



03067
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO.

2
205

UNIDAD ACADÉMICA DE LOS CICLOS PROFESIONAL Y DE
POSGRADO DEL COLEGIO DE CIENCIAS Y HUMANIDADES

UTILIZACIÓN BACTERIANA Y MEIOBÉNTICA DE
HIDROCARBUROS FÓSILES EN LA SONDA DE CAMPECHE,
MÉXICO.

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRA
EN CIENCIAS DEL MAR (OCEANOGRAFÍA
BIOLÓGICA Y PESQUERA)

P R E S E N T A :

ANA NOEMI CANALES CÁCERES

DIRECTOR DE TESIS: DR. FELIPE VÁZQUEZ GUTIÉRREZ



CD. UNIVERSITARIA.

1999

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

272058



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

*A los jóvenes mexicanos que aún confiamos en que nuestro país
puede ser mejor.*

A Sari, mi madre, con todo mi amor

A Daniel y Ulises

*“ Y a la puerta de la ciencia, como a la del infierno, debiera estamparse esta
consigna: Déjese aquí cuanto sea recelo, mátese aquí cuanto sea vileza”*
K. Marx.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México y al Instituto de Ciencias del mar y Limnología, por permitirme cursar mis estudios de maestría, y hacer uso de sus instalaciones.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la oportunidad de realizar la maestría a través del otorgamiento de una beca-crédito.

A la Academia Mexicana de Ciencias por incluirme en sus programas de fortalecimiento del posgrado, que han sido determinantes para la continuación de mi crecimiento académico y muy especialmente al Dr. Saúl Villa Treviño y a sus colaboradoras por todo su apoyo y todas sus atenciones.

A Petróleos Mexicanos por el financiamiento de esta investigación a través del Convenio PEMEX-UNAM, PEP 002/96.

A mi director de tesis el Dr. Felipe Vázquez Gutiérrez, ICMYL, por su confianza, por su interés y por la oportunidad para realizar esta investigación.

Al M. en C. Jorge M. Romero Jarero, ICMYL, por abrirme las puertas de su laboratorio y por sus consejos siempre encaminados a mejorar la investigación.

Al M. en C. Alberto de Jesús Navarrete, ECOSUR-Chetumal, por el interés que siempre ha mostrado por mi superación académica y en particular por este trabajo.

Al M. en C. Elpidio García de la Fac. de Química por las facilidades otorgadas para las lecturas de las muestras de material marcado y por sus valiosos comentarios que en mucho enriquecieron este trabajo.

Al M. en C. Luis Cabrera de la Fac. Química por sus enseñanzas en el uso y manejo de material radiactivo.

A la Biól. Johanna Morales Whitney y a la Ocean. Quím. Judith Marmolejo por enseñarme la técnica para la determinación de hidrocarburos en sedimentos y por orientarme repetidamente en mis dudas con relación a la cromatografía de gases.

A la Dra. Vivianne Solís Wolfowitz, ICMYL, por permitirme estar en su laboratorio procesando muestras, y por su constante motivación.

Al M. en I. Gabriel A. Alonzo Díaz, I.I., por la ayuda proporcionada para el manejo estadístico de los datos.

Al Téc. Académico Orlando Palacios del Instituto de Ingeniería por la toma de fotografías en el microscopio electrónico de barrido.

Al personal de la biblioteca del ICMYL por estar siempre dispuestos a ayudar, gracias.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, Sarita y Pepe por darme la vida, apoyarme, amarme y por enseñarme a amar a mi país.

A mi Gabriel por estar siempre a mi lado, motivarme, ayudarme y amarme.

A mis hermanos, José Francisco y Elisa A. por darme su cariño y a sus parejas Miriam y Daniel por ser siempre respetuosos.

A Dany y Uly por su amor y también por enseñarme el dolor de la separación.

A Aaroncito, Monsy y Sarita por darme alegría y esperanza.

Al abuelo Cáceres por su cariño y por respetar mis decisiones aún cuando no esté de acuerdo.

A mis amigos Arturo Bernal, Alberto de Jesús, Alejandro Granados, Silvia Rojas, Claudia Méndez, Onia Castañeda, Carmen Hernández, Isabel Quintana, Armando Ambris, Andrea Raz-Guzmán, Rosita Florido, Pilar Peralta, Jaqueline Herrera, Johanna Morales, Héctor Alexander y Lupita Salvador por enseñarme el valor de la amistad a pesar de nuestras diferencias.

INDICE	Página
LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABLAS	iv
RESUMEN	v
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO 1 MARCO TEÓRICO	3
CAPÍTULO 2 ANTECEDENTES	9
CAPÍTULO 3 ÁREA DE ESTUDIO	11
CAPÍTULO 4 OBJETIVOS	15
CAPÍTULO 5 METODOLOGÍA	16
5.1 Experimentos de pastoreo	16
5.2 Procesamiento de muestras de meiofauna	17
5.3 Análisis de datos experimentales de pastoreo	18
5.4 Cálculo de la tasa de pastoreo	19
5.5 Tasa de degradación de un cultivo mixto de bacterias	21
5.6 Curva de crecimiento bacteriano	22
5.7 Muestras para microscopio electrónico de barrido	22
5.8 Extracción de hidrocarburos y cromatografía de gases	23
CAPÍTULO 6 RESULTADOS	27
6.1 Experimentos de pastoreo	27
6.2 Cálculo de la Tasa de pastoreo	38
6.3 Tasa de degradación de hidrocarburos	43
6.4 Microscopía electrónica	51
6.5 Curva de crecimiento	52
CAPÍTULO 7 DISCUSIÓN DE RESULTADOS	53
7.1 Composición y abundancia	53
7.2 Marcaje y biomasa	56
7.3 Tasas de pastoreo meiofaunal sobre bacterias	58
7.4 Tasas de degradación bacteriana de hidrocarburos	63
CONCLUSIONES	66
RECOMENDACIONES	67
REFERENCIAS	68

LISTA DE FIGURAS

Página

Figura 1.- Estructuras químicas de algunos hidrocarburos alifáticos y aromáticos del petróleo.	5
Figura 2.- Diagrama de los procesos más importantes que experimenta un derrame de crudo en el océano.	5
Figura 3.- Rutas metabólicas básicas involucradas en el metabolismo de los alcanos.	6
Figura 4.- Reacciones iniciales en la biodegradación del naftaleno realizadas por bacterias.	8a
Figura 5.- Ubicación de las estaciones de muestreo durante la campaña oceanográfica SGM-3 en marzo de 1997.	14
Figura 6.- Análisis de Olmstead-Tukey para la meiofauna de las dos localidades de colecta.	29
Figura 7.- Representación gráfica de la relación entre el marcaje de los organismos de la meiofauna, y su biomasa en los diferentes experimentos.	30
Figura 8.- Correlaciones de las biomásas y el marcaje corporal de los poliquetos en los controles en las dos localidades de muestreo indicadas. Las curvas representan los datos estimados.	32
Figura 9.- Correlaciones del marcaje y la biomasa corporal de los foraminíferos en los controles en las dos localidades de muestreo indicadas. Las curvas representan los ajustes a los datos observados.	32
Figura 10.- Correlaciones del marcaje y la biomasa de los nematodos en los controles de los bioensayos en las dos localidades de muestreo indicadas. Las curvas representan los ajustes a los datos observados.	33
Figura 11.- Correlaciones de la biomasa de los poliquetos y su marcaje en las réplicas de los experimentos realizados en las localidades de muestreo indicadas. Las curvas representan los ajustes a los datos observados.	33
Figura 12.- Relación de la biomasa y dpm ^{14}C de los foraminíferos en los bioensayos realizados en las localidades de muestreo indicadas. Las curvas representan los ajustes a los datos observados.	35
Figura 13.- Relación de la biomasa y dpm ^{14}C de los nematodos en los bioensayos realizados en las localidades de muestreo indicadas. Las curvas	35

representan los ajustes a los datos observados.

Figura 14.- Relación de la biomasa y los marcajes de los poliquetos. Las curvas muestran los ajustes de los bioensayos controles, y los rombos representan a los organismos obtenidos en los experimentos en las dos localidades de muestreo indicadas. 36

Figura 15.- Relación de la biomasa y las dpm ^{14}C de los foraminíferos. Las curvas muestran los ajustes de los bioensayos controles, y los rombos representan a los organismos obtenidos en los experimentos en las dos localidades de muestro indicadas. 36

Figura 16. Relación de la biomasa y las dpm ^{14}C de los nematodos. Las curvas muestran los ajustes de los bioensayos controles, y los rombos son los organismos obtenidos en los experimentos en las dos localidades de muestreo indicadas en la gráfica. 37

Figura 17. Cromatogramas del dodecano remanente en sedimentos de arena-limo después de 30 días de incubación. (a) control sin inóculo; (b) réplica con inóculo. 44

Figura 18. Cromatogramas del dodecano remanente en sedimentos de limo-arena después de 30 días de incubación. (a) control sin inóculo; (b) réplica con inóculo. 45

Figura 19. Cromatogramas del naftaleno remanente en sedimentos de arena-limo después de 30 días de incubación. (a) control sin inóculo; (b) réplica con inóculo. 46

Figura 20. Cromatogramas del naftaleno remanente en sedimentos de limo-arena después de 30 días de incubación. (a) control sin inóculo; (b) réplica con inóculo. 47

Figura 21. Tasas de degradación (%/30 d.) de los hidrocarburos del petróleo en bioensayos de laboratorio con un cultivo mixto de bacterias degradadoras de petróleo en dos tipos de sedimento. 48

Figura 22. Cromatogramas de los hidrocarburos remanentes del petróleo crudo adicionado a sedimentos de arena-limo, después de 30 días de incubación de un cultivo mixto de bacterias hidrocarbonoclastas, bajo condiciones de laboratorio. (a) control sin inóculo; (b) réplica con inóculo. 49

Figura 23. Cromatogramas de los hidrocarburos remanentes del petróleo crudo adicionado a sedimentos de limo-arena, después de 30 días de incubación de un cultivo mixto de bacterias hidrocarbonoclastas, bajo condiciones de laboratorio. (a) control sin inculo; (b) réplica con inculo.	50
Figura 24. Microfotografías electrónicas de barrido de un cultivo mixto de bacterias degradadoras de petróleo (<i>Pseudomonas sp</i> y <i>Aeromonas calco</i>) en tres diferentes medios de cultivo a 30 días de incubación.	51
Figura 25. Curva de crecimiento del cultivo mixto de bacterias degradadoras de petróleo en agua de mar con petróleo crudo.	52

LISTA DE TABLAS	Página
Tabla 1.- Estándares externos usados como referencia para realizar la identificación y cuantificación de los hidrocarburos del petróleo en los bioensayos.	25
Tabla 2.- Densidad y biomasa de los grupos taxonómicos encontrados en el análisis faunístico de sedimentos.	27
Tabla 3.- Ecuaciones de las curvas de ajuste significativos de los datos de los bioensayos y sus controles para los taxones con mayor abundancia.	37
Tabla 4.- Marcaje (dpm) de los organismos de la meiofauna y de los sedimentos en los diferentes bioensayos de pastoreo realizados durante la campaña SGM-3 en las estaciones 38 y 51.	38
Tabla 5.- Resultados de la prueba de Dunnett realizada para contrastar la hipótesis de que el marcaje de la meiofauna en los experimentos es mayor que en los controles y en los sedimentos.	39
Tabla 6.- Tasa de pastoreo (G) para cada bioensayo calculada a partir de la incorporación neta de bacterias (B) y meiofauna (M) en los experimentos de pastoreo.	39
Tabla 7.- Abundancia y dpm^{14}C de los organismos encontrados en las dos estaciones de colecta.	42
Tabla 8. Tasas de degradación (%30 d) de dos hidrocarburos puros adicionados a sedimentos colectados en la Sonda de Campeche e inoculados con un cultivo mixto de <i>Pseudomonas sp</i> y <i>Aeromonas calco</i> incubados durante 30 días bajo condiciones de laboratorio.	43
Tabla 9. Tasas de degradación (%30d) de los hidrocarburos del petróleo crudo maya añadido a un cultivo mixto de <i>Pseudomonas sp</i> y <i>Aeromonas calco</i> en dos tipos de sedimento colectados durante la campaña SGM-3	48
Tabla 10. Tasas de pastoreo de la meiofauna (cél.h^{-1}) estimadas por diversos autores en diferentes regiones.	62

RESUMEN

La utilización de los hidrocarburos como fuente de carbono, tanto para las bacterias, como para sus pastoreadores fue evaluada. Se estimaron las tasas de pastoreo de la meiofauna colectada en la Sonda de Campeche, usando dodecano- ^{14}C y naftaleno- ^{14}C como marcadores radiactivos. Los organismos de la meiofauna se alimentaron activamente en presencia del dodecano- ^{14}C . De acuerdo a los experimentos realizados y considerando una alimentación selectiva sobre bacterias degradadoras de petróleo, la tasa de pastoreo en la zona de plataformas petroleras fue de 34.34 cél/h y en la localidad alejada de esta zona fue de 2.06×10^{-4} cél/h; que expresado en términos de carbón equivale a 6.86×10^{-4} ngC/h y 4.12×10^{-9} ngC/h respectivamente.

En estudios de laboratorio se estimaron tasas de degradación de dodecano de 93 %/30d en promedio, y 45 %/30d para el naftaleno. Estas tasas fueron estimadas para un cultivo mixto de *Pseudomonas sp* y *Aeromonas calco* ambas procedentes de la Sonda de Campeche. En cuanto al crudo, degradaron 53% /30d de los alifáticos mientras que los aromáticos fueron degradados en un 25 %/30 d.

Estos resultados sugieren una utilización activa de los hidrocarburos alifáticos como una fuente alternativa de carbono, así como una adaptación en los organismos de la meiofauna a los aportes de hidrocarburos alifáticos en la región de plataformas petroleras.

INTRODUCCIÓN

Durante los últimos veinte años la intensa actividad petrolera en el Golfo de México y particularmente en la Sonda de Campeche, ha aumentado el interés por conocer los efectos negativos que esta actividad genera en el ecosistema marino, debido a que esta zona rica en energéticos; también lo es en diversidad biológica y de habitats.

Como parte de estos trabajos resaltan los de Lizárraga-Partida, *et al.* (1982; 1986; 1991) quienes señalan que los hidrocarburos incrementan las abundancias de las bacterias hidrocarbonoclastas en los sedimentos, especialmente en la zona de plataformas petroleras, aunque en realidad estos autores no realizaron análisis para determinar las concentraciones de hidrocarburos presentes en los sedimentos. Herrera-Rodríguez (1992) y De Jesús-Navarrete (1989) realizaron análisis de las concentraciones de hidrocarburos totales y las relacionaron con la abundancia de nematodos. Estos autores señalan que la abundancia de algunas especies de nematodos está favorecida por las altas concentraciones de estos hidrocarburos.

Raz-Guzmán-Macbeth, (1995) por otro lado, propone que la materia orgánica que la Laguna de Términos exporta, no es precisamente la que sostiene la biomasa béntica de la Sonda de Campeche, debido a que es acarreada por la corriente de lazo hacia el norte del Golfo de México, en controversia con lo que durante años se ha dicho y publicado con relación a que la Laguna de Términos contribuye de manera directa a mantener la producción pesquera de la Sonda de Campeche (Yañez-Arancibia y Day, (1982); Yañez-Arancibia y Aguirre-León (1982); sin dejar de un lado la importancia de la producción fitopláncctica (Botello, *et al.* 1992), ante esto, surge la interrogante, la cual no ha sido respondida hasta la fecha, en cuanto a sí los hidrocarburos del petróleo pueden estar siendo utilizados como fuente de carbono por las comunidades bénticas, directamente por las bacterias, e indirectamente por organismos que se alimentan de ellas.

Están sentadas las bases para responder esta pregunta ya que la presencia de plásmidos en algunas especies bacterianas del Golfo de México señala su potencial como degradadoras de petróleo (Yañez-Soria, 1995) sin embargo, es deseable conocer cuanto de esta fuente de carbono consumen, asimismo es necesario evaluar cómo esta biomasa es pastoreada por organismos que la utilizan como recurso trófico, tal es el caso de la meiofauna, cuya distribución y abundancia se han relacionado con la biomasa bacteriana en el área de estudio (Falcón-Alvarez, 1998), y cuya importancia como remineralizadora y proveedora de biomasa a las cadenas macroscópicas en el ambiente marino ha sido ampliamente discutida (Brown- MacLachlan, 1990).

Por lo anterior se utilizó la técnica de radioisótopos para evaluar el pastoreo de bacterias marcadas con hidrocarburos- ^{14}C *in situ* ya que esta técnica ofrece resultados confiables bajo las condiciones requeridas para la experimentación y manejo de los organismos (Montagna, 1993) adicionalmente los bioensayos en laboratorio y la cromatografía de gases proporcionaron información para la estimación de las tasas de degradación bacteriana de hidrocarburos.

Los resultados obtenidos se ven limitados por una serie de factores entre los que las respuestas biológicas por hacinamiento y cambio de ambiente físico jugaron un papel importante, además de las limitaciones que los propios métodos imponen, por lo que se requiere incrementar el número de localidades, por ésto, los resultados que se exponen son de carácter preliminar sin que ello disminuya su relevancia. Así, representan los únicos datos disponibles sobre los procesos de alimentación de la meiofauna en la Sonda de Campeche que además se relacionan con la utilización de los hidrocarburos.

De acuerdo a los resultados obtenidos se estima que la meiofauna de la Sonda de Campeche estudiada, retiró pequeñas cantidades de carbón por hora del sistema, mediante el pastoreo de bacterias que se presume consumieron hidrocarburos, de acuerdo a los experimentos *in situ*. En laboratorio, por otra parte, se estimó que del cincuenta al cien por ciento de los alifáticos fueron degradados por un cultivo mixto de *Pseudomonas sp* y *Aeromonas calco* previamente aisladas de la Sonda de Campeche (Yañez-Soria, 1995) a los 30 días de incubación, así como cerca de dos terceras partes de los aromáticos presentes. Los resultados de laboratorio apoyan los resultados obtenidos en los experimentos *in situ*, ya que tanto en laboratorio como en campo se observó una preferencia por los alcanos. Por esto, la utilización de los hidrocarburos como fuente alternativa de carbono quedó una vez más demostrada, pero esta vez con datos cuantitativos y se sugiere que los recursos energéticos deben de ser considerados para hacer el balance de materia y energía de la porción suroccidental del Golfo de México.

MARCO TEÓRICO

En este capítulo se pretende enmarcar una serie de conocimientos que han servido de fundamento para la realización de este trabajo. Por ello, los diferentes temas que se abordan no son tocados a profundidad, sin embargo, para cada uno de ellos se consideran los puntos de mayor relevancia.

El petróleo

El petróleo es una mezcla líquida de compuestos orgánicos, en la cual predominan los hidrocarburos (Figura 1). Esta mezcla es producida por la acción de altas presiones y temperaturas sobre el material biológico, principalmente marino, en escalas de tiempo geológico (Morgan y Watkinson, 1994). La composición del petróleo crudo puede variar ampliamente dependiendo de la fuente del material biológico, de las variaciones en la presión y la temperatura sobre este material, asimismo de la estructura y composición química de las rocas, y de su migración durante la formación de los yacimientos (GESAMP, 1993).

Los hidrocarburos son los principales constituyentes del petróleo, pero también hay compuestos derivados que presentan azufre, oxígeno y nitrógeno, también conocidos como compuestos NSO, asimismo otros compuestos con complejos enlaces orgánicos con níquel, vanadio y cobalto, se encuentran en la mezcla. Los dos primeros metales son los más abundantes y pueden estar presentes como metales libres o bien formando complejos núcleos en las porfirinas (Clark y Brown, 1977). Adicionalmente los asfaltenos representan una fracción importante del petróleo llegando a constituir hasta el 20% de la mezcla (Botello, 1996).

El petróleo sufre una serie de transformaciones en su composición al exponerse al ambiente, y estas transformaciones continúan hasta alcanzar un equilibrio termodinámico con el medio (Payne y Phillips, 1985). En el ambiente marino la degradación del petróleo depende de factores físicos, químicos y biológicos. Al ocurrir un derrame por ejemplo, el oleaje y el viento favorecen la emulsificación; los componentes que son volátiles se evaporan, los compuestos que son en cierto grado solubles entran en fase acuosa y la energía de los fotones favorece las reacciones de oxidación, descomposición y polimerización en la capa superficial iluminada.

Algunos productos de la foto-oxidación de los componentes del petróleo han sido identificados como derivados de los tetrahidronaftoles, alquifenoles, ácidos carboxílicos (Larson *et al.*, 1979). Entre otros compuestos se presentan los carbonil de bajo peso molecular tales como la acetona, acetaldehído y formaldehído (Ehrhardt y Weber, 1991).

En solución acuosa los hidrocarburos son dispersados, incorporados en las tramas tróficas, absorbidos en los sólidos suspendidos facilitando así su sedimentación. Asimismo, ya en forma particulada los componentes del petróleo son degradados microbiológicamente (Fig. 2).

Los microorganismos

La degradación microbiológica del petróleo y de sus constituyentes en el mar es un mecanismo importante, pero es muy variable. Hay aproximadamente 25 géneros de bacterias incluyendo varias especies de *Pseudomonas* (Atlas, 1995) y hongos con esta capacidad. La proporción de éstas especies con el total de la comunidad heterotrófica varía ampliamente y en el mar pueden representar menos del 1% de la comunidad bacteriana en lugares sin contaminación por petróleo (Atlas, 1981).

Las tasas de biodegradación se ven afectadas por factores como la temperatura, la concentración de oxígeno, nutrientes (Floodgate, 1972), salinidad, presión, movimiento de agua intersticial en los sedimentos, el pH y por las características particulares de los componentes del petróleo (GESAMP, 1993).

Los mecanismos de las bacterias para degradar los hidrocarburos han sido ampliamente estudiados en un reducido número de organismos. En algunas bacterias este proceso es factible gracias a la presencia de plásmidos que codifican para proteínas involucradas en este proceso (Morgan y Watkinson, 1994).

Las rutas metabólicas encontradas para alcanos pueden observarse en la figura 3, la más común involucra a una alcano-hidroxilasa (monoxigenasa) y el alcohol producido es oxidado de nuevo por una alcohol deshidrogenasa para producir un ácido graso. Los ácidos grasos producidos por todas las rutas son rápidamente metabolizados por β -oxidación, en algunos casos los ácidos grasos pueden ser directamente incorporados en las membranas celulares (Morgan y Watkinson, 1994). Dentro de los compuestos aromáticos, el naftaleno es el que ha recibido mayor atención durante los últimos años en cuanto al estudio de su degradación bacteriana, debido a su amplio

uso en la industria (Rojas-Tellez, 1997). La ruta biodegradativa empleada por la mayoría de los microorganismos se muestra en la figura 4.

La meiofauna

La capacidad de los microorganismos de proporcionar compuestos esenciales, tales como los ácidos grasos, aminoácidos y proteínas, que pueden ser limitantes para el crecimiento de algunos animales, ha ocasionado un interés creciente por investigar cómo se da la ingestión selectiva y absorción de bacterias y microalgas por diferentes grupos de organismos. Las técnicas con marcadores han sido utilizadas ampliamente en este tipo de estudios con la meiofauna debido a su elevada sensibilidad a la detección de la absorción de estos organismos tan pequeños (Montagna, 1993).

La atención de este tipo de estudios se ha centrado en sistemas intersticiales, ya que su función más importante es la remineralización de materiales orgánicos disueltos o particulados por medio de sus tramas alimentarias, que en su base tienen a las bacterias heterotróficas y en los demás niveles tróficos a los componentes meiofaunales (Brown y MacLachlan, 1990); Ellis y Coull, 1989; Warwick *et al.*, 1986).

Estos sistemas funcionan como un filtro biológico a la vez que la meiofauna constituye la fuente de energía que llega a las cadenas macroscópicas al ser consumida por especies de macrofauna, entre las que se encuentran crustáceos (Ellis y Coull, 1989), poliquetos (Warwick, *et al.*, 1986), y peces demersales (Osorio-Dualiby, 1988) que depredan en los primeros centímetros de la columna de sedimento.

La meiofauna está constituida por prácticamente todas las especies de metazoarios, e incluye algunas especies de macrofauna. Los componentes principales son los nematodos y copépodos harpaticoides, mientras que los protozoarios están representados por sus formas más grandes como los foraminíferos y ciliados. Estos organismos son de tallas entre los 0.30 mm y 0.62 mm (Hulings y Gray, 1971).

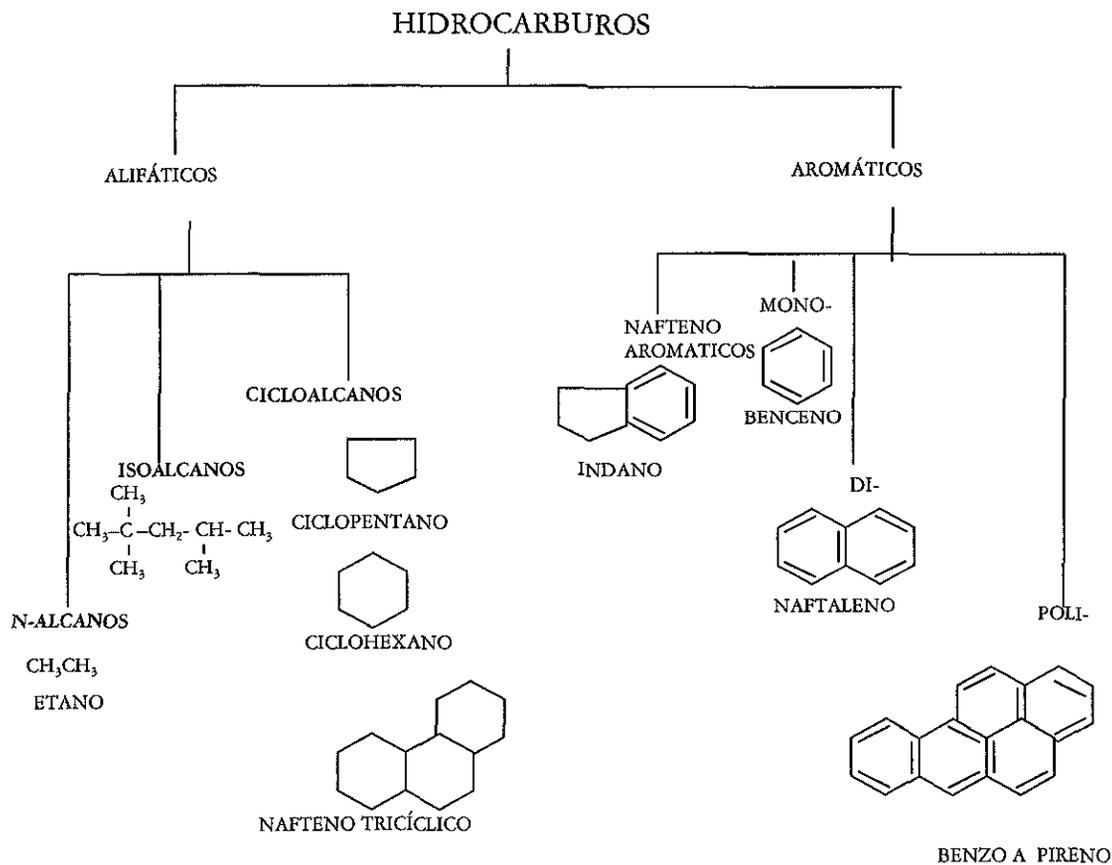


Figura 1. Estructuras químicas de algunos hidrocarburos alifáticos y aromáticos del petróleo de acuerdo a Miller y Connell (1982.Citado por Morgan y Watkinson, 1994).

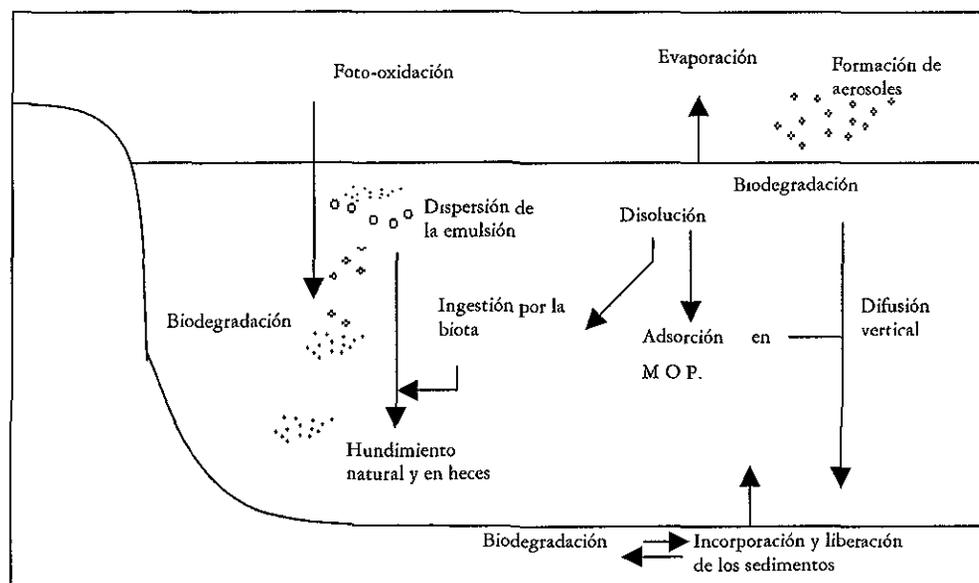


Figura 2. Diagrama de los procesos más importantes que experimenta un derrame de crudo en el océano (modificado de GESAMP, 1993).

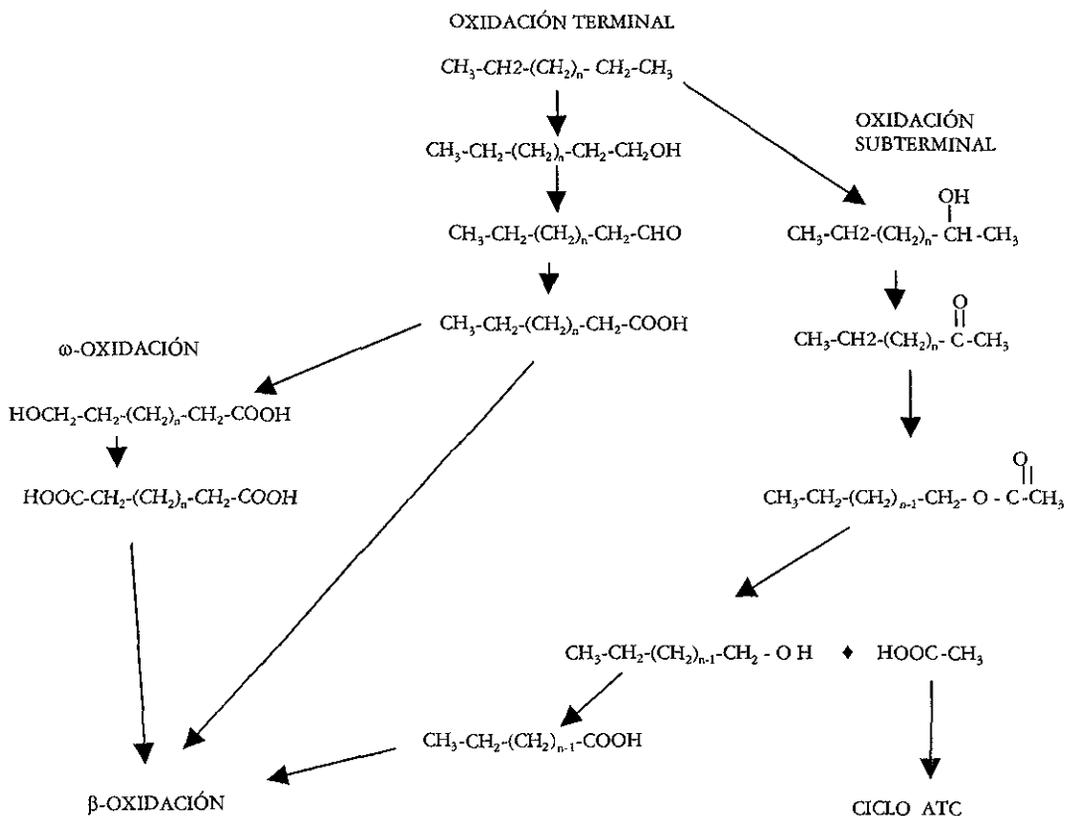


Figura 3. Rutas metabólicas básicas de bacterias involucradas en el metabolismo de los alcanos (Morgan y Watkinson, 1994).

La distribución de la meiofauna depende de un gradiente químico que se genera en la columna de sedimento como resultado de la entrada de agua con concentraciones de materia orgánica, que al ser elevadas aumentan la demanda de oxígeno y en tanto pueden generarse tres capas. La primera y más superficial oxigenada, en la que el N y el S se encuentran en sus estados oxidados; posteriormente una capa o zona de transición en la que las condiciones de oxidación pasan a condiciones de reducción y por último una capa reductora caracterizada por la presencia de compuestos tóxicos reducidos (Brown y McLachlan, 1990). Sin embargo en lo referente al efecto de la materia orgánica en distribución horizontal o espacial ha opiniones que divergen.

En la revisión de una década que Salazar-Vallejo, (1991) realizó, se expone de manera muy clara la controversia que el trabajo de Raffaelli y Mason, (1981) ocasionó al proponer, la proporción nematodo/copépodo como indicador de contaminación por materia orgánica después de realizar un muestreo en playas inglesas. Esta propuesta se basó en que los nematodos sobrepasan numéricamente a los copépodos en playas limpias de arena fina ya que, los copépodos son más sensibles a la contaminación e hipoxia y los nematodos sedimentívoros responden con aumentos en la abundancia ante el aporte de materia orgánica.

Coull y Chandler (1992) señalan que la abundancia de los nematodos no tiene una respuesta uniforme al incremento mientras que otras veces se presenta una disminución, pero Austen, McEvoy y Warwick (1994) han sugerido que el hecho de la disminución de abundancia de los nematodos no se debe a la contaminación por materia orgánica sino a contaminación tóxica por metales, como ya lo habían señalado Sandulli y de Nicola Giudici (1989).

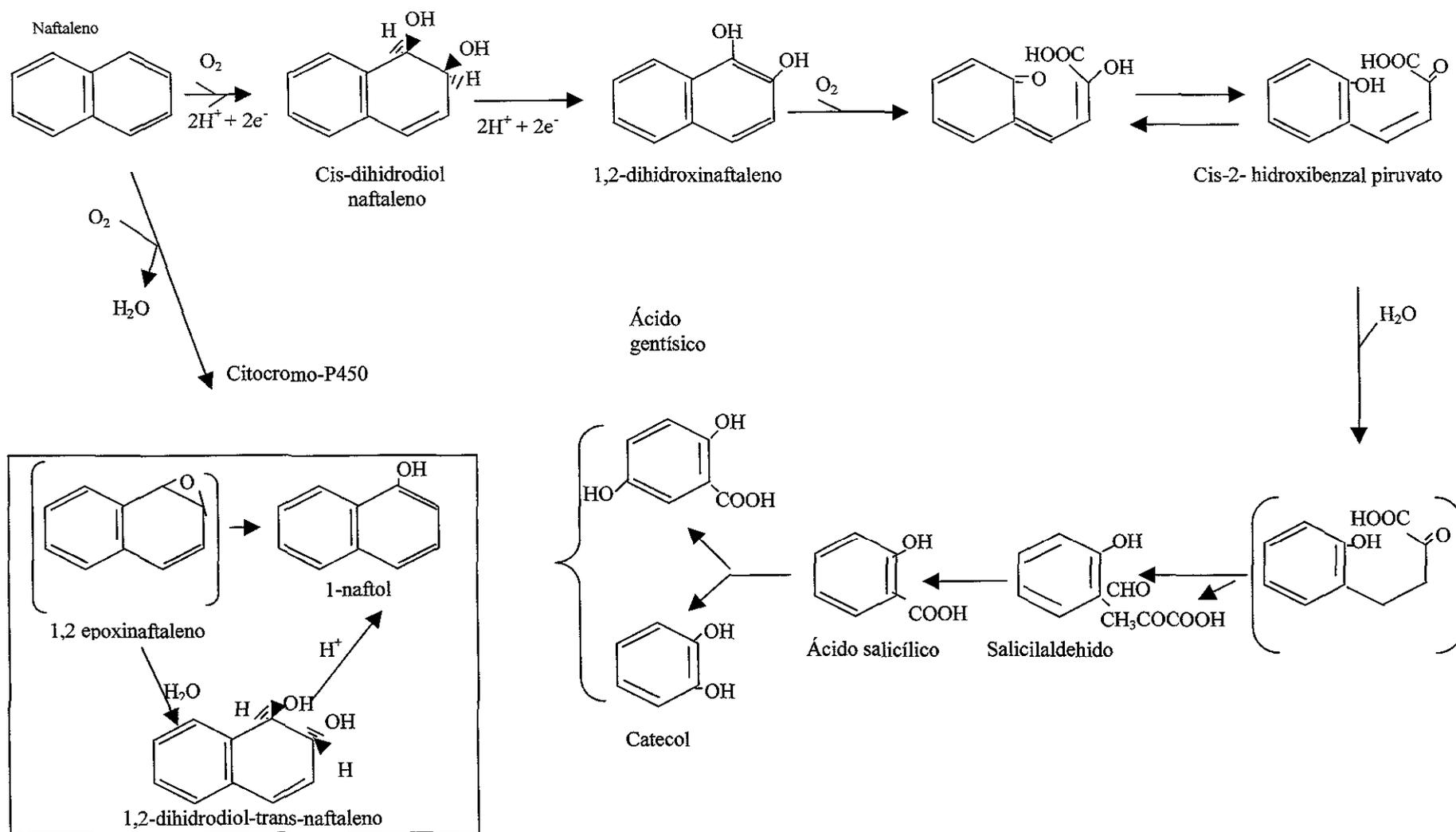


Figura 4. Reacciones iniciales de la biodegradación del naftaleno realizadas por bacterias (Smith, 1994).

ANTECEDENTES

La Sonda de Campeche y la Laguna de Términos han sido ampliamente estudiados en cuanto a taxonomía y ecología de las especies, y en menor grado los sistemas fluvio lagunares deltaicos. El desarrollo de estos trabajos dio inicio a partir de 1979 con el derrame del pozo Ixtoc-I. De los estudios relacionados con los efectos de los hidrocarburos sobre el ambiente marino se puede reconocer tres grupos:

Los trabajos que describen la distribución y variación de las concentraciones de hidrocarburos y metales relacionados con éstos, entre los que destacan los trabajos Vázquez et al., (1993); Vázquez et al., (1997); Vázquez et al., (1998) para agua, sedimentos y organismos en el sur del Golfo de México y los sistemas lagunares de Campeche y Tabasco, así como los González-Estrada, (1990) y Díaz-González, (1992) de hidrocarburos alifáticos y aromáticos en sedimentos recientes de la Sonda de Campeche.

Un segundo grupo que describe los posibles efectos de la contaminación por hidrocarburos en los organismos, como en el caso de Soto et al. (1981) sobre las poblaciones de camarón en la plataforma de Campeche; Rodríguez-Romero (1992) sobre ciertas anomalías cromosómicas en el ostión *Crassostrea virginica*.

Por último, un tercer grupo de estudios se relaciona con la búsqueda de especies indicadoras de contaminación por hidrocarburos, así como estudios genéticos de bacterias hidrocarbonoclastas en sedimentos marinos de Campeche (Leahy et al. 1990). Lizarraga-Partida et al. (1982; 1991) propusieron tomar el cociente de bacterias hidrocarbonoclastas/heterótrofas, como índice de impacto por petróleo crudo, debido a que el número de bacterias con capacidad de degradar petróleo se incrementa en áreas con este tipo de contaminación. Por otra parte Caballero-Rodríguez et al. (1992) señalaron que la disminución de trematodos en peces en la Sonda de Campeche podría ser resultado de la contaminación por hidrocarburos. En cuanto a la meiofauna, su distribución y abundancia están determinadas por la interacción de diversos factores bióticos y abióticos que constituyen su hábitat dentro del ecosistema marino (Giere, 1993). La presencia de hidrocarburos ha mostrado ser un factor importante en la distribución de las abundancias de algunas especies de nematodos en la Sonda de Campeche (De Jesús-Navarrete, 1989; Herrera-Rodríguez, 1992).

Sin embargo, en el área de estudio, existen escasos trabajos que busquen la comprensión del funcionamiento del ecosistema a partir del uso de herramientas experimentales, que permitan obtener información de las interacciones entre organismos y su ambiente, para futuras predicciones. Esta carencia de información al respecto, se ve reflejada especialmente en lo que se refiere al conocimiento de las tasas de utilización y degradación bacteriana de hidrocarburos, así como del consumo de la biomasa bacteriana producida a partir de este proceso, en un nivel superior en la trama trófica, como es el caso de los consumidores de depósito.

Por tal motivo, este trabajo de carácter experimental pretende contribuir al acervo de información disponible acerca del funcionamiento del ecosistema por medio del conocimiento de uno de los procesos de transporte de energía generada por la degradación de petróleo a través de las tramas tróficas bénticas.

ÁREA DE ESTUDIO

México cuenta con aproximadamente 11 500 km de litoral y 2×10^6 km² de zona económica exclusiva, de los cuales el Golfo de México constituye alrededor del 30 %. Este ecosistema posee condiciones únicas que lo ubican como una zona de gran importancia ecológica y económica debido a la gran diversidad de especies que lo habitan, además del creciente desarrollo industrial tanto pesquero como petrolero que ahí converge (Botello, *et al.*, 1992).

En cuanto al origen del Golfo de México, Ayala-Castañares y Gutiérrez-Estrada, (1990) señala que es un área geológicamente antigua que ha experimentado movimientos verticales descendentes; es una cuenca formada por hundimiento, cuya reducción y hundimiento están asociados con el crecimiento que las plataformas carbonatadas de Campeche y Florida presentaron durante el Cretácico.

En la porción sur del golfo se ubica la Sonda de Campeche, como parte de la plataforma continental al noroeste de la Península de Yucatán. Se extiende en un área cercana a los 90 000 Km², desde aproximadamente los 200 m de profundidad hasta la línea de playa (Ayala-Castañares y Gutiérrez-Estrada, (1990), se divide al noroeste de la península de Yucatán en el Golfo de Campeche y el banco de Campeche.

La plataforma continental de la Sonda de Campeche tiene una pendiente suave en la que son distinguibles dos facies, una carbonatada al este y otra terrígena al oeste (Campos-Castán, 1981), la región de transición entre estas dos facies se ubica al frente de la Laguna de Términos (Yañez-Arancibia y Sánchez-Gil, 1986).

La dinámica oceánica está descrita por la corriente de lazo que se presenta en el Golfo de México al este a través del canal de Yucatán, y gira hacia el estrecho de Florida. Esta corriente fluye al EN a lo largo del litoral de Cuba con velocidad de 0.5 m.s^{-1} y otra porción ingresa al Golfo de México al oeste por la Bahía de Campeche, donde el Canal de Yucatán vierte sus aguas en forma alternante con velocidades de 2.5 m.s^{-1} y se distribuye en todas las direcciones (Salas-de León, *et al.*, 1991; Ayala-Castañares y Gutiérrez-Estrada, (1990). Un giro anticiclónico se desprende y se desplaza al oeste hacia Tampico así como un conjunto de giros ciclónicos más pequeños localizados en el norte del Golfo y en el sur en la Bahía de Campeche (Salas-de León, *et al.*, 1991). La presencia de pares ciclones-anticiclones constituye un fenómeno oceanográfico vital en la hidrodinámica del Golfo de México. La circulación inducida por estos giros determina la

distribución de las propiedades fisicoquímicas de las masas de agua del Golfo, desde la superficie hasta la capa profunda. El conocimiento de este fenómeno circulatorio es básico para poder determinar, entre otras cosas, la productividad del Golfo, su potencial pesquero y la dispersión de contaminantes (Vidal *et al.*, 1994).

La Sonda de Campeche además de la masa de agua del mar Caribe se encuentra influenciada también por procesos costeros, aportes de aguas del sistema Grijalva-Usumacinta y por la Laguna de Términos (Armstrong y Grady, 1967).

IMPORTANCIA ECONÓMICA

El Golfo de México es importante para la economía de México debido a que en él se realizan diversas actividades entre las que destacan: a) la exploración, extracción, procesamiento, distribución y comercialización de hidrocarburos; b) actividades de la industria pesquera y movimientos de complejos portuarios, de la industria y del comercio. Por citar cifras, los puertos del Golfo de México mueven el 75 % del tonelaje de embarque de exportaciones e importaciones mexicanas (Vidal *et al.*, 1994).

Dentro de la industria petrolera, más del 96 % del petróleo crudo y 80 % de la producción nacional de gas se originan en el Golfo de México y su planicie costera, la zona marina de Campeche aporta el 80% de la producción petrolera de México, y la mayoría de las instalaciones para el procesamiento del petróleo crudo y del gas natural se localizan en las costas del Golfo de México (Vázquez, *et al.*, 1997).

La carga y descarga de hidrocarburos tiene una participación preponderante. Los grandes complejos portuarios de Galveston, Houston, Nueva Orleans, Corpus Christi y Brownsville en el litoral de los Estados Unidos y los puertos de Veracruz, Tampico-Madero, Coatzacoalcos-Minatitlán, Cayo Arcas y Dos Bocas en el litoral mexicano movilizan petróleo crudo, gas natural, ácidos, álcalis, glicoles, nitratos, fenoles, etileno, propileno y materias primas, como el azufre y el fósforo (Botello, *et al.*, 1992). El intenso movimiento entre estos puertos y los de la costa del Pacífico de ambos países y los de Europa y el sudeste asiático hacen del Golfo de México una zona estratégica e indispensable para la navegación (Vidal *et al.*, 1994).

La industria pesquera por otra parte obtiene una contribución del Golfo de México de aproximadamente 500 millones de dólares anuales y da empleos a 2 millones quinientos mil trabajadores. Estos recursos provienen de la explotación de escama tales como: mojarra, huachinango, pargo, mero y sierra, y moluscos bivalvos como el ostión principalmente; pero la

pesquería más importante es la del camarón; que tan sólo en la Sonda de Campeche representa el 50 % del volumen de pesca nacional, el 66 % de las exportaciones y el 2.3 % de la producción mundial de camarón. Así México ocupa el duodécimo lugar mundial de esta importante pesquería (SEMARNAP, 1996).

IMPORTANCIA ECOLÓGICA

La elevada productividad biológica en el Golfo de México puede estar determinada por las temperaturas superficiales del agua que son superiores a los 20 °C, su luminosidad favorable para la flora y fauna, su alta productividad fitopláctica y la abundancia de zooplancton (Botello *et al.*, 1992). Asimismo, la gran diversidad de hábitats en los pantanos costeros, en los pastos marinos, el manglar, las lagunas costeras, los estuarios y las bocas estuarinas que comunican con el mar a las aguas costeras protegidas favorecen la diversidad biológica existente en la zona (Botello *et al.*, 1992).

El 62 % de la descarga fluvial del país se encuentra en el Golfo de México, el 70 % de los ríos, estuarios, lagunas y pantanos costeros tropicales asociados están localizados en esta región del país. En 1988 Contreras publicó la existencia de 23 sistemas lagunares estuarinos para el litoral del Golfo de México. Campeche por su parte, contribuye con el 37 % de estos sistemas, que junto con los sistemas de Tabasco, tienen una estrecha relación con los bancos camaroneros del Golfo (Botello, *et al.*, 1992). Los principales ríos que desembocan en la Laguna de Términos son el Palizada, el Chumpan y el Candelaria (Raz-Guzman-Macbeth, 1995) y representan la fuente principal de materia orgánica, sedimentos y nutrientes para la Laguna de Términos y la Sonda de Campeche (Rojas-Galavíz *et al.*, 1990). En la Sonda de Campeche se localiza más de la mitad de los peces demersales, el 40 % de los moluscos y el 20 % de los tónidos existentes en las aguas costeras de México (Botello *et al.*, 1992).

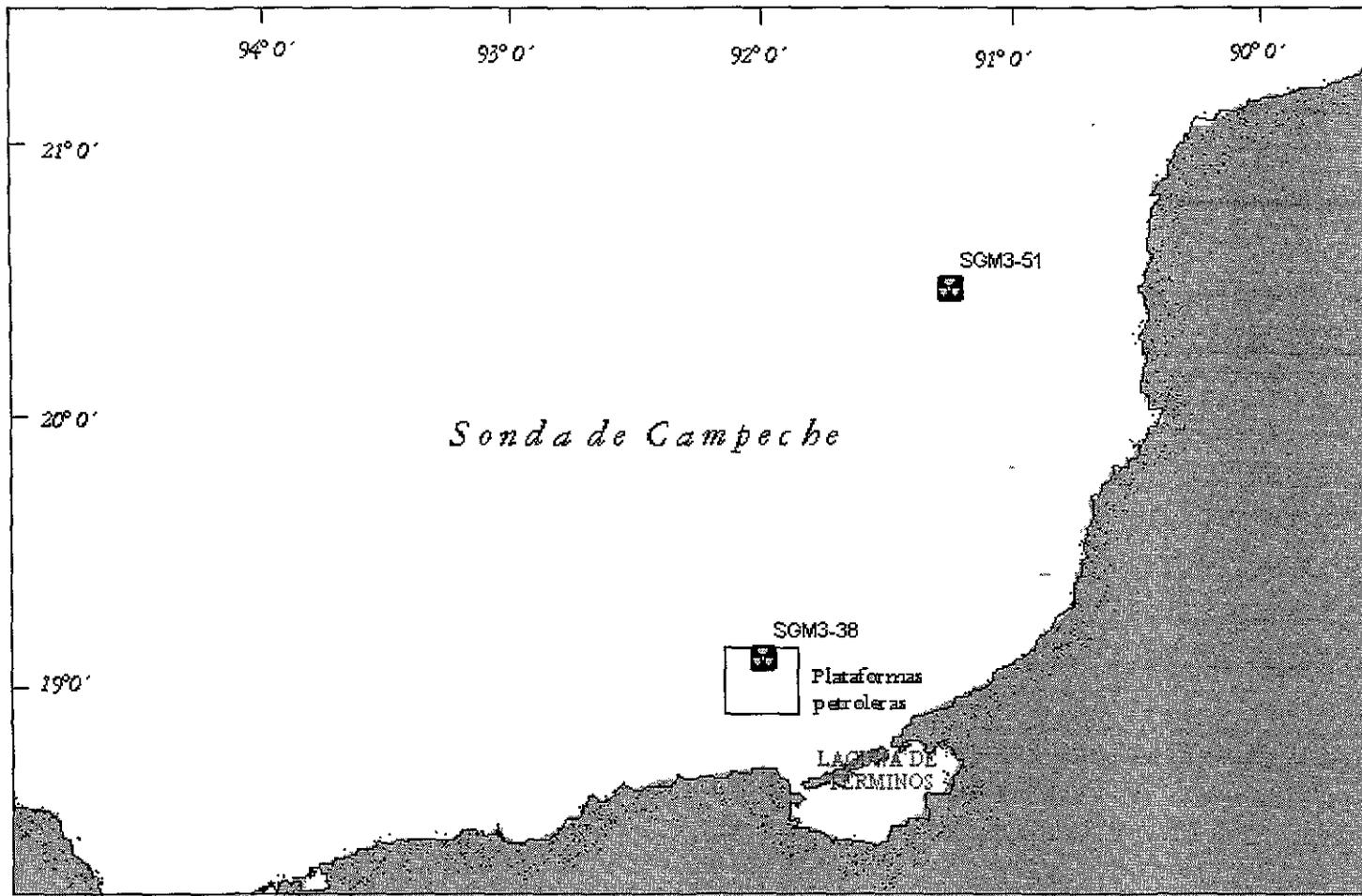


Figura. 5 Ubicación de las estaciones de muestreo durante la campaña oceanográfica SGM-3 en marzo de 1997.

OBJETIVO

Este trabajo tiene como finalidad contribuir al conocimiento de uno de los procesos de transferencia de materia y energía en las comunidades bénticas de la Sonda de Campeche, como es el caso del pastoreo que los organismos meiofaunales realizan sobre las bacterias asociadas a los sedimentos, particularmente aquellas que en sus capacidades incluyen el proceso de degradación y la incorporación de hidrocarburos del petróleo. Bajo esta perspectiva se han planteado los siguientes objetivos particulares:

Determinar la tasa de degradación de hidrocarburos del petróleo a treinta días de incubación de un cultivo mixto de bacterias degradadoras de petróleo (*Aeromonas calco* y *Pseudomonas sp*) de la Sonda de Campeche, Golfo de México, bajo condiciones de laboratorio.

Evaluar la utilización de hidrocarburos del petróleo como fuente de carbono en las comunidades meióbénticas en dos localidades de la Sonda de Campeche, a través del pastoreo de bacterias que incorporen éstos hidrocarburos.

METODOLOGÍA

5.1 Experimentos de pastoreo

Para el cálculo de la tasa de pastoreo se realizaron biensayos a bordo del B/O Justo Sierra del ICMYL, UNAM, en las estaciones de colecta 38 y 51 durante la campaña oceanográfica SGM-3 (Sistema del Golfo de México) en marzo de 1997, las estaciones se ubicaron en los 19° 07.8" de latitud N y 92° 00.2" de longitud O, la estación 38, y en los 20° 29.79" lat. N y 91° 15.15" de longitud O la estación 51 como puede observarse en la Figura 5. Las estaciones se ubicaron a profundidades de 30 y 40 m respectivamente.

En cada una de las estaciones se realizaron las siguientes actividades:

Se tomaron muestras de sedimento que fue colectado por una draga Smith McIntyre. Ocho núcleos se colectaron de los primeros cinco centímetros del sedimento, cada núcleo con un diámetro de 2.8 cm.

Cada uno de los núcleos se colocó en un frasco de cultivo de tejidos (Corning) estéril se adicionó con 10 mL de agua de mar suprayacente al sedimento y filtrada en una membrana con diámetro de poro de 0.2 μm .

Estos núcleos fueron tratados siguiendo una modificación de los métodos de Daro (1978), Montagna (1993) y Shirayama (1995). A diferencia de estos autores que emplearon timidina- ^3H y carbonatos- ^{14}C ; en el presente estudio se utilizaron dos hidrocarburos como trazadores radiactivos, debido a que el interés del estudio se centra en bacterias que incorporen este tipo de sustancias. Se utilizó el dodecano- ^{14}C con 3.7 mCi/mmol de actividad específica y el naftaleno- ^{14}C con actividad específica de 8.9 mCi/mmol, ambas sustancias fueron adquiridas a la compañía SIGMA. El ^{14}C es un emisor β^- , de baja energía, 0.156 MEV, tiene una vida media de 5730 años y una vida media biológica efectiva de 10 días.

En cada estación se siguieron los experimentos para los dos hidrocarburos. De los ocho núcleos, cuatro de ellos se destinaron para el experimento con dodecano y los otros cuatro para el experimento con naftaleno.

De los cuatro núcleos por hidrocarburo, dos de ellos fueron adicionados con el hidrocarburo en cuestión (dodecano- ^{14}C o naftaleno- ^{14}C) a 0.1 μCi y 0.2 μCi respectivamente, a estos núcleos se

les denominó réplicas del experimento. De igual forma, los otros dos núcleos denominados controles, fueron adicionados con el hidrocarburo marcado e inmediatamente se añadieron 20 mL de formalina al 2% v/v, neutralizada con borato de sodio a saturación.

La formalina al 2 % v/v neutralizada con borato de sodio a saturación se empleó con el objeto de inhibir el crecimiento bacteriano como previamente había sido verificado en estudios de laboratorio, abajo condiciones similares a las de experimentación (Canales-Cáceres, 1997). Asimismo, Montagna y Bauer (1988) señalan que la formalina a esta concentración inhibe la viabilidad de la meiofauna.

Tanto las réplicas, como los controles de los dos experimentos fueron incubados durante dos horas, en obscuridad y a 21 °C de temperatura ambiente. Después de éste período, a las réplicas se les agregó 20 mL de formalina para inhibir el crecimiento bacteriano y la viabilidad de la fauna presente.

Se tomaron 10µL de sedimento por triplicado de cada frasco de material fijado procediendo a filtrar en filtros de policarbonato con abertura de poro de 0.2 µm. Los filtros se dejaron secar al ambiente y se colocaron en viales con 10 mL de coctel de centelleo (Beckman safe ready).

La información proporcionada por estos sedimentos permitirá calcular la incorporación neta bacteriana que se detalla en la sec. 5.4.

Por otra parte, para separar la meiofauna de los sedimentos de cada uno de los núcleos , éstos sedimentos se hicieron pasar por un tamiz de 54µm utilizando agua de mar filtrada. Las muestras recuperadas se colocaron en viales con agua de mar filtrada y se mantuvieron en refrigeración a una temperatura de 5 °C hasta arribar al laboratorio.

5.2 Procesamiento de muestras de meiofauna

En el laboratorio se procedió a separar la meiofauna por grupos taxonómicos de los sedimentos previamente tamizados. A cada organismo se le midió el largo y ancho del cuerpo para la determinación de la biomasa de acuerdo con los criterios de Feller y Warwick (1988). Posteriormente se les colocó individualmente en un vial con 100µL de dodecilsulfato de sodio a baño maría a 40 °C de temperatura durante 30 minutos, para solubilizar el tejido, después se añadieron 10mL de coctel de centelleo para la lectura de la radiactividad de cada organismo.

Lectura de muestras por centelleo líquido

Dado que el ^{14}C es un emisor β^- de baja energía (0.156 Mev) se empleó el centelleo líquido para la detección de la radiactividad de las muestras. La lectura de las todas las muestras se realizó en un contador de centelleo líquido Minaxi β Tri-Carb serie 4000 Packard, con un tiempo de lectura de dos minutos y una eficiencia en el canal de lectura de 95 %. Las cuentas por minuto (cpm) fueron recuperadas con el programa Bios vers. 4.

La corrección por radiación natural o fondo se hizo con los valores de cpm generados por los sedimentos libres de agua que fueron colectados paralelamente en las estaciones de experimentación. Los resultados fueron expresados en desintegraciones por minuto (dpm):

$$\text{dpm de la muestra} = (\text{cpm de la muestra} - \text{cpm de fondo}) / \text{eficiencia del canal de lectura.}$$

5.3 Análisis de datos experimentales de pastoreo

Con el objeto de caracterizar a los organismos como dominantes, constantes, raros e indicadores dependiendo de su frecuencia de aparición, abundancia y biomasa en las estaciones de estudio se realizó un análisis de Olmstead y Tukey (Sokal y Rohlf, 1981).

Por otra parte, con los datos de las dpm obtenidos de las muestras se realizaron análisis de correlación lineal con el fin de detectar su posible relación con la biomasa de los organismos de la meiofauna. Adicionalmente se realizaron correlaciones lineales entre estas dos variables de los grupos taxonómicos más abundantes en los experimentos y en los controles. Para estos análisis previamente se generaron números aleatorios para efectos de comparación debido a la disparidad del número de organismos entre experimentos y controles en los bioensayos. Para escoger m números aleatorios enteros en el intervalo $[1,2,\dots,N]$ se generaron $100N$ números enteros aleatorios y de ellos se escogieron los primeros m diferentes que estaban dentro de dicho intervalo. Para hacer la selección y las correlaciones se empleó un algoritmo de cómputo que generara números aleatorios con distribución uniforme con el demo del programa LabView vers. 3.2.1.

Para comparar las medias de los marcajes en organismos de la meiofauna y sedimentos en los experimentos y en los controles, se realizó la prueba T^2 de Hotelling (Manly, 1986). Se consideraron como efectos principales de variación, las estaciones, las concentraciones en μCi de los dos hidrocarburos, así como los hidrocarburos empleados.

$$T^2 = n_1 n_2 (\bar{X}_1 - \bar{X}_2)' C^{-1} (\bar{X}_1 - \bar{X}_2) / (n_1 + n_2)$$

$$C = \{(n_1 - 1)C_1 + (n_2 - 1)C_2\} / (n_1 + n_2 - 2)$$

Donde C_i = matriz de covarianza de la muestra i .

La hipótesis nula a rechazar es que las medias de las muestras son iguales, es decir que las muestras pertenecen a la misma población.

Se aplicó el análisis de varianza de Kruskal-Wallis para los valores de dpm en los organismos de la meiofauna y los sedimentos en los experimentos y en los controles, posteriormente la prueba de Dunnett (Zar, 1974) para encontrar la media control en las muestras.

Kuskal-Wallis

$$H = \frac{12}{N(N+1)} \sum_{i=1}^k \frac{R_i^2}{n_i} - 3(N+1)$$

Donde n_i = número de observaciones en el grupo i

N = número total de observaciones en los k grupos.

R_i = es la suma de los rangos de las n_i observaciones en el grupo i .

Dunnett.

$$q = \frac{(\bar{X}_B - \bar{X}_A)}{SE} ; \quad SE = \sqrt{\frac{2s^2}{n}}$$

La hipótesis nula es que la meiofauna de los experimentos tiene valores de dpm superiores a los controles de meiofauna y a los sedimentos.

Adicionalmente con el programa de cómputo Statistica para windows se hicieron diversos análisis de varianza de Kruskal-Wallis (Zar, 1974) para las dpm y la biomasa de los organismos de la meiofauna colectados con la finalidad de detectar la diferencia entre estaciones, bioensayos y grupos taxonómicos.

5.4 Cálculo de la tasa de pastoreo meiofaunal

El cálculo de la tasa de pastoreo de la meiofauna se realizó de acuerdo a lo señalado por Montagna y Bauer, (1988) y Shirayama (1995).

En este modelo se puede entender como tasa de pastoreo meiofaunal a la proporción de material que fluye desde la presa, en este caso bacterias hidrocarbonoclastas, hacia el receptor o

pastoreador que son los componentes de la meiofauna, por unidad de tiempo. El modelo considera que la sustancia marcada está en exceso y que durante el período de incubación la sustancia marcada no se vuelve limitante y la incorporación de la presa es lineal.

La tasa de pastoreo G se expresa como:

$$G = 2F/t \quad \text{Donde } F = M/B$$

$M = M_e - M_c =$ incorporación neta de la meiofauna

$B = B_e - B_c =$ incorporación neta de bacterias

$M_e =$ la media de las dpm de la meiofauna en las réplicas

$M_c =$ la media de las dpm de la meiofauna en los controles

$B_e =$ la media de las dpm atribuidas a las bacterias en las réplicas

$B_c =$ la media de las dpm atribuidas a las bacterias en los controles.

Debido a que el tiempo de incubación es constante, la tasa G varía dependiendo de la variación de M y B .

Conteo Directo de bacterias

La técnica empleada es una modificación de la técnica de Montagna (1982). Con un nucleador de mano estéril se tomó 1cm^3 de sedimento superficial colectado con la draga Smith-McIntyre en las estaciones oceanográficas, y se adicionó a 9 mL de agua de mar filtrada, el cual se fijó con formalina al 2% y se homogeneizó durante ocho minutos en un agitador. Posteriormente se realizó una dilución 10^{-2} , y por triplicado se tomó 1 mL de esta muestra con 1 mL de anaranjado de acridina al 0.05 %. Después de cuatro minutos, la muestra se hizo pasar por un filtro de policarbonato de 25 mm de diámetro y $0.2\ \mu\text{m}$ de diámetro de poro. Cada uno de los filtros se lavaron con 2 mL de agua destilada estéril y se colocaron en un portaobjetos con una gota de aceite de inmersión colocándose el cubreobjetos, se mantuvieron en refrigeración a $5\ ^\circ\text{C}$. Se leyeron 30 campos de cada filtro en un microscopio de epifluorescencia a $100\times$ dentro de las 2 semanas posteriores a su colecta. El cálculo del número de bacterias /mL de sedimento se obtuvo de acuerdo a Rodina, (1972).

5.5 Tasa de degradación de hidrocarburos por un cultivo mixto de bacterias hidrocarbonoclastas de la Sonda de Campeche en condiciones de laboratorio.

Aunque existe evidencia de la actividad bacteriana en la biodegradación de hidrocarburos en la Sonda de Campeche avalada por datos cualitativos como se menciona en el capítulo 2, con el objeto de generar datos cuantitativos al respecto, que contribuyan al acervo de información de este proceso, se realizaron experimentos para determinar las tasa de degradación biológica bacteriana de hidrocarburos.

Para los experimentos de degradación se empleó un cultivo mixto de bacterias marinas hidrocarbonoclastas proporcionado por el Lab. de Microbiología del ICMYL, UNAM. El cultivo presenta predominancia de las bacterias *Pseudomonas sp* y *Aeromonas calco*; éste cultivo se mantuvo en medio mineral para bacterias hidrocarbonoclastas desde su aislamiento de muestras de sedimentos de la Sonda de Campeche.

Para proliferación celular se utilizó medio marino DIFCO. La inoculación del medio previamente elaborado y colocado en matraces Erlenmeyer, se realizó con el cultivo en fase exponencial. En la elaboración del medio de cultivo se utilizaron 50 g de sedimento libre de materia orgánica por calcinación a 550 °C durante una hora, con 50 mL de agua de mar filtrada (0.45 µm). Estos sedimentos se esterilizaron a 15 Lb de presión durante 15 minutos.

Después de la esterilización de los sedimentos, se adicionaron con los hidrocarburos, para el experimento con naftaleno por ejemplo, en cada uno de los cuatro matraces destinados al experimento se realizó lo siguiente: Se añadió naftaleno (Baker Company) para una concentración final de 121 ppm, posteriormente tres de los cuatro matraces, a los que en lo sucesivo se denominará réplicas, se inocularon con 1 mL del cultivo de *Pseudomonas sp* y *Aeromonas calco* antes mencionado, mientras que el cuarto matraz no fue inoculado con las bacterias para diferenciar los procesos de volatilización de la biodegradación, a este último se le denominó control.

Se realizó el mismo procedimiento para la experimentación con dodecano (Baker Company), y con el petróleo crudo maya se realizó un procedimiento similar, al adicionar para este caso 500 µL de crudo previamente esterilizado. Se esterilizó a 15 lb de presión durante 15 minutos para eliminar posible bacterias asociadas y para homogeneizar el crudo. Los doce matraces fueron incubados 30 días a 28 ± 1 °C en oscuridad para evitar la fotodegradación (Pengerud *et al.*, 1984) y sin agitación mecánica para no acelerar el proceso de

emulsificación (Atlas,1993), los matraces fueron agitados manualmente cada siete días, la temperatura de incubación fue de $28^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

Después de los treinta días de incubación se procedió a la determinación de los hidrocarburos presentes y su cuantificación como se especifica en la sección 5.8.

5.6 Curva de crecimiento bacteriano

Para la obtención de la curva de crecimiento se empleo un medio de agua de mar filtrada ($0.2\mu\text{m}$) y petróleo crudo. Nueve matraces con 100mL de medio de cultivo fueron inoculados con 100 μL del cultivo mixto de bacterias y se incubaron a temperatura de 28°C durante 30 días.

Cada siete días se realizó el conteo de bacterias en tres matraces y sin repetición en éstos. Se aplicó el método de conteo directo de anaranjado de acridina antes referido, en la sección 5.4 de éste capítulo.

5.7 Muestras de bacterias para microscopio electrónico de barrido

Como se había mencionado en la sec. 5.5, el cultivo mixto empleado para los experimentos de biodegradación de hidrocarburos, antes de ser utilizado, se encontraba en medio mineral para bacterias hidrocarbonoclastas desde su aislamiento de la Sonda de Campeche. Para su proliferación celular se utilizó medio marino DIFCO, finalmente para los experimentos de biodegradación, éstas bacterias fueron añadidas a un medio elaborado con sedimentos, agua de mar e hidrocarburos. Con la finalidad de observar la posible existencia de diferencias en el tipo de agregación de los microorganismos dependiendo del medio de cultivo en el que se encontraban presentes, se tomaron fotografías en el microscopio electrónico de barrido del Instituto de Ingeniería, UNAM. El montaje de muestras se realizó como se describe a continuación:

Se tomaron muestras de los cultivos de los diferentes medios de cultivo incubados durante 30 días bajo las mismas condiciones que los experimentos para degradación de hidrocarburos: en caldo marino DIFCO, medio mineral para bacterias hidrocarbonoclastas y medio a base de agua de mar y petróleo crudo. Para su observación en el microscopio electrónico de barrido del Instituto de Ingeniería, UNAM, las muestras se prepararon de dos formas:

1- Técnica de Zimmermann, (1977), que se describe a continuación:

La muestra se fijó en glutaraldehído al 4%, posteriormente se filtró la muestra con una membrana de policarbonato de 0.2µm de abertura de poro. El filtro se colocó en alcohol etílico a diferentes concentraciones desde el 50% hasta alcohol absoluto en períodos de 20 minutos, posteriormente el filtro se colocó en acetona por 5 a 10 minutos.

Después la muestra se montó en el portamuestras utilizando un pegamento de plata para incrementar su conductividad con el metal y se mantuvo en la estufa a 60 °C durante 48 h. La muestra se sombrió con oro y se colocó al vacío para su observación en el microscopio electrónico de barrido.

2- La segunda forma de preparar las muestras se realizó a sugerencia del microscopista y consistió en fijar las muestras con glutaraldehído al 4% y posteriormente colocar una gota de cada muestra en el portamuestras e introducirlo en la estufa a 40°C hasta la evaporación de la muestra, posteriormente se incrementó la temperatura a 60°C y se dejaron durante 48 horas. Se procedió al sombreado y a la exploración.

La exploración de las muestras y la toma de fotografías se realizó con un voltaje de 10 Kv que fue cuando se observó mayor nitidez y contraste (Palacios, com. Pers.).

5.8 Extracción de hidrocarburos y Cromatografía de gases

La extracción de hidrocarburos se realizó con el método de Geochemical and Environmental Research Group (Gerg, 1992) que es una modificación de los métodos 3540, 3611, 8904 y 8905 (E.P.A., 1991) para extracción de hidrocarburos del petróleo de los sedimentos en sohxlet, purificación del extracto en una columna cromatográfica de alúmina y concentración en kuderna-Danish.

El material empleado durante estas etapas fue previamente lavado con extrán, mezcla crómica y diclorometano.

Extracción

Los sedimentos de las diferentes experimentos de los experimentos se secaron durante tres días a 30°C , posteriormente se tomaron 50 g y se colocaron en un cartucho de celulosa en el sohxlet para hacer la extracción utilizando 180 mL de diclorometano como solvente, durante 8 horas a 35°C de temperatura.

Transcurridas las 8 horas se recuperaron las muestras en frascos color ámbar y se refrigeraron para su posterior purificación.

Concentración

Las muestras fueron colocadas en una Kuderna-Danish a baño maría con una temperatura de 55°C. Este proceso se consideró concluido al obtener la muestra concentrada en un volumen de 1 a 3 mL.

Purificación de las muestras

Únicamente se purificaron las muestras de los bioensayos con petróleo crudo, y se decidió no purificar las de naftaleno y dodecano para evitar pérdidas.

En la columna cromatográfica se colocó un tapón de lana con una varilla de vidrio, seguidamente se añadió una solución de sílica gel con diclorometano para obtener un espesor de 1.5 cm en la columna, se abrió la llave de teflón para eliminar el diclorometano sucio y depositarlo en un frasco etiquetado para ello.

Se añadió alúmina previamente activada (Morales-Whitney, 1998) hasta un espesor de 8 cm, que tiene la función de atrapar las grasas, posteriormente se añadió 1g de sulfato de sodio para eliminar el posible contenido de agua en la muestra. Finalmente se añadieron 10 g de cobre activado con ácido clorhídrico para la eliminación de sulfuros en la muestra.

Se añadieron las muestra resultantes de la extracción y seguidamente 100 mL de diclorometano para lavar la columna y garantizar la recuperación de la muestra.

Concentración

Se procedió a reconcentrar las muestras purificadas en Kuderna-Danish a 55°C en baño maría hasta lograr un volumen aproximado de 1 a 3 mL de la muestra.

Inyección en el cromatógrafo

Una vez que las muestras fueron concentradas, teniendo como tiempo máximo para esta etapa veinte días, se procedió a la inyección en el cromatógrafo de gases. Para el análisis se utilizó un cromatógrafo de gases Hewlett Packard 5890 serie II, con detector de flama, y helio como gas portador, con un límite de detección de 5 ppb para una muestra de 50 g de sedimento. Este aparato fue calibrado empleando estándares de referencia NIST. La toma de datos y cromatogramas se realizó con el paquete HP Chemstation de la misma empresa.

Las muestras y estándares se inyectaron en el cromatógrafo en un volumen de 1 µL empleando una aguja hipodérmica de cristal de 10 µL a una temperatura inicial de 50°C, una velocidad de flujo de 1.7 mL/min, y una columna de 30 m x 0.32 mm x 0.25 µm con un relleno de metilfenolsilicón.

Identificación de hidrocarburos

Los compuestos pueden identificarse por comparación de sus tiempos de retención con los tiempos de retención de estándares externos (Abbot y Andrews, 1983) . El programa empleado proporciona los resultados en forma de cromatogramas con el tiempo de retención de los compuestos integrado en ellos. La identificación de los compuestos se realizó de ésta manera.

En la tabla 1 se presenta la información utilizada para la identificación de los hidrocarburos, así como para su cuantificación.

Tabla 1. Estándares externos usados como referencia para realizar la identificación y cuantificación de los hidrocarburos del petróleo en los bioensayos.

ESTANDAR	TIEMPO DE RETENCIÓN	ÁREA	Ppm
Dodecano*	11.279		$X = (\text{área} + 9109.9) / 790.62$
Hetadecano	19.746	1333	100
Pristano	19.845	1436	100
Octadecano*	21.194		$x = (\text{área} + 6591.8) / 685.93$
Nonadecano	22.566	1300	100
Eicosano	23.880	1201	100
Heneicosano	25.136	1268	100
Docosano	26.339	1345	100
Tricosano	27.492	1405	100
Tetracosano	28.600	1720	100
Pentacosano	29.667	1883	100
Hexacosano	30.749	2252	100
Octacosano	31.417	2968	100
Squaleno	33.276	3110	100
Dotriacontano	36.712	5171	100
Naftaleno*	11.227		$x = (\text{área} + 131.59) / 34.02$

* para estos hidrocarburos se realizó curva de calibración.

** los datos fueron proporcionados por el Lab. de Físicoquímica del ICMyL, UNAM.

Cuantificación de hidrocarburos

Las condiciones de separación en el cromatógrafo empleado son reproducibles, por lo que es aceptable convertir directamente las áreas descritas por los picos de un cromatograma en medidas cuantitativas, comparándolas con los cromatogramas de los estándares empleados. El método para determinar las áreas de los picos en cuestión, consiste en multiplicar la altura del pico por la anchura del mismo a la mitad de su altura (Abbot y Andrews, 1983). Cromatógrafos como el que se utilizó cuentan con integradores que hacen esta función automáticamente durante la separación de los compuestos, por lo tanto se realizó la cuantificación de la siguiente manera:

$$\text{ppm de la muestra} = (\text{área de la muestra}/\text{área del estándar})(\text{volumen inyectado del estándar}/\text{volumen inyectado de la muestra})(\text{ppm del estándar}/\text{g de muestra})(1 \text{ mL})$$

$$\text{ppb de la muestra} = ((\text{ppm de la muestra})(\text{mL concentrados})(1000))/(\text{g de la muestra})$$

Para la cuantificación de dodecano y naftaleno en los bioensayos se tomó como criterio la realización de curvas de calibración con estándares de estos hidrocarburos de la compañía Baker. Para el naftaleno se obtuvo una relación de las áreas y las concentraciones descrita por la ecuación $Y = 34.02 x - 131.59$ con una correlación de los datos $r = 0.98$, mientras que para el dodecano esta relación fue representada por la ecuación $Y = 790.62 x + 9109.9$ con un factor de correlación $r = 0.99$.

Determinación del porcentaje de aromáticos

La extracción de hidrocarburos aromáticos se hizo con hexano, para la determinación de hidrocarburos aromáticos con el método de fluorometría (APHAA, 1989) y posteriormente se utilizó un espectrofotómetro Perkin Elmer mod. 650-15 Hitachi, que se operó bajo las siguientes condiciones: longitudes de onda de excitación de 320 nm y emisión de 365 nm, sensibilidad de 1 y un tiempo de 0.3 a 3 segundos.

Las muestras se diluyeron y se procedió a su lectura en el aparato bajo las mismas condiciones mencionadas y también empleadas al realizar la curva de calibración del criseno utilizado como estándar de referencia, cuya curva se describe como $Y = 0.4548 + 0.2555 X$.

RESULTADOS

6.1 Experimentos de pastoreo

Análisis faunístico

La abundancia en la estación 38 fue de 224 organismos pertenecientes a la meiofauna. Estos organismos incluyen grupos taxonómicos como los poliquetos, foraminíferos, nematodos, ostrácodos, copépodos y oligoquetos. El grupo más numeroso fue el de los nematodos con 55.20% de abundancia relativa. La estación 51 tuvo una abundancia de 131 organismos, el grupo taxonómico más abundante fue el de los foraminíferos que representaron el 79.4% de la abundancia total en dicha estación.

Tabla 2. Densidad y biomasa de los grupos taxonómicos encontrados en el análisis faunístico de sedimentos.

ESTACIÓN 38				
Taxón	Biomasa µg/ind.	Biomasa mg/m ²	Abundancia	Densidad ind/m ²
Poliquetos	28.77	1918	41	66667
Foraminíferos	27.99	2503	55	89431
Nematodos	9.81	1946	122	198374
Copepodos	21.31	69.3	2	3252
Oligoquetos	33.78	54.9	1	1626
Ostracodos	31.78	155	3	4878
Total		6646		364228
ESTACIÓN 51				
Poliquetos	23.15	113	3	4878
Foraminíferos	34.84	5891	104	169105
Nematodos	9.39	336	22	35772
Moluscos	52.62	171	2	3252
Total		6511		213007

Por otra parte el análisis de Olmstead - Tukey para biomasa, mostró que para la estación 38 los poliquetos y foraminíferos fueron dominantes, mientras que para la abundancia los nematodos se incluyeron al grupo a diferencia del análisis por biomasa en donde se ubican como organismos constantes. Los organismos indicadores para el análisis de biomasa fueron los oligoquetos y ostrácodos, sin embargo en el análisis de abundancias se ubicaron junto con los copépodos en el cuadrante de los organismos ocasionales (vease figura 6).

En la estación 51, los foraminíferos se ubicaron como dominantes tanto en biomasa como en abundancia y los nematodos como dominantes en abundancia al igual que en la estación 38. Los poliquetos fueron organismos ocasionales tanto en biomasa como en abundancia, pero los oligoquetos y moluscos fueron indicadores por biomasa y ocasionales por abundancia (Figura 6).

Tasa de pastoreo: relación de la biomasa y el marcaje de la meiofauna.

Del análisis gráfico se encontró que tanto para los organismos colectados en la est. 38 como en la 51 no existió una correlación entre la biomasa de los organismos y las dpm que presentaron los organismos para ninguno de los dos hidrocarburos tanto en réplicas como en controles. Estos resultados dieron la pauta para realizar análisis de correlación de las dos variables en cuestión para los grupos taxonómicos más abundantes con la finalidad de poder detectar una posible correlación entre el marcaje y la biomasa de los organismos.

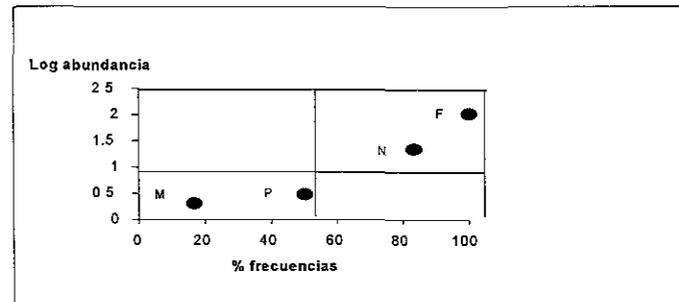
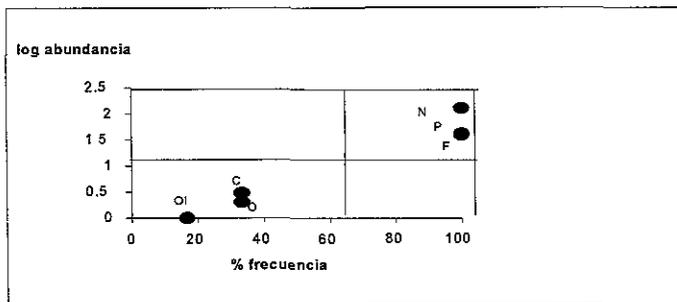
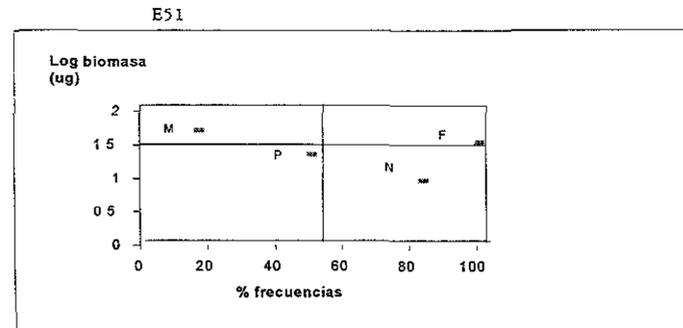
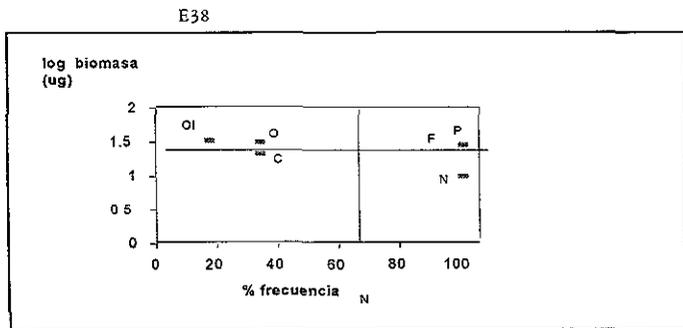


Figura 6. Análisis de Olmstead-Tukey para las dos localidades de colecta. Poliquetos (P), Foraminíferos (F), Nematodos (N), Copépodos (C), Moluscos (M), Oligoquetos (O1), Ostracodos (O).

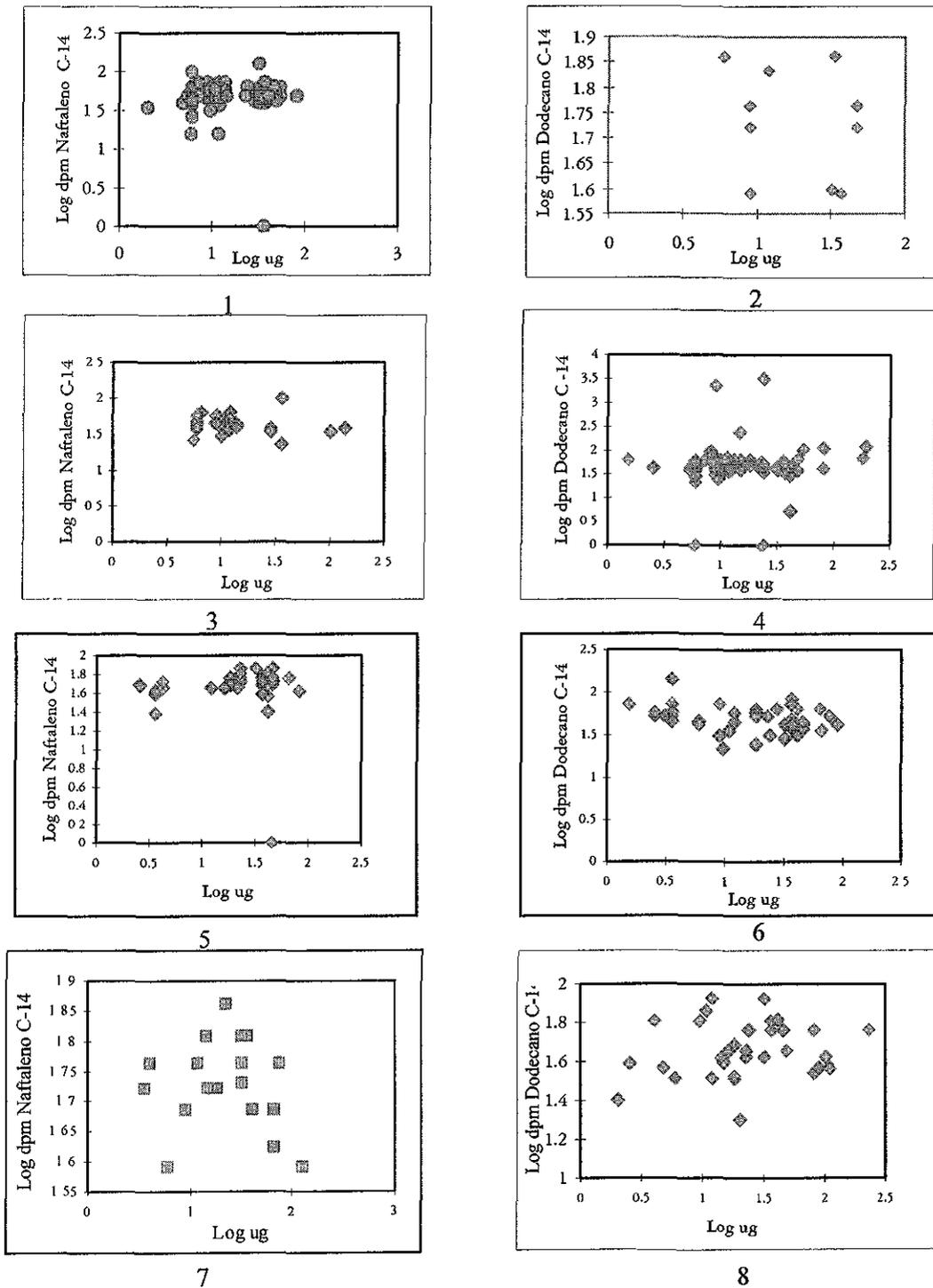


Figura 7.- Representación gráfica de la relación entre el marcaje de los organismos de la meiofauna y su biomasa en los diferentes experimentos. 1= control en la est. 38; 2= control en la est. 38; 3= réplicas en la est. 38; 4= réplicas en la est. 38; 5= réplicas en la est. 51; 6= réplicas en la est. 51; 7= control en la est. 51; 8= control en la est. 51.

Los análisis de correlación lineal llevados a cabo a partir de la generación de números aleatorios con el algoritmo del programa LabView, para los grupos taxonómicos más abundantes, arrojaron los siguientes resultados:

Poliquetos

En el análisis de los controles para naftaleno y dodecano en la estación 38, mostraron un comportamiento tendiente a la disminución de las dpm al aumentar la biomasa de los organismos. Asimismo en los experimentos con dodecano en la estación 51 se observó una disminución del marcaje en dpm cuando mayor fue la biomasa de los organismos como puede observarse en la figura 8. Las ecuaciones que describen esta relación pueden consultarse en la Tabla 3. En estos análisis se obtuvieron factores de correlación r de 0.84, y 0.50 respectivamente.

Para las réplicas se observó que al incrementarse la masa corporal de los organismos se incrementó el marcaje en dpm en el experimento de naftaleno con $2 \mu\text{Ci}$ en la estación 38, este comportamiento en los datos puede ser descrito con la ecuación $\text{dpm} = 2.66\text{ws} + 4.25$ con una correlación $r = 1.00$. La misma tendencia se observó en el experimento de dodecano con $0.1 \mu\text{Ci}$ en la estación 38 descrita por la ecuación $\text{dpm} = 0.60\text{ws} + 35.56$ con un factor de correlación $r = 0.52$ (figura 11).

En la Figura 14 puede observarse la dispersión de los datos de poliquetos de los experimentos respecto a los ajustes de los controles; también puede observarse que algunos individuos están por encima de los ajustes de controles, lo cual podría indicar un consumo de la sustancia marcada puesto que otros organismos con biomasa similares se encuentran por debajo de 60 dpm.

La comparación de las curvas de ajuste de los controles y experimentos en la figura 16 muestra que el experimento 38N2 a diferencia de los demás no presenta una tendencia similar a los controles.

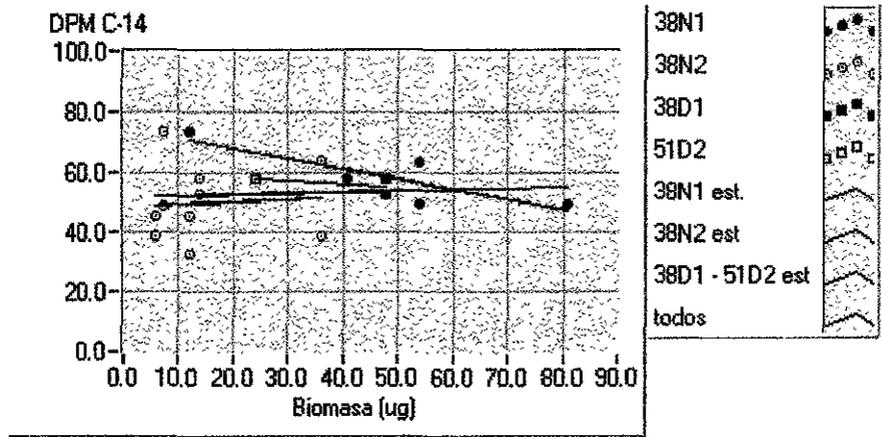


Figura 8. Correlaciones de las biomazas y el marcaje corporal de los poliquetos en los controles en las dos localidades de muestreo indicadas. Las curvas representan los datos estimados. 38 y 51= estaciones de muestreo; N y D= Naftaleno y dodecano respectivamente; 1 y 2= .1 μ Ci y 2 μ Ci respectivamente; est= datos estimados.

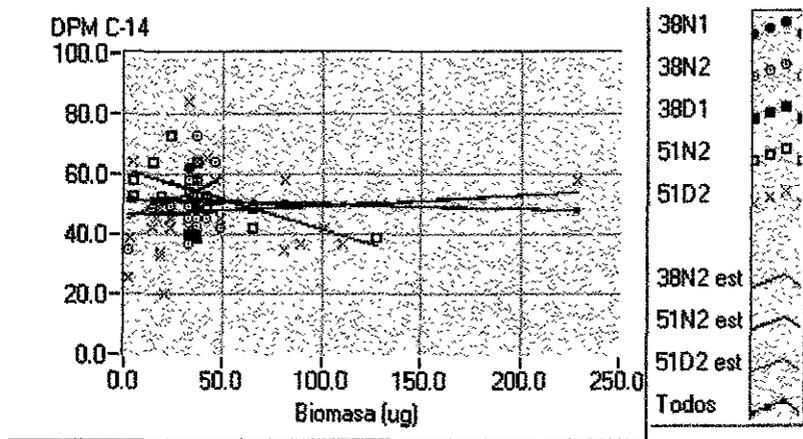


Figura 9. Correlaciones del marcaje y la biomasa de los foraminíferos en los controles de los bioensayos en las dos localidades de muestreo indicadas. Las curvas representan los ajustes a los datos observados. 38 y 51= estaciones de muestreo; N y D= Naftaleno y dodecano respectivamente; 1 y 2= .1 μ Ci y 2 μ Ci respectivamente; est= datos estimados.

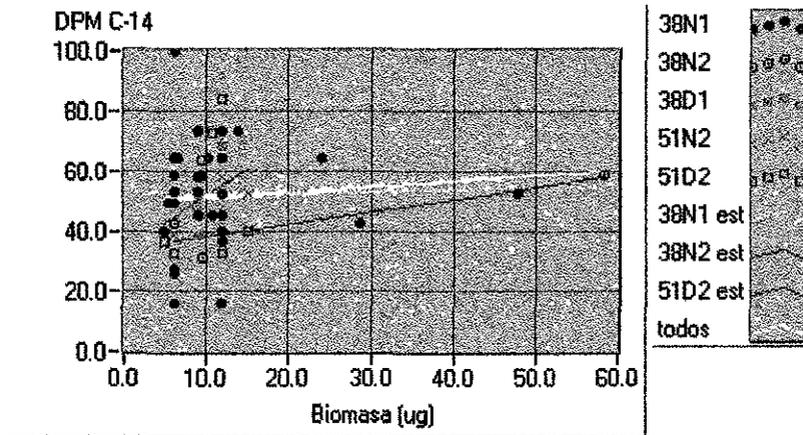


Figura 10. Correlaciones del marcaje y la biomasa de los nematodos en los controles de los bioensayos en las dos localidades de muestreo indicadas. Las curvas representan los ajustes a los datos observados. 38 y 51= estaciones de muestreo; N y D= Naftaleno y dodecano respectivamente; 1 y 2= $.1\mu\text{Ci}$ y $2\mu\text{Ci}$ respectivamente; est= datos estimados.

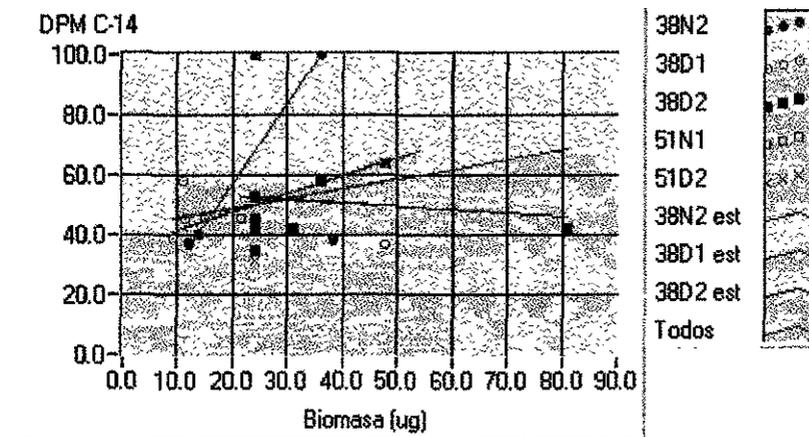


Figura 11. Correlaciones de la biomasa de los poliquetos y su marcaje en las réplicas de los experimentos realizados en las localidades de muestreo indicadas. Las curvas representan los ajustes a los datos observados. 38 y 51= estaciones de muestreo; N y D= Naftaleno y dodecano respectivamente; 1 y 2= $.1\mu\text{Ci}$ y $2\mu\text{Ci}$ respectivamente; est= datos estimados.

Foraminíferos

En los controles aunque fueron abundantes, los foraminíferos no presentaron una tendencia clara en cuanto a la relación que guarda su masa corporal y su marcaje en dpm, como se observa en la figura 9. El control de naftaleno con 2 μCi en la estación 51 presentó una tendencia de incremento del marcaje en dpm cuando la biomasa fue menor, esto puede ser descrito por la ecuación $\text{dpm} = -0.20ws + 61.71$ con un factor de correlación $r = 0.69$.

En los experimentos 51N2 y 38 D1 tanto en réplicas como en los controles los datos fueron dispersos, se encontró una tendencia a la disminución del marcaje en la biomasa al disminuir ésta en el primer experimento, pero en el segundo se observó el caso a la inversa (Figura 12).

La representación gráfica de los datos de las réplicas y los ajustes de los controles en la figura 15 muestra que algunos individuos en las réplicas presentaron valores de 75 dpm y que individuos con una biomasa similar en los controles, presentaron valores inferiores de dpm en su masa corporal.

Nematodos

En los controles se presentó una gran dispersión de los datos como puede verse en la figura 10, para el caso particular del control de naftaleno con 2 μCi en la estación 38 se observó que la tendencia en los datos es a aumentar el marcaje en los organismos cuando su masa corporal es mayor, éste comportamiento se describe con la ecuación $\text{dpm} = 0.41ws + 34.02$ cuyo factor de correlación fue $r = 0.89$.

En las réplicas con dodecano a 0.1 μCi tanto en la estación 38 como en la estación 51 las dpm en los organismos tendieron a incrementar mientras mayor era su biomasa (vease Figura 13), estas correlaciones se obtuvieron con factores r de 0.53 y 0.82 respectivamente.

En la figura 16 puede observarse la presencia de organismos en las réplicas con dpm superiores a lo que se obtuvo por ajuste en los controles, sugiriendo una incorporación de sedimentos marcados.

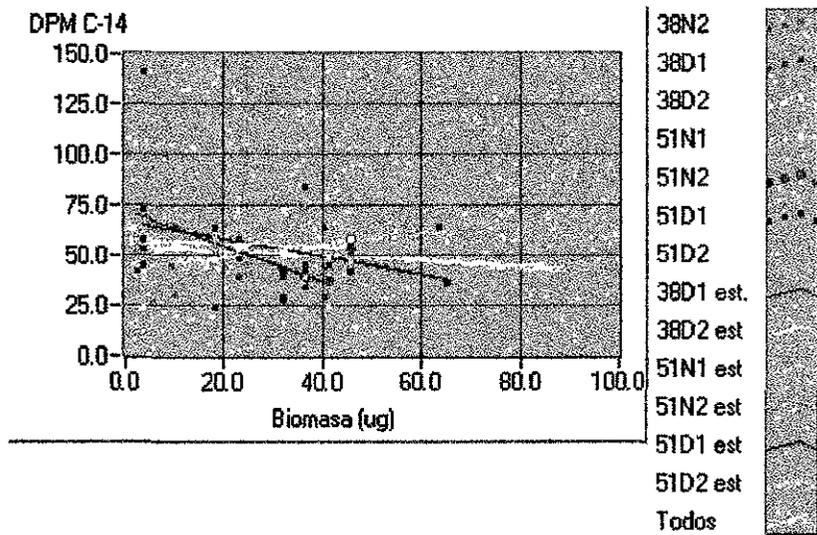


Figura 12. Relación de la biomasa y dpm ^{14}C de los foraminíferos en los bioensayos realizados en las localidades de muestreo indicadas. Las curvas representan los ajustes a los datos observados. 38 y 51 = estaciones de muestreo; N y D = Naftaleno y dodecano respectivamente; 1 y 2 = $.1\mu\text{Ci}$ y $2\mu\text{Ci}$ respectivamente; est = datos estimados.

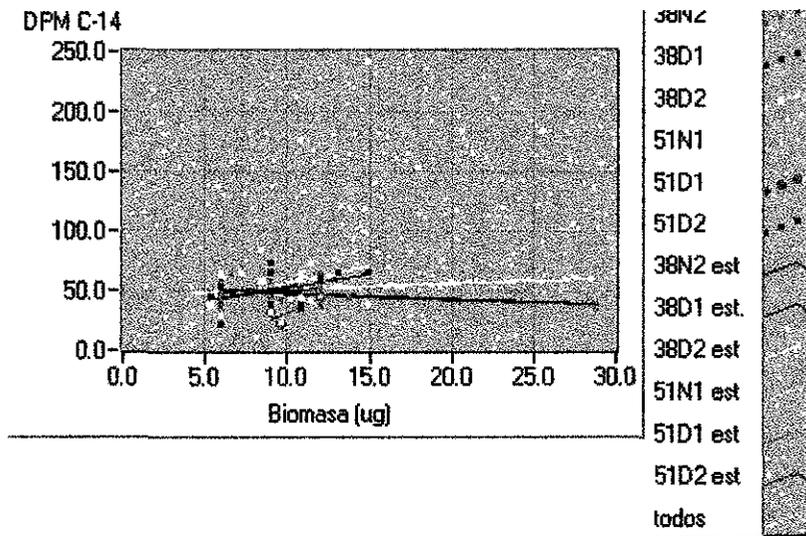


Figura 13. Relación de la biomasa y dpm ^{14}C de los nematodos en los bioensayos realizados en las localidades de muestreo indicadas. Las curvas representan los ajustes a los datos observados. 38 y 51 = estaciones de muestreo; N y D = Naftaleno y dodecano respectivamente; 1 y 2 = $.1\mu\text{Ci}$ y $2\mu\text{Ci}$ respectivamente; est = datos estimados.

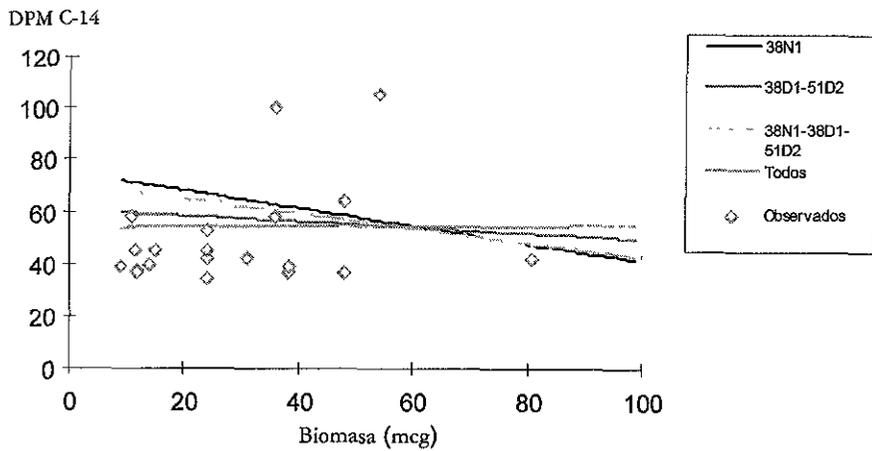


Figura 14. Relación de la biomasa y los marcajes de los poliquetos. Las curvas muestran los ajustes de los controles, y los rombos representan a los organismos obtenidos en las réplicas en las dos localidades de muestreo indicadas. 38 y 51= estaciones de muestreo; N y D= Naftaleno y dodecano respectivamente; 1 y 2= .1 μ Ci y 2 μ Ci respectivamente.

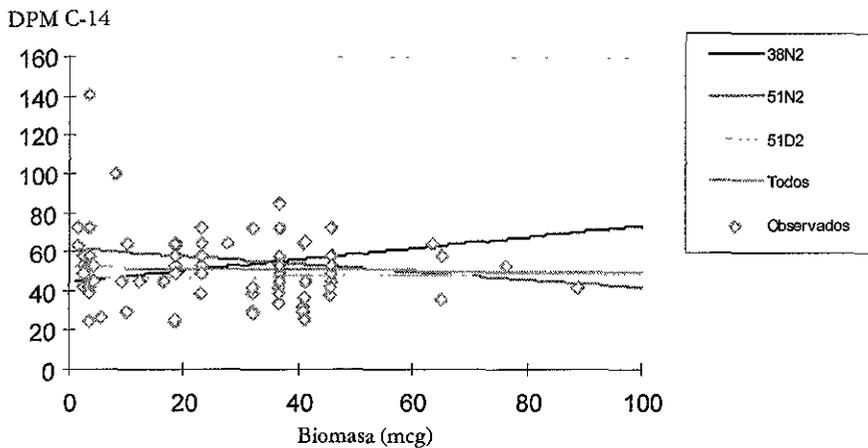


Figura 15. Relación de la biomasa y las dpm 14 C de los foraminíferos. Las curvas muestran los ajustes de los controles, y los rombos representan a los organismos obtenidos en las réplicas en las dos localidades de muestreo indicadas. 38 y 51= estaciones de muestreo; N y D= Naftaleno y dodecano respectivamente; 1 y 2= .1 μ Ci y 2 μ Ci respectivamente.

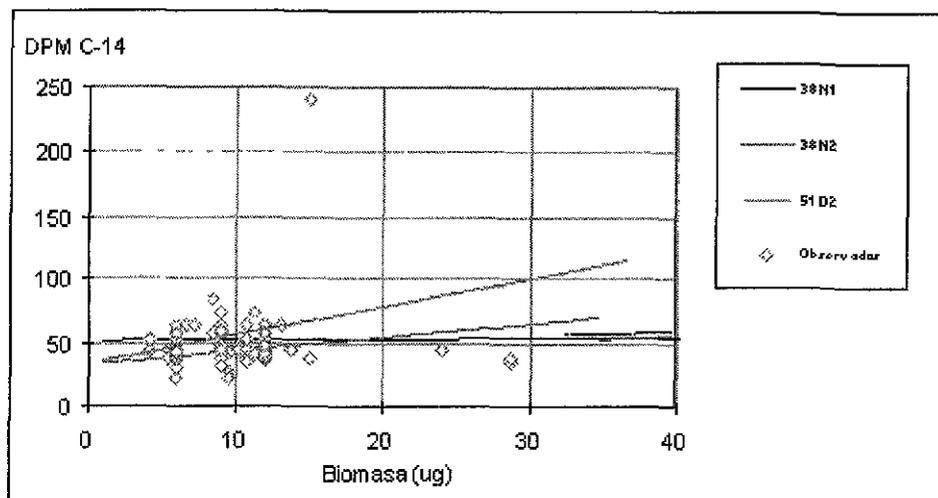


Figura 16. Relación de la biomasa y las dpm ^{14}C de los nematodos. Las curvas muestran los ajustes de los controles, y los rombos son los organismos obtenidos en las réplicas en las dos localidades de muestreo indicadas en la gráfica. 38 y 51= estaciones de muestreo; N y D= Naftaleno y dodecano respectivamente; 1 y 2= $.1\mu\text{Ci}$ y $2\mu\text{Ci}$ respectivamente.

Tabla 3 - Ecuaciones de las curvas de ajuste significativos de los datos de los bioensayos y sus controles para los taxones con mayor abundancia en las dos localidades de colecta.

TAXÓN	ECUACIÓN DE LA RECTA	COEFICIENTE DE CORRELACIÓN (r)
POLIQUETOS		
38N1	$\text{dpm} = -0.34\text{ws} + 74.84$	0.84
38D1-51D2	$\text{dpm} = -0.11\text{ws} + 60.52$	0.50
38N2E	$\text{dpm} = 2.66\text{ws} + 4.25$	1.00
38D1E	$\text{dpm} = 0.60\text{ws} + 35.56$	0.52
FORAMINIFEROS		
51N2	$\text{dpm} = -0.20\text{ws} + 61.71$	0.69
38D1E	$\text{dpm} = -0.88\text{ws} + 72.34$	0.61
51N2E	$\text{dpm} = 2\text{ws} - 38.22$	0.85
NEMATODOS		
38N2	$\text{dpm} = 0.41\text{ws} + 34.02$	0.89
38D1E	$\text{dpm} = 2.09\text{ws} + 31.66$	0.53
51D1E	$\text{dpm} = 6.04\text{ws} - 28.44$	0.82

dpm = desintegraciones por minuto. Ws= biomasa expresada como peso seco.

6.2 Cálculo de la Tasa de pastoreo de la meiofauna

En cuanto a las variaciones en el marcaje de los organismos de la meiofauna y los sedimentos se encontró evidencia, como resultado de la prueba de $T^2 = 11.89$, $F_{0.05}(4,347) = 2.94$, que la media del marcaje en la meiofauna presenta una diferencia significativa en los experimentos con $0.1\mu\text{Ci}$ y $2\mu\text{Ci}$ independientemente del hidrocarburo utilizado y de la estación oceanográfica en la que los experimentos se realizaron. No se encontró diferencia significativa para el caso de la media del marcaje en la meiofauna ni entre estaciones ni entre hidrocarburos con $T^2 = 4.13$, $F_{0.05}(4,347) = 1.02$ y $T^2 = 4.12$, $F_{0.05}(4,347) = 1.02$ respectivamente.

Por otro lado, del análisis de varianza de Kruskal-Wallis realizado para establecer las diferencias en el marcaje de los individuos de la meiofauna con respecto al marcaje en los sedimentos en controles y en las réplicas, se encontró que el marcaje en dpm es distinto, $H = 4.23$, $\chi^2_{0.05} = 7.81$, en los 4 tratamientos.

Adicionalmente los resultados de la prueba de Dunnett permitieron reconocer que el valor medio del marcaje de la meiofauna en las réplicas resultó ser mayor al valor medio de las dpm de la meiofauna en los controles, así como mayor al valor medio en dpm de los sedimentos tanto en las réplicas como en los controles, como se observa en la Tabla 5.

Tabla 4. Marcaje (dpm) de los organismos de la meiofauna y de los sedimentos en los diferentes bioensayos de pastoreo realizados durante la campaña SGM-3 en las estaciones 38 y 51.

Bioensayo	Meiofauna de controles	Meiofauna réplicas	Sedimentos de controles	Sedimentos réplicas
38N1	53.25±16.38	34.81± 8.38	29.00 ± 2.1	20.3± 1.8
38N2	51.22 ±17.68	46.74± 14.08	31.47 ± 5	25.28± 0.79
38D1	52.72 ±13.19	48.17 ± 20.10	48.12±3.2	27.00± 10.8
38D2	65.26 ±10.42	131.36± 16.89	58.00± 2	66.36 ± 15.1
51N1	53.40 ±12.17	48.80 ± 15.71	37.93± 7.6	20.00± 8.2
51N2	53.46 ± 9.28	46.57± 10.29	100.00± 11.1	49.01 ± 4.3
51D1	ND	51.27± 26.30	ND	27± 3.4
51D2	48.93 ± 15.77	50.38 ± 13.22	7.89 ± 5.2	61.45 ± 9.7

ND= no disponible

Tabla 5. Resultados de la prueba de Dunnett realizada para contrastar la hipótesis de que el marcaje de la meiofauna en los experimentos es mayor que en los controles y en los sedimentos. 1=meiofauna en controles; 2=meiofauna en experimentos; 3= sedimentos en controles; 4= sedimentos en experimentos.

Contraste	$X_2 - X_A$	SE	q'	$q'_{0.05}(1) 28, p$	P	Conclusión
2 vs 1	57.26-53.77	10.87	0.32	1.70	2	$0.32 < 1.70, 57.26 > 53.77$ $H_0 = \mu_2 \geq \mu_1$ se acepta
2 vs 3	57.26-44.91	14.39	0.86	1.70	2	$0.86 < 1.70, 57.26 > 44.91$ $H_0 = \mu_2 \geq \mu_3$ se acepta
2 vs 4	57.26-36.91	12.61	1.61	1.99	3	$1.61 < 1.99, 57.26 > 36.91$ $H_0 = \mu_2 \geq \mu_4$ se acepta

La diferencia del marcaje de los sedimentos en los controles y de los sedimentos en las réplicas se atribuye a la incorporación neta bacteriana de las sustancias marcadas, después de transcurridas las dos horas de la experimentación, como ya se había definido en la sección 5.2 del capítulo anterior. Bajo estas consideraciones, se dice que durante este tiempo los microorganismos presentes en los experimentos consumieron los hidrocarburos marcados.

Tabla 6. Tasa de pastoreo (G) para cada bioensayo calculada a partir de la incorporación neta de bacterias (B) y la incorporación neta de la meiofauna (M) en los experimentos de pastoreo. 38 Y 51 = Estaciones de experimentación; N y D= naftaleno y dodecano; 1 y 2= .1 μ Ci y 2 μ Ci.

EXPERIMENTO	TASA DE PASTOREO
38N1	0.21
38N2	7.2×10^{-3}
38D1	2.1×10^{-3}
38D2	7.9×10^{-2}
51N1	2.5×10^{-3}
51N2	1.3×10^{-3}
51D1	1.9×10^{-3}
51D2	0.27×10^{-4}

De la tabla 4 puede deducirse que las incorporaciones netas de la meiofauna y de las bacterias para los diferentes experimentos fueron negativas exceptuando los casos de los bioensayos 38D2 y 51D2 que corresponden a los bioensayos con dodecano a $2\mu\text{Ci}$ en las dos estaciones de experimentación.

Por esto, únicamente se tomarán como válidas las tasas de pastoreo calculadas a partir de los experimentos 38D2 y 51D2 ya que en ellos se presentaron incorporaciones netas positivas tanto en la meiofauna como en las bacterias después de las dos horas de experimentación; sugiriendo así el pastoreo de la meiofauna sobre bacterias marcadas de acuerdo a las consideraciones del modelo utilizado.

Bacterias

En cuanto a las bacterias, se estimó por medio del método de conteo directo que en los sedimentos superficiales de la estación 38 la abundancia bacteriana fue de 1.77×10^6 cel/mL, mientras que en los sedimentos de la estación 51 la abundancia bacteriana fue de 4.05×10^5 cel/mL.

Atlas (1993) señaló que las bacterias degradadoras de petróleo pueden llegar a constituir hasta el 1% de la comunidad bacteriana en un ambiente marino no contaminado por hidrocarburos. Para el caso particular de la Sonda de Campeche estudios realizados hasta 1986 mostraron que en términos generales no se excedieron éstos límites (1%), a excepción de áreas localizadas en las proximidades de las plataformas de explotación petrolera, en donde este tipo de bacterias constituyeron del 6 al 19 % de toda la comunidad bacteriana (Lizárraga-Partida, 1996).

Vázquez-Gutiérrez, (1998) en un estudio reciente en la Sonda de Campeche informa que en promedio un 20 % de la comunidad bacteriana son bacterias degradadoras de petróleo en la zona de plataformas petroleras. En el presente estudio y de acuerdo a esta información disponible se considera el 1% de la abundancia bacteriana para las degradadoras de petróleo en la estación 51 por encontrarse esta estación alejada de la zona de plataformas y el 20 % de la abundancia bacteriana para la estación 38 por ubicarse en la zona de plataformas de explotación petrolera.

Si los organismos de la meiofauna presentaron una alimentación de tipo selectiva, consumiendo bacterias marcadas por incorporación de hidrocarburos, entonces al término del experimento 38D2 la radiactividad promedio de una célula bacteriana que

pudo incorporar dodecano en este período fue de 2.34×10^{-3} dpm y bajo las mismas consideraciones para el experimento 51D2, una bacteria que incorporó dodecano, presentó una radiactividad equivalente a 1.32 dpm al final de la experimentación.

Por lo tanto, si el pastoreo de la meiofauna sobre bacterias en las estaciones de experimentación es un proceso de carácter lineal como señala Montagna (1993) en su modelo, que fue empleado en el presente estudio, y si éstas bacterias efectivamente incorporaron el dodecano durante la experimentación como parecen sugerirlo los resultados encontrados, entonces, las tasas de ingestión selectiva de la meiofauna calculadas a partir de los dos experimentos realizados, fueron de 34.34 cel/h en la estación 38 y de 2.06×10^{-4} cel/h en la estación 51.

Tabla 7.- Abundancia y dpm ¹⁴C de los organismos encontrados en los bioensayos en las dos estaciones de colecta.

BIOENSAYO	TAXÓN	ABUNDANCIA	dpm ¹⁴ C	BIOENSAYO	TAXÓN	ABUNDANCIA	dpm ¹⁴ C
38N1	POLIQUETOS	5	58.52 ± 10.05	51N1E	POLIQUETOS	1	45.26
	FORAMINÍFEROS	4	48.15 ± 9.98		FORAMINIFEROS	27	49.19 ± 16.82
	COPEPODOS	1	64.84		NEMATODOS	2	48.94 ± 5.21
	NEMATODOS	32	52.37 ± 17.71	51N2	FORAMINÍFEROS	13	53.52 ± 9.82
38N2E	NEMATODOS	20	47.04 ± 8.79		NEMATODOS	4	49.47 ± 8.01
	OSTRACODOS	1	42.42		MOLUSCOS	2	61.05 ± 4.46
	FORAMINIFEROS	3	33.96 ± 9.92	51N2E	FORAMINIFEROS	4	46.57 ± 10.29
	POLIQUETOS	3	58.98 ± 35.54	51D1E	NEMATODOS	3	32.98 ± 11.64
38N2	POLIQUETOS	11	51.46 ± 10.37		FORAMINIFEROS	18	54.32 ± 27
	FORAMINÍFEROS	26	52.02 ± 20.88	51D2	POLIQUETOS	1	57.89
	NEMATODOS	3	44.14 ± 13.50		FORAMINIFEROS	26	47.81 ± 14.55
	OSTRACODOS	1	49.05		NEMATODOS	7	51.83 ± 21.38
	COPEPODOS	1	34.73	51D2E	NEMATODOS	6	49.82 ± 13.29
38D1E	POLIQUETOS	10	46 ± 28.15		FORAMINÍFEROS	16	51.77 ± 13.11
	NEMATODOS	14	50.97 ± 12.08		POLIQUETOS	1	31.57
	FORAMINÍFEROS	13	47.12 ± 22.12				
	OSTRÁCODOS	1	57.89				
38D1	POLIQUETOS	2	55.26 ± 3.72				
	FORAMINIFEROS	2	39.31 ± 0.52				
	NEMATODOS	3	53.33 ± 14.74				
	OLIGOQUETOS	1	72.63				
38D2	NEMATODOS	2	65.26 ± 10.42				
38D2E	POLIQUETOS	10	47.26 ± 9.23				
	NEMATODOS	48	52.48 ± 30.11				
	FORAMINIFEROS	4	55.52 ± 6.39				

6.3 Tasa de degradación de hidrocarburos

Los experimentos realizados para evaluar las tasas de degradación de hidrocarburos por un cultivo mixto de bacterias aisladas de la Sonda de Campeche, mostraron la capacidad de *Pseudomonas sp* y *Aeromonas calco* para degradar tanto hidrocarburos alifáticos como aromáticos como puede observarse en las tablas 8 y 9.

El análisis de cromatografía de gases permitió la identificación y cuantificación de los hidrocarburos del petróleo de las muestras, por medio de la comparación con los tiempos de retención de estándares externos de referencia (Tabla 1).

Los resultados obtenidos por cromatografía de gases se presentan en la Tabla 8, también incluyen los porcentajes de pérdida de los hidrocarburos para cada experimento. Estos porcentajes o tasas de degradación a 30 días, se han atribuido a la actividad de los microorganismos sobre los hidrocarburos en cada bioensayo. Debido a que fueron calculados a partir de la diferencia con los controles respectivos después de los 30 días de incubación y no a partir de la diferencia de las concentraciones iniciales de los compuestos en cada bioensayo, eliminando así otro tipo de factores como la volatilización o fotooxidación.

Tabla 8. Tasas de degradación (% 30d) de dos hidrocarburos puros adicionados a sedimentos colectados en la Sonda de Campeche e inoculados con un cultivo mixto de *Pseudomonas sp* y *Aeromonas calco* incubados durante 30 días bajo condiciones de laboratorio.

HIDROCARBURO	ARENA LIMO		%DEG.	LIMO ARENA		%DEG.
	C (ppb)	R (ppb)		C (ppb)	R (ppb)	
Naftaleno	2682.2	2193.6	18.21	5167.07	672.90	73.57
Dodecano	2566	Nd	100	1193.71	315.38	86.97

Nd= no detectado; ppb= partes por billón. C= sin inóculo; R= Con inóculo.

En la figura 17(b) se puede observar que el dodecano después de 30 días de la duración del experimento fue totalmente removido de los sedimentos. El compuesto debió salir a los 11 minutos con 27 segundos. Estos resultados muestran una pérdida de 100 % del hidrocarburo respecto a los sedimentos que no fueron inoculados (figura 17a), atribuido a la actividad bacteriana del cultivo empleado para inocular los sedimentos con textura de arena-limo previamente colectados en la estación 38, durante la campaña SGM-3.

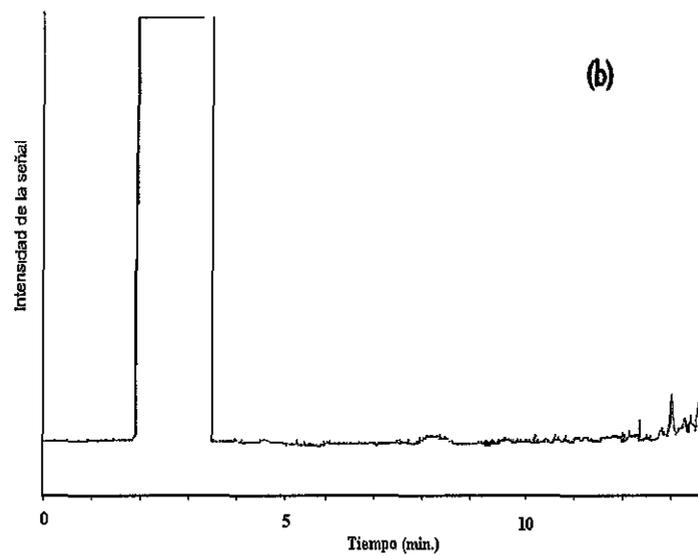
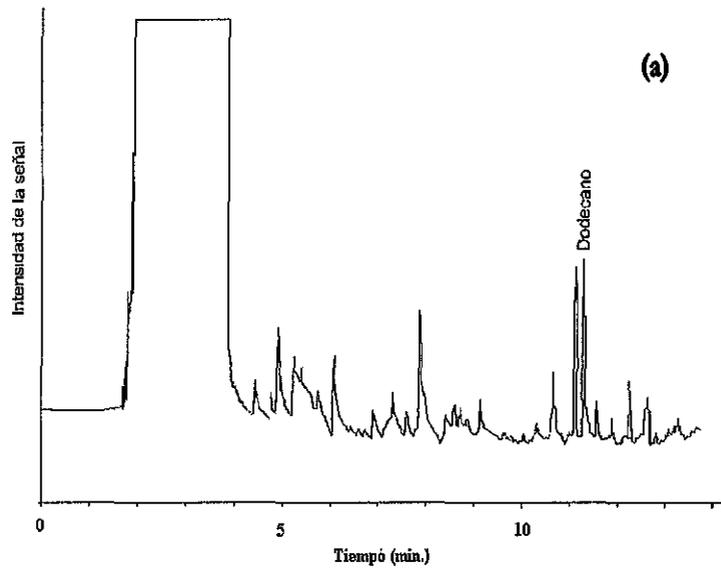


Figura 17. Cromatogramas del dodecano remanente en sedimentos de arenas-limos después de 30 días de incubación. (a) control sin inóculo; (b) réplica con inóculo.

En los sedimentos de limo-arena previamente colectados en la estación 51 del SGM-3 se obtuvo un 73.57 % de pérdida del dodecano por degradación bacteriana en condiciones de laboratorio. La Figura 18(b) muestra una de las réplicas en la que el dodecano no se encuentra presente, después de los 30 días de incubación.

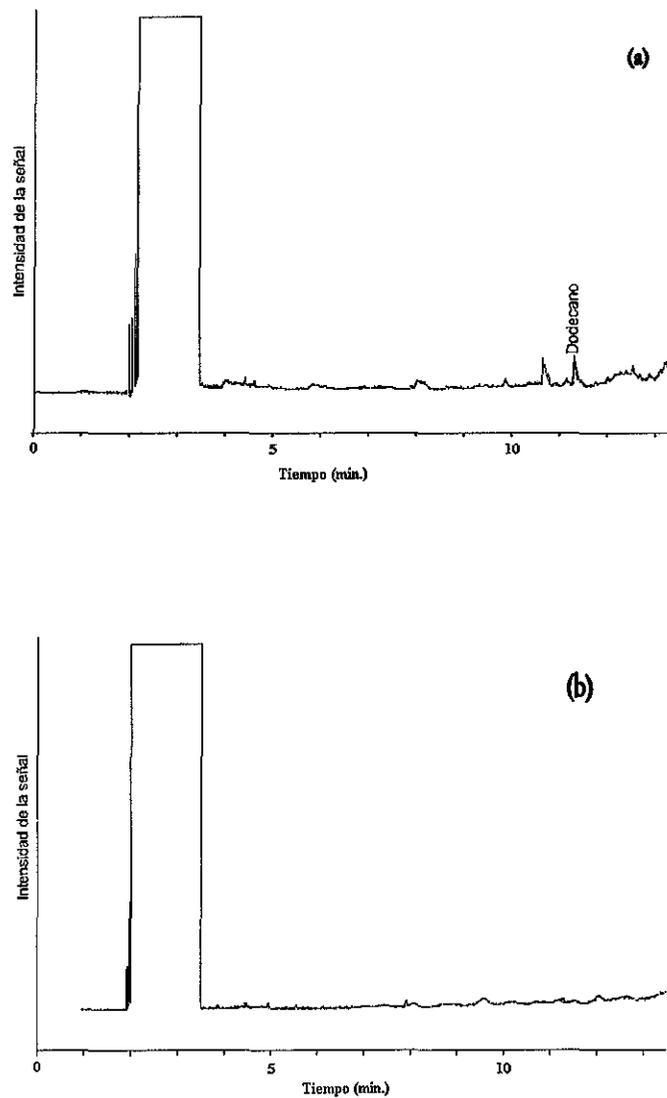


Figura 18. Cromatogramas del dodecano remanente en sedimentos de limo-arena después de 30 días de incubación. (a) control sin inóculo (b) réplica con inóculo.

Para el caso del naftaleno en los sedimentos de arena-limo el porcentaje de biodegradación fue inferior que el alcanzado para el dodecano, como puede observarse en la tabla 8. El 18.21 % del naftaleno fue consumido por las bacterias para los sedimentos de arena limo comparado con 100 % para el dodecano en los mismos sedimentos (Figura 19).

No ocurrió lo mismo para los sedimentos de limo arena, ya que, el 86.97 % de biodegradación del naftaleno fue superior al 73.57 % alcanzado para el dodecano, como puede observarse en la Figura 20.

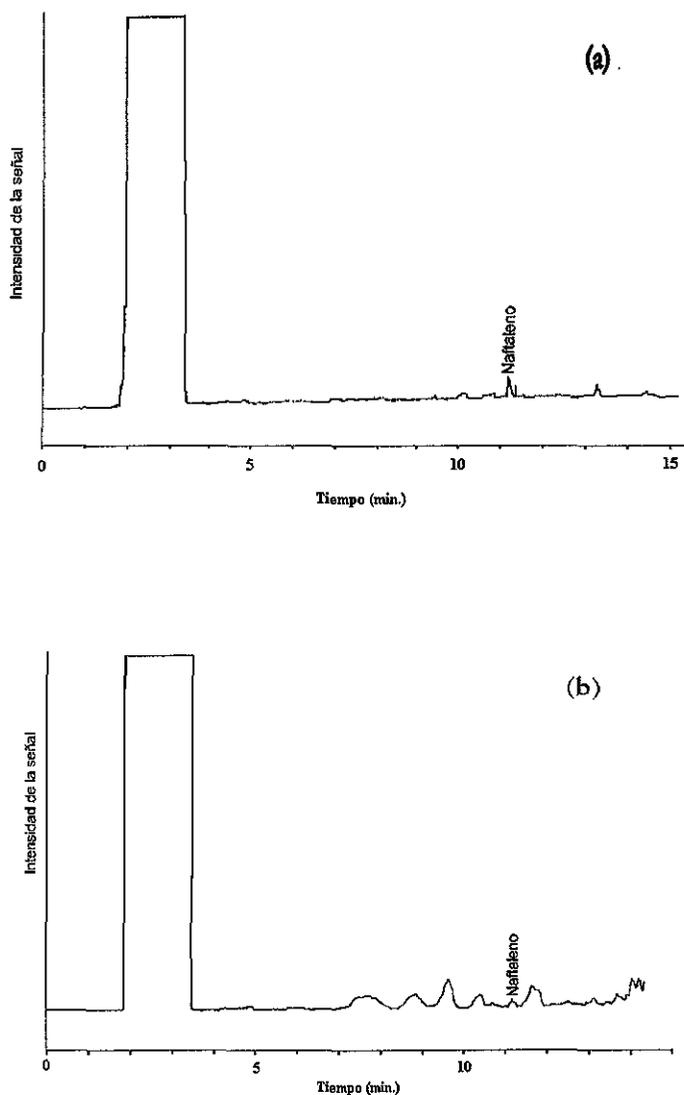


Figura 19. Cromatogramas del naftaleno remanente en sedimentos de limo-arena después de 30 días de incubación en laboratorio. (a) control sin inoculo; (b) réplica con inoculo. Se observa el compuesto a los 11' 22''.

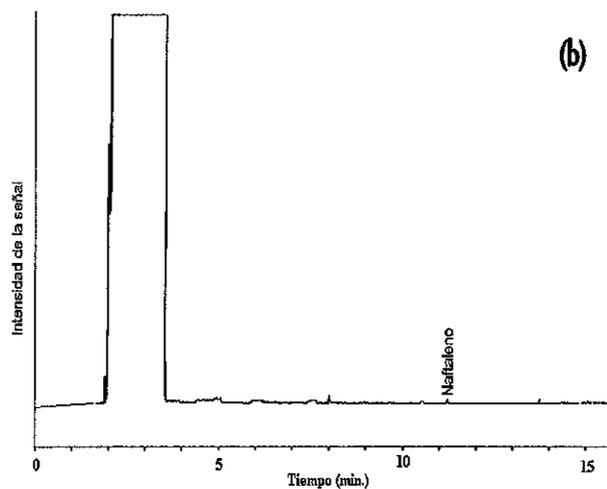
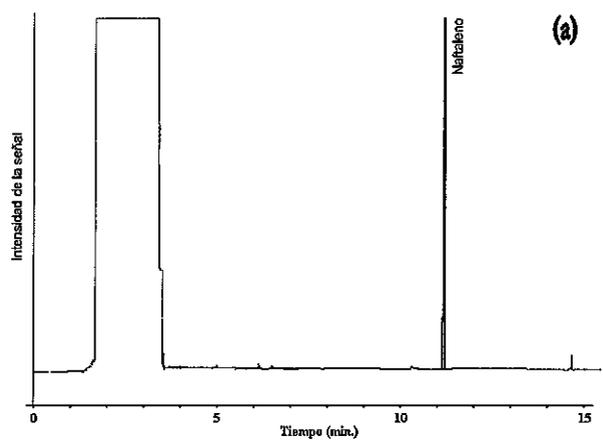


Figura 20. Cromatogramas del naftaleno remanente en sedimentos de limo-arena después de 30 días de incubación en laboratorio. (a) control sin inculo; (b) réplica con inculo .

Degradación de petróleo crudo

De los experimentos realizados con petróleo crudo como contaminante se observó mediante el análisis de fluorimetría que el porcentaje de degradación para la fracción de los compuestos aromáticos fue mayor en los bioensayos con sedimentos de limo-arena con un 32.2 %, que para los de arena-limo con 19.16 % (Figura 21).

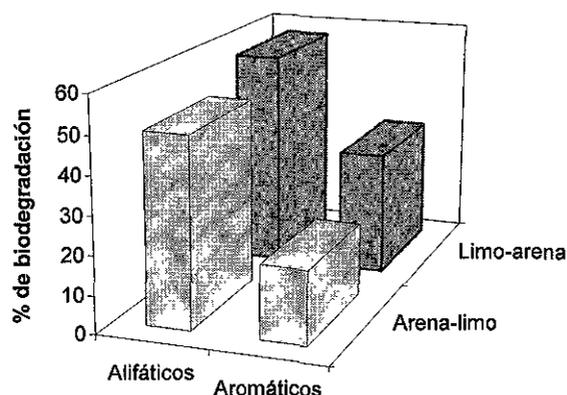


Figura 21. Tasas de degradación (% 30 d) de los hidrocarburos del petróleo crudo maya añadido a un cultivo mixto de *Pseudomonas* y *Aeromonas calco* en dos tipos de sedimento colectados durante la campaña SGM-3.

Tabla 9. Tasas de degradación de hidrocarburos de petróleo crudo maya (esterilizado) adicionado a sedimentos libres de materia orgánica previamente colectados durante la campaña SGM-3.

HIDROCARBURO	ARENA-LIMO		% DEG.	LIMO-ARENA		% DEG.
	C (ppb)	R (ppb)		C (ppb)	R (ppb)	
Aromáticos*	60058	48547	19	73079	49544	32
Heptadecano	163	20.9	87.1	112.4	82.6	26.5
Pristano	55	Nd	100	Nd	Nd	Nd
Octadecano	863.8	697.8	19.2	1036.3	745.7	28
Nonadecano	142.2	97.8	31.2	148.6	123.9	16.5
Eicosano	159.3	120.6	24.2	22.9	123.2	44.7
Heneicosano	107.9	70.4	34.7	109.4	84	23.2
Docosano	78.9	109.2	Nd	196.5	64	67.4
Tricosano	73.7	101.8	Nd	228.7	72.1	68.4
Tetracosano	Nd	Nd	Nd	166.2	Nd	100
Pentacosano	47.6	63.38	Nd	172	31.8	81.4
Hexacosano	29.8	57.9	Nd	Nd	17.5	Nd
Octacosano	Nd	107.2	Nd	Nd	Nd	Nd
Squaleno	Nd	57.9	Nd	205.3	16.1	92.15
Dotriacontano	Nd	Nd	Nd	141.7	Nd	100

*análisis por fluorometría; Nd= no detectado.

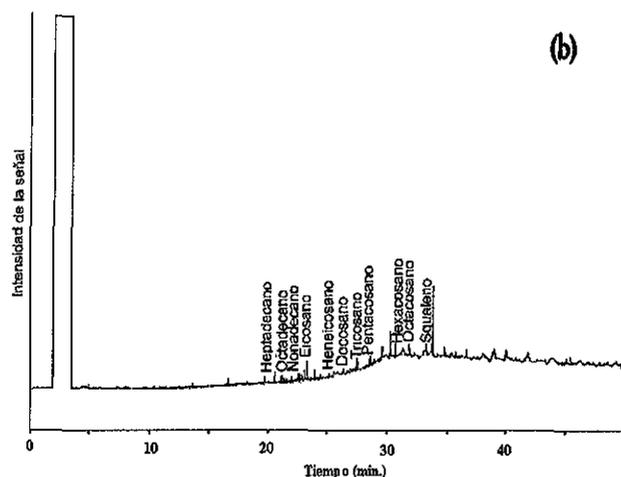
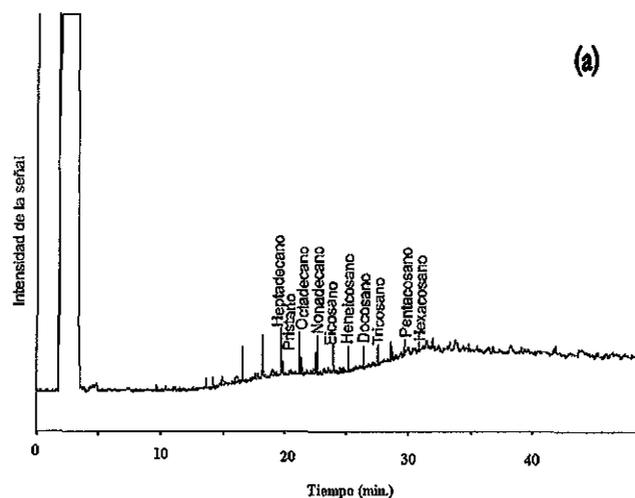


Figura 22. Cromatogramas de los hidrocarburos remanentes del petróleo crudo adicionado a sedimentos de arena-limo, después de 30 días de incubación de un cultivo mixto de bacterias hidrocarbonoclastas, bajo condiciones de laboratorio. (a) control sin inculo; (b) réplica con inculo.

En cuanto a los alifáticos, el análisis de cromatografía de gases permitió identificar y cuantificar una serie de n-alcenos ($C_{17} - C_{30}$) en los sedimentos de los bioensayos realizados. Fue posible detectar la disminución de las concentraciones de algunos de estos hidrocarburos en las réplicas con inculo del cultivo bacteriano respecto a los controles sin inculo. Para los sedimentos de arena-limo por ejemplo, destacaron como los más disminuidos en su concentración el pristano y

el heptadecano como puede observarse en la Figura 22, los porcentajes de degradación respecto al control fueron de 100 % y 87.18 % respectivamente (tabla 9).

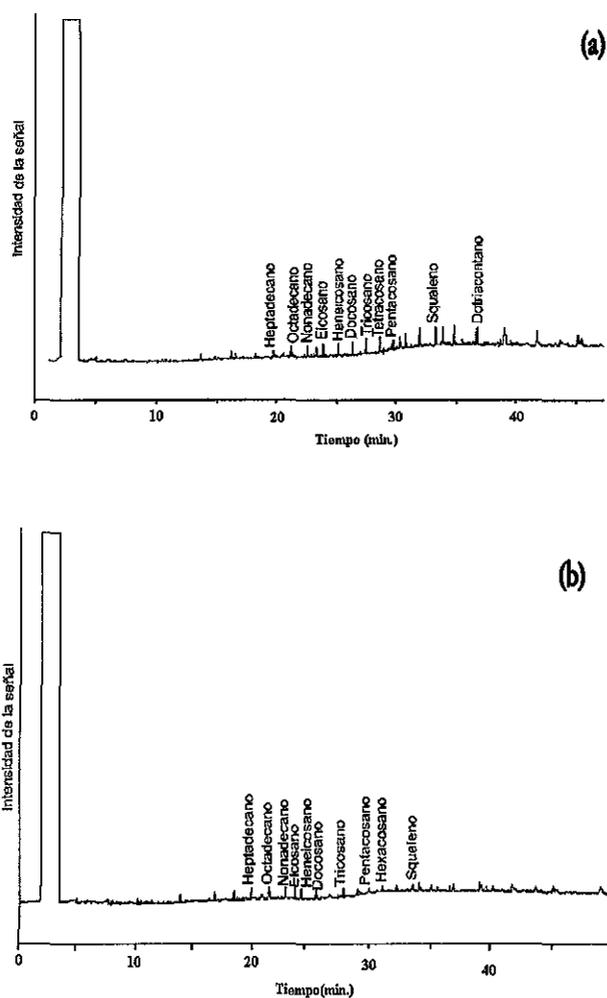


Figura 23. Cromatogramas de los hidrocarburos remanentes del petróleo crudo adicionado a sedimentos de limo-arena, después de 30 días de incubación de un cultivo mixto de bacterias hidrocarbonoclastas, bajo condiciones de laboratorio. (a) control sin inóculo; (b) réplica con inóculo.

En las réplicas con sedimentos de limo-arena, los hidrocarburos del petróleo que fueron más utilizados por los microorganismos en orden de importancia son: el tetracosano, dotriacontano, squaleno, pentacosano, tricosano y docosano. Las tasas de utilización de estos compuestos a 30

días fueron del 100 % para el tetracosano como la más alta y nonadecano como la más baja con 16.59 %.

Por otra parte, es importante señalar que tanto para los bioensayos con sedimentos de arena-limo como para los limo-arena, algunos hidrocarburos estuvieron presentes con mayor abundancia en las réplicas que en los controles o bien ausentes en éstos y presentes en las réplicas.

6.4 Microscopía electrónica

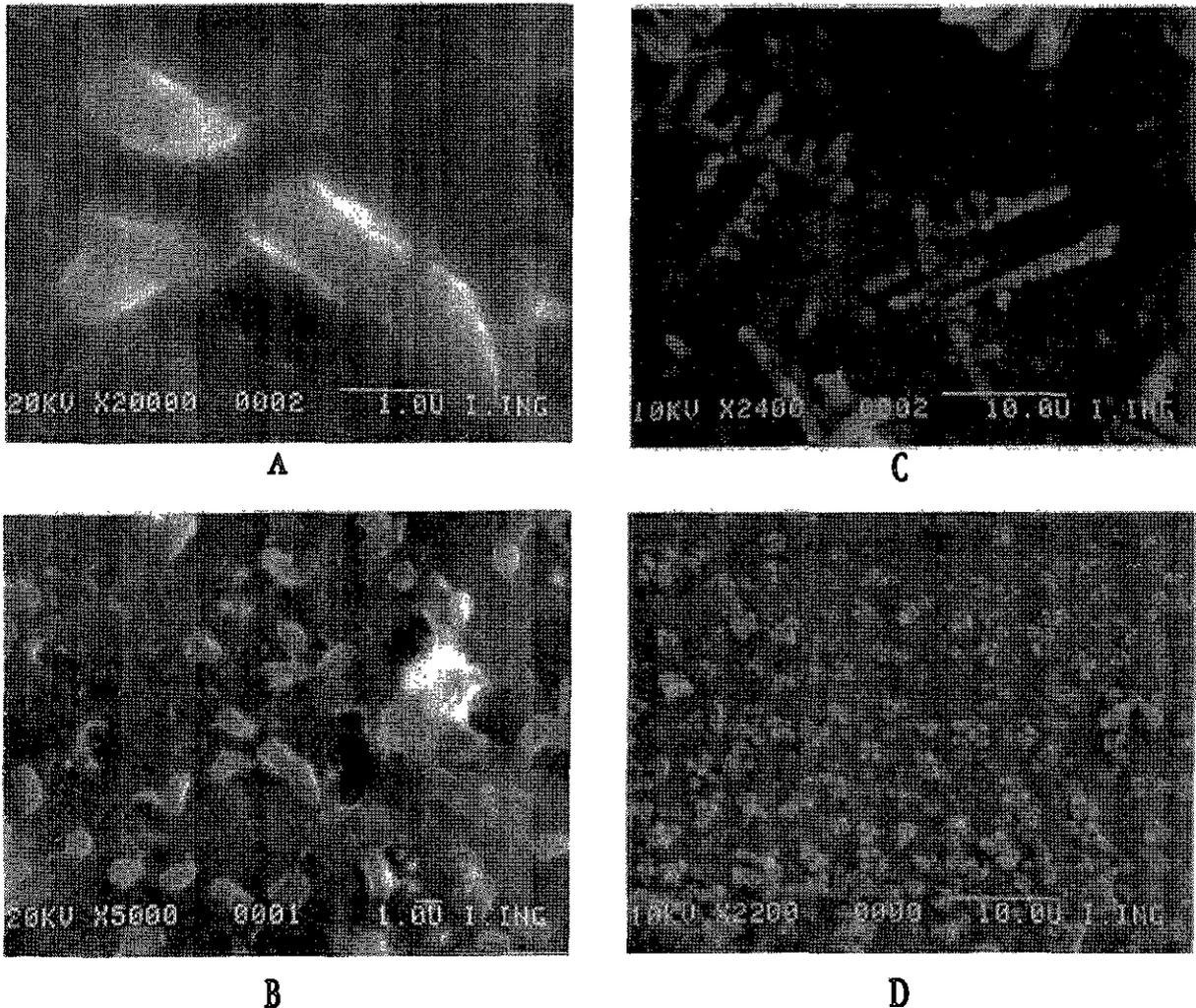


Figura 24. Microfotografías electrónicas de barrido de un cultivo mixto de bacterias degradadoras de petróleo (*Pseudomonas sp* y *Aeromonas calco*) en tres diferentes medios de cultivo a 30 días de incubación. A = bacterias en caldo marino DIFCO a 20 000x, B = bacterias a 500x en caldo marino DIFCO, C = formando cadenas en agua de mar y petróleo crudo y D = bacterias agregadas en medio mineral con petróleo crudo. Fotografías tomadas por Orlando Palacios (Instituto de Ingeniería, UNAM).

Como se puede observar en las fotografías de la figura 24 se presentaron notables diferencias en la forma de agregación de las bacterias dependiendo del medio de cultivo en el que se encontraban. En el caldo marino por ejemplo se pudieron observar bacilos en células solitarias o bien formando parejas (Figura 24 A, 24 B). En el medio mineral para bacterias degradadoras de petróleo enriquecido con fósforo y nitrógeno y petróleo crudo se observó a conglomerados de bacterias formando colonias (Figura 24 D). Por último, para el caso del cultivo en el medio con de agua de mar y petróleo crudo se observaron formaciones de colonias en cadenas (Figura 24 C).

6.5 Curva de Crecimiento

De acuerdo a los criterios de una curva generalizada de crecimiento bacteriano (Stanier, Adalberg e Inghraham, 1986) se observó que, la fase de adaptación en el crecimiento fue durante la primera semana de incubación, entre esta semana y a partir de la segunda se presentó la fase exponencial. Durante la tercera y cuarta semanas de conteos se observó lo que puede interpretarse como el inicio de la fase estacionaria en la curva de crecimiento (Figura 25). Es importante señalar, que después de este tiempo de incubación se realizó la determinación de las tasas de degradación de hidrocarburos expuestas en la sección 6.3, por lo que se puede decir que esas tasas se alcanzaron al término de la fase exponencial de crecimiento del cultivo bacteriano o bien al inicio de la fase estacionaria.

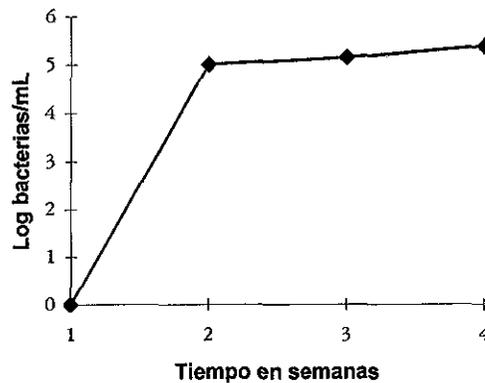


Figura 25. Curva de crecimiento del cultivo mixto de bacterias degradadoras de petróleo en agua de mar con petróleo crudo. Las densidades representadas son el promedio de los conteos en 30 campos bajo el microscopio de epifluorescencia.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los datos que aquí se presentan y que se discutirán a continuación son de carácter preliminar, debido a las limitaciones de las metodologías empleadas en su desarrollo, sin embargo, su importancia radica en que adicionalmente son los primeros datos generados acerca de los procesos de alimentación de la meiofauna en la Sonda de Campeche evaluados *in situ*, y su relación con las bacterias degradadoras de petróleo. La falta de antecedentes al respecto en el área de estudio, hace a esta información muy valiosa.

Se discuten los resultados obtenidos con el siguiente orden: en primer lugar, se analiza la composición taxonómica de la meiofauna y la abundancia bacteriana en las estaciones de colecta, este tema es tocado aunque no constituya un objetivo del trabajo, pero es importante dadas las diferencias encontradas con investigaciones de ecología del meiobentos en el área. En segundo lugar se analizan las diferencias del marcaje en los organismos de los taxones dominantes en la meiofauna y la relación con sus biomásas corporales.

En tercer lugar, las tasas de pastoreo encontradas son analizadas bajo consideraciones ecológicas comparativamente con la información disponible de trabajos experimentales sobre procesos de alimentación de la meiofauna; así como la cantidad de carbono que es retirado del sistema como indicador de utilización de hidrocarburos por las comunidades analizadas. Por último, se hacen algunas acotaciones en torno a las tasas de degradación de hidrocarburos estimadas en los experimentos en laboratorio.

7.1 Composición y abundancia

Las características texturales y estructurales de los sedimentos parecen haber tenido especial importancia para la composición taxonómica de la meiofauna en las dos estaciones analizadas, lo cual está íntimamente ligado con el contenido de materia orgánica en los mismos, el suministro de oxígeno y con las adaptaciones y características tróficas de los organismos. En la estación 38, con sedimentos con mayor porcentaje de arenas que de limos permitió la estructuración de un mayor número de microhabitat de colonias bacterianas (Meadows y Anderson, 1966) que en los sedimentos de la estación 51 que presentaron mayor porcentaje de limos que de arenas (Sánchez, ICMYL, com. Pers.).

La colonización de las arenas es proporcional al área superficial, se puede poblar con 260×10^3 células bacterianas un mm^2 de superficie de grano, aunque en la práctica las bacterias se

concentran en una pequeña porción de la superficie constituyendo menos del 1 % de ésta (Watling, 1991). A microescala se ha observado que la colonización en arenas suele ser heterogénea con conglomerados bacterianos en depresiones y grietas (Deflaun y Mayer 1983), granos grandes $> 300 \mu\text{m}$ de diámetro con superficies lisas pueden estar deshabitados de flora microbiana, mientras que partículas pequeñas con depresiones y grietas pueden estar densamente pobladas (Marcotte, 1986).

Comparativamente las superficies relativamente pequeñas de partículas de limo $< 10 \mu\text{m}$ de diámetro se han encontrado desprovistas de bacterias (Deflaun y Mayer, 1983). Esta restricción, puede ser causada por difusión limitada de oxígeno y moléculas de nutrientes a través de las partículas empaquetadas densamente (Watling, 1991). Esto podría explicar que las abundancias bacterianas fueron mayores en la estación 38 que en la estación 51 (ver sección 6.2). De esta manera, la abundancia bacteriana es un factor muy importante para la composición de la meiofauna que las utiliza como recurso trófico (Giere, 1993), experimentalmente se ha podido demostrar que la meiofauna detritivora en su mayoría utiliza las películas bacterianas y no el sustrato detritico (Meyer-Reil y Faubel, 1980).

Por tanto, es posible que el número de taxones, la densidad y la biomasa mayores en la estación 38 con respecto a la estación 51 (Tabla 2) puedan estar relacionados con la disponibilidad de bacterias así como con las características de los sedimentos. Estos resultados concuerdan con los de Falcón-Alvarez, (1998) que señala las localidades con los valores máximos de biomasa de bacterias coincidentes con los de máxima biomasa para la meiofauna y con relación a los sedimentos, Maya-Peña (1992) encontró los valores mayores de densidad y biomasa en sedimentos con mayores porcentajes de arena y los valores más bajos de densidad y biomasa en donde los lodos predominaron.

Por otra parte, las densidades de la meiofauna encontradas en las estaciones de colecta son inferiores a los datos publicados para esta región, Falcón-Alvarez (1998) encontró densidades tres veces superiores a los datos obtenidos en el presente estudio. De Jesús-Navarrete (1989) encontró densidades de 1340 ind/100 mL sólo para nematodos en la Sonda de Campeche y Herrera-Rodríguez (1992) densidades de nematodos superiores a las de este trabajo para toda la meiofauna.

Puede señalarse que existen diferencias en cuanto a las técnicas de muestreo, el tipo de draga empleada, el volumen de muestra y el número de réplicas para el análisis pero lo de mayor importancia es el hecho de que el muestreo que se realizó en el presente trabajo fue selectivo

debido a que se contabilizaron los organismos al término de los experimentos de pastoreo. Estos organismos fueron sometidos a tensión ambiental por la presencia de hidrocarburos.

Hay opiniones divergentes en cuanto a los efectos de este tipo de contaminantes sobre la meiofauna debido a la presencia de vertimientos naturales de petróleo como es el caso de las chapopoterías, cuyos aportes son comparables con el enriquecimiento orgánico y muchas especies de meiofauna pueden adaptarse (Montagna *et al.*, 1989).

Alrededor de estas áreas, en casos poco severos de contaminación por petróleo, la abundancia de nematodos es particularmente alta, mientras que otros taxones como los harpaticoides, ostracodos, turbelaridos y en menor grado los anélidos pueden verse reducidos (Giere, 1993). Lo anterior podría explicar el hecho que organismos como los copepodos que comúnmente son el grupo más abundante o el segundo grupo más abundante de la meiofauna (Pace y Carman, 1995), en el presente estudio se ubicaron como el quinto taxón en abundancia, sin embargo, estos resultados son más parecidos a los de Falcón-Alvarez, (1998) que encontró densidades de 49 057 ind/m² para este taxón y se presentó como tercer grupo de la meiofauna en cuanto a abundancia.

En biomasa como en abundancia, los copepodos se comportaron como organismos raros en la estación 38. Estos organismos son sensibles al suministro de oxígeno y en tanto se distribuyen mejor en aguas poco profundas con arena finas (Giere, 1993) como es el caso de la estación 38, mientras que en la estación 51 con sedimentos de limo arena no fueron encontrados. La mayoría son poco tolerantes y reaccionan negativamente a un incremento en la carga orgánica (Rudnick, 1989; Vincx *et al.*, 1990), en este sentido la adición de hidrocarburos en los sedimentos puede reducir el oxígeno en los microcosmos al aumentarse su demanda lo que podría explicar su disminución en abundancia y/o su ausencia.

Estos resultados, con grandes reservas, podrían apoyar las propuestas de que los copepodos disminuyen su abundancia por incremento en la carga orgánica (Rafaelli y Mason, 1981), sin embargo se desconoce la carga orgánica. En cuanto a los nematodos en este estudio, se encontraron abundancias menores a las publicadas para la Sonda de Campeche (De Jesús-Navarrete, 1989; Herrera-Rodríguez, 1992; Falcón-Alvarez, 1998) y abundancias relativas de 54.40 % y 16.79 % para las estaciones 38 y 51 respectivamente, que son inferiores a lo esperado, ya que se ha encontrado que en muestras de meiofauna de diversos lugares del mundo los nematodos representan el 90-95 % de los individuos y el 50- 90 % de la biomasa (Giere, 1993).

Aunque los nematodos no fueron dominantes en biomasa se ubicaron como el segundo grupo (Tabla 2) y sus abundancias son menores a las antes encontradas en la zona, si fueron dominantes en abundancia en las dos estaciones de estudio (Figura 7). En la estación 51 los nematodos fueron dominantes por su frecuencia y abundancia, sin embargo resalta el hecho de que los foraminíferos fueron el taxón más abundante con 79.4 % de la meiofauna y además fueron dominantes tanto en la estación 38 como en la 51.

Estos resultados no divergen de lo que algunos autores han encontrado, Giere (1993) señala que el papel ecológico de este taxón ha sido reconsiderado dada su importancia en los procesos productivos y tróficos, pues este taxón puede dominar la meiofauna, pero en la mayoría de los casos es relegado en los estudios. Shirayama y Horikoshi, (1989) encontraron que los foraminíferos constituyen del 50 al 80 % de las especies de meiofauna en mar profundo y el 30 % de la biomasa. En el noroeste del Golfo de México su densidad y biomasa ha sido considerada como dominante en el meio bentos en la plataforma interna (Maya-Peña, 1992) y en la región suroeste del Golfo de México Falcón-Alvarez, (1998) fueron el segundo grupo en densidad y el de mayor biomasa expresada en mgC/m^2 .

7.2 Marcaje y biomasa de la meiofauna

Las diferencias en el marcaje entre taxones pueden atribuirse a diversos factores entre los que las preferencias en el tipo de alimento en general y de los microorganismos en particular son sumamente importantes, estas diferencias pueden ser marcadas entre taxones como lo muestran los resultados para los taxones dominantes, los poliquetos y foraminíferos, como puede observarse en las figuras 14 y 15, en las que se muestran que los organismos más pequeños fueron los que se alimentaron activamente de bacterias marcadas ya que su radiactividad fue menor al incrementarse la biomasa.

En los poliquetos el comportamiento del marcaje en los controles y experimentos fue inverso, lo que sugiere una incorporación de las sustancias marcadas, para el caso particular del bioensayo con dodecano en la est. 38, un organismo de 1 μg se esperaba tuviera un marcaje de 60.41 dpm de acuerdo a lo obtenido en los controles, y de acuerdo a los experimentos 36.16 dpm, sin embargo la biomasa promedio en los experimentos fue menor que en los controles (Tabla 7).

Los resultados pueden indicar que los organismos no incorporaron los hidrocarburos ^{14}C , por preferencia sobre otro tipo de bacterias que no ingirieron ^{14}C , y éstos consumieron otro alimento dentro de la gama de microorganismos como organismos fotoautotróficos, hongos, levaduras

(Blanchard, 1991). Valores negativos, como en este caso, en que el marcaje en controles es mayor que en experimentos, han sido atribuidos a este hecho, cuando nematodos y copepodos consumieron bacterias no marcadas (Herman y Vranken, 1988; Carman, 1990).

En los nematodos el marcaje fue mayor cuando mayor fue su biomasa, ésto puede indicar que a mayor talla los requerimientos energéticos son mayores para el sostenimiento de los procesos metabólicos del cuerpo y por tanto su consumo es mayor respecto de organismos más pequeños. Dichas necesidades pueden ser cubiertos por diversos mecanismos; se ha observado que hay una alimentación diferencial durante el desarrollo ontogénico en nematodos (López *et al.*, 1979).

Los nematodos juveniles se alimentan principalmente de materia orgánica disuelta que es liberada por la intensa actividad bacteriana dentro de su hábitat, mientras que los adultos retienen esta habilidad y además complementan sus dietas alimentándose de carroña y ocasionalmente depredan (López *et al.*, 1979) y es posible que este sea una caso similar con algunos organismos.

Por otra parte, al igual que para los poliquetos y foraminíferos es posible que no este directamente ligado a la talla de los organismos sino a su tipo de alimentación en el caso de los experimentos. Los foraminíferos al igual que los nematodos han sido caracterizados en cuatro tipos de alimentación (Giere, 1993) este estudio fue dirigido a los alimentadores de depósito o detritívoros.

En los controles es de esperarse que no ingirieron partículas de sedimento por lo que el marcaje en el cuerpo de los organismos se pudo deber al contenido de ^{14}C en el tejido muscular y estructuras quitinizadas corporales y el aumento con la biomasa puede ser explicada por el hecho de que el tejido, el exoesqueleto y estructuras están constituidas por compuestos con alto porcentaje de carbono como los carbonatos para foraminíferos y la quitina en poliquetos así como en estructuras cuticularizadas en nematodos (Barnes, 1989).

El ^{14}C se produce de manera continua por reacciones nucleares causadas por radiación cósmica al incidir sobre la atmósfera terrestre, por la interacción de neutrones sobre el nitrógeno

${}^7_7\text{N}^{14} + {}^1_0\text{n}^1 \rightarrow {}^6_6\text{C}^{14} + {}^1_1\text{H}^1$ y entra a formar parte del carbón orgánico en el cuerpo de los organismos vivos (Navarrete y Cabrera, 1993). No se considera aquí la radiactividad de fondo ya que se hicieron correcciones. No se conocen los valores de la radiación natural ^{14}C en los organismos estudiados, sin embargo en la materia orgánica viva existe una relación $\text{C nat} / \text{C}^{14}$ de 1×10^{-12} .

Aunque no se conocen los tipos de alimentación de los organismos aquí analizados, sin embargo en sedimentos finos se han encontrado las mayores proporciones de nematodos alimentadores de depósito en la Sonda de Campeche (De Jesús-Navarrete 1989; Herrera-Rodríguez, 1992) así mismo se han identificado a los foraminíferos como organismos asociados con sedimentos finos con altos porcentajes de materia orgánica (Giere, 1993) es posible además que la proporción de otros organismos como los omnívoros o depredadores fuera superior a la de los alimentadores de depósito, sobre todo en la estación 38 dadas sus características sedimentarias.

Esto supondría una tasa de ingestión de bacterias menor en la est. 38 sin embargo, en esta estación fue mayor que en la est. 51. Ya que la biomasa bacteriana disponible fue mayor en esa estación y la biomasa consumida está en función de la cantidad de biomasa disponible (Montagna 1995).

7.3 Tasas de pastoreo meiofaunal sobre bacterias

Las diferencias entre las medias del marcaje en los bioensayos tanto en meiofauna como en sedimentos, a las concentraciones de 0.1 y 2 μCi , se presentaron de acuerdo a lo esperado ya que se añadieron los hidrocarburos con radiactividad distinta, ésta no podía ser la misma, sino mayor a mayor concentración y esto fue independiente del tipo de sedimento en las estaciones y de los hidrocarburos empleados.

De igual forma, la meiofauna en los experimentos presentó un marcaje superior que en los controles así como en los sedimentos, esto sugirió una ingestión de bacterias marcadas por la incorporación de los hidrocarburos marcados como lo demuestran las tasas calculadas.

Las tasas de pastoreo estimadas, bajo las condiciones del modelo empleado antes planteadas en el capítulo 5, para el dodecano 2 μCi , en las dos estaciones muestran mediante la incorporación neta bacteriana una continua actividad de los microorganismos durante la experimentación, asimismo esto demostró por un lado que este tipo de hidrocarburos son utilizados como fuente alternativa de carbono en la Sonda de Campeche, particularmente en la estación ubicada en la zona de plataformas petroleras; y por otro lado, la preferencia de la utilización del dodecano con relación a la utilización del naftaleno por las bacterias.

Lo anterior concuerda con la susceptibilidad de los hidrocarburos a ser biodegradados ya que estos microorganismos pueden degradar con mayor facilidad los n-alcenos particularmente los de cadena intermedia (C10-C24), como es el caso del dodecano, que los aromáticos (Floodgate, 1972), también está de acuerdo con las concentraciones por debajo de 0.01 ppb de este n-alceno durante las campañas SGM-2 y SGM-3 en la Sonda de Campeche y en particular en las

estaciones 38 y 51 de esta última campaña (Vázquez-Gutiérrez, 1997), por lo que se consideró como ausente, estos datos en conjunto sugieren una continua actividad degradadora bacteriana sobre este n-alcano, y adicionalmente esto fue corroborado con los resultados obtenidos en los experimentos de laboratorio que se discutirán en la sección siguiente.

Es importante hacer notar aquí que la estación 38 presentó una tasa de pastoreo mayor que la de la estación 51, puede explicarse por una mayor adaptación al uso del recurso, ya que la incorporación neta de la meiofauna fue superior que la de la estación 51, además de que la abundancia bacteriana también fue superior en esta estación, y la concentración de alimento disponible determina el consumo (Shiimer, 1982), adicionalmente la riqueza taxonómica en esta estación fue mayor con la presencia de ostracodos, copepodos y oligoquetos que son consumidores potenciales de bacterias (Giere, 1993; Marcotte, 1983; Bouguenec y Gianil, 1989).

Al parecer en la estación 38 existió una mayor optimización del recurso alimenticio ya que las bacterias incorporaron menos dodecano ^{14}C pero la tasa de pastoreo fue mayor sobre ellas que en la estación 51 donde las bacterias incorporaron mas dodecano ^{14}C pero la tasa de pastoreo fue menor sobre ellas, debido posiblemente a que el número de taxones pastoreadores fue menor (Tabla 2), también la abundancia bacteriana además de la posible preferencia sobre otro tipo de alimento por la meiofauna, estas preferencias, dependen de la calidad y cantidad del alimento (Decho, 1988; Montagna y Yoon, 1991), y puede afectar las tasas de ingestión sobre los microorganismos (Carman y Thistle, 1985).

En este caso los hidrocarburos son una fuente importante de carbono para estos organismos, sin embargo su calidad nutritiva en relación con otras fuentes de materia orgánica ricas en nitrógeno es inferior y se ha podido observar que el contenido de nitrógeno es determinante en la calidad del alimento, asimismo aunque incrementen sus tasas de ingestión con el aumento del alimento, si este es de bajo valor nutricional puede afectar negativamente la producción de la meiofauna e incluso sobre su supervivencia (Guidi, 1984).

Estos resultados no concuerdan con los de Montagna *et al.*, (1995) para las chapopoterías en Santa Barbara, California, en donde no encontró diferencias en las tasas de pastoreo entre estaciones próximas y alejadas de las chapopoterías, lo que interpretó como que la exposición al petróleo no tuvo un efecto en la conducta de alimentación, desde luego que este caso es distinto al que aquí se analiza debido a que la tasa de pastoreo calculada fue sobre bacterias que incorporaron hidrocarburos, y no timidina, que está ligada a la síntesis del ADN, (Montagna, 1993), sin

embargo es más parecida a la que se estimó para la estación 51, siendo ésta menor ya que las bacterias marcadas fueron aquellas con capacidad de incorporar y asimilar los hidrocarburos, y al ser un grupo reducido, la tasa de pastoreo sobre ellas fue menor.

Esta comparación muestra por un lado que en la zona de plataformas petroleras de la Sonda de Campeche, la presencia de los hidrocarburos no ejerce una influencia en la selectividad del alimento por parte de los organismos de la meiofauna, debido quizá a la adaptación de los organismos al aporte continuo de estos contaminantes a su habitat, mientras que en la estación alejada de esta zona si pareció ejercer una influencia.

La tasa de pastoreo estimada para la estación 51, es parecida a la publicada por Duncan *et al.*, (1974) para nematodos en estudios de laboratorio y no a la de una comunidad, sin embargo en superior a la publicada para toda la meiofauna en sedimentos con altos porcentajes de limos en Boston M. (Epstein y Shiaris 1992), aunque éstos autores utilizaron una técnica distinta en las determinaciones (vease tabla 10).

De acuerdo a Montagna (1995) hay dos formas de abordar el análisis de las tasas de pastoreo de la meiofauna, la primera es analizar cuanto carbono retira del sistema y la segunda es analizar el posible efecto sobre la dinámica de las comunidades bacterianas. En cuanto a la primera visión, se puede decir que de acuerdo a las tasas de ingestión de bacterias degradadoras de petróleo obtenidas, y considerando que el biovolumen promedio para la meiofauna fue de 27 nL y el de una bacteria $3.6 - 7.3 \times 10^{-8}$ nL (Lee & Furkman, 1987) entonces el volumen ingerido es relativamente pequeño en comparación con el biovolumen de la meiofauna.

Considerando que una célula bacteriana contiene 2×10^{-14} g C (Lee y Furkman, 1987), entonces las tasas de ingestión para las estaciones 38 y 51 expresadas en carbón fueron de 6.86×10^{-4} ngC/h y 4.12×10^{-9} ngC/h respectivamente que son equivalentes al 1.94×10^{-3} % y 5.08×10^{-10} % del carbón contenido en las biomasas bacterianas disponibles en cada una de las estaciones, de acuerdo a los datos estimados por conteo directo, como se puede observar el porcentaje de carbono removido es muy pequeño.

Estos resultados son inferiores a los que Blanchard (1991) y Rieper (1978) encontraron para copepodos en estudios de laboratorio, así como a los de Shirayama (1995) de 0.378 ngC/h para el mar profundo en el mar de Japón y notablemente inferiores que los publicados para especies de nematodos en aguas someras que van de 6 a 17 ngC/h (Tietjen 1980), en lo que respecta a estudios *in situ*.

Como ya se ha mencionado, la posible explicación a estas diferencias, es ante todo las preferencias en el alimento, además las condiciones de la plataforma continental en comparación al mar profundo son distintas, empezando por las estrategias de alimentación, en el mar profundo el flujo de materia particulada es limitado y la estrategia de los alimentadores no selectivos podría no ser conveniente ya que el costo energético por ingerir partículas de gran tamaño que pudieran proporcionarles un valor trófico bajo sería muy alto a diferencia de lo que ocurre en aguas someras en donde la alimentación es menos selectiva debido a la abundancia de alimento (Shirayama, 1995), aunado a lo que ya sea discutido en relación a los hidrocarburos.

Aquí es importante resaltar la diferencia entre incorporación y asimilación, debido a que las tasas de pastoreo de la meiofauna sobre bacterias y la incorporación de dodecano ^{14}C por estas no implica que sea asimilado en un 100 %. Blanchard (1991) señala la existencia de una optimización de la proporción asimilación: ingestión a través de un estrecho acoplamiento entre características morfológicas bucales y los sistemas enzimáticos de la meiofauna.

Estudios con nematodos y copepodos han revelado diferencias en las tasas de ingestión y las tasas de asimilación entre especies e inclusive entre diferentes estados ontogénicos de la misma especie (Decho y Fleeger, 1988). Herman y Vranken, (1988) encontraron un 25 % de asimilación de bacterias para el nematodo *Monbystera disjuncta*, este porcentaje de asimilación ha sido considerado una característica general de los nematodos, también se ha podido observar que otras especies de nematodos responden a cambios en la cantidad de alimento en su tasa de asimilación, por ejemplo *P. palustris* solo presentó 12 % con alta concentración de alimento (Duncan *et al.*, 1974) y con concentraciones de alimento una orden de magnitud menor se encontró eficiencias de asimilación de 57 % (Schiemer *et al.*, 1980).

Al parecer una eficiencia de asimilación baja en altas tasas de concentración de alimento responde al corto período de tiempo que las partículas de sedimento ingeridas permanecen en el intestino, pues las partículas pasan rápidamente por una digestión efectiva (Shierner, 1982), la divergencia en los datos publicados hace difícil realizar estimaciones al respecto.

Es claro que los requerimientos energéticos de la meiofauna no son cubiertos por el consumo bacteriano, pues como ya se ha mencionado existen tipos de alimento alternativo a las bacterias, al respecto Montagna (1984) señala que una tercera parte del suministro de carbono para nematodos proviene de la ingestión de microfitorbentos.

Aquí no se estimó la tasa de ingestión sobre microalgas, pero se asume la importancia de esta fuente de carbono de acuerdo a lo publicado por diversos autores (Tabla 10) y que la Sonda de

Campeche es un área con una alta productividad primaria (Botello *et al.*, 1992; Lizárraga, 1996) que ha sido considerada como una fuente importante de alimento para las comunidades bénticas mediante un acoplamiento entre columna de agua y sedimentos (Soto y Escobar, 1995). Asimismo se ha encontrado una correlación positiva entre la concentración de clorofila en sedimentos y la abundancia de nematodos (De Jesús-Navarrete, 1989).

Tabla 10. Tasas de pastoreo de la meiofauna (células. h⁻¹) estimadas por diversos autores.

AUTOR	LUGAR	PASTOREADOR	BACTERIAS	MICROALGAS
Carman y Thistle (1985)	Laboratorio	Copepodos	0.002 ⁻⁴ - 0.016 ⁻⁴	-
Montagna <i>et al.</i> , (1995)	I.V. y Sta. Barb., Calif. <i>In situ</i>	Meiofauna	0.0058	0.0018
Epstein y Shiaris (1992)	Boston, M. *	Meiofauna	0.00001	-
Rieper (1978)	Laboratorio	Copepodos	2.06-7.07**	-
Montagna (1984)	Carolina del Sur <i>in situ</i>	Meiofauna	0.217x10 ⁻³	1.44x10 ⁻³
Montagna y Bauer (1988)	B.de San Francisco <i>in situ</i>	Meiofauna	0.28x10 ⁻³	0.08x10 ⁻³
Blanchard (1991)	Laboratorio	Copepodos	-	33.94***
Duncan <i>et al.</i> , (1974)	Laboratorio	Nematodos	0.032x10 ⁻³	-
Presente estudio	Sonda de Campeche <i>in situ</i>	Meiofauna	34.34 y 2.06x10 ⁻⁴	-

*Técnica distinta: bacterias teñidas previamente. **µg/ind./día ***µgC/10cm²/h.

En cuanto al uso de la técnica de los radioisótopos en este tipo de investigaciones *in situ*, hay algunas objeciones, por el riesgo de sobreestimación o subestimación debidos a procesos que no se relacionan con la alimentación de los organismos, como la incorporación de sustancias marcadas por bacterias entéricas y epicuticulares de los organismos o la falta de pastoreo sobre bacterias marcadas que vivan sobre un pastoreador potencial (Montagna y Bauer, 1988). Existen sin embargo, técnicas que utilizan bacterias u otro tipo de alimento premarcado e incluso utilizan bacterias teñidas para fluorecer dentro del intestino de los organismos al ser transparentados y observados directamente antes de proporcionarlas como alimento (Epstein y Shiaris, 1992).

Sin duda estas técnicas proporcionan mejores resultados, pero no son aplicables a estudios *in situ* ya que no es posible separar a los microorganismos de la muestra colectada, teñirlos y posteriormente volverlos a incorporar al sedimento sin causar una perturbación en ellos.

Otras variables a considerar respecto a la técnica empleada son el período de duración de la experimentación, y la hora del día en la que fue realizada, durante este periodo es posible que muchos organismos no se alimentaron si sus hábitos eran nocturnos y no diurnos, o se

alimentaron previamente a ser colectados, aunque para los nematodos se ha podido observar que se alimentan continuamente (López *et al.*, 1979).

Otro factor importante es la absorción por difusión en las paredes corporales de los organismos, ya que se ha podido observar que un alto porcentaje de la materia orgánica disuelta es ingerido por esta vía, particularmente en los anélidos y en los nematodos (Giere, 1993; López, *et al.*, 1979), este tipo de absorción pudo ser eliminada por el uso de los controles, sin embargo es deseable evaluar si el proceso continúa una vez que los organismos están muertos.

7.4 Tasas de degradación bacteriana de hidrocarburos

El dodecano fue degradado en los dos tipos de sedimento preferencialmente con una tasa promedio de 93.48 % a los 30 días de exposición al cultivo mixto de *Pseudomonas sp* y *Aeromonas calco*, mientras que el naftaleno solo fue degradado en un 45.89 % bajo las mismas condiciones. Estos resultados apoyan los obtenidos en los experimentos *in situ*, debido a que tanto en laboratorio como en el campo se observa una preferencia por el dodecano con relación al naftaleno y estos resultados lo demuestran.

De igual modo en los experimentos con petróleo crudo, los n-alcanos presentaron mayores tasas de degradación que los aromáticos (Tabla 9). Cabe señalar que las diferencias encontradas de hidrocarburos ausentes en controles y presentes en experimentos pueden atribuirse a la composición misma del crudo que no es homogénea. Las comparaciones de las tasas de degradación de alifáticos y aromáticos no son adecuadas ya que las metodologías no fueron las mismas y la cromatografía de gases es una técnica más precisa que la fluorimetría, aquí se considera esta comparación como punto de referencia.

Las tasas de degradación estimadas tanto para alifáticos como para aromáticos en los experimentos con crudo fueron superiores en los sedimentos de limo arena, es posible que este sedimento mostrara mayor porosidad y por tanto mayor adsorción de la película del crudo permitiendo así una optimización en la colonización de las bacterias a los gránulo de sedimento a través de fimbrias, como ocurre con partículas detríticas (Zimmermann, 1977) y como puede observarse en la fig. 25D, en donde la colonización bacteriana de pequeñas gotas del crudo parece ser completa.

En este cultivo de *Pseudomonas sp* y *Aeromonas calco*, el proceso da inicio con la emulsificación a los 14 días de incubación (Yañez-Soria, 1995) que corresponde a la fase exponencial (Figura 25), después de dos semanas más, el cultivo pudo continuar creciendo utilizando como recurso único

los hidrocarburos suministrados de tal forma que a los 30 días utilizaron cerca de la mitad de este recurso alimenticio, de acuerdo a las tasas estimadas, y con una notable preferencia por los alifáticos (Figura 21). Cuando las condiciones son favorables este tipo de bacterias puede degradar prácticamente cualquier tipo de hidrocarburos, los n-alcenos son degradados más fácilmente, especialmente los formados por 10 a 16 carbonos (Romero-Jarero *et al.*, 1998), como en este caso (Tablas 8 y 9) y los compuestos aromáticos son fuentes aceptables de carbono y energía (Romero-Jarero *et al.*, 1998), una muestra de ello son las tasas de biodegradación obtenidas para este tipo de hidrocarburos.

Con relación a las condiciones favorables para acelerar el proceso de biodegradación, en este caso la temperatura favoreció las altas tasas obtenidas al final de la experimentación debido a que a pesar de poder presentarse este proceso en las bacterias en un amplio intervalo de temperaturas (Atlas, 1981), siempre son favorables las temperaturas cálidas, como en este caso con 28 ± 1 °C, debido a que tales temperaturas aceleran el proceso de volatilización de los hidrocarburos de bajo peso molecular y aumentan su susceptibilidad a la biodegradación (Ratledge, 1994).

La mayoría de las bacterias requieren de oxígeno para el proceso de biodegradación y la cantidad requerida depende del hidrocarburo, por ejemplo para oxidar 1 mg de naftaleno a CO₂ y H₂O se requieren 3.00 mg de oxígeno y el octano requiere 3.5 mg de oxígeno (Romero-Jarero *et al.*, 1998), aunque la cantidad inicial de oxígeno en los experimentos realizados fue de 3.5 mg/100 mL, no se realizó un monitoreo de este parámetro por lo que no se puede aseverar nada al respecto, de igual forma que para los nutrientes particularmente de N y P, sin embargo por los resultados obtenidos estos factores no parecieron ser limitantes para el proceso de biodegradación al menos hasta los 30 días de incubación.

Las estimaciones obtenidas de cuanto degradan dos especies de bacterias de la Sonda de Campeche, son alentadoras, pero el pastoreo de la meiofauna sobre éstas y otras bacterias parece ser muy pequeño con relación a la información disponible al respecto (vease Tabla 10) y es aconsejable evaluar que tan importante es con relación al aporte continuo de hidrocarburos en la región de estudio tanto de forma natural como por la industria petrolera nacional.

Con los resultados obtenidos se ha demostrado que existe una respuesta al aporte de hidrocarburos, por lo que es recomendable reconsiderar el papel de los hidrocarburos del petróleo en el balance de materia y energía en esta porción del Golfo de México. Sin embargo, la medida en que esta respuesta contribuye a una depuración del sistema es algo que requiere de un gran esfuerzo en trabajo interdisciplinario. Por ésto, los resultados que aquí se han presentado y

discutido son una contribución al conocimiento de estos procesos, pero dado su carácter preliminar no pueden ser extrapolados indiscriminadamente.

En primer lugar porque las concentraciones de hidrocarburos utilizadas en laboratorio están por encima de las concentraciones promedio documentadas para la Sonda de Campeche (Vázquez-Gutiérrez, 1997), adicionalmente las condiciones ambientales producen diferencias con respecto a lo que se puede obtener en laboratorio, ya que en el proceso de degradación del petróleo influyen diversos factores fisicoquímicos además de los biológicos (Morgan y Watkinson, 1994).

En cuanto a los aspectos biológicos, hay dos aspectos fundamentales, por una parte aquí se utilizó un cultivo mixto con dos especies bacterianas, *Pseudomonas sp* que es la más común dentro de las hidrocarbonoclastas (Atlas, 1993) y *Aeromonas calco* cuya condición de hidrocarbonoclasta recientemente fue descubierta (Yañez-Soria, 1995), en la Sonda de Campeche hay más de dos especies de bacterias que degradan hidrocarburos (Yañez-Soria, 1995); además de levaduras (Silva, en preparación), hongos y cianobacterias potencialmente degradadoras de hidrocarburos en el Golfo de México (Rojas-Tellez, 1997).

Por otro lado, la disponibilidad de otras fuentes de carbono en la materia orgánica hace de los hidrocarburos una fuente alternativa de carbono, como quedó demostrado con las tasas de pastoreo estimadas, y no la única fuente de carbono como en el caso de los experimentos en laboratorio, por lo que otras sustancias disponibles pueden ser utilizadas preferencialmente debido a las diferencias en el costo energético.

CONCLUSIONES

El objetivo central de este trabajo se cumplió al llegar a conclusiones que representan una contribución al conocimiento de uno de los procesos de transferencia de materia y energía en las comunidades bénticas de la Sonda de Campeche. En cuanto a los objetivos particulares, puede decirse que se cumplieron parcialmente debido a las limitaciones impuestas por los propios métodos empleados y sus modificaciones, así como por la complejidad de los temas abordados.

Las conclusiones obtenidas al término de esta investigación son las siguientes:

1. Los hidrocarburos del petróleo fueron incorporados por la comunidad bacteriana sugiriendo una utilización como fuente de carbono alternativa en las dos localidades de muestreo y experimentación en la Sonda de Campeche, a su vez, las bacterias fueron pastoreadas por los componentes de la meiofauna en las dos localidades.
2. De los componentes dominantes en la meiofauna, los nematodos de mayor biomasa tuvieron un consumo de bacterias marcadas superior en comparación a los más pequeños y ocurrió el caso inverso para los poliquetos y foraminíferos.
3. Se encontró una preferencia por la incorporación bacteriana de dodecano en las dos estaciones de colecta así como en los experimentos de laboratorio en comparación al naftaleno y esto se manifestó en la tasa de pastoreo meiofaunal.
4. Las tasas de pastoreo de la meiofauna sobre bacterias marcadas por incorporación de dodecano ^{14}C fueron de $34.34 \cdot \text{h}^{-1}$ para la estación 38 ubicada en zona de plataformas y de $2.06 \times 10^{-4} \cdot \text{h}^{-1}$ para la estación 51 alejada de las plataformas petroleras.
5. La meiofauna retiró del sistema $6.86 \times 10^{-4} \text{ ngC h}^{-1}$ en la estación 38 y $4.12 \times 10^{-9} \text{ ngC h}^{-1}$ en la estación 51 equivalentes a $1.94 \times 10^{-3} \%$ y $5.08 \times 10^{-10} \%$ del carbón en las biomásas de bacterias disponibles en las dos estaciones respectivamente.
6. En los experimentos de laboratorio, el cultivo de *Pseudomonas sp* y *Aeromonas calco* degradó el dodecano en tasas de 100 y 87 % a 30 y el naftaleno fue degradado en un 18 y 73 % en los dos tipos de sedimento procedentes de las estaciones 38 y 51 de la campaña SGM-3. Observándose una mayor eficiencia en los sedimentos limosos que en los arenosos.
7. El petróleo crudo fue degradado un 49.5% para los hidrocarburos alifáticos en sedimentos de arenas-limos y 56.79 % en sedimentos de limo-arena mientras que los aromáticos fueron degradados en un 19.16 % y un 32.2 % respectivamente a los treinta días de exposición al cultivo bacteriano como fuente única de carbono y energía.

RECOMENDACIONES

La experiencia obtenida al realizar esta investigación ha permitido llegar a una serie de planteamientos a ser considerados para futuras investigaciones, que se enlistan a continuación:

- El tiempo de renovación bacteriano debe ser estimado para poder reconocer los efectos reales de los pastoreadores sobre la comunidad bacteriana.
- Se requiere evaluar los posibles efectos de los hidrocarburos en la conducta de alimentación de la meiofauna, mediante la realización de bioensayos.
- Realizar controles con timidina-³H y carbonato-¹⁴C para evaluar el pastoreo sobre bacterias y microalgas que permita discernir entre la importancia de las fuentes de alimento y comparar con el pastoreo de ¹⁴C-hidrocarburos. Asimismo se deberá incrementar el tiempo de incubación con estos hidrocarburos.
- El número de réplicas por muestreo deberá aumentarse, así como el área de estudio dando igual énfasis a las regiones de *plataformas de explotación petrolera, zona de chapopoterías naturales* así como a las regiones desprovistas de actividad petrolera en la Sonda de Campeche.
- Los experimentos para evaluar las tasas de biodegradación de hidrocarburos, utilizando los microorganismos obtenidos en los muestreos sin que éstos sean selectivos, ya que esto permitirá tener una estimación más cercana a las condiciones naturales que trabajando con cepas aisladas.
- Llevar al cabo una red de monitoreo que incluya los estudios que arriba se enumeran con el objeto de conformar una base de datos que permita analizar el comportamiento de las comunidades tanto bacteriana como meiobéntica ante la presencia de hidrocarburos y poder realizar en la medida de lo posible predicciones.

REFERENCIAS

1. ABBOT, D. y R.S. ANDREWS, 1983. Introducción a la cromatografía. Edit. Alhambra, S.A., España. 121pp.
2. APHHA- AWWA-IWPCS. 1989. Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales. 17th edición. Díaz de Santos. España.
3. ARMSTRONG R.S. y GRADY (1967). Geronimo cruiser entire Gulf of Mexico in Late Winter. *Com. Fish. Rev.* 29(19): 35-40.
4. ATLAS, R.M. 1993. Bacteria and bioremediation of marine oil spills. *Oceanus*. 36(2): 71
5. ATLAS, R.M. & Bartha M. 1972. Degradation and mineralization of petroleum by two bacteria isolated from coastal water. *Biotechnol. Bioeng.* 14:297-308.
6. ATLAS, R.M. 1981. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: an environmental perspective. *Microb. Rev.* 45: 180-209.
7. ATLAS, R.M. 1995. Petroleum Biodegradation and Oil Spil Bioremediation. *Mar.Poll. Bull.* 31(4-12): 178-182.
8. AUSTEN, M.C., A.J. MCEVOY, y R.M. WARWICK 1994. The specificity of meiobenthic community responses to different pollutants: Results from microcosm experiments. *Mar. Poll. Bull.* 28 (9): 557-563.
9. AYALA-CATAÑARES, A. y M. GUTIÉRREZ-ESTRADA. 1990. Morfología y sedimentos superficiales de la plataforma continental frente a Tabasco y Campeche, México. *An. Del Inst. Cienc. Del Mar y Limnol.* Univ. Nac. Autón. México. 7 (2): 163-190.
10. BARNES , R.D. 1989. Zoología de los invertebrados. 5^a edición, Interamericana McGraw-Hill. México. 956 pp.
11. BLANCHARD, G.F. 1991. Measurement of meiofauna grazing rates on microphytobenthos: is primary production a limiting factor? *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 147: 37-46.
12. BOTELLO, A.V. 1996. Característica, composición y propiedades fisicoquímicas del petróleo, p. 203-210. In: A. V. BOTELLO, J.L. ROJAS-GALAVIZ, J.A. BENITEZ, y D. ZÁRATE-LOMELI (Eds.). Golfo de México, Contaminación e impacto ambiental: Diagnóstico y tendencias. EPOMEX Serie científica 5. Uni. Aut. Camp. México, 666 p.

13. BOTELLO, A.V., G. PONCE, A. TOLEDO, G. DÍAZ, S. VILLANUEVA 1992. Ecología, recursos costeros y contaminación en el Golfo de México. *Ciencia y Desarrollo* 17 (102): 28-48.
14. BOUGUENEC, V. y N. GIANI 1989. Biological studies upon *Enchytraeus variatus* Bougenec & Giani 1987 in breeding cultures. In: Kaster J.L. (edt.). Aquatic oligochaete biology. *Hydrobiologia* 180: 151-165.
15. BROWN A.C. y A. MACLACHLAN 1990. Ecology of sandy shores. Els. Sci. Pub. Com. NY, USA 328 p.
16. CABALLERO-RODRIGUEZ G., C. RIO-ESTRADA , L. RODRÍGUEZ-ALVAREZ , G.G. TELLO-SANDOVAL 1992. Trematodes as pollution levels indicators by hydrogen sulphide in the Gulf of Mexico and this acid's impact on public health. *An. Inst. Cienc. Mar Limnol. UNAM*, 119(2): 151-161.
17. CAMPOS-CASTÁN, J. 1981. Contribución a la sedimentología y morfología de la plataforma continental frente a las costas de Campeche, México. Inv. Ocean/G-81-01. Dir. Gral. de Ocean. Sría. de Marina, México, DF. 41 p.
18. CANALES-CÁCERES, A.N. 1997. Informe de problemas de investigación 97-1. Maest. C. M. UACPyP-CCH, UNAM. 13 p.
19. CARMAN, K.R. 1990. Radiative labeling of a natural assemblage of marine sedimentary bacteria and microalgae for trophic studies: an autoradiographic study. *Microb. Ecol.*, 19: 279-290.
20. CARMAN K.R. y D. THISTLE, 1985. Microbial food partitioning by three species of benthic copepods: *Mar. Biol.* 88: 143-148.
21. CLARK, R.R. y D.W. BROWN, 1977. Petroleum: properties and analyses in biotic and abiotic systems, p. 1-89. In: D.C. MALINS (EDT.) Effects of petroleum on Arctic and subarctic marine environments and organisms. Vol. I. Academic press, N.Y.
22. COULL, B.C. y G.T. CHANDLER, 1992. Pollution and meiofauna: field, laboratory, mesocosm studies. *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.* 30, 191-271.
23. DARO, M.H. 1978. A simplified ^{14}C method for grazing measurements on natural planktonic populations. *Helgol. Wiss. Meeresunters.* 31:241-248

24. DE JESÚS-NAVARRETE A. 1989. Evaluación de los hidrocarburos totales en los sedimentos de la Sonda de Campeche y su posible efecto sobre la comunidad de nematodos bénticos. Tesis de maestría, CINVESTAV , IPN, unidad Mérida. 144 pp.
25. DECHO A.W. 1988. How do harpacticoid grazing rates differ over a tidal cycle? Field verification using chlorophyll-pigment analyses. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 45: 263-270.
26. DECHO, A.W. y J.W. FLEEGER, 1988. Ontogenic feeding shifts in the meiobenthic harpacticoid copepod *Nitocra lacustris*. *Mar. Biol.* 97: 191-197.
27. DEFLAUN M.F. y L.M. MAYER, 1983. Relationships between bacteria and grain surfaces in intertidal sediments. *Limn. Oceanogr.* 28: 873-881
28. DÍAZ-GONZÁLEZ G. 1992. Determinación de hidrocarburos organoclorados en sedimento y organismos de la plataforma continental y zonas costeras del golfo de México. Tesis doctoral UACPyP, CCH, ICMYL, UNAM.
29. DUNCAN, A., F. SCHIEMER , R.Z. KLEKOWSKI 1974. A preliminary study of feeding rates on bacterial food by adult females of a benthic nematode *Plectus palustris* De Man 1880. *Pol. Arch. Hydrobiol.* 21: 237-255.
30. EHRHARDT, M. y R.R. WEBER. 1991. Sensitized photochemical decomposition of aliphatic hydrocarbons in seawater. *Fresenius 'Z. Anal. Chem.* 339:772-776.
31. E.P.A., Environmental Protection Agency, 1991. Compilation of E.P.A.'s Sampling and Analysis Methods. Mueller, W. y D.L. SMITH In: KEITH, L.H. (Eds.). E.Ú.A. 803 p.
32. ELLIS, N.J., B.C. COULL. 1989. Fish predation on meiobenthos: field experiments with juvenile spot *Leiostomus xanthurus*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 130 (1): 19-32.
33. EPSTEIN S. S. y M.P. SHIARIS, 1992. Rates of microbenthic and meiobenthic bactivory in a temperate muddy tidal flat community. *Appl. Environ. Microbiol.* 58: 2426-2431.
34. FALCÓN-ALVAREZ, L. 1998. Consumo de oxígeno y biomasa de la infauna de plataforma continental del suroeste del Golfo de México y península de Yucatán. Tesis Licen. Fac. Cienc. UNAM. 78 pp.
35. FELLER R.J. y R.M. WARWICK 1988. Energetics. In: HIGGINS R.P. AND THIEL H. (Ed). Introduction to study of meiofauna. Smithsonian Institution Press: 181-196.
36. FLOODGATE, G.D. 1972. Biodegradation of hydrocarbons in the sea: p.153-171. In MITCHELL R. (Ed) Water pollution Microbiology.
37. GIERE, O. 1993. Meiobenthology. The microscopic fauna in aquatic sediments. Springer-Verlag. Berlin. 328 pp.

38. GESAMP (IMO/FAO/UNESCO/WMO/WHO/IAEA/UN/UNEP JOINT GROUP OF EXPERTS ON THE SCIENTIFIC ASPECTS OF MARINE POLLUTION). 1993. Impact of oil and related chemicals and wastes on the marine environment. Rep. Stud. GESAMP (50): 180 pp.
39. GERG, Geochemical and Environmental Research Group., 1992. Extraction of sediments for Hydrocarbon Analysis. Standard Operating Procedures. Approved May 5, 1992. Rev. N. 31-7 p.
40. GONZÁLEZ -ESTRADA, F. 1990. Determinación de los niveles de hidrocarburos alifáticos y aromáticos en sedimentos recientes de la plataforma continental de los estados de Tabasco y Campeche, México. Tesis de licenciatura. Fac. Cien. UNAM. 108 p.
41. GUIDI, L.D. 1984. The effect of food composition on ingestion, development, and survival of a harpacticoid copepod, *Tisbe Cucumariae*. *J.Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 1984, 84: 101-110.
42. HERMAN P. M. y G. VRANKEN, 1988. Studies of the life-history and energetics of marine and brackish-water nematodes. II Production, respiration and food uptake by *Monbystera disjuncta*. *Oecologia* 77: 457-463.
43. HERRERA-RODRÍGUEZ, M.1992. Evaluación de los efectos de los hidrocarburos sobre la comunidad de nemátodos bénticos de vida libre de la plataforma continental de la península de Yucatán. Tesis de Maestría CINVESTAV, Mérida. IPN. 161 p.
44. HULINGS C. N. y J.S. GRAY 1971. A manual for the study of meiofauna. Smithsonian Contribution to Zoology, 78. 84 pp.
45. LEAHY, J.G., C.C. SOMERVILLE, K.A. CUNNINGHAM , G.A. ADOMANTIADIS, J. BYRD, R. COLWELL, 1990. Hydrocarbon mineralization in sediments and plasmid incidence in sediment bacteria from Campeche Bank. *Appl. Environ. Microbiol.* 56(6): 1565-1570.
46. LEE, S. y J.A. FURKMAN, 1987. Relationships between biovolume and biomass of naturally derived marine bacterioplankton. *Appl. Envir. Microb.* 1298-1303.
47. LIZARRAGA-PARTIDA L., RODRIGUEZ-SANTIAGO H. y ROMERO-JARERO, J. 1982. Effects of the Ixtoc I blowout on heterotrophic bacteria. *Mar.Poll. Bull.* 13: 67-70.
48. LIZÁRRAGA-PARTIDA, M.L., J. MUÑOZ RUBIO, J. PORRAS-AGUIRRE, F.B. IZQUIERDO VICUÑA E I. WONG CHANG 1986. Taxonomy and distribution of hydrocarbonoclastic bacteria from the IXTOC I area, p. 633-638. *In: Deuxieme Colloque*

- International de bactériologie Marine. CNRS. Brest 1-5 oct. 1984. IFREMER, actes de Colloques 3. Paris.
49. LIZÁRRAGA-PARTIDA, L. M. 1996. Microbiología del petróleo en el sur del Golfo de México. P. 265-278. *In*: A.V. Botello, J.L. Rojas-Galaviz, J.A. Benitez, D. Zárate-Lomeli (Eds.). Golfo de México, Contaminación e impacto Ambiental: Diagnóstico y Tendencias. Universidad Autónoma de Campeche. EPOMEX Serie Científica, 5: 666 p.
 50. LIZARRAGA-PARTIDA, L., F.B. IZQUIERDO-VICUNA , I. WONG-CHANG. 1991. Marine bacteria on the Campeche Bank oil field. *Mar.Poll. Bull.* 22 (8): 401-405.
 51. LOPEZ,G., F. RIEMANN y M. SCHRAGE, 1979. Feeding biology of the brackish-water Oncholaimid Nematode *Adoncholaimus thalassophygas*. *Mar. Biol.* 54: 311-318.
 52. MANLY, B.F.J. 1986. Multivariate Statistical Methods: A primer. First edition. Chapman & Hall Press. London. 159 p.
 53. MARCOTTE, B.M. 1983. The imperatives of copepod diversity: perception, cognition, competition and predation. *In*: SCHRAM, F.R. (Edt.) Crustacean Phylogeny. Balkema, Rotterdam, 47-72 pp.
 54. MARCOTTE, B.M. 1986. Sedimentary particle sizes and the ecological grain of food resources for meiobenthic copepods. *Estuarine Coastal Shelf Sci.* 23: 423-427
 55. MAYA-PEÑA, E. 1992. Análisis de la distribución y la abundancia de la meiofauna e infauna de la plataforma continental de la región noroeste del Golfo de México. Inf. Servicio Social, UAM-X. 27 p.
 56. MEADOWS, P.S. y J.G. ANDERSON. 1966. Micro-organisms attached to marine and freshwater sand grains. *Nature* 212: 1059-1060.
 57. MEYER-REIL L.A. y A. FAUBEL, 1980. Uptake of organic matter by meiofauna organisms and interrelationships with bacteria. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 3: 251-256
 58. MILLER, G.J. y D.W. CONELL. 1982. Global production and fluxes of petroleum and recent hydrocarbons. *Int. J. Environ. Studies.* 19(3/4): 273-280.
 59. MONTAGNA P.A., 1984. In situ measurement of meiobenthic grazing rates on sediment bacteria and edaphic diatoms. *Mar.Ecol.Prog.Ser.* 18: 119-130.
 60. MONTAGNA P.A., J.E. BAUER, J. TOAL, D. HARDIN y R.B. SPIES, 1989. Vertical distribution of microbial and meiofaunal populations in sediments of a natural coastal hydrocarbon seep. *J. Mar. Res.* 47: 657-680.
 61. MONTAGNA P.A., J.E BAUER, D. HARDIN y R.B. SPIES, 1995. Meiofaunal and

- microbial trophic interactions in a natural hydrocarbon seep. *Vie Milieu*, 45 (1): 17-25
62. MONTAGNA, P. A. y W.B. YOON, 1991. The effect of freshwater inflow on meiofaunal consumption of sediment bacteria and microphytobenthos in San Antonio Bay, Texas, U.S.A. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 33: 529-547
63. MONTAGNA, P.A. 1982. Sampling design and enumeration statistics for bacteria extracted from marine sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 43(6): 1366-1372
64. MONTAGNA, P.A. 1993. Radioisotope technique to quantify *in situ* microbivory by meifauna in sediments. In Handbook of Methods in Aquatic Microbial Ecology. (Eds) P.F. Kemp, B.F. Sherr, E.B. Sherr, and J.J. Cole, Lewis Publishers, Boca Raton, 745-753.
65. MONTAGNA P.A. 1995. Rates of metazoan meiofaunal microbivory: A review. *Vie. Milieu.* 45 (1)1-9.
66. MONTAGNA,P.A. y BAUER, J.E. 1988. Partitioning radiolabeled thymidine uptake by bacteria and meiofauna using metabolic blocks and poisons in benthic feeding studies. *Mar. Biol.* 98: 101-110
67. MORALES-WHITNEY, J. 1998. Análisis de los hidrocarburos presentes en agua, sedimento y organismos de los sistemas fluvio-lagunares Pom-Atasta y Narvaez, Campeche – Tabasco. Informe final de Serv. Social. UAM-X. 89 pp.
68. MORGAN P. y R.J. WATKINSON, 1994. Biodegradation of components of petroleum. Chap. 1. In: RATLEDGE, C. 1994. Biochemistry of microbial degradation. Klumer Academic Publishers, Netherlands. 590 pp.
69. NAVARRETE,M. y L. CABRERA, 1993. Introducción al estudio de los radioisótopos. Segunda edición. Fac. Química, Sección Nuclear, UNAM. 309 p.
70. OSORIO - DUALIBY, D. 1988. Trophic relationships of *Mugil murema*, *M incilis* and *M liza* (Pisces: Mugilidae) at the Ciénaga Grande of Santa Marta, Colombian Caribbean. *An.ins.invest. mar. Punta de Betín.* 18: 113-126.
71. PACE, M. Y K.R. CARMAN 1996. Feeding preference of a natural assemblage of meiobenthic copepods. Twenty Third ecology meeting. Grassle, J.P.; kelsey, A.; Oates, E.; Snelgrove, P.V. eds. New Brunswick USA. Inst. Marine Coastal Sciences 1995 vp.
72. PAYNE, J. R. y C. R. PHILLIPS 1985. Petroleum Spills in the marine environment: Chemistry and formation of water-in-oil emulsions and tar balls. Chelsea, Mic., Lewis Publishers, 148 pp.

73. PENDERUD, B., F. THINGSTAD, K. TJSSEM Y A. AABERG 1984. Photo-induced toxicity of North Sea crude oils toward bacterial activity. *Mar. Poll. Bull.* 15(4): 142-146.
74. RAFFAELLI, D. Y C.F. MASON. 1981. Pollution monitoring with meiofauna using the ratio of nematodes to copepods. *Mar. Poll. Bull.* 12: 158-163.
75. RATLEDGE, C. 1994. Biodegradation of oil, fats and acids. Chap. 4 *In*: RATLEDGE, C. 1994. Biochemistry of microbial degradation. Klumer Academic Publishers, Netherlands. 590 pp.
76. RAZ-GUZMÁN-MACBETH, A. 1995. Caracterización trófica de los componenetes dominantes de las comunidades bentónicas en Laguna de Términos, Campeche y la plataforma continenetal adyacente. Tesis doctoral, UACPyP, CCH, ICMyL, UNAM.
77. RIEPER, M. 1978. Bacteria as food for marine harpaticoid Copepods. *Mar. Biol.* 45: 337-345.
78. RODINA, A.G. 1972. Methods in Aquatic Microbiology. University Park Press. Baltimore 461 pp.
79. RODRIGUEZ-ROMERO F; M . GASCA; J. DE LA ROSA. 1992. Cromosome disorder in *Crassostrea virginica* caused by hydrocarbons from well Yum 2. *Rev. Soc. Mex. Hist. Nat.* 43 : 5-13.
80. ROJAS-GALAVIZ, J.L., A. YAÑEZ-ARANCIBIA , J.W. DAY JR y F. VERA-HERRERA 1990. Habitat utilization, seasonality of community structure, and functioning of fish resources: coupling between tidal, freshwater marshes and estuaries in a tropical coastal ecosystem (Campeche, México). *Wetlands ecology and management*.
81. ROJAS-TELLEZ, S.J. 1997. Evaluación de la capacidad de degradación de un cultivo mixto de cianobacterias sobre cuatro hidrocarburos (m- y p-xileno, tolueno y naftaleno) Tesis de Licenciatura, ENEP-IZTACALA-UNAM, 72 P.
82. ROMERO-JARERO, J.M., P. NEGRETE-REDONDO, y F. YAÑEZ-SORIA. 1998. Biodegradación de petróleo en ambientes marinos. *In* Aspectos básicos para la biorremediación de suelos y acuíferos. Instituto de Ingeniería, UNAM.
83. RUDNICK, D.T. 1989. Time lags between the deposition and meiobenthic assimilation of phytodetritus. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 50: 231-240.
84. SALAS DE LEÓN, D.A., M.A. MONREAL-GÓMEZ, M.A. ALATORRE-MENDIETA, J.J. DÍAZ-PÉREZ, H. VELAZCO-MENDOZA, M. QUINTERO-CUEVAS, F. JAIME-ENRIQUEZ, J. ALDECO-RAMÍREZ y L.A. CAZARES-CRUZ. 1991. Proyecto

- DINAMO, subproyecto Física. Primer Informe técnico. In: Solís-Weiss, V. (Edt.). Dinámica Oceánica y su relación con el deterioro ambiental en la porción sur del Golfo de México. Proyecto DGAPA/UNAM IN209789. Primer informe técnico: 5-28 pp.
85. SALAZAR-VALLEJO, S. 1991. Contaminación marina. Métodos de evaluación biológica. CIQRO. Gob. Edo. Q.Roo. 193 pp.
86. SANDULLI, R. y M. DE NICOLA GIUDICI 1989. Effects of organic enrichment on meiofauna: a laboratory study. *Mar. Poll. Bull.* 20 (5): 223-227.
87. SCHIEMER, F., A. DUNCAN , R.Z. KLEKOWSKI 1980. A bioenergetic study of a benthic nematode, *Plectus palustris* De Man 1880, through out its life cycle. II Growth, fecundity and energy budget at different densities of bacterial food and general ecological considerations. *Oecologia (Berl)* 44: 205-212.
88. SEMARNAP 1996. Plan Nacional de Pesca y Acuicultura 1995-2000.
89. SCHIEMER, F. 1982. Food dependence and energetics of freeliving Nematodes. I. Respiration, Growth and Reproduction of *Caenorhabditis briggsae* (Nematoda) at different levels of food supply. *Oecologia* 54: 108-121.
90. SHIRAYAMA Y. y M. HORIKOSH 1989. Comparison of the benthic size structure between sublittoral, upperslope and deep-sea areas of the western Pacific. *Int. Rev. Ges. Hydrobiol.* 74: 1-13
91. SHIRAYAMA, Y. 1995. Ingestion rates of bathyal deep-sea meiobenthos collected from Suruga Bay, Central Japan. *Vie Milieu* 45(1): 11-15
92. SMITH, M. R. 1994. The physiology of aromatic hydrocarbon degrading bacteria. Chap. 11. In: RATLEDGE, C. 1994. Biochemistry of microbial degradation. Klumer Academic Publishers, Netherlands. 590 pp.
93. SOKAL, R.R. y F.J. ROHLF, 1981. The principles of statistical in biological research. W.H. Freeman y Company editores. 601- 616.
94. SOTO, L.A., A. GRACIA y A.V. BOTELLO. 1981. Study of the penaeid shrimp population in relation to petroleum hydrocarbons in Campeche Bank. *Gulf Car. Fish. Inst. Proc.* 33 rd Ann. Sess. Nov. 1980: 81-100.
95. SOTO-GONZÁLEZ, L. y E. ESCOBAR-BRIONES. 1995. Coupling mechanisms related to benthic production in the SW Gulf of Mexico. EMBS Greece. *Olsen y Olsen Intl. Symp. Ser.* 233-242.

96. STANIER R.Y.; E.A. ADELBERG Y J. L. INGRAHAM, 1986. Microbiología. Versión Española Actualizada de la 4ª edición de *The Microbial World*. Ediciones Repla, S. A. 836 p.
97. TIETJEN, J.H. 1980. Microbial-meiofaunal interrelationships: a review. *Microbiology* 1980: 335-338.
98. VAZQUEZ, G. F., SANCHEZ, G. H. AND VIRENDER, K. S., "TRACE METALS IN THE OYSTER *Crassostrea virginica* OF THE TERMINOS LAGOON, CAMPECHE.". 1993. *Mar. Pollut. Bull.* 26: 398-399.
99. VÁZQUEZ, G. F., VIRENDER, K. S., ALEXANDER, V. H. AND FRAUSTO, C. A., "METALS IN SOME LAGOONS OF MEXICO" 1995. *Environ. Health Perspect.* 103: 33-34.
100. VÁZQUEZ, G. F., ELIAS, D. M., AGUAYO, J. E. C., ALEJANDRO, B. AND VIRENDER, K. SHARMA., "TRACE METAL SPECIES IN AQUATIC SAMPLES OF TABASCO LAGOONS, MEXICO". 1996. *Environ. Int.*, 22: .
101. VÁZQUEZ -GUTIÉRREZ, F. 1998. Las fuentes de distribución y características de los hidrocarburos por arribazones en las costas de Tabasco y Campeche. Informe Técnico PEMEX, Convenio PEMEX-UNAM.
102. VÁZQUEZ-GUTIÉRREZ, F. 1997. Diagnóstico actual de la calidad ambiental de la zona costera del Golfo de México (Sonda de Campeche, zona costera de Atasta, dos bocas y sistema lagunar de Tabasco) donde se localizan las plataformas petroleras y chapopoteras naturales. Informe final de estudio. PEMEX, Convenio PEMEX-UNAM.
103. VIDAL, V. M., F.V. VIDAL, E. MEZA-CONDE y L. ZAMBRANO. 1994. Atlas oceanográfico del Golfo de México, vol. 3, 586 pp.
104. VINCX M. , P. MEIRE, y C. HEIP 1990. The distribution of nematode communities in the Southern Bight of North Sea. *Cab. Biol. Mar.* 31: 107-129
105. WARWICK, R.M., J.M. GEE, J.A. BERGE, y W. AMBROSE. 1986. Effects on feeding activity of the polychaete *Stroblosoma bairdi* on meiofaunal abundance and community structure. *Sarsia* 71: 11-16.
106. WATLING, L. 1991. The sedimentary milieu and its consequences for resident organisms. *Am. Zool.* 31: 789-796.
107. YAÑEZ-ARANCIBIA, A. y J.W. DAY. 1982. Ecological characterization of Terminos Lagoon, a tropical estuarine system in the souther Gulf of Mexico. 143-440 p. *In* YAÑEZ-ARANCIBIA, A. y J.W. DAY. (Edt.) 1982. Ecología de los ecosistemas costeros en el sur

- del Golfo de México: la región de la Laguna de Términos. ICMYL, UNAM, Coast. Ecol. Inst. Louisiana State University. Edt. Universitaria, México. 518 p.
108. YAÑEZ-ARANCIBIA, A. y A. AGUIRRE-LEÓN. 1982. Pesquerías en la región de la Laguna de Términos. 413-452 p. *In* YAÑEZ-ARANCIBIA, A. y J.W. DAY. (Edt.) 1982. Ecología de los ecosistemas costeros en el sur del Golfo de México: la región de la Laguna de Términos. ICMYL, UNAM, Coast. Ecol. Inst. Louisiana State University. Edt. Universitaria, México. 518 p.
109. YAÑEZ-ARANCIBIA, A. y P. SANCHEZ-GIL. 1986. Los peces demersales de la plataforma continental del sur del Golfo de México. 1. Caracterización ambiental, ecología y evaluación de las especies, poblaciones y comunidades. Inst. Cienc. Mar. y Limnología. UNAM, Publ. Esp. 9 : 1-230.
110. YAÑEZ-SORIA, F. 1995. Plásmidos degradativos de hidrocarburos de tres regiones marinas de México. Tesis de maestría, UAM-I.
111. ZAR, J.H. 1974. *Biostatistical Analysis*. Prentice-Hall, inc. Press. U.S.A. 620 pp.
112. ZIMMERMANN, R. 1977. Estimation of bacterial number and biomass by epifluorescence microscopy and scanning electron microscopy. Pp. 103-120. *In* Reinheimer, G. 1977. *Microbial ecology of a brackish water environmental*. Springer-Verlag. Alemania.