *et al.*, 2012). Este estudio, al ser de tipo exploratorio,

brindará información sobre las características bioquímicas de un panorama más amplio de lo que se encontraría al estudiar a fondo la parte microbiológica de los sedimentos marinos. También permitirá conocer la influencia de un gradiente antropogénico en donde se desarrollan diversas actividades sobre las capacidades de una bacteria. Además, será un aporte metodológico precedente para futuras investigaciones en playas de la zona costera central de Veracruz.

4.7 Pregunta de investigación

¿En qué playas de la zona costera central de Veracruz existirá mayor concentración y actividad bioquímica de bacterias heterótrofas durante las temporadas de estiaje y lluvias?

V. HIPÓTESIS

La concentración y actividad bioquímica de los grupos bacterianos heterótrofos encontrados en las playas de la zona costera central de Veracruz será un reflejo del grado de perturbación antropogénica que se presente durante las temporadas de estiaje y lluvias debido a la incidencia de actividades humanas, siendo mayor en aquellas cercanas al núcleo urbano.

VI. OBJETIVOS

6.1 General

Conocer la variación de las concentraciones y características bioquímicas de los grupos bacterianos heterótrofos encontrados en playas de la zona costera central de Veracruz con diferente grado de perturbación antropogénica durante las temporadas de estiaje y lluvias.

6.2 Específicos

OP₁

Cuantificar la concentración de los grupos bacterianos heterótrofos encontrados en las muestras de sedimento durante las temporadas de estiaje y lluvias.

OP₂

Identificar el factor (temporada climática o sitio) que tiene mayor efecto sobre las variaciones de las bacterias heterótrofas.

OP₃

Determinar las características bioquímicas de los grupos bacterianos heterótrofos por medios fenotípicos durante las temporadas de estiaje y lluvias.

VII. MATERIAL Y MÉTODOS

7.1 Selección de los sitios de estudio

Los sitios fueron seleccionados atendiendo a un gradiente de perturbación presente en las playas de la zona costera del estado de Veracruz, derivado del aumento de las actividades antropogénicas, las cuales se evidencian en los trabajos realizados por Siemens *et al.* (2006) quienes mostraron el crecimiento urbano en la zona costera terrestre y el deterioro de servicios ecosistémicos brindado por el sistema de dunas costeras; además de otros estudios como los de Bernal-Ramírez & Granados-Barba (2008) en donde se clasifican los espacios naturales dentro de la costa, Valadéz-Rocha (2013) quien proporciona información sobre el aumento en infraestructura y una acelerada presión en las playas, hasta Cataneo-Nieto *et al.* (2019) en donde se documentan los cambios ocurridos en la zona litoral de la ZMV durante 2007 a 2016.

De acuerdo con el gradiente de perturbación antropogénica que se ha ido trazando en los últimos años, se eligieron tres playas de la zona urbana central del estado: Antepuerto, Villa del Mar y Mocambo, además de dos playas rurales de contraste ubicadas a las afueras del núcleo urbano, Farallón, a una distancia aproximada de 71 km al noroeste del puerto de Veracruz y Arroyo Gioté, a 27 km hacia el sureste (figura 8).

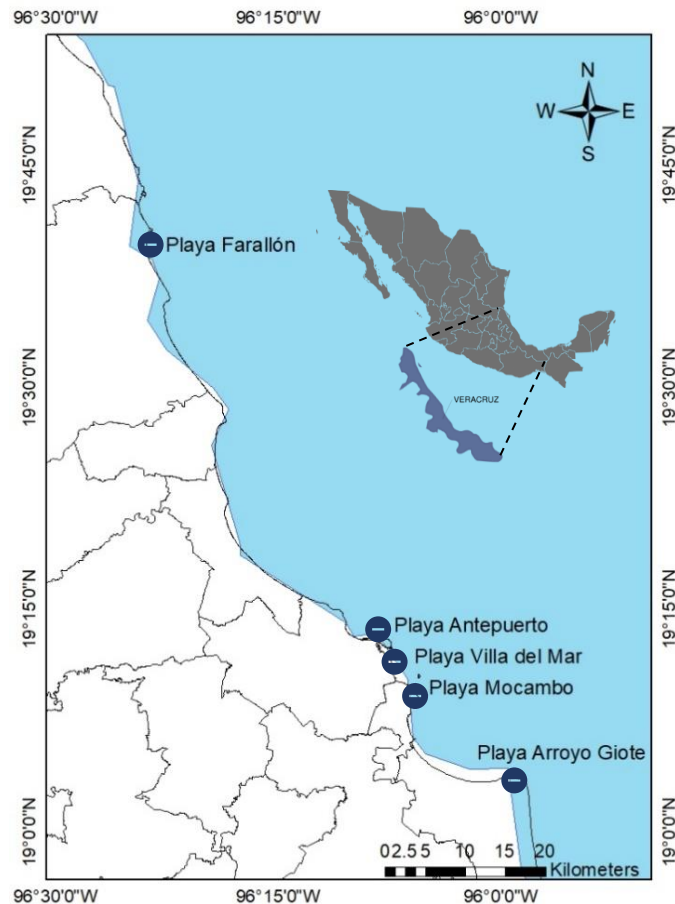


Figura 8. Ubicación de los sitios de muestreo. Elaborado en ArcGIS.

7.1.1 Descripción de los sitios de estudio

La estructura que presenta la costa de Veracruz, así como sus recursos, propicia a que se le dé un uso distinto a las diferentes zonas que existen (Ortiz-Lozano *et al.*, 2010), por lo que podemos identificar espacios destinados a actividades recreativas, turísticas, portuarias, pesqueras y aquellas otras generadoras de valor monetario (Sánchez-Domínguez *et al.*, 2015; Cataneo-Nieto, 2017). Considerando esto, además de la intensidad de incidencias humanas, su ubicación y colindancia con el núcleo urbano, en el cuadro 2 se resumen las diferencias entre cada una de las playas estudiadas durante la investigación.

Cuadro 2. Diferencias entre las playas estudiadas en base a sus incidencias antropogénicas.

	Farallón	Antepuerto	Villa del Mar	Mocambo	Arroyo Gioté
Colindancia al núcleo urbano	Alejado	De manera directa	De manera directa	No directamente	Alejado
Estructuras de protección	Sin estructuras de protección	Escolleras	Escolleras	Escolleras	Sin estructuras de protección
Usos	Natural Formación de dunas	Presencia de embarcaciones	Restaurantes, palapas turísticas, lanchas de pesca y para turismo	Restaurantes, palapas turísticas, lanchas de pesca y para turismo (moderado)	Lanchas de pesca
Influencia turística y recreativa	Mínima (Pequeños grupos por periodos)	Nula (No se permite la entrada a turistas)	Masiva (Durante todo el año)	Moderada-Masiva (Por periodos)	Mínima (Pequeños grupos por periodos)
Otros factores que influyen en el estado de las playas	Actividades agrícolas y pecuarias aledañas	Actividad portuaria, desarrollo urbano y hotelero, descarga pluvial y basura	Descarga de aguas residuales, actividad portuaria y desechos orgánicos	Incremento en la tasa poblacional, descarga de aguas residuales, actividad pesquera y relacionados con la destrucción de hábitats	Construcción de áreas residenciales, desembocadura del Arroyo Gioté y actividades ganaderas aledañas

Elaborado a partir de revisión bibliográfica y observaciones durante los muestreos (Pérez-Ruiz, 2012; Sánchez-Domínguez *et al.*, 2015; Hidalgo *et al.*, 2016; Cataneo-Nieto, 2017).

7.2 Muestreo

La recolección de las muestras se realizó en los meses en donde se presentaron las variaciones climáticas de estiaje y lluvias conforme a lo reportado en INEGI (2021). Los muestreos se realizaron durante la bajamar en los días de menor variación de marea, dicha información fue obtenida a partir de la Estación Mareográfica Nacional. Aunado a lo anterior, Schlacher *et al.* (2008) hacen mención que durante la bajamar existe una mayor retención de casi todos los organismos en el sedimento, ya que se encuentran enterrados y son menos móviles, además de que las características estructurales de la playa son más evidentes.

Ambos muestreos se realizaron en las mañanas a partir de las 7 h. Durante el primer muestreo realizado en el mes de mayo (temporada de estiaje) se presentó una variación promedio de temperatura de 26 a 32°C, se observó la presencia de actividad pesquera y turística mayormente en las playas de Villa del Mar y Mocambo. Mientras que en el segundo muestreo realizado en septiembre (temporada de lluvias) las mediciones mostraron una variación promedio en la temperatura del sedimento de 26 a 28°C, la actividad turística presentada durante estos días fue mínima ya que por las mañanas hubo influencia de lloviznas cortas, sin embargo, se observó la presencia de pequeñas lanchas pesqueras en la playa Arroyo Giotte. A través de la imagen que se muestra a continuación, se puede observar las diferencias morfológicas y estructurales que acompañan a cada una de las playas estudiadas.

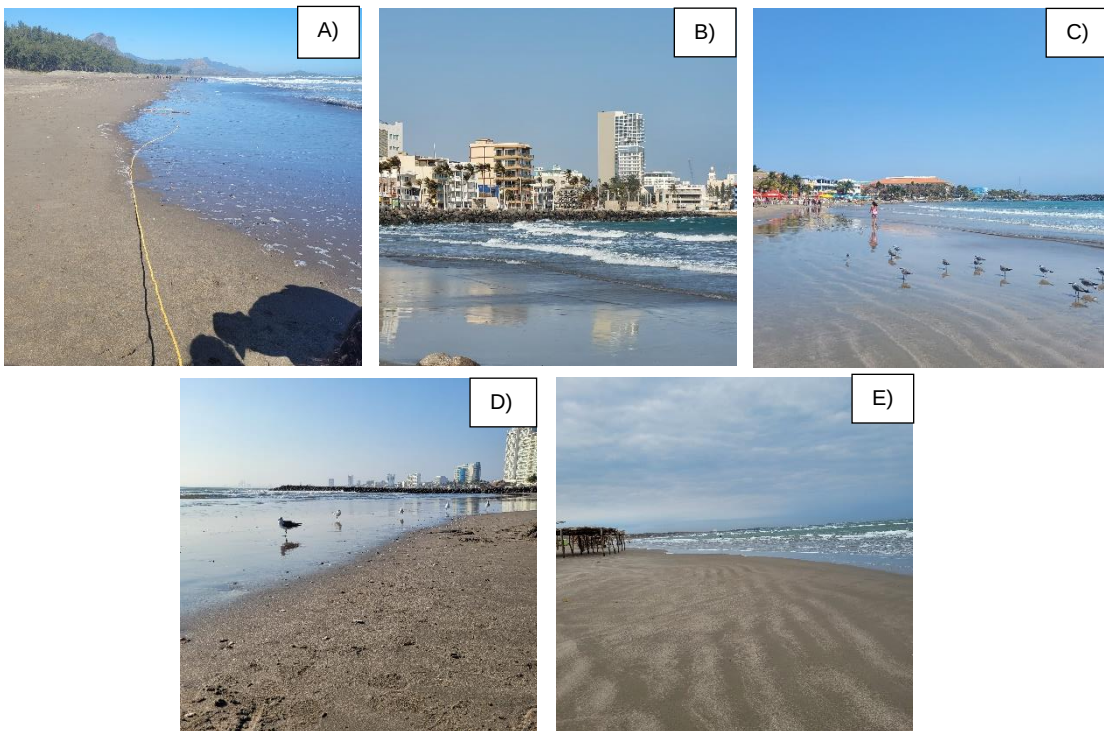


Figura 9. Playas de la zona costero central de Veracruz. A) Farallón, B) Antepuerto, C) Villa del Mar, D) Mocambo, E) Arroyo Giotte.

7.2.1 Recolección y transporte de las muestras

Se recolectaron 60 cm³ de tres muestras de arena de las playas seleccionadas (por triplicado), las cuáles formaban parte de los sedimentos marinos superficiales. La recolección de muestras se realizó sobre tres transectos perpendiculares a la línea de costa con una separación de 5 m entre cada uno. Se consideraron tres niveles de marea dentro del límite intermareal (alta, media y baja) en función de la morfología de la playa (figura 10).

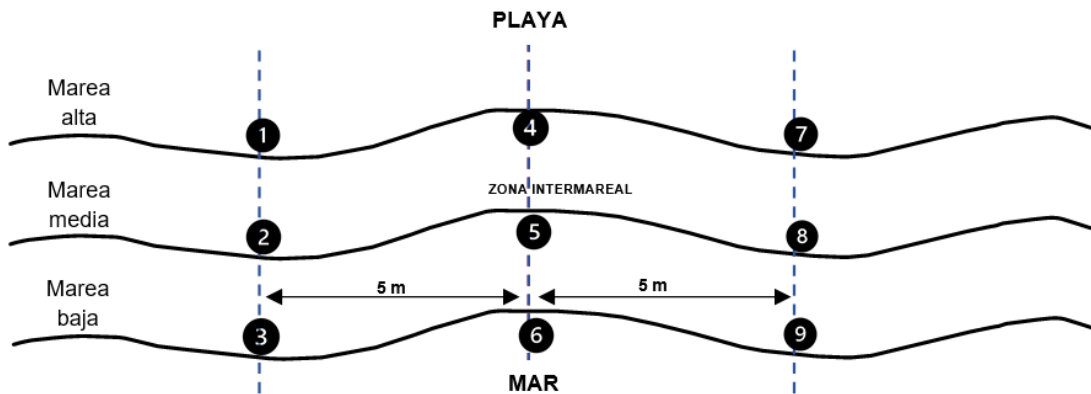


Figura 10. Ubicación de transectos a diferentes niveles de marea.

Las muestras se recolectaron con una jeringa plástica de 60 mL, utilizada a manera de nucleador, que se insertó verticalmente sobre el sedimento en cada uno de los puntos previamente marcados (figura 11). Las muestras fueron depositadas en bolsas de plástico estériles de la marca Nasco WHIRL-PAK y colocadas en una hielera a una temperatura aproximada de 4°C (APHA, 1989), para ser transportadas y analizadas en el Laboratorio de Investigación de Recursos Marinos (LIRA) perteneciente al Instituto Tecnológico de Boca del Río.

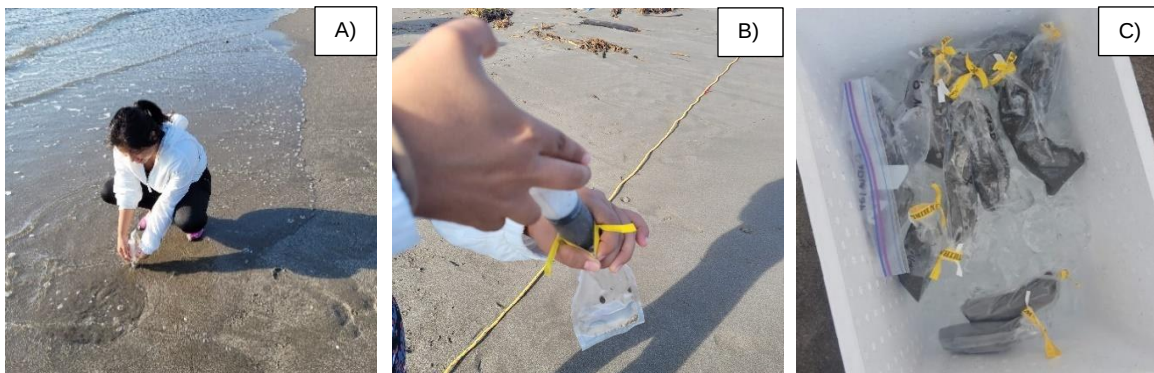


Figura 11. Proceso de recogida de muestra. A) Toma de muestra con nucleador, B) Vertido de muestra en bolsa estéril, C) Muestras recolectadas depositadas en hielera.

7.3 Trabajo de laboratorio

Se describe la metodología empleada para cumplir con los objetivos propuestos en la investigación, se explica a detalle cada una de las partes del experimento, los materiales, equipos,

condiciones de trabajo, medios utilizados y las pruebas bioquímicas realizadas. La figura de abajo nos muestra un resumen de estas etapas.

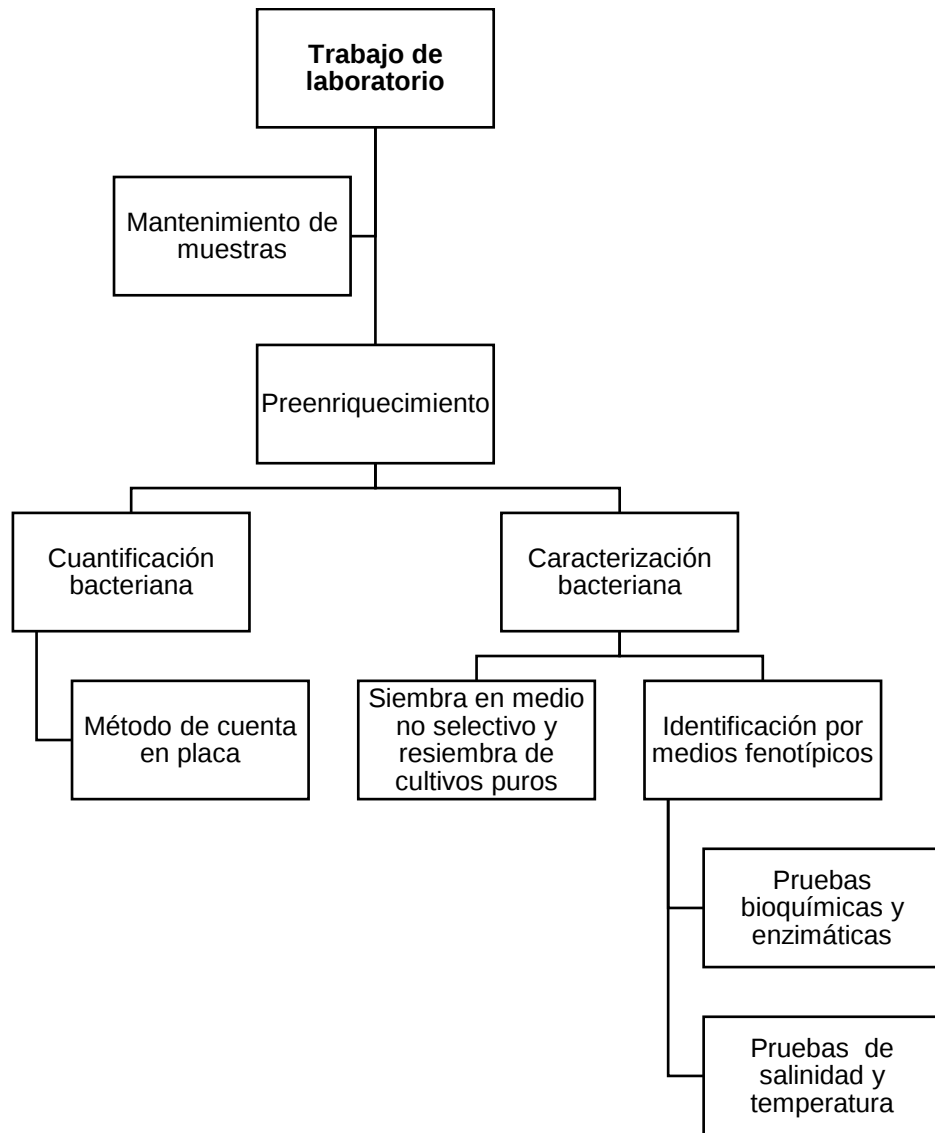


Figura 12. Diagrama de actividades realizadas en la fase experimental del proyecto.

7.4 Mantenimiento de las muestras

Previo al análisis de las muestras, se realizó un mantenimiento de ellas para su uso controlado a lo largo de la fase experimental. Se empleó la técnica de microcosmos el cual se basa en una prueba de incubación prolongada, que consiste en brindar a las muestras las condiciones necesarias que tendrían naturalmente mediante una simulación artificial de su hábitat a escala laboratorio, permitiendo observar lo que pasaría con los grupos bacterianos dentro de un ecosistema real y sus interacciones con sustancias tóxicas. Además, el microcosmos resulta útil para conocer los efectos de las actividades antropogénicas sobre los ecosistemas naturales (Sánchez *et al.*, 1987).

Los pasos para la realización de la técnica de microcosmos consistieron en lo siguiente: para cada muestra de sedimento marino recolectado, fue necesario esterilizar a 121°C durante 15 min (autoclave marca AESA), un total de 90 ml de agua destilada con 3% de NaCl, que es la concentración de sal contenida en el agua del mar de acuerdo con Ramírez *et al.* (2004). Una vez hecho esto, se procedió a colocar 10 g de muestra previamente pesado en una balanza analítica de la marca ADAM, en la disolución ya estéril, se sellaron los frascos de manera no tan hermética y se guardaron en hieleras a condiciones del ambiente de tal manera que no estuvieran expuestas a la luz del sol (figura 13).

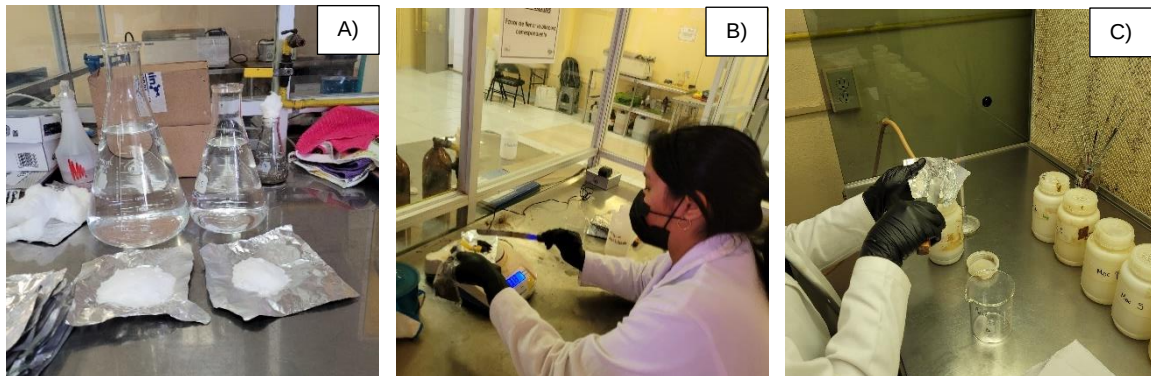


Figura 13. Técnica de microcosmos. A) Solución salina, B) Pesado de muestra, C) Vaciado de muestra en solución salina.

7.5 Análisis microbiológico de las muestras

7.5.1 Preenriquecimiento

Dos aspectos importantes durante los análisis microbiológicos son el pH y la osmolaridad. Por lo que es preciso que el pH sea controlado, especialmente cuando se involucran reacciones bioquímicas, ya que a un pH inadecuado los reactantes podrían variar o incluso no ejecutarse. Del mismo modo, resulta esencial el control de la osmolaridad, sobre todo al trabajar con células vivas, puesto que las membranas plasmáticas de las células reaccionan según la concentración de solutos en la que se encuentren. Diluyentes isotónicos como la solución salina o solución salina tamponada con fosfato son utilizados sistemáticamente en la preparación de suspensiones de células microbianas, en donde las sales contenidas en estos líquidos proporcionan un medio isotónico capaz de mantener la integridad y viabilidad de las células, utilizado principalmente para la suspensión y dilución de microorganismos no exigentes (SOPs, 2008).

En tubos de ensayo medianos se colocaron 9 mL de solución reguladora de fosfatos diluida (técnica de preparación en el Apéndice 1), los cuales se esterilizaron a 121°C en la autoclave durante 15 min, posterior a esto se esperó a que se enfriaran y se adicionó a cada uno 1 mL de muestra de los frascos que habían sido guardados anteriormente en las hieleras, se rotularon y se incubaron (incubadora marca Memmerk) durante 24 h a 35°C (figura 14).



Figura 14. Tubos preenriquecidos con solución reguladora de fosfatos.

7.5.2 Cuantificación bacteriana

Para dar respuesta al Objetivo 1 de esta investigación, se empleó la técnica de Cuenta en Placa, descrita en la NOM-092-SSA1-1994, la cual es utilizada para poder estimar la cantidad de microorganismos aerobios viables en una muestra. Para muestras con cargas bacterianas muy altas es necesario realizar una serie de diluciones, por lo que el primer paso en este análisis fue el determinar la dilución óptima a emplear por cada playa, tomando como modelo alguno de los tubos preenriquecidos anteriormente con solución reguladora de fosfato (figura 15) y ejecutando la técnica descrita en la norma.

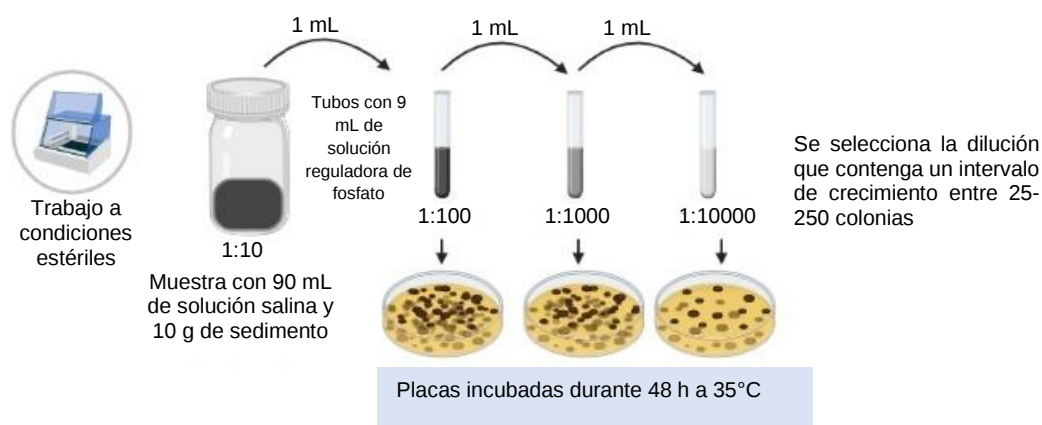


Figura 15. Procedimiento para la elección de la dilución óptima a emplear en la técnica de Cuenta en Placa. Elaborado en BioRender.

Logrado lo anterior, se prosiguió a preparar el medio Cuenta en Placa (técnica de preparación en el Apéndice 2). Las muestras preenriquecidas en los tubos de ensayo con las diluciones óptimas y el agar preparado se llevaron a la campana de extracción que con anticipación era esterilizada con luz UV, del mismo modo se procedió a encender el mechero para tener un ambiente estéril y poder trabajar alrededor de la flama. Con ayuda de pipetas estériles se tomaron alícuotas de 1 mL de muestra y se depositaron en el centro de las placas, inmediatamente se vertía sobre ellas

el agar cuenta en placa preparado, se cerraban y se realizaban movimientos circulares para que la muestra se homogenizara con el agar (6 movimientos circulares contrarios a las manecillas del reloj, 6 a la inversa, 6 de arriba a abajo y 6 de derecha a izquierda) , ya por último se rotulaban para una mejor identificación y se llevaban a incubación durante 48 h a 35°C, cada muestra se realizó por duplicado (figura 16).

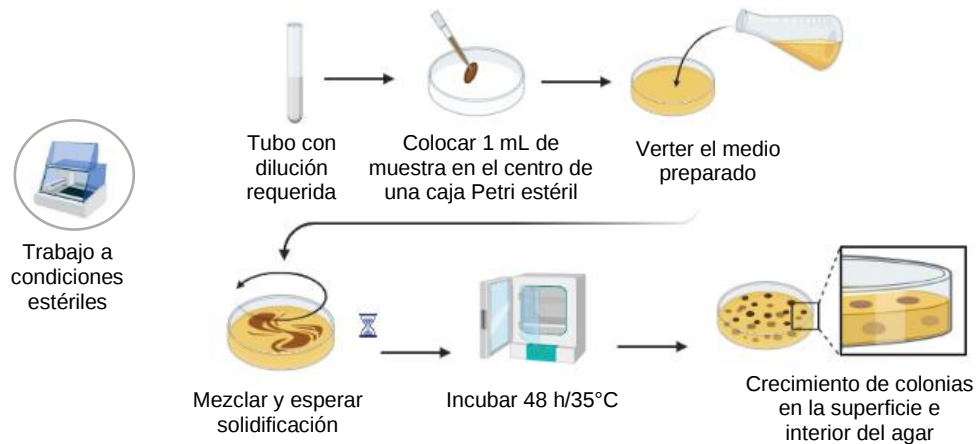


Figura 16. Ejecución de la técnica Cuenta en Placa para el conteo de colonias. Elaborado en BioRender.

Pasado el tiempo de incubación, se realizó el conteo en cada placa, los datos finales fueron reportados en UFC (Unidades Formadoras de Colonias) por 10 g de sedimento. En la figura siguiente se muestra el procedimiento y el crecimiento bacteriano de un sitio estudiado.

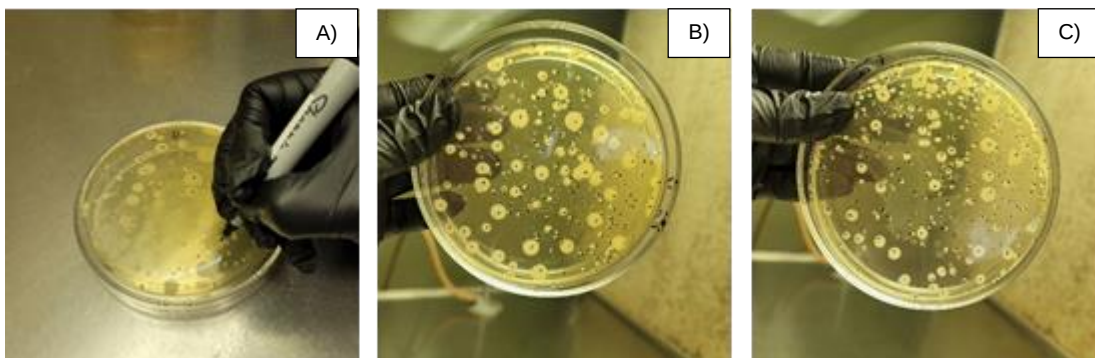


Figura 17. Conteo del crecimiento bacteriano. A) Técnica de conteo, B) Crecimiento en medio Cuenta en Placa perteneciente a la playa Farallón, C) Duplicado.

7.5.3 Caracterización bacteriana

Se realizó una caracterización bacteriana de las muestras, por lo cual fue necesario iniciar con el aislamiento de bacterias, dicho proceso se describe a continuación.

Es importante tener el volumen de muestra a estudiar para saber las cantidades de polvo a pesar, en este análisis en particular se utilizó agar TSA (Agar Soya Trypticaseína) el cual se caracteriza por ser un medio del tipo no selectivo, lo que nos permite aislar la mayor cantidad de grupos bacterianos. El agar se preparó siguiendo las instrucciones del envase (Apéndice 2) y se adicionó el 3% de NaCl, el medio preparado fue esterilizado en la autoclave a 121°C durante 15 minutos. Después de terminado este proceso, se esperó a que la temperatura descendiera a aproximadamente 45°C para poder verter en placas Petri estériles, esto se realizó en la campana de extracción previamente esterilizada y al lado de un mechero. Se dejó pasar un tiempo para que el agar dentro de las placas solidificara, con ayuda de un asa bacteriológica se tomó la muestra del tubo preenriquecido (se agitó vigorosamente) y se inoculó haciendo estrías en la superficie del agar TSA. Posteriormente, se cerraron las placas, se voltearon y se transportaron a la incubadora para que a partir de aquí los grupos de bacterias aislados comenzaran a desarrollarse durante un periodo de 24 h a 35°C (figura 18).

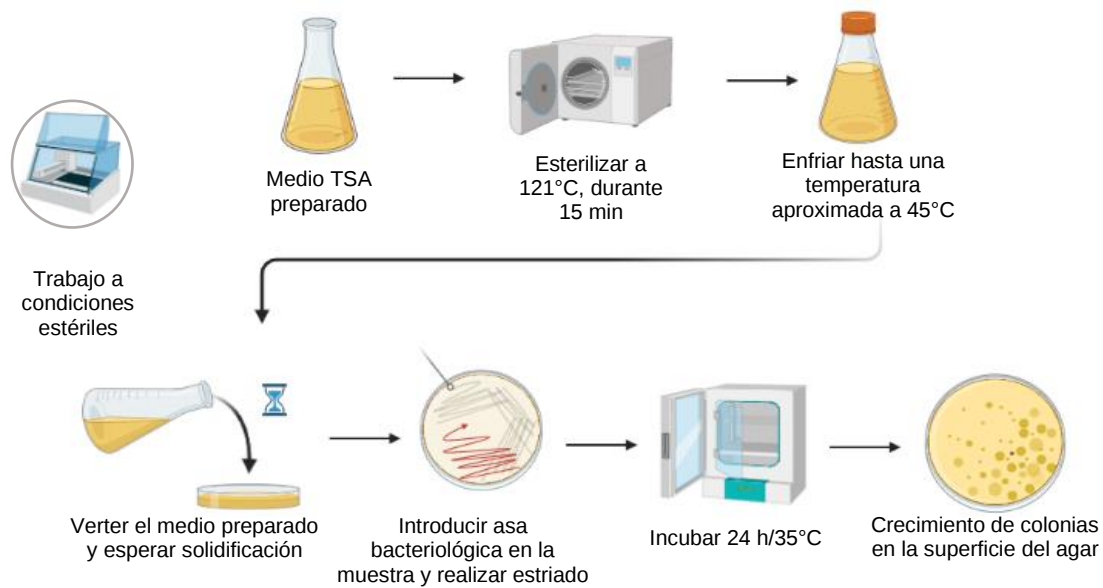


Figura 18. Procedimiento para el aislamiento de colonias. Elaborado en BioRender.

Transcurrido este tiempo, se agruparon de manera visual a las colonias que compartían rasgos morfológicos similares para separarlas de aquellas que fueran distintas al resto, las características observadas fueron: tamaño (pequeñas: < 1 mm, medianas: 1-3 mm y grandes: >3 mm), forma (circulares, ovaladas o forma indefinida), color (cremas, blanquecinas y amarillentas), superficie (planas, rellenas y/o transparentes u opacas), textura (resacas o viscosas) de acuerdo con Koneman (2008). A continuación, se muestra un ejemplo de cómo se identificaron las colonias en una misma placa para proceder a aislar cultivos puros (figura 19).

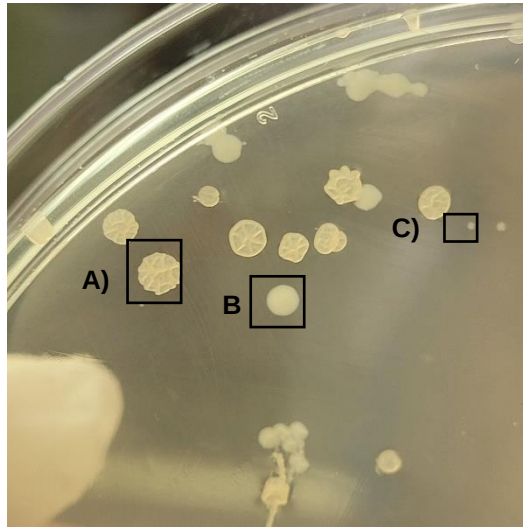


Figura 19. Bacterias aisladas en el proceso de siembra. Descripción: A) Colonia grande, amarillenta, aparentemente circular, reseca y plana, con textura en el interior, B) Colonia mediana, circular, crema, viscosa rellena, C) Colonia pequeña, circular, crema, viscosa rellena.

Todas las colonias seleccionadas fueron aisladas para tener cultivos puros, esto conllevó a la preparación de placas con medio TSA, en donde se resembraron los grupos identificados estriando la superficie del agar, las placas se incubaron a las mismas condiciones anteriores (figura 20).

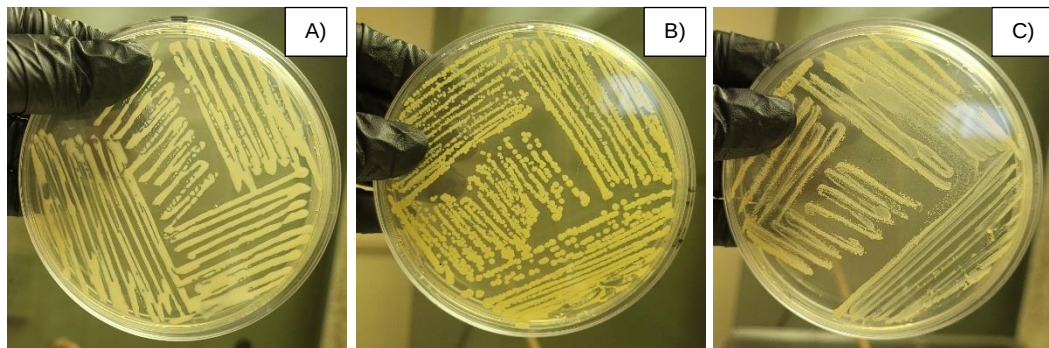


Figura 20. Aislamiento de cultivos puros en cajas Petri. A) Crecimiento de una colonia aislada de color crema con textura viscosa, B) Crecimiento de una colonia aislada de color amarillento con textura viscosa, C) Crecimiento de una colonia aislada de color crema con textura reseca.

7.5.3.1 Identificación bacteriana

Con los cultivos puros aislados, se realizó una batería de pruebas para poder conocer las características bioquímicas, enzimáticas, de temperatura y de resistencia a diferentes concentraciones de sal, perteneciente a las bacterias en los diferentes sitios de muestreo (cuadro 3). Dichas determinaciones se mencionan en la tabla de abajo, los pasos para la preparación

de los reactivos utilizados se describen en el Apéndice 1 y la preparación de los medios en el Apéndice 2.

Cuadro 3. Productos y reactivos utilizados en la caracterización bioquímica de los sitios de estudio.

Análisis	Nombre de productos y reactivos utilizados	Marca del producto	Método empleado
Presencia de la enzima oxidasa	- Tiras reactivas de oxidasa	Merck	
Presencia de la enzima catalasa	- H_2O_2 (Peróxido de hidrógeno)	Producto farmacéutico	
Utilización de citrato como única fuente de carbono	- Agar Citrato de Simmons	BD Bioxon	
Fermentación de hidratos de carbono	- Difco™ Triple Sugar Iron Agar (TSI)	BD Bioxon	MacFaddin (2003)
Habilidad de las bacterias para producir compuestos estables ácidos o neutros	- Medio RM-VP (Rojo de metilo y Voges- Proskauer) - Indicador Rojo de Metilo - α - Naftol al 5% - KOH al 40%	BD Bioxon	
Descarboxilación de Ornitina y movilidad de la bacteria	- Difco™ MIO medium	BD Bioxon	
Descarboxilación de Lisina	- Agar de Hierro y Lisina (LIA)	BD Bioxon	Fernández-Olmos <i>et al.</i> (2010)
Prueba de temperatura	- Agar Soya Trypticaseina (TSA)	MCD LAB	APHA (1989)
Pruebas de salinidad	- Agar Soya Trypticaseina (TSA) - Cloruro de Sodio (NaCl)	MCD LAB	

Nota: En la preparación de medios de cultivo y agares se adicionó 3% de NaCl, excepto en las pruebas de salinidad en las que se ocuparon diferentes concentraciones.

7.5.3.2 Pruebas bioquímicas y enzimáticas

A continuación, se explica la metodología para la realización de estas pruebas (figura 21), las cuales fueron trabajadas a condiciones estériles en la campana de extracción y al lado de un mechero de bunsen.

Determinación de la enzima Oxidasa. Con la ayuda del asa bacteriológica, se tomó una colonia del cultivo puro y se colocó en el centro de un portaobjetos, se procedió a frotar con una tira

indicadora de oxidasa justo en la parte impregnada con el reactivo, se observó la respuesta inmediata en el cambio de coloración de la tira.

Determinación de la enzima Catalasa. Del mismo modo que en la prueba oxidasa, se colocó la colonia sobre un portaobjeto y con una pipeta estéril se agregó 1 gota de H_2O_2 , inmediatamente se observó la reacción.

Utilización de Citrato como única fuente de carbono. Para cada colonia aislada, se preparó un tubo con 4 mL de Agar Citrato de Simmons, solidificado de forma inclinada para tener dos fases: aerobia y anaerobia. Se inoculó realizando estriado únicamente la superficie del agar y se incubó a 35°C durante 48h.

Fermentación de hidratos de carbono. Se prepararon tubos con 4 mL de medio TSI (los requeridos por cada sitio), solidificados de forma inclinada para tener dos fases: aerobia y anaerobia. Con un asa de punta se inoculó por picadura en el fondo y estriado en la superficie del agar, se incubó a 35°C durante 18 a 24 h.

Para todas aquellas colonias que mostraron la capacidad de fermentar hidratos de carbono, se les realizó otra batería de pruebas adicionales.

- Descarboxilación de la Lisina. Se prepararon tubos con 4 mL de medio LIA, siguiendo los mismos pasos que en el TSI, estos fueron inoculados por picadura y estriado, e incubados a 35°C durante 18 a 24 h.
- Descarboxilación de la Ornitina. Se utilizó el medio MIO para esta determinación, un agar semisólido el cual fue inoculado por picadura e incubado a 35°C durante 48 h. Como la movilidad es independiente a la fermentación de hidratos de carbono, esta prueba se realizó para todos los aislados.
- Formación de productos estables ácidos. Se prepararon tubos con medio MR-VP por duplicado para una misma colonia, los cuales fueron inoculados por agitación del asa en el medio líquido, se dejaron incubando a 35°C durante 48 h. Después de transcurrido este tiempo, se procedió a realizar las determinaciones, en el primer tubo se agregaron 5 gotas de indicador Rojo de metilo, se agitó y se observó un cambio de coloración en el tubo.
- Formación de productos finales neutros. Para el segundo tubo inoculado con la misma colonia, se agregó 3 gotas del reactivo α - Naftol al 5% y posteriormente, 2 gotas de KOH al 40%, se agitó y se dejó reposar de 15 a 20 minutos hasta observar el cambio de coloración.

En el Apéndice 3 se presenta una galería de imágenes con las respuestas observadas en cada uno de estos análisis.

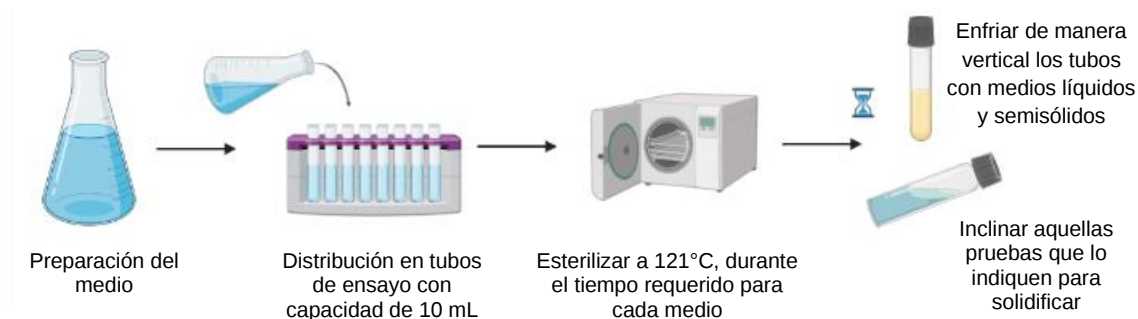


Figura 21. Procedimiento para preparar batería de pruebas en tubos de ensayo. Elaborado en BioRender.

7.5.3.3 Pruebas de temperatura y salinidad

Se realizaron sembrando sobre la superficie del agar TSA, cada tubo con 4 mL del medio. El proceso de preparación de estos tubos fue similar al mostrado en la figura 21. La diferencia radicó en las cantidades de NaCl añadido y las temperaturas de incubación. Para temperatura, el análisis se realizó a 7°C (por refrigeración) y a 42°C (mediante incubación) durante 24 h, para salinidad se usaron concentraciones mínimas de sales 0% y 10% de NaCl, los cuales se incubaron a 35°C durante 24h. La figura 22 muestra un ejemplo del crecimiento bacteriano para las pruebas de tolerancia a la temperatura y salinidad.



Figura 22. Crecimiento bacteriano sobre la superficie del medio TSA.

7.6 Pruebas bioquímicas

A partir de aquí, se describe de manera breve el fundamento de cada una de las pruebas dentro de la batería de bioquímicas seleccionada.

7.6.1 Oxidasa

Esta prueba se utiliza para determinar la presencia de la actividad oxidasa, cuya reacción se debe a un sistema citocromooxidasa que activa la oxidación del citocromo reducido por el oxígeno molecular produciéndose agua o H_2O_2 , todas las bacterias aerobias y anaerobias facultativas son oxidasa positiva (MacFaddin, 2003; Bou *et al.*, 2011).

7.6.2 Catalasa

La enzima catalasa cataliza la descomposición del H_2O_2 en oxígeno y agua, por lo que el metabolismo del H_2O_2 está regulado principalmente por esta enzima (Kaushal *et al.*, 2018), el cual se produce como consecuencia de la reducción del oxígeno y cuya acumulación resulta ser tóxica (Bou *et al.*, 2011). Es una enzima oxidorreductasa, ya que desempeña un papel crucial en la extinción de las especies reactivas de oxígeno (ROS). Actúa como antioxidante y protege a la célula contra el estrés oxidativo, se encuentra en una amplia gama de organismos aerobios y anaerobios. Además, desempeña un papel en el mantenimiento de la homeostasis redox de la célula como parte del sistema de respuesta antioxidante.

En el cuadro 4 se describe la aplicación biotecnológica de la enzima catalasa en diferentes industrias y/o sectores, de aquí que se puedan considerar los resultados obtenidos en este análisis para el estudio de la capacidad catalasa de los sedimentos marinos.

Cuadro 4. Aplicaciones biotecnológicas de la enzima catalasa.

Industria o Sector	Aplicación	Referencias
Textil	Blanqueo de textiles antes del teñido (eliminación del H_2O_2)	Amorim <i>et al.</i> (2002); Lončar & Fraaije (2015)
Alimentaria	Eliminación del oxígeno residual después del envasado, usando catalasa en combinación con una glucosa oxidasa	Lončar & Fraaije (2015)
Farmacéutica	Medicamentos y mascarillas	Grigoros (2017)
Ambiental	Indicador de la degradación de hidrocarburos en el suelo Bioindicadores de contaminación	Kaushal <i>et al.</i> (2018)
Tecnológico	Biosensores para detección de H_2O_2 basados en catalasa para la generación de una señal (detectar la leche en mal estado; monitorear el efecto de los inhibidores o activadores sobre la actividad de la catalasa y determinar su concentración)	Akyilmaz & Kozgus (2009); Fűtő <i>et al.</i> (2012); Shamsipur <i>et al.</i> (2012)
	Biocorrosión de metales influenciado por <i>Escherichia coli</i>	Busalmen <i>et al.</i> (2002); Baeza <i>et al.</i> (2013)
	Tratamiento de aguas residuales (eliminación del H_2O_2)	Grigoros (2017)
	Fabricación de micropeces impulsados por enzimas que se basan únicamente en la actividad de catalasa y se utilizan para pruebas de toxicidad de muestras de agua	Orozco <i>et al.</i> (2013)

7.6.3 Citrato de Simmons

La prueba del Citrato de Simmons se realizó para conocer si los grupos de bacterias heterótrofas eran capaces de utilizar citrato de sodio como su única fuente de carbono, siendo así que un organismo capaz de utilizar citrato como única fuente de carbono también utiliza las sales de amonio como su única fuente de nitrógeno. Las bacterias extraen el nitrógeno de las sales de amonio con producción de amoníaco, lo que conduce a la alcalinización del medio y obtención

de hidróxido de amonio (MacFaddin, 2003). Una prueba diagnóstica positiva se basa en la generación de subproductos alcalinos del metabolismo del citrato. Cuando se utiliza un ácido orgánico como el citrato como fuente de carbono y energía, finalmente se producen carbonatos y bicarbonatos alcalinos (MacWilliams, 2009). Entre las bacterias con estas características se encuentran: *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Serratia*, *Pseudomonas*, *Citrobacter* y algunas especies de *Salmonella* (MacFaddin, 2003).

De acuerdo con Magni *et al.* (2008) el citrato está presente en los jugos, la leche y los vegetales; además puede ser agregado como conservante de los alimentos (durante la fabricación de derivados cárnicos como jamones, chorizos y embutidos). Es así que la principal aplicación de bacterias que metabolizan el citrato se da en la industria de alimentos puesto que es utilizado en la fermentación de productos lácteos y algunos otros como el vino, la cerveza y salchichas (Magni *et al.*, 2008). Además, los compuestos volátiles producidos por la fermentación de citrato en la leche como el diacetilo y la acetoina, son importantes para el desarrollo del sabor en los productos lácteos fermentados (Sender *et al.*, 2002).

7.6.4 Fermentación de hidratos de carbono

Los hidratos de carbono se clasifican en: 1) monosacáridos, aldehídos, polihidroxiados o cetonas; 2) polisacáridos u oligosacáridos; 3) alcoholes polihídricos y ciclitales. La glucosa es un monosacárido de seis carbonos, mientras que la lactosa y sacarosa son disacáridos compuestos por dos unidades de monosacáridos, glucosa más otro monosacárido.

Sacarosa → Glucosa + fructosa

Lactosa → Glucosa + sacarosa

Los polisacáridos, trisacáridos y disacáridos son moléculas demasiado complejas para penetrar en una célula bacteriana para su degradación. Para ser metabolizados por una especie en particular, es necesario catabolizarlos a monosacáridos menos complejos por permeasas para su posterior incorporación en el interior de la célula. La fermentación es un proceso metabólico anaerobio de oxidación-reducción, en el cual un sustrato orgánico actúa como el aceptor final de hidrógeno (aceptor de electrones) en lugar de oxígeno. La fermentación de sustratos orgánicos como los hidratos de carbono da por resultado productos finales reducidos u oxidados (MacFaddin, 2003).

7.6.4.1 Productos derivados de la fermentación de la glucosa

Algunas bacterias pueden fermentar la glucosa en anaerobiosis, otras la oxidan; algunas otras pueden utilizar ambos mecanismos para su metabolismo, mientras que existen quienes no pueden utilizarla por ninguno. La principal vía fermentativa de degradación de glucosa es la vía de Embden-Meyerhof-Parnas (MacFaddin, 2003).

7.6.4.2 Lisina y Ornitina de bacterias fermentadoras de glucosa

La descarboxilación es un proceso por el cual las bacterias que poseen enzimas descarboxilasas específicas atacan los aminoácidos en su carboxilo terminal (COOH) para formar una amina o

una diamina y dióxido de carbono. Existen numerosas enzimas descarboxilasas, cada una específica para un sustrato dado. El aminoácido L-lisina es descarboxilado para formar cadaverina (una diamina) y CO_2 por la acción de la enzima específica lisina descarboxilasa (Møller, 1955; Cantarow & Schepartz, 1962). Mientras que, el aminoácido L-Ornitina es descarboxilado por la enzima ornitina descarboxilasa para formar la diamina putrescina y CO_2 (Cantarow & Schepartz, 1962). Estas enzimas son adaptativas o inducidas, al solo formarse cuando un microorganismo es cultivado en un ambiente ácido en presencia de un sustrato específico y los productos de descarboxilación cambian el pH a límites alcalinos (MacFaddin, 2003).

Actualmente, la fermentación microbiana es un método prometedor, sostenible y respetuoso con el medio ambiente para producir L-lisina y L-ornitina (Wu *et al.*, 2020). Es por esto que, se estudia la construcción de vías metabólicas no naturales que podrían tener un potencial económico para el futuro, mediante el desarrollo de tecnologías emergentes como la ingeniería metabólica y la biología sintética (Lee & Wendisch, 2017; Cheng *et al.*, 2018). La biofabricación de Lisina a menudo emplea cepas mutantes o modificadas para producir Lisina a través de la fermentación, como por ejemplo el uso de cepas modificadas de *Escherichia coli* (Nagai *et al.*, 2009). L-lisina tiene un valor comercial significativo como aditivo para piensos para promover el crecimiento de los animales, incluidos los cerdos y las aves de corral; también se usa como aditivo en alimentos para peces, porque la lisina es generalmente el primer aminoácido esencial limitante en muchas fuentes de proteínas utilizadas en los alimentos para estos organismos (Hua, 2013; Ikeda, 2017). Por su parte L-Ornitina, es un valioso aminoácido no proteico, tiene una amplia gama de aplicaciones en las industrias farmacéutica y alimentaria (Wu *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2018). Se produce por fermentación microbiana utilizando *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae* o *Corynebacterium glutamicum* (Mitsuhashi, 2014).

7.6.4.3 Productos estables ácidos o neutros de bacterias fermentadoras de glucosa

Los productos finales ácidos se producen por diferentes vías metabólicas de la fermentación de la glucosa y dependen principalmente de la concentración de iones de hidrógeno. Todos los organismos entéricos presentan una reacción rojo de metilo positiva, con pH de 4.2-6.3 para productos estables ácidos (Bou *et al.*, 2011); sin embargo, con una incubación prolongada estos microorganismos continúan con la producción de ácidos, lo que origina un pH terminal de 4.2 o menos (MacFaddin, 2003). De aquí que se mida la capacidad de la bacteria para mantener los productos ácidos estables por la vía ácido mixta. Del mismo modo, se utiliza la vía de fermentación butanodiólica (prueba de Voges-Proskauer) para la producción de productos finales neutros como el acetilmetilcarbinol, a partir de un pH de 6 o mayor (MacFaddin, 2003).

7.6.5 Resistencia a la temperatura

El control de la temperatura es un factor clave en cualquier proceso que involucre microorganismos, de acuerdo al crecimiento de bacterias a diferentes temperaturas, estas se clasifican en: psicrófilos que crecen a temperaturas menores a 10°C , mesófilos que se desarrollan entre los 10 y 50°C , termófilos que proliferan entre los 50 y 75°C y por último los hipertermófilos

que se desarrollan a temperaturas superiores a 75°C (Navas *et al.*, 2010). Muchas especies bacterianas implicadas en la biodegradación son mesófilas (Schiraldi & de Rosa, 2015).

Independientemente del tipo de microorganismo, éstos siempre tienen un rango de temperatura óptimo bastante estrecho para el crecimiento. Si se cultiva a una temperatura inferior a la óptima, el crecimiento se produce lentamente, lo que da como resultado una tasa reducida de producción celular y síntesis de productos. Por otro lado, si la temperatura de crecimiento es demasiado alta, no solo se producirá la muerte, sino que la expresión de proteínas o la síntesis de metabolitos también se verán seriamente afectadas (Zhong, 2011).

7.6.6 Resistencia a 0% y 10% de NaCl

Una gran cantidad de microorganismos, llamados halófilos, son capaces de vivir en presencia de concentraciones altas de sal, esto se debe a que durante su evolución han desarrollado diversas propiedades de adaptación a dichos ambientes (Soria, 2004). Los microorganismos halófilos se clasifican en función de la cantidad de sal que requieren para su desarrollo y crecimiento. Se consideran como halotolerantes aquellos que tienen la capacidad de tolerar la salinidad, halófilos débiles aquellos que soportan concentraciones entre 0.5-10% de NaCl, halófilos moderados entre 10-20% de NaCl y halófilos extremos arriba del 20% (Ramírez *et al.*, 2004).

Los microorganismos halotolerantes o halófilos, capaces de vivir en ambientes salinos, ofrecen multitud de aplicaciones reales o potenciales en diversos campos de la biotecnología, por ejemplo: los halotolerantes juegan un papel importante en la biotecnología alimentaria para la producción de alimentos fermentados y complementos alimenticios (Margesin & Schinner, 2001). Además, las bacterias moderadamente halófilas tienen el potencial para aplicaciones prometedoras, ya que muchos de ellos no solo producen compuestos de interés industrial (enzimas, polímeros y osmoprotectores), sino que también poseen propiedades fisiológicas útiles que pueden facilitar su explotación con fines comerciales. Son fáciles de cultivar y sus requisitos nutricionales son simples: la mayoría puede utilizar una amplia gama de compuestos como única fuente de carbono y energía (Ventosa *et al.*, 1998).

7.7. Descripción del análisis de los datos

7.7.1 Cálculo de la concentración de heterótrofas aerobias

Se seleccionó la dilución que mostró un crecimiento entre un rango de 25-250 UFC/10 g (NOM-092-SSA1-1994), las cantidades de colonias que se desarrollaron en placas pertenecientes a un mismo sitio y temporada climática fueron promediadas y multiplicadas por el factor de dilución, posteriormente, las medias obtenidas fueron organizadas en una tabla y graficadas para su discusión, el cuadro 5 ejemplifica como se llevó a cabo la selección de la dilución óptima para su conteo.

Cuadro 5. Procedimiento de selección de la dilución óptima.

Sitio	Diluciones		
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
Antepuerto	>250	182	3
Antepuerto duplicado	>250	216	2

Nota: Como los valores se encuentran dentro del rango, se promedian los datos de la dilución 10⁻².

Siendo así, que la expresión general quedó dada por la siguiente ecuación:

$$\frac{S_1 + S_2}{2} \times 10^x$$

Donde:

S_1 = Número de colonias del sitio en estudio

S_2 = Duplicado del número de colonias del sitio en estudio

X = Factor de la dilución óptima

7.7.2 Determinación del factor con mayor influencia sobre las concentraciones de bacterias heterótrofas

Los métodos de análisis planteados inicialmente para dar respuesta al Objetivo 2 estuvieron dentro de los procedimientos de ANOVA, el cuál es una prueba paramétrica que nos permite conocer las variaciones entre dos o más grupos así como también la influencia que ciertos factores (variables de respuesta) tienen entre sí (Smalheiser, 2017), y la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis (K-W) muy similar al ANOVA pero que difiere de ella al no asumir una distribución normal de los datos (Xia, 2020), la selección de un método en específico quedó sujeto al comportamiento y homogeneidad de las concentraciones bacterianas obtenidas durante el estudio; mientras que el factor con mayor efecto se determinó mediante análisis de varianza, empleando una prueba de hipótesis y detectando diferencias estadísticas significativas entre los datos. El análisis estadístico, la correlación de las variables de respuesta temporadas climáticas y sitios muestreados, además de la construcción de los gráficos presentados en este documento fueron realizados en el programa Statística de StatSoft.

7.7.3 Integración de datos de las características bioquímicas

Se realizó un concentrado en Excel del número de grupos aislados por cada sitio de estudio y de las respuestas positivas a cada bioquímica realizada, la información fue agrupada por temporada climática y se realizaron gráficos individuales en el software OriginPro 2023 que muestran la abundancia de enzimas, la tasa de degradación de cierto nutriente, y la resistencia a la temperatura y salinidad presentadas en cada playa; además, se realizaron dos gráficos globales con estos valores que muestran las variaciones porcentuales entre los sitios durante las dos temporadas climáticas.

VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8. 1 Concentración de bacterias heterótrofas

Para dar respuesta al Objetivo 1 propuesto al inicio de esta investigación, se realizó el conteo de bacterias aerobias heterótrofas de los sitios estudiados durante las temporadas de estiaje y lluvias, siendo UFC/ 10 g la unidad usada para determinar la concentración mostrada en cada una de las playas. El cuadro 6 muestra el promedio de las concentraciones de heterótrofas encontradas en cada sitio durante ambas temporadas climáticas.

Cuadro 6. Promedio de la variable respuesta UFC/10 g por playa durante las temporadas de estiaje y lluvias.

Sitio Temporada	Farallón	Antepuerto	Villa del Mar	Mocambo	Arroyo Giote
	UFC/10 g				
Estiaje	9.3E+05	2.0E+06	1.8E+06	8.9E+05	1.8E+06
Lluvias	2.4E+05	3.8E+05	2.6E+06	2.9E+06	1.3E+06

Las concentraciones más altas se presentaron durante la temporada de lluvias en las playas de Mocambo (2.9E+06 UFC/10 g) y Villa del Mar (2.6E+06 UFC/10 g), mientras que las más bajas se presentaron en Farallón (2.4E+05 UFC/10 g) y Antepuerto (3.8E+05 UFC/10 g) en la misma temporada climática, siendo estos valores aún más bajos que los presentados por Farallón (9.3E+05 UFC/10 g) y Mocambo (8.9E+05 UFC/10 g) durante el estiaje, encontrándose Farallón como única playa con las concentraciones más bajas durante las dos temporadas. De acuerdo con Montes *et al.* (2021) la concentración de bacterias heterótrofas puede verse afectada por la disponibilidad materia orgánica del sitio, además de que estos valores suelen ser mayores en las zonas costeras debido a los aportes por escorrentía y ríos.

La figura 23 muestra gráficamente las concentraciones de bacterias heterótrofas presentadas durante las temporadas climáticas de estudio.

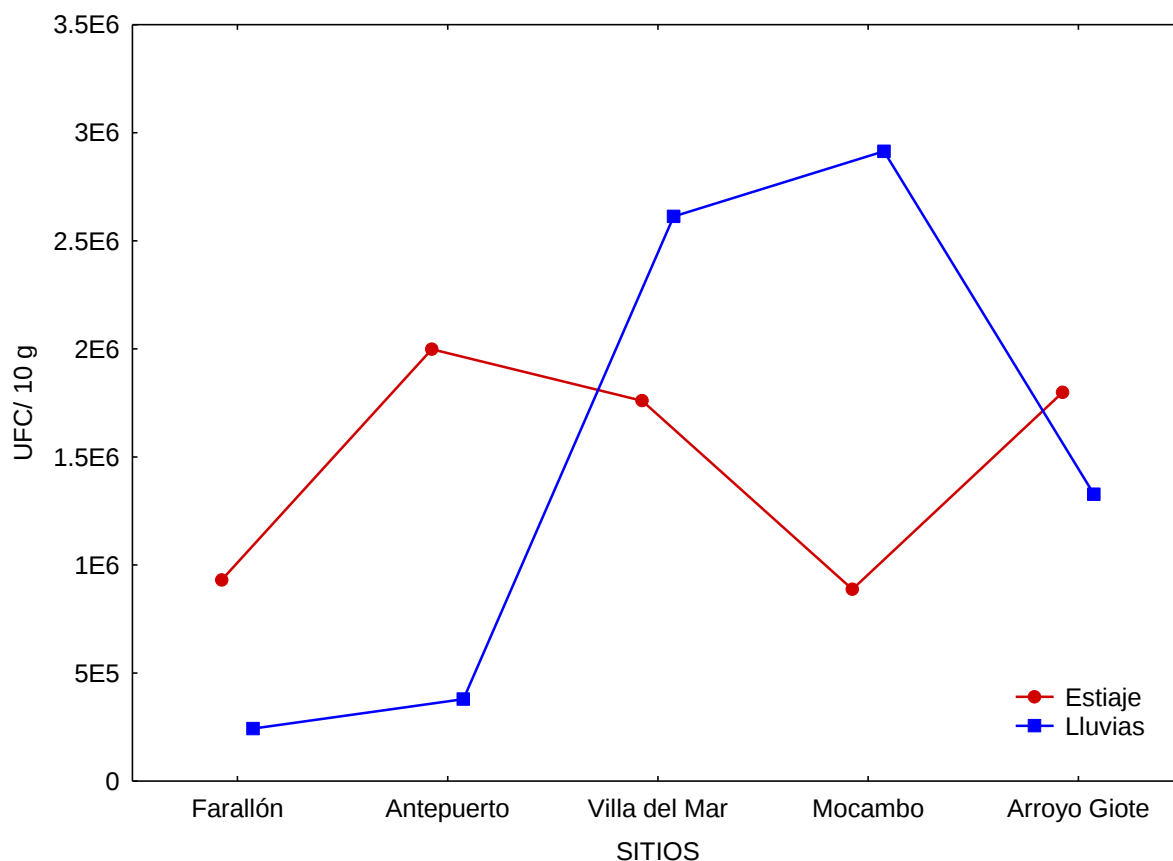


Figura 23. Concentración de bacterias aerobias heterótrofas durante las temporadas de estiaje y lluvias.

Farallón fue inicialmente seleccionada como playa de contraste al ser la más alejada al núcleo urbano, es considerada como natural, por lo que se pensaba presentaría menor cantidad de bacterias heterótrofas por tener poco aporte antropogénico de materia orgánica (Bertasi *et al.*, 2007; Rodil *et al.*, 2007). Pérez-Ruiz (2012) sugiere usar Farallón como una playa de referencia para evaluar perturbaciones naturales e inducidas. Rodil *et al.* (2007) encontraron que las concentraciones de materia orgánica eran significativamente diferentes cuando se comparaban playas protegidas y expuestas, ya que las bajas condiciones hidrodinámicas de las playas protegidas favorecen el asentamiento de sedimentos finos ricos en materia orgánica. Es así como también se puede inferir que por la gran hidrodinámica que presenta esta playa la concentración de heterótrofas es menor.

Antepuerto, por su parte, presentó una concentración más alta en la temporada de estiaje que en lluvias; a diferencia de las otras playas este sitio es el más pequeño y colindante con el malecón y no se encuentra influenciado directamente por turistas, sin embargo, sí presenta influencia de un desarrollo urbano y hotelero, además de una descarga pluvial y el movimiento cercano de embarcaciones. Dichos desechos generados por embarcaciones se presentan principalmente por el aporte de contaminantes en forma de materia orgánica (Secretaría de Desarrollo Regional, 2004). Se consultaron los estadísticos de la Marina (Secretaría de Marina, 2022) del movimiento

mensual de carga en buques de los meses en los que se realizaron los muestreos y se encontró que en el mes de septiembre perteneciente a la temporada de lluvias la actividad portuaria fue menor a los registrados en el mes de mayo perteneciente a estiaje, este podría ser un factor para explicar cómo es que la concentración de heterótrofas fue menor en lluvias que en estiaje.

Villa del Mar y Mocambo son playas muy similares entre sí, ambas comparten una gran demanda de turistas, además cuentan con antecedentes de altas cantidades de materia orgánica (Pérez-Ruiz, 2012; Sánchez-Domínguez *et al.*, 2015; Hidalgo-Rodríguez, 2017) y son las que más se encuentran expuestas a actividades antropogénicas diversas debido a su cercanía con el núcleo urbano, de aquí que se consideren como modificadas por la construcción de escolleras debido a un acelerado crecimiento humano (Siemens *et al.*, 2006; Valadéz-Rocha, 2013). Las escolleras promueven el depósito de arena en las playas y disipan la energía del oleaje (Bernal-Ramírez & Granados-Barba, 2008), viéndose afectado el efecto hidrodinámico mencionado anteriormente, convirtiéndose estas grandes barreras de retención en una fuerte influencia de la acumulación de material orgánico. Las altas tasas de material orgánico son indicativos no directos del grado del deterioro del sitio (Brown & McLachlan, 1990). Particularmente, en Villa del mar la corriente litoral es hacia el sur y esto, en conjunto con el oleaje refleja una fuerte sedimentación de materiales finos y materia orgánica (Lizárraga-Arciniega *et al.*, 2007; Pérez-Ruiz, 2012). Por otra parte, Trojanowski & Bigus (2013) explican que las precipitaciones favorecen el aumento de vegetación y estas a su vez el incremento de materia orgánica en las zonas costeras que llegan a través de la descarga de los ríos, es por esto que podría considerarse otro factor por el que se obtuvieron concentraciones mayores de heterótrofas en época de lluvias, ya que estas playas pudieron verse afectadas con el aporte de sedimentos terrígenos de los ríos Papaloapan, La Antigua y Jamapa (Salas-Pérez & Granados-Barba, 2008; Ortiz-Lozano & Bello-Pineda, 2012). Pérez-España & Vargas-Hernández (2008) indican que la tasa de sedimentación promedio anual es de $250 \text{ g m}^{-2} \text{ día}^{-1}$, lo que es un indicativo de mayor presencia de materia orgánica en playas localizadas cerca del núcleo urbano.

Arroyo Giote tanto en estiaje como en lluvias presentó concentraciones medias, con muy poca diferencia entre ellas y, al igual que Farallón, es una playa rural no modificada. La diferencia entre sus concentraciones podría deberse a que en Arroyo Giote predomina la pesca como actividad económica, además de que se realizan actividades ganaderas en zonas colindantes, tiene influencia no tan directa del núcleo urbano; sin embargo, es más cercana que en Farallón y recibe el aporte intermitente por parte de un arroyo con el mismo nombre. La interacción de las corrientes del sur, cerca de donde se ubica este sitio, son generadoras de un giro ciclónico, cuyo movimiento vertical produce resuspensión de sedimentos incrementando la cantidad de material cerca de la superficie (Salas-Monreal *et al.*, 2009).

8.2 Identificación del factor con influencia en las concentraciones de bacterias heterótrofas

Se contemplaron dos factores que pueden influir sobre la concentración de bacterias heterótrofas en los sitios muestreados: la temporalidad climática y el sitio de acuerdo con su proximidad al núcleo urbano.

8.2.1 Análisis estadístico (temporalidad climática y sitio muestreado)

Para dar respuesta al objetivo 2, se realizó un análisis estadístico de las concentraciones mostradas en el cuadro 6, usando como variable de respuesta UFC/ 10 g y como variables independientes a los sitios y las temporadas climáticas. Para poder determinar cuál de estos dos factores ejerció una mayor influencia sobre la concentración de bacterias heterótrofas se analizaron los datos mediante el programa Statistica.

Como primer paso, se recurrió a usar Levene's (ANOVA) una prueba de homogeneidad de varianzas el cual muestra el comportamiento de los datos, para lo cual se empleó una prueba de hipótesis cuya respuesta quedó dada de la siguiente manera:

H_0 : Si $p \geq 0.05$ Las varianzas son homogéneas, no existen diferencias estadísticas significativas entre los sitios y las temporadas, por lo tanto, los datos son paramétricos.

H_A : Si $p \leq 0.05$ Las varianzas no son homogéneas, sí existen diferencias estadísticas significativas entre los sitios y las temporadas, por lo tanto, los datos no son paramétricos.

Esta prueba mostró diferencias estadísticas significativas en la interrelación de las variables, por lo que se aceptó la H_0 (hipótesis nula) y se rechazó la H_A (hipótesis alterna), siendo $p \leq 0.05$. A partir de aquí se descarta la prueba de ANOVA ya que los datos no son paramétricos y se prosiguió a realizar la prueba de varianza mediante Kruskal-Wallis.

8.2.2 Estadísticos descriptivos

Debido a que los datos no siguen una distribución normal, se usó la prueba de Tukey para poder conocer en qué valores se encontraban las diferencias estadísticas significativas, a continuación, se muestran los estadísticos descriptivos arrojados por esta prueba (cuadro 7 y cuadro 8).

Cuadro 7. Estadístico descriptivo de la concentración de bacterias heterótrofas (UFC/10 g) durante dos temporadas climáticas.

Estiaje	Lluvias
1.5E+06 ± 1.3E+06 ^a	1.5E+06 ± 3.0E+06 ^a

Nota: Valores de medias con subíndices diferentes muestran diferencias estadísticas significativas.

Al analizar las temporadas climáticas como única variable y al comparar las varianzas entre estiaje y lluvias se encontró que no existen diferencias estadísticas significativas (cuadro 8), por lo que los datos fueron agrupados en un solo grupo (superíndice a), siendo sus medias muy similares. De aquí que se pueda decir que este factor no ejerce presión alguna sobre las concentraciones de bacterias heterótrofas en las playas.

Cuadro 8. Estadístico descriptivo de la concentración de bacterias heterótrofas (UFC/10 g) de los sitios muestreados.

Farallón	Antepuerto	Villa del Mar	Mocambo	Arroyo Giotte
5.9E+05 ± 7.4E+05 ^a	1.2E+06 ± 9.6E+05 ^b	2.2E+06 ± 3.3E+06 ^b	1.9E+06 ± 2.3E+06 ^b	1.6E+06 ± 2.8E+06 ^{ab}

Nota: Valores de medias con subíndices diferentes muestran diferencias estadísticas significativas.

Con respecto a los sitios, se encontraron tres agrupaciones denotadas con los superíndices a, b y ab. Las cargas de bacterias heterótrofas presentadas en las playas Antepuerto (1.2E+06 ± 9.6E+05 UFC/10 g), Villa del Mar (2.2E+06 ± 3.3E+06 UFC/10 g) y Mocambo (1.9E+06 ± 2.3E+06 UFC/10 g) no mostraron diferencias estadísticas significativas entre sí. Farallón es la playa que presentó una menor carga en ambas temporadas climáticas, teniendo diferencias estadísticas significativas con las tres playas anteriores. Por su parte, Arroyo Giotte no presentó diferencias estadísticas significativas con ninguna de las playas (cuadro 9). De esta manera, se puede decir que el factor sitio ejerce mayor efecto sobre las concentraciones de bacterias heterótrofas que el factor temporada.

8.2.3 Gráficos estadísticos

Se realizó la construcción de los gráficos de caja a partir del modelo Kruskal-Wallis, en donde se representan las concentraciones de heterótrofas en los sitios y las temporadas climáticas. Se muestra de manera práctica las variaciones presentadas en cada factor. Estando condicionada la variable respuesta por las siguientes hipótesis:

H₀: Si $p \geq 0.05$ No existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos con relación a la variable de respuesta.

H_A: Si $p \leq 0.05$ Sí existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos con relación a la variable de respuesta.

Nota: Se llamó tratamiento a cada variación climática dentro del factor temporada y a cada playa dentro del factor sitio.

La figura 24 muestra la variación de la concentración de bacterias heterótrofas entre las temporadas climáticas.

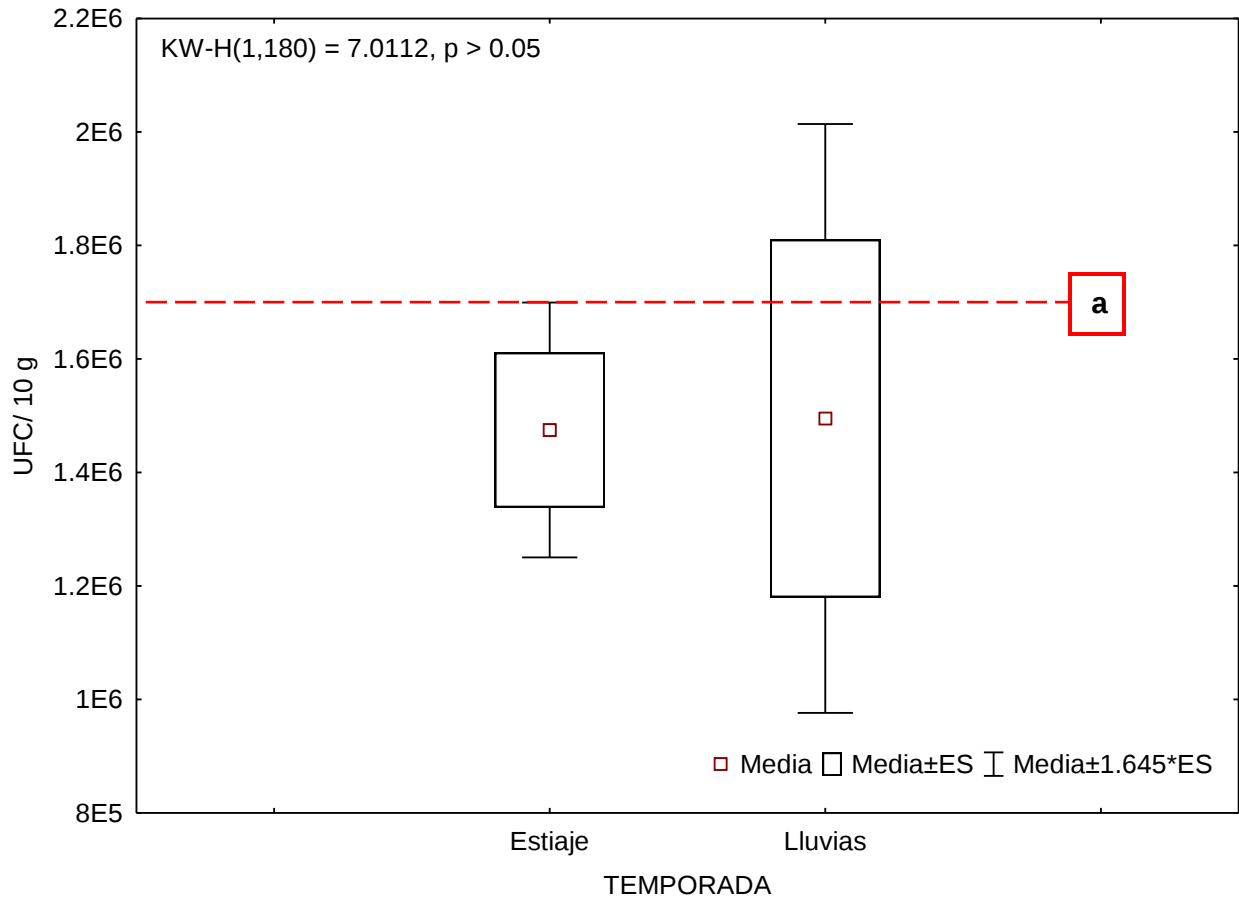


Figura 24. Gráfica de cajas de la relación concentración de bacterias heterótrofas en función de la temporada en donde “a” representa similitud entre los datos.

El gráfico de la figura 24 está dado por la ecuación: $KW-H(1-180) = 7.0112$, siendo $p > 0.05$, con un porcentaje de confianza del 95%. Se puede observar que la presencia de heterótrofas es mayor en lluvias, sin embargo, no es tan grande para decir que es significativamente diferente a estiaje. Por lo que la H_0 es aceptada al no existir diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos y por tanto la H_A se rechaza.

La figura 25 muestra la variación de la concentración de bacterias heterótrofas entre los sitios muestreados.

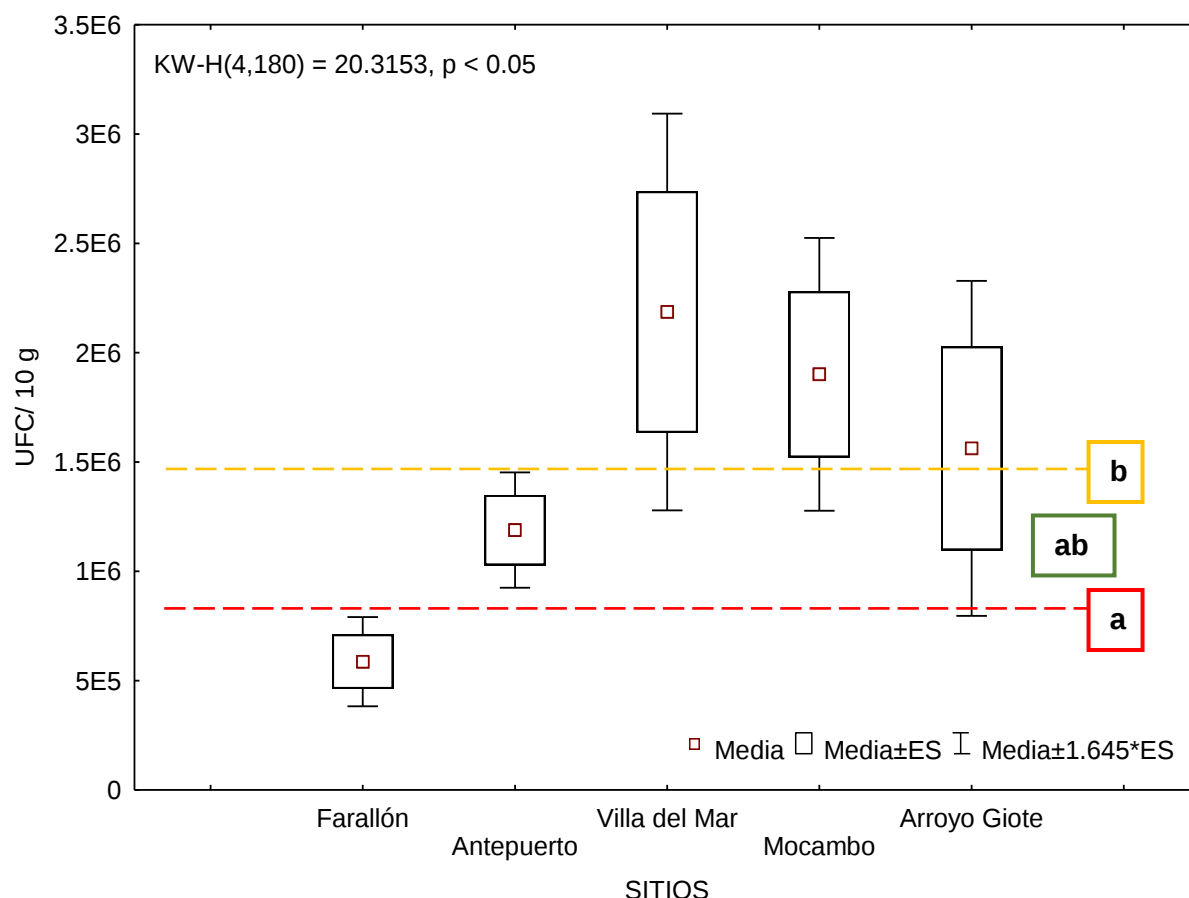


Figura 25. Relación de la concentración de bacterias heterótrofas en función del sitio, en donde “a” agrupa a las cajas con datos similares y “b” agrupa a las cajas con datos similares que se diferencian de “a”.

Este gráfico está dado por la ecuación: KW-H (4,180) = 20.3153, siendo $p < 0.05$, con un porcentaje de confianza del 95%. A partir de la figura 25 se puede apreciar de mejor manera la influencia que ejercen las playas sobre las concentraciones heterótrofas, aquí ocurre lo contrario al gráfico anterior, puesto que la variación entre ellas es mayor y es por esto por lo que, al existir diferencias estadísticas significativas entre las playas la H_0 es rechazada, por lo tanto, se acepta la H_A .

8.3 Determinación de las características bioquímicas de los grupos bacterianos heterótrofos

8.3.1 Número de aislados por sitio de muestreo

El Objetivo 3 surge con el propósito de poder conocer las características de los grupos bacterianos heterótrofos en las playas de la zona costera central de Veracruz, las cuales podrían ser aprovechadas biotecnológicamente y estudiadas más a fondo en investigaciones futuras, por lo que se recurrió al empleo de métodos fenotípicos para la realización de pruebas degradativas,

enzimáticas, de temperatura y de resistencia a diferentes concentraciones de sal. El cuadro 9 detalla el número de grupos de bacterias aisladas por cada sitio estudiado durante las temporadas de estiaje y lluvias.

Cuadro 9. Número de aislados en los diferentes sitios de estudio durante estiaje y lluvias.

Sitios	Estiaje	Lluvias
Farallón	16	24
Antepuerto	27	26
Villa del Mar	20	20
Mocambo	26	27
Arroyo Giote	20	19

Los grupos bacterianos heterótrofos fueron aislados de acuerdo con las diferencias morfológicas en forma, tamaño, color, superficie y textura, presentándose un mayor número de grupos con características diferentes en las playas de Antepuerto y Mocambo con 27 y 26 grupos de bacterias respectivamente y, con menor número, en playa Farallón donde solo se aislaron 16 grupos durante la temporada de estiaje. Por su parte, en la temporada de lluvias, el mayor de número de aislados se presentó en las mismas playas que en la de estiaje, ahora Mocambo con 27 y Antepuerto con 26 grupos, mientras que Arroyo Giote fue la playa con menor número de bacterias heterótrofas con características físicas diferentes, solo 19 grupos.

La figura 26 compara los porcentajes del número de bacterias heterótrofas aisladas en los diferentes sitios de muestreo, no se observa una diferencia amplia en estos valores durante las dos temporadas de análisis, estando estos dentro de un rango de 16%-24%.

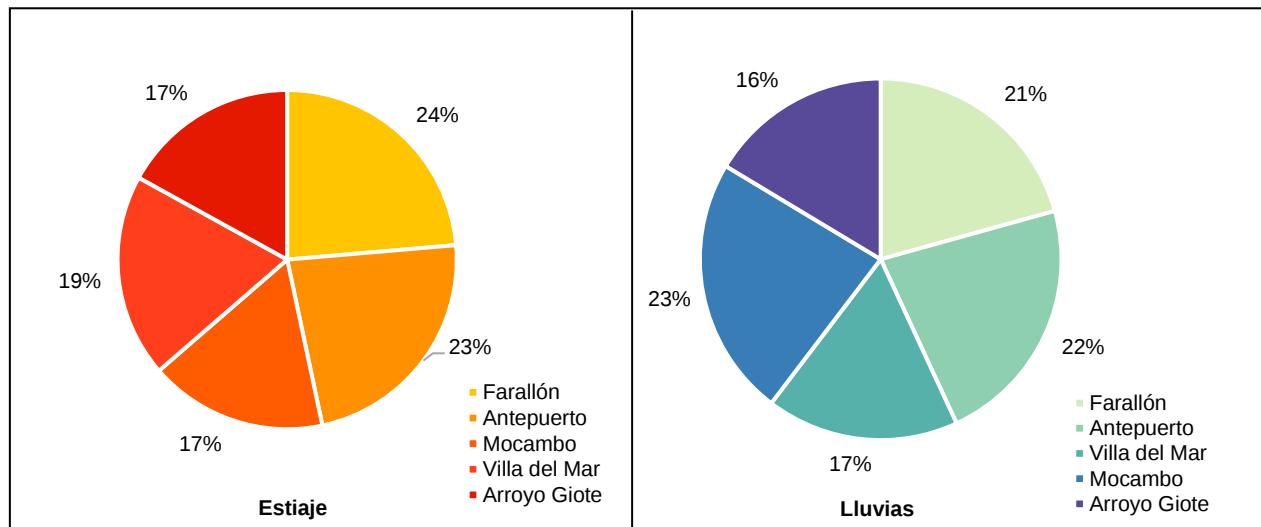


Figura 26. Porcentaje de grupos heterótrofos aislados para las temporadas de estiaje y lluvias.

8.3.2 Diversidad bioquímica

El cuadro 10 muestra de manera general un concentrado de la cantidad respuestas presentadas por las bacterias heterótrofas al ser analizadas con la batería de pruebas propuesta en la sección de materiales y métodos.

Cuadro 10. Respuesta de las bacterias heterótrofas a la batería de pruebas realizadas

Playas	Farallón	Antepuerto	Villa del Mar	Mocambo	Arroyo Giotte	Farallón	Antepuerto	Villa del Mar	Mocambo	Arroyo Giotte
Pruebas	Estiaje					Lluvias				
Oxidasa	10	24	15	23	17	21	19	17	22	7
Catalasa	13	25	17	20	17	23	22	20	24	19
Citrato	10	21	14	12	9	14	21	12	19	11
Fermentación	2	1	9	2	4	11	17	3	23	7
Productos ácidos	1	0	7	0	3	5	12	1	10	2
Productos neutros	0	1	2	0	1	6	4	0	7	0
Lisina descarboxilasa	1	1	6	1	2	7	11	1	15	4
Ornitina descarboxilasa	0	0	8	1	3	4	9	3	20	1
Temperatura 42°C	9	16	20	16	14	23	26	15	27	19
NaCl 0%	12	19	20	19	16	24	24	15	27	19
NaCl 10%	3	15	8	16	7	18	26	5	9	14

Nota: Los números naturales indican la cantidad de grupos de bacterias heterótrofas con respuesta positiva a cada prueba.

Se observa que las características con mayor presencia en las bacterias heterótrofas fueron su capacidad de poseer enzimas oxidasa y catalasa, metabolizar citrato y crecer en medios con concentraciones de sales al 0 y 10%, además del crecimiento a una temperatura de 42°C. La prueba de temperatura a 7°C considerada a inicios del estudio no mostró respuesta de crecimiento por parte de las bacterias, por lo que se descartó de la batería de bioquímicas. Por su parte, la capacidad fermentativa de las bacterias fue variable entre las temporadas, obteniéndose una mayor presencia en la temporada de lluvias, de aquí que las pruebas complementarias de este análisis también registraran variabilidad en sus respuestas.

A partir del análisis bioquímico, las bacterias heterótrofas demostraron su capacidad de degradar ciertos sustratos incorporados en los medios para la realización de las pruebas, las respuestas positivas demuestran la exposición y adaptabilidad que han tenido en ambientes impactados. Se muestran los porcentajes totales de bioquímicas de cada prueba realizada durante ambas temporadas climáticas (figura 27 y 28).

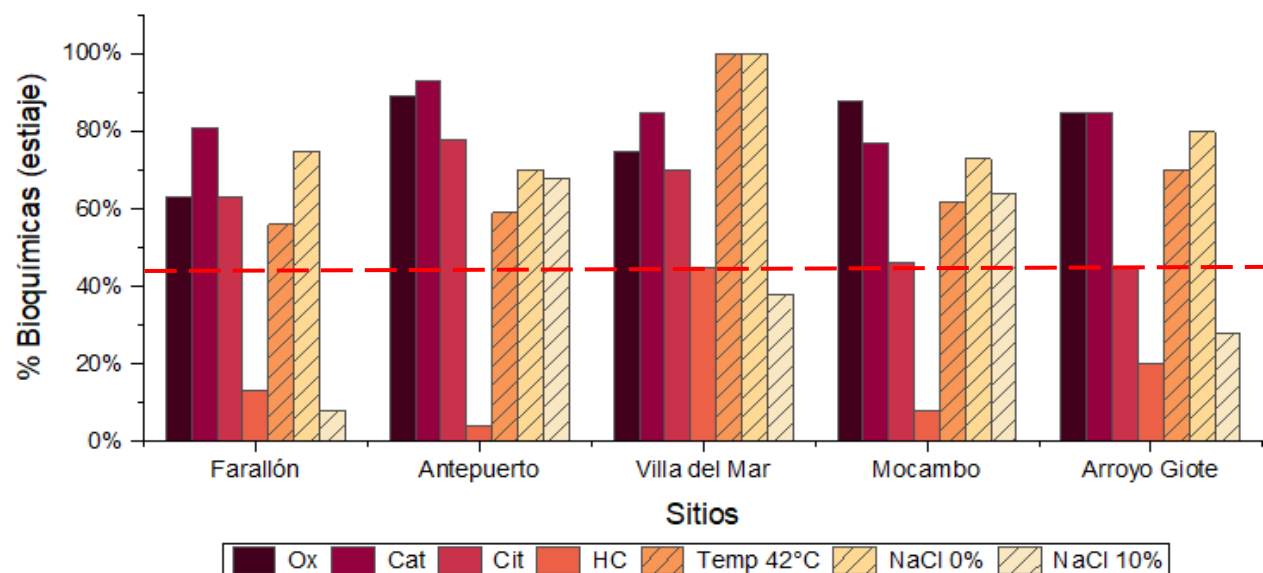


Figura 27. Variación porcentual de bioquímicas durante la temporada climática de estiaje. En donde Ox: Oxidasa, Cat: Catalasa, Cit: Citrato, HC: Hidratos de carbono y Temp: Temperatura.

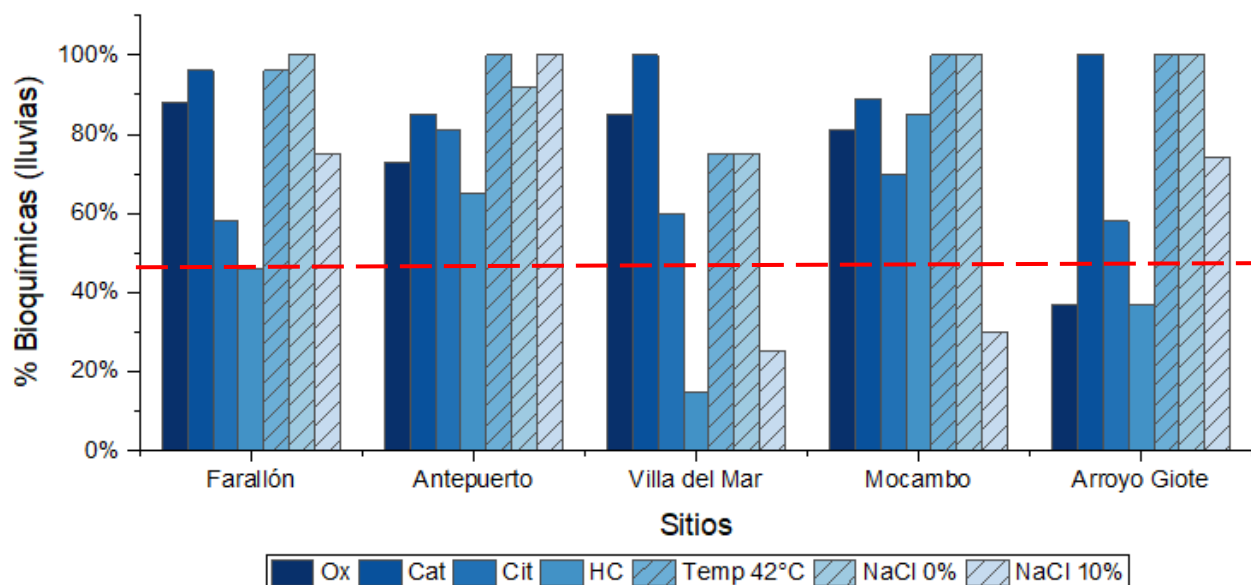


Figura 28. Variación porcentual de bioquímicas durante la temporada climática de lluvias. En donde Ox: Oxidasa, Cat: Catalasa, Cit: Citrato, HC: Hidratos de carbono y Temp: Temperatura.

En general, las respuestas en cuanto a bioquímicas mostradas por los grupos aislados presentaron porcentajes muy altos, tal es el caso de la presencia de enzimas oxidasa y catalasa presentes en todas las playas durante las dos temporadas de análisis y la capacidad de desarrollarse en un medio de 42°C y 0% de sales; los porcentajes obtenidos en las pruebas de

degradación de hidratos de carbono, utilización de citrato y desarrollo con un 10% de NaCl fueron más variables.

Durante el estiaje, se observó que las bacterias aisladas en Villa del Mar dieron positivo a los siete análisis realizados con una respuesta mínima del 45%, tal como se describió en secciones anteriores esta playa se ve influenciada por una mayor presión antropogénica debido a su cercanía con el núcleo urbano, la cual deriva de una amplia gama de actividades humanas. Al considerar este mismo porcentaje para la temporada de lluvias, fueron tres las playas en presentar una respuesta similar: Antepuerto y Mocambo dos playas urbanas, y Farallón una playa rural en donde no hay registros de una posible presión antropogénica directa. Por su parte, las bacterias aisladas en Arroyo Giote, mostraron su capacidad de utilizar citrato como única fuente de carbono, degradar carbohidratos, desarrollarse a 42°C y crecer en un medio sin sales, sin embargo, el porcentaje para la degradación de hidratos de carbono que mostraron fue bajo durante ambas temporadas.

En espacios con influencia de fuerzas externas las bacterias se vuelven más selectivas por su adaptación a las condiciones del entorno (Celis-Bustos *et al.*, 2017). Es así que se infiere que en las playas urbanas como Villa del Mar, Mocambo y Antepuerto se han desarrollado poblaciones de bacterias dominantes producto de las características de los sitios. Por otra parte, Pérez-Ruiz (2012) clasifican a Farallón como un sitio totalmente expuesto a viento y oleaje que inducen inestabilidad al ambiente, y al mismo tiempo, el oleaje complica el establecimiento de especies no adaptadas al medio (Méndez *et al.*, 1985), por lo que se esperaría una menor diversidad bioquímica de las bacterias, sin embargo, este no fue el caso y las respuestas mostradas por los grupos de heterótrofas permite ver su capacidad para metabolizar diferentes sustratos y adaptarse a condiciones diferentes.

Yannarell & Kent (2009) afirman que patrones estacionales son capaces de regir y producir la floración de una gran diversidad bacteriana, con cambios en sus comunidades provocando rotación de especies. A partir de las diferencias porcentuales de las capacidades bioquímicas de los aislados durante dos temporadas en donde las condiciones ambientales fueron diferentes, así como las actividades humanas realizadas en cada sitio variantes durante el transcurso del estudio, las bacterias heterótrofas demostraron su versatilidad metabólica y su adaptabilidad a diferentes condiciones.

Cada uno de los resultados presentados en el cuadro 10 se describen a detalle en las siguientes secciones.

8.3.3 Pruebas metabólicas y enzimáticas (resultados)

Dentro de la microbiología estas pruebas son descritas como técnicas que permiten determinar las características metabólicas de las bacterias en cuestión. Algunas suelen ser rápidas ya que se centran en evaluar enzimas preformadas, dando lecturas con duración de unos pocos segundos hasta algunas horas (ejemplo, oxidasa y catalasa). Otras requieren de una incubación que va desde las 18 a las 24 h, tiempo en el que se da el crecimiento bacteriano en el medio, a este segundo grupo pertenecen la mayor parte de las pruebas que detectan componentes

metabólicos o aquellas que determinan la sensibilidad de una bacteria a una sustancia dada tras su cultivo en medios de identificación que contienen el sustrato a metabolizar (Fernández-Olmos *et al.*, 2010).

8.3.3.1 Determinación de la presencia de la enzima Oxidasa

La figura 29 presenta los valores de los porcentajes obtenidos de la presencia de la enzima oxidasa por parte de los grupos heterótrofos aislados.

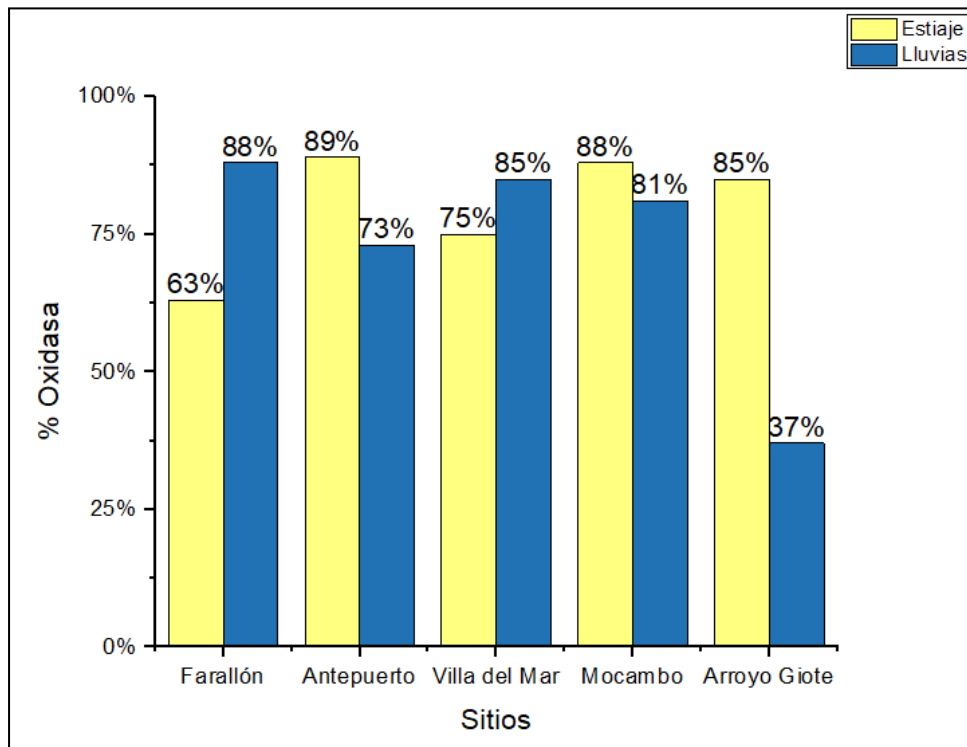


Figura 29. Porcentajes de la presencia de la enzima oxidasa.

El gráfico de la figura 29 muestra valores altos en la presencia de la enzima oxidasa, siendo mayores en Farallón (88%), Villa del Mar (85%) y Mocambo (81%) durante la temporada de lluvias, mientras que durante la temporada de estiaje lo son en las playas Antepuerto (89%), Arroyo Gioté (85%) y Mocambo (88%). Las demás playas mostraron un rango medio del 63 al 75% durante las dos temporadas, mientras que Arroyo Gioté fue la playa que presentó menor presencia de esta enzima durante la temporada de lluvias. Los porcentajes faltantes para completar el 100% en el gráfico, podrían deberse a la presencia de bacterias anaerobias.

El ciclo del azufre de los sedimentos marinos está impulsado principalmente por la reducción disimilatoria de sulfato a sulfuro por parte de microorganismos anaeróbicos, Jørgensen *et al.* (2019) explicaron que la reducción microbiana de sulfato a sulfuro es una vía terminal predominante de mineralización de materia orgánica en el lecho marino anóxico. De acuerdo a algunas investigaciones, la reducción de sulfato también ocurre en las capas superiores de los sedimentos que se caracterizan geoquímicamente por la reducción de hierro siendo incluso más altas en esta zona (Thamdrup *et al.*, 1994). El sulfato, los óxidos de Fe y los óxidos de Mn sirven

como aceptores de electrones en la degradación respiratoria de la materia orgánica mediada por bacterias heterótrofas (Postgate, 1984; Lovley, 1991).

8.3.3.2 Determinación de la presencia de la enzima Catalasa

El gráfico de la figura 30 muestra la actividad de la enzima catalasa en los grupos de bacterias heterótrofas aisladas.

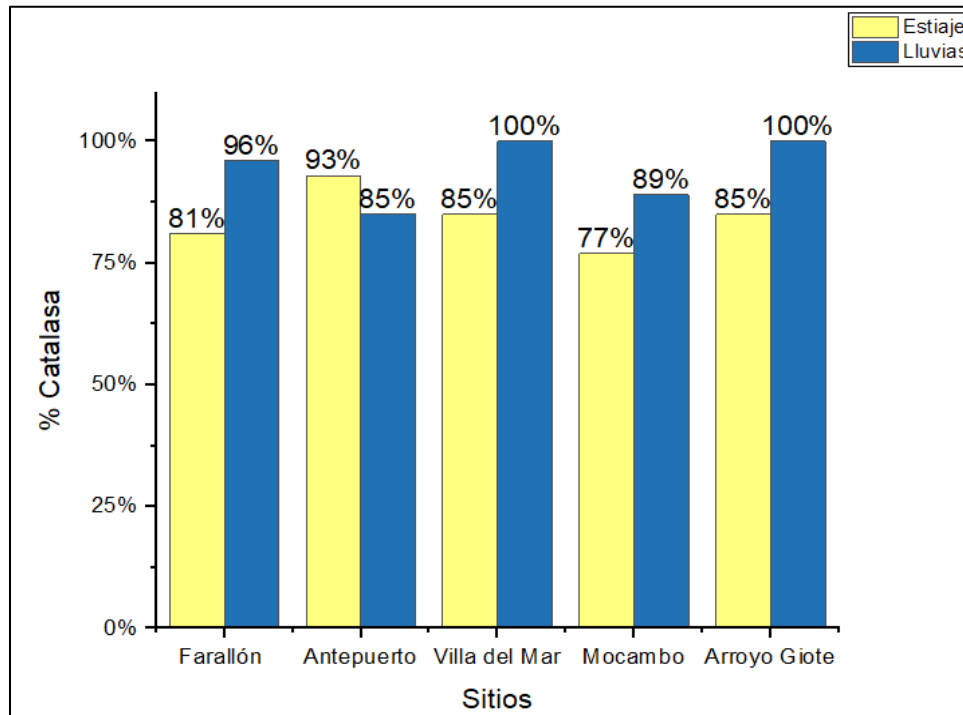


Figura 30. Porcentajes de la presencia de la enzima catalasa.

No se observa mucha diferencia entre la presencia de esta enzima en los cinco sitios estudiados durante las dos temporadas climáticas y que estos valores fueron altos, siendo $\geq 77\%$. Todos los grupos aislados en las playas Villa del mar y Arroyo Giotte durante la temporada de lluvias integran dentro de sus capacidades esta enzima y, además, ambas playas con el 85% dieron positivo a catalasa durante el estiaje. Mientras que los otros sitios estudiados durante el estiaje presentaron catalasa positiva en Farallón (81%), Antepuerto (93%) y Mocambo (77%), respectivamente; en cambio, durante las lluvias estos valores fueron mayores en Farallón (96%) y Mocambo (89%) y menor en Antepuerto (85%).

Como esta enzima se encuentra en los organismos aeróbicos y anaeróbicos, no es inusual que se presente con mayor frecuencia en comparación a otras enzimas. Lo que permite que la catalasa sea utilizada en muchas aplicaciones, incluyendo el procesamiento de alimentos, textiles, papel, industria farmacéutica y también en el campo de la biorremediación (Beers & Sizer, 1952).

8.3.3.3 Determinación del metabolismo del citrato

La figura 31 muestra las respuestas positivas obtenidas de la prueba del metabolismo de citrato como única fuente de carbono.

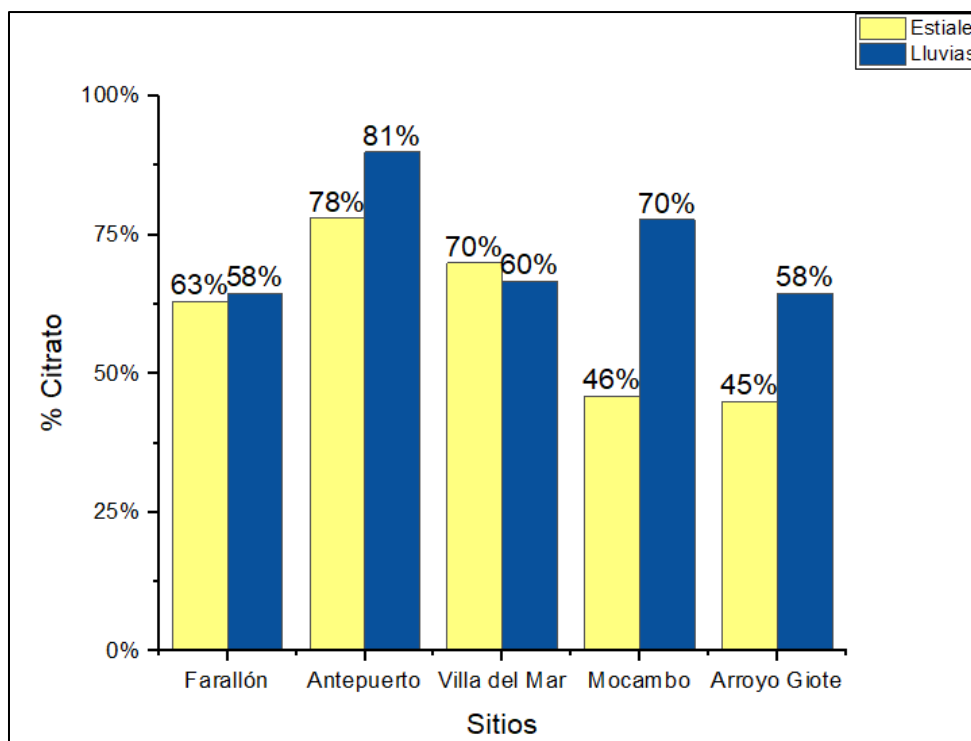


Figura 31. Porcentajes de la capacidad degradadora de citrato como única fuente de carbono.

La utilización del citrato como única fuente de carbono y sales de amonio como fuente de nitrógeno presentó rangos visibles de variación en algunas playas, como por ejemplo Mocambo y Arroyo Giotte. En la primera playa solo el 46% de los grupos aislados mostraron este metabolismo durante el estiaje, mientras que en lluvias el 70% de las bacterias heterótrofas dieron positivo a esta prueba; en la segunda playa se registró una diferencia de 13% entre las temporadas climáticas, siendo menor en estiaje (45%) que en lluvias (58%). La diferencia porcentual de las playas Farallón, Antepuerto y Villa del mar, fue menor que las anteriores (diferencias $\leq 10\%$), siendo Antepuerto la playa que registró mayor actividad en la degradación de este sustrato durante las dos temporadas.

Con respecto a las sales de amonio, éstas tienen su origen de forma natural en la descomposición de materia orgánica, o es inducida en la producción de compuestos nitrogenados con procedencia de las aguas residuales, del uso de fertilizantes en la agricultura y de los efluentes industriales (Cárdenas-Calvachi & Sánchez-Ortiz, 2013).

8.3.3.4 Determinación del metabolismo de los hidratos de carbono

En la figura 32 se presentan los porcentajes obtenidos de la degradación de hidratos de carbono (glucosa, lactosa y sacarosa).

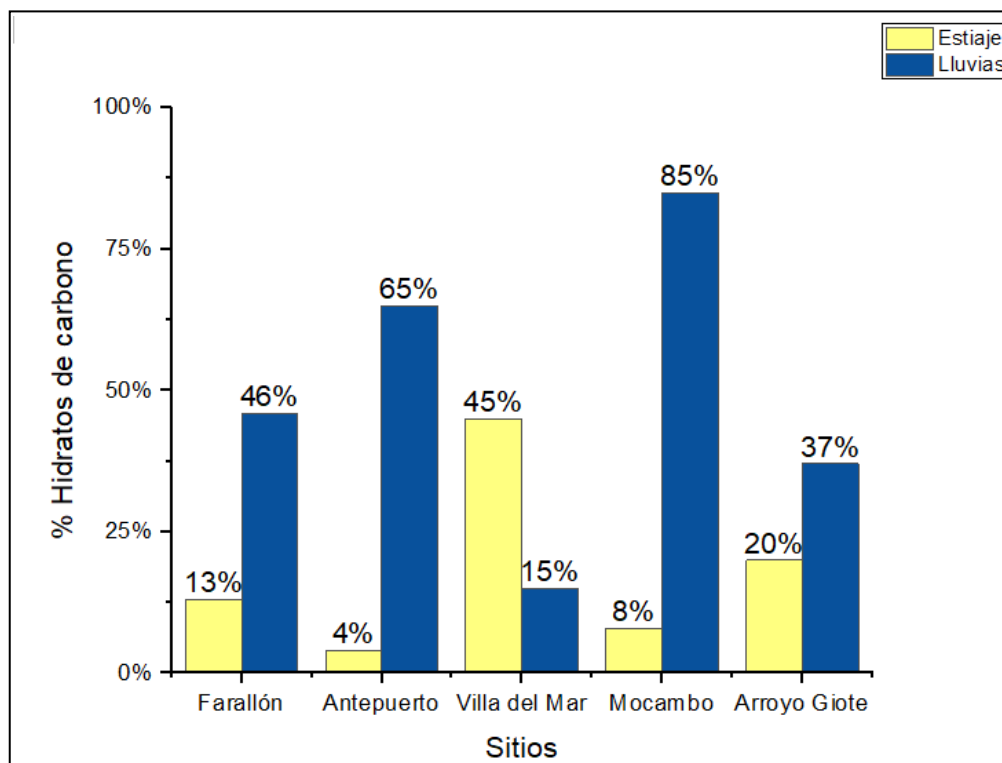


Figura 32. Porcentajes de la degradación de los hidratos de carbono.

La distribución de las bacterias heterótrofas capaces de fermentar los hidratos de carbono es muy variable en todos los sitios de estudio, incluido entre las temporadas climáticas. Se obtuvieron porcentajes más altos de fermentación durante lluvias en las playas Farallón (46%), Antepuerto (65%), Mocambo (85%) y Arroyo Giotte (37%). Este metabolismo se presentó en menor proporción en Villa del mar (15%) durante esta misma temporada, en comparación con la temporada de estiaje en donde se observó la mayor actividad durante toda la temporada, siendo ésta de 45%.

Para las demás playas estudiadas en estiaje, los valores estuvieron igual y por debajo del 20%. No hay un factor directo que ayude a entender por qué el metabolismo de la degradación de hidratos de carbono fue muy variable entre los sitios; sin embargo, el obtener valores más altos durante el periodo de lluvias, tanto en Antepuerto como en Mocambo, podría relacionarse con el efluente de residuales, las escorrentías con cargas de sustratos ricos en carbohidratos y la dinámica durante esta temporada.

8.3.3.5 Determinación de la descarboxilación de Lisina y Ornitina de bacterias fermentadoras de glucosa

En el cuadro 11 se muestran los valores obtenidos de respuestas positivas por parte de los grupos de bacterias heterótrofas aisladas capaces de descarboxilar la Lisina y/o Ornitina.

Cuadro 11. Número de grupos bacterianos capaces de descarboxilar la Lisina y Ornitina.

Playas	Farallón	Antepuerto	Villa del Mar	Mocambo	Arroyo Giotte	Farallón	Antepuerto	Villa del Mar	Mocambo	Arroyo Giotte
Positivos	Estiaje					Lluvias				
Pruebas	2	1	9	2	4	11	17	3	23	7
Lisina	1	1	6	1	2	7	11	1	15	4
Ornitina	0	0	8	1	3	4	9	3	20	1

La playa Villa del Mar fue quien mostró una mayor cantidad de grupos bacterianos fermentadores de glucosa capaces de descarboxilar la Lisina y Ornitina durante la temporada de estiaje con 6 y 8 positivos respectivamente, mientras que, en la temporada de lluvias, 15 dieron positivo a Lisina y 20 a Ornitina, seguido de Antepuerto con 11 y 9, y Farallón con 7 y 4. Es así que, la mayor presencia de estas enzimas se dio durante la temporada de lluvias.

8.3.3.6 Determinación de productos estables ácidos o neutros de bacterias fermentadoras de glucosa

En el cuadro 12 se muestran los valores obtenidos de respuestas positivas por parte de los grupos de bacterias heterótrofas aisladas que producen compuestos estables ácidos o neutros.

Cuadro 12. Número de grupos bacterianos que generan productos estables ácidos y neutros.

Playas	Farallón	Antepuerto	Villa del Mar	Mocambo	Arroyo Giotte	Farallón	Antepuerto	Villa del Mar	Mocambo	Arroyo Giotte
Positivos	Estiaje					Lluvias				
Pruebas	2	1	9	2	4	11	17	3	23	7
Productos estables ácidos	1	0	7	0	3	5	12	1	10	2
Productos neutros	0	1	2	0	1	6	4	0	7	0

De acuerdo al cuadro 13 la mayoría de los grupos bacterianos fermentadores de glucosa fueron capaces de producir productos estables ácidos y neutros con pH por arriba del 4.2 por medio de las vías metabólicas ácido mixta y de fermentación butanodiólica, en algunas playas como Farallón y Mocambo se reporta la formación de productos finales ácidos no estables con un pH de 4.2 o menor en al menos un grupo aislado, estos valores no demuestran variaciones muy grandes, lo que nos demuestra la capacidad que tienen los grupos aislados para mantener la alcalinidad del medio y a las vez mantener a los productos derivados del metabolismo de la bacteria en una escala de pH que va desde lo estable hasta lo neutro. Lo mismo sucede en la temporada de lluvias ya que dichas playas no muestran rangos de variación muy grande, sin embargo en la playa Arroyo Giotte solo 2 de los 7 grupos heterótrofos aislados fueron capaces de mantener estos productos estables sin formación de productos neutros, aunque retomando el

gráfico de la figura 32, solo el 37% del total de los aislados dieron positivos a la fermentación de glucosa, lo que tampoco representaría una preocupante acidificación del medio, pero sí una tendencia a pH bajo.

8.3.4 Pruebas de tolerancia a la temperatura y salinidad

Como ya se mencionó en una sección pasada, se realizaron incubaciones a 7°C y 42°C, para conocer la capacidad de los grupos bacterianos heterótrofos a crecer a diferentes temperaturas, sin embargo, a una temperatura de 7°C, las bacterias no fueron capaces de desarrollarse por lo que en la sección siguiente solo se muestra el crecimiento a 42°C. Además, se realizaron pruebas de tolerancia a la salinidad, con la finalidad de conocer la capacidad de los grupos aislados de desarrollarse en medios con 0% y 10% de NaCl.

8.3.4.1 Capacidad de los grupos aislados para crecer a diferentes temperaturas

La figura 33 muestra la tolerancia que tienen los grupos de bacterias aisladas a crecer a una temperatura de 42°C.

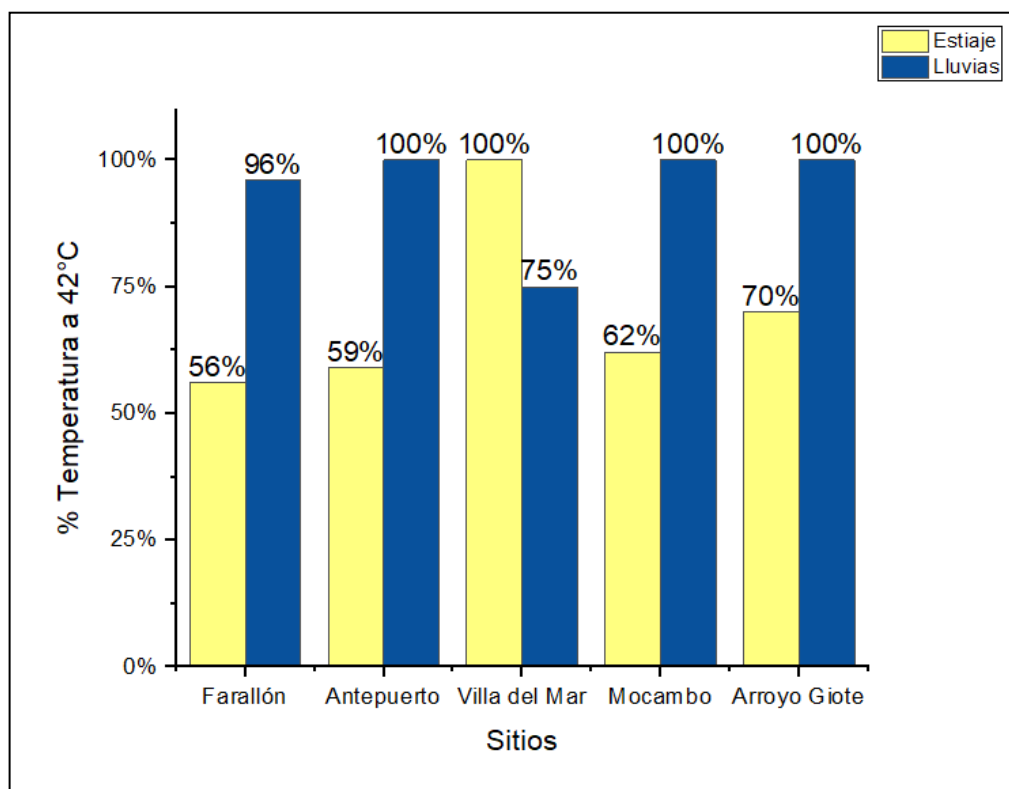


Figura 33. Porcentajes del crecimiento bacteriano a 42°C.

A partir del gráfico de temperatura (figura 31) se observa que hubo una mejor respuesta durante la temporada de lluvias en comparación con el estiaje ya que en varias playas (Farallón, Antepuerto, Mocambo y Arroyo Giotte) más del 95% de los aislados pudieron desarrollarse en un periodo de incubación a 42°C. La única playa que presentó esta tendencia durante el estiaje fue Villa del Mar, los demás sitios muestreados presentaron un rango de crecimiento del 55%-75%,

este panorama muestra que la mayoría de los grupos aislados tienen la capacidad de resistir altas temperaturas.

8.3.4.2 Capacidad de los grupos aislados para crecer en un medio con 0% y 10% de NaCl

Las figuras 34 y 35 muestran la tolerancia que tienen los grupos de bacterias aisladas a crecer en un medio salino con concentraciones de 0% y 10% de NaCl.

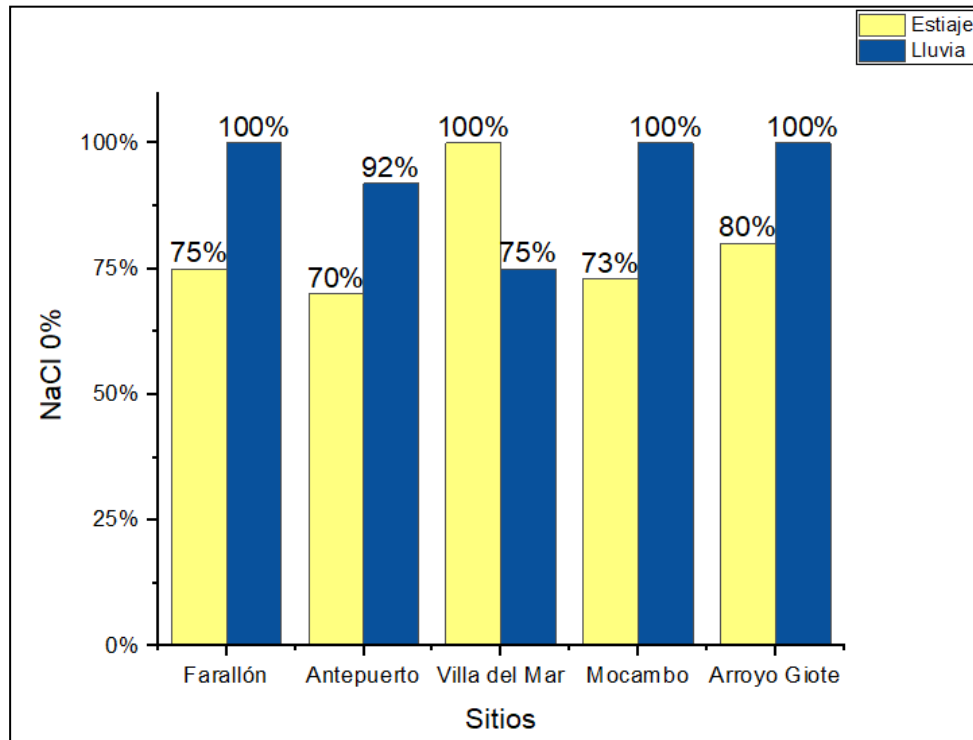


Figura 34. Porcentajes del crecimiento bacteriano con 0% de NaCl.

Los porcentajes obtenidos para este análisis de tolerancia mostrados en la figura 34 indican que los grupos de bacterias aislados fueron capaces de crecer en un medio sin sales, con un porcentaje mínimo de crecimiento que va del 70% hasta un máximo alcanzado del 100%, para las playas de Farallón, Mocambo y Arroyo Giotte en la temporada de lluvias y para Villa del Mar durante el estiaje.

En cambio, el gráfico de la figura 35 muestra una mayor variación entorno a las respuestas positivas obtenidas entre los diferentes sitios de muestreo y durante las diferentes temporadas climáticas, tal es el caso más notorio de Farallón que durante el estiaje el 8% de los aislados fueron capaces de crecer en un medio adicionado con un 10% de NaCl y en lluvias el 75%. Para la playa Arroyo Giotte se repitió esta tendencia, obteniéndose un crecimiento del 28% en estiaje y del 74% en lluvias. La única playa en la que el total de los aislados fueron capaces de tolerar esta concentración de sales fue Antepuerto durante lluvias.

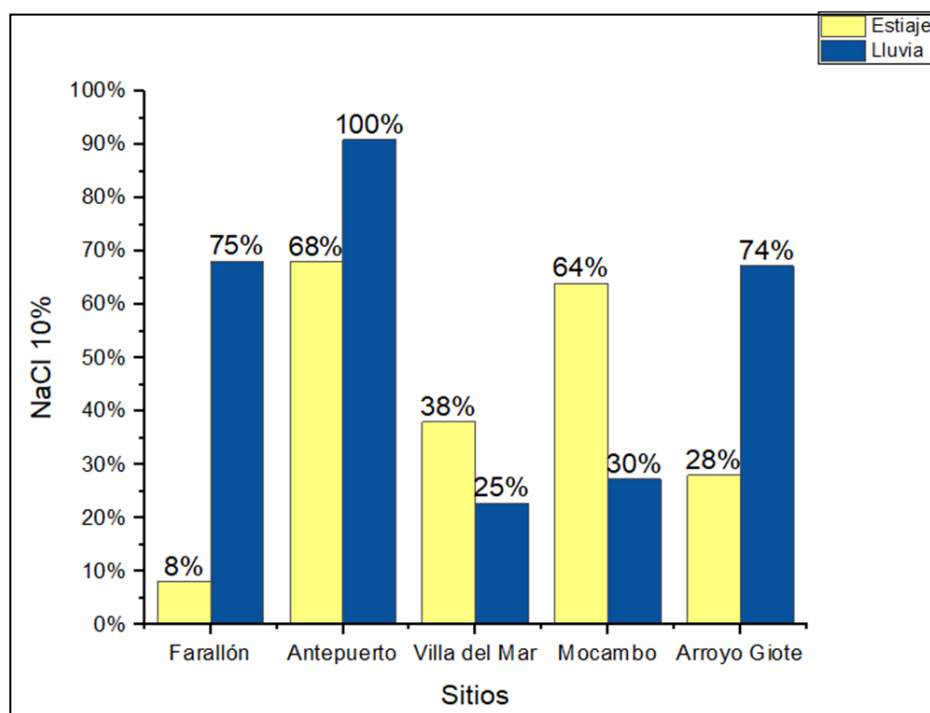


Figura 35. Porcentajes del crecimiento bacteriano con 10% de NaCl.

IX. CONCLUSIONES

La mayor parte de cargas bacterianas altas de heterótrofas se encontraron en playas ubicadas en la ZMV, tal es el caso de Antepuerto y Villa del Mar ($2.0\text{E}+06$ UFC/10 g y $1.8\text{E}+06$ UFC/10 g, respectivamente) durante el estiaje; y de Villa del Mar y Mocambo ($2.6\text{E}+06$ UFC/10 g y $2.9\text{E}+06$ UFC/10 g, respectivamente) durante lluvias. Al mismo tiempo, las concentraciones más bajas las presentó Farallón durante las dos temporadas de estudio ($9.3\text{E}+05$ UFC/10 g en estiaje y $2.4\text{E}+05$ UFC/10 g en lluvias). Desde un panorama general, estos valores permitieron visualizar como un espacio con un creciente desarrollo urbano presenta una mayor presión sobre aquellos que aún conservan sus características naturales.

Factores como la cercanía al núcleo urbano, la realización de actividades con fines económicos y recreativos diversos que originan material orgánico contaminante y que debido a las estructuras de protección costera quedan retenidos en los sedimentos, influyen en el deterioro de la zona. Se suman a estos, factores ambientales como el oleaje, las corrientes, el viento, los eventos climatológicos, la hidrodinámica de las playas y la escorrentía como portadores de material contaminante externo y/o como contribuyentes de un reacomodo espacial de dicho sustrato que es esencial para el metabolismo de las bacterias. Así mismo, al presentar una mayor influencia sobre las concentraciones bacterianas, el factor sitio demostró que el grado de perturbación antropogénica que presenta cada playa fue un reflejo de las diferencias morfológicas, estructurales y de uso entre ellas.

Los resultados obtenidos fueron muy interesantes en cuanto diversidad bioquímica, puesto que los aislados mostraron su capacidad de metabolizar distintos sustratos, presentar enzimas diversas y tolerar los rangos de temperatura y concentración de sales a los que fueron expuestos. Este estudio provee información valiosa para la realización de nuevas investigaciones de la zona costera de Veracruz en donde se pretenda usar como objeto de estudio a las bacterias heterótrofas, es por esto, que se precisa la importancia de un monitoreo constante en donde se consideren las temporalidades climáticas y las características particulares de cada playa para el establecimiento de patrones de la diversidad bacteriana intermareal.

X. RECOMENDACIONES

Incorporar el monitoreo de la presencia y distribución de bacterias heterótrofas como un indicador de contaminación antropogénica en playas de la Zona costera de Veracruz, para lo cual se recomienda:

- Realizar determinaciones periódicas de la concentración de bacterias heterótrofas.
- Observar la dinámica de heterótrofas al correlacionarlas con parámetros fisicoquímicos (OD, temperatura, salinidad, turbidez del agua) y determinar cuál de estos ejerce mayor efecto sobre las concentraciones encontradas.
- Puntualizar los factores en cada sitio de estudio que podrían estar influenciando la diversidad bioquímica de las bacterias.
- Estudiar la biogeoquímica (C-H-O-N-P-S) de las playas para poder entender el metabolismo de los aislados.
- Realizar correlaciones de las bacterias heterótrofas en los diferentes sitios de acuerdo con la abundancia de nutrientes encontrados.
- Generar un modelo biogeoquímico que ayude entender el comportamiento de estas bacterias en función a un gradiente de perturbación antropogénica.

XI. REFERENCIAS

- Abalos, A., Vinas, M., Sabate, J., Manresa, M. A., & Solanas, A. M. (2004). Enhanced biodegradation of Casablanca crude oil by a microbial consortium in presence of a rhamnolipid produced by *Pseudomonas aeruginosa* AT10. *Biodegradation*, 15(4), 249–260.
- Aguilar, A. (2010). *Calidad del agua. Un enfoque multidisciplinario*. México: UNAM: Instituto de Investigaciones Económicas.
- Akyilmaz, E., & Kozgus, O. (2009). Determination of calcium in milk and water samples by using catalase enzyme electrode. *Food Chemistry*, 115(1), 347–351. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.11.075>
- Aldunate, M., De la Iglesia, R., Bertagnolli, A. D., & Ulloa, O. (2018). Oxygen modulates bacterial community composition in the coastal upwelling waters off central Chile. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 156, 68–79. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2018.02.001>
- Amorim, A. M., Gasques, M. D. G., Andreus, J., & Scharf, M. (2002). The application of catalase for the elimination of hydrogen peroxide residues after bleaching of cotton fabrics. *Anais Da Academia Brasileira de Ciências*, 74, 433–436. <https://doi.org/10.1590/S0001-37652002000300006>
- APHA. (1989). *Métodos estandarizados. Para el análisis de aguas potables y residuales* (17 ed.). Madrid: Diaz de Santos.
- Appah, K. (2022). Marine Litter: The Issues of Marine Litter Pollution and Its Management. *Journal of Coastal Zone Management*, 25(6), 1–2. <https://doi.org/10.35248/2473-3350.22.25.504>
- Aréchiga, H. (2000). *Homeostasis*. Universidad Nacional Autónoma de México. <http://www.librosoa.unam.mx/handle/123456789/1294>
- Ariza, E., Jiménez, J. A., Sardá, R., Villares, M., Pinto, J., Fraguell, R., Roca, E., Martí, C., Valdemoro, H., Ballester, R., & Fluvia, M. (2010). Proposal for an Integral Quality Index for Urban and Urbanized Beaches. *Environmental Management*, 45(5), 998–1013. <https://doi.org/10.1007/s00267-010-9472-8>
- Azam, F., Fenchel, T., Field, J.G., Gray, J.S., Meyer-Reil, L.A., & Thingstad, F. (1983). The Ecological Role of Water-Column Microbes in the Sea. *Marine Ecology Progress Series*, 10, 257–263. <https://doi.org/10.3354/meps010257>

- Badilla-Aguilar, A., & Mora-Alvarado, D. A. (2019). Análisis de calidad bacteriológica de dos playas tropicales: relación de indicadores de contaminación fecal entre el agua de mar y las arenas. *Tecnología en Marcha*, 32, 37-45.
- Baeza, S., Vejar, N., Gulppi, M., Azocar, M., Melo, F., Monsalve, A., Pérez-Donoso, J., Vásquez, C. C., Pavez, J., Zagal, J. H., Zhou, X., Thompson, G. E., & Páez, M. A. (2013). New evidence on the role of catalase in *Escherichia coli*-mediated biocorrosion. *Corrosion Science*, 67, 32–41. <https://doi.org/10.1016/j.corsci.2012.09.047>
- Baisre, J. (2008). Contaminación del océano y las zonas costeras. *Mar y Pesca*(371), 6-8.
- Barbier, E. B., Hacker, S. D., Kennedy, C., Koch, E. W., Stier, A. C., & Silliman, B. R. (2011). The value of estuarine and coastal ecosystem services. *Ecological Monographs*, 81(2), 169–193. <https://doi.org/10.1890/10-1510.1>
- Barrios-San Martín, Y., Acosta, S., Sánchez, A., Toledo, A., González, F., & García, R. M. (2012). Estudio y selección de bacterias aerobias degradadoras de hidrocarburos del petróleo aisladas de costas de Cuba. *Biotecnología Aplicada*, 29(2), 80–86.
- Beers, R. F., & Sizer, I. W. (1952). A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *Journal of Biological Chemistry*, 195(1), 133–140. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)50881-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)50881-X)
- Béné, C., Phillips, M., & Allison, E. (2011). 12.08 - The Forgotten Service: Food as an Ecosystem Service from Estuarine and Coastal Zones. En E. Wolanski & D. McLusky (Eds.), *Treatise on Estuarine and Coastal Science* (pp. 147–180). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374711-2.01208-0>
- Bermúdez, J., Lastra, M., Sánchez-Mata, A., & Gallego, M. (2003). *Efecto de vertidos de hidrocarburos sobre los fondos blandos: Intermareales y submareales* (pp. 113–136). <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.3238.5763>
- Bernal-Ramírez, R. G. & Granados-Barba, A. (2008). *Caracterización del litoral veracruzano comprendido entre Punta Gorda y Barrancones, Ver. XV Congreso Nacional de Oceanografía, y II Reunión Internacional de Ciencias Marinas*. Boca del Río, Veracruz, México. 5 pp.
- Bertasi, F., Colangelo, M. A., Abbiati, M., & Ceccherelli, V. U. (2007). Effects of an artificial protection structure on the sandy shore macrofaunal community: The special case of Lido di Dante (Northern Adriatic Sea). *Hydrobiologia*, 586(1), 277–290. <https://doi.org/10.1007/s10750-007-0701-y>
- Betancourt, S., & Helberg, A. (2016). Homeostasis hombre-naturaleza. *Salutem Scientia Spiritus*, 2(1), 51–53.

- Boak, E. H., & Turner, I. L. (2005). Shoreline Definition and Detection: A Review. *Journal of Coastal Research*, 2005(214), 688–703. <https://doi.org/10.2112/03-0071.1>
- Boschker, H. T. S., de Graaf, W., Köster, M., Meyer-Reil, L.-A., & Cappenberg, T. E. (2001). Bacterial populations and processes involved in acetate and propionate consumption in anoxic brackish sediment. *FEMS Microbiology Ecology*, 35(1), 97–103. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2001.tb00792.x>
- Botero, C. M., Cervantes, O., & Finkl, W. C. (2018). *Beach Management Tools—Concepts, Methodologies and Case Studies* (Department of Geosciences, Vol. 24). Series Editor. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-58304-4>
- Bou, G., Fernández-Olmos, A., García, C., Sáez-Nieto, J.A., & Valdezate, S. (2011). Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 29(8), 601–608.
- Brown A. C. & McLachlan, A. 1990. Ecology of sandy shores, *Elsevier*, Amsterdam.
- Busalmen, J.P., Vázquez, M., & de Sánchez, S. R. (2002). New evidences on the catalase mechanism of microbial corrosion. *Electrochimica Acta*, 47(12), 1857–1865. [https://doi.org/10.1016/S0013-4686\(01\)00899-4](https://doi.org/10.1016/S0013-4686(01)00899-4)
- Bushra, N., Mostafiz, R. B., Rohli, R. V., Friedland, C. J., & Rahim, M. A. (2021). Technical and Social Approaches to Study Shoreline Change of Kuakata, Bangladesh. *Frontiers in Marine Science*, 8. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmars.2021.730984>
- Cantarow, A., & Schepartz, B. (1962). *Biochemistry* (3 ed). WB Saunders.
- Cárdenas-Calvachi, G. L., & Sánchez-Ortiz, I. A. (2013). Nitrógeno en aguas residuales: Orígenes, efectos y mecanismos de remoción para preservar el ambiente y la salud pública. *Universidad y Salud*, 15(1), 72–88.
- Carvajal-Gómez, T. (2018). *Vibrio spp y V. Vulnificus como biotransformador de la contaminación antropogénica en la zona intermareal de la Región Costera Central de Veracruz. Tesis de Maestría*. Instituto Tecnológico de Boca del Río. Veracruz, México.
- Cataneo-Nieto, A. M. (2017). Diagnóstico ecológico de tres playas del corredor turístico Veracruz-Antón Lizardo. *Tesis de Maestría*. Instituto Tecnológico de Boca del Río. Veracruz, México. 75 pp.
- Cataneo-Nieto, A.M., Arvizu-Coyotzi, J. K., Granados-Barba, A., Castañeda-Chávez, M.A., & Bernal-Ramírez, R. G. 2019. Cambios en el litoral de la zona metropolitana de Veracruz. En: Lango-Reynoso, F., Botello, A.V. y Castañeda-Chávez, M. R. (eds.), *Temas selectos de vulnerabilidad costera en el estado de Veracruz*. ITBoca, Veracruz, México.

- Celis-Bustos, Y. A., Rubio, V. V., & Camacho-Navarro, M. M. (2017). Perspectiva histórica del origen evolutivo de la resistencia a antibióticos. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 19(2), 105–117.
- Chapman, D. M. (1983). Sediment Reworking on Sandy Beaches. En A. McLachlan & T. Erasmus (Eds.), *Sandy Beaches as Ecosystems* (pp. 45–61). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-017-2938-3_3
- Chénard, C., Wijaya, W., Vault, D., Santos, A. L. dos, Martin, P., Kaur, A., & Lauro, F. M. (2019). *Temporal dynamics of Bacteria, Archaea and protists in equatorial coastal waters* (p. 658278). bioRxiv. <https://doi.org/10.1101/658278>
- Cheng, J., Chen, P., Song, A., Wang, D., & Wang, Q. (2018). Expanding lysine industry: Industrial biomanufacturing of lysine and its derivatives. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 45(8), 719–734. <https://doi.org/10.1007/s10295-018-2030-8>
- Cifuentes, J. L., García, M. del P. T., & Mondragón, M. F. (2003). *El océano y sus recursos: Flujos de energía en el mar: Reproducción y migraciones*. Fondo de Cultura Económica USA.
- Clark, J. R. (1995). *Coastal Zone Management Handbook*. CRC Press.
- Cole, J.J., Findlay, S., & Pace, M.L. (1988). Bacterial Production in Fresh and Saltwater Ecosystems – a Cross-System Overview. *Marine Ecology - Progress Series*, 43, 1–10. <https://doi.org/10.3354/meps043001>
- Cowie, G., & Woulds, C. (2011). 4.03—Tracer Studies of Benthic Communities and Biogeochemical Processes in Coastal and Estuarine Marine Environments. En E. Wolanski & D. McLusky (Eds.), *Treatise on Estuarine and Coastal Science* (pp. 39–70). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374711-2.00403-4>
- Culliton, T. J., Warren, M., Goodspeed, T.R., Remer, D. G., Blackwell, C.M., & McDonough, Jj. (1990). *50 years of population change along the nation's coasts 1960-2010*. Coastal Zone Information Center. <https://www.govinfo.gov/app/details/CZIC-ha218-a615-1990>
- Daniels, R. C. (1999). Beaches. En *Environmental Geology* (pp. 41–42). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/1-4020-4494-1_28
- Das, S., & Dash, H. R. (2015). *Microbial Biotechnology- A Laboratory Manual for Bacterial Systems*. Springer India. <https://doi.org/10.1007/978-81-322-2095-4>
- de la Cruz-Sánchez, F. A (2018). Factor de bioconcentración y dinámica de distribución para Cadmio, Plomo y Cobre en la zona portuaria de Veracruz. *Tesis de Maestría*. Instituto Tecnológico de Boca del Río. Veracruz, México.
- de la Rosa, J., & González-Farías, F. (1995). *Temas de oceanografía biológica en México*. UABC.

- Defeo, O., McLachlan, A., Armitage, D., Elliott, M., & Pittman, J. (2021). Sandy beach social–ecological systems at risk: Regime shifts, collapses, and governance challenges. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 19(10), 564–573. <https://doi.org/10.1002/fee.2406>
- Defeo, O., McLachlan, A., Schoeman, D. S., Schlacher, T. A., Dugan, J., Jones, A., Lastra, M., & Scapini, F. (2009). Threats to sandy beach ecosystems: A review. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 81(1), 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2008.09.022>
- Díaz-Torres, E. (2018). Identificación de hidrocarburos en ambientes costeros marinos con impacto portuario marítimo en el puerto de Veracruz. *Tesis de Maestría*. Instituto Tecnológico de Boca del Río. Veracruz, México.
- DOF. (2018). *Comisión Intersecretarial para el Manejo Sustentable de Mares y Costas, Política Nacional de Mares y Costas de México*. Gobierno de México. https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5545511&fecha=30/11/2018#gsc.tab=0
- Echeverri-Jaramillo, G., Manjarrez-Paba, G., & Cabrera-Ospino, M. (2010). Aislamiento de bacterias potencialmente degradadoras de petróleo en hábitats de ecosistemas costeros en la Bahía de Cartagena, Colombia. *NOVA*, 8(13). <https://doi.org/10.22490/24629448.441>
- Escobar, J. (2002). *La contaminación de los ríos y sus efectos en las áreas costeras y el mar*. Santiago de Chile: División de Recursos Naturales e Infraestructura. <https://repositorio.cepal.org/handle/11362/6411>
- Evans, A. (2004). Assessing the phytoplankton-heterotrophic bacteria link in the eutrophic Delaware Estuary. <https://www.proquest.com/pqdtglobal/docview/305207097/abstract/D6B1DF1F1F824A75PQ/1>
- Fenchel, T. M., & Riedl, R. J. (1970). The sulfide system: A new biotic community underneath the oxidized layer of marine sand bottoms. *Marine Biology*, 7(3), 255–268. <https://doi.org/10.1007/BF00367496>
- Fernández-Olmos, A., García, C., Sáez-Nieto, J.A., & Valdezate, S. (2010). *Procedimientos en Microbiología Clínica*. España: eimc.
- Fűtű, P., Markus, G., Kiss, A., & Adányi, N. (2012). Development of a Catalase-Based Amperometric Biosensor for the Determination of Increased Catalase Content in Milk Samples. *Electroanalysis*, 24(1), 107–113. <https://doi.org/10.1002/elan.201100399>
- Gallegos-Jiménez, O. (2008). Organización espacial del corredor turístico Veracruz- Boca del Río. *Teoría y Praxis*, 4(5), 171-186.
- García-Fuentes, J.L., Galaviz-Villa, I., Lango-Reynoso, F., & Castañeda-Chávez, M.R. (2014). Pathogenic Bacteria in Corals from Veracruz Reef System National Park. *International Journal of Modern Engineering Research*, 4(5), 29-36.

- García, L. (2017). Propuesta de Índice de calidad ambiental evaluar sitios de disposición final de residuos sólidos urbanos en zonas costeras. Boca del Río, Veracruz. *Tesis de Maestría*. Instituto Tecnológico de Boca del Río. Veracruz, México.
- Garduño, A., & Pérez, M. (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. <https://repositorio.unam.mx/contenidos/210256>
- GESAMP. (1980). *Report of the 11th Session of GESAMP* (Núm. 10). <http://www.gesamp.org/publications/report-of-the-11th-session>
- Gómez-García, M. L., Vivas-Aguas, L. J., Ruiz R., R. A., Reyes D., V. R., & Hurtado, C. A. (2006). *Bacterias marinas nativas degradadoras de compuestos orgánicos persistentes en Colombia*. Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras - INVEMAR. <https://aquadocs.org/handle/1834/8273>
- González, J. (2008). *Homeostasis, alostasis y adaptación: Vol. Capítulo 3* (pp. 31–37).
- Grigoras, A. G. (2017). Catalase immobilization—A review. *Biochemical Engineering Journal*, 117, 1–20. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2016.10.021>
- Herrera, A., & Suárez, P. (2005). Indicadores bacterianos como herramientas para medir la calidad del agua costera. *Scielo*, 30(3), 171-176.
- Hidalgo-Rodríguez, G. (2017). Comunidades intermareales de la macrofauna en playas arenosas del litoral central de Veracruz, Golfo de México: Un enfoque de integridad ecológica. *Tesis Doctoral*. Instituto de Ciencias Marinas y Pesquerías. Universidad Veracruzana. Veracruz, México. 145 pp.
- Hidalgo, G., Castañeda-Chávez, M.R., Granados-Barba, A., Sánchez-Domínguez, 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. 481-490.
- Hua, K. (2013). Investigating the appropriate mode of expressing lysine requirement of fish through non-linear mixed model analysis and multilevel analysis. *The British Journal of Nutrition*, 109(6), 1013–1021. <https://doi.org/10.1017/S0007114512002863>
- Iglesias, A., Meiner, A., Bowen, K., & Ansong, J. O. (2015). Chapter 3 - Coastal Population and Land Use Changes in Europe: Challenges for a Sustainable Future. En J. Baztan, O. Chouinard, B. Jorgensen, P. Tett, J.-P. Vanderlinden, & L. Vasseur (Eds.), *Coastal Zones* (pp. 29–49). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802748-6.00003-6>
- Ikeda, M. (2017). Lysine Fermentation: History and Genome Breeding. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 159, 73–102. https://doi.org/10.1007/10_2016_27
- INEGI. (2021). *Temporada de Sequía y Estiaje*. Veracruz, México: Secretaría de Protección Civil.

- James, R. J. (2000). From beaches to beach environments: Linking the ecology, human-use and management of beaches in Australia. *Ocean & Coastal Management*, 43(6), 495–514. [https://doi.org/10.1016/S0964-5691\(00\)00040-5](https://doi.org/10.1016/S0964-5691(00)00040-5)
- Jørgensen, B. B., Findlay, A. J., & Pellerin, A. (2019). The Biogeochemical Sulfur Cycle of Marine Sediments. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00849>
- Jurtshuk, P. Jr. (1996). Chapter 4-Bacterial Metabolism. En S. Baron (Ed.), *Medical Microbiology* (4th ed.). University of Texas Medical Branch at Galveston. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7919/>
- Kaushal, J., Mehandia, S., Singh, G., Raina, A., & Arya, S. K. (2018). Catalase enzyme: Application in bioremediation and food industry. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 16, 192–199. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.07.035>
- Ketchum, B. H. (1972). *The water's edge: Critical problems of the Coastal Zone*. MIT Press. <https://tamug-ir.tdl.org/handle/1969.3/26664>
- Kieft, T. L., Wilch, E., O'Connor, K., Ringelberg, D. B., & White, D. C. (1997). Survival and Phospholipid Fatty Acid Profiles of Surface and Subsurface Bacteria in Natural Sediment Microcosms. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(4), 1531–1542. <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/aem.63.4.1531-1542.1997>
- Kirchman, D. L. (2000). *Microbial Ecology of the Oceans* (DL Kirchman, Ed.). John Wiley & Sons.
- Koneman, W. F. *Diagnóstico Microbiológico texto y atlas en color*. 6ª Edición. Editorial Panamericana. 2008
- Koonin, E. V., & Wolf, Y. I. (2009). Is evolution Darwinian or/and Lamarckian?. *Biology direct*, 4, 42. <https://doi.org/10.1186/1745-6150-4-42>
- Landeros-Sánchez, C., Lango-Reynoso, F., Castañeda-Chávez, M.R., Galaviz-Villa, I., Nikolskii-Gavrilov, I., Palomarez-García, M., Reyes-Velázquez, C., & Mínguez-Rodríguez, M.M. (2012). Assessment of water pollution in different aquatic systems: aquifers, aquatic farms on the Jamapa river, and coastal lagoons of Mexico. *Journal of Agricultural Science*, 4(7), 186-196.
- Lee, J.-H., & Wendisch, V. F. (2017). Production of amino acids – Genetic and metabolic engineering approaches. *Bioresource Technology*, 245, 1575–1587. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.05.065>
- Lizárraga-Arciniega, R., Martínez-Díaz de León, A., Delgado-González, O., Torres, C. R., & Galindo-Bect, L. A. (2007). Alternancia de los ciclos de erosión/acreción de playa relacionados con el oleaje en Rosarito, Baja California, México. *Ciencias marinas*, 33(3), 259–269.

- López, P. (2021). *Mares y costas, cada vez más contaminados*. Gaceta UNAM. <https://www.gaceta.unam.mx/mares-y-costas-cada-vez-mas-contaminados/>
- Lončar, N., & Fraaije, M. W. (2015). Catalases as biocatalysts in technical applications: Current state and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99(8), 3351–3357. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6512-6>
- Lovley, D. R. (1991). Dissimilatory Fe(III) and Mn(IV) reduction. *Microbiological Reviews*, 55(2), 259–287. <https://doi.org/10.1128/mr.55.2.259-287.1991>
- MacFaddin, J. F. (2003). *Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica*. Ed. Médica Panamericana.
- MacWilliams, M. P. (2009). Citrate test protocol. American Society for Microbiology Laboratory Protocols. Available online: <https://www.asmscience.org/content/education/protocol/protocol,3203>.
- Magni, C., García-Quintáns, N., Martín, M., de Mendoza, D., & López, P. (2008). Capítulo 3- Sistemas de utilización del citrato en bacterias ácido lácticas. En G, Pérez-Martín (Ed.), *Fundamentos Biológicos, Procesos y Biotecnología de las bacterias lácticas* (Vol. 1, pp. 1–38).
- Margesin, R., & Schinner, F. (2001). Potential of halotolerant and halophilic microorganisms for biotechnology. *Extremophiles: Life Under Extreme Conditions*, 5(2), 73–83. <https://doi.org/10.1007/s007920100184>
- Martínez-Alonso, M., & Gaju, N. (2005). El papel de los tapetes microbianos en la biorrecuperación de zonas litorales sometidas a la contaminación por vertidos de petróleo: *Ecosistemas*, 14(2), Article 2. <https://www.revistaecosistemas.net/index.php/ecosistemas/article/view/156>
- Martínez-Trujillo, M. A., & García-Rivero, M. (2012). Revisión: Aplicaciones ambientales de microorganismos inmovilizados. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 11(1), 55-73.
- Martinez, M., Intralawan, A., Vázquez, G., Pérez-Maqueo, O., Sutton, P., & Landgraue, R. (2007). The coasts of our world: Ecological, economic and social importance. *Ecological economics*, 63(2-3), 254-272. <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2006.10.022>
- Maurya, D. K., Kumar, A., Chaurasiya, U., Hussain, T., & Singh, S. K. (2021). 11 - Modern era of microbial biotechnology: Opportunities and future prospects. En M. K. Solanki, P. L. Kashyap, R. A. Ansari, & B. Kumari (Eds.), *Microbiomes and Plant Health* (pp. 317–343). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819715-8.00011-2>

- McLachlan, A., & Brown, A. C. (2006). 2—The Physical Environment. En A. McLachlan & A. C. Brown (Eds.), *The Ecology of Sandy Shores (Second Edition)* (pp. 5–30). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-012372569-1/50002-1>
- McLachlan, A., Defeo, O. (2017). *The Ecology of Sandy Shores*. Países Bajos: Elsevier Science.
- McLachlan, A., & Turner, I. (1994). The Interstitial Environment of Sandy Beaches. *Marine Ecology*, 15(3–4), 177–212. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0485.1994.tb00053.x>
- Millennium Ecosystem Assessment. (2005). *Ecosystems and Human Well-being: Synthesis*. Island Press, Washington, DC.
- Miravet-Regalado, M. E. (2003). Abundancia, actividad y diversidad de las bacterias heterótrofas en el Golfo de Batabanó y su uso como indicadoras ambientales. *Tesis Doctoral*. Instituto de Oceanología. Ciudad Habana. 191 pp. <https://aquadocs.org/handle/1834/3398>
- Mitsuhashi, S. (2014). Current topics in the biotechnological production of essential amino acids, functional amino acids, and dipeptides. *Current Opinion in Biotechnology*, 26, 38–44. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2013.08.020>
- Møller, V. (1955). Simplified Tests for Some Amino Acid Decarboxylases and for the Arginine Dihydrolase System. *Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica*, 36(2), 158–172. <https://doi.org/10.1111/j.1699-0463.1955.tb04583.x>
- Montes, G. S., Matal, V. L., & Segovia, J. V. (2021). Bacterias heterótrofas de la zona arrecifal del Área Natural Protegida Complejo Los Cóbano, Sonsonate, El Salvador. *Realidad y Reflexión*, 54(54), Article 54. <https://doi.org/10.5377/ryr.v54i54.12054>
- Murray, N. J., Phinn, S. R., DeWitt, M., Ferrari, R., Johnston, R., Lyons, M. B., Clinton, N., Thau, D., & Fuller, R. A. (2019). The global distribution and trajectory of tidal flats. *Nature*, 565(7738), Article 7738. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0805-8>
- Nagai, Y., Ito, H., & Yasueda, H. (2009). Amino Acid Production: L-Lysine. En *Encyclopedia of Industrial Biotechnology* (pp. 1–10). John Wiley & Sons, Ltd.
- Narciso-Ortiz, L., Coreño-Alonso, A., Mendoza-Olivares, D., Lucho-Constantino, C. A., & Lizardi-Jiménez, M. A. (2020). Baseline for plastic and hydrocarbon pollution of rivers, reefs, and sediment on beaches in Veracruz State, México, and a proposal for bioremediation. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(18), 23035–23047. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08831-z>
- Navas, L., Amadio, A., Fuzan, I., & Zandomeni, R. (2010). Identificación de enzimas provenientes de aislamientos de bacterias termófilas.

<https://silo.tips/download/identificacion-de-enzimas-provenientes-de-aislamientos-de-bacterias-termofilicas>

- Orozco, J., García-Gradilla, V., D'Agostino, M., Gao, W., Cortés, A., & Wang, J. (2013). Artificial Enzyme-Powered Microfish for Water-Quality Testing. *ACS Nano*, 7(1), 818–824. <https://doi.org/10.1021/nn305372n>
- Ortiz-Lozano, L., Briseño-Arceo, P., Granados-Barba, A., Salas-Monreal, D., Jiménez-Badillo, M.L. (2010). Zona Costera.
- Ortiz-Lozano, L., & Bello-Pineda, J. (2012). *Escenarios Propiciatorios de las Inundaciones en la Zona Costera de Veracruz; El Caso de la Cuenca de Río Jamapa* (pp. 176–197).
- Pastenes-Felizola, F. I. (2017). Efecto en la comunidad de helmintos parásitos del pez sargento *Abudefduf saxatilis* (Pomacentridae) por actividades del Puerto de Veracruz. *Tesis de Maestría*. Instituto Tecnológico de Boca del Río. Veracruz, México.
- Pearse, A. S., Humm, H. J., & Wharton, G. W. (1942). Ecology of Sand Beaches at Beaufort, N. C. *Ecological Monographs*, 12(2), 135–190. <https://doi.org/10.2307/1943276>
- Pérez-España, H., & Vargas-Hernández, J. M. (2008). Caracterización ecológica y monitoreo del Parque Nacional Sistema Arrecifal Veracruzano: Primera Etapa. Informe final SNIB-CONABIO Proyecto No. DM002. (México D.F.: Universidad Veracruzana, Centro de Ecología y Pesquerías).
- Pérez-Ruiz, M. A. (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*. Instituto de Ciencias Marinas y Pesquerías. Veracruz, México. 75 pp.
- Peterson, C. H., & Lubchenco, J. (1997). *On the value of marine ecosystems to society*. Nature's Services. Societal Dependence on Natural Ecosystems. Island Press, New York, 177–194.
- Polanía, J. (2010). Indicadores biológicos para el monitoreo de puertos de Colombia. *Gestión y Ambiente*, 13(3), 75-86.
- Postgate, J. R. (1984). *The Sulfate Reducing Bacteria (2nd edition)*. Cambridge Univ. Press.
- PNUMA. (1992). *Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente*.
- Prasad, V. R., Srinivas, T. N. R., & Sarma, V. V. S. S. (2015). Influence of river discharge on abundance and dissemination of heterotrophic, indicator and pathogenic bacteria along the East Coast of India. *Marine Pollution Bulletin*, 95(1), 115–125. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.04.032>

- Pucci, G., Acuña, A., Llanes, M. L., Tiedemann, M.C., & Pucci, O.H. (2009). Diversidad de bacterias cultivables de la costa de Caleta Olivia, Patagonia, Argentina. *Acta biol. Colomb*, 14(3), 121-134.
- Rabouille, C., Mackenzie, F. T., & Ver, L. M. (2001). Influence of the human perturbation on carbon, nitrogen, and oxygen biogeochemical cycles in the global coastal ocean. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 65(21), 3615–3641. [https://doi.org/10.1016/S0016-7037\(01\)00760-8](https://doi.org/10.1016/S0016-7037(01)00760-8)
- Ramírez, N., Sandoval, A. H., & Serrano, J. A. (2004). Las bacterias halófilas y sus aplicaciones biotecnológicas. *Scielo*, 24(1), 12-23.
- RGPEIA. (2004). Decreto Ejecutivo No. 31849. *Reglamento General de Procedimientos de Evaluación de Impacto Ambiental*.
- Rodil, I. F., Lastra, M., & López, J. (2007). Macroinfauna community structure and biochemical composition of sedimentary organic matter along a gradient of wave exposure in sandy beaches (NW Spain). *Hydrobiologia*, 579(1), 301–316.
- Rubio, L. (2016). Efecto de las perturbaciones antropogénicas del hábitat sobre la abundancia relativa de la Mirla gris (*Mimus gilvus*) presente en el corregimiento de Atuncela, Dagua. Cali: Universidad Icesi.
- Ruiz-Fernández, A. C., Sanchez-Cabeza, J. A., & Cearreta, A. (2014). Antropocosta Iberoamérica 2014. *Ciencias marinas*, 40(4).
- Salas-Pérez, J.J., & Granados-Barba, A. (2008). Oceanographic characterization of the Veracruz reefs system. *Atmósfera*, 21(3), 281-301.
- Salas-Monreal, D., Salas de León, D.A., Monreal-Gómez, M.A., & Riverón-Enzástiga, M.L. (2009). Current rectification in a tropical coral reef system. *Coral Reefs*, 28(4), 871-879. <https://doi.org/10.1007/s00338-009-0521-9>
- Sánchez-Domínguez, B.E., Granados-Barba, A., Castañeda-Chávez, M.R., & Bernal-Ramírez, R.G. (2015). Enterococci presence in interstitial water in intertidal areas of sandy beaches from Veracruz-Boca del Río, Gulf of Mexico. *Global Journal of Biology, Agriculture and Health Sciences*, 4(1), 28-31.
- Sánchez, B., Benigno, G., Cabrero, S., & Várela González, J. (1987). *Microcosmos terrestre una técnica para la evaluación de los efectos producidos por los contaminantes*.
- Sandoval-Herazo, E., Saucedo, V., Gutiérrez-Rivera, B., Hernández Martínez, R., & Lizardi-Jiménez, M. (2020). Diagnóstico de la contaminación por hidrocarburos en playas de Veracruz y biorreactores airlift como propuesta de remediación. *Revista mexicana de ingeniería química*, 19, 1227–1241. <https://doi.org/10.24275/rmiq/Bio851>.

- Schiraldi, C., & de Rosa, M. (2015). Mesophilic Organisms. En E. Drioli & L. Giorno (Eds.), *Encyclopedia of Membranes* (pp. 1–2). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-642-40872-4_1610-2
- Schlacher, T., Schoeman, D., Dugan, J., Lastra, M., Jones, A., Scapini, F., & McLachlan, A. (2008). Sandy beach ecosystems: key features, sampling issues, management challenges and climate change impacts. *Marine Ecology*, 29(1), 70-90.
- Secretaría de Desarrollo Regional. (2004). *Manifestación de Impacto Ambiental modalidad regional sector turismo* (p. 163) [Manifestación de Impacto Ambiental].
- Secretaría de Marina. (2022). *ASIPONA VERACRUZ - Administración del Sistema Portuario Nacional Veracruz*.
- SEMARNAT. (2018). *Mares y costas en México*. México: Gobierno de México.
- Semenov, M. V. (2022). *Bacteria Soil biology*. En Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822974-3.00095-1>
- Sender, P., Martín, M., Peirú, S., de Mendoza, D., & Magni, C. (2002). *Inducción por pH de la expresión de los genes involucrados en el metabolismo del citrato en Lactococcus lactis CRL 264* (Núm. 1; Simposio Argentino-Italiano de Bacterias Lácticas). https://www.conicet.gov.ar/new_scp/detalle.php?keywords=&id=28868&congresos=yes&detalles=yes&congr_id=432948
- Seoáñez, M., Varela, R., Parafita, J. M., & Ladaria, P. (2000). *Manual de contaminación marina y restauración del litoral: Contaminación, accidentes y catástrofes, agresiones a las costas y soluciones. El turismo de costa, la pesca, la ordenación y la gestión del litoral*. Ediciones Mundi-Prensa.
- Shamsipur, M., Asgari, M., Maragheh, M. G., & Moosavi-Movahedi, A. A. (2012). A novel impedimetric nanobiosensor for low level determination of hydrogen peroxide based on biocatalysis of catalase. *Bioelectrochemistry*, 83, 31–37. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2011.08.003>
- Siemens, A. H., Moreno-Casasola, P., & Bueno, C. S. (2006). The Metabolization of Dunes and Wetlands by the City of Veracruz, Mexico. *Journal of Latin American Geography*, 5(1), 7–29. <http://www.jstor.org/stable/25765121>
- Smalheiser, N. R. (2017). Chapter 11—ANOVA. En N. R. Smalheiser (Ed.), *Data Literacy* (pp. 149–155). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811306-6.00011-7>
- Smith, K. E. L., Terrano, J. F., Pitchford, J. L., & Archer, M. J. (2021). Coastal Wetland Shoreline Change Monitoring: A Comparison of Shorelines from High-Resolution WorldView Satellite Imagery, Aerial Imagery, and Field Surveys. *Remote Sensing*, 13(15), Article 15. <https://doi.org/10.3390/rs13153030>

- SOPs. (2008). *Preparación de Phosphate Buffered Saline (PBS)*. San Luis Potosí, México: Laboratorio de Genómica Viral y Humana. Facultad de Medicina UASLP.
- Soria, I. (2004). Los microorganismos halófilos y su potencial aplicado en biotecnología. *Ciencia e Investigación*, 7(2), Art. 2. <https://doi.org/10.15381/ci.v7i2.3363>
- Srinivas, T. N. R., Sudharani, P., Behera, S., Dutta, S., Sampath, G., Sathibabu, Y., Geethika, G., Swagata, C., & Pratim, P. (2021). Influence of anthropogenic activities on the spatial distribution of heterotrophic, indicator and pathogenic bacteria around Andaman and Nicobar Islands. *Marine Pollution Bulletin*, 162, 111839. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111839>
- Steer, R., Arias-Isaza, F., Ramos, A., Sierra-Correa, P., Alonso, D., & Ocampo, P. (1997). *Documento base para la elaboración de la "Política Nacional de Ordenamiento Integrado de las Zonas Costeras Colombianas"* (Vol. Serie de publicaciones especiales No. 6). Colombia: Documento de consultoría para el Ministerio del Medio Ambiente.
- Thamdrup, B., Fossing, H., & Jørgensen, B. B. (1994). Manganese, iron and sulfur cycling in a coastal marine sediment, Aarhus bay, Denmark. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 58(23), 5115–5129. [https://doi.org/10.1016/0016-7037\(94\)90298-4](https://doi.org/10.1016/0016-7037(94)90298-4)
- Torres-León, C., Aguirre-Joya, J. A., & Aguillón-Gutiérrez, D. R. (2023). Dryland Microorganisms: Ecology and Biotechnological Potential. En C. N. Aguilar, S. Abdulhameed, R. Rodríguez-Herrera, & S. Sugathan (Eds.), *Microbial Biodiversity, Biotechnology and Ecosystem Sustainability* (pp. 1–13). Springer Nature. https://doi.org/10.1007/978-981-19-4336-2_1
- Trojanowski, J., & Bigus, K. (2013). The biochemical composition of sedimentary organic matter in sandy beaches of various anthropopressure. *Baltic Coastal Zone. Journal of Ecology and Protection of the Coastline*, 17, 5–20.
- Valadéz-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. *Tesis Doctoral*. Instituto de Ciencias Marinas y Pesquerías. Universidad Veracruzana. Veracruz, México. 187 pp.
- Ventosa, A., Nieto, J. J., & Aharon, O. (1998). Biology of Moderately Halophilic Aerobic Bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 62(2), 504–544. <https://doi.org/10.1128/MMBR.62.2.504-544.1998>
- Ver, L. M. B., Mackenzie, F. T., & Lerman, A. (1999). Carbon cycle in the coastal zone: Effects of global perturbations and change in the past three centuries. *Chemical Geology*, 159(1), 283–304. [https://doi.org/10.1016/S0009-2541\(99\)00042-X](https://doi.org/10.1016/S0009-2541(99)00042-X)
- Vitorino, L. C., & Bessa, L. A. (2017). Technological Microbiology: Development and Applications. *Frontiers in Microbiology*, 8. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2017.00827>

- Voss, M., Baker, A., Bange, H., Conley, D., Cornell, S., Deutsch, B., Engel, A., Ganeshram, R., Garnier, J., Heiskanen, A., Jickells, T., Lancelot, C., McQuatters, A., Middelburg, J., Schiedek, D., Slomp, C., & Conley, D. (2011). Chapter 8: Nitrogen processes in coastal and marine ecosystems. *Continental Shelf Research*, 21, 2073–2094.
- Wang, Q., Zhong, S., Li, X., Zhan, C., Wang, X., & Liu, P. (2016). Supratidal Land Use Change and Its Morphodynamic Effects along the Eastern Coast of Laizhou Bay during the Recent 50 Years. *Journal of Coastal Research*, 74(sp1), 83–94. <https://doi.org/10.2112/SI74-008.1>
- Wang, X., Yan, F., & Su, F. (2021). Changes in coastline and coastal reclamation in the three most developed areas of China, 1980–2018. *Ocean & Coastal Management*, 204, 105542. <https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2021.105542>
- Werner, F., & Blanton, J.O. (2019). Coastal Circulation Models☆. En J. K. Cochran, H. J. Bokuniewicz, & P. L. Yager (Eds.), *Encyclopedia of Ocean Sciences (Third Edition)* (pp. 467–474). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409548-9.11412-5>
- Wollast, R. (1993). Interactions of Carbon and Nitrogen Cycles in the Coastal Zone. En R. Wollast, F. T. Mackenzie, & L. Chou (Eds.), *Interactions of C, N, P and S Biogeochemical Cycles and Global Change* (pp. 195–210). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-642-76064-8_7
- Xia, Y. (2020). Chapter Eleven—Correlation and association analyses in microbiome study integrating multiomics in health and disease. En J. Sun (Ed.), *Progress in Molecular Biology and Translational Science* (Vol. 171, pp. 309–491). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2020.04.003>
- Yan, F., Wang, X., & Su, F. (2020). Ecosystem service changes in response to mainland coastline movements in China: Process, pattern, and trade-off. *Elsevier*, 116, 106337. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106337>
- Yannarell, A. C., & Kent, A. D. (2009). Bacteria, Distribution and Community Structure. En G. E. Likens (Ed.), *Encyclopedia of Inland Waters* (pp. 201–210). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-012370626-3.00123-X>
- Yu, J., Zhou, D., Yu, M., Yang, J., Li, Y., Guan, B., Wang, X., Zhan, C., Wang, Z., & Qu, F. (2021). Environmental threats induced heavy ecological burdens on the coastal zone of the Bohai Sea, China. *Science of The Total Environment*, 765, 142694. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142694>
- Wu, X.-Y., Guo, X.-Y., Zhang, B., Yan, J., & Ye, B.-C. (2020). Recent Advances of L-ornithine Biosynthesis in Metabolically Engineered *Corynebacterium glutamicum*. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 7. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fbioe.2019.00440>
- Zamudio-Alemán, R.E., Castañeda-Chávez, M.R., Lango-Reynoso, F., Galaviz-Villa, I., Amaro-Espejo, I.A. & Romero-González, L. (2014). Metales pesados en sedimento marino del

Parque Nacional Sistema Arrecifal Veracruzano. *Revista Iberoamericana de Ciencias*, 1(4), 159-168.

Zhang, B., Ren, L.-Q., Yu, M., Zhou, Y., & Ye, B.-C. (2018). Enhanced L-ornithine production by systematic manipulation of L-ornithine metabolism in engineered *Corynebacterium glutamicum* S9114. *Bioresource Technology*, 250, 60–68. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.11.017>

Zhong, J.-J. (2011). 2.21—Bioreactor Engineering. En M. Moo-Young (Ed.), *Comprehensive Biotechnology (Third Edition)* (pp. 257–269). Pergamon. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64046-8.00077-X>

APÉNDICE 1. PREPARACIÓN DE REACTIVOS

SOLUCIÓN REGULADORA DE FOSFATOS

Sol. Concentrada:

Fosfato de sodio monobásico	34.0 g
Agua destilada	1000.0 mL

1. Disolver el fosfato en 500 mL de agua y ajustar el pH al 7.2 con una solución de NaOH 1N y llevar a 1 litro con agua destilada.
2. Esterilizar en autoclave durante 15 min a 121°C.
3. Conservar en el refrigerador.

Sol. Diluida:

1. Tomar 1.25 mL de la solución concentrada y llevar a 1 litro con agua (solución de trabajo).
2. Distribuir en porciones de 99, 90 y 9 mL según se requiera.
3. Esterilizar en autoclave durante 15 min a 121°C.
4. Igualar pH y volumen final al que se tenía al inicio.

INDICADOR ROJO DE METILO

Ingredientes:

Rojo de metilo	0.1 g
Etanol al 95%	200.0 mL

1. Disolver 0.1 g de rojo de metilo en 300 mL de alcohol etílico (etanol) al 95%.
2. Agregar 200 mL de agua destilada a la mezcla de alcohol-indicador.

α -NAFTOL al 5%

Ingredientes:

α -Naftol (1-Naftol)	5.0 g
Etanol al 95%	100.0 mL

1. Disolver el α -Naftol en menos de 100 ml de etanol al 95%.
2. Transferir la solución a un frasco graduado de 100 mL y llevarlo a 100 mL con etanol al 95%.

KOH 40%

Ingredientes:

KOH	40.0 g
Agua destilada	100.0 mL

1. Presar con rapidez el KOH y disolver en menos de 100 mL de agua en un vaso de precipitado. Este reactivo es altamente higroscópico.
2. Colocar el recipiente en un baño de agua fría para controlar la temperatura.
3. Enfriar y transferir la solución KOH a una botella color ámbar.
4. Conservar de 2-3 semanas.

APÉNDICE 2. PREPARACIÓN DE AGARES Y MEDIOS DE CULTIVO

AGAR CUENTA EN PLACA

Se hace uso de las técnicas de conteo de bacterias, generalmente para conocer la diversidad y composición microbiana, se caracteriza principalmente porque el crecimiento de células viables (capacidad de división y formación de otras células) da paso a la generación de colonias.

Fórmula aproximada por litro:

Peptona de caseína	5.0 g
Extracto de levadura	2.5 g
D (+)-Glucosa	1.0 g
Agar-agar	14.0 g
pH final= 7.0±0.2	

Preparación:

1. Pesar 22.5 g del polvo para 1 litro de agua (realizar conversión para el volumen a preparar).
2. Agitar hasta obtener una mezcla lo más homogénea posible y medir pH.
3. Si el pH observado se encuentra por debajo del requerido, agregar algunas gotas de NaOH 1 N y volver a comprobar el valor, en caso de que todavía no se cumpla con las condiciones solicitadas, repetir este paso hasta alcanzar lo establecido.
4. Agregar 3% de NaCl (realizar operación para el volumen a preparar).
5. Colocar el matraz en una parrilla, agitar hasta que el agar preparado hierva y observar que las paredes de dicho matraz se encuentren limpias.
6. Sellar con un tapón de algodón, gasa y papel estraza.
7. Esterilizar en la autoclave a 121°C durante 15 minutos.

TSA (SIEMBRA Y RESIEMBRA EN PLACAS PETRI)

Fórmula aproximada por litro:

Peptona de Caseína	15.0 g
Peptona de Soya	5.0 g
Cloruro de Sodio	5.0 g
Agar Bacteriológico	15.0 g
pH final= 7.3±0.2	

Preparación:

1. Pesar 40 g del polvo para 1 litro de agua (realizar conversión para el volumen a preparar).
2. A partir de aquí, los pasos son los mismo que los realizados en la preparación del Agar Cuenta en Placa.

TSI-LIA-CITRATO DE SIMMONS-TSA (TUBOS PARA BIOQUÍMICAS)

Fórmula aproximada por litro:

TSI		CITRATO DE SIMMONS	
Extracto de Carne	3.0 g	Fosfato Dihidrogenado de Amonio	1.0 g
Extracto de Levadura	3.0 g	Fosfato Dipotásico	1.0 g
Digerido Pancreático de Caseína	15.0 g	Cloruro de Sodio	5.0 g
Peptona de Proteosa No. 3	5.0 g	Citrato de Sodio	2.0 g
Dextrosa	1.0 g	Sulfato de Magnesio	0.2 g
Lactosa	10.0 g	Agar	15.0 g
Sacarosa	10.0 g	Azul de Bromotimol	0.08 g
Sulfato Ferroso	0.2 g	pH final= 6.9±0.2	
Cloruro de Sodio	5.0 g		
Tiosulfato de Sodio	0.3 g		
Agar	12.0 g		
Rojo fenol	0.024		
pH final= 7.4±0.2			
TSA		LIA	
*Fórmula en la sección anterior.		Peptona de Gelatina	5.0 g
		Extracto de Levadura	3.0 g
		Dextrosa	1.0 g
		L-Lisina	10.0 g
		Citrato de Amonio Férrico	0.05 g
		Tiosulfato de Sodio	0.04 g
		Púrpura de Bromocresol	0.02 g
		Agar	13.5 g
		pH final= 6.7±0.2	

Preparación:

1. Pesar la cantidad del polvo para 1 litro de agua (realizar conversión para el volumen a preparar).
2. Agitar hasta obtener una mezcla lo más homogénea posible y medir pH.
3. Agregar 3% de NaCl (realizar operación para el volumen a preparar). Para las pruebas de salinidad, la cantidad de NaCl será pesado en base al porcentaje de la prueba,
4. Colocar el matraz en una parrilla, agitar hasta que el agar preparado hierva y observar que las paredes de dicho matraz se encuentren limpias.
5. Verter 4 mL de medio en tubos de vidrio pequeños.
6. Esterilizar en la autoclave a 121°C durante 15 minutos, excepto para la prueba de LIA que requiere un tiempo de 12 min.

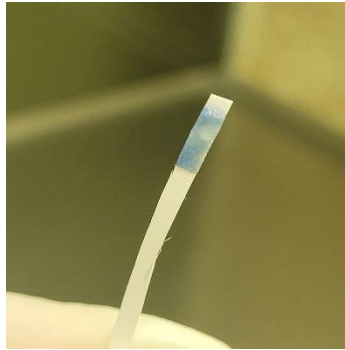
7. Solidificar de forma inclinada a manera que se forme un bisel con el agar.

MIO Y MR-VP (TUBOS PARA PRUEBAS BIOQUÍMICAS)

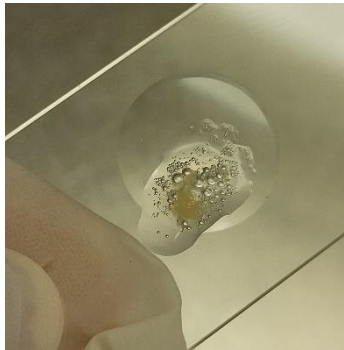
Fórmula aproximada por litro:

MIO		
Extracto de Levadura	3.0 g	
Peptona	10.0 g	
Triptona	10.0 g	
L-Ornitina HCl	5.0 g	
Dextrosa	1.0 g	
Agar	2.0 g	1. Se repiten los mismos pasos de la
Purpura de Bromocresol	0.02 g	preparación anterior hasta el punto 6, la
pH final= 6.5 ± 0.2		diferencia se centra, en que estos tubos se
enfrian sobre una gradilla		
verticalmente, ya que MR-VP tiene		
una consistencia líquida, mientras que		
MIO es semisólido.		
MR-VP		
Peptona tamponada	7.0 g	
Fosfato Dipotásico	5.0 g	
Dextrosa	5.0 g	
		pH final= 6.9 ± 0.2

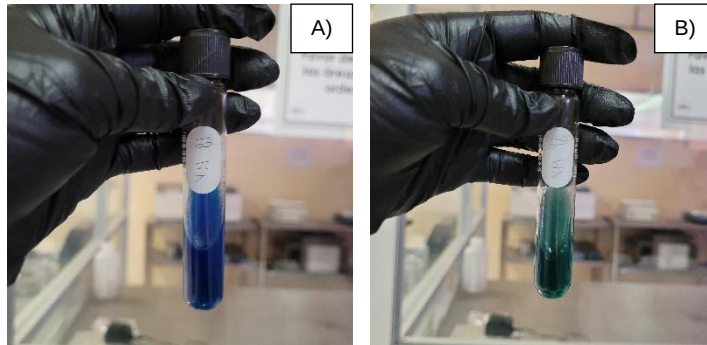
APÉNDICE 3. GALERÍA DE PRUEBAS BIOQUÍMICAS Y ENZIMÁTICAS



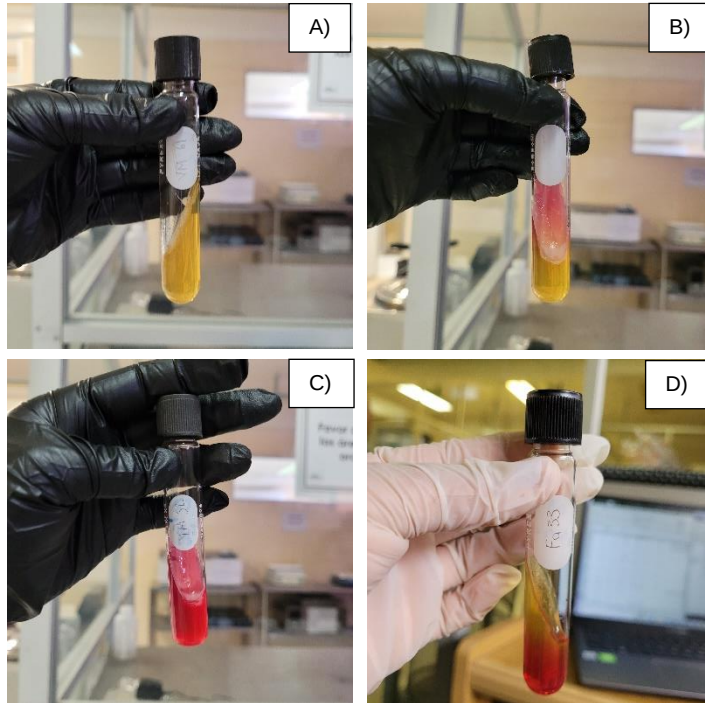
Prueba para oxidasa. Cuando una bacteria posee un sistema citocromo oxidasa, al entrar en contacto con una tira reactiva oxidasa esta cambiará a color azul o púrpura.



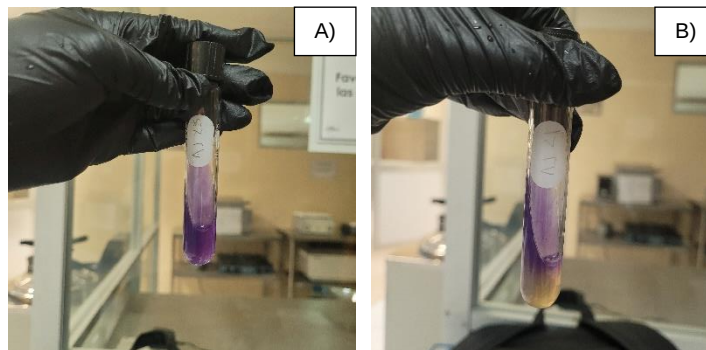
Prueba para catalasa. Cuando una bacteria catalasa positivo interacciona con peróxido de hidrógeno se liberan burbujas de gas.



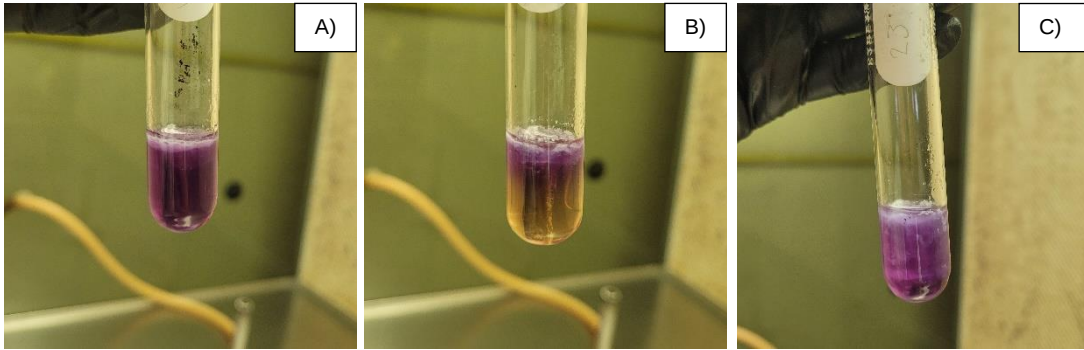
Prueba para citrato. A) La bacteria metaboliza el citrato, la respuesta es observada con el crecimiento bacteriano y cambio a una coloración azul, B) El citrato no es metabolizado por la bacteria.



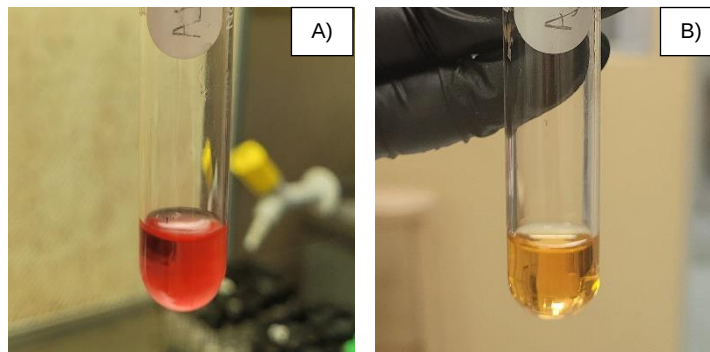
Prueba para la fermentación de hidratos de carbono. A) Degradación de glucosa, lactosa y sacarosa representada con una coloración amarilla en todo el tubo, B) Degradación solo de glucosa observada con una coloración amarilla en el fondo del tubo, C) La bacteria no tiene la capacidad de degradar hidratos de carbono, D) Reacción atípica presente en bacterias aerobias estrictas.



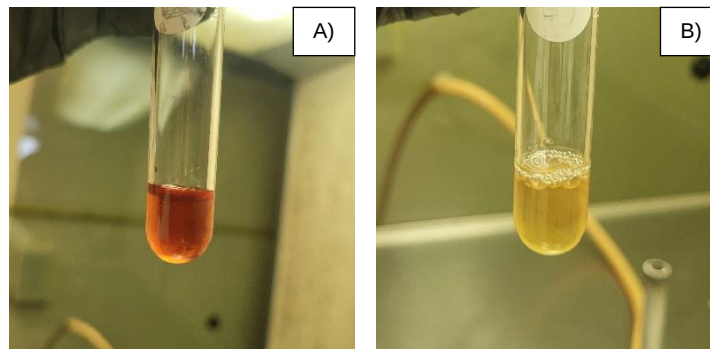
Prueba para la descarboxilación de la Lisina. A) Una coloración morada en todo el tubo es indicativa de la enzima lisina, B) Coloración amarillo en el fondo indica que la bacteria no es capaz de descarboxilar.



Prueba para la descarboxilación de la Ornitina. Lectura: A) Una coloración morada indica descarboxilación de Ornitina positiva y la falta de turbidez en el tubo indica movilidad negativa, B) Una coloración amarilla indica que no hay descarboxilación de la Ornitina, tampoco hay movilidad, C) Descarboxilación de la Ornitina y movilidad de la bacteria positiva.



Prueba para la formación de productos finales ácidos. A) Una coloración roja producida por el indicador rojo de metilo demuestra la capacidad de una bacteria para producir y mantener estables los productos finales ácidos a partir de la fermentación de la glucosa, B) Una coloración que torna a amarillo demuestra lo contrario.



Prueba para la formación de productos finales neutros. A) Cuando los reactivos α - Naftol y KOH interactúan con la bacteria y la coloración del medio líquido cambia a rojo, la prueba Voges-Proskauer es positiva; B) Cuando cambia a amarillo se demuestra que no se producen productos finales neutros por lo que la prueba Voges-Proskauer es negativa.