

Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA Iztapalapa

## DINÁMICA DEL BACTERIOPLANCTON Y SU RELACIÓN CON LA BIOMASA FITOPLANCTÓNICA EN DOS LAGUNAS COSTERAS DEL ESTADO DE VERACRUZ.

TESIS

Que para obtener el grado de

# MAESTRA EN BIOLOGÍA

PRESENTA

# ANGELES MECALCO HERNÁNDEZ

México, D. F., Diciembre 2010

LA MAESTRÍA EN BIOLGÍA DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA PERTENECE AL PADRÓN DE EXCELENCIA DEL CONACYT EL PRESENTE TRABAJO CONTÓ CON EL APOYO DE UNA BECA DE PARTE DEL CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA (CONACYT) No. De Registro: 229330

# DEDICATORIA

No existen personas más importantes a quien dedicarle este trabajo que a mis padres *Miguel Mecalco* y *Micaela Hernández*, quienes han confiado en mí en todo momento, permitiéndome emprender el vuelo tan alto hasta donde lo he querido y acompañándome en todo momento de mi vida.

A todos mis hermanos que han sido mi apoyo incondicional así como la fortaleza para salir adelante.

En especial a ti, mi angelito que ahora me cuida desde lo más alto del cielo.

A L.H. por estar a mi lado.

# AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Francisco José Gutiérrez Mendieta, que encabezó mi Comité Tutorial y quien me dio el apoyo y la confianza incondicional para la realización de este trabajo, por su dedicación y todo el conocimiento aportado en mi formación profesional.

A la Dra. Ma. Del Rocío Torres Alvarado, por todos sus comentarios en el desarrollo de esta tesis.

Al Dr. Renaud Fichez, por la revisión y sugerencias realizadas al trabajo.

Al Dr. Helmut Maske, por aceptar formar parte del jurado y por sus comentarios y sugerencias.

Al Dr. Manuel Castillo Rivera, por su colaboración en la realización de los análisis estadísticos, por su participación en el comité evaluador, por los comentarios hechos al escrito y sobre todo por haberme escuchado en muchas ocasiones, no solo profesionalmente sino como un amigo.

A Francisco Varona Cordero, por tu valiosa ayuda en las salidas de campo, análisis de muestras, análisis de datos y demás momentos compartidos dentro y fuera del laboratorio, pero sobre todas las cosas, por tu oído, tu hombro y tu mano, en una palabra por tu amistad.

A Ivanhoe Ricardo Herrera-Moro Chao, por tu apoyo durante las salidas de campo, análisis de muestras y comentarios hechos durante el desarrollo del presente trabajo. Por abrirme las puertas de tu vida y de tu casa y por todos los momentos compartidos.

A Gregory Charre, por aparecer y estar en los momento difíciles y tomarme de la mano, por compartir mis alegrías y tristezas. Gracias amigo.

Y a todos los que directa o indirectamente estuvieron cerca de mí durante el desarrollo de esta tesis.

El jurado designado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Unidad Iztapalapa aprobó la tesis que presentó

# ANGELES MECALCO HERNÁNDEZ

El día 9 de diciembre del 2010

Dr. Manuel Arnoldo Castillo Rivera	Presidente
Dra. María del Rocío Torres Alvarado	Secretaria
Dr. Renaud Fichez	Vocal
Dr. Helmut Maske	Vocal

# Contenido

Dedicatoria	4
Agradecimientos	5
Jurado	6
Índice de figuras	8
Índice de tablas	10
Resumen Abstract	11 12
Introducción. Marco Teórico. Antecedentes. Objetivo General. Objetivos Específicos. Hipótesis General. Hipótesis particulares. Área de estudio.	
Material y métodos	37
Resultados Caracterización fisicoquímica La Mancha Dinámica del bacterioplancton Caracterización fisicoquímica La Grande-Chica Dinámica del bacterioplancton Comparación entre sistemas Caracterización de los sistemas.	
Discusión Relación nutrientes-salinidad Dinámica del bacterioplancton	74 82 89
Conclusiones Perspectivas a futuro	
Bibliografía	108

# Índice de Figuras

Figura 1. Representación esquemática de la cadena alimenticia planctónica clásica y su relación con el ciclo microbiano14
Figura 2. Esquema de la participación del bacterioplancton en el flujo de materia orgánica en la columna de agua15
Figura 3. Localización de las estaciones de muestreo en la laguna La Mancha, Veracruz, Méx
Figura 4. Localización de las estaciones de muestreo en el sistema lagunar Grande- Chica, Veracruz, Méx
Figura 5. Variación temporal y espacial de la profundidad y transparencia en La Mancha y La Grande-Chica, Veracruz 45
Figura 6. Variación temporal y espacial de la temperatura y salinidad en La Mancha y La Grande-Chica, Veracruz47
Figura 7. Variación temporal y espacial del pH y oxígeno disuelto en La Mancha y La Grande-Chica, Veracruz49
Figura 8. Variación temporal y spacial de la concentración media de amonio, nitratos y nitritos en La Mancha y La Grande-Chica, Veracruz
Figura 9. Variación temporal y espacial de la concentración media de ortofosfatos y silicatos en La Mancha y La Grande-Chica, Veracruz
Figura 10. Variación temporal y espacial de la concentración media de clorofila <i>a</i> en la laguna La Mancha y La Grande-Chica, Veracruz
Figura 11. Gráfica de los parámetros citométricos que revelan 2 tipos de bacteria separados por su contenido de DNA55
Figura 12. Variación temporal de la abundancia total y de las fracciones con alto (ADNA) y bajo (BDNA) contenido de DNA del bacterioplancton en La Mancha y La Grande-Chica, Veracruz
Figura 13. Variación espacial de la abundancia total y de las fracciones con alto (ADNA) y bajo (BDNA) contenido de DNA del bacterioplancton en la laguna La Mancha

Fig. 15. Dendograma de similitud entre las estaciones en laguna La Mancha y sistema lagunar Grande-Chica durante el ciclo de muestreo......73

Fig. 16. Diagrama idealizado de las relaciones nutriente-salinidad, con la concentración y la mezcla de agua de río con el agua de mar......83

Fig. 17. Diagrama de salinidad-nutrientes en ambas lagunas......86

Figura 20. Relación de la abundancia del bacterioplancton con respecto a la concentración de clorofila *a* en la laguna La Mancha y el sistema lagunar La Grande-Chica......101

## Índice de Tablas

Tabla 1. Valores promedio de las variables físico-químicas y biomasa fitoplanctónicapor temporada climática en la laguna La Mancha......44

#### Resumen

Se determinaron las diferencias espacio-temporales de la abundancia del bacterioplancton y su relación con los parámetros fisicoquímicos y de biomasa fitoplanctónica durante un ciclo anual (2008-2009) en dos lagunas costeras del estado de Veracruz, México. Temporalmente se registraron diferencias en la temperatura y concentración de nutrientes, mientras que espacialmente la salinidad mostró un patrón de dilución en ambos sistemas. El análisis de cluster agrupó las estaciones de acuerdo a su grado de similitud. De acuerdo al análisis de la biomasa fitoplanctónica se determinó que La Mancha es un sistema mesotrófico, mientras que La Grande-Chica es eutrófico. La abundancia total del bacterioplancton fue evaluada por medio de microscopía de epifluorescencia y registró mayor número de células durante la temporada de lluvias y nortes. Se identificaron dos fracciones de bacterioplancton mediante citometría de flujo, una con alto y otra con bajo contenido de DNA, representando la porción activa e inactiva de la comunidad. Temporalmente la abundancia del bacterioplancton mostró una fuerte relación con la concentración de amonio, mientras que espacialmente la salinidad fue una variable que influyó en la distribución del bacterioplancton. Se determinó una relación positiva y significativa entre la biomasa del fitoplancton y la abundancia del bacterioplancton sugiriendo un acoplamiento entre ambas comunidades.

#### Abstract

During an annual cycle (2008-2009), spacial and temporal differences in the abundance of bacterioplankton and their relationship with physical. chemical y biological characteristics were determined in two coastal lagoons in Veracruz, Mexico. Temporal differences were identified in the temperature and nutrient concentration and the salinity show a spatial gradient in both systems. The cluster analysis grouped the stations in agreement to the grade of similitude. The results of the analysis of phytoplankton biomass determined that La Mancha lagoon is a mesotrophic system and La Grande-Chica an eutrophic system. The abundance of bacterioplankton was assessment by epifluorescence microscopy, the maxima abundance was registered in wet and nortes seasons. Two fractions of bacterioplancton were identified by flow cytometry, with high and low DNA content, and this fractions represent the active and inactive portion of the community. The abundance of bacterioplankton was relationed with the amonio concentration in the seasonal analysis and the salinity was the most relevant environmental factor affecting the spatial distribution of bacterioplankton. A positive and significant relationship was determined between the phytoplankton biomass and bacterioplankton abundance suggesting a coupling among both communities.

Key words: bacterioplancton, coastal lagoon, abundance, flow cytometry

### INTRODUCCIÓN

Durante las últimas décadas el estudio del papel ecológico de los microorganismos en el ecosistema marino ha ido evolucionando; en un principio se estableció que la transformación y flujo de la materia y energía se realizaba a través de la cadena alimenticia de pastoreo, constituida por diatomeas, copépodos y peces; pero el avance de la microbiología ha permitido reportar grandes abundancias de bacterioplancton, dando paso al concepto del ciclo microbiano (Azam *et al.,* 1983).

Este modelo representa una serie de interacciones tróficas complejas donde interviene tanto la producción de biomasa heterótrofa (bacterias y protozoarios) como autótrofa (cianobacterias) para el sostenimiento de los niveles tróficos superiores (Sherr y Sherr, 1991), su biomasa contribuye con cerca de la mitad o más del total de la biomasa planctónica (Cole *et al.,* 1988; Duarte *et al.,* 2000) y dominan las clases de tamaño de 0.2 a 2.0  $\mu$ m (Jochem, 2001). De esta manera el ciclo microbiano representa una vía alterna en la transferencia de materia y energía a la cadena alimenticia de pastoreo o de herbivoría (Fig. 1).



Figura 1. Representación esquemática de la cadena alimenticia planctónica clásica y su relación con el ciclo microbiano. La columna izquierda representa a los heterótrofos y la derecha a los fotoautótrofos. (Fenchel, 1988).

La comunidad del bacterioplancton juega un papel fundamental en la descomposición de la materia orgánica presente en la columna de agua (Azam *et al.,* 1983; Cole *et al.,* 1988; del Giorgio *et al.,* 1997), dando como resultado el reciclamiento de nutrientes inorgánicos como el nitrógeno, fósforo, azúfre y otros elementos traza (Sherr y Sherr, 1991; Murell, 2003), los cuales pueden ser aprovechados por el fitoplancton en la producción primaria (Legendre y Razzoulzadegan, 1995).

Así mismo durante el proceso de mineralización producen biomasa bacteriana (Bernard *et al.*, 2000), la cual puede ser transferida a niveles tróficos superiores a través de los microdepredadores (Azam *et al.* 1983; Azam, 1998; Servais *et al.*, 1999), de manera que esta comunidad puede tener un efecto importante sobre el metabolismo y función del ecosistema (Bacelar-Nicolau *et al.*, 2003, Fig. 2).



Figura 2. Esquema de la participación del bacterioplancton en el flujo de materia orgánica en la columna de agua (www.com.univ-mrs.fr).

Este nuevo concepto ha confirmando que la actividad metabólica bacteriana es altamente significativa y ha cambiado el concepto sobre el papel de las bacterias en la transformación y flujos de carbón y nitrógeno en los ambientes marinos, pasando de ser simplemente mineralizadoras de partículas de detritus a recicladores y competidores por nutrientes orgánicos e inorgánicos junto con el fitoplancton (Zehr y Ward,2002).

#### MARCO TEÓRICO

El término bacterioplancton se refiere usualmente a los organismos procariotes unicelulares acuáticos pertenecientes al picoplancton ( $0.2 - 2 \mu m$  de tamaño), cuyo grupo incluye bacterias no fotosintéticas o heterótrofas y al menos dos tipos de procariontes fotosintéticos o autótrofos (Sherr y Sherr, 1991).

La determinación de la composición de las poblaciones bacterianas, la abundancia de cada grupo metabólico y la discriminación de sus diferentes actividades es esencial para el entendimiento de la ecología pelágica y del balance entre la producción y consumo de materia orgánica (Morán *et al.*,2007), así mismo su biomasa juega un papel importante en los procesos biogeoquímicos que toman lugar en los ecosistemas acuáticos (Cotner y Biddanda, 2002).

Tanto la variabilidad espacial como la temporal dentro de las comunidades planctónicas han sido considerados un aspecto importante en la ecología de comunidades (Fenchel, 1988), estas variaciones pueden ser controladas por procesos clave, los cuales son divididos en dos grupos: por un lado la temperatura, salinidad, disponibilidad de sustrato y concentración de nitrógeno y fósforo funcionan como control "top down", mientras que la depredación y lisis viral ejercen un control "bottom up" (Zhou *et al.,* 2009).

En ambientes estuarinos como las lagunas costeras, los principales factores que controlan la abundancia y producción del bacterioplancton son la temperatura,

salinidad, disponibilidad de sustrato, concentración de nitrógeno y fósforo, depredación y lisis viral (Wright y Coffin, 1983; Almeida *et al.*, 2001a; Sherr y Sherr, 2002; Barrera-Alba *et al.*, 2008).

Particularmente, las lagunas costera, a diferencia de las aguas oceánicas y costeras se caracterizan por presentar heterogeneidad tanto espacial como temporal determinada por la dinámica de entrada y mezcla de agua dulce y marina, ocasionando marcados gradientes en salinidad, concentración de nutrientes y turbidez (Herrera-Silveira 1994; Smith y Kemp, 2003; Almeida, 2007), de manera que la distribución y abundancia del bacterioplancton presenta una distribución a lo largo de del gradiente físico-químico que va del ambiente continental al marino (Almeida *et al.,* 2001a; Soto-Castor *et al.,* 2002).

A diferencia de los ambientes templados, en los ambientes acuáticos tropicales las comunidades así como sus procesos metabólicos, están principalmente reguladas por las variaciones en las condiciones hidrológicas más que por la temperatura, debido a que en estas zonas la temperatura es relativamente constante, por lo que en estos sistemas se considera que la dinámica de la abundancia y producción del bacterioplancton son controladas por otros factores como la disponibilidad de nutrientes (Furtado *et al.,* 2001).

En este sentido, tradicionalmente la asimilación del nitrógeno ha sido atribuida al fitoplancton, mientras que la función de las bacterias estuvo restringida a la

descomposición de materia orgánica y regeneración del mismo (Horrigan *et al.,* 1988; Almeida, 2007; Zehr y Ward, 2002); sin embargo, se ha demostrado que las bacterias son capaces de asimilar una amplia variedad de formas de nitrógeno tanto inorgánicas (nitrato, nitritos y amonio) como orgánicas durante su crecimiento (Wheeler y Kirchman, 1986; Kroer *et al.*, 1994; Zehr y Ward, 2002).

Estudios recientes indican que el fósforo inorgánico puede también limitar directamente el crecimiento del bacterioplancton (Morris y Lewis, 1992); aunque experimentos en campo y laboratorio muestran que el fósforo es el nutriente limitante en cuerpos de agua dulce (Almeida *et al.*, 2001a), mientras que ecosistemas costeros y estuarinos es el nitrógeno (Chin-Leo y Benner, 1992; Contreras y Warner, 2004).

La disponibilidad de carbono orgánico también ha sido propuesta como un factor clave en la limitación del crecimiento del bacterioplancton y en su distribución en los sistemas acuáticos (Almeida *et al.,* 2007), ya que las bacterias heterotróficas obtienen su energía metabolizando fuentes externas de carbono orgánico (Brett *et al.,* 1999).

En este sentido Horrigan *et al* (1988) y Duarte *et al* (2000) han sugerido que la distribución de la biomasa en las comunidades planctónicas puede estar regulada por la concentración de nutrientes, ya que el resultado de sus experimentos muestran que la forma piramidal en la cual la biomasa de los productores primarios

es más grande que los consumidores en cada uno de los niveles tróficos superiores puede presentar una inversión en la estructura con la adición de nutrientes, lo que refleja un incremento en la dominancia de la biomasa heterótrofa.

Temporalmente, la magnitud de la precipitación genera condiciones bien diferenciadas entre la época de secas y lluvias, con sus consecuentes cambios en la temperatura y humedad así como las respectivas modificaciones en las condiciones hidrológicas, disponibilidad de nutrientes y la estructura de la comunidad planctónica (Alongi, 1998; Eyre y Balls, 1999; Varona-Cordero y Gutiérrez-Mendieta, 2003), de manera que el insumo de agua dulce proveniente de diversos aportes y generada por la época de lluvias, provoca grandes fluctuaciones en la salinidad (Contreras, 1993), influyendo en la dinámica de la comunidad.

Estos cambios temporales y espaciales en la concentración de nutrientes aunados a la alta tasa de crecimiento del bacterioplancton, pueden influir en un corto tiempo (horas) sobre las condiciones de crecimiento de las bacterias (Li *et al.,* 1993), lo que puede generar cambios en la biomasa y en la estructura de la comunidad planctónica, teniendo el potencial para afectar notablemente los procesos a nivel de ecosistema (Join *et al.,* 2002; Supura *et al.,* 2005).

Esto demuestra la importancia de la comunidad del bacterioplancton en la transferencia de energía a través del ciclo microbiano como una alternativa a la

cadena alimenticia clásica, durante periodos transitorios o inestables (Legendre y Razzoulzadegan, 1995; Agawin *et al.,* 2004).

Por otro lado se ha demostrado que en los ecosistemas dulceacuícolas y marinos, la abundancia y producción del bacterioplancton están correlacionados positivamente con la biomasa (clorofila *a*) o la producción fitoplanctónica (Cho y Azam, 1990); no obstante, esta relación no puede considerarse universal (Li *et al.*, 2004), ya que las zonas costeras y estuarios reciben partículas minerales y orgánicas de fuentes tanto autóctonas como alóctonas (Moreira-Turcq *et al.*, 1993), de manera que el abastecimiento de sustrato alóctono proveniente de las descargas terrestres aunado a la fuente autóctona proporcionada por los exudados fitoplanctónicos, pueden también ser el soporte de las demandas de nitrógeno y carbono del bacterioplancton (Kroer *et al.*, 1994; Shiah y Ducklow, 1994).

Esto ha generado diversas interpretaciones en cuanto al papel que juega el bacterioplancton, si puede actuar como enlace para la producción herbívora en la cadena alimenticia clásica por reciclamiento de carbono perdido en forma de exudados algales, heces y residuos alimenticios del zooplancton y la consecuente producción de biomasa (Nielsen y Richardson, 1989; Murell, 2003), o como sumidero al competir con el fitoplancton por los nutrientes limitantes (Brett *et al.,* 1999).

Es importante mencionar que la cuantificación de la abundancia bacteriana no refleja necesariamente actividad (Daley y Hobbie, 1975, Gasol *et al.*, 1995), lo cual se ha

reflejado en estudios recientes que han incrementado la evidencia de que en las comunidades del bacterioplancton no todas las células están activas y que frecuentemente una gran proporción del total consiste de células muertas o inactivas que no participan en la producción, crecimiento, flujo de materia y energía en determinado momento (del Giorgio *et al.,* 1997; Bernard *et al.,* 2000).

En este sentido, diferentes métodos han sido usados para probar o estimar la contribución relativa de las células activas e inactivas al total de la comunidad bacteriana, encontrando que las células activas pueden considerarse aquellas con membranas intactas, con actividad respiratoria detectable, con su material genético (DNA) compactado o aquellas capaces de incorporar sustancias radiactivas (Moran *et al.,* 2007) mientras que las células inactivas incluye aquellas con baja o nula actividad respiratoria, células muertas y fragmentos de ellas (Gasol *et al.,* 1999).

Debido a la gran correlación entre lo resultados obtenidos por los diferentes métodos usados se ha llegado a la conclusión de considerar a las células con mayor contenido de DNA como los miembros activos de la comunidad del bacterioplancton, mientras que aquellas con menor contenido de DNA son consideradas la fracción inactiva de la comunidad (Gasol *et al.,* 1999; Lebaron *et al.,* 2001). Así mismo, la proporción de bacterias metabólicamente activas parece variar entre sistemas, siendo su abundancia más variable que la del total (del Giorgio y Scarborough, 1995).

Tietjen y Wetzel (2003) señalan que el estudio de la comunidad del bacterioplancton y la fracción metabólicamente activa a lo largo de un gradiente espacial y temporal, podrían mostrar la complejidad potencial de la dinámica de dicha comunidad, permitiendo evaluar los factores abióticos y biológicos que actúan sobre su estructura, pues como señalan estudios anteriores, la biomasa del bacterioplancton puede frecuentemente estar correlacionada con la temperatura, materia orgánica y biomasa fitoplanctónica (Bird y Kalff, 1984; Robarts y Wicks, 1990; Pace y Cole, 1994).

#### ANTECEDENTES

En los últimos 20 años, una gran variedad de métodos han sido desarrollados para evaluar la biomasa y actividad del bacterioplancton (Servais *et al.*,1999), siendo la microscopia por epifluorescencia una de las técnicas más usadas para el conteo directo de bacterias (Hobbie *et al.*,1977; Azam *et al.*, 1983; Cho y Azam, 1990; Jochem, 2001), a través de la cual se ha demostrado que son una de las comunidades más abundantes de las lagunas costeras (Soto-Castor, *et al.*, 2002).

La citometría de flujo (FCM) por su parte ha llegado a ser una de las herramientas más importantes para los estudios en ecología microbiana acuática (Gasol y del Giorgio, 2000; Legendre *et al.*, 2001; Bouvier *et al.*, 2007), especialmente de la fracción del picoplancton (<2µm Olson *et al.*, 1989), siendo usada para estudiar cuestiones ecológicas fundamentales como la abundancia, distribución y actividad (Lebaron *et al.*, 2002).

Este método ha contribuido a la discriminación entre organismos autótrofos y heterótrofos, lo cual es determinado usando la presencia de autoflorescencia de pigmentos como clorofila y ficoeritrina, los cuales presentan una fluorescencia roja (670-700nm) y naranja (560-600nm) respectivamente (Moreira-Turcq *et al.*, 1993).

Uno de los más interesantes descubrimientos que han emergido de los estudios a través del uso de citometría de flujo es que el bacterioplancton tiende a agruparse dentro de dos distintas fracciones basadas en la diferencias de la fluorescencia

individual de cada célula (lo cual se relaciona con el contenido de ácido nucléico) y en la luz dispersada lateral (SSC) y frontalmente (FSC) (relacionado con su tamaño), con al menos dos fracciones principales: células con alto contenido de DNA y células con bajo contenido de DNA (Robertson y Button, 1989; Li *et al.*, 1995; Gasol *et al.*, 1999; Troussellier *et al.*, 1999; Jochem, 2001; La Ferla *et al.*, 2003; Bouvier, *et al.*, 2007).

Este fenómeno ha sido asumido como una característica general de la comunidad del bacterioplancton (Bouvier, *et al.*, 2007) y ha sido reportada en un amplio intervalo de ecosistemas acuáticos (Gasol y del Giorgio, 2000; Jochem, 2001; Lebaron *et al.*, 2002; Jochem *et al.*, 2004; Calvo-Díaz y Morán, 2006).

El uso de citometría de flujo permite analizar una gran cantidad de muestras de agua en un periodo de tiempo corto (Moreira-Turcq *et al.*, 1993) y ofrece la posibilidad de llevar a cabo análisis múltiples sobre las células individuales en las comunidades bacterianas (Servais *et al.*, 1999), pues al tratarse de una técnica multiparamétrica, permite evaluar algunas características intrínsecas de las células, tales como su tamaño y complejidad (Veldhuis y Krayy, 2000).

A pesar del uso de esta técnica, la tinción fluorescente y el conteo directo por microscopía de epifluorescencia permanece como el método estándar de enumeración de bacterioplancton en ambientes acuáticos, siendo un método

irreemplazable y tomado como base sobre el cual los microbiólogos pueden desarrollar sus interpretaciones (La Ferla *et al.,* 2003).

Para las lagunas costeras, cuya importancia radica en presentar una alta productividad (Varona-Cordero y Gutiérrez-Mendieta, 2003), con la mayor diversidad en sus tramas tróficas y una alta biomasa de productores secundarios, sólo existe un trabajo enfocado al estudio de los factores que modifican la hidrología del sistema en relación al bacterioplancton (Soto-Castor *et al.,* 2002), así mismo la naturaleza del acoplamiento entre la biomasa del fitoplancton y el bacterioplancton es poco conocida en ambientes subtropicales.

Algunos estudios en sistemas estuarinos han encontrado que la distribución de las células fitoplanctónicas a lo largo de un gradiente de salinidad presenta la mayor abundancia hacia la descarga de los ríos, mientras que la menor se presentó hacia la zona dominada por condiciones marinas. Estos resultados ponen de manifiesto la importancia de la dinámica de estos sistemas ocasionada por la descarga de ríos, lluvia y mareas donde la entrada de partículas minerales y orgánicas de fuentes autóctonas y alóctonas puede sostener la biomasa del bacterioplancton (Moreira-Turcq *et al.,* 1993).

Actualmente uno de los mayores temas de investigación en ecología microbiana es el de determinar la fracción de la comunidad del bacterioplancton que es metabólicamente activa, debido al interés de investigar qué factores controlan la

activación e inactivación de las células, lo que puede conducir a obtener información acerca de los cambios en el ambiente bacteriano que determinan este comportamiento (Dufour *et al.,* 1990), así como para evaluar la actividad especifica del bacterioplancton en los ecosistemas acuáticos (Lebaron *et al.,* 2001). En este sentido se ha registrado un aumento en la fracción activa de la comunidad con el aumento en la productividad del sistema (del Giorgio *et al.,* 1997).

Otros estudios se han enfocado en la relación empírica entre actividad y tamaño celular (Bird y Kalff, 1993; Björnsen *et al.*, 1989; Jürgens y Güde, 1994), donde la evaluación de la talla de las bacterias, ha sido vinculada a una mayor tasa de crecimiento y producción de células grandes que de pequeñas (Servais *et al.*, 1999).

Para la laguna La Mancha, los estudios han abordado temas sobre características hidrológicas, sedimentos, producción primaria, seston, plancton, macrofauna bentónica y necton (Matus *et al.*, 1992) dentro de las áreas de la taxonomía, biología y ecología. Estos estudios han permitido la caracterización de la laguna con base a su comportamiento hidrológico (temperatura, oxígeno, salinidad y profundidad) y en trabajos más completos se han integrado el análisis de nutrientes, principalmente N y P, así como un análisis de la comunidad fitoplanctónica (Castañeda y Contreras, 2001).

En el sistema lagunar Grande-Chica los estudios se han enfocado en la descripción de la vegetación circundante, el estudio del fitoplancton, zooplancton, bentos, peces y moluscos (García-Cubas *et al.,* 1992).

Por lo tanto, el objetivo de este trabajo es aportar información acerca de la abundancia y distribución del bacterioplancton en dos lagunas costeras, con el fin de reconocer los factores bióticos y abióticos que regulan su comportamiento en ambientes estuarino-tropicales.

### **OBJETIVO GENERAL**

Determinar la estructura espacio-temporal de la comunidad del bacterioplancton a lo largo de un gradiente fisicoquímico en la laguna costera La Mancha y el sistema lagunar La Grande-Chica (Estado de Veracruz), durante las principales épocas climáticas de la región (secas, lluvias y nortes).

# **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Estudiar la dinámica hidrológica (temperatura, salinidad, concentración de oxígeno y nutrientes) en dos lagunas costeras del estado de Veracruz a nivel espacial y temporal.
- Determinar la abundancia y distribución del bacterioplancton en dos lagunas costeras del estado de Veracruz a nivel espacial y temporal.
- Identificar la fracción activa e inactiva del bacterioplancton y sus cambios durante las diferentes épocas climáticas y a lo largo del gradiente fisicoquímico.
- Determinar la posible relación entre la comunidad del bacterioplancton con la dinámica hidrológica, así como con los cambios en la biomasa fitoplanctónica.

#### **HIPÓTESIS GENERAL**

Si la estructura de la comunidad del bacterioplancton está determinada por la interacción entre factores bióticos y abióticos, entonces se presentarán diferencias espaciales y temporales en la estructura de la comunidad como respuesta a las condiciones hidrológicas y de biomasa fitoplanctónica presentes en cada una de las épocas climáticas características del área de estudio.

#### Hipótesis particulares

1.- Si la concentración de nutrientes inorgánicos es un factor que influye sobre la comunidad del bacterioplancton, entonces los cambios en la concentración de nutrientes generados durante las diferentes épocas climáticas de la región, provocará cambios en la distribución y abundancia del bacterioplancton tanto a nivel espacial como temporal.

2.- Si la concentración de nutrientes es un factor que influye sobre la comunidad del bacterioplancton, entonces los cambios en la concentración de nutrientes durante las diferentes temporadas provocará cambios en la proporción de las fracciones activas e inactivas a lo largo de los sistemas estudiados.

3.- Si existe una relación entre la biomasa fitoplanctónica y del bacterioplancton, ésta será mayor durante la época de secas, pues la disminución del aporte fluvial y disminución de nutrientes provocará una mayor importancia de las fuentes autóctonas de sustrato.

4.-Si la fracción activa del bacterioplancton requiere nutrientes para su crecimiento, entonces durante la temporada de lluvias (temporada con mayor concentración de nutrientes) esta fracción incrementará su abundancia con respecto a la fracción inactiva.

#### ÁREA DE ESTUDIO

#### Laguna La Mancha

Se sitúa en la Llanura Costera del Golfo de México, hacia la parte central del estado de Veracruz, entre las coordenadas 19°34' y 19°42' de latitud norte y los meridianos 96° 23 y 96°27' de longitud oeste, aproximadamente a 30 km al noroeste de la ciudad José Cardel, en el municipio de Actopan (Castañeda y Contreras, 2001).

Su clima es de tipo Aw, correspondiente a cálido subhúmedo con lluvias en verano (García, 2004), una media anual de temperatura de 25.4°C (Utrera-López y Moreno-Casasola, 2008); la precipitación media anual de la zona es de 1250 - 1300 mm presentando una fuerte estacionalidad (Ortiz-Pulido *et al.*, 1995). Tiene una superficie aproximada de 140 ha con una longitud aproximada de 3 Km (Fig. 3).

La vegetación circundante es predominantemente agregada a selva baja subperennifolia, selva baja caducifolia, vegetación de dunas costeras, selva baja perennifolia inundable, tular, ceibadal y asociaciones de algas marinas macroscópicas epilíticas. El manglar de los alrededores está dominado por *Avicennia germinans* (Contreras, 1993).



Figura 3. Localización de las estaciones de muestreo en la laguna La Mancha, Veracruz, Méx. (Google Earth, 2007).

Según la clasificación de Lankford (1977), esta laguna pertenece al tipo III, es decir a una depresión inundada protegida por una barrera arenosa producida por la acción de la corriente y el oleaje (Villalobos-Figueroa *et al.,* 1982), es somera, excepto en los canales de erosión donde actúan los procesos litorales como la acción de huracanes o vientos y sedimentación de terrígenos.

Su comunicación con el océano es estacional, a través de una boca efímera localizada al noreste de la laguna, la cual se abre en forma natural en las época de lluvias y nortes (Contreras, 1993), debido al balance entre la marea, vientos y descarga de agua dulce. Presenta entrada constante y permanente del río Caño Grande, el cual se encuentra al suroeste de la laguna (Villalobos-Figueroa, *et al.,* 1982).

Estas características determinan una zonación dentro de la laguna, pudiendo identificar la zona A, caracterizada por ser una cuenca semicerrada influenciada por el agua dulce proveniente del río Caño Grande, la zona B ubicada en el área de la boca (Villalobos-Figueroa *et al.*, 1982 y Rivera-Guzmán, 2004) y un área de transición conocida como el Crucero (Legaria, 2003), dichas condiciones regulan los ciclos y procesos hidrológicos, biológicos y ecológicos del sistema.

#### Sistema lagunar Grande-Chica

El sistema se encuentra dentro de la llanura costera del Golfo de México, en la porción central del estado de Veracruz, entre los 20°02' y 20°06' de latitud norte y los 96°38' y 96°41' de longitud oeste. Está formado por dos cuerpos lagunares: laguna Chica y laguna Grande comunicados entre sí por un canal estrecho, conocido como "El Caño" (Fig. 4). Se caracterizan por presentar una forma alargada y angosta, con su eje mayor paralelo a la costa y posee una superficie total de 2,250 ha (Contreras, 1993).



Figura 4. Localización de las estaciones de muestreo en el sistema lagunar Grande-Chica, Veracruz, Méx. (Google Earth, 2007).

La Laguna Chica ocupa la porción noroccidental del sistema lagunar, sus dimensiones aproximadas son 3 km de longitud por 0.8 km de anchura en sus puntos

extremos. La Laguna Grande tiene alrededor de 4.7 km de longitud por 1.5 km de anchura (García-Cubas *et al.,* 1992).

De acuerdo a la clasificación de Lankford (1977), es una depresión inundada protegida por una barrera arenosa (tipo III); la comunicación con el mar es por medio de un canal que se une a la desembocadura del río Calipe. Según García (2004) su clima es Aw, correspondiente a cálido subhúmedo con lluvias en verano.

La vegetación dominante está representada por *Rizophora mangle*, *Avicennia germinans* y *Laguncularia racemosa*, mientras que la comunidad fitoplanctónica está dominada por la cianofita *Anabaena* durante la primavera y verano; con base en el contenido de clorofila *a* se sugiere una alta productividad (Contreras, 1993).

Ambas lagunas presentan un comportamiento similar al registrado en otras lagunas costeras tropicales, las cuales se caracterizan por presentar evidentes cambios en la concentración de nutrientes y condiciones físico-químicas entre la época de secas y lluvias (Villalobos-Figueroa, *et al.,* 1982; Alongi 1998). Típicamente la temporada de lluvias abarca los meses de julio a octubre y la temporada de secas de marzo a junio (Utrera-López y Moreno-Casasola, 2008).

La zona también es afectada desde finales de noviembre hasta febrero por los "nortes"; vientos del noreste producidos por las masas de aire frío que se desplazan

en invierno desde Canadá y Estados Unidos hacia el sur, los cuales generan un mayor porcentaje de lluvia invernal (García, 2004).

Estos dos sistemas se encuentran ubicados dentro de la misma zona geográfica y solo están separados por aproximadamente 80 km; sin embargo evidencia reciente ha puesto de manifiesto condiciones que caracterizan de manera particular a cada sistema.

El sistema lagunar Grande-Chica presenta durante los periodos de alta descarga fluvial y precipitación, dominancia de condiciones oligohalinas (11ups), mientras en la laguna La Mancha se ha presentado durante los últimos dos años una comunicación constante con el mar debido a que la boca de comunicación con el mar no se ha cerrado, provocando condiciones polihalinas permanentes (21.42 ups).

Otra característica distintiva entre ambas lagunas es que aunque ambas presentan comunidades de macrofitas bentónicas, en el caso del sistema lagunar Grande-Chica la comunidad está dominada principalmente por el alga roja del género *Gracillaria* y algunos manchones estacionales del pasto marino *Ruppia maritima* en la boca de comunicación, mientras que en la laguna La Mancha esta comunidad está representada por *Ruppia maritima*.
## MATERIAL Y METODOS

#### <u>Muestreo</u>

Se realizaron muestreos en los meses de marzo, abril, mayo, julio, septiembre y noviembre del 2007; mayo y agosto del 2008 y febrero del 2009, siendo los meses de marzo a junio considerados como la temporada de secas, de julio a octubre lluvias y de noviembre a febrero temporada de nortes.

Se muestrearon 8 estaciones en la laguna La Mancha y 9 en el sistema lagunar Grande-Chica, las cuales se encuentran distribuidas en un gradiente de salinidad, del ambiente dulceacuícola al marino (Figs. 3 y 4). En cada estación se tomaron muestras de agua, las cuales fueron obtenidas a profundidad media de la total registrada por medio de una botella tipo Van Dorn.

## Trabajo de campo

La temperatura, salinidad y pH fueron medidos *in situ* por medio de una sonda multiparamétrica modelo Horiba U-22 mientras que la transparencia de la columna de agua usando un disco de Secchi.

Las muestras para la determinación de oxígeno disuelto se colectaron en frascos ámbar de 125 ml, las cuales fueron fijadas inmediatamente de acuerdo a la técnica de Strickland y Parsons (1977). Las muestras de agua se colectaron con una botella tipo Van Dorn. Una submuestra de 250 ml se usó para el análisis de nutrientes ( $PO_4^{-3}$ ,  $NO_3^- + NO_2^-$ ,  $NO_2^-$ ,  $NH_4^+$ ), previa filtración a través de filtros Whatman GF/F de 47 mm de diámetro y 0.7 µm de apertura de poro con el fin de eliminar la materia orgánica; los filtros fueron mantenidos en silica gel en la obscuridad hasta su posterior análisis para la determinación de clorofila *a*, todas las muestras fueron mantenidas a 4°C hasta su análisis en el laboratorio.

Para el conteo directo de bacterias y el análisis por citometría de flujo, muestras de 125 ml se fijaron inmediatamente después de su colecta con paraformaldehído (Sigma) a una concentración final de 10% (Marie *et al.,* 2005) y fueron refrigeradas a 4°C en la oscuridad hasta su preparación para su análisis.

## Trabajo de laboratorio

La concentración de nitrógeno inorgánico se determinó en las formas de amonio, nitritos y nitratos, mientras que el fósforo en la forma de ortofosfatos; las técnicas empleadas fueron: para los  $NO_3^-+NO_2^-$  el método de ácido sulfanílico después de la reducción de  $NO_3^-$  a  $NO_2^-$  a través de columnas Cd-Cu; el amonio se determinó por la reacción de azul de indofenol y los ortofosfatos siguiendo el método de molibdato; todas las técnicas están incluidas en Strickland y Parsons (1977).

El índice N:P (inorgánico) se calculó dividiendo las formas de nitrógeno inorgánicas entre los ortofosfatos ( $NH_4^++NO_3^-+NO_2^-/PO_4^{3-}$ ; Redfield, 1958).

La concentración de clorofila *a* se determinó siguiendo el método propuesto por SCOR/UNESCO (1980). Los filtros fueron macerados utilizando acetona al 90% e incubados en la obscuridad por 24 horas. Posteriormente la muestra se centrifugó a 3000 r.p.m. durante 25 minutos y la concentración de clorofila se cuantificó por medio de un espectrofotómetro marca Beckman Du-65.

El número total de bacterias fue determinado mediante el conteo directo bajo microscopía de epifluorescencia (Porter y Feig, 1980). Submuestras de 0.8 ml se filtraron a través de filtros negros Nucleopore de 0.2 µm de apertura de poro y teñidas con 50 µl del fluorocromo 4'6-diamino-2-fenilindol (DAPI) a una concentración final de 1mg l<sup>-1</sup> (Jochem, 2001) por 5 minutos. Posteriormente los filtros fueron montados en portaobjetos con aceite de inmersión Cargille tipo B y observados a través de un microscopio marca Zeiss Axiolab equipado con una lámpara de mercurio HBO50 y con filtros para diferente longitud de onda.

De cada muestra se revisaron 10 campos y se contaron al menos 600 bacterias en cada filtro, lo cual da una precisión de ±10% a un 95% de intervalo de confianza (Cassell, 1965, citado en Gutiérrez-Mendieta, 2005).

El número de bacterias se calculó a partir de la siguiente fórmula:

$$C\acute{e}lulas/ml = [(PC - CB)*A *F]/V$$

Donde:

PC= conteo promedio de células/cuadrante

CB= conteos "blanco" de células/cuadrante

A= área efectiva del filtro/área del cuadrante

F= (volumen del fijador/volumen de la muestra conservada)+1

V= volumen de la muestra filtrada en ml

Las muestras obtenidas para el análisis por citometría de flujo fueron filtradas a través de una malla de 20  $\mu$ m con el fin de evitar la obstrucción del equipo. Submuestras de 1 ml fueron teñidas con 100  $\mu$ l de Fluorocromo DAPI (el cual tiñe ADN) a una concentración final de 1 mg l<sup>-1</sup> por 15 minutos (Jochem, 2001) y 2  $\mu$ l de perlas (Polyscience de 1  $\mu$ m de diámetro) fueron adicionadas como estándar de tamaño.

El análisis de las muestras se realizó mediante un citómetro de flujo modelo Cyan-ADP BeckmanCoulter® equipado con tres láseres (405nm, 488nm y 633nm). La adquisición de cada muestra fue de 1 minuto en promedio. Los datos fueron registrados en modo logarítmico. De cada célula que pasó a través del láser, se colectó la luz dispersada tanto en el ángulo cónico (FSC) como en el frontal (SSC). La señal fluorescente del DAPI fue colectada por el fotomultiplicador FL1 (530 ± 30nm). La identificación de las subpoblaciones se realizó mediante el análisis de las muestras obtenidas con el software WinMDI 2.9. Las fracciones fueron diferenciadas por sus características observadas en una gráfica de la luz dispersada (SSC, eje *x*, indicador del tamaño de la célula) contra la fluorescencia verde (FL1, eje *y*, relacionado al contenido de DNA).

La abundancia del bacterioplancton y sus diferentes fracciones fueron calculadas después de la compensación de cada muestra con respecto a las perlas de calibración y con respecto a la tasa de adquisición, la cual fue calculada dependiendo de la densidad de cada muestra.

#### Análisis Estadísticos

La variación espacial y temporal de los parámetros fisicoquímicos y de los factores bióticos (abundancia bacteriana, fracción metabólicamente activa y biomasa fitoplanctónica) se analizó mediante métodos gráficos empleando los diagramas de caja y bigote, para determinar diferencias entre ambas lagunas y temporadas climáticas (Salgado-Ugarte, 1992).

Para evaluar la significancia de las diferencias, los datos fueron evaluados a través de un análisis de varianza de una vía (ANOVA), utilizando las lagunas y las épocas climáticas como factor principal; las variables fueron transformadas con la finalidad

de cumplir con los supuestos de homogeneidad de varianza y normalidad a un nivel de significancia de p < 0.05 (Zar, 1997).

En cuanto a la clasificación de las estaciones, se utilizó un análisis de conglomerados que permitió la agrupación de las estaciones de acuerdo a su similitud (Gauch, 1982).

El coeficiente de correlación de Spearman fue calculado para determinar el grado de asociación entre las variables abióticas (fisicoquímicos) y los bióticos (abundancia bacteriana y biomasa fitoplanctónica). Se emplearon análisis de regresión lineal para conocer la relación entre la biomasa fitoplanctónica y la abundancia del bacterioplancton (Barrera-Alba *et al.,* 2009).

El análisis estadístico se procesó empleando el paquete STATISTICA versión 99 para Windows.

# RESULTADOS

## Caracterización Fisicoquímica

## Laguna La Mancha. Variación temporal y espacial

Los valores promedio y la desviación estándar de las variables fisicoquímicas y biomasa fitoplanctónica para la laguna La Mancha se presentan en la Tabla 1. A partir de una evaluación de las diferencias en éstos parámetros, se observó que la profundidad de la laguna no presentó variaciones significativas entre las diferentes épocas climáticas, registrándose la máxima profundidad durante la temporada de lluvias (180 cm), mientras que durante nortes ésta sólo alcanzó 150 cm; espacialmente la profundidad máxima se registró en las estaciones cercanas a la descarga del Río Caño Grande y la mínima en la boca de comunicación (Fig. 5B).

	Laguna La M	lancha		
		Secas	Lluvias	Nortes
Profundidad (cm)	Promedio	93,24	94,38	87,14
	D.E.	43,61	39,41	43,86
Transparencia (cm)	Promedio	65,00	65,00	44,00
	D.E.	18,20	25,63	26,84
Temperatura (°C)*	Promedio	29,50	31,20	28,04
	D.E.	1,32	3,42	2,45
Salinidad (ups)	Promedio	21,00	19,83	21,64
	D.E.	10,35	13,83	11,86
рН	Promedio	7,74	7,12	SD
	D.E.	0,43	1,82	SD
O.D. (ml l <sup>-1</sup> )	Promedio	3,63	3,81	4,77
	D.E.	0,74	1,42	1,43
NH4 (uM)	Promedio	2,28	0,93	1,97
	D.E.	3,85	0,43	0,67
NO <sub>3</sub> (uM)	Promedio	10,28	8,50	SD
	D.E.	15,36	14,28	SD
NO <sub>2</sub> (uM)	Promedio	0,27	0,19	SD
	D.E.	0,29	0,22	SD
PO4 (uM)*	Promedio	4,25	2,79	0,59
	D.E.	4,00	0,77	0,34
SiO <sub>3</sub> (uM)	Promedio	15,62	22,77	17,24
	D.E.	13,54	12,81	8,71
Clor a (mg m-3)*	Promedio	14,92	1,35	16,15
	D.E.	30,05	2,60	13,09
Índice N:P	Promedio	5.42	3.16	5.29
	D.E.	9.74	4.85	4.24

Tabla 1. Valores promedio de las variables físico-químicas y biomasa fitoplanctónica por temporada climática en la laguna La Mancha.

\*Diferencias significativas entre épocas (p < 0.05) SD = Sin dato

D.E. = Desviación Estándar

La transparencia tampoco mostró diferencias significativas, sin embargo durante nortes se observó una disminución de ésta (44 cm); espacialmente la mayor transparencia se registró en las estaciones con mayor profundidad y en la boca de comunicación, la mínima se registró en la estación 6 (Fig. 5D).



Figura 5. Variación temporal y espacial de la profundidad (A y B) y transparencia (C y D) en La Mancha y La Grande-Chica, Veracruz.

La temperatura registrada en lluvias (31.2°C) fue mayor que durante el resto del año; en la época de nortes se registró un descenso (28.0°C) siendo estas diferencias estadísticamente significativas. Espacialmente se determinó una mayor temperatura en las estaciones localizadas en la zona media de la laguna y un descenso en la zona de influencia de la descarga del río (Fig. 6B).

La salinidad no presentó diferencias estacionales significativas siendo el promedio de 17.7, 19.8 y 21.6 unidades prácticas de salinidad (ups) para secas, lluvias y nortes respectivamente. Espacialmente se observó un marcado gradiente en el cual la máxima salinidad se registró en la estación correspondiente a la boca y fue disminuyendo hacia la zona de descarga del río (Fig. 6D).



Figura 6. Variación temporal y espacial de la temperatura (A y B) y salinidad (C y D) en La Mancha y La Grande-Chica, Veracruz.

El pH no mostró diferencias significativas entre las temporadas de muestreo, aunque cabe señalar que los máximos valores (7.74) se registraron durante secas y los menores (7.12) durante lluvias (Fig. 7A). Espacialmente se observó una relación directa con respecto al gradiente de salinidad, de manera que los valores de pH aumentaron hacia las estaciones cercanas a la boca de comunicación con el mar (Fig. 7B).

En el caso del oxígeno disuelto, la concentración se incrementa en nortes y disminuye en secas, aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas (Fig. 7C). Espacialmente no hay un patrón definido, aunque el valor máximo se registró durante la época de nortes (6 ml l<sup>-1</sup>) en la estación 8, correspondiente a la boca y el mínimo (1.1 ml l<sup>-1</sup>) durante la época de secas en la estación 1.



Figura 7. Variación temporal y espacial del pH (A y B) y oxígeno disuelto (C y D) en La Mancha y La Grande-Chica, Veracruz.

Temporalmente no se encontraron diferencias significativas en la concentración de amonio, el promedio durante secas (2.28 µM) fue mayor al registrado en lluvias y nortes (0.93 y 1.97 µM). A nivel espacial la concentración de amonio fue homogénea, excepto en la estación 1, donde se registró una gran variabilidad debido a ser la estación localizada en la desembocadura del río Caño Grande (Fig. 8A).

Para los nitratos se observó que temporalmente no hubo diferencias significativas pero espacialmente se registro un gradiente, con las mayores concentraciones en las estaciones cercanas a la descarga del río Caño Grande (Fig. 8C y D).

Los nitritos, no mostraron diferencias temporales significativas, sin embargo se registró la mayor concentración promedio durante la temporada de secas con un valor de 0.27  $\mu$ M y la menor en lluvias con 0.19  $\mu$ M. Espacialmente no se observó un gradiente a lo largo de la laguna (Fig. 8F).



Figura 8. Variación temporal y espacial de la concentración media de amonio (A y B), nitratos (C y D) y nitritos (E y F) en La Mancha y La Grande-Chica, Veracruz.

Los ortofosfatos presentaron diferencias significativas entre las épocas climáticas, alcanzando valores promedio 4.25, 2.79 y 0.59 µM durante secas, lluvias y nortes

respectivamente (Fig.9A). Espacialmente la distribución de la concentración se incrementa hacia la boca de comunicación con el mar (Fig. 9B).

Las concentraciones de silicatos no presentaron diferencias significativas entre épocas climáticas, sin embargo, espacialmente se observa un claro gradiente de dilución, registrándose las mayores concentraciones en las estaciones cercanas a la desembocadura del río y disminuyendo hacia la boca de comunicación con el mar (Fig. 9C y D).



Figura 9. Variación temporal y espacial de la concentración media de ortofosfatos (A y B) y silicatos (C y D) en La Mancha y La Grande-Chica, Veracruz.

Con respecto a la relación N:P, el valor calculado para esta laguna fue de 4.81, el cual es mayor al encontrado en el mismo sistema años anteriores (Contreras *et al.,* 2005).



Figura 10. Variación temporal y espacial de la concentración media de clorofila *a* en la laguna La Mancha (A) y La Grande-Chica, Veracruz. (B).

Para la clorofila *a*, las diferencias fueron significativas entre temporadas, con valores de 14.92, 1.35 y 16.15mg m<sup>-3</sup> para secas, lluvias y nortes respectivamente; cabe mencionar que se registró una gran variabilidad en las concentraciones registradas (Fig. 10A); durante secas y nortes se registraron valores similares, pero durante lluvias se registraron valores <0.5 mg m<sup>-3</sup> (no detectables) en seis de las ocho estaciones muestreadas. A lo largo de la laguna las estaciones cercanas a la desembocadura del río Caño Grande son las que presentaron la mayor concentración de este pigmento con una disminución gradual hacia las estaciones cercanas a la boca de comunicación con el mar (Fig. 10B).

#### Dinámica del bacterioplancton

Los resultados obtenidos en este trabajo son la primera evaluación de las diferentes fracciones del bacterioplancton en los ecosistemas acuáticos tropicales en México y confirman la presencia de la fracción con alto y bajo contenido de DNA (ADNA y BDNA), de acuerdo a las características citométricas medidas en las muestras, como lo fueron la fluorescencia y la luz dispersada (Fig.11).

En la gráfica 11, que relaciona la luz dispersada (SSC por sus siglas en ingles) contra la fluorescencia emitida por el DAPI (FL1), se observa la separación de las células analizadas en dos grupos, el grupo A (ADNA) muestra alto SSC y alta fluorescencia de DAPI mientras que el grupo B (BDNA) se caracteriza por bajo SSC y baja fluorescencia.

De acuerdo a la relación positiva entre la fluorescencia emitida por el DAPI y el contenido de DNA y entre SSC y el tamaño de las células (Andreatta *et al.,* 2001), podemos asegurar que el grupo A representa células de mayor tamaño con alto contenido de DNA en comparación con las células del grupo B, lo cual es confirmado por las características citométricas medidas (Tabla 2).

Tabla 2. Valores promedio de las característica citométricas medidas. Luz dispersada (SSC) y fluorescencia de DAPI (FL1) en ambas lagunas.

	ADNA		BDNA	
	SSC	FL1	SSC	FL1
La Mancha	3,83	0,14	1,20	0,03
La Grande-Chica	5,87	0,12	1,51	0,03



Figura 11. Gráfica de 2 parámetros citométricos que revelan 2 tipos de bacteria separados por su contenido de DNA. FL1 = fluorescencia y SSC = tamaño, medidos en la laguna La Mancha (A) y el sistema lagunar La Grande-Chica (B).

En la Tabla 3 se presentan los resultados de la cuantificación del bacterioplancton realizada por microscopía de epifluorescencia (abundancia total) y por citometría de flujo (abundancia por fracción).

La abundancia total fue mayor en la temporada de nortes (5.78E+06 cel ml<sup>-1</sup>), descendiendo en lluvias y alcanzando el mínimo en secas (4.68E+06 cel ml<sup>-1</sup>), sin embargo estas diferencias no fueron estadísticamente significativas (p<0.05).

El porcentaje de contribución de la fracción de alto y bajo contenido de DNA con respecto a la abundancia total fue sugerido como un "Índice de células activas" (Jellet *et al.,* 1996), encontrándose que la fracción con alto contenido de DNA (ADNA) del bacterioplancton registró la menor abundancia en secas (5.09E+04 cel ml<sup>-1</sup>), representando solo un 8.68% del total mientras que su máximo valor se registró durante la temporada de nortes (4.23E+05 cel ml<sup>-1</sup>), representando un 49.87% de la abundancia total. Estas diferencias fueron estadísticamente significativas.

Por el contrario, la fracción con bajo contenido de DNA (BDNA) fue mayor en la temporada de secas (5.35E+05 cel ml<sup>-1</sup>) correspondiendo al 91.32% del total de la abundancia y la menor fue evaluada durante lluvias (1.54E+05 cel ml<sup>-1</sup>) con un 50.96% del total de las células contadas. Estos cambios en la abundancia durante las diferentes temporadas no fueron estadísticamente significativos (Fig. 12).

Espacialmente la distribución de la abundancia total y por fracciones del bacterioplancton a lo largo del gradiente de salinidad presentó una tendencia a disminuir hacia las estaciones con una salinidad mayor con respecto a aquellas con características dulceacuícolas (Fig. 13), sin embargo solo la relación entre la abundancia total y la salinidad fue estadísticamente significativa (p < 0.05) y no así el resto de las relaciones analizadas.

Tabla 3. Abundancia total, fracción con alto (ADNA) y bajo (BDNA) contenido de DNA y contribución de cada fracción a la abundancia total del bacterioplancton en la laguna La Mancha.

		MICROSCOPIA	ADNA	BDNA	%ADNA	%BDNA
	Prom.	4,68E+06	5,09E+04	5,35E+05	8,68	91,32
Secas	Max	7,12E+06	1,36E+05	2,29E+06		
	Min	3,49E+06	4,07E+03	6,03E+04		
	Prom.	4,71E+06	1,48E+05	1,54E+05	49,04	50,96
Lluvias	Max	6,78E+06	3,08E+05	4,42E+05		
	Min	3,45E+06	4,57E+04	3,92E+04		
	Prom.	5,78E+06	4,23E+05	4,25E+05	49,87	50,13
Nortes	Max	7,77E+06	8,93E+05	1,20E+06		
	Min	4,16E+06	1,87E+04	2,97E+04		



Figura 12. Variación temporal de la abundancia total y de las fracciones con alto (ADNA) y bajo (BDNA) contenido de DNA del bacterioplancton en La Mancha y La Grande-Chica, Veracruz.



Figura 13. Variación espacial de la abundancia total y de las fracciones con alto (ADNA) y bajo (BDNA) contenido de DNA del bacterioplancton en la laguna La Mancha.

## Sistema lagunar La Grande-Chica. Variación temporal y espacial

El promedio y desviación estándar de las variables fisicoquímicas y biomasa fitoplanctónica registradas para este sistema se presentan en la Tabla 4.

Con base en la evaluación de las diferencias estadísticas de tales variables, se observó que la profundidad de la laguna tuvo diferencias significativas entre épocas, con un promedio durante secas de 91.43 y 73.15 cm durante lluvias. Espacialmente la estación ubicada en la boca de comunicación con el mar presentó la mayor profundidad (Fig. 5B).

Estacionalmente la transparencia presentó diferencias significativas; se registró un promedio mayor durante la época de secas (50.87 cm) en comparación con lluvias (25.70 cm). Espacialmente aunque no hay un patrón definido, la mayor transparencia se registró en la boca de comunicación y la mínima en la estación que recibe la descarga del río Cerritos (Fig. 5D).

Sistema	a lagunar La (	Grande-C	hica	
		Secas	Lluvias	Nortes
Profundidad (cm)**	Promedio	91,43	73,15	92,00
	D.E.	30,06	24,74	22,74
Transparencia (cm)**	Promedio	50,87	25,70	63,11
	D.E.	21,57	14,19	14,04
Temperatura (°C)**	Promedio	29,13	31,33	23,22
	D.E.	2,90	1,02	0,63
Salinidad (ups)	Promedio	12,43	10,02	11,11
	D.E.	6,92	6,14	4,11
pH**	Promedio	8,75	7,71	7,76
	D.E.	0,67	0,65	1,06
O.D. (ml l⁻¹)**	Promedio	4,96	5,50	7,08
	D.E.	1,10	4,18	1,18
NH4 (uM)**	Promedio	2,97	17,45	5,06
	D.E.	2,37	19,97	2,44
NO <sub>3</sub> (uM)	Promedio	6,97	5,74	4,03
	D.E.	8,52	5,77	2,18
NO <sub>2</sub> (uM)**	Promedio	0,25	0,71	0,34
	D.E.	0,62	0,96	0,20
PO4 (uM)**	Promedio	10,38	9,90	14,14
	D.E.	5,94	5,83	3,60
SiO <sub>3</sub> (uM)	Promedio	17,77	17,77	15,66
	D.E.	6,51	14,02	2,92
Clor <i>a</i> (mg m-3)	Promedio	39,42	98,22	15,85
	D.E.	73,24	167,33	8,71
Índice N:P	Promedio	1.24	2.56	0.71
	D.E.	1.06	1.76	0.37

Tabla 4. Valores promedio de las variables físico-químicas y biomasa fitoplanctónica por temporada en el sistema lagunar La Grande-Chica.

\*\*Diferencias significativas entre épocas (p < 0.05) D.E. = Desviación Estándar

La temperatura mostró diferencias estadísticas significativas entre épocas climáticas, con la mayor temperatura en lluvias (31.3°C) y la menor durante nortes (23.2°C) (Fig. 6A). Espacialmente no se observa un patrón definido (Fig. 6B).

La salinidad no varió de manera significativa entre épocas (Fig. 6C), sin embargo tiende a disminuir en lluvias, mientras que en secas se incrementa. Espacialmente

presentó un patrón similar al observado en la laguna La Mancha, es decir mayores valores hacia la boca de comunicación con el mar (Fig. 6D).

En el caso del pH se registraron diferencias estadísticas significativas entre las épocas climáticas, con los mayores valores en la temporada de secas (8.75); mientras que en lluvias y nortes fue de 7.7 (Fig. 7A). Espacialmente el patrón con respecto al gradiente de salinidad no fue tan marcado como en La Mancha (Fig. 7B).

Se presentó una variación temporal significativa en la concentración del oxígeno disuelto (Fig. 7C), registrándose valores promedio de 4.9, 5.5 y 7.0 ml l<sup>-1</sup> para secas, lluvias y nortes respectivamente; espacialmente no se presentó una tendencia con respecto al gradiente de salinidad en el interior de la laguna (Fig. 7D); aunque cabe resaltar que la máxima concentración se obtuvo durante la época de lluvias en la estación que recibe la descarga del río Cerritos, así mismo registró la mayor variabilidad.

Para el amonio, las concentraciones entre las diferentes épocas climáticas mostraron diferencias estadísticamente significativas (Fig. 8A), registrando un valor promedio mínimo de 2.97 durante secas y el máximo durante lluvias de 17.45 μM. Espacialmente no se presentó una distribución diferencial de las concentraciones a lo largo del gradiente de salinidad (Fig. 8B), así mismo las máximas concentraciones

promedio se detectaron en la estación ubicada el canal que une la laguna Grande con La Chica (Fig. 8B).

Los nitratos no presentaron diferencias significativas entre las épocas climáticas, pero se observó que las menores concentraciones se registraron durante la época de nortes (4.03) y las mayores concentraciones (6.97 µM) durante secas. Espacialmente se observó un patrón similar al de la laguna La Mancha, es decir las mayores concentraciones se registraron en las estaciones cercanas a la descarga de los ríos (Fig. 8D).

En el caso de los nitritos, se encontraron diferencias significativas entre las épocas muestreadas incrementando su concentración en lluvias y disminuyendo en secas (0.71 y 0.25 µM respectivamente). Espacialmente la distribución de este nutriente en el interior de la laguna fue homogéneo (Fig. 8F).

Los ortofosfatos presentaron diferencias significativas entre épocas climáticas (Fig. 9A), donde las máximas concentraciones se presentaron durante nortes con un valor promedio de 14.14  $\mu$ M, mientras que para lluvias la concentración solo alcanzó un valor promedio de 9.90  $\mu$ M. Espacialmente se observa que las estaciones localizadas en el calan de conexión de ambas lagunas registran la mayor concentración con respecto al resto (Fig. 9B).

En el caso de los silicatos, no hubo diferencias temporales significativas en su concentración, sin embargo espacialmente se observa un patrón a lo largo del gradiente de salinidad, con las máximas concentraciones registradas hacia las estaciones con características dulceacuícolas (Fig. 9D).

La clorofila *a* no mostró diferencias significativas entre temporadas, sin embargo durante nortes se obtuvo la menor concentración de 15.85 mg m<sup>-3</sup> mientras que en lluvias incrementó a 98.22 mg m<sup>-3</sup>. La gran variabilidad en la concentración registrada en las tres primeras estaciones ubicadas en la zona de la laguna Chica, las cuales presentaron valores desde 485.34 mg m<sup>-3</sup> hasta 2.13 mg m<sup>-3</sup> (Fig. 10B) podría explicar la falta de diferencias estadísticas significativas.

#### Dinámica del bacterioplancton

Con base en la tabla 5, la abundancia total del bacterioplancton fue menor durante secas (4.04E+06 cel ml<sup>-1</sup>) y mayor durante la temporada de lluvias (7.31+06 cel ml<sup>-1</sup>); una abundancia intermedia se registró durante la temporada de nortes (6.35E+06 cel ml<sup>-1</sup>), estos cambios presentaron diferencias estadísticamente significativas (p<0.05).

el bacterioplancton en el sistema lagunar La Grande-Chica.						
		MICROSCOPIA	ADNA	BDNA	%ADNA	%BDNA
Secas	Prom.	4,04E+06	1,57E+05	2,00E+05	44,03	55,97
	Max	6,06E+06	5,69E+05	6,30E+05		
	Min	3,22E+06	3,91E+02	6,52E+02		
	Prom.	7,31E+06	3,28E+05	8,54E+05	27,75	72,25
Lluvias	Max	1,21E+07	8,84E+05	2,58E+06		
	Min	4,48E+06	5,02E+03	2,04E+04		
	Prom.	6,35E+06	2,70E+05	4,63E+05	36,81	63,19
Nortes	Max	8,28E+06	7,78E+05	1,25E+06		
	Min	4.22E+06	5.94E+02	7.28E+02		

Tabla 5. Abundancia total, fracción con alto (ADNA) y bajo (BDNA) contenido de DNA y contribución de cada fracción a la abundancia total del bacterioplancton en el sistema lagunar La Grande-Chica.

La fracción con alto contenido de DNA (ADNA) presentó su mínimo valor durante secas (Fig. 12) con un promedio de 1.57E+05 cel ml<sup>-1</sup> representando un 44.03% de la abundancia total; la máxima durante lluvias (3.28E+05 cel ml<sup>-1</sup>), representando un 27.75% de la total y en nortes se registró una abundancia intermedia con valores de 2.70E+05 cel ml<sup>-1</sup>, estos cambios no representaron diferencias estadísticamente significativas entre temporadas (p < 0.05).

Durante la temporada de secas, la fracción con bajo contenido de DNA (BDNA) registró su menor abundancia (2.00E+05 cel ml<sup>-1</sup>) lo cual equivale a un 55.97% del total. En la temporada de lluvias se alcanzaron valores de 8.54+05 cel ml<sup>-1</sup>

correspondiendo al 72.25% del total mientras que en nortes se registró una abundancia intermedia de 4.63E+05 cel ml<sup>-1</sup>, representando un 63.19% del total, estos cambios no fueron diferentes estadísticamente (p < 0.05).

Espacialmente la abundancia total mostró una distribución homogénea a lo largo del gradiente de salinidad, mientras que la fracción con alto y bajo contenido de DNA fueron mayores en las estaciones con características dulceacuícolas (Fig. 14), teniendo solo la fracción con bajo contenido de DNA una relación significativa con la salinidad (p < 0.05).



Figura 14. Variación espacial de la abundancia total y de las fracciones con alto (ADNA) y bajo (BDNA) contenido de DNA del bacterioplancton en el sistema lagunar La Grande-Chica.

#### Comparación entre sistemas

En cuanto a las diferencias determinadas entre los dos sistemas, la transparencia mostró diferencias estadísticas significativas, observándose un promedio de 0.60 m para la laguna La Mancha y de 0.41 m para el sistema lagunar Grande-Chica.

La salinidad fue otra variable que presentó diferencias entre lagunas con valores promedio mayores en la laguna La Mancha comparado al sistema lagunar La Grande-Chica; sin embargo, ambas presentaron el mismo comportamiento espacial, con mayor salinidad en las estaciones cercanas a la boca de comunicación con el mar y una disminución hacia las estaciones alejadas de la misma (Fig. 6D).

En cuanto al pH, los mayores valores se registraron en el sistema La Grande-Chica, con un promedio anual de 8.07, mientras que para La Mancha éste fue menor (7.43); asi mismo la concentración de oxígeno durante el ciclo fue mayor en La Grande-Chica (5.5 ml/l) que en la Mancha (3.9 ml/l), ambas diferencias fueron significativas.

En el caso de los nutrientes, los ortofosfatos y el amonio también registraron diferencias significativas entre ambas lagunas; para ambos casos las mayores concentraciones se registraron en el sistema La Grande-Chica (Fig. 8 y 9B). Espacialmente no se detectó un gradiente a lo largo de las lagunas como lo fue el caso de los nitratos y sílice.

La concentración de clorofila *a* mostró diferencias significativas entre ambos sistemas, con un valor promedio superior en el sistema La Grande-Chica (62.1 mg m<sup>-3</sup>) que el registrado en La Mancha (51.16 mg m<sup>-3</sup>), sugiriendo que este sistema soporta mayor biomasa que la laguna La Mancha.

#### Caracterización de los sistemas

De acuerdo al análisis de conglomerados realizado con los datos de las variables fisicoquímicas y la concentración de clorofila *a*, para la laguna La Mancha, se pueden distinguir tres zonas (Fig. 15A), las cuales están definidas en función de su grado de aislamiento o encerramiento (Knoppers *et al.*, 1991). La primera zona incluye las estaciones 1 y 2, localizadas al sur de la laguna ubicadas en un área semicerrada y rodeada de manglar; estas estaciones están directamente influenciadas por la descarga de agua dulce del río Caño Grande. La zona se caracterizó por presentar una mayor profundidad y transparencia, así como por una menor temperatura, salinidad, pH y oxígeno disuelto.

El aporte directo del Río Caño Grande influye en la disminución de la salinidad, creando condiciones oligohalinas (0.5 a 5 ups, Carriker, 1967) mientras que la presencia de manglares contribuye a la depositación de los sedimentos debido a la presencia de su sistema de raíces (Fonseca *et al.,* 2007); factor que contribuye a aumentar la transparencia de la columna de agua.

Los manglares, además de contribuir a la remoción de sedimentos de la columna de agua, aportan cantidades importantes de materia orgánica al sistema (Fonseca *et al.,* 2007). Esta materia orgánica es mineralizada por los microorganismos, lo que ocasiona la disminución de la concentración de oxígeno en el agua e incrementa la de CO<sub>2</sub>, lo cual contribuye al descenso del pH (Blackford y Gilbert, 2007).

Aunado a lo anterior, en esta zona la descarga fluvial aporta cantidades importantes de nutrientes (como lo demuestran las concentraciones registradas en las estaciones 1 y 2) que pueden estar relacionados con las máximas concentraciones de clorofila *a* determinadas en esta zona. Lo anterior traería como consecuencia una rápida respuesta de la biomasa algal al suministro de nutrientes proveniente del Río Caño Grande.

La segunda zona corresponde a las estaciones 3, 4, 5, 6 y 7, aunque se puede observar que las estaciones 6 y 7 comparten características que las colocan en un grado de similitud mayor que el resto de las estaciones, ya que son las estaciones ubicadas en la parte norte de la laguna y tienen mayor influencia del agua que entra a través de la boca de comunicación con el mar, ocasionando una mejor circulación del agua y por lo tanto una concentración de oxígeno y salinidad mayores que en la zona anterior, con condiciones polihalinas durante el ciclo de muestreo (Carriker, 1967).

Finalmente, se encuentra la boca de comunicación con el mar, la cual se separa de la zona dos debido a la influencia directa del agua marina lo cual se refleja en la salinidad, manteniendo condiciones eurihalinas (>30 ups) durante el ciclo de muestreo, así como un pH superior en esta estación. Otra característica fue la baja concentración de clorofila *a*, lo cual se debe a la gran dinámica del agua que evita la permanencia de condiciones estables para el desarrollo de los productores primarios.

Para el sistema La Grande-Chica, la clasificación determinó la división del sistema en cuatro zonas (Fig. 15B), la primera incluye las estaciones 1, 2 y 3, las cuales se encuentran en la laguna Chica, con condiciones mesohalinas (5-18 ups; Carriker, 1967) y la mayor concentración de clorofila *a*, lo cual se relaciona con el aporte de nutrientes por parte del estero Cerritos. Se encuentran en una zona de menor circulación con respecto al resto del sistema; así mismo es importante señalar que la mayor similitud entre las estaciones 1 y 2 se debe a que tienen mayor influencia de la descarga de agua dulce del estero Cerritos.

La zona dos, incluye la estación 4 y 7, sin embargo éstas junto con la estación 5, 6 y 8 forman parte de Laguna Grande, por lo que tendrían que estar incluidas dentro de una misma zona, ya que todas ellas mantuvieron a lo largo del ciclo de muestreo condiciones mesohalinas (10-18 ups; Carriker, 1967), la concentración de clorofila *a* varió de 8 a 42 mg m<sup>-3</sup> y el pH se mantuvo en un promedio de 8; posiblemente la separación de la estación 5 se deba a que esta recibe la influencia directa de la descarga del río Diamante.

Finalmente la separación de la estación 9 obedece a que es la estación ubicada en la boca de comunicación con el mar, que a pesar de registrar la mayor salinidad, presenta un comportamiento similar al de las estaciones internas, permaneciendo en condiciones mesohalinas (10-18 ups).


## DISCUSIÓN

En los sistemas estuarinos, el nivel de la columna de agua es influenciado por la entrada de agua dulce, la evaporación del agua y la entrada de agua marina por efecto de las mareas (Coelho *et al.,* 2007).

En los sistemas estudiados, la profundidad se vio influenciada a lo largo del ciclo de muestreo por el efecto de la marea tipo mixta, con predominancia diurna (Contreras *et al.,* 2005) y la descarga de agua dulce proveniente de los ríos que desembocan en ambos sistemas, ocasionando un aumento de la masa de agua contenida en la laguna durante la temporada de nortes.

La menor transparencia se registró en las épocas de lluvias y nortes, ya que en estas temporadas aumenta la descarga fluvial hacia las lagunas, lo que provoca una mezcla de la columna de agua y resuspensión de sedimentos, dando como resultado una mayor turbidez y disminución de la penetración de la luz. Aunado a lo anterior, la presencia de fuertes vientos en la época de nortes también contribuye a los procesos de mezcla (Uncles *et al.,* 2000; Varona-Cordero y Gutiérrez-Mendieta, 2003; Meire *et al.,* 2005).

En relación a la temperatura ambas lagunas tuvieron los valores más altos en los meses asociados a la temporada de lluvias, mientras que las menores se registraron durante nortes, este comportamiento se explica por la presencia de un periodo de canícula hacia la mitad de la temporada de lluvias, durante el cual se genera un

aumento de la temperatura ambiental, que a su vez incrementa la temperatura del agua (García 2004). Al respecto, Varona-Cordero (2004) determinó una correlación positiva entre la temperatura del agua en la laguna La Mancha con la ambiental. Adicionalmente la temperatura de la columna de agua se asocia la profundidad de ésta, de manera que al presentar una escasa profundidad durante lluvias, se favoreció un rápido calentamiento como respuesta a la insolación (Cunha *et al.,* 2003).

Por el contrario, en la época de nortes las masas de aire frío provenientes del noreste son los responsables del descenso evaluado durante dichos meses.

A pesar de que los sistemas estuarinos son altamente dinámicos y rápidamente cambiantes, caracterizados por agudos gradientes en la salinidad en las diferentes épocas climáticas (Schultz y Ducklow, 2000), en ambas lagunas no se presentaron diferencias significativas entre las diferentes épocas climáticas, esto como consecuencia de la constantemente mezcla entre las diferentes masas de agua dentro del sistema.

Con base en la clasificación sugerida por Carriker (1967), espacialmente en La Mancha se observó un claro gradiente en el cual las estaciones alejadas de la boca de comunicación con el mar presentaron condiciones oligohalinas (< 5 ups, estaciones 1 y 2) como consecuencia del aporte de agua dulce por parte del río Caño Grande, mientras que la estación cercana a la boca (estación 8) mantuvo

condiciones eurihalinas (> 30 ups); el resto de las estaciones mantuvieron condiciones polihalinas (18 - 30 ups) durante el ciclo anual como efecto de la mayor influencia que tiene el agua marina y la circulación que se presenta en la zona (Knoppers *et al.*,1991; Contreras *et al.*, 2005).

Para el sistema lagunar La Grande-Chica, se observó un gradiente de salinidad con los valores mínimos hacia las estaciones alejadas de la boca y los máximos en la estación ubicada frente a ésta, sin embargo mantuvo condiciones mesohalinas (10 – 18 ups) durante el ciclo de muestreo.

La salinidad fue mayor durante los meses de boca cerrada indicando que el agua de origen marino permanece un tiempo considerable dentro de la laguna, resultado de una alta tasa de evaporación en este cuerpo de agua (Uncles *et al.*, 2000; Cervantes-Duarte *et al.*, 2001). Durante los periodos de boca abierta y de mayor precipitación se produjo una dilución que provocó una disminución de la salinidad, lo cual se ve reflejado en los valores registrados para las épocas muestreadas.

En ambos sistemas, tanto a nivel temporal como espacia, la variación en los valores de pH siguió el gradiente de salinidad; los valores mayores se registraron hacia la boca de comunicación con el mar y en los meses correspondientes a secas, mientras que los menores hacia las estaciones con influencia de agua dulce y durante la temporada de lluvias, esto como efecto de la actividad biológica de los organismos y

la entrada de agua marina la cual tiende a ser alcalina (Gibson y Najjar, 2000; Blackford y Gilbert, 2007). Se determinó una correlación significativa de 0.79 y 0.28 para La Mancha y La Grande-Chica respectivamente.

En cuanto a la concentración de oxígeno disuelto, la menor concentración se registró durante la temporada de secas, aumentando posteriormente su concentración hasta alcanzar sus máximos en nortes, lo cual se atribuye a que durante esta temporada, los vientos provenientes del norte incrementan la turbulencia de las aguas, favoreciendo la circulación y por lo tanto la concentración de este gas en el medio (Medina-Gómez y Herrera-Silveira, 2003).

Por otro lado, la temperatura del agua durante la temporada de nortes influyó en la concentración de oxígeno (Millero 1996), ya que a menor temperatura, como la registrada en los meses asociados a esta època, se favorece una mayor solubilidad del gas, esto fue confirmado por la correlación encontrada entre temperatura y oxígeno disuelto, la cual fue negativa para ambos sistemas, sin embargo solo fue significativa para La Mancha (-0.36, p < 0.05).

Es importante señalar que a nivel espacial en la laguna La Mancha en las estaciones internas, cercanas a la presencia de manglar (1 y 2), se registraron los menores valores de concentración de oxígeno con respecto al resto de las estaciones, lo cual concuerda con lo reportado por Knoppers *et al* (1991) quien señala que de acuerdo al grado de aislamiento y a la ubicación de las estaciones, será su grado de

circulación, de manera que en una zona semicerrada y rodeada de manglar se generan menores posibilidades de mezcla en la columna de agua y su consecuente oxigenación, mientras que el resto de las estaciones de la laguna se encuentran en una zona propensa a mayor circulación. Así mismo la degradación de materia orgánica aportada por el manglar provoca la disminución de este gas en la columna de agua de la zona (Fonseca *et al.*, 2007).

Para el caso de la clorofila *a*, en la laguna La Mancha se obtuvo un promedio de 11.70 mg m<sup>-3</sup> durante el ciclo de muestreo, lo cual coincide con el intervalo de contenido de clorofila *a* reportado para el sistema (Conteras, 1993; Contreras *et al.*, 2005) mientras que para el sistema lagunar Grande-Chica, durante el ciclo se obtuvo un promedio de 62.12 mg m<sup>-3</sup>, siendo este valor la primera referencia de biomasa del sistema.

En comparación con otros ambientes estuarinos y de acuerdo al agrupamiento de las lagunas en función a su concentración de clorofila *a*, podemos clasificar a la laguna La Mancha como un sistema mesotrófico, mientras que el sistema lagunar La Grande-Chica es un sistema eutrófico (Contreras-Espinosa, 1994).

La mayor concentración de amonio y ortofosfatos presente en el sistema lagunar Grande-Chica sugiere un problema de eutrofización (Taylor *et al.*, 1995) y probablemente es la causa de las altas concentraciones de clorofila *a*. Así mismo la dinámica de apertura/cierre de la boca de comunicación con el mar en el sistema

Grande-Chica puede provocar que exista una mayor retención de agua y nutrientes dentro del sistema de manera que los productores primarios los asimilan de manera más eficaz (Eyre, 1998).

En comparación con otros sistemas, Cervantes Duarte y colaboradores (2001) encontraron para una laguna costera de Baja California Sur, intervalos de 0.93-2.59 mg m<sup>-3</sup> de clorofila *a* durante el ciclo de muestreo, de manera que los valores de clorofila *a* en las lagunas estudiadas son elevados, así mismo comparándolos con zonas costeras del estado de Yucatán, los valores promedio registrados en La Mancha y el sistema La Grande-Chica caen dentro de los intervalos registrados en Sisal y Celestún (1.1-92.3 y 0.5-30.8 mg m<sup>-3</sup>; Álvarez-Góngora y Herrera-Silveira, 2006), así mismo los valores registrados en algunas lagunas de la llanura costera de Veracruz presentan valores similares a los reportados en este trabajo (Contreras, 1993).

Temporalmente los nitratos y el sílice no presentaron un patrón definido, sin embargo en ambas lagunas mostraron un gradiente espacial, con las concentraciones mayores en las estaciones cercanas a la desembocadura de los ríos, lo cual se explica con base en lo expuesto por Gobler *et al.*, (2006), quienes señalan que la principal fuente de estos nutrientes para las zonas lagunares y estuarinas proviene de la intemperización de rocas ricas en este elemento, cuyo material es acarreado a través de los ríos.

Los nitritos presentaron una distribución homogénea tanto a nivel espacial como temporalmente en ambas lagunas como consecuencia de que al ser una forma intermedia entre las formas oxidadas (nitratos) y reducidas (amonio) tienen poca estabilidad y su presencia es efímera en la columna de agua (Pinckney *et al.,* 2001).

La interpretación de la relación N:P resulta importante para la comprensión de los procesos ecológicos de las lagunas costeras ya que no involucra la cantidad de nutrientes, que generalmente en lagunas costeras son muy variables, pero si la proporción entre ellos lo que finalmente controla el proceso de la fosotsíntesis (Hecky y Kilham, 1988).

Generalmente el fitoplancton requiere de N, Si y P en una relación 16:16:1, conocido como la proporción de Redfield (Redfield, 1958), de manera que la relación estequiométrica calculada para cada sistema en relación a lo expuesto por Redfield es el método utilizado para identificar la limitación por nutrientes (Contreras, 2001).

De esta manera el valor promedio de N:P calculado para la laguna La Mancha (4.81) y el sistema lagunar Grande-Chica (1.74) indica que en ambos sistemas existe una deficiencia de nitrógeno para los productores primarios (Redfield, 1958).

La variación temporal de la concentración de amonio en ambos sistemas se debe a que durante la temporada de secas las altas temperaturas registradas y la baja precipitación promueven una estabilidad ambiental que estimula la descomposición

de la materia orgánica, reflejando altas concentraciones de amonio (Tapia González *et al.,* 2008), mientras que durante lluvias, el incremento en su concentración se ve influenciado por su aporte a través de la descarga de los ríos y el escurrimiento de los componentes de fertilizantes utilizados en las zonas de cultivo localizados en los alrededores de los sistemas.

Para los ortofosfatos, se presentó el mismo patrón que el encontrado en el amonio, de manera que la mayor concentración registrada en el sistema La Grande-Chica pudo deberse a las escorrentías superficiales provenientes de la zona de manglar o a las aguas residuales domésticas descargadas sobre el sistema (Herrrera-Silveira, 2006). Aunque estas concentraciones son hasta cinco veces mayores que las registradas en La Mancha, coinciden con las reportadas por Conley (2000) para las lagunas costeras, cuyos valores varían de 0.1 a 37μM.

## Relación salinidad-nutrientes

Un método utilizado ampliamente para la cuantificación del flujo de nutrientes en los estuarios, es el de los diagramas de mezcla o curvas "salinidad-nutriente", donde las concentraciones de una sustancia pueden ser evaluadas en relación a la salinidad.

Bajo ciertas condiciones, las curvas "salinidad - nutriente" son lineales cuando el tiempo para la mezcla entre las diferentes masas de agua es mayor que el tiempo de residencia hidrodinámico del estuario. En estos diagramas, una curva es interpretada como indicativa de la naturaleza reactiva o no conservativa del nutriente estudiado, o la presencia de fuentes o pérdidas dentro del estuario (Loeder y Reichard, 1981; Fig. 16).

El cambio en la naturaleza reactiva o conservativa de los nutrientes a lo largo de un estuario están directamente afectadas por las condiciones hidrodinámicas del sistema como son el flujo del río, las mareas, aportes puntuales de zonas agrícolas, industriales o urbanas y meteorológicas como el viento o la temperatura. Asimismo estas concentraciones están afectadas por las reacciones químicas y biológicas que se llevan a cabo dentro del estuario.



Fig. 16. Diagrama idealizado de las relaciones nutriente-salinidad, con la concentración y la mezcla de agua de río con el agua de mar. A) Comportamiento conservativo. B) El estuario actúa como fuente. C) El estuario actúa como sumidero. D) Sumidero pronunciado. (Tomado de Biggs y Croning, 1981).

En la figura 17 se muestra la relación entre la salinidad y cada uno de los nutrientes en ambas lagunas.

En la laguna La Mancha para los nitratos y nitritos (Fig. 17 A y C) se puede observar que el sistema actúa como un sumidero; las altas concentraciones registradas en las estaciones con una baja salinidad se atribuyen a la entrada de agua proveniente de los ríos, que funciona como aporte (Eyre, 2000), lo cual es confirmado por la correlación encontrada con la salinidad, la cual fue negativa y significativa (-0.55), por lo tanto se observa una relación inversa entre la concentración de los nutrientes y la salinidad (Loeder y Reichard, 1981, Lebo *et al.*, 1994). En el caso de los nitratos y nitritos (Fig. 17 A y C) se observa que el efecto de sumidero es más pronunciado durante la temporada de lluvias lo cual puede deberse a una estimulación en la producción del fitoplancton por los pulsos de agua dulceacuícola rica en nutrientes (Eyre, 1998).

Para el amonio, el comportamiento no conservativo durante la temporada de lluvias y nortes, puede explicarse ya que al mismo tiempo que está siendo asimilado por el fitoplancton debido a que es utilizado preferencialmente frente al nitrito y nitrato puede estar siendo regenerado por procesos bacterianos heterótrofos (Herbert, 1999). Durante la temporada de secas el comportamiento del nutriente es casi conservativo debido posiblemente a la estabilidad en las condiciones hidrodinámicas del sistema, así como el aumento en el tiempo de residencia de la masa de agua dentro de la laguna (Aranda-Cirerol *et al.,* 2006).

En el caso del sílice se observa un comportamiento que puede explicarse con base en el origen del nutriente, ya que al ser la fuente primaria la descarga de los ríos, es de esperarse que durante lluvias exista una mayor concentración dentro de la laguna, como se observa en la figura 17G, mientras que para las demás temporadas hay una disminución de su concentración debido posiblemente a su asimilación por parte del fitoplancton silíceo (diatomeas), su exportación al mar adyacente o posiblemente porque diferentes masas de agua con diferentes concentraciones se están mezclando (Loder y Reichard, 1981).







En el caso de los ortofosfatos se observa un claro comportamiento no conservativo; la distribución de este nutriente a lo largo del gradiente de salinidad sugiere que el sistema actúa como una fuente del mismo debido a su adsorción a coloides de hierro y aluminio en bajas salinidades y a su liberación de los sedimentos por las altas salinidades debido al aumento del pH (Eyre y Twigg, 1997).

En el sistema La Grande-Chica el comportamiento es diferente; durante la temporada de lluvias se observa una homogeneidad en la laguna con respecto a la salinidad, ya que todas las estaciones oscilaron alrededor de 10 ups como consecuencia de la descarga de agua dulce proveniente de los ríos, de manera que para esta temporada no se podría determinar un gradiente de salinidad en el sistema y por lo tanto la tendencia de la concentración de los nutrientes no sigue el patrón sugerido.

Para los nitratos y nitritos en la temporada de secas y nortes se observa una desviación del comportamiento conservativo debido a los procesos biológicos que actúan sobre ellos, transformándolos en formas que puedan ser más fácilmente asimiladas por los organismos y en el caso de los nitritos, su presencia efímera en la columna de agua como consecuencia de ser una forma intermedia entre la forma reducida (amonio) y la oxidada (nitratos) (Zehr y Ward, 2002), de esta manera se obtuvo una correlación significativamente inversa entre nitratos, nitritos y silicatos con respecto a la salinidad (-0.40, -0.37 y -0.76 p <0.05).

Durante la temporada de secas y nortes, la concentración de amonio a lo largo del gradiente de salinidad pudo estar afectada por los procesos de amonificación, producto de la descomposición por parte de las bacterias heterótrofas de la materia orgánica, así como a la presencia de descarga de aguas residuales provenientes de

las poblaciones aledañas a la laguna; la disminución de su concentración estaría explicada por la asimilación de este por parte del fitoplancton (Eyre, 2000). Para el sílice como para los ortofosfatos, durante la temporada de secas y nortes se observa un comportamiento conservativo, con una disminución de su concentración con el aumento de salinidad, siendo la correlación significativamente negativa entre ambos nutrientes y la salinidad (-0.76 y -0.49 p<0.05).

#### Dinámica del bacterioplancton

Durante las últimas décadas se han llevado a cabo innumerables estudios encaminados a la determinación de los diversos factores ambientales y biológicos responsables de controlar la dinámica y actividad de la comunidad del bacterioplancton (Almeida *et al.,* 2001a, b; Brett *et al.,* 1999; Gasol y Duarte, 2000).

Barrera-Alba y colaboradores (2009) mencionan que los principales factores que controlan la abundancia del bacterioplancton en ambientes estuarinos son la temperatura, la salinidad, la disponibilidad de sustrato, la concentración de nitrógeno y fósforo (control "bottom up"), así como la depredación y lisis viral (control "top down").

Algunos estudios han encontrando que la dinámica bacteriana es afectada principalmente por gradientes temporales y en menor medida por la estructura espacial del sistema (Bacelar-Nicolau *et al.,* 2003), sin embargo en este estudio se encontró que tanto a nivel temporal como espacial se presentan cambios en la dinámica del bacterioplancton.

En ambas lagunas, la temperatura no mostró ninguna influencia sobre la abundancia y distribución del bacterioplancton, lo cual se explica a que la variabilidad estacional de este parámetro en áreas tropicales y subtropicales no es tan pronunciada como en las regiones templadas (Shiah y Ducklow, 1994; Wallberg *et al.,* 1999), lo cual

sugiere que la dinámica de la comunidad es controlada por otros factores tales como la salinidad o disponibilidad de nutrientes (Furtado *et al.,* 2001).

Temporalmente en el sistema lagunar La Grande-Chica, la elevada densidad bacteriana registrada en la época de lluvias se relacionó de forma positiva con la concentración de amonio ( $r^2$ =0.40; p<0.05), lo que sugiere que el bacterioplancton puede ser un consumidor importante de las fuentes inorgánicas de nitrógeno y competir con el fitoplancton por la asimilación de nutrientes (Wheeler y Kirchman, 1986; Horrigan *et al.*, 1988; Zehr y Ward, 2002).

Gallegos *et al.* (1992) establecieron que la variación estacional de la abundancia total del bacterioplancton está en función de los cambios registrados en la descarga de nutrientes, particularmente del amonio. Asimismo, Laque *et al* (2010) determinaron que en los sistemas estuarinos con baja salinidad (4-11 ups) como la evaluada en el sistema La Grande-Chica, la comunidad bacteriana se encuentra limitada por la disponibilidad de nutrientes.

Las diferentes fracciones del bacterioplancton (ADNA y BDNA) siguieron el mismo patrón temporal de distribución que el total de la comunidad (Fig. 12), es decir, que su abundancia fue superior en los meses asociados a las lluvias, cuando se evaluó el incremento en la concentración de amonio; no obstante lo anterior, los cambios estacionales por fracciones de la comunidad bacteriana estudiada no fueron significativos.



Fig. 18. Relación de la abundancia total y las diferentes fracciones del bacterioplancton con la concentración de amonio en el sistema lagunar La Grande-Chica.

En el caso de la laguna La Mancha las variaciones temporales de la abundancia total del bacterioplancton no fueron significativas, mientras que los de las diferentes fracciones sí registraron diferencias estadísticas significativas, evaluándose una densidad máxima de la fracción ADNA en la época de nortes y la mínima en secas, sin embargo, a diferencia del sistema estuarino-lagunar La Grande-Chica, no se determinó relación alguna con la concentración de nutrientes.

Al respecto Laque *et al* (2010) señalan que en ambientes costeros con una salinidad intermedia (22 ups) como la que se registró en La Mancha, la distribución y abundancia del bacterioplancton al parecer están más limitadas por una fuerte presión por depredación por parte de nanoflagelados heterótrofos, ciliados y algas fagotróficas que por la disponibilidad de nutrientes (Sánchez-Nieves, 2007). Del Giorgio *et al* (1996) reportaron que la depredación tiene un fuerte impacto sobre la dinámica de la comunidad bacteriana en la columna de agua, mientras que Andrade *et al* (2003) determinaron que la fracción con un alto contenido de DNA es la más propensa al efecto de la depredación por los protozoarios.

Espacialmente, en ambos sistemas y tanto para la abundancia total como para las diferentes fracciones de bacterioplancton, se registró una tendencia a disminuir de la zona con características dulceacuícolas a la zona marina (Fig. 13 y 14), sin embargo solo la abundancia total del bacterioplancton en La Mancha, así como la fracción con bajo contenido de DNA en La Grande-Chica mostraron una correlación negativa con la salinidad, sugiriendo que el mayor aporte a la comunidad está fuertemente relacionada a aguas de baja salinidad, lo cual refleja la influencia de la descarga de agua dulce a través de los ríos sobre esta comunidad (Barrera-Alba *et al.,* 2009) relacionado a una mayor concentración de nutrientes (Jochem, 2001) y a la variación en la calidad y disponibilidad de sustrato cuando la salinidad incrementa (Simon *et al.,* 1992).

De esta manera se confirma el efecto que ejerce la salinidad sobre la comunidad del bacterioplancton, ya que tanto temporal como espacialmente influyó sobre su distribución, especialmente en la laguna La Mancha este fenómeno se asoció a la variación hidrodinámica del sistema que generó un marcado gradiente de salinidad, la cual es considerada un importante factor regulador de las comunidades acuáticas

en estuarios y lagunas costeras (Laque *et al.,* 2010) e induce cambios rápidos en la abundancia del bacterioplancton (Thottathil *et al.,* 2008).

El resto de los parámetros registrados no presentaron una influencia sobre la distribución de la abundancia del bacterioplancton. La influencia de la intensidad de luz medida como la transparencia de la columna de agua no se analizó en este estudio ya que se trabajó con organismos heterótrofos.

La influencia de la disponibilidad de oxígeno disuelto sobre el bacterioplancton no fue objeto de estudio de este trabajo, sin embargo cabe señalar que en ambientes bien oxigenados no afecta de manera significativa las funciones vitales de los organismos, pero en ambientes poco oxigenados podría provocar cambios en las comunidades microbianas (Miravet-Regalado, 2003), así mismo la mayor concentración de oxígeno registrada en el sistema La Grande-Chica sugiere una mayor producción de este gas como consecuencia de la actividad fotosintética.

En cuanto al efecto del pH sobre la distribución del bacterioplancton no se observaron relaciones significativas, esto debido a que este parámetro influye sobre el crecimiento microbiano a valores muy altos o muy bajos de pH (Miravet-Regalado, 2003), sin embargo en los sistemas estudiados la variación de este parámetro no fue relevante. En ambos sistemas se registró una variabilidad en el porcentaje de distribución de las diferentes fracciones del bacterioplancton. En la laguna La Mancha la proporción entre ADNA y el número total de bacterias varió de 8.68% a 49.87% con un promedio de 35.87%; por su parte en el sistema La Grande-Chica esta variación fue de 27.75% a 44.03% con un promedio de 36.20%. Estos valores se encuentran dentro de la escala reportada por otros estudios publicados recientemente. Gasol *et al.,* (1999) reportaron proporciones de ADNA de 15% en el Océano Atlántico a más de 95% en reservorios eutróficos, mientras que Li *et al.,* (1995) para el Mediterráneo y Atlántico Norte reportaron una proporción de 10% a 90%.

Con respecto a la fracción con bajo contenido de ADN, el porcentaje aportado a la abundancia total varió de 50.13% a 91.32% con promedio de 64.13% en La Mancha y de 55.97% a 72.25% con promedio de 63.80% en el sistema lagunar La Grande-Chica; de la misma manera que para la fracción de alto contenido de DNA, los resultados se encuentran dentro del rango de variación encontrado en otros sistemas estuarinos (Andrade *et al.,* 2003), lo cual confirma que la presencia de ambas fracciones es una característica general de la comunidad.

Del trabajo de Stevenson (1978), conocemos que solo una variable y generalmente pequeña fracción de la comunidad total del bacterioplancton es activa en determinado momento, siendo la fracción activa la responsable de la producción de biomasa, división celular y respiración (Morán y Calvo-Díaz, 2009).

De acuerdo a las diferentes interacciones que existen entre ambas fracciones, se pueden preveer cuatro escenarios:

- La fracción con ADNA está compuesta de células activas en crecimiento, mientras que la fracción de BDNA contiene células inactivas, latentes, dañadas o muertas que se originan de la fracción de ADNA. Este es el escenario más ampliamente aceptado.
- La fracción de BDNA está compuesta de células con una amplia variedad de estados fisiológicos, incluyendo células sanas, activas, inactivas, latentes y dañadas, las cuales forman la base de la fracción de ADNA. Bajo este escenario, las células de alto contenido de DNA podrían originarse de células con bajo contenido de DNA activas que son sometidas a una rápida división celular y que han replicado su DNA o adquirido múltiples copias de su genoma.
- Las fracciones con alto y bajo contenido de DNA son diferentes comunidades, con sus propias características que son independientes unas de otras, con poca o nula interacción entre ellas.

 Un escenario intermedio es aquel en el que se producirían intercambios dinámicos entre las dos fracciones, así como entre componentes que son distintos a ambas fracciones.

Aunque el primer escenario ha sido más aceptado que el resto, la existencia de estas dos fracciones de bacterioplancton refleja el resultado de procesos complejos que envuelven el paso de células de una fracción a otra ocasionado por diversos mecanismos biológicos, uno de los cuales sostiene la inactivación como respuesta a la presión de pastoreo o condiciones ambientales adversas (Gasol *et al.*, 1999).

En la figura 19 se observa la relación de la abundancia total, la fracción de bajo y alto contenido de DNA con la concentración de clorofila *a*, la cual muestra una tendencia de la abundancia del bacterioplancton a aumentar con el grado de productividad del sistema, sin embargo solo para el caso de la abundancia total en el sistema La Grande-Chica (Fig. 19B) la correlación fue significativa (Spearman  $r^2$ =0.34, P<0.05) y aunque algunos autores (Bouvier *et al.*, 2007) señalan la existencia de diferencias en el porcentaje de contribución de la fracción de alto y bajo contenido de DNA entre ecosistemas, con una mayor contribución de la fracción de ADNA en ecosistemas con alta productividad y bajo en ecosistemas marinos la contribución de la fracción de ADNA fue en promedio de 35% mientras que la de BDNA fue de 63% para ambos sistemas.

Diversos estudios en ecosistemas marinos y dulceacuícolas señalan que la abundancia del bacterioplancton se correlaciona positivamente con la biomasa del fitoplancton (Fuhrman *et al.*, 1980; Azam *et al.*, 1983; Bird & Kalff, 1984; Bjørnsen *et al.*, 1989; Zhou *et al.*, 2009), lo cual se ha interpretado como un acoplamiento del crecimiento del bacterioplancton al del fitoplancton (Brett, 1999).

Aunque esta relación también puede ser negativa o no significativa. Una relación negativa puede explicarse debido a fagotrofía de fitoplancton mixótrofo sobre el bacterioplancton (López-Flores *et al.,* 2009), así como por competencia por nutrientes inorgánicos entre ambos grupos tróficos (Fuhrman, 1992), mientras que situaciones intermedias entre las señaladas anteriormente resultarían en una relación no significativa.

En este estudio se observó una relación positiva entre ambas comunidades (Fig. 20); sugiriendo que el crecimiento del fitoplancton es mayormente autótrofo, favoreciendo el crecimiento del bacterioplancton y favoreciéndose cada grupo el uno del otro (Capblanq, 1990). El análisis de la relación entre ambas comunidades se realizó con los datos obtenidos durante el ciclo de muestreos que se hizo en ambas lagunas, aunque cabe señalar que en otros estudios se ha encontrado un acoplamiento más obvio entre la comunidad del fitoplancton y el bacterioplancton durante los meses correspondientes a la temporada de secas, cuando los sistemas se encuentran limitados por la disponibilidad de nutrientes, además de que en esta temporada la

falta de nutrientes estimula la liberación de exudados por parte del fitoplancton (Bratbak y Thingstad, 1985 y Landry, 2001).

Para la laguna La Mancha la correlación fue de  $R^2$ = 0.13 mientras que para el sistema laguna La Grande-Chica el valor obtenido fue de  $R^2$ =0.11, estos valores son comparables al valor encontrado por Murrell (2003)  $R^2$ = 0.15 para un sistema estuarino. Aunque el valor de la correlación es pequeño, fue estadísticamente significativo ( $\alpha$  = 0.1, p = 0.08 y 0.01), lo cual sugiere que aunque las bacterias son controladas por el suministro de sustrato, este "bottom up" no esta siendo ejercido directamente por el fitoplancton (Morán *et al.*, 2010) y que la entrada de material alóctono en estos sistemas es una fuente importante de sustrato que puede sostener tanto la abundancia, producción y crecimiento bacteriano (Shiah y Ducklow, 1994); así mismo demuestra que la naturaleza del acoplamiento es variable y muchos otros factores fisiológicos (eficiencia en el crecimiento bacteriano, relación biomasa - productividad del fitoplancton, calidad de la materia orgánica, incluyendo el rol de la materia alóctona) y ambientales (temperatura) actúan modulando la relación (Murrell, 2003).

Otro aspecto importante a señalar es el valor de las pendientes de la relación entre la abundancia del bacterioplancton y la biomasa fitoplanctónica (medida como clorofila *a*) encontradas en este estudio (0.07 y 0.09 para cada laguna respectivamente), ya que son menores a las encontradas por otros autores (0.3 - 0.8), lo cual indica una

respuesta lenta de la abundancia del bacterioplancton al incremento de la biomasa fitoplanctónica (Gasol y Duarte 2000).

De manera interesante, el valor del intercepto en *y* de la relación (6.6) es comparable al encontrado por Bird & Kalff (1984), Cole *et al.*, (1988) y Murrell (2003), además de ser mayor al encontrado en ambientes dulceacuícolas y marinos indicando que los ambientes estuarinos soportan una mayor biomasa bacteriana en relación a la biomasa fitoplanctónica (Simon *et al.*, 1992).



Figura 19. Variación de la abundancia de cada fracción del bacterioplancton con respecto a la concentración de clorofila *a* en la laguna La Mancha (A) y el sistema lagunar La Grande-Chica (B).



Figura 20. Relación de la abundancia del bacterioplancton con respecto a la concentración de clorofila *a* en la laguna La Mancha (A) y el sistema lagunar La Grande-Chica (B).

Los resultados de este estudio confirman la presencia de un comportamiento estacional en ambas lagunas; la temperatura mayor se registró durante lluvias y la mínima durante nortes; la salinidad también mostró diferencias temporales, con menores salinidades durante la temporada de lluvias provocado por una dilución debido a la descarga de agua dulce a través de los ríos y mayor salinidad durante secas, debido a la disminución de la descarga de los mismos. El oxígeno disuelto por su parte registró la menor concentración durante secas y la mayor durante nortes lo cual se debe a la dinámica hidrológica de los sistemas y el efecto de la actividad biológica.

Espacialmente en ambas lagunas el pH mostró una relación negativa con la salinidad, registrándose menores valores en las estaciones cercanas a la desembocadura de ríos y mayores hacia la boca de comunicación con el mar, este mismo gradiente longitudinal se observó en la concentración de silicatos y nitratos lo cual refleja que la principal fuente de estos nutrientes es la descarga de los ríos (Gobler *et al.*, 2006). El comportamiento de los nitritos no siguió un patrón temporal ni espacial, debido a su condición efímera en la columna de agua (Pinckney *et al.*, 2001).

Particularmente la laguna La Mancha, de acuerdo a los valores de salinidad registrados en el sistema, mostró condiciones estuarinas, registrando valores de salinidad < 5 ups en las estaciones 1 y 2 y > 30 ups en la estación localizada en la

boca de comunicación con el mar; de acuerdo a la concentración de clorofila *a* el sistema se clasifica como un ambiente mesotrófico, mientras que el sistema lagunar Grande-Chica registró condiciones mesohalinas (10-18 ups) y se clasifica como un ambiente eutrófico.

La mayor concentración de amonio durante la temporada de secas en la laguna La Mancha puede asociarse a procesos de mineralización de materia orgánica, mientras que en el sistema lagunar La Grande-Chica su mayor concentración durante lluvias puede deberse a la descarga de aguas residuales a través de los ríos, lo cual es confirmado por las también altas concentraciones de ortofosfatos en este sistema.

Esta variabilidad en la concentración de nutrientes a nivel temporal como espacial demuestran su naturaleza reactiva, la cual está directamente afectada por diversos fenómenos como la descarga de agua dulce a través de los ríos, las mareas, aportes puntuales de zonas agrícolas, así como procesos meteorológicos como el viento o la temperatura y por reacciones químicas y biológicas que se llevan a cabo dentro de los sistemas.

La comunidad del bacterioplancton en el sistema lagunar La Grande-Chica, se vio regulada por la disponibilidad de nutrientes, específicamente por la concentración de amonio, lo cual sugiere la asimilación del nutriente por esta comunidad, mostrando así mayor abundancia durante la temporada en la cual se registró mayor concentración de amonio, de la misma manera esta condición provocó la distribución

espacial a lo largo de los sistemas de la abundancia del bacterioplancton generando un gradiente de mayor abundancia en las zonas dulceacuícolas, disminuyendo hacia la zona de influencia marina.

La fracción con alto contenido de DNA determinada en este estudio mediante citometría de flujo solo presentó cambios temporales en la laguna La Mancha, asociados posiblemente a depredación por protozoarios, ya que esta fracción ha sido reportada como preferida sobre la de bajo contenido de DNA, lo cual también se refleja en la mayor variabilidad en el porcentaje de esta fracción con respecto a la abundancia total. En promedio la contribución de la fracción de ADNA con respecto al total fue de 35%, mientras que la fracción de BDNA de fue de 63% en ambas lagunas.

La relación entre la abundancia del bacterioplancton con la biomasa fitoplanctonica (clorofila *a*) mostró una relación positiva, con valores de  $R^2$ = 0.13 y  $R^2$ =0.11 para la laguna La Mancha y el sistema lagunar La Grande-Chica respectivamente, sugiriendo un posible acoplamiento entre ambas comunidades, aunque esta relación puede ser variable debido a diversos factores tanto biológicos como ambientales (Murrell, 2003).

# CONCLUSIONES

- Se definieron las características hidrológicas para cada laguna, agrupando las estaciones de acuerdo a su similitud y se determinaron variaciones temporales principalmente en la temperatura y concentración de nutrientes. Las variaciones espaciales se relacionaron al gradiente de salinidad.
- La citometría de flujo resultó una metodología complementaria a la de microscopía de epifluorescencia, aportando características diferentes a las obtenidas por microscopía, logrando identifica al menos 2 fracciones de bacterioplancton una con alto y otra con bajo contenido de DNA.
- La abundancia total y de las diferentes fracciones del bacterioplancton mostraron diferencias temporales relacionadas a los pulsos de nutrientes y el efecto de depredación, mientras que espacialmente la salinidad fue un factor que afectó su distribución provocando una mayor abundancia en la zona con características dulceacuícolas en ambos sistemas.
- Se determinó una relación positiva entre la comunidad del bacterioplancton y la del fitoplancton sugiriendo un posible acoplamiento entre ambas comunidades.

### Perspectivas a futuro

A pesar de que en este trabajo se encontró que la variabilidad en la salinidad y la disponibilidad de amonio resultaron en cambios en la abundancia del bacterioplancton, se sugiere la medición de otras variables que complementarían la información a cerca de la dinámica temporal y espacial de la comunidad del bacterioplancton.

Investigaciones experimentales sobre el efecto de la salinidad en la comunidad podrían revelar la importancia sobre la selección y/o activación de ciertas especies de bacterias, de tal manera que la variación en la abundancia del bacterioplancton reflejaría la presencia de especies con mayor o menor tolerancia a la variabilidad en este parámetro.

El conocimiento de la diversidad bacteriana presente en la columna de agua sería otro elemento importante a investigar ya que mostraría la capacidad de respuesta a diversas fuentes de sustrato y por lo tanto el papel de la comunidad en los ciclos biogeoquímicos.

Así mismo el estudio de la comunidad del virioplancton y protozoarios complementarían el concepto de las tramas tróficas, debido a que el efecto de "top down" sería incluido dentro de los factores que regulan la dinámica del bacterioplancton.

La evaluación del tiempo de residencia es un aspecto importante para la interpretación de los resultados, ya que mientras que grandes tiempos de residencia se registran durante la temporada de secas, durante la temporada de lluvias y nortes la precipitación y descarga de ríos provocan cambios en la salinidad y concentración de nutrientes lo cual genera cambios en la diversidad y metabolismo de las comunidades.

Es necesario el monitoreo continuo de las lagunas costeras con el fin de mantener la actualización de las condiciones de las lagunas costeras del país, ya que estos datos representan la base para el establecimiento de estrategias de uso, manejo y protección de tales sistemas.

# BIBLIOGRAFÍA

- Agawin, N. S. R., C. M. Duarte, S. Agustí y D. Vaque. 2004. Effect of N:P ratios on response of Mediterranean picophytoplankton to experimental nutrients inputs. *Aquatic Microbial Ecology.* 34: 57 - 67.
- Alongi, D. M. 1998. Coastal Ecosystem Processes. CRC PRESS. Estados Unidos. 419p.
- 3. Álvarez-Góngora, C. y J. Herrera-Silveira, 2006. Variations of phytoplankton community structure related to water quality trends in a tropical karstic coastal zone marine. *Pollution bulletin* 52: 48 60.
- Almeida, M.A., M.A. Cunha y F. Alcantara. 2001a. Physiological responses of marine and brackish water bacterial assemblages in a tidal estuary (Ria de Aveiro, Portugal). *Aquatic Microbial Ecology*. 25: 113 - 125.
- 5. Almeida, M. A., M. A. Cunha y F. Alcantara. 2001b. Factors influencing bacterial production in shallow estuarine systems. *Microbial Ecology*, 42(3): 416 426.
- 6. Almeida, M.A., M.A. Cunha y J.M. Dias. 2007. Bacterial productivity distribution during a rainy year in an estuarine system *Microbial Ecology*. 53(2): 208 220.
- Andrade L, A. M. Gonzalez, F. V. Araujo y R. Paranhos. 2003. Flow cytometry assessment of bacterioplankton in tropical marine environments. *Journal of Microbiological Methods*. 55(3): 841 – 850.
- Andreatta S, MM, Wallinger, T. Posch y R. Psenner. 2001. Detection of subgroups from flow cytometry measurements of heterotrophic bacterioplankton by image analysis. *Cytometry*. 44: 218 – 225.
- Aranda-Cirerol N., J.A. Herrera-Silveira y F.A. Comín. 2006. Nutrient water quality in a tropical coastal zone with groundwater discharge, Northwest Yucatan, Mexico. *Estuarine Coastal and Shelf Science*. 68(3-4): 445 - 454.
- 10. Azam, F., T. Fenchel, J.G. Field, J.S. Gray, L. Meyer-Reil y F. Thingstad. 1983. The ecological role of water-column microbes in the sea. Marine Ecology Progress Series. 10: 257 - 263.
- 11. Azam, F. 1998. Microbial Control of Oceanic Carbon Flux: The Plot Thickens. Science. 280: 694 - 696.
- Bacelar-Nicolau, P., L.B. Nicolau, J.C. Marques, F. Morgado, R. Pastorinho y U.M.
   Azeiteiro. 2003. Bacterioplankton dynamics in the Mondego estuary (Portugal).
   Acta Oecologica. 24: 67 75.
- 13.Barrera-Alba, J.J., S.M. Flores, G.A. Oliveira y F.M. Prado. 2008. Bacterial and phytoplankton dynamics in a sub-tropical estuary. *Hydrobiologia*. 598: 229 246.
- 14. Barrera-Alba, J.J., S.M. Flores, G.A. Oliveira y F.M. Prado. 2009. Influence of allochthonous organic matter on bacterioplankton biomass and activity in a eutrophic, sub-tropical estuary. *Estuarine Coastal and Shelf Science*. 82: 84 94.
- 15. Bernard, L.C., P. Courties, P.Servais, M. Troussellier, M. Petit y P. Lebaron. 2000. Relationships between bacterial cell-size, productivity and genetic in aquatic environments using cell sorting and flow cytometry. *Microbial Ecology*. 40: 148 -158.
- 16.Biggs, R.B. y L.E. Cronning. 1981. Special characteristics of estuaries. En: Estuaries and nutrients. Neilson, B. y L.E. Croning (Eds). Humana Press. Estados Unidos.

- 17. Bird, D.F. y J. Kalff. 1984. Empirical relationships between bacterial abundance and chlorophyll concentration in fresh and marine waters. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science.* 41: 1015 - 1023.
- 18. Bird, D.F y J. Kalff, 1993. Protozoan grazing and the size-activity structure in limnetic bacterial communities. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science*. 50: 370 - 380.
- 19. Bjornsen, P.K. 1989. Automatic determination of bacterioplankton biomass by image analysis. *Applied and Environmental Microbiology*. 51: 1199-1204.
- 20. Blackfold, J.C. y F.J. Gilbert. 2007. pH variability and CO<sub>2</sub> induced acidification in the North Sea. *Journal of Marine Systems.* 64: 229 241.
- 21. Bouvier, T., P.A. del Giorgio y J.M. Gasol. 2007. A comparative study of the cytometric characteristics of high and low nucleic-acid bacterioplancton cells from different aquatic ecosystems. *Environmental Microbiology*. 9(8): 2050 2066.
- 22. Bratbak, G. y T.F. Thingstad. 1985. Phytoplankton-bacteria interactions: an apparent paradox? Analysis of a model system with both competition and commensalism. *Marine Ecology Progress Series.* 25: 23 30.
- 23. Brett, M.T., F.S.Lubnow, M. Villar-Argaiz, A. Müller-Solger y C.R. Goldman. 1999.
  Nutrient control of bacterioplankton and phytoplankton dynamics. *Aquatic Ecology.*33: 135 145.
- 24. Calvo-Díaz, A. y X.A.G. Morán. 2006. Seasonal dynamics of picoplankton in shelf Waters of the southern Bay of Biscay. *Aquatic Microbial Ecology.* 42: 159 – 174.
- 25. Capblancq, J. 1990. Nutrient dynamics and pelagic food web interactions in oligotrophic and eutrophic environments: an overview. *Hydrobiologia*. 207: 1 14.

- 26. Carriker, M.R. 1967. Ecology of estuarine benthic invertebrates: a perspective. In *Estuaries* (Lauff, G.H., ed.). AAAS, Washington D.C., pp. 443 487.
- 27. Castañeda. L. O. y F. E. Contreras. 2001. Serie bibliográfica comentada sobre ecosistemas costeros mexicanos. UAMI-CEDELM. CD-ROM. México.
- 28. Cervantes-Duarte, R.F., F. Aguirre-Bahena, A. Reyes-Salinas y J.E. Valdez-Holguín. 2001. Caracterización hidrológica de una laguna costera de Baja California Sur, México. *Oceánides.* 16(2): 93 – 105.
- 29. Cho, B.C. y F. Azam. 1990. Biogeochemical significance of bacterial biomass in the ocean's euphotic zone. *Marine Ecology Progress Series.* 63: 253 259.
- 30. Chin-Leo, G. Y R. Benner. 1992. Enhanced bacterioplankton production and respiration at intermediate salinities in the Mississippi River plume. *Marine Ecology Progress Series.* 87: 87 103.
- 31.Coelho, S., S. Gamito y A. Pérez-Ruzafa. 2007. Trophic state of Foz de Almargem coastal lagoon (Algarve, South Portugal) based on the water quality and the phytoplankton community. *Estuarine coastal and Shelf Science*. 71(1-2): 218 231.
- 32. Cole J.J., S. Findlay y M.L. Pace. 1988. Bacterial production in fresh and saltwater ecosystems: a cross-system overview. *Marine Ecology Progress Series*. 43: 1 10.
- 33. Conley, D. J. 2000. Biogeochemical nutrient cycles and nutrient management strategies. *Hydrobiología*, 410: 87 96.
- 34. Contreras, E.F. 1993. Ecosistemas Costeros Mexicanos. CONABIO-UAMI. México. 415p.

- 35. Contreras, E.F. 1994. La clorofila *a*, como base para un índice trófico en lagunas costeras. Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología. Universidad Nacional Autónoma de México. 21(1-2): 55 66.
- 36. Contreras, E.F., O. Castañeda, F. Gutiérrez y R. Torres. 1996. Nutrientes en 39 lagunas costeras mexicanas. *Revista de Biología Tropical*. 44(2): 421 – 429.
- 37. Contreras, E.F. y B.G. Warner. 2004. Ecosystem characteristics and management considerations for coastal wetlands in México. *Hydrobiologia*. 511: 233 245.
- 38. Contreras-Espinosa, F., N. E. Rivera-Guzmán y R. Segura-Aguilar. 2005. Nutrientes y productividad primaria fitoplanctónica en una laguna costera tropical intermitente (La Mancha, Ver.) del Golfo de México. *Hidrobiológica* 15(3): 299 -310.
- Cotner, J. y B.A. Biddanda. 2002. Small players, large role: Microbial influence on biogeochemical processes in pelagic aquatic ecosystems. *Ecosystems.* 5: 105 – 121.
- 40. Cunha, M.A., J.M. Dias, M.A. Almeida, J.F. Lopez y F. Alcantara. 2003. Fluxes of bacterioplancton between a tidal estuary and the sea: returning to the "Outwelling Hypotesis". *Aquatic Ecology*. 37: 45 54.
- 41. Daley, R.J. y J.E. Hobbie. 1975. Direct counts of aquatic bacteria by a modified epifluorescence technique. *Limnology and Oceanography.* 20: 875 882.
- 42. del Giorgio, P.A., y G. Scarborough. 1995. Increase in the proportion of metabolically active bacteria along gradients of enrichment in freshwater and marine plankton: implications for estimates of bacterial growth and production rates. *Journal of Plankton Research*. 17: 1905 1924.

- 43. del Giorgio, P.A., D.F. Bird, Y.T. Prairie y D. Planas. 1996. Flow cytometric determination of bacterial abundance in lake plankton with the green nucleic acid stain SYTO 13. *Limnology and Oceanography*. 41: 783 789.
- 44. del Giorgio, P.A., Y.T. Prairie y D.F. Bird. 1997. Coupling between rates of bacterial production and the abundance of metabolically active bacteria in lakes, enumerated using CTC reduction and flow cytometry. *Microbial Ecology*. 34: 144 154.
- 45. Duarte, C.M., S. Agustí, J. M. Gasol, D. Vaqué y E. Vazquez-Dominguez. 2000. Effect of nutrient supply on the biomass structure of planktonic communities: an experimental test on a Mediterranean coastal community. *Marine Ecology Progress Series.* 206: 87 - 95.
- 46. Dufour, P., J.P. Torreton y M. Colon. 1990. Advantages of distinguishing the active fraction in bacterioplankton assemblages: some examples. *Hydrobiologia*. 207: 295 301.
- 47. Eyre, B. D. y C. Twigg. 1997. Nutrient behaviour during post-flood recovery of the Richmond River Estuary northern NSW, Australia. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 44: 311 326.
- 48. Eyre, R. 1998. Transport, retention and transformation of material in Australian Estuaries. *Estuaries*. 21(4A): 540 551.
- 49. Eyre, R. y P. Balls. 1999. A comparative study of nutrient behavior along the salinity gradient of tropical and temperate estuaries. *Estuaries*. 22: 313 326.

- 50. Eyre B.D. 2000. Regional evaluation of nutrient transformation and phytoplankton growth in nine river-dominated sub-tropical east Australian estuaries. *Marine Ecology Progress Series.* 205: 61 83.
- 51. Fenchel, T. 1988. Marine Plankton Food Chains. *Annual Review of Ecology and Systematics.* 19: 19 38.
- 52. Fonseca, A.C., J. Cortés y P. Zamora. 2007. Monitoreo del manglar de Gandoca, Costa Rica (sitio CARICOMP). *Revista de Biología Tropical*. 55(1): 23 - 31.
- 53. Fuhrman J.A y F. Azam. 1980. Bacterioplankton Secondary Production Estimates for Coastal Waters of British Columbia, Antarctica and California. *Applied and Environmental Microbiology*. 39(6): 1085 – 1095.
- 54. Fuhrman, J.A. 1992. Bacterioplankton roles in cycling of organic matter: the microbial food web. In P.G. Falkowski y A.D. Woodhead (ed). Primary Productivity and Biogeochemical Cycles in the Sea. Plenum Press, New York. pp. 361-383.
- 55. Furtado, A.L.S., P. Casper y F.A. Esteves. 2001. Bacterioplankton abundance, biomass and production in a Brazilian coastal lagoon and in two German lakes. *Anais Academia Brasileira de Ciencias* 73(1): 39 49.
- 56. García, E. 2004. *Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen*. 5ª Ed. Instituto de Geografía - UNAM. 90p.
- 57. García-Cubas, A., M.Reguero y R. Elizarrarás. 1992. Moluscos del sistema lagunar Chica-Grande, Veracruz, México: sistemática y ecología. *Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología.*

- 58. Gasol, J.M., P.A. del Giorgio, R.Massana y C.M. Duarte. 1995. Active versus inactive bacteria: size dependence in a costal marine plankton community. *Marine Ecology Progress Series.* 128: 91 - 97.
- 59. Gasol, J.M., U. Li, F. Peters, J.A. Fuhrman y A. Hagstrom. 1999. Significance of size and nucleic acid content heteroheneity as measured by flow cytometry in natural planktonic bacteria. *Applied and Environmental Microbiology.* 65(10): 4475 - 4483.
- 60. Gasol J.M y C.M. Duarte. 2000. Comparative analyses in aquatic microbial ecology: How far do they go. FEMS Microbial Ecology. 31: 99 106.
- 61.Gasol, J. M. y P. A. del Giorgio. 2000. The flow cytometric determination of bacterioplankton abundance and community structure. *Scientia Marina*. 64: 197 – 224.
- 62. Gauch, H.G. 1982. *Multivariate analysis in Community Ecology.* Cambridge University Press. Estados Unidos. 298p.
- 63. Gibson, J.R. y R.G. Najjar. 2000. The response the Chesapeake Bay salinity to climate-induced changes in streamflow. *Limnology and Oceanography.* 45(8): 1764 1772.
- 64. Gobler, C. J., N. J. Buck, M. E. Sieracki y S. A. Sañudo-Wilhelmy. 2006. Nitrogen and silicon limitation of phytoplankton communities across an urban estuary: The East River-Long Island Sound system. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 68: 127 - 138.
- 65. Gutiérrez-Mendieta, F.J. 2005. Criterios para establecer estaciones de monitoreo y análisis de parámetros biológicos (sedimentos, bentos, bacterias y productividad

primaria). 162-167pp. En: Arredondo-Figueroa, J.L., G. Díaz-Zabaleta y G.T. Ponce-Palafox (Eds.) *Limnología de presas mexicanas: aspectos teóricos y prácticos.* UAM y AGT Editor, S. A.; México.

- 66. Hecky R.E. y P. Kilham. 1988. Nutrient limitation of phytoplankton in freshwater y marine environments: a review of recent evidence on the effect of enrichment. *Limnology and Oceanography.* 33: 796 – 822.
- 67. Herbert, R.A. 1999. Nitrogen cycling in coastal marine ecosystems. *FEMS Microbiology Reviews.* 23: 563 - 590.
- 68. Herrera-Silveira, J. A., 1994. Spatial heterogeneity and seasonal patterns in a tropical coastal lagoon. *Journal of Coastal Research.* 10(3): 738 746.
- 69. Herrera-Silveira, J.A. 2006. Lagunas costeras de Yucatán (SE, México): Investigación, Diagnóstico y Manejo. *Ecotropicos*. 19(2): 94 - 108.
- 70. Hobbie, J.E., R.J. Daley y S. Jasper. 1977. Use of Nuclepore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy. *Applied and Environmental Microbiology*.
  33: 1225 1228.
- 71. Horrigan, S.G., A. Hagström, I. Koike y F. Azam. 1988. Inorganic nitrogen utilization by assemblages of marine bacteria in seawater culture. *Marine Ecology Progress Series*. 50: 147 150.
- 72. Jellet, J.F., W.K.W. Li, P.M. Dichie, A. Boraie y P.E. Kepkay. 1996. Metabolic activity of bacterioplankton communities assessed by flow cytometry and single carbon substrate utilization. *Marine Ecology Progress Series.* 136: 213 225.

- 73. Jochem, F.J. 2001. Morphology and ADN content of bacterioplankton in the northern Gulf of Mexico: analysis by epifluorescence microscopy and flow cytometry. *Aquatic Microbial ecology.* 25: 179 194.
- 74. Jochem, F.J., P.J. Lavrentyev y M.R. First. 2004. Growth and grazing rates of bacteria with different apparent DNA content in the Gulf of Mexico. *Marine Biology.* 145: 1213 1225.
- 75. Joint, I., P. Henriksen, G.A. Fonnes, D.Bourne, T.F. Thingstad y B. Riemann.
  2002. Competition for inorganic nutrients between phytoplankton and bacterioplankton in nutrient manipulated mesocosms. *Aquatic Microbial Ecology.*29: 145 159.
- 76. Jürgens, K. y H. Güde. 1994. The potencial importance of grazing-resistant bacteria in planktonic systems: a review. *Marine Ecology Progress Series*. 112: 169 - 188.
- 77. Knoppers, B., B. Kjerfve y J.P. Carmouze. 1991. Trophic state and water turn-over time in six chooked coastal lagoons in Brazil. *Biogeochemitry*. 14: 149 166.
- 78. Kroer, N., N.O. Jorgensen y R.B. Coffin. 1994. Utilization of dissolved nitrogen by heterotrophic bacterioplankton: a comparison of three ecosystems. *Applied and Enviromental Microbiology*. 60: 4116 - 4123.
- 79. Landry, M.R. 2001. Microbial loops. Pages 1763-1770 In: Steele, J.H., S.K. Thorpe y K.K. Turekian (Eds.) *Encyclopedia of Ocean Science*, Academic Press, London.
- 80. Lankford, R. R. 1977. Coastal lagoon of Mexico. Their origin and classification. En: Wiley, M. (ed). *Estuarine proceses*. Academic Press Inc. 182 - 215.

- 81.Laque, T., V.F. Farjalla, A.S. Rosado y F.A. Esteves. 2010. Spatiotemporal variation of bacterial community composition and possible controlling factors in tropical shallow lagoons. *Microbial Ecology*. 59: 819 829.
- 82. La Ferla, R., A. L. Giudice y G. Maimone. 2003. Morphology and LPS content for the estimation of marine bacterioplankton biomass in the Ionian Sea. *Scientia Marina*. 68(1): 23 - 32.
- 83. Lebaron, P., P. Servais, H. Agogué, C. Courties y F. Joux. 2001. Does the high nucleic acid content of individual bacterial cells allow us to discriminate between active cells and inactive cells in aquatic systems? *Applied and Environmental Microbiology.* 67(4): 1775 - 1782.
- Bervais, P., P. Servais, A.C. Baudoux, M. Bourrain, C. Courties y N. Parthuisot.
   2002. Variations in bacterial-specific activity with cell size and nucleic acid content assessed by flow cytometry. *Aquatic Microbial Ecology.* 28: 131 140.
- 85. Lebo, M.E., J.H. Sharp y L.A. Cifuentes. 1994. Contribution of river phosphate variations to apparent reactivity estimated from phosphate salinity diagrams. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 39: 583 594.
- 86. Legaria M., L. 2003. *Dinámica del fitoplancton y su relación con variables físico-químicas en la laguna costera La Mancha, Ver., Méx.* Tesis de Licenciatura. Universidad Veracruzana, Fac. de Biología, Xalapa, Veracruz. 132 p.
- 87. Legendre, L. y Rassoulzadegan, F. 1995. Plankton and nutrients dynamics in marine waters. *Ophelia.* 41: 153 172.

- B8.Legendre L., C. Courties y M. Troussellier. 2001. Flow Cytometry in Oceanography 1989-1999: Environmental challenges and research trends. *Cytometry.* 44(3): 164 -172.
- 89.Li, W.K.W., P.M. Dickie, W.G. Harrison y B.D. Irwin. 1993. Biomass and production of bacteria and phytoplankton during the spring bloom in the western North Atlantic Ocean. *Deep Sea Research.* 40: 307 327.
- 90. Li, W., J. Jellett, and P. Dickie. 1995. DNA distributions in planktonic bacteria stained with TOTO or TO-PRO. *Limnology and Oceanography.* 40: 1485 1495.
- 91.Li, W.K.W., E.J.H. Head y W.G. Harrison. 2004. Macroecological limits of heterotrophic bacterial abundance in the ocean. *Deep Sea Research*. 51: 1529 1540.
- 92. Loeder, T.C. y R.P. Reichard. 1981. The dynamics of conservative mixing in estuarios. *Estuaries*. 4: 64 69.
- 93. López-Flores, R., D. Boix, A. Badosa, S. Brucet y X.D. Quintana. 2009. Environmental factors affecting bacterioplancton and phytoplankton dynamics in confined Mediterranean SALT marshes (NE Spain). *Journal of experimental Marine Biology and Ecology.* 369: 118 – 126.
- 94. Marie, D., N. Simon y D.Vaulot. 2005. Phytoplankton Cell Counting by Flow Cytometry. 1 15pp. Andersen, R. (Ed.) *Algal Culturing Techniques.* Elsevier.
- 95. Matus P., J. L. A. Cárdenas B. y M. T. Barreiro-Güemes. 1992. Influencia de los factores climáticos sobre las variaciones espacio-temporales de algunos parámetros hidrológicos en la laguna de La Mancha, Ver. Res. IX Congr. Nal. Oceanogr.

- 96. Medina–Gomez, I. y J. A. Herrera–Silveira. 2003. Spatial characterization of water quality in a karstic coastal lagoon without anthropogenic disturbance: a multivariate approach. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 58: 455 465.
- 97. Meire, P., T. Ysebaert, S. Van Damme, E. Van den Bergh., T. Maris y E. Struyf.
  2005. The Scheldt estuary: a description of a changing ecosystem. *Hydrobiologia*.
  540: 1 11.
- 98. Millero, F.J. 1996. *Chemical Oceanography.* CRC Press. Marine Science Series.469p.
- 99. 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 Doctorado. Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente Instituto de Oceanología Departamento de Biología Marina. La Habana, Cuba. 190p.
- 100. Morán, G.X.A., A. Bode, L.A. Suárez y E. Nogueira. 2007. Assesing the relevante of nucleic acid content as an indicador of marine bacterial activity. *Aquatic Microbial Ecology.* 46: 141 152.
- 101. Morán, G.X.A. y A. Calvo-Díaz. 2009. Single-cell vs. bulk activity properties of coastal bacterioplankton over an annual cycle in a temperate ecosystem. *FEMS Microbiology Ecology* 67: 43 – 56.
- 102. Morán, G.X.A., A. Calvo-Díaz y H. W. Ducklow. 2010. Total and phytoplankton mediated bottom-up control of bacterioplancton change with temperature in NE Atlantic shelf waters. *Aquatic Microbial Ecology*. 58: 229 – 239.

- 103. Moreira-Turcq, P., J.M. Martin y A. Fleury. 1993. Chemical and biological characterization of particles by flow cytometry in the Krka estuary, Croatia. *Marine Chemistry.* 43: 115 126.
- 104. Morris, D.P. y W.M. Lewis. 1992. Nutrient limitation of bacterioplankton growth in Lake Dillon, Colorado. *Limnology and Oceanography.* 37(6): 1179 1192.
- 105. Murrell, M.C. 2003. Bacterioplankton dynamics in a subtropical estuary: evidence for substrate limitation. *Aquatic Microbial Ecology.* 32: 239 250.
- 106. Nielsen, T.G. y K. Richardson. 1989. Food chain structure of the North Sea plankton communities: seasonal variations of the role of the microbial loop. *Marine Ecology Progress Series.* 56: 75 87.
- 107. Olson, R.J., E.R. Zettler y O.K. Anderson. 1989. Discrimination of eukaryotic phytoplankton cell types from light scatter and autofluorescence properties measured by flow cytometry. *Cytometry*. 10: 636 – 643.
- Ortiz-Pulido, R., H. Gómez de Silva, F. González García y A. Alvarez. 1995.
   Avifauna del centro de investigaciones costeras La Mancha, Veracruz, México.
   Acta Zoológica Mexicana. 66: 87 118.
- 109. Pace, M.L. y J.J. Cole. 1994. Primary and bacterial production in lakes: are they coupled over depth? *Journal of Plankton Research.* 16: 661 672.
- 110. Pinckney, J.L., H.W. Paerl, P. Tester y T.L. Richardson. 2001. The role of nutrient loading and eutrophication in estuarine ecology. *Environmental Health Perspectives*. 109(5): 699 706.
- 111. Porter, K.G. y Y.S. Feig. 1980. The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. *Limnology and Oceanography*. 25(5): 943 948.

- 112. Redfield, A.C. 1958. The biological control of chemical factors in the environment. *Am.Sci.* 46: 205 222.
- 113. Rivera-Guzmán, N. E. 2004. Evaluación espacio-temporal de la productividad primaria en la columna de agua en la laguna de La Mancha, Ver. Informe final de Servicio Social. UAM-I. 44 p.
- 114. Robarts, R. D. y R.J. Wicks. 1990. Heterotrophic bacterial production and its dependence on autotrophic production in a hypertrophic African reservoir. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic* Science. 47: 1027 - 1037.
- 115. Robertson, B.R. y D.K. Button. 1989. Determination of Bacterial Biomass from Flow Cytometric Measurements of Forward Light Scatter Intensity. Current Protocols in Cytometry. Alaska.
- Salgado-Ugarte, I.H. 1992. El análisis exploratorio de datos biológicos.
   Fundamentos y Aplicaciones. Marc Editores. México.
- 117. Sánchez-Nieves, J. 2007. Potencial biotecnológico de microorganismos en ecosistemas naturales y agroecosistemas. 1a ed. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de .
- 118. Schultz G. E. Jr. y H.Ducklow. 2000. Changes in bacterioplancton metabolic capabilities along a salinity gradient in the Cork River estuary, Virginia, USA. Aquatic Microbial Ecology. 22: 163 - 174.
- 119. SCOR-UNESCO. 1980. Determination of chlorophyll in seawater. UNESCO. Technical papers in marine science. France.

- Servais, P., C. Courties, P. Lebaron y M. Troussellier. 1999. Coupling bacterial activity measurements with cell sorting by flow cytometry. *Microbial Ecology*. 38: 180 - 189.
- 121. Simon, M., B.C. Cho y F. Azam. 1992. Significance of bacterial biomass in lakes and the ocean: comparison to phytoplankton biomass and biogeochemical implications. *Marine Ecology Progress Series*. 86: 103 110.
- 122. Sherr. E.B. y B.F. Sherr. 1991. Planktonic microbes: Tiny cells at the base of the ocean's food webs. *Trends in Ecology and Evolution*. 6(2): 50 53.
- 123. Sherr, E.B. y B.F. Sherr. 2002. Significant of predation by protists in aquatic microbial food webs. Antonie Van Leewenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology. 81: 293 – 308.
- 124. Shiah, F.K. y H.W. Ducklow. 1994. Temperature and substrate regulation of bacterial abundance, production and specific growth rate in Chesapeake Bay, USA. *Marine Ecology Progress Series*. 103: 297 - 308.
- 125. Smith, E.M. y W.M. Kemp. 2003. Planktonic and bacterial respiration along an estuarine gradient: responses to carbon and nutrient enrichment. *Aquatic Microbial Ecology*. 30: 251 - 261.
- 126. Stevenson L.H. 1978. A case for bacterial dormancy in aquatic systems. *Microbial Ecology.* 4: 127–133.
- 127. Strickland, J. Y T.R. Parsons. 1972. *A practical handbook of seawater analysis.* Fisheries Research Board of Canada.
- 128. Supura, J., K. Auca, H. Helminen, A.Lagus, J. Suomela y K. Sivonen. 2005. Effect of nutrient enrichment on bacterioplankton biomass and community

composition in mesocosms in the Archipiélago Sea, northern Baltic. *Journal of Plankton Research.* 27(12): 1261 - 1272.

- 129. Soto-Castor, R., C. Bulit, A. Esquivel-Herrera y A. Pérez-Rojas. 2002. Bacterial abundance and hidrological variation in a tropical lagoon during the rainy season. *Oceánides.* 17(1): 13 - 29.
- 130. Tapia-González, F.U., J.A. Herrera-Silveira y M.L. Aguirre-Macedo. 2008. Water quality variability and eutrophic trends in karstic tropical coastal lagoons of the Yucatán Peninsula. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 76: 418 – 430.
- Taylor, D., S. Nixon, S. Granger y B. Buckley. 1995. Nutrient limitation and eutrophication of coastal lagoons. *Marine Ecology Progress Series*. 127: 235 -244.
- 132. Thottathil, S.D., K.K. Balachandran, G.V.M. Gupta<sup>b</sup>, N.V. Madhu y S. Nair. 2008. Influence of allochthonous input on autotrophic–heterotrophic switch-over in shallow waters of a tropical estuary (Cochin Estuary), India. Estuarine, Coastal and Shelf Science. 78(3): 551 – 562.
- 133. Tietjen, T.E. y R.G. Wetzel. 2003. Seasonal and spatial distribution of bacterial biomass and the percentage of viable cells in a reservoir of Alabama. *Journal of Plankton Research.* 25(12): 1521 - 1534.
- 134. Trousselier, M., C. Courties, P. Learon y P. Servais. 1999. Flow cytometric discrimination of bacterial population in seawater based on SYTO 13 staining of nucleic acids. *FEMS Microbiology Ecology*. 29: 319 - 330.
- 135. Uncles, R.J., N.J. Bloomer, P.E. Frickers, M.L. Griffiths, C. Harris, R.J.M. Howland, A.W. Morris, D.H. Plumer y A.D. Tappin. 2000. Seasonal variability of

salinity, temperature, turbidity and suspended chlorophyll in the Tweed Estuary. *The Science of the Total Environment.* 251/252: 115 - 124.

- 136. Utrera-López, M.E. y P. Moreno-Casasola. 2008. Mangrove litter dynamics in La Mancha lagoon, Veracruz, Mexico. Wetlands Ecology and Managements. 16: 11 22.
- 137. Varona-Cordero, F. y F.J. Gutiérrez-Mendieta. 2003. Estudio multivariado de la fluctuación espacio-temporal de la comunidad fitoplanctónica en dos lagunas costeras del estado de Chiapas. *Hidrobiológica*. 13(3): 177 194.
- 138. Varona-Cordero, F. 2004. Estudio comparativo de los cambios en la composición, distribución y abundancia de la comunidad fitoplanctonica de dos lagunas costeras (Carretas-Pereyra y Chantuto-Panzacola) y su relación con las variaciones de los parámetros físicos y químicos. Tesis de Maestría. UAM-I. 127p.
- 139. Veldhuis, M.J.W. y G.W. Kray. 2000. Application of flow cytometry in marine phytoplankton research: current applications and future perspectives. *Scientia Marina*. 64(2): 121 - 134.
- 140. Villalobos-Figueroa. A, M. E. Zamora, R. De la Parra V., O. Cacho R., V. Galvan P. y M. A. Izaguirre P., 1982. Estudio hidrobiológico en la laguna de La Mancha, Mpio. de Actopan, Ver. 1979-1980. Inst. Nal. de Investigaciones sobre Rec. Bióticos. 15: 51p.
- 141. Wallberg, P., P. R. Jonsson y R. Johnstone. 1999. Abundance, biomass and growth rates of pelagic microorganisms in a tropical coastal ecosystem. Aquatic Microbial Ecology. 18: 175 - 185.

- 142. Wheeler, P.A. y D.L. Kirchman. 1986. Utilization of inorganic and organic nitrogen by bacteria in marine systems. Limnology and Oceanography. 31(5): 998 1009.
- 143. Wright, R. T., Coffin, R. B. 1983. Planktonic bacteria in estuaries and coastal waters of northern Massachusetts: spatial and temporal distribution. Marine Ecology Progress Series. 11: 205 – 216.
- 144. Zar, J.H. 1997. *Biostatistical Analysis.* Prentice-Hall. New Jersey.
- 145. Zehr, J.P. y B.B. Ward. 2002. Nitrogen cycling in the ocean: new perspectives on processes and paradigms. *Applied and Environmental Microbiology*. 68: 1015 -1024.
- 146. Zhou W, T. Li, C.Cai, L. Huang, H. Wang, J. Xu, J. Dong y S. Zhang. 2009. Spatial and temporal dynamics of phytoplankton and bacterioplancton biomass in Sanya Bay, northern South China Sea. *Journal of Environmental Sciences*. 21: 595 – 603.

#### Analysis of Variance Report

Response **Profundidad** 

## **Tests of Assumptions Section**

·	Test	Prob	Decision
Assumption	Value	Level	(0.05)
Skewness Normality of Residuals	0.5162	0.605684	Accept
Kurtosis Normality of Residuals	-0.2141	0.830503	Accept
Omnibus Normality of Residuals	0.3123	0.855419	Accept
Modified-Levene Equal-Variance Test	0.1855	0.831725	Accept

#### **Box Plot Section**



#### **Expected Mean Squares Section**

Source		Term	Denominator	Expected
Term	DF	Fixed?	Term	Mean Square
A: Temporadax	2	Yes	S(A)	S+sA
S(A)	28	No		S(A)
Note: Expected Mean S	quares are for	the balanced	coll-froquency case	

Note: Expected Mean Squares are for the balanced cell-frequency case.

#### Analysis of Variance Table

Source		Sum of	Mean		Prob	Power
Term	DF	Squares	Square	F-Ratio	Level	(Alpha=0.05)
A: Temporadax	2	234.1355	117.0677	0.06	0.940119	0.058458
S(A)	28	52967.13	1891.683			
Total (Adjusted)	30	53201.27				
Total	31					

\* Term significant at alpha = 0.05

#### Analysis of Variance Report

#### Response **Profundidad**

# Kruskal-Wallis One-Way ANOVA on Ranks Hypotheses

Ho: All medians are equal.

Ha: At least two medians are different.

#### **Test Results**

Method	DF	Chi-Square (H)	Prob Level	Decision(0.05)
Not Corrected for Ties	2	0.1615243	0.922413	Accept Ho
Corrected for Ties	2	0.1626062	0.921914	Accept Ho
Number Sets of Ties	9			
Multiplicity Factor	198			

#### **Group Detail**

		Sum of	Mean		
Group	Count	Ranks	Rank	Z-Value	Median
1	16	262.00	16.38	0.2372	90
2	8	130.50	16.31	0.1129	85
3	7	103.50	14.79	-0.4016	80

#### Response Secchi

#### **Tests of Assumptions Section**

Test	Prob	Decision
Value	Level	(0.05)
1.5563	0.119631	Accept
0.9180	0.358636	Accept
3.2648	0.195460	Accept
0.4873	0.619404	Accept
	<b>Test</b> <b>Value</b> 1.5563 0.9180 3.2648 0.4873	TestProbValueLevel1.55630.1196310.91800.3586363.26480.1954600.48730.619404

#### **Box Plot Section**



Expected Mean Squares	s Section	Torm	Donominator	Expected
Torm	DE	Fixed2	Denominator	Expected Moan Square
		I INCU :	I CIIII	Mean Square
A: Temporadax	2	Yes	S(A)	S+sA
S(A)	28	No		S(A)
Note: Expected Mean Sq	uares are for	the balanced	cell-frequency case.	•

#### Analysis of Variance Table

Source		Sum of	Mean		Prob	Power
Term	DF	Squares	Square	F-Ratio	Level	(Alpha=0.05)
A: Temporadax	2	2471.06	1235.53	2.49	0.101162	0.457853
S(A)	28	13898.29	496.3677			
Total (Adjusted)	30	16369.35				
Total	31					
* Term significant at	alpha = 0	.05				

# Kruskal-Wallis One-Way ANOVA on Ranks Hypotheses

Ho: All medians are equal. Ha: At least two medians are different.

#### Test Results

restricsuits				Duri	
Method Not Corrected for Ties Corrected for Ties		<b>DF</b> 2 2	<b>Chi-Square</b> (H) 5.078863 5.169538	Prob Level 0.078911 0.075413	Decision(0.05) Accept Ho Accept Ho
Number Sets of Ties Multiplicity Factor		7 522			
Group Detail					
		Sum of	Mean		
Group	Count	Ranks	Rank	Z-Value	Median
1	16	292.00	18.25	1.4230	70
2	8	139.50	17.44	0.5192	60
3	7	64.50	9.21	-2.2442	40

#### Analysis of Variance Report

### Response Temperatura

#### **Tests of Assumptions Section**

	Test	Prob	Decision
Assumption	Value	Level	(0.05)
Skewness Normality of Residuals	-1.8002	0.071833	Accept
Kurtosis Normality of Residuals	0.2005	0.841104	Accept
Omnibus Normality of Residuals	3.2808	0.193900	Accept
Modified-Levene Equal-Variance Test	1.6095	0.219285	Accept

#### **Box Plot Section**



#### **Expected Mean Squares Section**

Source		Term	Denominator	Expected
Term	DF	Fixed?	Term	Mean Square
A: Temporadax	2	Yes	S(A)	S+sA
S(A)	26	No		S(A)
Note: Expected Mean Sc	nuares are for	the balanced	coll-froquency case	

Note: Expected Mean Squares are for the balanced cell-frequency case.

#### Analysis of Variance Table

Source		Sum of	Mean		Prob	Power
Term	DF	Squares	Square	F-Ratio	Level	(Alpha=0.05)
A: Temporadax	2	34.93228	17.46614	3.47	0.045995*	0.597948
S(A)	26	130.7018	5.026991			
Total (Adjusted)	28	165.634				
Total	29					
* Term significant at	alpha = 0	.05				

Response Temperatura

# Kruskal-Wallis One-Way ANOVA on Ranks Hypotheses

Ho: All medians are equal. Ha: At least two medians are different. **Test Results** 

loot noouno					
		Chi-Square	Prob		
Method	DF	(H)	Level	Decision(0.05)	
Not Corrected for Ties	2	4.797439	0.090834	Accept Ho	

Group	Count	Sum of Ranks	iviean Rank	Z-Value	Median
Group Detail		Cum of	Maan		
Number Sets of Ties Multiplicity Factor		3 36			
Corrected for Ties		2	4.804539	0.090512	Accept Ho

Group	Cour	it Ranks	Rank	z-value	wealan
1	15	220.50	14.70	-0.1964	29.75
2	7	142.00	20.29	1.8857	32.89
3	7	72.50	10.36	-1.6564	28.9

#### Salinidad Response

## **Tests of Assumptions Section**

•	Test	Prob	Decision
Assumption	Value	Level	(0.05)
Skewness Normality of Residuals	-1.2747	0.202419	Accept
Kurtosis Normality of Residuals	-1.7146	0.086411	Accept
Omnibus Normality of Residuals	4.5648	0.102038	Accept
Modified-Levene Equal-Variance Test	1.2390	0.305637	Accept

#### **Box Plot Section**



# **Expected Mean Squares Section**

Source		Term	Denominator	Expected
Term	DF	Fixed?	Term	Mean Square
A: Temporadax	2	Yes	S(A)	S+sA
S(A)	27	No		S(A)

Note: Expected Mean Squares are for the balanced cell-frequency case.

#### Analysis of Variance Table

Source		Sum of	Mean		Prob	Power
Term	DF	Squares	Square	F-Ratio	Level	(Alpha=0.05)
A: Temporadax	2	78.63423	39.31712	0.30	0.746169	0.092139
S(A)	27	3586.344	132.8276			
Total (Adjusted)	29	3664.978				
Total	30					
* Term significant at	alnha – 0	05				

Term significant at alpha = 0.05

#### Response Salinidad

#### Kruskal-Wallis One-Way ANOVA on Ranks Hypotheses

Ho: All medians are equal. Ha: At least two medians are different.

#### **Test Results**

Method	DF	Chi-Square (H)	Prob Level	Decision(0.05)
Not Corrected for Ties	2	1.347542	0.509782	Accept Ho
Corrected for Ties	2	1.350246	0.509094	Accept Ho
Number Sets of Ties	3			
Multiplicity Factor	54			

### **Group Detail**

		Sum of	Mean		
Group	Count	Ranks	Rank	Z-Value	Median
1	15	205.00	13.67	-1.1406	20
2	8	135.00	16.88	0.5159	23.25
3	7	125.00	17.86	0.8091	24.5

#### Response рΗ

## Analysis of Variance Report

#### **Tests of Assumptions Section**

-	Test	Prob	Decision
Assumption	Value	Level	(0.05)
Skewness Normality of Residuals	0.1641	0.869663	Accept
Kurtosis Normality of Residuals	-2.4802	0.013132	Reject
Omnibus Normality of Residuals	6.1782	0.045544	Reject
Modified-Levene Equal-Variance Test	10.3785	0.004280	Reject

#### **Box Plot Section**



Expected Mean Squar	es Secti	ion	_		_			-	
Source		DE	Term Fixed 2		Denom	inator	Expect	ed	
		<b>D</b> Г 1	Voc					quare	
		1 20	No		3(A)		STSA S(A)		
Note: Expected Mean S	auaros	20 are for th	nu halani	cod coll-	froquon		3(A)		
Note. Expected Mean S	quales			ceu cen-	nequein	cy case.			
Analysis of Variance T	able								
Source		Sum of	i i	Mean			Prob		Power
Term	DF	Square	s	Square		F-Ratio	Leve		(Alpha=0.05)
A: Temporadax	1	0.82695	56	0.82695	56	2.15	0.157	7908	0.287124
S(A)	20	7.68448	3	0.38422	24				
Total (Adjusted)	21	8.51143	36						
Total	22								
* Term significant at alp	ha = 0.0	5							
ResponsepHKruskal-Wallis One-WHypothesesHo: All medians are equHa: At least two median	<b>ay ANO</b> ıal. ıs are dif	VA on R	Ranks						
Test Results				Chi-Sa	uare	Prob			
Method		DF		(H)		Level		Decis	ion(0.05)
Not Corrected for Ties		1		0.56366	646	0.45278	37	Accer	ot Ho
Corrected for Ties		1		0.56366	646	0.45278	37	Accep	ot Ho
Number Sets of Lies		0							
Multiplicity Factor		0							
Group Detail									
	-	Sum of	•	Mean					
Group	Count	Ranks		Rank		Z-Value	•	Media	an
1	14	150.00		10.71		-0.7508		7.245	
2	8	103.00		12.88		0.7508		7.765	
Response O <sub>2</sub>									
Tests of Assumptions	Sectior	า			<b>.</b> .		<b>_</b>		
•			rest		Prob			n	
Assumption	Deald	1-	value			20	(0.05)		
Skewness Normality of	Residua	IS	-1.1388	5	0.25479	98	Accept		
Kurtosis Normality of Re	esiduals	_	-0.56/3	5	0.5705	18	Accept		
Omnibus Normality of R	esiduals	S	1.6186		0.44516	05	Accept		
Modified-Levene Equal-	varianc	e lest	0.0483		$0.9529^{\circ}$	11	Accept		

#### **Box Plot Section**



#### **Expected Mean Squares Section**

Source		Term	Denominator	Expected
Term	DF	Fixed?	Term	Mean Square
A: Temporadax	2	Yes	S(A)	S+sA
S(A)	26	No		S(A)
Note: Expected Mean Saue	raa ara far	the heleneed	all fraguanay agaa	

Note: Expected Mean Squares are for the balanced cell-frequency case.

#### Analysis of Variance Table

Source		Sum of	Mean		Prob	Power
Term	DF	Squares	Square	F-Ratio	Level	(Alpha=0.05)
A: Temporadax	2	6.446389	3.223194	1.77	0.190309	0.336242
S(A)	26	47.35636	1.821398			
Total (Adjusted)	28	53.80275				
Total	29					
* Term significant at	alpha = 0	0.05				

Response O<sub>2</sub>

# Kruskal-Wallis One-Way ANOVA on Ranks Hypotheses

Ho: All medians are equal. Ha: At least two medians are different. **Test Results** 

		Chi-Square	Prob	
	<b>DF</b> 2 2	(H) 3.100427 3.101191	Level 0.212203 0.212122	Decision(0.05) Accept Ho Accept Ho
	1 6			
	Sum of	Mean		
Count	Ranks	Rank	Z-Value	Median
15	196.00	13.07	-1.2657	4.022439
7	100.00	14.29	-0.2548	3.85
7	139.00	19.86	1.7328	5.5
	<b>Count</b> 15 7	DF 2 2 1 6 <b>Sum of</b> <b>Count</b> 15 196.00 7 100.00 7 139.00	DF         Chi-Square (H)           2         3.100427           2         3.101191           1         6           Count         Sum of Ranks         Mean Rank           15         196.00         13.07           7         100.00         14.29           7         139.00         19.86	DF         Chi-Square (H)         Prob Level           2         3.100427         0.212203           2         3.101191         0.212122           1         6

#### Response Nitratos

#### **Tests of Assumptions Section**

	Test	Prob	Decision
Assumption	Value	Level	(0.05)
Skewness Normality of Residuals	3.5885	0.000333	Reject
Kurtosis Normality of Residuals	2.4568	0.014018	Reject
Omnibus Normality of Residuals	18.9131	0.000078	Reject
Modified-Levene Equal-Variance Test	0.0002	0.988145	Accept

#### **Box Plot Section**



#### **Expected Mean Squares Section**

Source		Term	Denominator	Expected	
Term	DF	Fixed?	Term	Mean Square	
A: Temporadax	1	Yes	S(A)	S+sA	
S(A)	22	No		S(A)	

Note: Expected Mean Squares are for the balanced cell-frequency case.

#### Analysis of Variance Table

Source		Sum of	Mean		Prob	Power
Term	DF	Squares	Square	F-Ratio	Level	(Alpha=0.05)
A: Temporadax	1	14.92708	14.92708	0.07	0.799190	0.056987
S(A)	22	4952.93	225.1332			
Total (Adjusted)	23	4967.857				
Total	24					
* Term significant at	alpha = 0	.05				

Response Nitratos

# Kruskal-Wallis One-Way ANOVA on Ranks Hypotheses

Ho: All medians are equal. Ha: At least two medians are different.

#### **Test Results**

	Chi-Square	Prob		
Method	DF	(H)	Level	Decision(0.05)
Not Corrected for Ties	1	1.215	0.270344	Accept Ho

Corrected for Ties		1	1.217117	0.269927	Accept Ho
Number Sets of Ties Multiplicity Factor		1 24			
Group Detail		0			
	_	Sum of	wean		
Group	Count	Ranks	Rank	Z-Value	Median
1	16	218.00	13.63	1.1023	3.675706
2	8	82.00	10.25	-1.1023	1.435181

#### Response Nitritos

#### **Tests of Assumptions Section**

·	Test	Prob	Decision
Assumption	Value	Level	(0.05)
Skewness Normality of Residuals	2.2379	0.025229	Reject
Kurtosis Normality of Residuals	0.4070	0.684010	Accept
Omnibus Normality of Residuals	5.1738	0.075254	Accept
Modified-Levene Equal-Variance Test	2.5509	0.124499	Accept

#### **Box Plot Section**



# Expected Mean Squares Section

Source		Term	Denominator	Expected
Term	DF	Fixed?	Term	Mean Square
A: Temporadax	1	Yes	S(A)	S+sA
S(A)	22	No		S(A)

Note: Expected Mean Squares are for the balanced cell-frequency case.

#### Analysis of Variance Table

Source		Sum of	Mean		Prob	Power
Term	DF	Squares	Square	F-Ratio	Level	(Alpha=0.05)
A: Temporadax	1	3.248793E-02	3.248793E-02	0.43	0.518614	0.096234
S(A)	22	1.660771	7.548957E-02			
Total (Adjusted)	23	1.693259				
Total	24					
* Term significant at	alpha = 0	.05				

Response Nitritos

#### Kruskal-Wallis One-Way ANOVA on Ranks Hypotheses

Ho: All medians are equal. Ha: At least two medians are different.

### **Test Results**

Mathaal	DE	Chi-Square	Prob	
Method	DF	(H)	Levei	Decision(0.05)
Not Corrected for Ties	1	0.00375	0.951170	Accept Ho
Corrected for Ties	1	3.769668E-03	0.951043	Accept Ho
Number Sets of Ties	3			
Multiplicity Factor	72			

#### **Group Detail**

		Sum of	Mean		
Group	Count	Ranks	Rank	Z-Value	Median
1	16	201.00	12.56	0.0612	0.2017257
2	8	99.00	12.38	-0.0612	0.1079178

Response Amonio

#### **Tests of Assumptions Section**

	Test	Prob	Decision
Assumption	Value	Level	(0.05)
Skewness Normality of Residuals	6.3973	0.000000	Reject
Kurtosis Normality of Residuals	5.3048	0.000000	Reject
Omnibus Normality of Residuals	69.0665	0.000000	Reject
Modified-Levene Equal-Variance Test	0.5336	0.592549	Accept

# **Box Plot Section**



# **Expected Mean Squares Section**

Source		Term	Denominator	Expected
Term	DF	Fixed?	Term	Mean Square
A: Temporadax	2	Yes	S(A)	S+sA
S(A)	27	No		S(A)

- -

Note: Expected Mean Squares are for the balanced cell-frequency case.

Analysis of Variance	Table					
Source Term A: Temporadax S(A) Total (Adjusted) Total * Term significant at a	<b>DF</b> 2 27 29 30 Ipha = 0.0	Sum of Squares 771.7534 21832.21 22603.96	Mean Square 385.8767 808.6002	<b>F-Ratio</b> 0.48	<b>Prob</b> <b>Level</b> 0.625643	Power (Alpha=0.05) 0.119930
Response A	monio					
Kruskal-Wallis One-Way ANOVA on Ranks Hypotheses Ho: All medians are equal. Ha: At least two medians are different.						
Test Results			Chi-Squaro	Prob		
Method Not Corrected for Ties Corrected for Ties	3	<b>DF</b> 2 2	(H) 5.809846 5.809846	Level 0.054753 0.054753	<b>Deci</b> Acce Acce	<b>sion(0.05)</b> pt Ho pt Ho
Number Sets of Ties Multiplicity Factor		0 0				
Group Detail		<b>.</b> .				
Group 1 2 3	<b>Count</b> 15 8 7	Sum of Ranks 214.00 95.00 156.00	Mean Rank 14.27 11.88 22.29	<b>Z-Value</b> -0.7673 -1.3600 2.3291	<b>Medi</b> 1.093 0.953 1.702	<b>an</b> 3552 3492 279

# Response Silicatos

## Tests of Assumptions Section

-	Test	Prob	Decision
Assumption	Value	Level	(0.05)
Skewness Normality of Residuals	2.5971	0.009402	Reject
Kurtosis Normality of Residuals	1.3374	0.181087	Accept
Omnibus Normality of Residuals	8.5336	0.014027	Reject
Modified-Levene Equal-Variance Test	0.2284	0.797304	Accept

#### **Box Plot Section**



### **Expected Mean Squares Section**

Source	Term		Denominator	Expected
Term	DF	Fixed?	Term	Mean Square
A: Temporadax	2	Yes	S(A)	S+sA
S(A)	27	No		S(A)

Note: Expected Mean Squares are for the balanced cell-frequency case.

#### Analysis of Variance Table

Source		Sum of	Mean		Prob	Power
Term	DF	Squares	Square	F-Ratio	Level	(Alpha=0.05)
A: Temporadax	2	270.3564	135.1782	0.88	0.428318	0.184657
S(A)	27	4170.823	154.4749			
Total (Adjusted)	29	4441.18				
Total	30					
* Tama alam Hand at	alala C	0.05				

\* Term significant at alpha = 0.05

Response Silicatos

# Kruskal-Wallis One-Way ANOVA on Ranks Hypotheses

Ho: All medians are equal. Ha: At least two medians are different.

#### **Test Results**

		Chi-Square	Prob	
	<b>DF</b> 2 2	(H) 2.452289 2.452289	Level 0.293422 0.293422	Decision(0.05) Accept Ho Accept Ho
	0 0			
	Sum of	Mean		
Count	Ranks	Rank	Z-Value	Median
15	197.00	13.13	-1.4725	12.27
8	152.00	19.00	1.3131	21.33551
7	116.00	16.57	0.3678	17.74488
	<b>Count</b> 15 8 7	DF         2         2         2         2         2         0	DF         Chi-Square (H)           2         2.452289           2         2.452289           2         2.452289           0         0           0         0           0         0           10         10           15         197.00           15         152.00           15         1900           7         116.00	DF         Chi-Square (H)         Prob Level           2         2.452289         0.293422           2         2.452289         0.293422           0         0         0           0         0         0           10         10         13.13           15         197.00         13.13         -1.4725           8         152.00         19.00         1.3131           7         116.00         16.57         0.3678

#### Response Ortofosfatos

#### **Tests of Assumptions Section**

-	Test	Prob	Decision
Assumption	Value	Level	(0.05)
Skewness Normality of Residuals	4.4522	0.000009	Reject
Kurtosis Normality of Residuals	3.7470	0.000179	Reject
Omnibus Normality of Residuals	33.8618	0.000000	Reject
Modified-Levene Equal-Variance Test	2.3838	0.110658	Accept

#### **Box Plot Section**



#### **Expected Mean Squares Section**

Source		Term	Denominator	Expected
Term	DF	Fixed?	Term	Mean Square
A: Temporadax	2	Yes	S(A)	S+sA
S(A)	28	No		S(A)

Note: Expected Mean Squares are for the balanced cell-frequency case.

#### Analysis of Variance Table

Source		Sum of	Mean		Prob	Power
Term	DF	Squares	Square	F-Ratio	Level	(Alpha=0.05)
A: Temporadax	2	66.0701	33.03505	3.79	0.035055*	0.641553
S(A)	28	244.3268	8.725958			
Total (Adjusted)	30	310.3969				
Total	31					
* Term significant at	alpha = 0	.05				

Response Ortofosfatos

# Kruskal-Wallis One-Way ANOVA on Ranks Hypotheses

Ho: All medians are equal. Ha: At least two medians are different.

#### **Test Results**

		Chi-Square	Prob		
Method	DF	(H)	Level	Decision(0.05)	
Not Corrected for Ties	2	14.35855	0.000762	Reject Ho	

Group Detail	Sum of	Moon		
Number Sets of Ties Multiplicity Factor	0 0			
Corrected for Ties	2	14.35855	0.000762	Reject Ho

		Sumo	Wiean		
Group	Count	Ranks	Rank	Z-Value	Median
1	16	315.00	19.69	2.3322	2.933836
2	8	149.00	18.63	0.9480	2.796496
3	7	32.00	4.57	-3.7796	0.514085

#### Response Clorofila Tests of Assumptions Section

	Test	Prob	Decision
Assumption	Value	Level	(0.05)
Skewness Normality of Residuals	5.6614	0.000000	Reject
Kurtosis Normality of Residuals	4.8092	0.000002	Reject
Omnibus Normality of Residuals	55.1794	0.000000	Reject
Modified-Levene Equal-Variance Test	0.7346	0.488728	Accept

### **Box Plot Section**



# **Expected Mean Squares Section**

Source		Term	Denominator	Expected
Term	DF	Fixed?	Term	Mean Square
A: Temporadax	2	Yes	S(A)	S+sA
S(A)	28	No		S(A)

Note: Expected Mean Squares are for the balanced cell-frequency case.

#### Analysis of Variance Table

Source		Sum of	Mean		Prob	Power
Term	DF	Squares	Square	F-Ratio	Level	(Alpha=0.05)
A: Temporadax	2	1361.792	680.8958	1.21	0.313491	0.242225
S(A)	28	15764.14	563.0049			
Total (Adjusted)	30	17125.93				
Total	31					
* Term significant at al	pha = 0	.05				

#### Response Clorofila **Kruskal-Wallis One-Way ANOVA on Ranks Hypotheses** Ho: All medians are equal. Ha: At least two medians are different.

#### **Test Results**

i col neoullo				
Method Not Corrected for Ties Corrected for Ties	<b>DF</b> 2 2	<b>Chi-Square</b> (H) 10.86226 11.04938	Prob Level 0.004378 0.003987	<b>Decision(0.05)</b> Reject Ho Reject Ho
Number Sets of Ties Multiplicity Factor	1 504			
Group Detail				

#### Sum of Mean Group Count Ranks Rank Z-Value Median 7.59984 1 290.00 18.13 1.3440 16 2 3 8 57.00 7.13 -3.2053 0 7 1.7481 16.30752 149.00 21.29

#### Analysis of Variance Report

Response ADNA

## Tests of Assumptions Section

· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	Test	Prob	Decision
Assumption	Value	Level	(0.05)
Skewness Normality of Residuals	-1.7536	0.079495	Accept
Kurtosis Normality of Residuals	0.5011	0.616291	Accept
Omnibus Normality of Residuals	3.3263	0.189541	Accept
Modified-Levene Equal-Variance Test	0.7816	0.471167	Accept

#### **Box Plot Section**



### **Expected Mean Squares Section**

Source		Term	Denominator	Expected
Term	DF	Fixed?	Term	Mean Square
A: temporada	2	Yes	S(A)	S+sA
S(A)	20	No		S(A)

Note: Expected Mean Squares are for the balanced cell-frequency case.

#### Analysis of Variance Table

Source		Sum of	Mean		Prob	Power
Term	DF	Squares	Square	F-Ratio	Level	(Alpha=0.05)
A: temporada	2	2.933095	1.466547	6.27	0.007680*	0.844053
S(A)	20	4.675842	0.2337921			
Total (Adjusted)	22	7.608936				
Total	23					
* Term significant at	alpha = 0	.05				

# Kruskal-Wallis One-Way ANOVA on Ranks Hypotheses

Ho: All medians are equal. Ha: At least two medians are different.

#### **Test Results**

Method Not Corrected for Ties Corrected for Ties	<b>DF</b> 2 2	<b>Chi-Square</b> (H) 7.968168 7.968168	Prob Level 0.018609 0.018609	<b>Decision(0.05)</b> Reject Ho Reject Ho
Number Sets of Ties Multiplicity Factor	0 0			

#### **Group Detail**

Response

		Sum of	Mean		
Group	Count	Ranks	Rank	Z-Value	Median
LLUVIAS	8	105.00	13.13	0.5809	5.142031
NORTES	7	116.00	16.57	2.1381	5.55586
SECAS	8	55.00	6.88	-2.6465	4.545949

# Analysis of Variance Report

- -

#### **Tests of Assumptions Section**

**BDNA** 

	Test	Prob	Decision
Assumption	Value	Level	(0.05)
Skewness Normality of Residuals	0.1734	0.862348	Accept
Kurtosis Normality of Residuals	-0.7372	0.461009	Accept
Omnibus Normality of Residuals	0.5735	0.750697	Accept
Modified-Levene Equal-Variance Test	0.6154	0.550328	Accept

# **Box Plot Section**



# **Expected Mean Squares Section**

Source		Term	Denominator	Expected
Term	DF	Fixed?	Term	Mean Square
A: temporada	2	Yes	S(A)	S+sA
S(A)	20	No		S(A)
Note: Expected Mean Squares are for the balanced cell-frequency case.

#### Analysis of Variance Table

Source		Sum of	Mean		Prob	Power
Term	DF	Squares	Square	F-Ratio	Level	(Alpha=0.05)
A: temporada	2	0.6409713	0.3204857	1.27	0.303524	0.242978
S(A)	20	5.061827	0.2530914			
Total (Adjusted)	22	5.702798				
Total	23					
* Term significant at	alpha = 0	.05				

# Kruskal-Wallis One-Way ANOVA on Ranks Hypotheses

Ho: All medians are equal.

Ha: At least two medians are different.

#### **Test Results**

Method	DF	Chi-Square (H)	Prob Level	Decision(0.05)
Not Corrected for Ties	2	1.837733	0.398971	Accept Ho
Corrected for Ties	2	1.838641	0.398790	Accept Ho
Number Sets of Ties	1			
Multiplicity Factor	6			

#### **Group Detail**

		Sum of	Mean		
Group	Count	Ranks	Rank	Z-Value	Median
LLUVIAS	8	75.00	9.38	-1.3555	4.939597
NORTES	7	94.00	13.43	0.6682	5.517557
SECAS	8	107.00	13.38	0.7100	5.298193

#### Response MICROSCOPIA

### **Tests of Assumptions Section**

rests of Assumptions Section			
	Test	Prob	Decision
Assumption	Value	Level	(0.05)
Skewness Normality of Residuals	0.8705	0.384047	Accept
Kurtosis Normality of Residuals	-1.3033	0.192489	Accept
Omnibus Normality of Residuals	2.4562	0.292852	Accept
Modified-Levene Equal-Variance Test	0.9189	0.415167	Accept

#### **Box Plot Section**



#### **Expected Mean Squares Section**

Source		Term	Denominator	Expected
Term	DF	Fixed?	Term	Mean Square
A: temporada	2	Yes	S(A)	S+sA
S(A)	20	No		S(A)
Note: Europeted Magn C	Sauces and for		coll from topol cooo	

Note: Expected Mean Squares are for the balanced cell-frequency case.

#### Analysis of Variance Table

Source		Sum of	Mean		Prob	Power
Term	DF	Squares	Square	F-Ratio	Level	(Alpha=0.05)
A: temporada	2	0.0435589	2.177945E-02	1.91	0.173765	0.349414
S(A)	20	0.2277558	1.138779E-02			
Total (Adjusted)	22	0.2713147				
Total	23					

\* Term significant at alpha = 0.05

# Kruskal-Wallis One-Way ANOVA on Ranks Hypotheses

Ho: All medians are equal.

Ha: At least two medians are different.

#### **Test Results**

Method Not Corrected for Ties Corrected for Ties		<b>DF</b> 2 2	<b>Chi-Square</b> (H) 3.548913 3.548913	Prob Level 0.169576 0.169576	Decision(0.05) Accept Ho Accept Ho
Number Sets of Ties Multiplicity Factor		0 0			
Group Detail		Sum of	Mean		
Group	Count	Ranks	Rank	Z-Value	Median
LLUVIAS	8	79.00	9.88	-1.0973	6.634726
NORTES	7	112.00	16.00	1.8708	6.779058
SECAS	8	85.00	10.63	-0.7100	6.63377

#### MATRIZ DE CORRELACION LA MANCHA

Spearman Corr	elations Section	(Row-Wise Deletion)				
	Tran NO3	Temp	ups	рН	O2	
Trans	1.000000	-0.338808	-0.393174	-0.204429	-0.541309	0.429478
	0.000000	0.132996	0.077861	0.464880	0.011271	0.096879
	23.000000	21.000000	21.000000	15.000000	21.000000	16.000000
Temp	-0.338808	1.000000	0.281733	-0.041758	0.233170	-0.701871
•	0.132996	0.000000	0.228827	0.887287	0.322491	0.005141
	21.000000	21.000000	20.000000	14.000000	20.000000	14.000000
ups	-0.393174	0.281733	1.000000	0.822883	0.477393	-0.674037
•	0.077861	0.228827	0.000000	0.000301	0.033287	0.008207
	21.000000	20.000000	21.000000	14.000000	20.000000	14.000000
pН	-0.204429	-0.041758	0.822883	1.000000	0.138462	-0.379931
I	0.464880	0.887287	0.000301	0.000000	0.636885	0.162458
	15.000000	14.000000	14.000000	15.000000	14.000000	15.000000
O2	-0.541309	0.233170	0.477393	0.138462	1.000000	-0.161149
	0.011271	0.322491	0.033287	0.636885	0.000000	0.582067
	21.000000	20.000000	20.000000	14.000000	21.000000	14.000000
NO3	0.429478	-0.701871	-0.674037	-0.379931	-0.161149	1.000000
	0.096879	0.005141	0.008207	0.162458	0.582067	0.000000
	16.000000	14.000000	14.000000	15.000000	14.000000	16.000000
NO2	0.114723	0.206912	-0.486667	-0.443665	-0.313705	0.153162
	0.672246	0.477858	0.077606	0.097610	0.274740	0.571183
	16.000000	14.000000	14.000000	15.000000	14.000000	16.000000
NH4	-0.394430	-0.379221	-0.127480	-0.271429	0.449497	0.129033
	0.069292	0.090000	0.581860	0.327789	0.040923	0.646728
	22.000000	21.000000	21.000000	15.000000	21.000000	15.000000
Sio3	0.284263	-0.102597	-0.798050	-0.732143	-0.409224	0.211471
	0.199797	0.658097	0.000015	0.001913	0.065462	0.449296
	22.000000	21.000000	21.000000	15.000000	21.000000	15.000000
PO4	0.369187	0.412987	-0.166504	-0.582143	-0.291653	0.292037
	0.082976	0.062784	0.470691	0.022794	0.199566	0.272407
	23.000000	21.000000	21.000000	15.000000	21.000000	16.000000
Clor a	0.029945	-0.190854	-0.184877	0.123567	0.049937	0.560336
	0.892113	0.407271	0.422386	0.660849	0.829796	0.023971
	23.000000	21.000000	21.000000	15.000000	21.000000	16.000000
HDNA	-0.344242	0.127273	-0.265366	-0.439286	-0.012991	-0.179942
	0.107734	0.582479	0.244996	0.101361	0.955429	0.504863
	23.000000	21.000000	21.000000	15.000000	21.000000	16.000000
LDNA	-0.116273	-0.036375	-0.194535	-0.187668	-0.292303	0.152030
	0.597274	0.875610	0.398111	0.503006	0.198520	0.574065
	23.000000	21.000000	21.000000	15.000000	21.000000	16.000000
TOTAL	-0.225004	0.057143	-0.218537	-0.307143	-0.229945	0.073747
	0.301970	0.805661	0.341243	0.265473	0.315988	0.786063
	23.000000	21.000000	21.000000	15.000000	21.000000	16.000000
MICRO	0.085312	-0.368831	-0.528131	-0.400000	-0.198766	0.339235
	0.698732	0.099907	0.013857	0.139595	0.387725	0.198655
	23.000000	21.000000	21.000000	15.000000	21.000000	16.000000

	NO2	NH4 Sio3	PO4 Clorofila	_total HDNA		
Trans	0.114723	-0.394430	0.284263	0.369187	0.029945	-0.344242
	0.672246	0.069292	0.199797	0.082976	0.892113	0.107734
	16.000000	22.000000	22.000000	23.000000	23.000000	23.000000
Temp	0.206912	-0.379221	-0.102597	0.412987	-0.190854	0.127273
	0.477858	0.090000	0.658097	0.062784	0.407271	0.582479
	14.000000	21.000000	21.000000	21.000000	21.000000	21.000000
ups	-0.486667	-0.127480	-0.798050	-0.166504	-0.184877	-0.265366
•	0.077606	0.581860	0.000015	0.470691	0.422386	0.244996
	14.000000	21.000000	21.000000	21.000000	21.000000	21.000000
pН	-0.443665	-0.271429	-0.732143	-0.582143	0.123567	-0.439286
•	0.097610	0.327789	0.001913	0.022794	0.660849	0.101361
	15.000000	15.000000	15.000000	15.000000	15.000000	15.000000
02	-0.313705	0.449497	-0.409224	-0.291653	0.049937	-0.012991
	0.274740	0.040923	0.065462	0.199566	0.829796	0.955429
	14.000000	21.000000	21.000000	21.000000	21.000000	21.000000
NO3	0.153162	0.129033	0.211471	0.292037	0.560336	-0.179942
	0.571183	0.646728	0.449296	0.272407	0.023971	0.504863
	16.000000	15.000000	15.000000	16.000000	16.000000	16.000000
NO2	1.000000	-0.028856	0.602374	0.355831	-0.187246	0.299491
	0.000000	0.918690	0.017482	0.176171	0.487426	0.259785
	16.000000	15.000000	15.000000	16.000000	16.000000	16.000000
NH4	-0.028856	1.000000	0.305477	-0.487295	0.059313	0.409373
	0.918690	0.000000	0.166821	0.021434	0.793172	0.058501
	15.000000	22.000000	22.000000	22.000000	22.000000	22.000000
Sio3	0.602374	0.305477	1.000000	0.207228	-0.049618	0.492942
	0.017482	0.166821	0.000000	0.354786	0.826435	0.019755
	15.000000	22.000000	22.000000	22.000000	22.000000	22.000000
PO4	0.355831	-0.487295	0.207228	1.000000	-0.193877	-0.176877
	0.176171	0.021434	0.354786	0.000000	0.375400	0.419456
	16.000000	22.000000	22.000000	23.000000	23.000000	23.000000
Clor a	-0.187246	0.059313	-0.049618	-0.193877	1.000000	0.010466
	0.487426	0.793172	0.826435	0.375400	0.000000	0.962197
	16.000000	22.000000	22.000000	23.000000	23.000000	23.000000
HDNA	0.299491	0.409373	0.492942	-0.176877	0.010466	1.000000
	0.259785	0.058501	0.019755	0.419456	0.962197	0.000000
	16.000000	22.000000	22.000000	23.000000	23.000000	23.000000
LDNA	0.059349	-0.056481	0.227619	-0.077588	0.327778	0.494193
	0.827172	0.802854	0.308316	0.724928	0.126799	0.016533
	16.000000	22.000000	22.000000	23.000000	23.000000	23.000000
τοται	0.174950	0.094297	0.324675	-0.082016	0.267142	0.637352
	0.516944	0.676381	0.140414	0.709873	0.217849	0.001071
	16.000000	22.000000	22,000000	23.000000	23.000000	23.000000
MICRO	-0.195707	0.472614	0.541502	-0.120553	0.301532	0.464427
	0.467595	0.026340	0.009247	0.583749	0.162039	0.025576
	16.000000	22.000000	22.000000	23.000000	23.000000	23.000000

	LDNA	TOTAL MICROS	COPIA
Transcm_	-0.116273	-0.225004	0.085312
	0.597274	0.301970	0.698732
	23.000000	23.000000	23.000000
Temp	-0.036375	0.057143	-0.368831
•	0.875610	0.805661	0.099907
	21.000000	21.000000	21.000000
ups	-0.194535	-0.218537	-0.528131
- F -	0.398111	0.341243	0.013857
	21.000000	21.000000	21.000000
На	-0.187668	-0.307143	-0.400000
F	0.503006	0.265473	0.139595
	15.000000	15.000000	15,000000
O2Wr ml I	-0.292303	-0.229945	-0.198766
	0.198520	0.315988	0.387725
	21.000000	21.000000	21.000000
NO3	0.152030	0.073747	0.339235
	0.574065	0.786063	0.198655
	16.000000	16.000000	16.000000
NO2	0.059349	0.174950	-0.195707
	0.827172	0.516944	0.467595
	16.000000	16.000000	16.000000
NH4	-0.056481	0.094297	0.472614
	0.802854	0.676381	0.026340
	22.000000	22.000000	22.000000
Sio3	0.227619	0.324675	0.541502
	0.308316	0.140414	0.009247
	22.000000	22.000000	22.000000
PO4	-0.077588	-0.082016	-0.120553
	0.724928	0.709873	0.583749
	23.000000	23.000000	23.000000
Clorofila total	0.327778	0.267142	0.301532
—	0.126799	0.217849	0.162039
	23.000000	23.000000	23.000000
HDNA	0.494193	0.637352	0.464427
	0.016533	0.001071	0.025576
	23.000000	23.000000	23.000000
LDNA	1.000000	0.968619	0.382011
	0.000000	0.000000	0.072046
	23.000000	23.000000	23.000000
TOTAL	0.968619	1.000000	0.407115
-	0.000000	0.000000	0.053850
	23.000000	23.000000	23.000000
MICROSCOPIA	0.382011	0.407115	1.000000
	0.072046	0.053850	0.000000
	23.000000	23.000000	23.000000

#### Analysis of Variance Report La Grande-Chica

Response ADNA

#### **Tests of Assumptions Section**

· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	Test	Prob	Decision
Assumption	Value	Level	(0.05)
Skewness Normality of Residuals	-1.7536	0.079495	Accept
Kurtosis Normality of Residuals	0.5011	0.616291	Accept
Omnibus Normality of Residuals	3.3263	0.189541	Accept
Modified-Levene Equal-Variance Test	0.7816	0.471167	Accept

#### **Box Plot Section**



#### **Expected Mean Squares Section**

Source		Term	Denominator	Expected
Term	DF	Fixed?	Term	Mean Square
A: temporada	2	Yes	S(A)	S+sA
S(A)	20	No		S(A)

Note: Expected Mean Squares are for the balanced cell-frequency case.

#### Analysis of Variance Table

Source		Sum of	Mean		Prob	Power
Term	DF	Squares	Square	F-Ratio	Level	(Alpha=0.05)
A: temporada	2	2.933095	1.466547	6.27	0.007680*	0.844053
S(A)	20	4.675842	0.2337921			
Total (Adjusted)	22	7.608936				
Total	23					
* Term significant at	alpha = 0	.05				

# Kruskal-Wallis One-Way ANOVA on Ranks Hypotheses

Ho: All medians are equal. Ha: At least two medians are different.

#### **Test Results**

Method Not Corrected for Ties Corrected for Ties	<b>DF</b> 2 2	<b>Chi-Square</b> (H) 7.968168 7.968168	<b>Prob</b> Level 0.018609 0.018609	<b>Decision(0.05)</b> Reject Ho Reject Ho
Number Sets of Ties Multiplicity Factor	0 0			

#### **Group Detail**

		Sum of	Mean		
Group	Count	Ranks	Rank	Z-Value	Median
LLUVIAS	8	105.00	13.13	0.5809	5.142031
NORTES	7	116.00	16.57	2.1381	5.55586
SECAS	8	55.00	6.88	-2.6465	4.545949

### Analysis of Variance Report

#### Response BDNA Tests of Assumptions Section

	Test	Prob	Decision
Assumption	Value	Level	(0.05)
Skewness Normality of Residuals	0.1734	0.862348	Accept
Kurtosis Normality of Residuals	-0.7372	0.461009	Accept
Omnibus Normality of Residuals	0.5735	0.750697	Accept
Modified-Levene Equal-Variance Test	0.6154	0.550328	Accept

#### **Box Plot Section**



#### **Expected Mean Squares Section**

Source		Term	Denominator	Expected
Term	DF	Fixed?	Term	Mean Square
A: temporada	2	Yes	S(A)	S+sA
S(A)	20	No		S(A)
Nata, Europeta el Manaja (		امم محمد ما مطل		

Note: Expected Mean Squares are for the balanced cell-frequency case.

#### Analysis of Variance Table

Source		Sum of	Mean		Prob	Power
Term	DF	Squares	Square	F-Ratio	Level	(Alpha=0.05)
A: temporada	2	0.6409713	0.3204857	1.27	0.303524	0.242978
S(A)	20	5.061827	0.2530914			
Total (Adjusted)	22	5.702798				
Total	23					
* Term significant at a	lpha = 0	.05				

Kruskal-Wallis One-Way ANOVA on Ranks

## Hypotheses

Ho: All medians are equal.

Ha: At least two medians are different.

#### **Test Results**

			Chi-Square	Prob	
Method		DF	(H)	Level	Decision(0.05)
Not Corrected for Ties		2	1.837733	0.398971	Accept Ho
Corrected for Ties		2	1.838641	0.398790	Accept Ho
Number Sets of Ties		1			
Multiplicity Factor		6			
Group Detail					
-		Sum of	Mean		
Group	Count	Ranks	Rank	Z-Value	Median
LLUVIAS	8	75.00	9.38	-1.3555	4.939597
NORTES	7	94.00	13.43	0.6682	5.517557
SECAS	8	107.00	13.38	0.7100	5.298193

#### Response MICROSCOPIA Tests of Assumptions Section

	Test	Prob	Decision
Assumption	Value	Level	(0.05)
Skewness Normality of Residuals	0.8705	0.384047	Accept
Kurtosis Normality of Residuals	-1.3033	0.192489	Accept
Omnibus Normality of Residuals	2.4562	0.292852	Accept
Modified-Levene Equal-Variance Test	0.9189	0.415167	Accept

#### **Box Plot Section**



Expected Mean Squares Section							
Source		Term	Denominator	Expected			
Term	DF	Fixed?	Term	Mean Square			
A: temporada	2	Yes	S(A)	S+sA			
S(A)	20	No		S(A)			
Note: Expected Mean Squar	es are for	the balanced	cell-frequency case.				

#### Analysis of Variance Table

Source		Sum of	Mean	Prob	Power
Term	DF	Squares	Square F-Ratio	Level	(Alpha=0.05)
A: temporada	2	0.0435589	2.177945E-02 1.91	0.173765	0.349414
S(A)	20	0.2277558	1.138779E-02		
Total (Adjusted)	22	0.2713147			
Total	23				
* Term significant at	alpha = 0	.05			

# Kruskal-Wallis One-Way ANOVA on Ranks Hypotheses Ho: All medians are equal.

Ha: At least two medians are different.

#### **Test Results**

root noouno					
Method Not Corrected for Ties Corrected for Ties		<b>DF</b> 2 2	<b>Chi-Square</b> (H) 3.548913 3.548913	Prob Level 0.169576 0.169576	<b>Decision(0.05)</b> Accept Ho Accept Ho
Number Sets of Ties Multiplicity Factor		0 0			
Group Detail					
Group	Count	Sum of Ranks	Mean Rank	Z-Value	Median

Group	Count	Ranks	Rank	Z-Value	Median
LLUVIAS	8	79.00	9.88	-1.0973	6.634726
NORTES	7	112.00	16.00	1.8708	6.779058
SECAS	8	85.00	10.63	-0.7100	6.63377

#### MATRIA DE CORRELACION SISTEMA LAGUNAR LA GRANDE-CHICA

	Transcm_x	Tempx	upsx	pHx	O2Wr_ml	_l_x
T	NO3X	0.04.44.05	0.047770	0 400005	0.000074	0 055740
Transcm_x	1.000000	-0.214105	0.317779	0.130835	0.003271	-0.255742
	57,000000	0.103430 50.000000	50,000000	0.327012 59.000000	0.900300	59 000000
Tompy	0.21/105	1 000000	0.204082	0.015046	0 156083	0 19/170
rempx	-0.214105	0.000000	0.204902	-0.013040	-0.100000	-0.164179
	50,000000	57,000000	50,000000	58 000000	50 000000	58 000000
UDOV	0.217770	0.204092	1 000000	0.265245	0 225027	0 40995
upsx	0.01/1/9	0.204902	0.000000	0.205245	0.323937	-0.400000
	50,00000	50,000000	57,000000	59 00000	50,000000	59 000000
nHv	0 120825	0.015046	0.265245	1 000000	0.001207	0 164494
рпх	0.130033	-0.015040	0.203243	0.000000	0.091397	0.104404
	0.327012 58.000000	59 000000	59 000000	0.000000 F6.000000	0.495025 E9.000000	0.221437 57.000000
$O_{2}W/r$ ml l v	0.000000	0.456092	0.000000	0.000000	1 000000	0 15 45 21
02WI_III_I_X	0.003271	-0.100000	0.323937	0.091397	0.000000	-0.134551
	0.900300	0.237002	50,000000	0.495025	0.000000	0.240770
NO2v	0.055740	59.000000	0.400000		57.000000	56.000000
NU3X	-0.255/42	-0.184179	-0.408885	0.164484	-0.154531	1.000000
	0.052000	0.100357	0.001439	0.221457	0.240770	0.000000
NOOL	58.000000	58.000000	58.00000	57.000000	58.000000	56.000000
NOZX	-0.313673	0.065695	-0.369994	-0.527127	-0.050249	0.304392
	0.016498	0.624162	0.004254	0.000025	0.707966	0.020171
NILLAN	58.000000	58.000000	58.000000	57.000000	58.000000	58.000000
NH4X	-0.329757	0.344134	-0.321598	-0.355093	-0.216787	0.114260
	0.011477	0.008166	0.013829	0.006719	0.102141	0.393085
0. 0	58.000000	58.000000	58.000000	57.000000	58.000000	58.000000
S103X	0.047669	-0.135232	-0.779753	-0.252504	-0.540210	0.224299
	0.722337	0.311475	0.000000	0.058098	0.000012	0.090519
DO 4	58.000000	58.000000	58.000000	57.000000	58.000000	58.000000
PO4x	0.168355	-0.230488	-0.497044	-0.368598	-0.107705	0.100446
	0.206489	0.081745	0.000072	0.004783	0.420967	0.453121
	58.000000	58.000000	58.000000	57.000000	58.000000	58.000000
Clorofila_totalx	-0.292809	0.208279	0.085762	0.213802	0.605017	-0.064989
	0.025710	0.116663	0.522102	0.110281	0.000000	0.631020
	58.000000	58.000000	58.000000	57.000000	58.000000	57.000000
HDNAX	-0.285340	-0.073998	-0.370981	-0.290885	0.053966	0.109066
	0.031437	0.584345	0.004498	0.029633	0.690113	0.423619
	57.000000	57.000000	57.000000	56.000000	57.000000	56.000000
LDNAX	-0.279939	-0.074063	-0.487298	-0.401019	-0.046479	0.158968
	0.034941	0.584014	0.000121	0.002192	0.731356	0.241907
TOTAL	57.000000	57.000000	57.000000	56.000000	57.000000	56.000000
TOTALX	-0.289374	-0.065798	-0.443302	-0.355079	-0.025930	0.158455
	0.029016	0.626764	0.000553	0.007245	0.848164	0.243448
	57.000000	57.000000	57.000000	56.000000	57.000000	56.000000
MICROSCOPIAx	-0.31/063	-0.010340	-0.172350	-0.415956	0.315825	0.044296
	0.016257	0.939152	0.199841	0.001431	0.016702	0.745812
	57.000000	57.000000	57.000000	56.000000	57.000000	56.000000

#### Spearman Correlations Section (Row-Wise Deletion)

	NO2x	NH4x	Sio3x	PO4x	Clorofila_	totalx
	HDNAx					
Transcm_x	-0.313673	-0.329757	0.047669	0.168355	-0.292809	-0.285340
	0.016498	0.011477	0.722337	0.206489	0.025710	0.031437
	58.000000	58.000000	58.000000	58.000000	58.000000	57.000000
Tempx	0.065695	0.344134	-0.135232	-0.230488	0.208279	-0.073998
	0.624162	0.008166	0.311475	0.081745	0.116663	0.584345
	58.000000	58.000000	58.000000	58.000000	58.000000	57.000000
upsx	-0.369994	-0.321598	-0.779753	-0.497044	0.085762	-0.370981
.1.	0.004254	0.013829	0.000000	0.000072	0.522102	0.004498
	58.000000	58.000000	58.000000	58.000000	58.000000	57.000000
рНх	-0.527127	-0.355093	-0.252504	-0.368598	0.213802	-0.290885
•	0.000025	0.006719	0.058098	0.004783	0.110281	0.029633
	57.000000	57.000000	57.000000	57.000000	57.000000	56.000000
O2Wr_ml_l_x	-0.050249	-0.216787	-0.540210	-0.107705	0.605017	0.053966
	0.707966	0.102141	0.000012	0.420967	0.000000	0.690113
	58.000000	58.000000	58.000000	58.000000	58.000000	57.000000
NO3x	0.304392	0.114260	0.224299	0.100446	-0.064989	0.109066
	0.020171	0.393085	0.090519	0.453121	0.631020	0.423619
	58.000000	58.000000	58.000000	58.000000	57.000000	56.000000
NO2x	1.000000	0.388505	0.234829	0.285107	-0.147379	0.230705
	0.000000	0.002581	0.076001	0.030061	0.273944	0.087144
	56.000000	58.000000	58.000000	58.000000	57.000000	56.000000
NH4x	0.388505	1.000000	0.192517	0.144766	0.034265	0.362679
	0.002581	0.000000	0.147665	0.278265	0.800241	0.006014
	58.000000	56.000000	58.000000	58.000000	57.000000	56.000000
Sio3x	0.234829	0.192517	1.000000	0.573437	-0.447284	0.273356
	0.076001	0.147665	0.000000	0.000003	0.000486	0.041502
	58.000000	58.000000	56.000000	58.000000	57.000000	56.000000
PO4x	0.285107	0.144766	0.573437	1.000000	-0.243911	0.221941
	0.030061	0.278265	0.000003	0.000000	0.067487	0.100182
	58.000000	58.000000	58.000000	56.000000	57.000000	56.000000
Clorofila_totalx	-0.147379	0.034265	-0.447284	-0.243911	1.000000	0.109298
	0.273944	0.800241	0.000486	0.067487	0.000000	0.422629
	57.000000	57.000000	57.000000	57.000000	56.000000	56.000000
HDNAx	0.230705	0.362679	0.273356	0.221941	0.109298	1.000000
	0.087144	0.006014	0.041502	0.100182	0.422629	0.000000
	56.000000	56.000000	56.000000	56.000000	56.000000	57.000000
LDNAx	0.365425	0.505472	0.401046	0.332946	0.032502	0.952878
	0.005616	0.000071	0.002190	0.012165	0.812035	0.000000
	56.000000	56.000000	56.000000	56.000000	56.000000	57.000000
TOTALx	0.313686	0.456906	0.357195	0.284347	0.056358	0.981722
	0.018561	0.000400	0.006882	0.033676	0.679930	0.000000
	56.000000	56.000000	56.000000	56.000000	56.000000	57.000000
MICROSCOPIAx	0.463908	0.404542	-0.120751	0.181613	0.345085	0.205017
	0.000317	0.001985	0.375354	0.180380	0.009196	0.126053
	56.000000	56.000000	56.000000	56.000000	56.000000	57.000000

	LDNAx	TOTALx	MICROSCOPIAx
Transcm_x	-0.279939	-0.289374	-0.317063
	0.034941	0.029016	0.016257
	57.000000	57.000000	57.000000
Tempx	-0.074063	-0.065798	-0.010340
	0.584014	0.626764	0.939152
	57.000000	57.000000	57.000000
upsx	-0.487298	-0.443302	-0.172350
	0.000121	0.000553	0.199841
	57.000000	57.000000	57.000000
pHx	-0.401019	-0.355079	-0.415956
•	0.002192	0.007245	0.001431
	56.000000	56.000000	56.000000
O2Wr_ml_l_x	-0.046479	-0.025930	0.315825
	0.731356	0.848164	0.016702
	57.000000	57.000000	57.000000
NO3x	0.158968	0.158455	0.044296
	0.241907	0.243448	0.745812
	56.000000	56.000000	56.000000
NO2x	0.365425	0.313686	0.463908
	0.005616	0.018561	0.000317
	56.000000	56.000000	56.000000
NH4x	0.505472	0.456906	0.404542
	0.000071	0.000400	0.001985
	56.000000	56.000000	56.000000
Sio3x	0.401046	0.357195	-0.120751
	0.002190	0.006882	0.375354
	56.000000	56.000000	56.000000
PO4x	0.332946	0.284347	0.181613
	0.012165	0.033676	0.180380
	56.000000	56.000000	56.000000
Clorofila totalx	0.032502	0.056358	0.345085
	0.812035	0.679930	0.009196
	56.000000	56.000000	56.000000
HDNAx	0.952878	0.981722	0.205017
	0.000000	0.000000	0.126053
	57.000000	57.000000	57.000000
LDNAx	1.000000	0.989694	0.286492
	0.000000	0.000000	0.030729
	57.000000	57.000000	57.000000
TOTALx	0.989694	1.000000	0.245528
	0.000000	0.000000	0.065634
	57.000000	57.000000	57.000000
MICROSCOPIAx	0.286492	0.245528	1.000000
	0.030729	0.065634	0.000000
	57.000000	57.000000	57.000000

### ACTA DE EXAMEN DE GRADO UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA No. 00055 Matricula: 207381344

Casa abierta al tiempo

-0 C @

