

03067



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Colegio de Ciencias y Humanidades
Unidad Académica de los Ciclos Profesional
y de Posgrado
Proyecto Académico de Especialización, Maestría
y Doctorado en Ciencias del Mar
Instituto de Ciencias del Mar y Limnología

J

IMPORTANCIA ECOLOGICA DE LA MATERIA ORGANICA Y SU
BIODEGRADACION EN EL ESTERO EL VERDE, SINALOA,
MEXICO.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

T E S I S
Que para optar por el grado de
DOCTOR EN CIENCIAS DEL MAR
(Especialidad en Oceanografía Biológica y Pesquera)
P r e s e n t a

FERNANDO GONZALEZ FARIAS

2002



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.

Este trabajo se realizó en el
Laboratorio de Microbiología
Marina de la Estación Mazatlán,
del Instituto de Ciencias del
Mar y Limnología, UNAM.

A MIS PADRES Y HERMANA

A MARIANA

A ANNIA Y CARLOS
A LUCY, FRANCISCO Y
FRANCISQUITO
A LA FAMILIA HERNANDEZ
GARZA
A TODOS MIS AMIGOS

I N D I C E

	Pág.
AGRADECIMIENTOS.....	i
RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	3
OBJETIVOS.....	14
AREA DE ESTUDIO.....	16
Descripción del Area.....	16
Estaciones de Muestreo.....	20
MATERIAL Y METODOS.....	23
Trabajo de Campo.....	23
Muestreos Mensuales.....	23
Biodegradación de Hojas de <i>Laguncularia racemosa</i> en el Estero.....	24
Observación al Microscopio Electrónico de Barrido de Hojas de <i>L. racemosa</i>	25
Obtención de Materia Orgánica Soluble (Acidos Húmi- cos) de Agua del Estero.....	25
Muestreos de 24 Horas.....	26
Trabajo de Laboratorio.....	28
Procesamiento de las Muestras de Campo.....	28
Medición de la Concentración de Oxígeno Disuelto..	28
Estimación de la Concentración de Microorganismos Heterótrofos.....	28

	Pág.
Medición de los Sólidos Totales Suspendedos.....	29
Medición de la Materia Orgánica Particulada.....	30
Medición de la Absorbancia.....	30
Medición de la Longitud de Onda de Absorbancia	
Máxima de la Materia Orgánica Soluble.....	31
Curva Patrón de Concentración de Materia Orgánica	
Soluble vs. Absorbancia.....	31
Estimación de las Tasas de Biodegradación en el	
Campo y Variación en el Contenido Protéico de	
Hojas de <i>L. racemosa</i>	32
Preparación de las Muestras de Hojas de <i>L. race-</i>	
<i>mosa</i> Para su Observación en el Microscopio Electr ^o	
nico de Barrido.....	32
Experimentos de Laboratorio.....	33
Utilización de las Hojas de <i>L. racemosa</i> Como	
Fuente de Carbono y su Actividad Antibiótica.....	33
Observación al Microscopio Electrónico de Barrido	
de la Biodegradación de Hojas de <i>L. racemosa</i> en	
Condiciones de Laboratorio.....	34
Utilización Como Fuente de Carbono de Hojas de	
<i>L. racemosa</i>	35
Obtención de Taninos, Lixiviados y Sustancias	
Húmicas del Estero.....	36
Taninos.....	36
Sustancias Húmicas de Lixiviados.....	37
Acidos Húmicos del Estero.....	38

Efecto de la Penicilina Sobre la Biodegradación de las Hojas de <i>L. racemosa</i> en Presencia de Taninos y Sustancias Húmicas de Lixiviados.....	40
Actividad Antibiótica de Taninos, de Sustancias Húmicas de Lixiviados y de Acidos Húmicos del Estero, Sobre Microorganismos Heterótrofos.....	41
Separación Cromatográfica de Taninos, Sustancias Húmicas de Lixiviados y Acidos Húmicos del Estero.....	42
Actividad Antibiótica y Espectro de Absorción de las Fracciones Cromatográficas de Taninos, Sustancias Húmicas de Lixiviados y Acidos Húmicos del Estero.....	43
Efecto de las Sustancias Húmicas Sobre la Biodegradación de Materia Orgánica.....	43
RESULTADOS.....	45
Muestreos Mensuales.....	45
Salinidad.....	45
Temperatura.....	46
Oxígeno Disuelto.....	47
Microorganismos Heterótrofos.....	48
Sólidos Totales Suspendidos.....	49
Materia Orgánica Particulada.....	50
Absorbancia.....	52
Longitud de Onda de Absorbancia Máxima de la Materia Orgánica Soluble.....	53

Curva Patrón de Concentración de Materia Orgánica Soluble vs. Absorbancia.....	55
Estratificación de la Columna de Agua.....	55
Comportamiento Comparativo Entre el Final del Estero y la Boca.....	56
Relaciones Entre los Parámetros Medidos.....	57
Biodegradación de las Hojas de <i>L. racemosa</i> en el Campo.....	61
Observación al Microscopio Electrónico de Barrido de la Formación del Detritus Procedente de Hojas de <i>L. racemosa</i>	64
Muestreos de 24 Horas.....	66
Muestreo del 23-24 de agosto de 1982.....	67
Muestreo del 4-5 de octubre de 1982.....	70
Muestreo del 28-29 de octubre de 1982.....	73
Estimación de la Exportación del Volumen de Agua, Materia Orgánica Particulada y Materia Orgánica Soluble del Estero Hacia el Mar.....	76
Experimentos de Laboratorio.....	83
Utilización de las Hojas de <i>L. racemosa</i> Como Fuente Alimenticia y su Actividad Antibiótica.....	83
Observaciones al Microscopio Electrónico de Barrido de la Biodegradación de las Hojas de <i>L. racemosa</i> en Condiciones de Laboratorio.....	85

Utilización de las Hojas de <i>L. racemosa</i> Como Fuente de Carbono.....	88
Obtención de Taninos y Sustancias Húmicas de Lixiviados y del Estero.....	89
Efecto de la Penicilina Sobre la Biodegradación de Materia Orgánica.....	91
Actividad Antibiótica de los Taninos, Sustancias Húmicas de Lixiviados y Acidos Húmicos del Estero Sobre Microorganismos Heterótrofos.....	92
Separación Cromatográfica de Taninos, Lixiviados y Acidos Húmicos del Estero.....	92
Actividad Antibiótica y Espectro de Absorbancia de las Distintas Fracciones Cromatográficas de Taninos, Lixiviados y Acidos Húmicos del Estero.....	93
Efecto de Sustancias Húmicas de Lixiviados Sobre la Biodegradación de la Materia Orgánica.....	95
DISCUSION.....	100
Variación Anual de los Parámetros Ambientales del Estero.....	100
Salinidad.....	101
Temperatura.....	102
Oxígeno Disuelto.....	103
Microorganismos Heterótrofos.....	104
Sólidos Totales Suspendedos.....	107

	Pág.
Materia Orgánica Particulada.....	110
Absorbancia.....	112
Exportación de Materia Orgánica del Estero Hacia la Zona Costera Adyacente.....	119
Biodegradación del Detritus.....	124
Influencia de las Sustancias Húmicas Sobre la Biode- gradación del Detritus.....	135
CONCLUSIONES.....	146
LITERATURA CITADA.....	149

AGRADECIMIENTOS

La realización del presente trabajo fué posible gracias al apoyo de varias personas é instituciones, a quienes expreso a continuación mi sincero agradecimiento:

- Al Dr. Agustín Ayala-Castañares, Director del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, por el constante apoyo brindado.
- Al M. en C. Mario Gutiérrez Estrada, Jefe de la Estación Mazatlán, por sus consejos y las facilidades brindadas.
- Al Departamento de Becas del Programa de Superación del Personal Académico de la UNAM, por la beca asignada para la realización de mis estudios de posgrado.
- A los Drs. Laurence D. Mee y John W. Day Jr., por sus valiosos comentarios, sus críticas y su atinada dirección durante el desarrollo de este trabajo.
- Al Dr. Luis Soto González, Coordinador del Programa de Especialización, Maestría y Doctorado en Ciencias del Mar, por su constante apoyo académico así como por la revisión del manuscrito.
- Al Dr. Carlos Huitrón Vargas, por sus constructivas críticas y su asesoría académica durante el desarrollo de esta investigación.
- A los Drs. Antonio Calderón Pérez, Albert van der Heiden y Alfonso Vázquez Botello, por sus acertados comentarios

durante la revisión crítica del manuscrito.

- Al M. en C. Francisco Flores Verdugo, por su gran ayuda en todos aspectos durante el desarrollo de este trabajo.
- Al Biól. Sergio Rendón Rodríguez, por su estupenda colaboración en la colecta y procesamiento de muestras.
- A la Biól. Mariana Hernández Garza, por su invaluable ayuda en la elaboración de gráficas y tablas, y por sus atinadas observaciones durante el desarrollo de este trabajo.
- A la M. en C. Annia Teclia B. Poli y al Dr. Carlos R. Poli, por sus sugerencias en los análisis estadísticos, así como por su estimulante amistad.
- A las Bióls. Sandra Guido S., Lizette Michel R. y Rocío Robles V., por su gran ayuda en la colecta y procesamiento de muestras, así como por su constante disposición de cooperación.
- A la Biól. Raquel Briseño D., a la Quím. Luz María García, al M. en C. Michel E. Hendrickx y a la Biól. Miriam Pérez, por su colaboración en el campo y en el laboratorio.
- Al Biól. Daniel Ríos, por las facilidades brindadas en el Campamento Tortuguero El Verde, de la Secretaría de Pesca.
- Al M. en C. Sergio Licea, por su colaboración en el procesamiento de las muestras para microscopía electrónica.
- Al Lic. Jorge Sobrevilla por el apoyo bibliotecario.
- Al M. en C. Héctor Domínguez A. ex-Director de la Unidad Académica de los Ciclos Profesional y de Posgrado del CCH, y al Lic. Ramiro González, Jefe del Departamento de Servicios Estudiantiles de dicha Unidad, por su constante y des

interesado apoyo durante la realización de mis estudios de posgrado.

- A María Elena Estrella por su permanente disposición para la resolución de problemas académico-administrativos.
- A Clara Ramírez J. por la estupenda transcripción de este trabajo.
- A todo el Personal que trabaja en la Estación Mazatlán, que de una u otra forma cooperó para la realización de este trabajo.
- A la Secretaría General de Estudios de Posgrado por el apoyo brindado para la impresión de este trabajo.

Toda luna, todo año,
todo día, todo viento
camina y pasa también.
También toda sangre llega
al lugar de su quietud.

Chilam Balam

RESUMEN

El presente trabajo se realizó en el estero El Verde, que es una laguna costera de boca efímera, localizada a 30 km al norte del Puerto de Mazatlán, Sinaloa. En este sitio se midió la variación mensual en la columna de agua de: la salinidad, la temperatura, el oxígeno disuelto, los microorganismos heterótrofos, los sólidos totales suspendidos, la materia orgánica particulada y la absorbancia, estimándose con esta última la materia orgánica soluble. Se discute qué factores influyen la variación de dichos parámetros y la importancia de dicha variación.

Cuando la boca del estero se encontraba abierta se realizaron 3 muestreos de 24 horas, con el fin de estimar el volumen de agua, la materia orgánica particulada y materia orgánica soluble exportadas. En base a los resultados obtenidos en dichos muestreos se calculó la exportación anual del volumen de agua, materia orgánica particulada y materia orgánica soluble del estero hacia la zona costera adyacente. Se discute la importancia ecológica de dicha exportación hacia el mar.

Se midió, en campo y en laboratorio, la tasa de biodegradación de hojas de *Laguncularia racemosa*, observándose al microscopio electrónico de barrido a los microorganismos responsables de la biodegradación. Se midió el incremento de nitrógeno orgánico

co del detritus a través del proceso de biodegradación y se discute la importancia de este incremento en la trama trófica del estero.

Se estimó la actividad antibiótica de sustancias húmicas y taninos obtenidas de lixiviados de hojas de *L. racemosa*, así como de ácidos húmicos obtenidos del estero, encontrándose que estos compuestos poseen fracciones cromatográficas similares, las que presentan también actividad antibiótica contra microorganismos heterótrofos del estero.

Se midió en el laboratorio la tasa de biodegradación de hojas de *L. racemosa*, en presencia de concentraciones iniciales de sustancias húmicas de lixiviados de hojas de *L. racemosa* y taninos, determinándose una diferencia significativa en la tasa de biodegradación de los cultivos control respecto a los cultivos con concentraciones iniciales de sustancias húmicas y taninos.

Se discute la importancia ecológica de la disminución de la tasa de biodegradación del detritus causada por taninos y sustancias húmicas, y se sugiere que estos compuestos son los responsables de la regulación en la transferencia de energía a través de la trama trófica del detritus.

INTRODUCCION

El estudio ecológico de las lagunas costeras en México es relevante debido a que el país cuenta con más de 123 lagunas, que cubren el 33% de sus litorales, con una superficie aproximada de 12,600 km², lo que representa un gran potencial productivo.

A través del tiempo el hombre ha utilizado a las lagunas costeras para la construcción de puertos, como áreas recreacionales, y para la explotación de recursos minerales y pesqueros.

Se considera como laguna costera a toda depresión de la zona litoral abajo de la altura media de las mareas más altas, que posea una comunicación efímera o permanente con el océano, y se encuentre protegida de éste por algún tipo de barrera (Lankford, 1977).

Las lagunas costeras son áreas de transición mar-tierra influenciadas tanto por procesos continentales como por procesos marinos. Son sistemas abiertos respecto al material disuelto y particulado, teniendo que la entrada de materia puede o no estar en balance con las pérdidas del sistema. La entrada principal de materia a las lagunas costeras es de origen continental, siendo los ríos, las lluvias y los escurrimientos locales los principales aportadores. Las pérdidas de

materia son principalmente por sedimentación y por exportación a la zona costera adyacente, siendo la importancia relativa de cada uno de estos procesos dependiente de las características hidrográficas de cada laguna (Mee, 1978).

Aunque la productividad bruta de los productores primarios en las lagunas costeras casi siempre excede a la respiración, teniéndose una productividad neta en el sistema (Atlas y Bartha, 1981), la alta productividad de las lagunas costeras tropicales y subtropicales se debe en general, al desarrollo de comunidades de manglares y marismas que contribuyen con grandes cantidades de energía al ecosistema lagunar (Odum y de la Cruz, 1967; Heald, 1969; Heald y Odum, 1970; Mann, 1972; Odum y Heald, 1975; Haines, 1977).

Los manglares son de los sistemas más productivos del mundo (Golley *et al.*, 1962; Pool *et al.*, 1977; Odum *et al.*, 1982), que aportan a las lagunas costeras grandes cantidades de materia orgánica influyendo positivamente en la productividad de las aguas (Heald, 1969; Mee, 1978). Dicho lo anterior la importancia fundamental de los manglares como ecosistemas tropicales está íntimamente ligada con el flujo de energía entre ambientes terrestres y marinos, que interactúan dinámicamente con los ecosistemas circundantes (Lot y Menéndez, 1977).

A pesar de que las lagunas costeras tienden a acumular nutrientes existe una pérdida continua a través de la exportación de sustancias disueltas y particuladas (Odum *et al.*, 1982), por lo que para mantener en estos sistemas abiertos más o menos constante la energía (biomasa), la entrada de nutrientes debe de balancear la pérdida neta del detritus o bien el reciclamiento de nutrientes a partir del detritus debe ser muy eficiente, para mantener una alta productividad primaria a partir de pequeñas cantidades de nutrientes (Mee, 1978).

El detritus se define según Darnell (1967) como: "todos los tipos de material biogénico en varios estados de descomposición, que representan una fuente de energía potencial para consumidores", y es considerado según Mann (1972) como: "el material biogénico más los microorganismos asociados a él".

El detritus de las comunidades bordeantes de las lagunas costeras, manglares y marismas principalmente, es una fuente muy importante de energía para consumidores primarios, siendo los principales factores que regulan su aporte, concentración y distribución dentro de las lagunas; las mareas, la afluencia de los ríos, las lluvias y los escurrimientos locales (Odum y de la Cruz, 1967; Stevenson *et al.*, 1974; Happ *et al.*, 1977; Pool *et al.*, 1977; Welsh, 1980; Baillie y Welsh, 1980; Flores-Verdugo, 1981).

En general se presenta un gradiente de concentración de detritus en las lagunas costeras, con aguas ricas en materia orgánica en un extremo (manglares y marismas) y pobres en el otro (aguas costeras), dependiendo la magnitud del gradiente de la mezcla de las aguas, influenciada por los factores antes mencionados y en algunas ocasiones por tormentas y huracanes (Happ *et al.*, 1977).

Los manglares y la vegetación de marismas que se desarrollan adyacentes a las lagunas costeras son consumidas directamente por pocos organismos, y toda la energía que representan en forma de biomasa vegetal no sería aprovechada en niveles tróficos superiores, de no ser por la degradación y mineralización que sufre dentro de las lagunas costeras.

Los procesos de degradación y mineralización de la materia orgánica son esenciales en la articulación de cadenas alimenticias para que la vida continúe (Wood, 1967), pues es por estos mecanismos que los productores primarios tienen a su disposición nutrientes para continuar con la síntesis *de novo* de materia orgánica y los consumidores obtienen alimento en forma de detritus. Los microorganismos responsables de estos procesos son principalmente los hongos y las bacterias, los que ponen a disposición de otros organismos alimento asimilable en forma de biomasa microbiana (Teal, 1962; Odum y de la Cruz, 1967; Odum, 1969; Wood *et al.*, 1969;

Fenchel, 1970; Mann, 1972; de la Cruz y Gabriel, 1974; de la Cruz, 1975; Odum y Heald, 1975; Kruczynski *et al.*, 1978; Montagna y Ruber, 1980; Odum *et al.*, 1982).

A la transformación de la materia orgánica del detritus en biomasa microbiana asimilable se le conoce como "producción heterotrófica" (Atlas y Bartha, 1981).

La tasa de degradación del detritus regula la producción heterotrófica, siendo ésta afectada por la disponibilidad de nutrientes, la estructura del material detritico, así como el tiempo de sumergencia del mismo (Day *et al.*, 1981).

Se ha observado la presencia de diversos microorganismos sobre el detritus procedente de varias fuentes, entre ellos se tienen a bacterias, hongos, diatomeas, zooflagelados, ciliados y nemátodos (Teal, 1962; Fenchel, 1970; Wiebe y Pomeroy, 1972; Paerl, 1973; Sieburth *et al.*, 1974; Cundell *et al.*, 1979; Montagna y Ruber, 1980).

Se considera que los hongos y bacterias ocupan una posición clave en el flujo ordenado de materia y energía a través del ecosistema lagunar (Atlas y Bartha, 1981), debido a que éstos son los microorganismos responsables de la transformación de compuestos orgánicos refractarios, pobres en nitrógeno, en biomasa microbiana rica en nitrógeno y fácilmente

te asimilable por los organismos detritívoros (Fenchel, 1970; Schultz y Quinn, 1973; Palumbo y Ferguson, 1978).

Se ha propuesto que el proceso de descomposición de biomasa vegetal de macrofitas presenta la secuencia siguiente:

- caída de las hojas
- autólisis y lixiviación
- colonización por hongos y bacterias
- degradación del detritus por exoenzimas microbianas
- utilización de productos solubles por microorganismos
- crecimiento de la población microbiana
- aparición de microdepredadores de hongos y bacterias
- el macrobentos consume el detritus y su comunidad microbiana
- el macrobentos expulsa desechos libres de microorganismos
- los desechos se recolonizan dando comienzo nuevamente al ciclo

(Mann, 1972; Odum y Heald, 1975; Odum *et al.*, 1982).

Se ha demostrado que el detritus es una fuente alimenticia para gran variedad de organismos, entre los que se encuentran: anfípodos, insectos, cangrejos, camarones, nemátodos, moluscos, peces, aves y mapaches (Teal, 1962; Newell, 1965; Adams y Angelovic, 1970; Fenchel, 1970; Odum, 1970; Mann, 1972; Lenz, 1977; Yáñez-Arancibia, 1978; Montagna y Ruber, 1980; Odum *et al.*, 1982; Nishihira, 1983).

Además de la relevancia que posee el detritus dentro de las lagunas costeras, la exportación del mismo hacia zonas costeras adyacentes es también de suma importancia, puesto que pone a disposición de los organismos marinos alimento y nutrientes. El detritus apoya la producción secundaria y los nutrientes el florecimiento de comunidades fitoplanctónicas. A esta exportación de detritus y nutrientes se le ha considerado en inglés, como un "outwelling" (Odum, 1972) refiriéndose al término "upwelling" (surgencia), lo que influye grandemente en la productividad de la zona costera.

Se ha estimado que un alto porcentaje de la productividad neta de las lagunas costeras puede ser exportada a zonas costeras adyacentes, dependiendo esta exportación de las características hidrográficas de cada laguna (Day *et al.*, 1973; Flores-Verdugo, 1981).

Se ha determinado, por medio de la relación isotópica de carbono ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$), en sedimentos de plataforma continental la presencia de detritus procedentes de lagunas costeras cercanas a las regiones de muestreo, lo que indica la importancia energética del detritus lagunar y el "outwelling" en las comunidades bentónicas de la plataforma continental (Eadie y Jeffrey, 1973; Parker, 1974; Fry *et al.*, 1977; Botello *et al.*, 1980).

Con lo anteriormente expuesto resulta innegable la importancia del detritus dentro de las lagunas costeras, así como en las áreas marinas adyacentes, más se debe considerar que el detritus se presenta en dos formas: soluble y particulado.

Se ha considerado como detritus particulado aquel retenido en filtros de membrana de 0.45 μm de poro, siendo detritus soluble aquel que pasa por dicho filtro (Menzel y Vaccaro, 1964).

El componente principal del detritus particulado en lagunas costeras es la celulosa proveniente de restos de plantas vasculares, siendo las sustancias húmicas el principal componente del detritus soluble. A pesar de la extensa distribución de las sustancias húmicas en suelos, sedimentos, lagos, ríos, lagunas costeras y océanos pocos son los conocimientos acerca de su origen, naturaleza, estructura química y funciones (Prakash y MacGregor, 1983).

Se ha dicho que las sustancias húmicas se forman por la polimerización azarosa de compuestos fenólicos (taninos y ligninas) que reaccionan con sustancias nitrogenadas derivadas de proteínas (Gillam y Wilson, 1983; Bollag, 1983), siendo la formación de polímeros fenólicos una típica reacción oxidativa (Ertel y Hedges, 1983).

Sabiendo que los taninos, junto con la lignina, son los componentes más abundantes en las plantas, después de la celulosa y hemicelulosa, y que se encuentran ampliamente distribuidos formando parte de las sustancias húmicas en los ecosistemas acuáticos (Lewis y Starkey, 1968; Steelink *et al.*, 1983), resulta interesante el estudiar la importancia biológica de estos compuestos en las lagunas costeras.

Los taninos son compuestos fenólicos con peso molecular de 500 a 3,000, teniéndose dos tipos de ellos: taninos hidrolizables y taninos condensados. Los primeros son ésteres formados por ácido gálico y azúcares, y los segundos son polímeros de mono y diflavonoles (Roux, 1972; Sarkar *et al.*, 1976).

Las plantas vasculares poseen gran cantidad de taninos, los mangles los presentan tanto en las hojas como en la corteza, y se ha reportado que éstos poseen hasta un 42% (peso seco) de taninos (Walsh, 1974).

Estos componentes del humus acuático pueden alcanzar altas concentraciones en lagunas costeras con manglares como vegetación bordeante, pudiendo ser hasta el 80% del detritus (Prakash y Rashid, 1968; Prakash *et al.*, 1973; Mantoura, 1981; Plechanov *et al.*, 1983; Prakash y MacGregor, 1983).

Desde el punto de vista biológico, la importancia de las sustancias húmicas radica no sólo en que forman parte del detritus soluble, sino que poseen ciertas actividades como son: inhibición del crecimiento de hongos y bacterias, promoción del crecimiento fitoplanctónico, estimulación de procesos celulares, atenuación de la toxicidad de metales pesados y otras sustancias, solubilidad de ciertos elementos (nutrientes), y estimulación en el consumo de nutrientes (Rice, 1965; Sieburth y Conover, 1965; Somers y Harrison, 1967; Benoit y Starkey, 1968; Feeny y Bostock, 1968; Lewis y Starkey, 1968; Prakash y Rashid, 1968; Bate-Smith, 1973; Prakash *et al.*, 1973; Rice y Pancholy, 1973; Sieburth *et al.*, 1974; Grant, 1976; Bohlool *et al.*, 1977; Cundell *et al.*, 1979; Prakash y MacGregor, 1983; Sedláček *et al.*, 1983; Shuman *et al.*, 1983; Tuschall y Brezonik, 1983).

La actividad inhibitoria de las sustancias húmicas sobre ciertos microorganismos, se debe particularmente a los taninos, siendo una reacción inespecífica que difiere de compuesto a compuesto, presentando mayor actividad los taninos condensados de alto peso molecular, que los taninos hidrolizables de menor peso molecular (Benoit y Starkey, 1968). Esta inhibición se atribuye a la capacidad de los taninos de unirse fuertemente a proteínas y polisacáridos, por lo que cuando las proteínas constituyen enzimas, la formación del complejo enzima-taninos inhibe total o parcialmente la

actividad enzimática (Benoit y Starkey, 1968; Lewis y Starkey, 1968; Bate-Smith, 1973; Rice y Pancholy, 1973; Grant, 1976; Mantoura, 1981; Prakash y MacGregor, 1983). La inhibición se debe también a que los sustratos susceptibles a degradación microbiana (polipéptidos, proteínas, carbohidratos) forman moléculas complejas con los taninos, las cuales no pueden ser degradadas por los microorganismos.

A la fecha los trabajos realizados sobre la biodegradación del detritus en lagunas costeras, han considerado solamente parámetros ambientales, salinidad, temperatura, oxígeno disuelto, etc., como responsables de las variaciones en la actividad de los microorganismos heterótrofos. Si bien los parámetros mencionados influyen sobre la tasa de degradación del detritus, es posible que las sustancias húmicas en general y los taninos en particular, sean responsables de una regulación en el proceso de degradación del detritus.

- Estimar el efecto de las sustancias húmicas sobre la tasa de biodegradación del detritus.

La conjunción de los objetivos planteados da origen a la siguiente hipótesis de trabajo, la que se pretende comprobar en función de los resultados obtenidos:

En lagunas costeras en donde domina la trama trófica del detritus, las sustancias húmicas en general y los taninos en particular, provenientes de los mangles, tienen un efecto regulatorio sobre la biodegradación del detritus.

Objetivos

Considerando lo anteriormente expuesto se evidencia la importancia de determinar la concentración, distribución, biodegradación y exportación del detritus de las lagunas costeras, así como evaluar el efecto de sustancias húmicas sobre la biodegradación del mismo, y su influencia en la regulación del flujo de energía dentro de dichos ecosistemas. Por lo que son objetivos de este trabajo los siguientes:

- Medir la variación de la concentración del detritus en el Estero El Verde, Sinaloa, México.
- Estimar la variación en la concentración de las sustancias húmicas en el estero.
- Estimar la tasa de biodegradación del detritus y la variación en su valor nutritivo.
- Identificar a los microorganismos involucrados en la colonización y biodegradación del detritus.
- Estimar la cantidad de detritus exportado del estero hacia la zona costera adyacente.
- Investigar la actividad inhibitoria de sustancias húmicas de hojas de mangle y del estero sobre microorganismos heterótrofos.

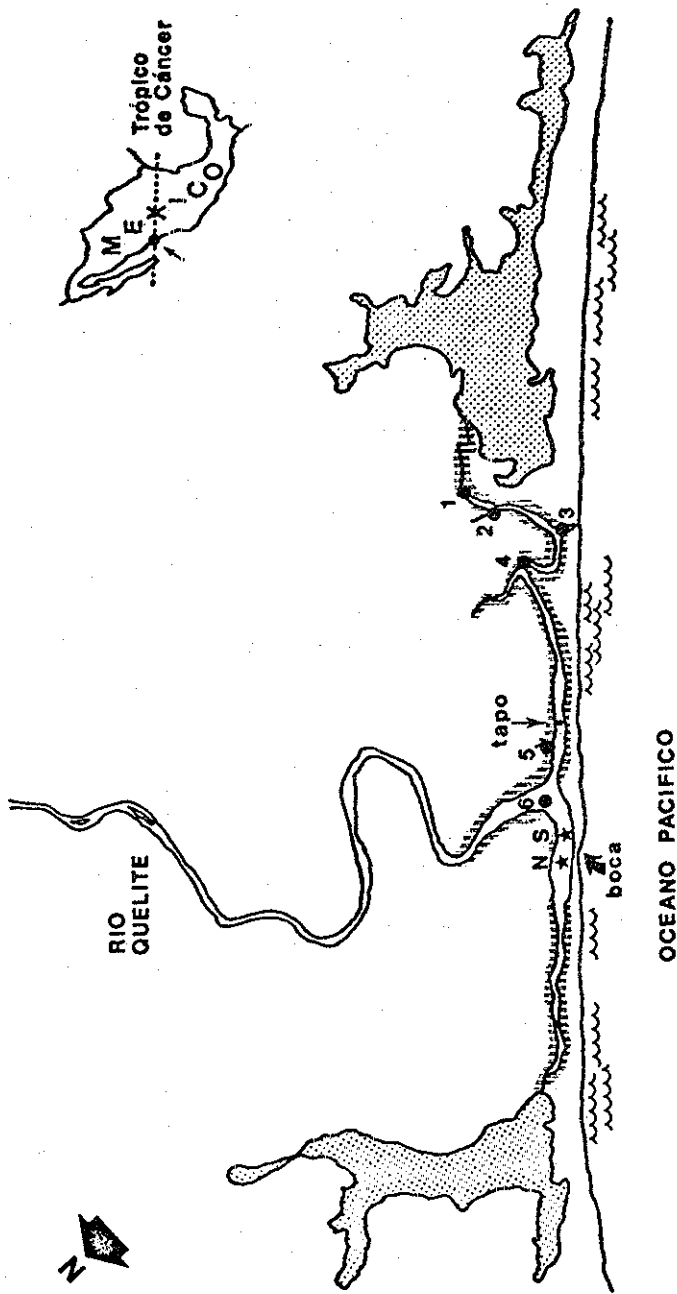
AREA DE ESTUDIO

Descripción del Area

El estero El Verde se localiza en el estado de Sinaloa, México, aproximadamente a 30 km al norte del Puerto de Mazatlán, a los 23°25' 30" de latitud norte y 106°33'30" de longitud oeste (Fig. 1). En esta área se han realizado estudios sobre geoquímica (Ortega-Romero, 1983), nutrientes (Galindo, 1981; Escalona, 1984), productividad primaria de vegetación sumergida y circundante (Flores-Verdugo, 1981) y fauna (Chan, 1980; Melchor, 1980; Sánchez, 1980; Hendrickx *et al.*, 1983; Hendrickx y Sánchez, 1983; Hendrickx, 1984).

El estero El Verde es, dentro de los criterios de Phleger (1969) y Lankford (1977), una laguna costera, la que está formada por la desembocadura del Río Quelite y por dos canales paralelos a la costa. Se encuentra separada del mar por una barrera arenosa, que presenta a través del año una boca efímera, la cual se abre natural o artificialmente.

La formación de esta laguna se debió probablemente a un delta y al incremento del nivel del mar en el período de postglaciación en el Holoceno (Phleger, 1969). Su morfología corresponde a una laguna formada por el acrecentamiento de una barrera arenosa, que actualmente separa al estero del



- ▨ manglar
- ▨ marisma
- estaciones muestreo
- ★ estaciones 24 hrs.

Figura 1: Area de estudio y localización de las Estaciones de muestreo.

mar. Según Lankford (1977) esta laguna puede considerarse como del tipo III-A, plataforma interna con barrera. Representa un ambiente inestable y maduro geológicamente, sujeto a procesos de erosión, sedimentación y diagénesis (Mee, 1978; Ortega-Romero, 1983).

Los sedimentos finos son predominantes en el estero, aunque en la desembocadura del río se presentan sedimentos gruesos provenientes del lavado de tierras por el río. En los canales se tienen principalmente limos y arcillas con alto contenido de materia orgánica (Ortega-Romero, 1983).

La superficie cubierta por los canales es alrededor de 0.5 km², con un volumen de agua en promedio de 4.2×10^5 m³ (Ortega-Romero, 1983), por lo que puede ser considerada según el criterio de Phleger (1969), como una laguna de bolsillo.

Los canales son someros poco accidentados, con una profundidad máxima de 3 m en época de lluvias y una longitud aproximada de 3 km el canal norte y 4 km el canal sur.

En los extremos del estero existen marismas que se inundan en la época de lluvias, vertiendo sus aguas al estero con gran cantidad de materia orgánica (Flores-Verdugo, 1981). Existen cercanos al estero campos agrícolas cuyo riego dre-

na hacia el río, aportando también materia orgánica hacia éste.

El clima del área es considerado, según la clasificación modificada de Köppen (García, 1973), como Awo(w)(e), clima cálido subhúmedo de lluvias de verano. Presenta una precipitación anual media de 706 mm, siendo el 80% de ésta de julio a septiembre y el 12% los meses de junio y octubre. Las temperaturas medias mensuales son de 19°C la menor en enero, y de 28°C la mayor en julio-septiembre. Los vientos predominantes son W y WNW durante el invierno, y WSW y W durante el verano (SARH, 1982; Poli, 1983).

El régimen hidrológico se divide en dos períodos, uno de lluvias y otro de secas. En el período de secas, de diciembre a mayo, la boca permanece cerrada y el poco aporte de agua que penetra a la laguna es por escurrimientos locales, o bien por olas de gran tamaño que logran pasar durante las mareas más altas sobre la barrera arenosa.

En el período de lluvias, de junio a octubre, existe un gran aporte de agua dulce al estero por precipitación y escurrimientos, así como por la afluencia del río, esto ocasiona que se abra la boca y se mantenga así alrededor de 3 meses (agosto-octubre). Después de abrirse la boca a medida que baja el nivel del estero y el aporte del río disminuye, se observa un efecto marcado de las mareas dentro de este cuerpo de agua.

Al finalizar la época de lluvias y cuando el aporte del río es mínimo, se cierra la boca por efecto de las olas y la corriente litoral. Las mareas aunque amplias en esta época del año, no pueden mantener la boca abierta debido al poco volumen de agua que entra y sale del estero.

Desde hace tiempo con el fin de capturar camarón, se han tenido dos tapos* en el estero, uno en el canal norte y otro en el canal sur, recientemente (octubre, 1982) se construyó una compuerta de control de aguas en el canal sur, lo que ha afectado la circulación natural dentro del estero.

El estero posee una vegetación circundante compuesta por manglares, *Laguncularia racemosa* principalmente y pequeños parches de *Rhizophora mangle*, los que aportan gran cantidad de materia orgánica al estero. Se presentan también pastos pantanosos como son *Phragmites* sp. y *Spartina* sp. (Flores-Verdugo, 1981).

La vegetación que cubre las marismas en la época de secas se compone de *Batis maritima*, *Salicornia* sp. y *Trianthema portulacastrum* (Hendrickx, 1984).

*artes de pesca fijas, perpendiculares a los canales, con una apertura mínima que permite la entrada al estero de postlarvas de camarón, e impide la salida de juveniles (Macías-Regalado y Calderón-Pérez, 1980).

Existe una abundante fauna en este ecosistema, teniéndose gran variedad de crustáceos, peces, aves y reptiles (Chan, 1980; Melchor, 1980; Sánchez, 1980; Hendrickx *et al.*, 1983; Hendrickx y Sánchez, 1983; Hendrickx, 1984).

Estaciones de Muestreo

Para la realización de este trabajo se seleccionaron 8 estaciones de muestreo, 6 de ellas a lo largo del estero para muestreos mensuales, y 2 de ellas frente a la boca para muestreos de 24 hrs. La localización de las estaciones se presenta en la Figura 1.

La Estación 1 se situó en la parte final del canal sur, es una zona somera (~1 m de profundidad), amplia, rodeada de manglares y pastos pantanosos, en donde vierten sus aguas de inundación las marismas adyacentes al estero. Los sedimentos presentes en esta zona son limos arcillo-arenosos ricos en materia orgánica.

La Estación 2 se localizó en la confluencia del canal principal y un canal secundario, es profunda (~2 m de profundidad), estrecha, rodeada de manglares y vegetación halófila.

La Estación 3 se situó frente a una antigua boca del sistema, es una zona profunda (~2 m de profundidad), muy amplia,

en la que se encuentran bordeando parte de sus márgenes mangles y pastos pantanosos. Eventualmente en esta zona entra agua de mar cuando se tienen mareas muy altas o fuerte oleaje que llega a sobrepasar la barrera arenosa. Los sedimentos presentes en esta estación son arenas y limos principalmente.

La Estación 4 se localizó en uno de los recodos más pronunciados del estero, se tienen bordeando sus márgenes manglares y vegetación halófila, es somera (~0.5 m de profundidad), bien iluminada y en ciertas épocas del año presenta una gran proliferación de *Ruppia* sp. Los tipos de sedimentos presentes son limos y arcillas.

La Estación 5 se encontró dentro de un pequeño canal adyacente al canal principal, es una zona somera (~1 m de profundidad), rodeada de manglares, con sombra permanente y un gran aporte de materia orgánica. Los sedimentos principales son limos y arcillas.

La Estación 6 se situó frente a la boca del estero, es una zona amplia, profunda (~3 m de profundidad), con influencia tanto del río como del mar. Los sedimentos presentes en esta estación son arenas, limos y arcillas.

Las Estaciones Norte y Sur se tuvieron en la desembocadura de los canales norte y sur hacia la boca. La profundidad

de éstas varió en cada muestreo, siendo arenas principalmente los sedimentos presentes.

MATERIAL Y METODOS

Trabajo de Campo

Muestreos Mensuales

Con el fin de medir la variación anual de la concentración de sólidos totales suspendidos (STS), materia orgánica particulada (MOP), materia orgánica soluble (MOS), microorganismos heterótrofos (MH) y sus relaciones con la variación de temperatura (T), salinidad (S) y concentración de oxígeno disuelto (OD), se realizaron muestreos mensuales, en seis estaciones a lo largo del estero, de febrero de 1982 a abril de 1983.

Se midió *in situ* la T y S del agua superficial (25 cm de profundidad). La T se determinó por medio de un termómetro de cubeta con escala de 0 a 50°C, con divisiones de 0.1°C. La S se midió con un refractómetro (A/O) con escala de 0 a 160 o/oo, con divisiones de 2 o/oo. Se colectaron directamente muestras de agua superficial para medir lo siguiente: OD, MH, STS, MOP y MOS, ésta última se estimó midiendo la absorbancia (ABS) de las muestras. Las muestras de OD fueron fijadas en el campo según la técnica de Winkler (Strickland y Parsons, 1972), las de MH se colectaron en tubos de ensaye estériles y las muestras para determinar STS, MOP y ABS fueron colectadas en botellas plásticas. Las muestras fueron transportadas al laboratorio en hieleras ($\pm 4^{\circ}\text{C}$) para su análisis posterior.

Biodegradación de Hojas de *Laguncularia racemosa* en el estero

Para estimar la tasa de biodegradación de hojas de *L. racemosa* en el campo, se prepararon 40 bolsas de degradación de nylon, de 15 x 20 cm, con malla de 1.5 mm (Odum y De la Cruz, 1967), conteniendo cada una de ellas 5 g (peso seco) de hojas de *L. racemosa* colectadas previamente de los mangles del estero.

El 22 de febrero de 1983 en las Estaciones 4 y 5 (Fig. 1), se colocaron dentro del agua 20 bolsas de degradación, colectándose 5 bolsas en cada estación después de 15, 30, 60 y 90 días de biodegradación.

Con el objeto de determinar cambios en la tasa de biodegradación con respecto a la época del año y a la apertura de malla de las bolsas utilizadas, el 2 de diciembre de 1983, se colocaron en la Estación 3, 20 bolsas de degradación con las características mencionadas para las otras estaciones, colocándose además 15 bolsas de degradación de nylon de 9 x 10 cm con malla de 300 μ m, conteniendo cada una de ellas 2 g (peso seco) de hojas de *L. racemosa*. De cada grupo se colectaron 5 bolsas después de 30, 60 y 90 días de biodegradación.

Muestras de Hojas de *L. racemosa* Para su Observación en el Microscopio Electrónico de Barrido (MEB)

Para observar en el MEB a los organismos que intervienen, a través del tiempo, en la formación del detritus, se colectaron hojas recién desprendidas de los mangles, de las que se cortaron fragmentos de 1 cm² aproximadamente. Estos fragmentos fueron fijados inmediatamente con una solución de glutaraldehído al 2% en buffer de fosfatos 0.2 M (Mercer y Birbeck, 1972).

De los restos de hojas degradadas en las bolsas colocadas en las Estaciones 4 y 5, se obtuvieron a través del tiempo, fragmentos de 1 cm² aproximadamente, los que se fijaron de la forma ya descrita. Todas las muestras se transportaron al laboratorio para tratamientos posteriores y su observación en el MEB.

Obtención de Materia Orgánica Soluble (Ácidos Húmicos) de Agua del Estero.

Para la obtención de MOS, principalmente ácidos húmicos presentes en el estero, se colectaron, el 28 de marzo de 1984, 100 l de agua del estero en bidones plásticos, los que se transportaron inmediatamente al laboratorio para procesamiento posterior.

Muestreos de 24 Horas*

Para estimar la exportación del volumen de agua, MOP y MOS del estero hacia el mar, así como para medir la variación diurna de parámetros ambientales, se realizaron tres muestreos de 24 horas en la boca del estero. El primero de ellos fue el 23-24 de agosto de 1982, cuando la boca tenía pocos días de abierta, el segundo el 4-5 de octubre de 1982, siendo a mediados de la época de lluvias, y el tercero el 28-29 de octubre de 1982, cuando la boca se cerró. En estos muestreos se tuvieron dos estaciones de muestreo, Norte y Sur (Fig. 1), en las que se midieron los siguientes parámetros: nivel del estero, dirección y velocidad de las corrientes, S, T, OD, MOP y ABS.

El nivel del estero se midió con ayuda de un estadal de 2 m dividido en centímetros, previamente fijado en el estero. La dirección y velocidad de las corrientes se midió con un flujómetro previamente calibrado. Los otros parámetros S, T, OD, MOP y ABS, se midieron de la misma forma que en los muestreos mensuales.

*Esta sección del presente trabajo forma parte de un estudio de flujo de materiales del estero hacia el mar, en colaboración con el M. en C. F.J. Flores-Verdugo (Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM) y el Dr. J.W. Day (Center for Wetland Resources, Universidad Estatal de Luisiana).

Con el fin de estimar el volumen de agua que sale del estero hacia el mar, en cada uno de los muestreos de 24 horas, se procedió a calcular el área transversal de los canales en donde se encontraban las estaciones de muestreo. Esta área se estimó por medio de perfiles batimétricos, que se realizaron transversalmente al canal, midiéndose la profundidad de éste a cada metro. Para la profundidad se utilizó un estadal de 2 m dividido en centímetros, y para medir lo ancho del canal se utilizó una cinta de 20 m de largo dividida en centímetros.

La profundidad de los perfiles batimétricos se corrigió cada hora con la del nivel del estero, por lo que se obtuvieron una serie de áreas transversales a través de las 24 horas de cada muestreo. La estimación del volumen exportado se calculó de la forma siguiente:

$$V_{\text{exportado}} = (V_{\text{reflujo}} - V_{\text{flujo}})_{\text{Est Norte}} + (V_{\text{reflujo}} - V_{\text{flujo}})_{\text{Est Sur}}$$

en donde para flujo o reflujo

$$V = A \times v \times t$$

siendo V el volumen (m^3), A el área transversal (m^2) corregida con el estadal fijo para cada medición, v la velocidad de la corriente (m/seg) y t el tiempo (min) transcurrido entre cada medición.

La MOP exportada se estimó multiplicando el volumen de agua de los reflujos por la concentración de MOP para cada intervalo de muestreo. La cantidad total exportada de MOP, se estimó en base a la suma de la MOP exportada por ambas estaciones de muestreo.

La estimación de MOS se realizó multiplicando el volumen de agua exportado para cada estación, por la media de los valores de MOS, obtenidos por transformación de los valores de ABS medidos, con respecto a una curva patrón de concentración de MOS vs. ABS.

Trabajo de Laboratorio

Procesamiento de las Muestras de Campo

Medición de la concentración de oxígeno disuelto

El OD se midió por medio de la técnica de Winkler (Strickland y Parsons, 1972).

Estimación de la concentración de microorganismos heterótrofos

De las muestras colectadas en el campo se procedió, en condiciones estériles, a tomar alícuotas de cada una de ellas

y realizar diluciones en serie hasta 10^{-4} en tubos de ensayo con agua salobre de 15 o/oo. De cada dilución se tomaron alícuotas que fueron plaqueadas en cajas de Petri con agar nutritivo preparado con agua salobre (Atlas y Bartha, 1981).

Las cajas fueron incubadas a la temperatura del ambiente (24°C) en el laboratorio, procediendo a contar las colonias desarrolladas en 48-72 horas.

El cálculo de la concentración de MH se realizó de la forma siguiente:

$$\text{número de MH/ml} = \frac{\text{número de colonias contadas}}{\text{dilución} \times \text{alícuota}}$$

Medición de los sólidos totales suspendidos

De las muestras colectadas en el campo se filtraron alícuotas de 500 a 1000 ml en filtros de fibra de vidrio (Whatman GF/C), previamente secados y pesados. Los filtros con la muestra fueron secados a 65°C hasta peso constante, determinándose por diferencia con el peso del filtro, el peso total de los STS. La concentración de éstos se calculó dividiendo el peso entre el volumen filtrado. Los filtros fueron posteriormente procesados para determinar la materia orgánica particulada.

Medición de la materia orgánica particulada

Los filtros obtenidos para la medición de STS fueron procesados por la técnica de Walkley y Black, para estimar por oxidación húmeda la materia orgánica de las muestras (Jackson, 1970).

Medición de la absorbancia

Para medir la ABS de las muestras de agua, éstas se procesaron de la forma siguiente: alícuotas de 15 ml de cada muestra fueron filtradas en filtros de membrana (Millipore) con poro de 0.45 μm , a los filtrados obtenidos se les midió su ABS a 290 nm en un espectrofotómetro (Pye-Unicam SP8-400 UV-Visible), utilizando celdas de cuarzo de 1 cm. Las muestras que presentaron una ABS mayor de 0.800 unidades, fueron diluidas con agua destilada, para que ésta se encontrara dentro del intervalo de 0.000 a 0.800.

Para estimar la ABS de las muestras diluidas, se multiplicó la ABS de la muestra diluida por la dilución. Se utilizaron como blancos agua destilada y agua salobre preparada en el laboratorio (Ewald *et al.*, 1983).

Medición de la longitud de onda de absorbancia máxima de la materia orgánica soluble.

La longitud de onda de ABS máxima se midió tanto en muestras de campo como en lixiviados acuosos de hojas de *L. racemosa*. Las muestras de campo y los lixiviados fueron filtrados en filtros de membrana (Millipore) con poro de 0.45 μm , el espectro de los filtrados se corrió de 220 a 700 nm, realizándose lecturas cada 5 nm, en un espectrofotómetro, con celdas de cuarzo de 1 cm. El blanco para los lixiviados fue agua destilada y para las muestras de campo agua salobre con la salinidad de la muestra.

Curva patrón de concentración de materia orgánica soluble vs. absorbancia.

Para poder estimar la MOS en función de la ABS, se procedió a obtener lixiviados de hojas de *L. racemosa* (20 g/l peso seco) en agua destilada, los que se filtraron en filtros de membrana (Millipore) con poro de 0.45 μm . El filtrado se evaporó al vacío a 80°C. Con los sólidos obtenidos se hicieron soluciones en agua destilada con concentraciones de 1.0, 2.5, 5.0, 10, 20, 25, 50 y 100 mg/l. A estas soluciones se les midió su ABS a 290 nm contra un blanco de agua destilada. Con los valores obtenidos se realizó una regresión lineal, obteniéndose una curva patrón.

Estimación de la tasa de biodegradación en el campo y variación en el contenido protéico de hojas de *L. racemosa*.

Los contenidos de detritus en las bolsas de degradación colectados a distintos tiempos, fueron secados a 65°C hasta peso constante, midiéndose así la cantidad residual de detritus. De cada muestra de detritus se tomó una porción a la que se le midió el contenido de proteína por medio de la técnica de Kjeldahl (AOAC, 1970).

Preparación de las muestras de hojas de *L. racemosa* para su observación en el microscopio electrónico de barrido.

Los fragmentos de hojas fijados en glutaraldehído durante 24-48 horas fueron lavados con solución buffer de fosfatos, posteriormente postfijados con una solución al 2% de tetraóxido de osmio, durante 30 minutos a temperatura ambiente, se lavaron exhaustivamente con agua destilada, fueron deshidratados en soluciones crecientes de etanol (40-100%), transferidos a acetona y secados al punto crítico (CPD apparatus, Technics, CPA-II). Las muestras secadas fueron montadas sobre portaobjetos de vidrio adheridos a portamuestras de aluminio con pintura de plata. Se cubrieron con una capa fina de oro, 30 nm, en una cubridora fina (Sputtering Fine Coat Apparatus, Jeol Mod. JFC-1100). Las muestras se observaron en un microscopio

electrónico de barrido (Jeol SEM-35) con 20 KV y una inclinación de 0 a 20° (Mercer y Birbeck, 1972; Williams *et al.*, 1973).

Experimentos de Laboratorio

Utilización de las hojas de *L. racemosa* como fuente alimenticia y su actividad antibiótica.

Este experimento preliminar se realizó con objeto de observar, en el laboratorio, la presencia de microorganismos que utilicen como fuente alimenticia hojas de *L. racemosa*, así como observar si se presenta actividad antibiótica por algún compuesto de las hojas. Para este fin se introdujeron en cajas de Petri con agar nutritivo (Bioxon) y agar mínimo (NH_4Cl - 1.0 g; KH_2PO_4 - 3.0 g; Na_2HPO_4 - 6.0 g; NaCl - 0.5 g; agar - 15.0 g; agua destilada - 1 l) en condiciones no estériles, fragmentos de hojas de *L. racemosa*, fragmentos del detritus proveniente de hojas con 90 días de biodegradación en campo y fragmentos de hojas de las cuales se habían extraído taninos, y como control un disco de 10 mm de diámetro de papel filtro. Las cajas tuvieron como inóculo la población microbiana presente en condiciones naturales sobre las hojas y el detritus. Los cultivos se hicieron por duplicado, incubándose a 25 y 35°C durante 21 días. Las observaciones de la presen-

cia de microorganismos sobre las hojas se hizo directamente, y las del efecto antibiótico por la aparición de un halo de inhibición alrededor de los fragmentos.

Observación al microscopio electrónico de barrido de la biodegradación de hojas de *L. racemosa* en condiciones de laboratorio.

Con la finalidad de observar en el MEB la biodegradación de las hojas de *L. racemosa* en condiciones de laboratorio, se montaron 4 acuarios de 40 l de capacidad, con agua salobre (15 o/oo) filtrada, aereación constante e iluminación natural. A los acuarios 1 y 2 se les introdujeron 5 y 10 g (peso seco) respectivamente de hojas de *L. racemosa*, a los acuarios 3 y 4 además de introducirles 5 y 10 g (peso seco) de hojas respectivamente, se les adicionó a cada uno 2.7 kg (peso seco) de sedimento colectado en el estero, el que fue previamente tamizado (tamiz 2 mm) y lavado con agua dulce. Los acuarios se inocularon con 500 ml cada uno, de una muestra de agua del estero recién colectada en condiciones estériles, conteniendo 3.8×10^6 MH/ml.

De cada acuario se colectaron muestras de hojas, obteniéndose pequeños fragmentos de éstas, de 1 cm² aproximadamente, los que fueron procesados para su observación al MEB de la forma

descrita para las muestras de campo. Las muestras fueron tomadas a los 0, 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 11, 15, 30, 60 y 90 días de biodegradación, a las muestras colectadas a los 1, 3, 6, 11, 30, 60 y 90 días se les midió su contenido protéico por medio de la técnica de Kjeldahl (AOAC, 1970).

En cada acuario se midió la ABS de la forma descrita anteriormente para muestras de campo, realizándose las mediciones a los 0, 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 11, 13, 16, 28 y 90 días.

Utilización como fuente de carbono de hojas de *L. racemosa*

Dado que con los estudios de MEB sólo se observan a los microorganismos sobre las hojas, más no se determina que utilicen a éstas como fuente de carbono, se procedió a realizar lo siguiente: se prepararon 5 tubos con 10 ml de caldo mínimo sin fuente de carbono (NH_4Cl 1.0 g; KH_2PO_4 3.0 g; Na_2PO_4 6.0 g; NaCl 0.5 g; agua destilada 1 l), uno de ellos se tuvo como blanco, un segundo fue control (se le agregó dextrosa, concentración final 0.2%) y a los tres restantes se les agregaron 1, 5 y 10 mg de hojas de *L. racemosa* secas y molidas. Todos los tubos, menos el blanco, se inocularon con 0.1 ml de un cultivo mixto, crecido en el mismo medio, obtenido de una muestra de agua del estero. Los tubos se incubaron a 24°C durante 200 hrs, realizándose lecturas de ABS a 540 nm en un

colorímetro (Spectronic 20 Bausch & Lomb) a las 0, 3, 7, 16, 19, 22, 25, 28, 40, 46, 50, 53, 66, 70, 77, 92, 102, 128, 154 y 198 hrs. A modo de comparación se midió el crecimiento del cultivo mixto, en un tubo con caldo nutritivo (Bioxon), mantenido en las mismas condiciones que los demás cultivos.

El crecimiento de los microorganismos por la utilización, como fuente de carbono, de los compuestos solubles liberados por las hojas de mangle, se estimó por el incremento en la ABS del cultivo. Para medir la variación en ABS debida a la liberación de compuestos orgánicos por las hojas de *L. racemosa*, se prepararon tubos de cultivo con agua destilada estéril, a los cuales se agregaron 1, 5 y 10 mg de hojas de *L. racemosa*, los que sirvieron de blancos para los cultivos respectivos.

Obtención de taninos, lixiviados y sustancias húmicas del estero.

Dado que varios experimentos a realizar necesitaban de taninos purificados de hojas de *L. racemosa*, así como sustancias húmicas que se obtienen de lixiviados de las hojas, y de agua del estero, se procedió a obtenerlos de la forma siguiente:

Taninos.- Para la obtención de taninos a partir de hojas de *L. racemosa* se siguió la técnica de Hergert (1960) con algunas modificaciones: se colocaron 20 g de hojas secas, molidas, en

un matraz Erlenmeyer de 2 l de capacidad, se agregó 1 l de agua destilada y se hirvió a 100°C durante 1 hr, adicionando agua destilada para mantener el volumen inicial. Se filtró la infusión y se evaporó al vacío a 80°C hasta 300 ml. Se dejó enfriar a temperatura ambiente y se agregaron 300 ml de metanol para precipitar almidones, pectina, etc. Se filtró en filtros de fibra de vidrio (Whatman GF/C) eliminando el precipitado. El filtrado se evaporó al vacío a 80°C hasta 250 ml, se dejó enfriar y se agregó 1 l de una solución de cloruro de sodio al 20%, con lo cual precipitan los taninos. Se filtró y lavó el precipitado con solución salina, para posteriormente disolverlo en 100 ml de metanol, reprecipitando los taninos con la adición de 100 ml de éter etílico. Los taninos precipitados se lavaron con éter, se disolvieron en metanol y se precipitaron de nuevo con éter, lavándose con benceno, secando al precipitado al vacío.

Con los taninos purificados se hicieron soluciones conteniendo 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 y 100 mg/l, midiendo su ABS a 290 nm y realizando con los resultados una regresión lineal. Se midió también la longitud de onda de ABS máxima de los compuestos obtenidos.

Sustancias húmicas de lixiviados.- Los lixiviados se prepararon colocando 20 g de hojas (peso seco) de *L. racemosa* en 1 l

de agua destilada, durante 24 hrs. Los lixiviados fueron filtrados en filtros de fibra de vidrio (Whatman GF/C), desechándose el precipitado, el filtrado se evaporó al vacío a 80°C, hasta 1/3 del volumen original, se dejó enfriar y se agregó 1 volumen de una solución de metanol: hidróxido de amonio: agua (3:2:5 v/v), se filtró y el filtrado se evaporó a sequedad al vacío. A las sustancias húmicas así obtenidas se les midió la longitud de onda de ABS máxima y se realizó una curva de concentración vs. ABS a 290 nm.

Sabiendo, por experimentos preliminares, que existen microorganismos capaces de desarrollarse en lixiviados de hojas de *L. racemosa*, parte de los lixiviados se colocaron en matraces Erlenmeyer dejándose, en condiciones no estériles, en el laboratorio por un período de 4 meses. Posteriormente se filtró el lixiviado, humificado por el crecimiento de microorganismos, procesándolo de igual forma que el lixiviado inicial.

Ácidos húmicos del estero.- La extracción y concentración de ácidos húmicos del agua del estero se realizó según la técnica de Mantoura y Riley (1975), que consistió en lo siguiente: se filtraron en filtros de fibra de vidrio (Whatman GF/C) 75 l de agua del estero, se ajustó el pH a 2.0-2.5 con ácido clorhídrico concentrado. Este volumen se pasó a través de dos columnas de Amberlite (XAD-2) de 1.1 cm de diámetro por 32 cm de longitud, teniendo un flujo constante de 1 l/hr.

La Amberlite utilizada fue previamente lavada con acetona, por reflujo en un Soxhlet durante 2 hrs, lavándose con agua destilada para montar las columnas. Las columnas se lavaron con una solución 0.5 M de hidróxido de sodio y después exhaustivamente con agua destilada. Se corrieron las columnas con la muestra de agua del estero y posteriormente se lavaron con agua destilada para eliminar sales. Los ácidos húmicos adsorbidos fueron eluidos con una solución de metanol:hidróxido de amonio (2:1 v/v), la solución se evaporó al vacío a 80°C.

Para calcular la eficiencia de retención de las columnas, para diferentes compuestos, se corrieron 3 muestras de concentración conocida de taninos, ácidos húmicos del estero y sustancias húmicas de lixiviados. Estas muestras se trataron de igual forma que el agua del estero, la eficiencia de retención de las columnas se estimó tanto por peso de los compuestos adsorbidos, como por la disminución de la ABS de la muestra filtrada con respecto a la muestra original. La fórmula utilizada para calcular la eficiencia de retención es:

$$\% \text{retención} = 100 - \left(\frac{\text{muestra eluida}}{\text{muestra inicial}} \times 100 \right)$$

Efecto de la penicilina sobre la biodegradación de las hojas de *L. racemosa* en presencia de taninos y sustancias húmicas de lixiviados.

Sabiendo que la biodegradación de la materia orgánica en el medio ambiente acuático se efectúa activamente por microorganismos (Fenchel, 1970; Mann, 1972; Boylen y Brock, 1973; Mann, 1975; Odum y Heald, 1975; Cranwell, 1976; Cundell *et al.*, 1979), tanto hongos como bacterias, se quiso observar el efecto de un antibiótico específico contra bacterias (penicilina), sobre la tasa de biodegradación de la materia orgánica, y comparar este efecto con el causado por taninos y sustancias húmicas de hojas de *L. racemosa* sobre la biodegradación de ésta. Para esto se realizó lo siguiente: a 8 matraces Erlenmeyer conteniendo 200 ml de caldo mínimo sin fuente de carbono, se les agregaron 0.5 g de hojas (peso seco) de *L. racemosa*. A dos de ellos se les agregaron 10 mg de taninos purificados en el laboratorio, a otros dos 30 mg de sustancias húmicas obtenidas de lixiviados, y a otros dos 10 mg de taninos y 30 mg de sustancias húmicas, quedando dos de los matraces como controles. A uno de los matraces de cada par se le agregaron 400 000 UI de penprocilina (Farmacéuticos Lakeside). Los matraces fueron incubados a 24°C, en condiciones no estériles, durante 30 días, después de los cuales se obtuvo el detritus remanente por filtración en filtros de fibra de vidrio (Whatman GF/C) previamente secados y pesados. Las muestras fueron secadas a 65°C hasta peso constante, midiéndose así la pérdida de peso.

Se utilizó la misma muestra para efectuar la medición del contenido de nitrógeno por la técnica de Kjeldahl (AOAC, 1970).

Actividad antibiótica de taninos, de sustancias húmicas de lixiviados y de ácidos húmicos del estero, sobre microorganismos heterótrofos.

Con el fin de observar la actividad antibiótica de taninos, así como de sustancias húmicas de lixiviados y de ácidos húmicos del estero, se prepararon cajas de Petri conteniendo agar nutritivo (Bioxon) y agar mínimo con dextrosa al 0.2% como fuente de carbono. Se hicieron sobre el agar pequeños pozos, dentro de los cuales se adicionó 1 ml de soluciones concentradas de taninos, sustancias húmicas de lixiviados y ácidos húmicos del estero. Las cajas se colocaron en refrigeración durante 4-6 horas para permitir la difusión de los compuestos en el agar, y posteriormente fueron inoculadas masivamente con una muestra de agua del estero. Se incubaron a 24°C hasta observar crecimiento microbiano. Se tuvo como control en cada caja un pozo al que se adicionó agua destilada, la actividad antibiótica de los compuestos se determinó por la presencia de un halo de inhibición en el cultivo (Salle, 1974). Estas pruebas se hicieron por triplicado.

Separación cromatográfica de taninos, sustancias húmicas de lixiviados y ácidos húmicos del estero.

Para determinar si existían fracciones cromatográficas similares entre los taninos purificados en el laboratorio, las sustancias húmicas obtenidas de los lixiviados (de 24 hrs y de 4 meses), y los ácidos húmicos aislados del estero, se procedió a realizar la separación cromatográfica de éstos. Todas las muestras se eluyeron por separado en una columna de Sephadex G-25 (Pharmacia Fine Chemicals) con 1.2 cm de diámetro y 55 cm de longitud, de cada muestra se introdujeron a la columna 25 mg disueltos en 2-3 ml del eluyente. Se tuvo un flujo constante de 0.33 ml/min, siendo el eluyente una solución de metanol: hidróxido de amonio: agua (3:2:5 v/v). Se colectaron fracciones de 1.32 ml a las que se les midió su ABS en un espectrofotómetro, a 290 nm de longitud de onda, en una microcelda de cuarzo de 1 cm, el blanco utilizado fue el eluyente.

Para estimar el volumen de exclusión de la columna se corrió una mezcla de 1 ml de solución al 0.7% de albúmina sérica (PM 68 500) y 1 ml de solución al 0.1% de rojo de metilo (PM 269).

Actividad antibiótica y espectro de absorción de las fracciones cromatográficas de taninos, sustancias húmicas de lixiviados y ácidos húmicos del estero.

Sabiendo de la actividad antibiótica de los taninos, lixiviados y ácidos húmicos del estero, se quiso conocer el espectro de absorción de algunas de sus fracciones cromatográficas, y saber si éstas poseían actividad antibiótica, para estimar la similitud entre fracciones de las diferentes muestras.

La estimación de la actividad antibiótica de las fracciones cromatográficas, así como su espectro de absorción se realizó de igual manera a lo indicado anteriormente para las muestras iniciales.

Efecto de las sustancias húmicas sobre la biodegradación de materia orgánica.

Habiendo observado la actividad antibiótica de los compuestos húmicos presentes en los lixiviados de hojas de *L. racemosa*, se quiso estimar el efecto de la concentración inicial de éstos sobre la biodegradación de hojas de mangle, para lo cual se realizó lo siguiente: se prepararon 80 bolsas de polietileno negras, de 10 l de capacidad, con 5 l de agua salobre (15 o/oo) filtrada y 1 g (peso seco) de hojas de *L. racemosa*. Las bolsas se dividieron en 4 grupos de 20 bolsas cada uno,

el Grupo 1 fue el control y se le cambió el agua de las bolsas por agua limpia, a intervalos regulares; el Grupo 2 fue también control pero sin cambio de agua; el Grupo 3 tuvo una concentración inicial de sustancias húmicas de 15 mg/l, y sin cambio de agua; el Grupo 4 tuvo una concentración inicial de 80 mg/l de sustancias húmicas y sin cambio de agua.

El agua de las bolsas del Grupo 1 fue cambiada por agua limpia a los 6, 13, 20, 29, 48, 60, 81 y 90 días. En cada cambio de agua se tomaron alícuotas a las que se les midió su ABS a 290 nm. De los Grupos 2-4 se tomaron alícuotas para medir su ABS a 290 nm, a los 12, 20, 29, 48, 59, 77 y 90 días. Se colectó el detritus residual de 5 bolsas de cada grupo a los 13, 29, 60 y 90 días de biodegradación, el que fue secado a 65°C hasta peso constante, midiéndose la pérdida de peso a través del tiempo. A estas muestras se les estimó su contenido de nitrógeno por la técnica de Kjeldahl (AOAC, 1970).

RESULTADOS

Muestreos Mensuales

Los parámetros medidos en el estero presentaron una considerable variación a través del año, debida principalmente a las lluvias, a la llegada del río y a la apertura de la boca. A continuación se presentan los resultados obtenidos para cada uno de los parámetros estudiados.

Salinidad

La variación anual de la S promedio se presenta en la Figura 2, en donde se observa un valor de 11 o/oo en febrero de 1982, el cual aumenta lentamente a 14 o/oo en mayo de 1982, debido a la evaporación. Disminuye a 8.5 o/oo en julio de 1982, por lluvias y escurrimientos locales, para llegar a un mínimo de 1.6 o/oo en agosto de 1982, con la llegada del río. La S se incrementa posteriormente por la entrada de agua de mar debido a la apertura de la boca. Cuando la boca se cierra, en enero de 1983, la S aumenta a 16 o/oo por evaporación, disminuyendo debido a lluvias extemporáneas, para volver a aumentar hasta 19.5 o/oo en abril de 1983 por la apertura de la boca.

La variación temporal de la S para cada una de las estaciones de muestreo fue similar (Fig. 2), obteniéndose un valor mínimo

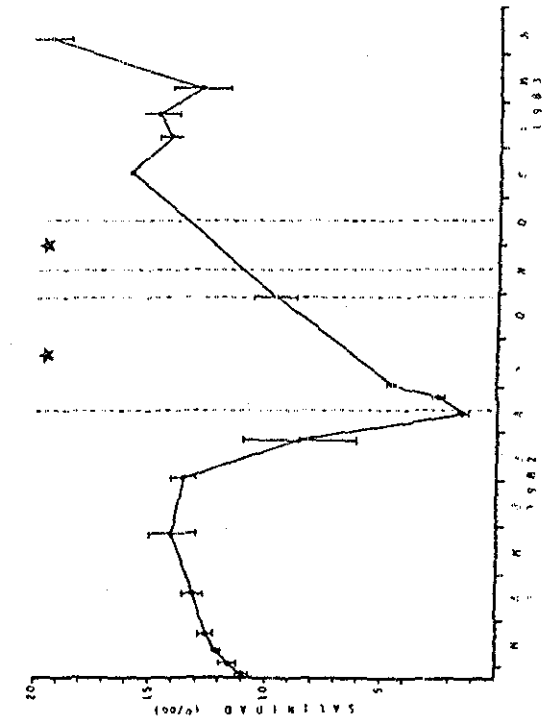
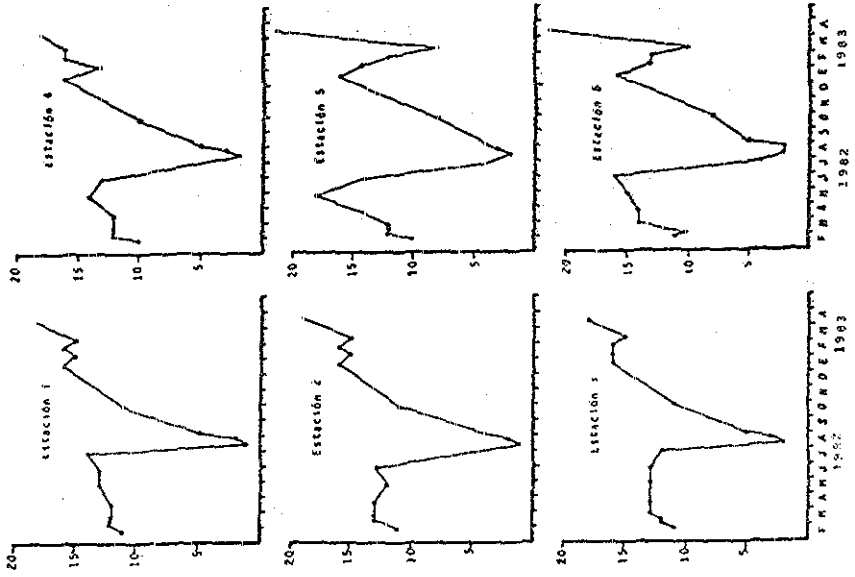


Figura 2: Variación anual de la Salinidad promedio y por Estación en el estero El Verde. Se presenta error standard. (*) Periodo de boca abierta.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



de 1 o/oo en las Estaciones 1 y 2 al final del estero, y un máximo de 22 o/oo en las Estaciones 5 y 6 cercanas a la boca.

La S promedio por estación (Fig. 10) varió poco entre las estaciones, siendo el intervalo de variación de 10.8 a 11.8 o/oo. Estos resultados sugieren un comportamiento similar de este parámetro en toda la laguna, e indican que es una laguna salobre en la que la evaporación es menor que el aporte de agua dulce, lo que evita que se presenten condiciones de hipersalinidad.

Temperatura

La variación de la T promedio del agua del estero a través del tiempo es considerable, se tiene un valor de 23.2°C en febrero de 1982, el cual disminuye al mínimo de 22.7°C en marzo, aumentando paulatinamente hasta 32.5°C en junio, para disminuir con la llegada del río a finales de julio. Se presenta un valor máximo de 35.0°C en septiembre, para posteriormente disminuir hasta 23.5°C en febrero de 1983 (Fig. 3).

La variación temporal de la T para cada una de las estaciones se presenta también en la Figura 3, observándose un comportamiento similar entre todas las estaciones.

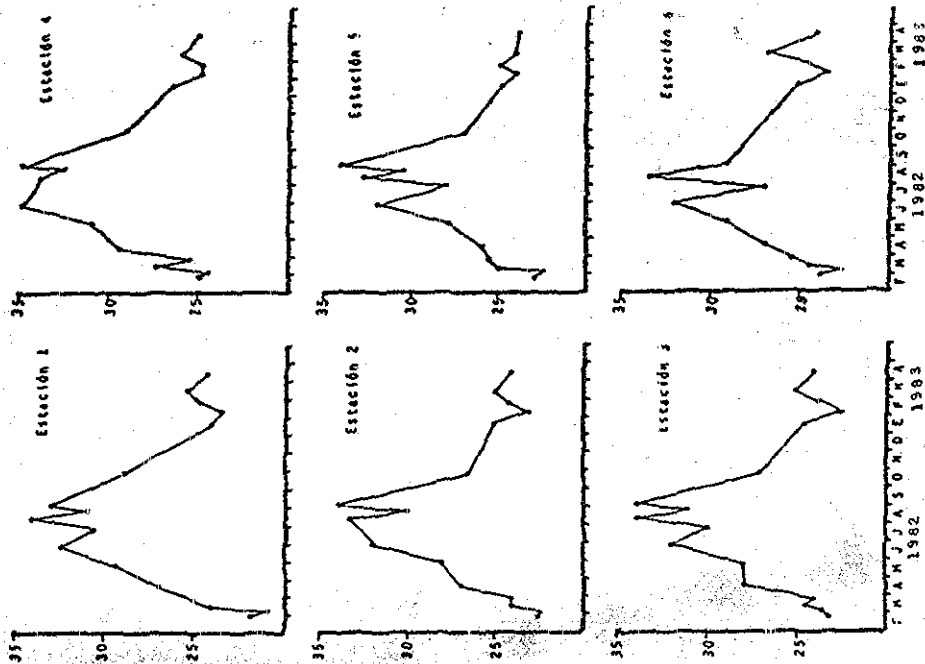
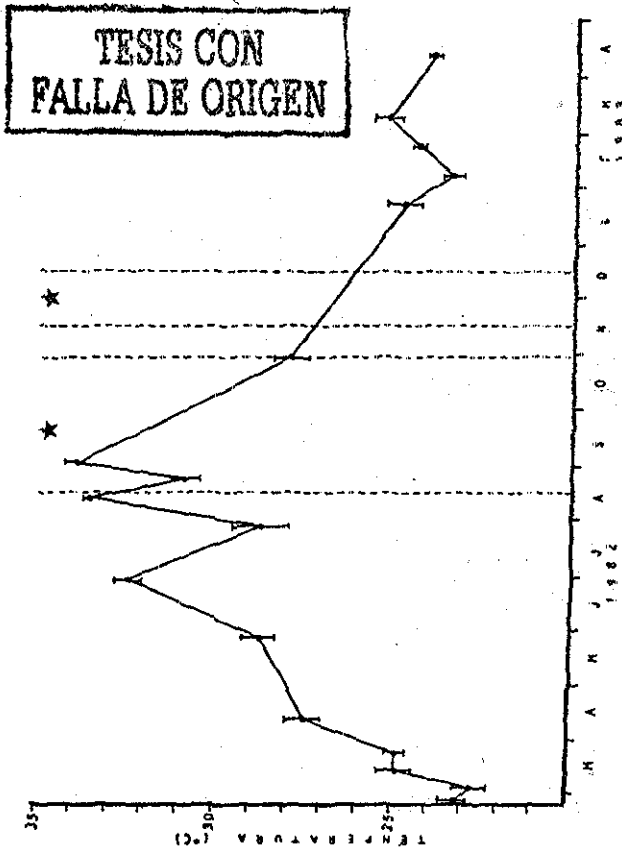


Figura 3: Variación anual de la Temperatura promedio y por Estación en el estero El Verde. Se presenta error standard. (★) período de boca abierta.

La T promedio por estación se presenta en la Figura 10, en la que se observa un valor promedio máximo para la Estación 4 de 28.4°C, y un mínimo de 26.6°C para la Estación 2. Los valores de la Estación 4 fueron consistentemente mayores que en el resto de las estaciones, debido a la someridad de la estación, así como por ser una zona expuesta a los rayos solares.

Oxígeno Disuelto

La variación anual de la concentración promedio de OD se presenta en la Figura 4, se observa que de febrero a junio de 1982, existe una variación entre 3.97 y 6.33 ml/l, para presentar un valor mínimo de 2.31 ml/l en agosto, el que se debe a la llegada del río al estero, quien aporta una carga considerable de materia orgánica aumentando la demanda química de oxígeno. Dicho valor se incrementa hasta 10.89 ml/l en el mes de diciembre debido a una alta productividad primaria en el sistema (Flores-Verdugo, com. pers.) y a la mayor solubilidad del oxígeno en aguas de menor temperatura. Después de este máximo, los valores disminuyen hasta encontrarse dentro del intervalo mencionado en un principio. La variación temporal del OD para cada estación se presenta en la Figura 4, en donde se observa que las Estaciones 1 y 4 presentan las variaciones mayores, siendo entre 1.19 y 15.72 ml/l. Las demás esta-

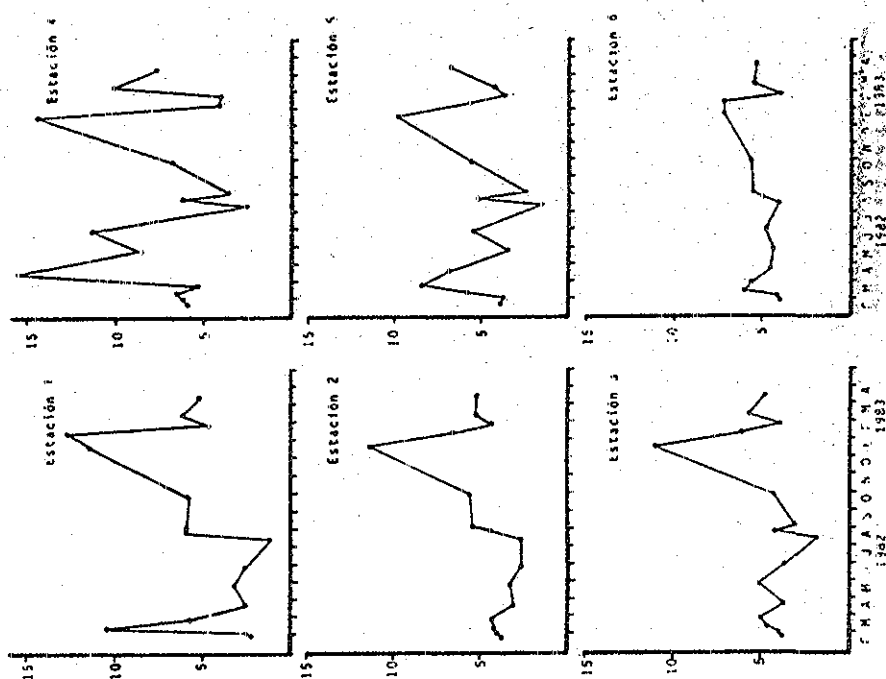
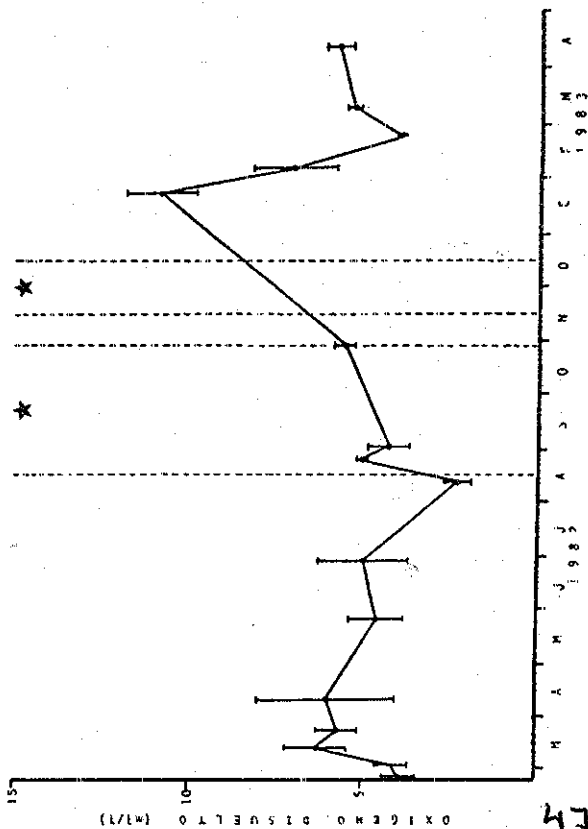


Figura 4: Variación anual de la concentración promedio y por Estación del Oxígeno Disuelto en el estero El Verde. Se presenta error standard. (★) Periodo de boca abierta.

4-74

ciones presentan una variación menor, observándose en todas un incremento en enero y febrero de 1983. Cabe mencionar que la Estación 6 presentó la menor variación a través del año, limitándose ésta entre 3.90 y 7.17 ml/l.

En cuanto a los valores promedio por estación (Fig. 10) se obtuvo el valor máximo en la Estación 4, debido a que en esta estación se localizaba un campo de *Ruppia* sp., y a que los muestreos se realizaron entre las 12:00 y 13:00 hrs.

Los resultados obtenidos sugieren que durante el día, el agua superficial del estero permanece bien oxigenada, existiendo bajas concentraciones de OD con la remoción de materia orgánica, de suelo y sedimento, por la llegada del río, y sobresaturación por una alta tasa de productividad primaria.

Microorganismos Heterótrofos

Los MH se encontraron siempre presentes en el estero, y su concentración varió considerablemente a través del año y en cada una de las estaciones. Los valores promedio de MH se presentan en la Figura 5, en la cual se observa un valor máximo de 1.99×10^6 MH/ml en marzo de 1982, el que disminuye abruptamente hasta 4.26×10^3 MH/ml en abril, debido posiblemente a un rápido incremento en la temperatura. Posteriormente la

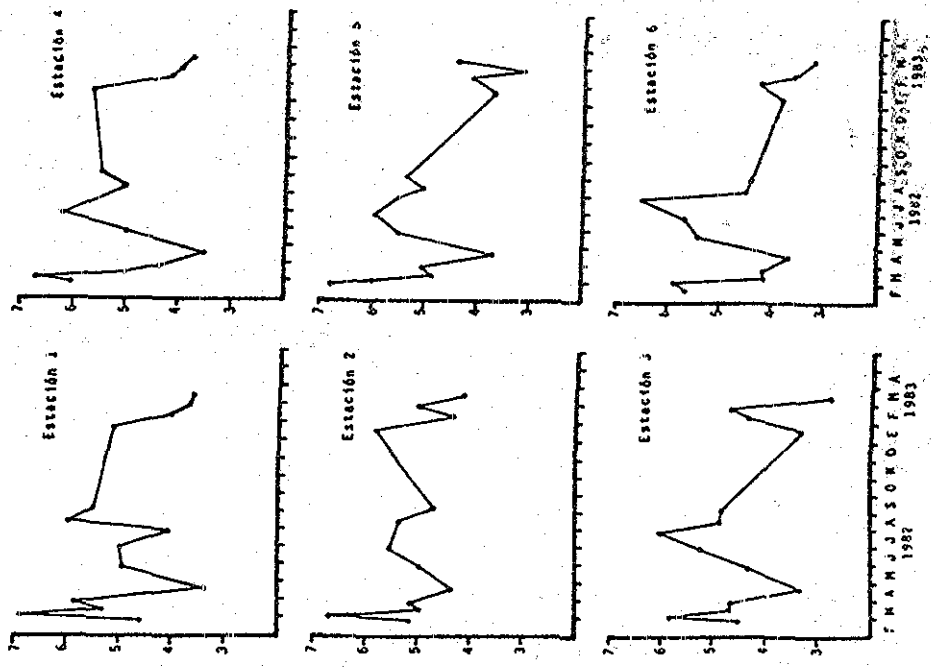
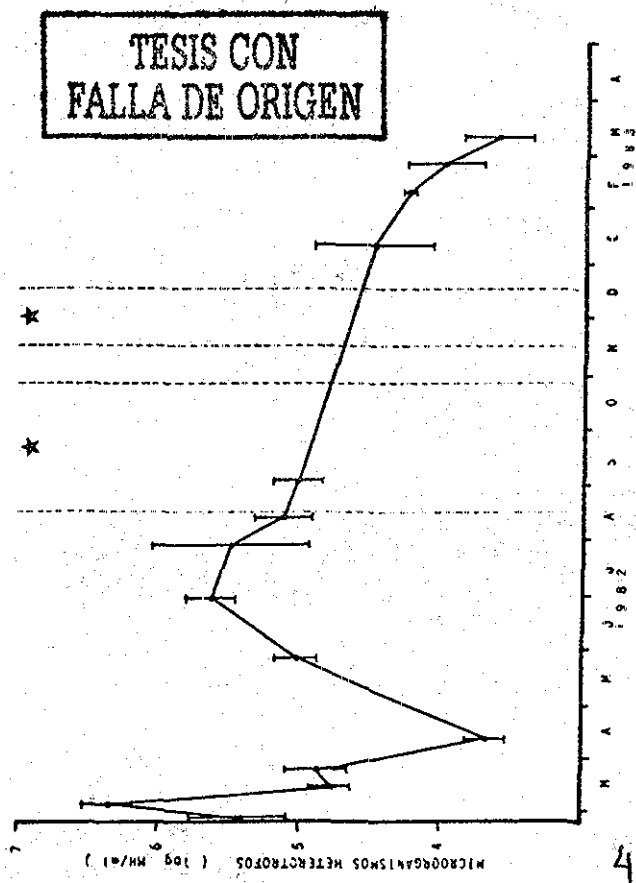


Figura 5: Variación anual de la concentración promedio y por Estación de Microorganismos Heterótrofos en el estero El Verde. Se presenta error standard. (*) Período de boca abierta.

concentración de MH aumenta hasta 3.98×10^5 MH/ml en julio, debido a la llegada del río con materia orgánica y nutrientes, para decrecer hasta 4.07×10^3 MH/ml en marzo de 1983.

La variación temporal de cada una de las estaciones se presenta en la Figura 5, teniéndose un valor máximo de 6.40×10^6 MH/ml en la Estación 1 y un mínimo de 5.88×10^2 en la Estación 3, y se observa que la variación no tiene un patrón determinado. Los valores promedio por estación se presentan en la Figura 11, en la que se observa que los valores varían de 3.31×10^4 a 1.12×10^5 MH/ml.

Sólidos Totales Suspendidos

La variación de la concentración promedio de STS a través del tiempo se presenta en la Figura 6, en donde se observa un valor mínimo de 14 mg/l tanto en abril como en mayo de 1982, debido a que en esta época del año no hubo aporte por lluvias o por el río. Se tiene un aumento hasta 84 mg/l en agosto, debido al acarreo y resuspensión de sólidos por lluvias y la llegada del río al ecosistema, este valor disminuye posteriormente, para volver a aumentar hasta 105 mg/l en enero de 1983, debido a lluvias extemporáneas. Posteriormente disminuye a 22 mg/l en abril de 1983, el cual es un valor similar al obtenido el año anterior para el mismo mes. La variación de los

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

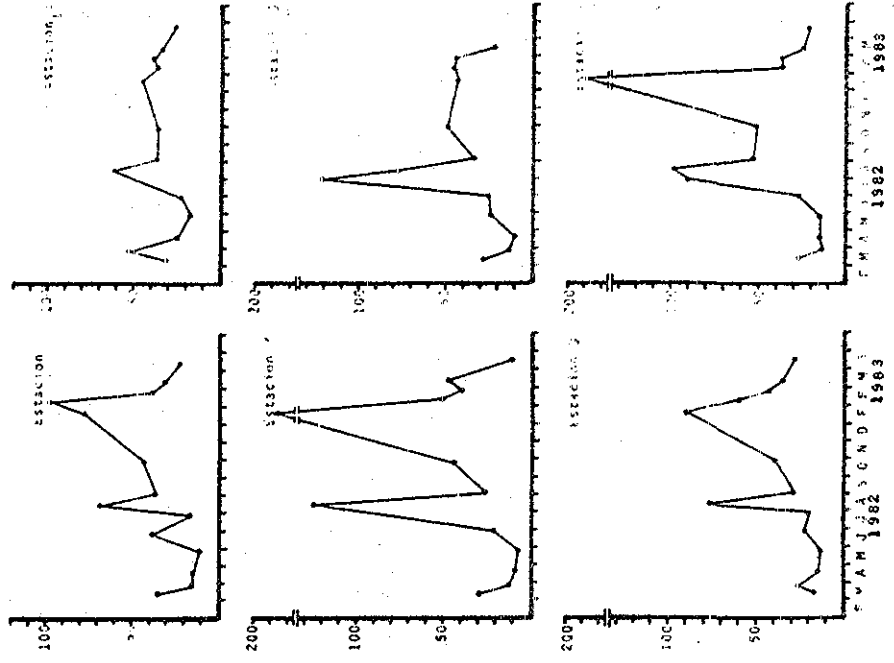
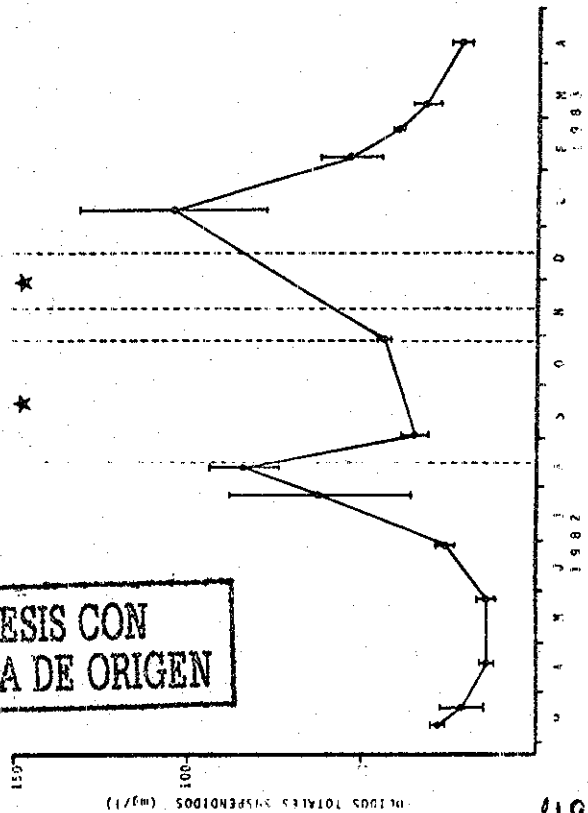


Figura 6: Variación anual de la concentración promedio y por Estación de Sólidos Totales Suspendedos en el estero El Verde. Se presenta error estándar. (★) Período de boca abierta.

STS a través del tiempo para cada estación se presenta en la Figura 6, observándose que las Estaciones 2 y 6 presentan las variaciones más amplias, de 6 a 188 mg/l aproximadamente, presentándose en todas las estaciones, con mayor o menor intensidad, dos máximos debidos a las lluvias y a la llegada del río. Es importante señalar que la Estación 4 presentó la menor variación de STS, debido a que la estación de muestreo se tenía sobre un campo de *Ruppia* sp., la cual disminuye la intensidad de las corrientes, permitiendo así la sedimentación de las partículas en suspensión.

Los valores promedio con respecto a las estaciones se presentan en la Figura 11, en la que se observa que la Estación 6 tiene el valor mayor debido a que es el sitio de descarga del río, por lo que por pequeña que sea la carga de STS aportada por el río a la laguna, ésta influirá en la estación. Obsérvese que la Estación 4 presenta el valor menor, así como la variación menor, debido a las razones ya expuestas.

Materia Orgánica Particulada

La variación anual de los valores promedio de la concentración de MOP fue similar a la presentada por los STS, y se presenta en la Figura 7. Como se puede observar se tienen concentraciones relativamente bajas, de 1.5 a 3.5 mg/l, los meses de marzo

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

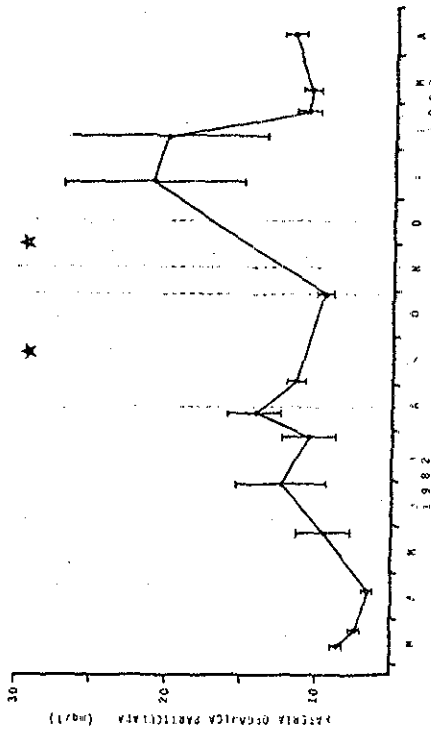
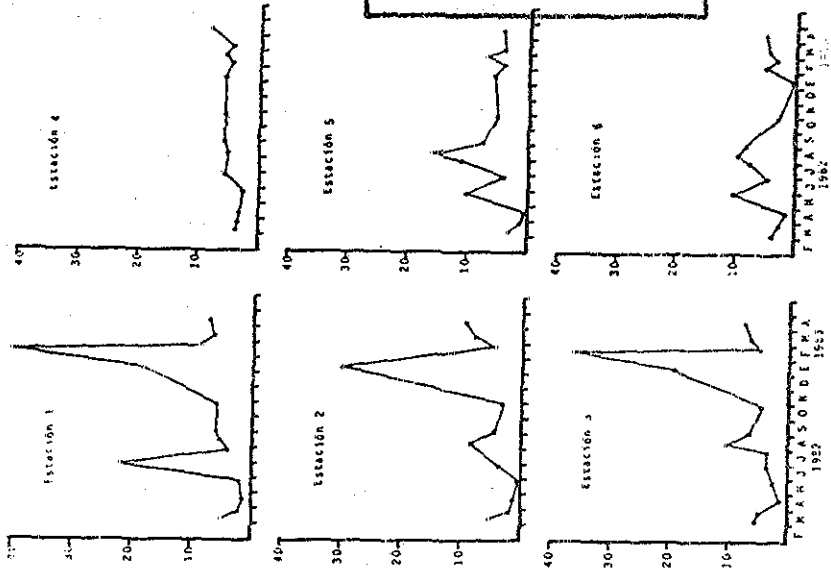


Figura 7: Variación anual de la concentración promedio y por Estación de Materia Orgánica Particulada en el estero El Verde. Se presenta error standard. (★) período de boca abierta.

y abril de 1982, que van en aumento hasta 7.3 mg/l en el mes de junio, debido al aporte de MOP por escurrimientos locales y lluvias. Este valor se va incrementando hasta 9.3 mg/l en agosto, debido al acarreo de MOP de zonas inundadas (marismas, suelo del manglar) por la llegada del río, así como por las partículas alóctonas que llegan con él. Después de la época de lluvias la concentración de MOP tiende a disminuir, pero se ve afectada por lluvias extemporáneas, para aumentar a 16 mg/l en enero de 1983 y disminuir hasta 6.9 mg/l en el mes de abril.

La variación de MOP por estación se presenta también en la Figura 7, y en ella se puede observar que el patrón de comportamiento de las Estaciones 1, 2 y 3 es similar entre sí, observándose dos picos de alta concentración a través del tiempo, el primero de ellos en junio-agosto, 1982, debido a las lluvias locales y a la llegada del río, y el segundo en enero de 1983, debido a lluvias extemporáneas. Las Estaciones 5 y 6 presentan tres pequeños picos, dos en marzo y agosto de 1982 y uno en febrero de 1983. La Estación 4 presenta poca variación debido a que la *Ruppia* sp. presente en dicha estación, atenua la velocidad y turbulencia de las corrientes, lo que permite la sedimentación de partículas en suspensión.

Los valores promedio por estación de la MOP se presentan en la Figura 11, el valor mayor se tiene en la Estación 1 siendo

de 10 mg/l, valor que disminuye del final del estero hacia la boca, teniendo un valor de 4.9 mg/l en la Estación 6, valor comparable al obtenido en el campo de *Ruppia* sp. (Estación 4).

Absorbancia

Como se mencionó en el capítulo de Material y Métodos, la MOS fue estimada a partir de las determinaciones de ABS que se realizaron con las muestras de agua del estero, por lo cual a continuación se presentan los resultados obtenidos para la ABS, presentándose también las estimaciones para la MOS.

La variación de los valores promedio de la ABS a través del tiempo se muestra en la Figura 8, se tiene que los valores de ABS en los meses de febrero a junio de 1982 permanecen entre 0.056 y 0.109, para aumentar a 0.268 en julio, debido posiblemente al aumento de materia soluble en el estero por el lavado de tierras aledañas por lluvias y escurrimientos locales, y continuar aumentando hasta 0.504 en agosto, debido a la llegada del río al estero, introduciendo en él gran cantidad de sustancias solubles, que incrementan considerablemente la densidad óptica de las muestras de agua colectadas. Este valor disminuye conforme avanza el tiempo, presentándose un ligero incremento en enero de 1983, de 0.186, debido a las lluvias ex-

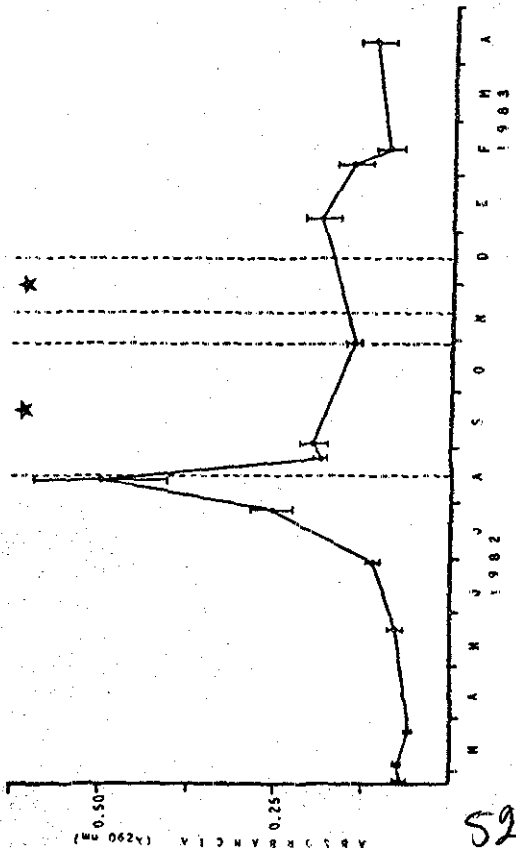
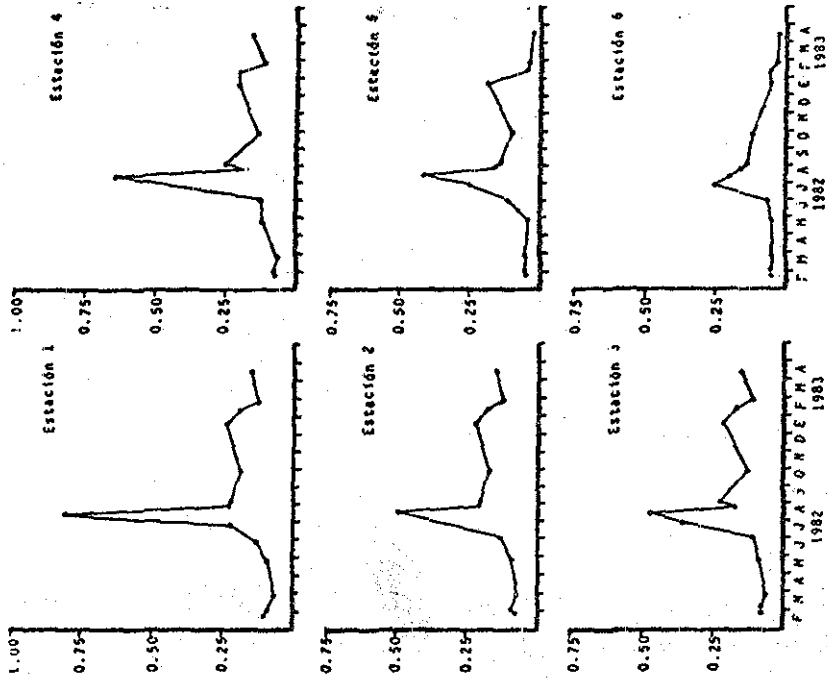


Figura 8: Variación anual de la Absorbancia promedio y por Estación en el estero El Verde. Se presenta error standard. (★) Periodo de boca abierta.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

temporáneas, al igual que para parámetros mencionados con anterioridad. En la Figura 9 se presenta la variación de MOS calculada a partir de la curva patrón de MOS vs. ABS (Fig. 12A), teniéndose un valor máximo de 165.8 mg/l de MOS para el mes de julio de 1982, y un valor mínimo de 1.9 mg/l para el mes de marzo de 1982.

La variación anual de la ABS por estación se muestra en la Figura 8, en la que se observa que todas las estaciones presentan un comportamiento similar, con la diferencia que los picos de ABS son mayores en las Estaciones 1 y 4, siendo menores en las Estaciones 2, 3 y 5, y prácticamente nulos en la Estación 6.

La variación de los valores promedio de ABS con respecto a las estaciones se presentan en la Figura 10, en la que se observa que los valores de ABS aumentan conforme se aumenta la distancia de la boca hacia el final del estero. La boca presenta un valor promedio de 0.091, que es 2.2 veces menor al que se presentan en el final del estero de 0.202.

Longitud de Onda de Absorbancia Máxima de la Materia Orgánica Soluble.

Sabiendo que en el estero existen en solución gran cantidad de compuestos, siendo las sustancias húmicas en general y los

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

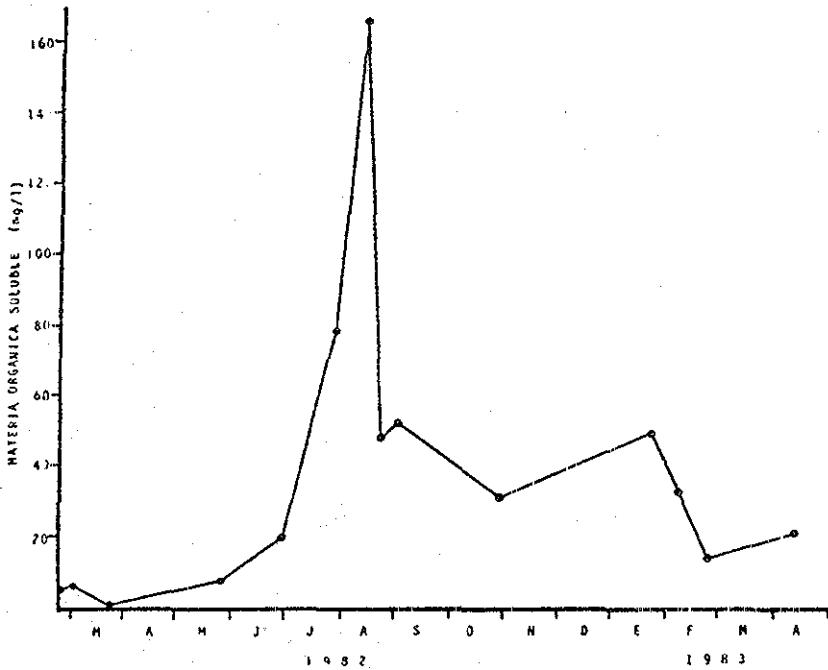


Figura 9: Variación anual de la Materia Orgánica Soluble en el estero El Verde, estimada a partir de los datos de absorbancia.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

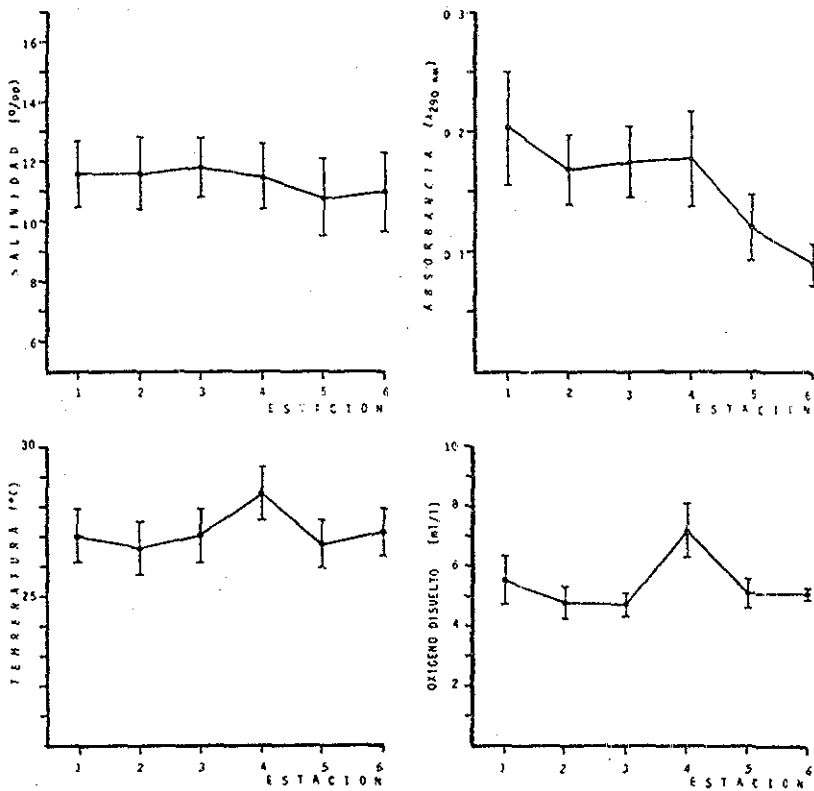


Figura 10: Valor promedio por Estación de muestreo de Salinidad, Absorbancia, Temperatura y concentración de Oxígeno Disuelto. Se presenta el error standard.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

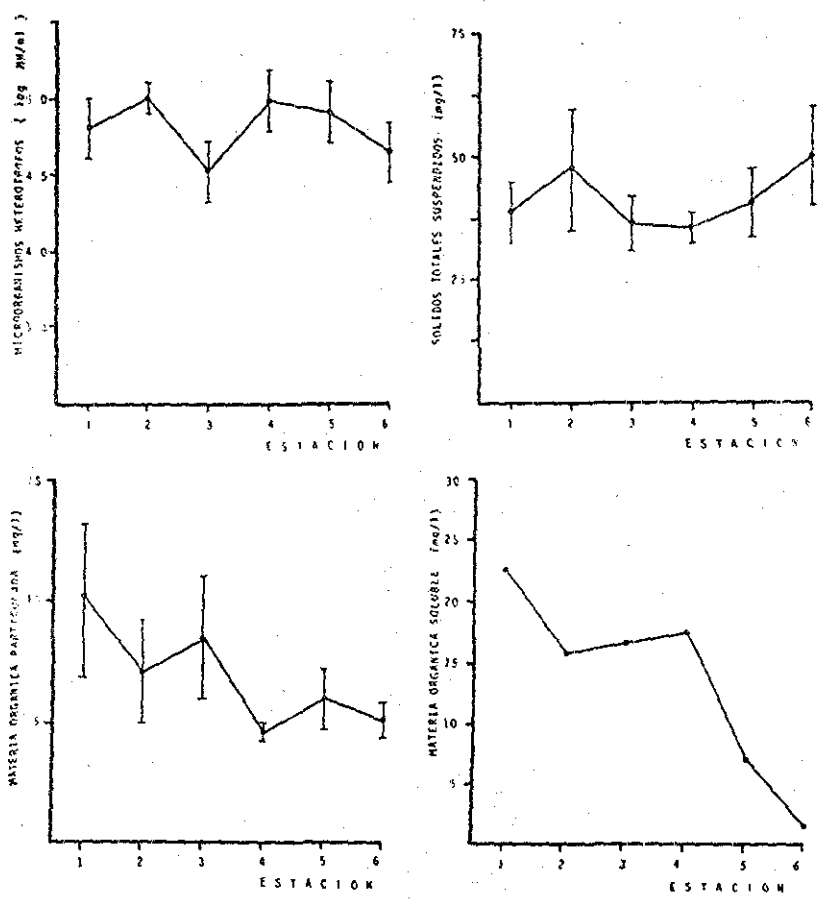


Figura 11: Valor promedio por Estación de muestreo de la concentración de: Microorganismos Heterótrofos, Sólidos Totales Suspendedos, Materia Orgánica Particulada y Materia Orgánica Soluble. Se presenta el error stand dard.

taninos en particular los de mayor abundancia (Christman y Gjessing, 1983), se buscó la longitud de onda de ABS máxima de estas sustancias en la literatura. Desafortunadamente las longitudes de onda de ABS máxima varían considerablemente según las muestras, se han reportado máximos para sustancias húmicas a 254 nm (Gardner y Landrum, 1983), para ácidos húmicos a 665 y 405 nm (Ertel y Hedges, 1983), a 665 y 465 nm (De Haan, 1983), y a 205 nm (Plechanov *et al.*, 1983), y para taninos a 277 (Feeny y Bostock, 1968), a 280 (Somers y Harrison, 1967), a 282 y 320 nm (Hergert, 1960).

Por esto se decidió determinar en el laboratorio la longitud de onda de ABS máxima para muestras de agua del estero, así como para taninos y lixiviados de hojas de *L. racemosa*.

Los resultados obtenidos indican que la ABS de las muestras se incrementa paulatinamente al ir disminuyendo la longitud de onda (Fig. 47), presentándose un hombro entre 285 - 295 nm, para seguir aumentando con la disminución de la longitud de onda.

Dado este resultado se realizaron todas las mediciones de ABS a 290 nm, valor intermedio a los reportados por Hergert (1960) de 282 y 320 nm, para taninos, y cercano a los 300 nm que es la longitud de onda utilizada por Palumbo y Ferguson (1978) para estimar la MOS.

Curva Patrón de Concentración de Materia Orgánica Soluble vs. Absorbancia

A soluciones de MOS de concentraciones conocidas se les determinó su ABS a 290 nm, y con los resultados obtenidos se realizaron regresiones lineales, obteniéndose las siguientes rectas para las diferentes muestras procesadas:

- para MOS de lixiviados de hojas de *L. racemosa* (tiempo de lixiviación de 24 hrs)

$$\text{ABS} = 0.010 \text{ MOS} - 0.004 \text{ (Fig. 12A)}$$

$$r = 0.99 \quad \alpha < 0.001$$

- para ácidos húmicos extraídos del estero

$$\text{ABS} = 0.0027 \text{ MOS} + 0.056 \text{ (Fig. 12B)}$$

$$r = 0.99 \quad \alpha < 0.001$$

Estratificación de la Columna de Agua

En función de las observaciones realizadas en el campo se quiso saber si existe una estratificación entre el agua salobre del estero y el agua dulce del río antes de que se abra la boca (muestreo del 12 de agosto de 1982). Para este efecto se realizaron muestreos de fondo y superficie determinando los parámetros ya antes mencionados para los muestreos mensuales.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

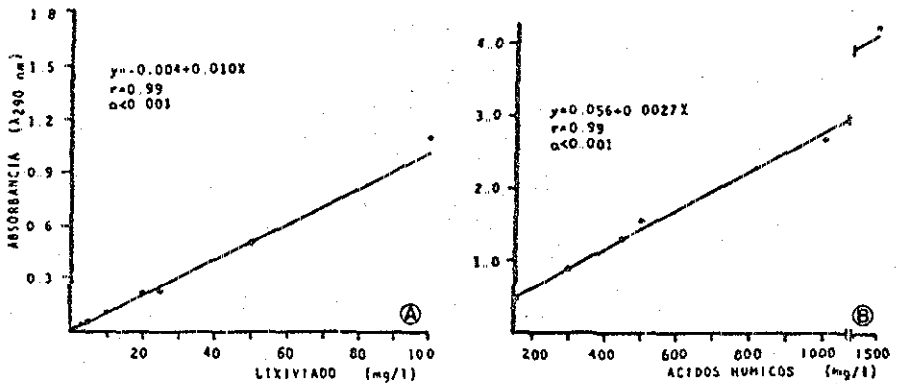


Figura 12: Ecuaciones lineales de la relación entre la absorbancia y la concentración de:
A) Sustancias húmicas de lixiviados (24 hrs.) de hojas de *Laguncularia racemosa*
B) Ácidos húmicos del estero El Verde.

Los resultados obtenidos se presentan en la Figura 13, en la que se observa que existe una estratificación en todas las estaciones a excepción de la Estación 4, debido posiblemente a su someridad. Cabe mencionar que para las Estaciones 1, 2, 3, 5 y 6 se obtuvo un valor promedio para S de 1.6 o/oo en superficie y 6.2 o/oo en fondo, para T de 33.5°C en superficie y 31.4°C en fondo, y para OD de 2.25 ml/l en superficie y 0.24 ml/l en fondo.

Comportamiento Comparativo Entre el Final del Estero y la Boca

Al observar las variaciones a través del año, de los distintos parámetros medidos en cada una de las estaciones de muestreo, se quiso saber si existía un comportamiento distinto entre el final del estero en su porción Sur (Estación 1) y la boca (Estación 6). Para esto se realizaron pruebas de significancia (Prueba de Student para Datos Pares), presentándose un resumen de éstas en la Tabla 1. Se observa que el único parámetro de comportamiento distinto entre las dos estaciones fue la ABS. La ABS siempre fue mayor en la Estación 1 (Fig. 8), y esta diferencia se debió probablemente al gran aporte de materia orgánica proveniente de la vegetación circundante de la estación, así como al aporte de las marismas durante la época de lluvias.

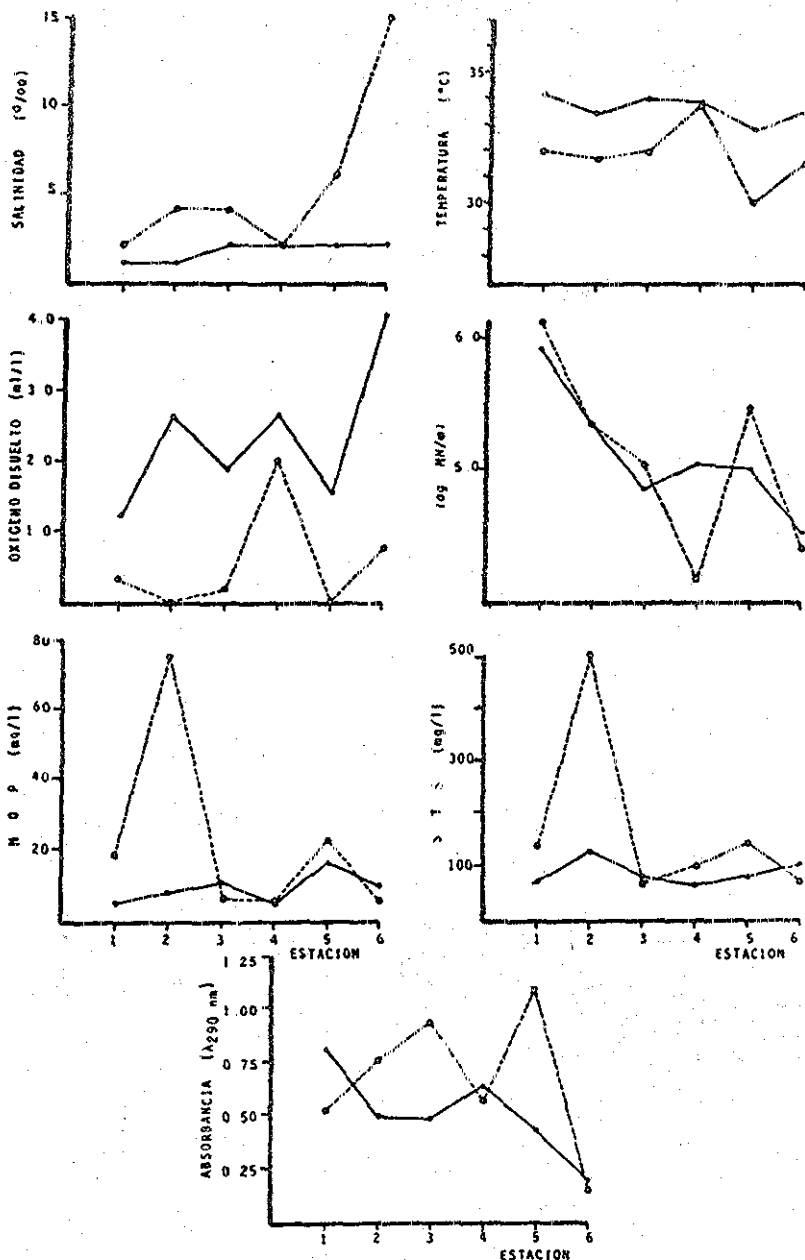


Figura 13: Valores de los parámetros ambientales por Estación, de superficie (—) y fondo (---), antes de que se abra la boca del estero (12 de agosto de 1982).

SG-A

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 1: Resumen de la Prueba de Student para Datos Pares aplicada a los diferentes parámetros medidos en la Estación 1 y en la Estación 6.

Parámetro	Grados de libertad	$ t $ obtenido	t tablas $\alpha < 0.05$	Ho: $\mu_{Est 1} - \mu_{Est 6} = 0$ Ha: $\mu_{Est 1} - \mu_{Est 6} \neq 0$
S	13	0.97	2.16	Ho aceptada
T	13	0.53	2.16	Ho aceptada
OD	13	0.49	2.16	Ho aceptada
MH	13	0.53	2.16	Ho aceptada
STS	13	0.93	2.16	Ho aceptada
MOP	13	1.48	2.16	Ho aceptada
ABS	12	2.52	2.17	Ho rechazada

Relaciones Entre los Parámetros Medidos

Con los resultados obtenidos a través del tiempo de los diversos parámetros medidos en el estero, se determinó la relación existente entre ellos, obteniéndose los coeficientes de correlación, así como las ecuaciones que definen las relaciones, obteniéndose estas funciones por el método de regresión lineal de mínimos cuadrados (Zar, 1974). Los resultados de estas operaciones se tienen en la Tabla 2, presentándose aquellas que fueron significativas ($\alpha < 0.05$) en las Figuras 14-16.

Entre las relaciones que fueron significativas se tiene a la S y la T, siendo una correlación inversa (Fig. 14), esto es debido probablemente, a que cuando aumenta la T en verano, es la época de lluvias y existe un considerable aporte de agua dulce al estero. Cuando disminuye la T, en el invierno, el aporte de agua dulce al estero es mínimo, aumentando la S por evaporación.

La S y los STS presentaron una relación inversa (Fig. 14), es claro que los STS dependen en gran parte de las corrientes presentes en el sistema, las principales corrientes que se presentan en la laguna a través del año son la del río y la de mareas, por lo cual resulta evidente que al ir llegando el río disminuye paulatinamente la S y aumentan los STS, que en parte vienen acarreados por el río y en parte son resuspendidos

Tabla 2: Regresiones lineales entre los parámetros medidos en el estero El Verde. Los números de cada columna representan la pendiente (m), la ordenada al origen (b), el coeficiente de correlación (r) y la confiabilidad (α).

S vs. T	- 0.45 23.50 - 0.41 0.001	S vs. PpM*	- 0.03 12.72 - 0.60 0.05	T vs. MOP	- 0.00 7.54 - 0.00 -
S vs. OD	4.83 -14.80 0.49 0.001	S vs. PpQ**	- 0.05 13.92 - 0.90 0.001	T vs. PpM	0.02 26.75 0.44 -
S vs. MH	- 2 x 10 ⁴ 74 x 10 ⁴ 0.09 -	T vs. OD	- 0.18 10.50 - 0.34 -	T vs. PpQ	0.03 25.88 0.70 0.01
S vs. ABS	- 0.05 1.27 - 0.65 0.01	T vs. MH	- 5 x 10 ⁴ 2 x 10 ⁶ - 0.26 -	OD vs. MH	- 0.00 5.76 - 0.24 -
S vs. MOP	- 0.09 8.43 - 0.10 -	T vs. ABS	0.06 - 1.24 0.59 0.02	OD vs. ABS	- 0.94 5.94 - 0.19 -
S vs. STS	- 1.89 63.78 - 0.25 0.02	T vs. STS	0.55 26.52 0.07 -	OD vs. STS	0.03 4.36 0.41 -

Tabla 2: continuación.

OD vs. MOP	0.20	MH vs. PpQ	67.39
	4.14		4×10^5
	0.45		0.01
	-		-
OD vs. PpM	0.00	ABS vs. STS	0.01
	5.42		0.13
	0.12		0.66
	-		0.02
OD vs. PpQ	- 0.01	ABS vs. MOP	0.02
	6.17		0.45
	- 0.32		0.26
	-		-
MH vs. ABS	- 3×10^5	ABS vs. PpM	0.01
	8×10^5		0.42
	0.18		0.65
	-		0.02
MH vs. STS	2×10^3	ABS vs. PpQ	0.01
	1×10^5		0.33
	0.21		0.77
	-		0.005
MH vs. MOP	1×10^3	STS vs. MOP	0.12
	2×10^6		1.85
	0.02		0.76
	-		0.001
MH vs. PpM	4.80	STS vs. PpM	0.20
	9×10^2		33.96
	0.12		0.52
	-		-

Tabla 2: continuación.

STS vs. PpQ	0.13
	37.85
	0.33
	-
MOP vs. PpM	0.01
	6.14
	0.29
	-
MOP vs. PpQ	0.01
	6.63
	0.14
	-

* Precipitación Estación Mazatlán de la SARH.

** Precipitación Estación El Quelite de la SARH.

del sedimento del estero. Cuando aumenta la S en la época de secas, la boca está cerrada y no existen prácticamente corrientes en el estero, por lo cual los STS tienden a sedimentar.

La T y la ABS presentaron una relación directa (Fig. 15), y se debe probablemente a que la T es baja en época de secas, teniendo una baja concentración de sustancias húmicas y taninos en el estero, y la T es alta en época de lluvias cuando éstas y el río aportan gran cantidad de compuestos en solución que aumentan considerablemente la ABS.

Los STS y la ABS (Fig. 15), presentaron una relación directa, y se entiende que la influencia del río y de las lluvias, es el factor que determina la relación. Obsérvese que el comportamiento de estos parámetros es similar entre sí a través del período de estudio (Figs. 6, 8).

El OD y la S presentaron una relación directa (Fig. 15), debida a que en invierno cuando aumenta la S por evaporación también aumenta la concentración de OD por un aumento en la productividad primaria en el medio acuático (Flores-Verdugo, com. per.), y cuando disminuye la S debido a las lluvias y la llegada del río, el OD disminuye porque aumenta considerablemente la demanda química y bioquímica de oxígeno en el estero.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

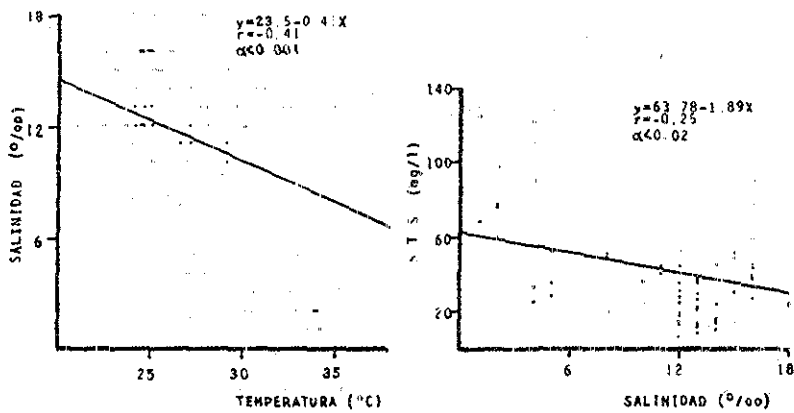


Figura 14: Ecuaciones lineales de la relación entre los valores de Temperatura vs. Salinidad, Salinidad vs. Sólidos Totales Suspendedos, medidos en el estero El Verde durante el período de estudio.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

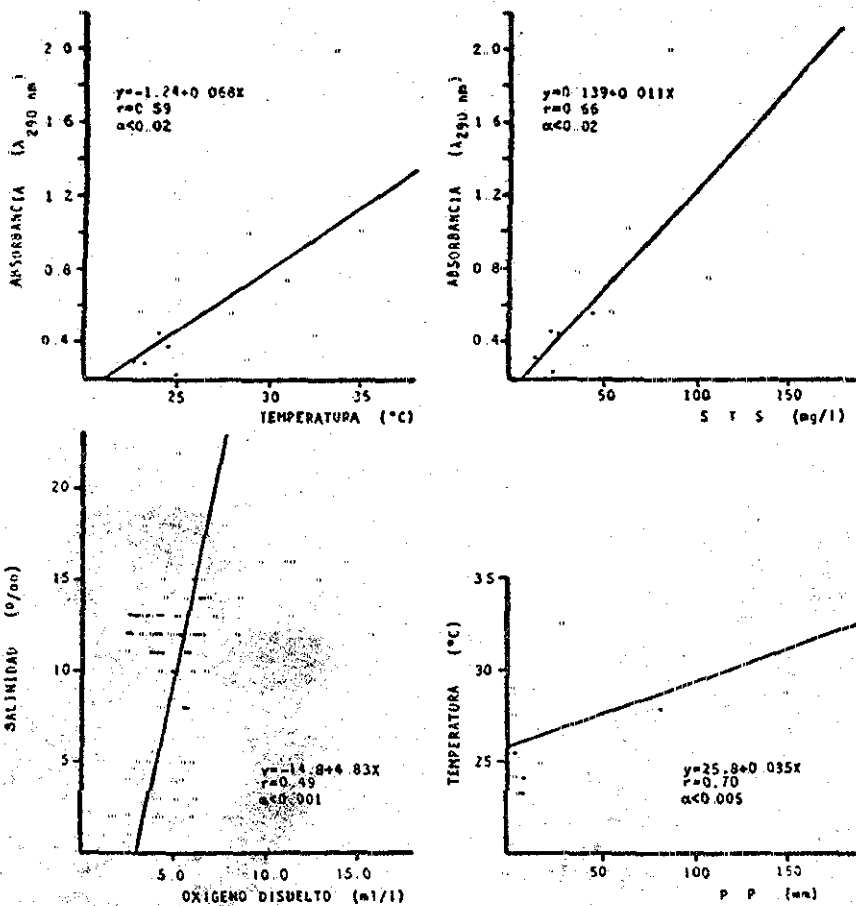


Figura 15: Ecuaciones lineales de la relación entre los valores de: Temperatura vs. Absorbancia, Sólidos Totales Suspendedos vs. Absorbancia, Oxígeno disuelto vs. Salinidad y Precipitación pluvial (Estación El Quelite) vs. Temperatura medidos en el estero El Verde durante el período de estudio.

Los STS guardan una relación directa con la MOP (Fig. 16), lo cual es de esperarse dado que una fracción de los STS es la MOP, y cuando ésta última aumenta o disminuye se verá reflejado con mayor o menor grado en los STS. Obsérvese que el comportamiento de estos dos parámetros a través del tiempo es similar (Figs. 6, 7).

La relación entre la ABS y la S es inversa y se presenta en la Figura 16. Se observan dos rectas, una de ellas corresponde a la regresión para el período de estudio, teniendo un $r = -0.65$, y otra corresponde a parte de este período, de febrero a octubre de 1982, teniendo un $r = -0.78$. Esto se realizó dado que en enero y marzo de 1983 hubo precipitaciones muy por arriba de los valores normales para esa época (Fig. 17), pensándose que la correlación podía mejorar, lo que sucedió. Esta relación inversa se debe posiblemente a que las lluvias y el río aportan al estero gran cantidad de sustancias húmicas y taninos de áreas aledañas, en las que se ha acumulado a través de un año gran cantidad de materia orgánica, y es así que este aporte de agua dulce con gran cantidad de MOS baja la S del estero e incrementa su ABS. En época de secas la S aumenta por evaporación y la ABS disminuye dado que los compuestos responsables de ésta (ácidos húmicos y taninos) pueden ser biodegradados por microorganismos (Grant, 1976), o forman polímeros o moléculas complejas con metales (Fe, Cu, Cd, Zn) u otras sus-

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

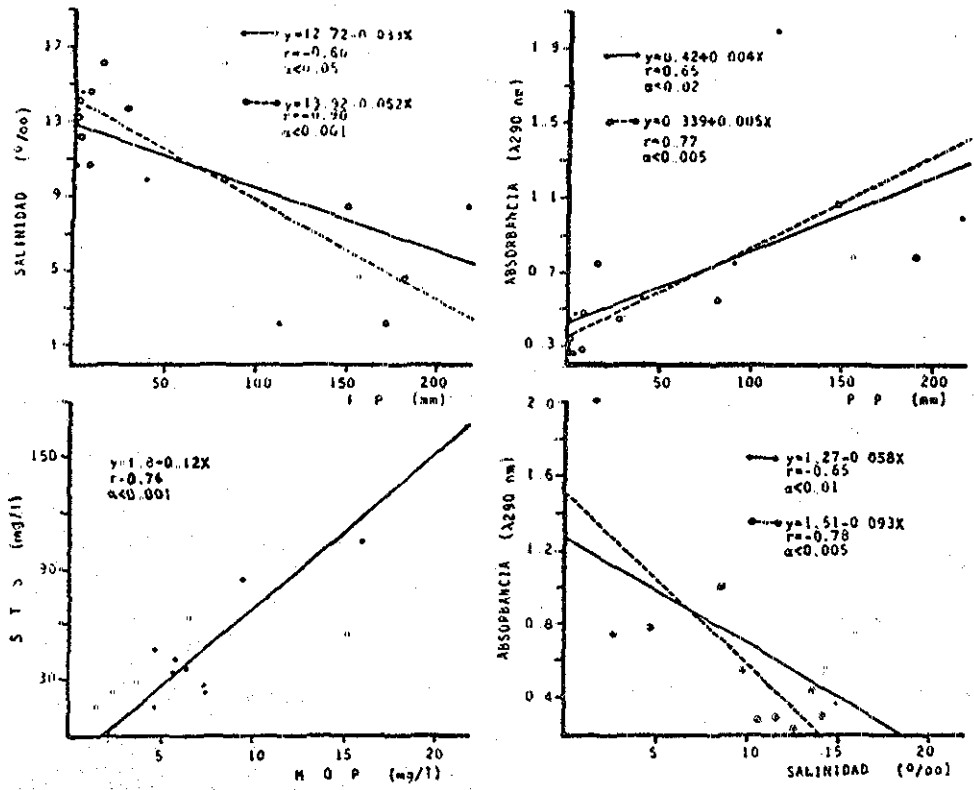


Figura 16: Ecuaciones lineales de la relación entre los valores de: Precipitación pluvial (Estación El Quiete ———; Estación Mazatlán - - - -) vs. Salinidad, Precipitación pluvial vs. Absorbancia, Materia Orgánica Particulada vs. Sólidos Totales Suspensos y Salinidad vs. Absorbancia, medidos en el estero El Verde durante el periodo de estudio.

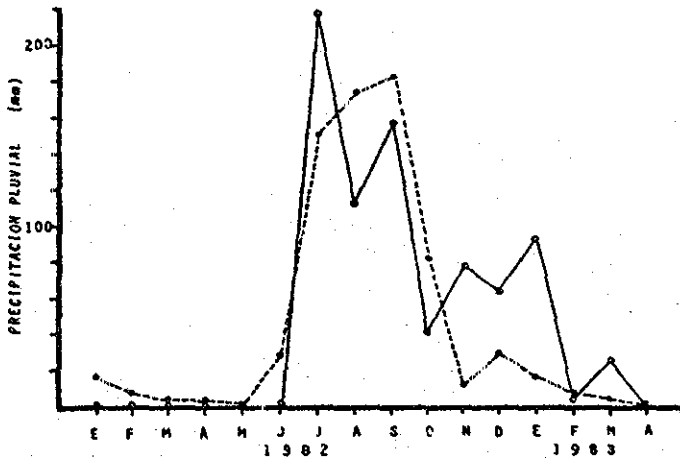


Figura 17: Precipitación pluvial de la Estación Mazatlán de la SARH (—●—), durante 1982 - 1983; y Precipitación pluvial promedio (17 años) de la Estación El Quelite de la SARH (---●---).

59-b

tancias (pectina, almidón) (Benoit y Starkey, 1968; Tuschall y Brezonik, 1983; Shuman *et al.*, 1983), o bien precipitan por el incremento en la S (Sholkovitz *et al.*, 1978).

Se hicieron también correlaciones de los parámetros medidos con la precipitación (PP) de la zona. Se realizaron las correlaciones con la PP mensual medida en la Estación Mazatlán de la SARH (localizada en el Puerto de Mazatlán) para el período de estudio, así como con la PP promedio mensual obtenida en la Estación El Quelite de la SARH (localizada a 35 km al norte de Mazatlán) durante 17 años. En la Figura 17 se observan las curvas de precipitación mensual tanto para el período de enero de 1982 a abril de 1983 de la Estación Mazatlán, como el de los promedios mensuales de la Estación El Quelite. Se observa que durante 1982 la PP de la Estación Mazatlán, estuvo por debajo del promedio de la Estación El Quelite, más sin embargo de enero a abril de 1983, se presentaron lluvias extemporáneas, que causaron que en ese período la PP de la Estación Mazatlán, estuviera muy por encima de los valores promedio de PP de la Estación El Quelite. En resumen se puede decir que el período de estudio presentó un verano seco y un invierno lluvioso.

Al procesar los datos se encontró una relación inversa, como es de esperarse, entre la PP y la S del estero, en la Figura 16 se presentan dos rectas, una corresponde a la regresión con los valores de PP de la Estación Mazatlán, y la otra con los

valores de PP de la Estación El Quelite. El coeficiente de correlación fue mayor, $r = -0.90$, para los valores de la Estación El Quelite, que el obtenido para los valores de la Estación Mazatlán, $r = -0.60$.

La PP de la Estación El Quelite dió una relación directa con la T medida (Fig. 15), y es debido a que la época de lluvias es en el verano, en el que se tiene T alta, y la época de secas es en el invierno, en el que baja la T.

La ABS presenta con los valores de PP una relación directa (Fig. 16), y esto se debe a que las lluvias lavan áreas cercanas al estero y el río, aportando gran cantidad de materiales solubles (ácidos húmicos, taninos, ácidos fúlvicos) que aumentan la ABS del agua.

Biodegradación de Hojas de *L. racemosa* en el Campo

La pérdida de peso de las bolsas de degradación a través del tiempo se presenta para cada una de las estaciones en la Figura 18 en la cual se observa que la biodegradación en la Estación 4 es mayor que en las Estaciones 3 y 5, esto se debió a que en la Estación 4 se encontraban gran cantidad de tanai-
dáceos, los que son organismos masticadores, consumidores de detritus, y que en el proceso de su alimentación van disminu-

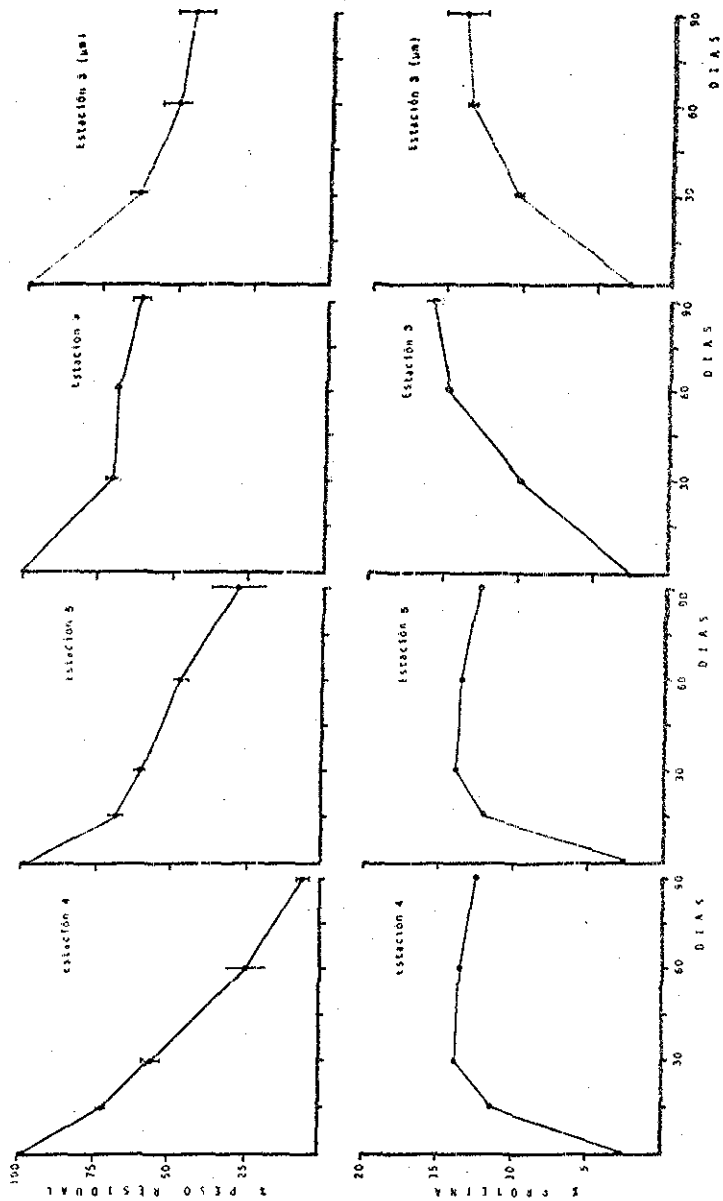


Figura 18: Porcentaje de Peso residual del detritus de hojas de *Laguncularia racemosa*, de las bolsas de degradación colocadas en las Estaciones 4, 5 y 3 (malla 1.5 mm y 300 μ m) e incremento en el porcentaje de Proteína del detritus remanente en las bolsas. Se presenta error standard.

61-A

yendo el tamaño de las partículas del detritus, incrementando la superficie específica del mismo. Cabe hacer notar que en la Estación 3 el grupo de bolsas de degradación con malla de 300 μ m, tuvo una biodegradación mayor que el grupo de bolsas con malla de 1.5 mm, este resultado aparentemente anormal, se debió a que sobre las bolsas de malla de 1.5 mm crecieron gran cantidad de algas filamentosas, aislando las bolsas, e impidiendo la degradación de las hojas, lo que no sucedió en las bolsas de malla menor.

Para determinar si la biodegradación era significativamente diferente entre las estaciones de muestreo, se realizó un análisis de varianza, presentándose un resumen de los resultados en la Tabla 3. Se realizó además la prueba de Newman-Keuls-Studen (Zar, 1974), para determinar entre qué estaciones se presentaban las diferencias, los resultados se presentan también en la Tabla 3. Como se observa existe diferencia significativa de la biodegradación en la Estación 4 con respecto a las demás estaciones, siendo mayor en ésta. La biodegradación en la Estación 5 es mayor a la que se efectúa en las bolsas de malla de 300 μ m en la Estación 3, que a su vez es mayor a la de las bolsas de malla de 1.5 mm de la Estación 3. Con estos resultados se puede decir que existe diferencia significativa en la biodegradación en diferentes áreas del estero, sin ser posible demostrar diferente tasa de biodegradación a través de distintas épocas del año.

Tabla 3: Resumen del Análisis de Varianza y de la Prueba de Student-Neuman-Keuls, aplicadas al porcentaje de peso residual en las bolsas de degradación colocadas en las Estaciones 3 (malla de 1.5 mm y 300 μ m), 4 y 5. Siendo SS = suma de cuadrados, GL = grados de libertad, MS = cuadrados medios, F = distribución F, ES = error standard, $\bar{X}_b - \bar{X}_a$ = diferencia entre medias, q = distribución q, p = número de medias en el intervalo.

Análisis de varianza

Ho: El porcentaje de peso residual en las bolsas de degradación es igual para las diferentes estaciones.

Ha: El porcentaje de peso residual en las bolsas de degradación es diferentes para las diferentes estaciones.

Fuente de variación	SS	GL	MS
Total	6,956.85	15	
Grupos	6,092.36	3	2,030.78
Error	864.49	12	72.04

$$F = \frac{2,030.78}{72.04} = 28.18$$

Dado que $F_{0.001(3,12)} = 5.95$, se rechaza Ho.

Tabla 3: continuación.

Prueba de Student-Neuman-Keuls

Comparación	$(\bar{X}_b - \bar{X}_a)$	ES	q	P	$q_{0.05,12,p}$	
$\mu_{Est\ 3} - \mu_{Est\ 4}$	$60.82 - 5.86 = 54.96$	4.38	12.53	4	4.19	Ha
$\mu_{Est\ 3} - \mu_{Est\ 5}$	$60.82 - 28.21 = 32.61$	4.38	7.44	3	3.77	Ha
$\mu_{Est\ 3} - \mu_{Est\ 3^*}$	$60.82 - 45.86 = 14.96$	3.79	3.94	2	3.08	Ha
$\mu_{Est\ 3^*} - \mu_{Est\ 4}$	$45.86 - 5.86 = 40.00$	4.38	9.12	3	3.77	Ha
$\mu_{Est\ 3^*} - \mu_{Est\ 5}$	$45.86 - 28.21 = 17.65$	4.38	4.02	2	3.08	Ha
$\mu_{Est\ 5} - \mu_{Est\ 4}$	$28.21 - 5.86 = 22.34$	4.90	4.56	2	3.08	Ha

Conclusión: $\mu_{Est\ 3} \neq \mu_{Est\ 3^*} \neq \mu_{Est\ 5} \neq \mu_{Est\ 4}$

Todas las muestras son diferentes entre sí.

* bolsas de degradación de 300 μ m de malla.

En la Figura 18, se presenta también el incremento en proteína de las hojas de *L. racemosa* en proceso de biodegradación. Este incremento es similar en todas las estaciones, en las Estaciones 4 y 5 se tiene un incremento paulatino de 2.6 a 14.0% en 30 días, para posteriormente disminuir lentamente hasta 12.5% a los 90 días. En el caso de la Estación 3 el incremento en proteína es ligeramente diferente, a los 30 días se tiene un incremento de 2.6 a 10.0%, valor que va en aumento hasta 14.0 - 16.0% a los 90 días. Se piensa que la diferencia en dicho comportamiento es debida a que en las Estaciones 4 y 5 existen organismos predadores, que pueden consumir a las microcapas de microorganismos que se forman sobre el detritus.

Con los datos obtenidos de la biodegradación se obtuvieron las ecuaciones lineales y exponenciales, que relacionan la pérdida de peso con el tiempo (Tabla 4). Con el fin de tener puntos de comparación con otros trabajos, se obtuvieron las constantes de degradación K (año^{-1}), observándose que:

$$K_{\text{Est. 4}} > K_{\text{Est. 5}} > K_{\text{Est. 3}} > K_{\text{Est. 3}}$$

Al observarse la Figura 18, se pensó que el incremento de proteína y la pérdida de peso por separado, no reflejan el incremento de alimento rico en proteína producido por los mi

Tabla 4: Regresiones lineales y exponenciales de la pérdida de peso de las hojas de *Laguncularia racemosa*, a través del tiempo, en las Estaciones 3, 4 y 5. Siendo y = peso en gramos, t = tiempo en meses, r = coeficiente de correlación, α = confiabilidad y K = constante de degradación exponencial en años⁻¹.

Estación	Regresión lineal	Regresión exponencial	K (año ⁻¹)
3	$y = -0.60t + 4.64$ $r = -0.88$ $\alpha < 0.001$	$y = 4.62 e^{-0.15t}$ $r = -0.89$ $\alpha < 0.001$	1.82
3*	$y = -0.30t + 1.84$ $r = -0.88$ $\alpha < 0.001$	$y = 1.84 e^{-0.24t}$ $r = -0.87$ $\alpha < 0.001$	2.92
4	$y = -1.80t + 4.75$ $r = -0.94$ $\alpha < 0.001$	$y = 5.41 e^{-0.60t}$ $r = -0.81$ $\alpha < 0.001$	7.30
5	$y = -0.90t + 4.49$ $r = -0.89$ $\alpha < 0.001$	$y = 4.43 e^{-0.33t}$ $r = -0.93$ $\alpha < 0.001$	4.01

* bolsas de degradación de 300 μ m de malla.

coorganismos a través de la biodegradación, por lo que se obtuvo el valor de proteína, en mg, del detritus residual en las bolsas, y determinar así su variación en el tiempo. Esto se observa en la Figura 19, y se tiene que en las Estaciones 4 y 5 existe un aumento real de proteína disponible, con respecto al valor inicial a los 15 días de biodegradación. Para el caso de la Estación 3 se tiene que para ambos grupos de bolsas, la proteína disponible es mayor a los 60 días, a diferencia de los 15 días de las otras estaciones.

Al presentarse los valores en su forma logarítmica (\ln), se obtienen las curvas que se presentan en la Figura 19, observándose que el incremento de proteína es similar entre las Estaciones 4 y 5, siendo el consumo de ésta más activo en la Estación 4, que en la 5. Se tiene para la Estación 3 que el incremento de proteína es similar en ambos casos, presentándose el máximo a los 60 días, para decrecer de forma lenta hacia los 90 días, aparentemente sin una alta tasa de predación.

Observación al Microscopio Electrónico de Barrido de la Formación del Detritus Procedente de Hojas de *L. racemosa*.

La observación de partículas de detritus al MEB permite determinar la presencia de diferentes grupos de organismos in-

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

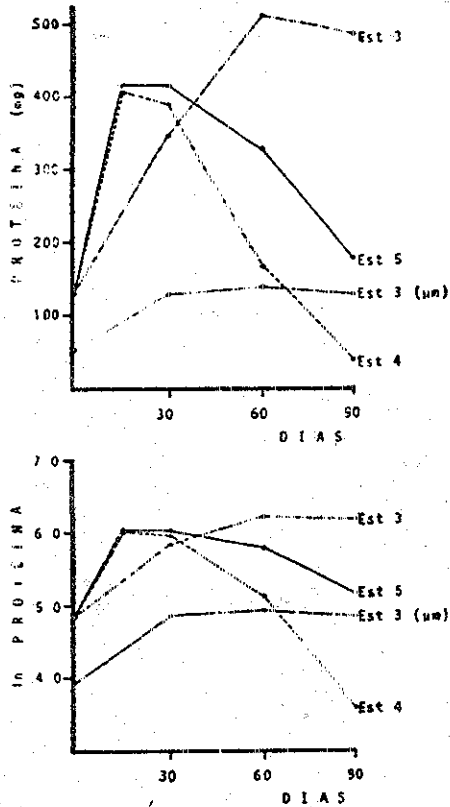


Figura 19: Variación de la cantidad absoluta de Proteína del detritus residual en las bolsas de degradación colocadas en las Estaciones 4, 5 y 3 (malla 1.5 mm y 300 µm); y su forma logarítmica (ln).

teractuando entre sí, para formar o utilizar el detritus en un proceso complejo. Si bien la identificación de cada uno de los organismos es difícil, es importante la información recabada, pues muestra al detritus como un microecosistema complejo en el cual se puede observar la presencia de los grupos funcionales de organismos involucrados en su formación.

El detritus obtenido de las bolsas de degradación colocadas en las Estaciones 4 y 5, mostró diferencias entre sí al ser observado al MEB. La biodegradación de las hojas de *L. racemosa* a través del tiempo en la Estación 4 se presenta en las Figuras 20-26, en las que se observa que si bien la mayoría de las hojas recién desprendidas de los mangles no presentan microorganismos sobre su superficie (Fig. 20), se presentan algunas hojas sobre las que se encuentran colonias bacterianas en forma de rosetas, actinomicetos (Fig. 21). A los 7 días de biodegradación desaparecen los actinomicetos y se presentan sobre el detritus hongos y acúmulos bacterianos (Fig. 22). Al quinceavo día de biodegradación se presentan algunas partes de las hojas en un estado avanzado de biodegradación, observándose paredes celulares, compuestas por materiales celulósicos de difícil degradación, colonizadas por bacterias (cocos y bacilos) probablemente con actividad celulolítica (Fig. 23). Se presentan también esta fecha gran cantidad de hongos y algunas diatomeas (Fig. 24). A los 30 días de biodegradación la superficie del detritus se encuentra cubierta por un profuso crecimiento de hongos, acúmulos bacterianos y

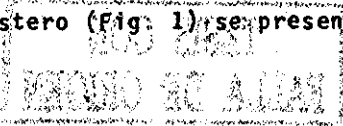
diatomeas (Fig. 25), presentándose también gran cantidad de tanaidáceos. A los 90 días se observan solamente materiales refractarios, colonizados por bacterias, que utilizan los restos de paredes celulares como sustrato y/o como fuente de carbono (Fig. 26).

El detritus formado en la Estación 5 se presenta en las Figuras 27-30 a través de las cuales se puede observar que a los 7 días de biodegradación existe un gran crecimiento de hongos sobre la superficie del detritus, acompañado por la presencia de grandes cantidades de fitoflageladas (Fig. 27).

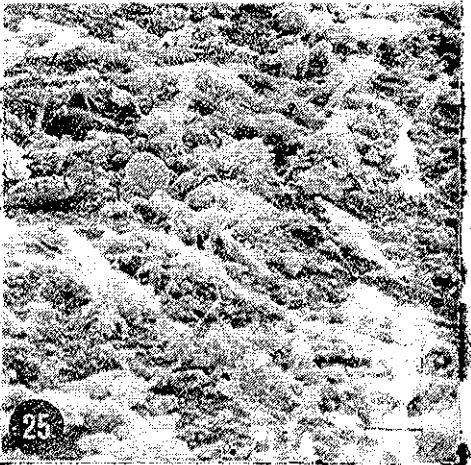
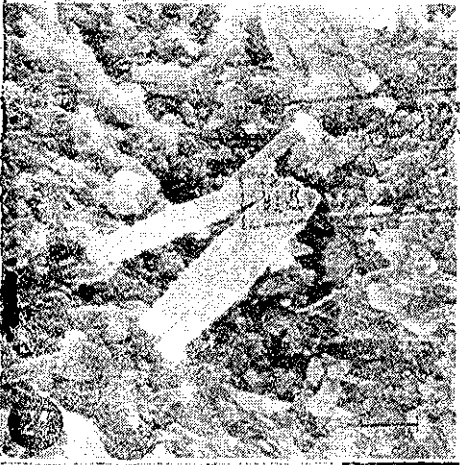
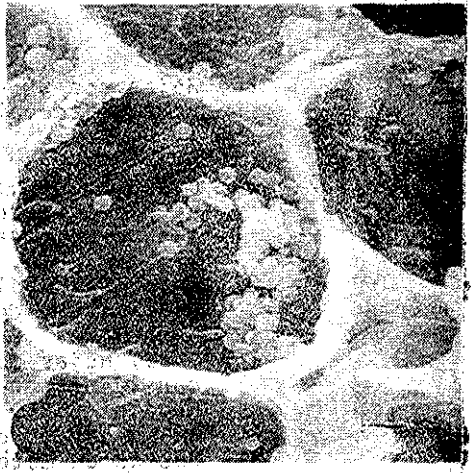
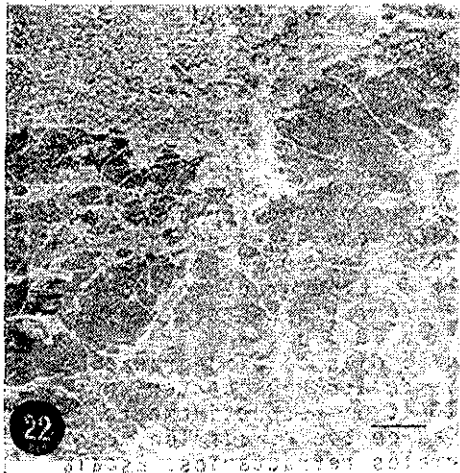
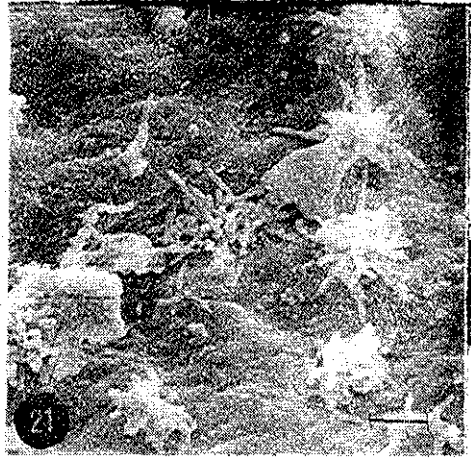
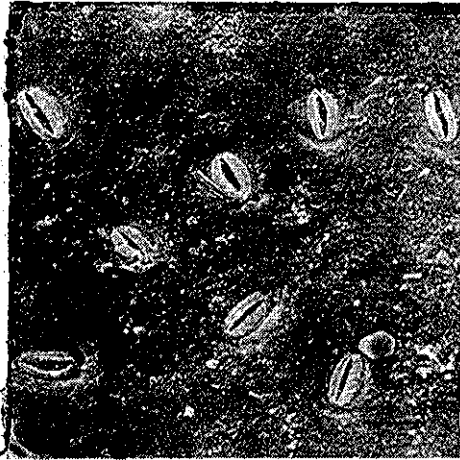
Al quinceavo día se presentan solamente acúmulos bacterianos sobre el detritus (Figs. 28, 29), manteniéndose así hasta los 90 días de biodegradación, observándose que existen partes de los restos de hojas levemente degradadas y otras partes muy degradadas, quedando solamente restos de materiales refractarios (celulosa, hemicelulosa) (Fig. 30).

Muestréos de 24 Horas

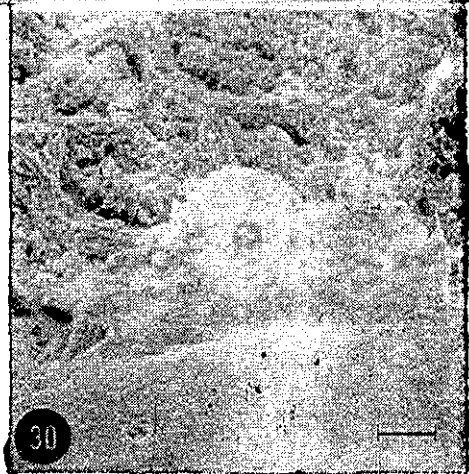
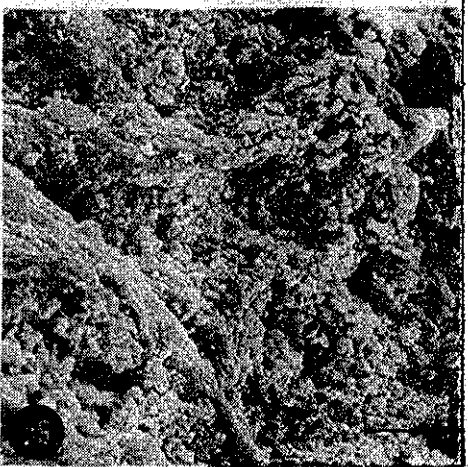
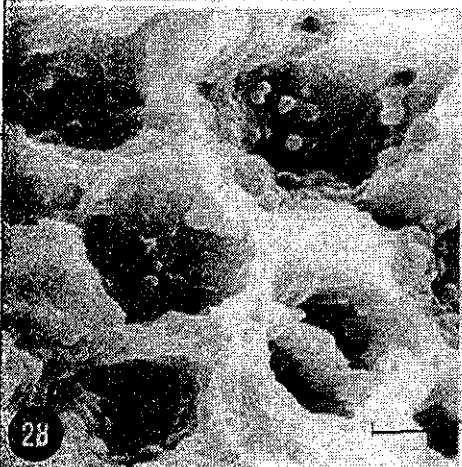
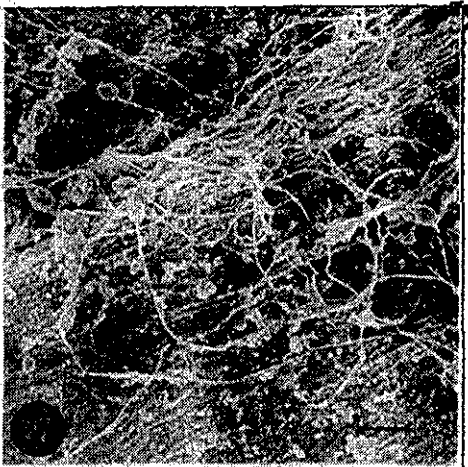
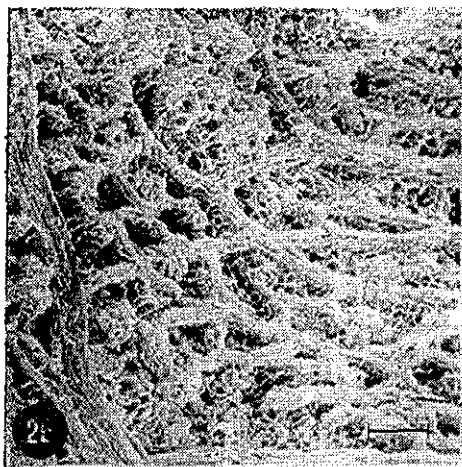
Los resultados de los tres muestreos de 24 hrs realizados en las Estaciones Norte y Sur, localizadas frente a la boca del estero (Fig. 1) se presentan a continuación:



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Muestreo del 23-24 de agosto de 1982

Este muestreo se efectuó a mediados de la época de lluvias, con el río aportando un volumen considerable de agua dulce al estero, incrementado por lluvias y escurrimientos locales. La boca del estero tenía 2 semanas, aproximadamente, de abierta teniendo por tanto el estero una comunicación continua con el mar.

En la Figura 31A, se presentan la curva de marea y el nivel del estero, observándose que existe un desbalance hídrico entre el estero y el mar debido al gran volumen de agua que aporta el río, por lo cual se presentó en el muestreo solamente reflujo, sin importar el estado de la marea. El reflujo se encuentra regulado básicamente por el aporte del río, influyendo la marea, solamente, en la velocidad de la corriente de reflujo (Fig. 31B), disminuyendo ésta con la pleamar e incrementándose con la bajamar. La Estación Sur influenciada grandemente por el río, presentó consistentemente velocidades mayores que la Estación Norte.

La variación de la S a través del tiempo se presentan en la Figura 31C en la que se observa que los valores de S para la Estación Sur fueron siempre menores que los de la Estación Norte, teniéndose respectivamente 1 y 11 o/oo como mínimos y 7 y 18 o/oo como máximos. Esta diferencia en la S se debió

a que la descarga principal del río hacia el mar se efectúa por la Estación Sur, descargándose por la Estación Norte el agua salobre del brazo Norte del estero. Nótese que en ningún momento se determinó una salinidad típicamente marina, 34 o/oo, lo que indica que no existió flujo del agua de mar hacia el estero, predominando la salida de agua del estero hacia el mar.

La variación en T se presenta en la Figura 31D, observándose una mayor variación en la Estación Norte que en la Estación Sur, debido probablemente a la someridad de la Estación Norte. La T se vió afectada por la insolación, presentándose valores altos en el día y valores bajos en la noche y madrugada.

La variación del OD para ambas estaciones se presentó entre 4.0 y 7.5 ml/l (Fig. 31E), teniéndose valores altos durante el día y valores bajos durante la noche, debido principalmente a la productividad primaria y a la respiración.

La fluctuación de la MOP a través del tiempo se presenta en la Figura 31F, observándose mayor variación en la Estación Norte que en la Estación Sur, siendo ésta de 3 a 33 mg/l y de 5 a 25 mg/l respectivamente.

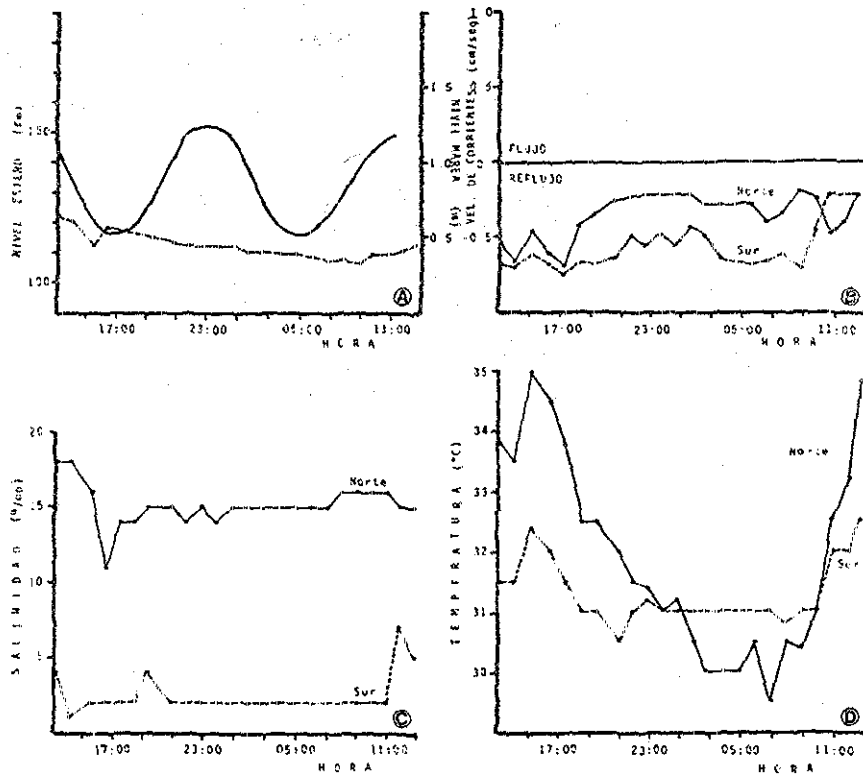


Figura 31: Muestreo de 24 horas del 23 - 24 de agosto de 1982, realizado en el estero El Verde, en las Estaciones Norte y Sur. Se presenta la variación diaria de:
 A) Nivel de la marea y Nivel del estero
 B) Velocidad de las corrientes de reflujo
 C) Salinidad
 D) Temperatura

68-A

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Las fluctuaciones de la ABS, se presentan en las Figuras 31G y 31H, observándose que existe una variación considerable entre las determinaciones de superficie y las de fondo. La ABS en el fondo fue generalmente mayor que en la superficie, debido posiblemente a la disolución de MOS u otros compuestos adsorbidos al sedimento.

Con los resultados obtenidos se realizaron pruebas de significancia con el fin de determinar si los parámetros medidos se comportaban de igual forma o no entre las estaciones. Un resumen de las pruebas (Prueba de Student para datos pares) se presenta en la Tabla 5, en la que se observa que los parámetros que presentaron un comportamiento distinto entre las dos estaciones son la S, la T y la velocidad de las corrientes. En la Estación Norte se presentaron valores mayores de S y T, siendo la velocidad de las corrientes mayor en la Estación Sur.

Los datos obtenidos en este muestreo se procesaron para determinar las relaciones existentes entre los diversos parámetros medidos, presentándose a continuación aquellas que fueron significativas. Se observa en la Figura 32A la correlación directa entre la T y el OD, la que se debió posiblemente a la insolación, la cual afectó tanto a la T como a la productividad primaria, responsable del aumento en la concentración de OD, teniéndose valores altos durante el día y bajos durante la noche.

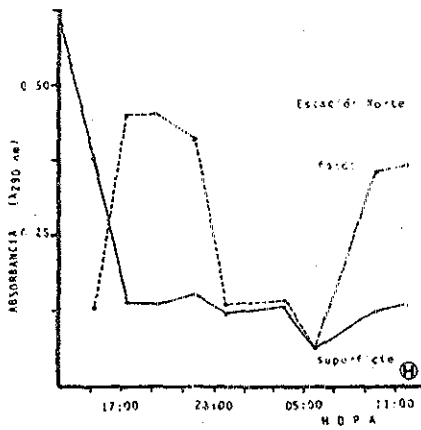
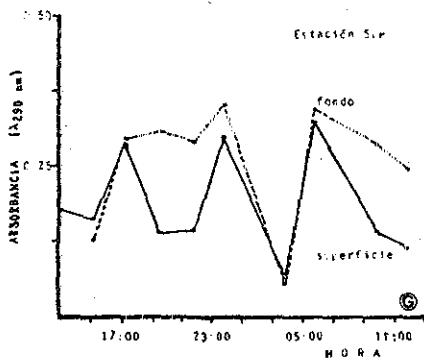
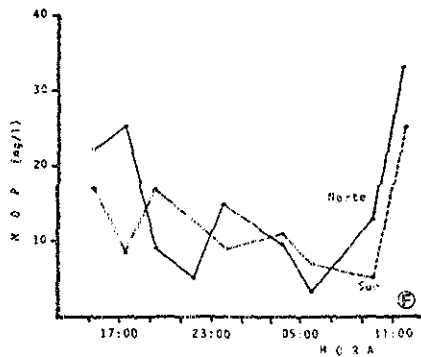
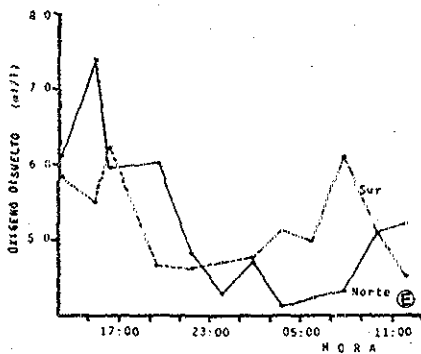


Figura 31: Continuación.

- E) Oxígeno Disuelto
- F) Materia Orgánica Particulada
- G) Absorbancia Estación Sur
- H) Absorbancia Estación Norte

69-A

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

La correlación directa entre el OD y la ABS se debió quizás a: i) que un incremento en la ABS, causado por aumento en la concentración de ácidos húmicos, promueve el crecimiento del fitoplancton (Prakash y Rashid, 1968; Prakash *et al.*, 1973), y por tanto la productividad primaria, lo que incrementa la concentración de OD (Fig. 32C); y ii) que la inhibición de microorganismos heterótrofos por el aumento de taninos (que incrementan la ABS) disminuye la respiración microbiana.

Entre la ABS y la T se presentó una correlación directa, la cual indica que posiblemente a mayor T existe una mayor solubilidad de compuestos orgánicos (ácidos húmicos, fúlvicos, taninos) que aumentan la ABS de las muestras (Fig. 32B).

La correlación directa obtenida entre la T y la MOP se considera que se debió a otros factores como son: la profundidad de los canales, el flujo y el volumen de agua en el que se diluirán los diversos componentes suspendidos o disueltos en el agua (Fig. 32D).

Muestreo del 4-5 de octubre de 1982

Este muestreo se realizó cuando el aporte de agua dulce del río hacia el estero era aún considerable. En la Figura 33A,

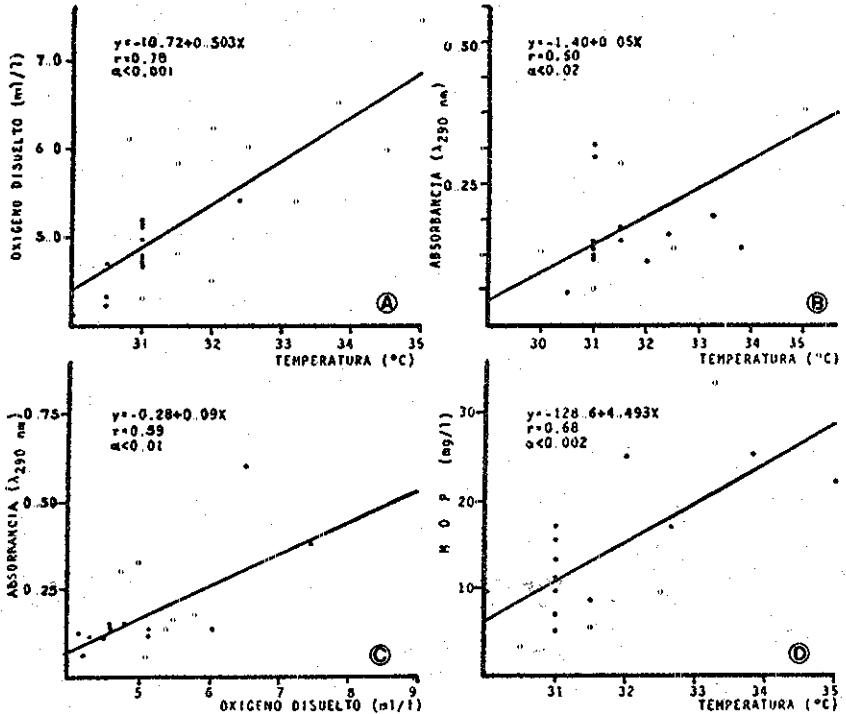


Figura 32: Ecuaciones lineales de la relación entre los parámetros medidos durante el muestreo de 24 horas del 23 - 24 de agosto de 1982. Se presentan las ecuaciones de:

- A) Temperatura vs. Oxígeno Disuelto
- B) Temperatura vs. Absorbancia
- C) Oxígeno Disuelto vs. Absorbancia
- D) Temperatura vs. Materia Orgánica Particulada.

70-A

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

se presentan la curva de marea y el nivel del estero, se observa que ambas curvas guardan una estrecha relación, presentándose un balance hídrico entre el estero y el mar, regulado tanto por la marea como por el aporte de agua del río.

La velocidad y dirección de las corrientes (flujo y reflujo) se presentan en la Figura 33B, observándose que en general son mayores las velocidades del reflujo que del flujo, lo que indica una ligera dominancia del río sobre la marea.

La variación de S a través del tiempo en ambas estaciones se presenta en la Figura 33C, observándose una concordancia de ésta con la curva de marea, aumentando la S en el flujo y disminuyendo en el reflujo. La S de la Estación Norte fue siempre mayor a la de la Estación Sur, debido a que en ésta última el río tiene mayor influencia.

La variación en la T se presenta en la Figura 33D, en la cual se puede observar que la Estación Sur presenta un intervalo de variación menor que la Estación Norte, debido a la someridad de ésta última. Las temperaturas altas se presentaron durante el día y las bajas durante la noche y madrugada.

Con respecto al OD se observa (Fig. 33E) que la Estación Sur tuvo poca variación, de 5.0 a 6.6 ml/l, mientras que la Estación Norte presentó una variación más amplia, de 2.4 a

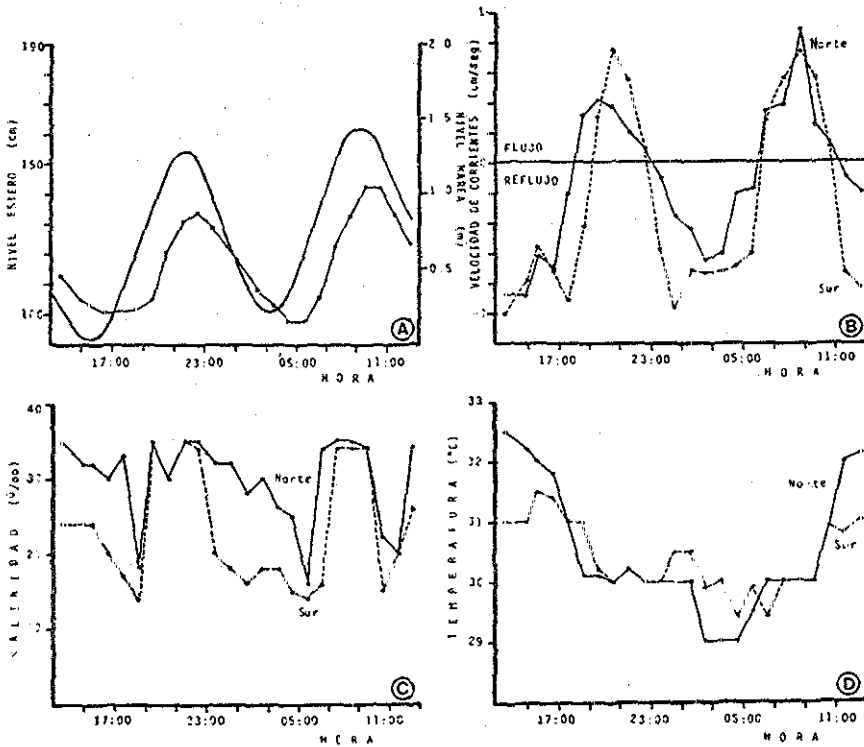


Figura 33: Muestreo de 24 horas del 4 - 5 de octubre de 1982, realizado en el estero El Verde, en las Estaciones Norte y Sur. Se presenta la variación diaria de:
 A) Nivel de la marea y Nivel del estero
 B) Velocidad de las corrientes de flujo y reflujo
 C) Salinidad
 D) Temperatura

71-A

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

9.6 ml/l. El máximo se determinó durante el día y el mínimo durante la noche.

La MOP varió considerablemente a través del muestreo, presentándose valores altos durante la pleamar y bajos durante la bajamar, siendo el intervalo de variación mayor para la Estación Norte que para la Estación Sur (Fig. 33F).

Con los resultados obtenidos se realizaron pruebas de significancia (Prueba de Student para datos pares) con el fin de determinar si existió un comportamiento similar de los parámetros medidos entre las dos estaciones. Un resumen de los resultados de estas pruebas se presenta en la Tabla 6, observándose que los únicos parámetros de comportamiento distinto en las estaciones de muestreo fueron la S y la velocidad de las corrientes. La S fue menor en la Estación Sur debido a la influencia directa del río sobre esta estación, asimismo la velocidad de las corrientes fue mayor en la Estación Sur debido a que por ese lugar descarga sus aguas el río, dependiendo la velocidad de las corrientes del volumen desplazado por unidad de tiempo.

Se realizaron regresiones lineales entre los parámetros medidos las que se observan en las Figuras 34A y 34B. El OD presentó correlaciones directas con la S y con la T. En el primero de los casos se puede decir que el incremento en la S

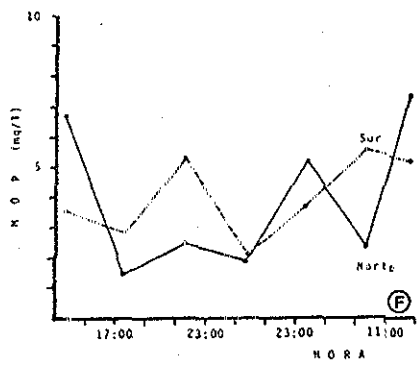
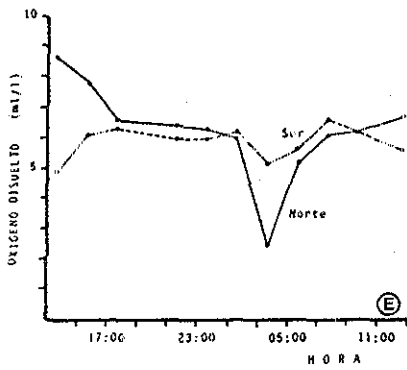


Figura 33: Continuación.
 E) Oxígeno Disuelto
 F) Materia Orgánica Particulada.

72.A

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Tabla 6: Resumen de la Prueba de Student para Datos Pares aplicada a los parámetros medidos en el muestreo del 4-5 de octubre de 1982, entre las estaciones de muestreo Norte y Sur.

Parámetro	Grados de Libertad	t obtenido	t tablas $\alpha < 0.05$	$H_0: \mu_{Sur} - \mu_{Norte} = 0$ $H_a: \mu_{Sur} - \mu_{Norte} \neq 0$
S	23	5.82	2.06	Ho rechazada
T	23	1.00	2.06	Ho aceptada
OD	10	0.70	2.22	Ho aceptada
MOP	6	0.12	2.44	Ho aceptada
Corrientes	22	4.08	2.07	Ho rechazada

72-b

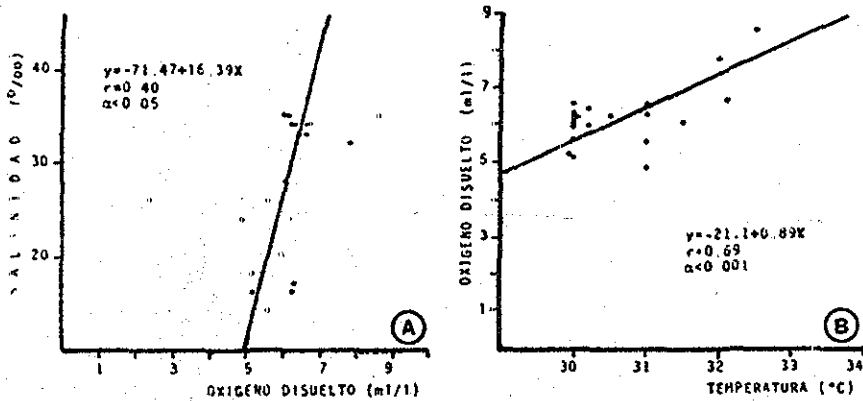


Figura 34: Ecuaciones lineales de la relación entre los parámetros medidos durante el muestreo de 24 horas del 4 - 5 de octubre de 1982. Se presentan las ecuaciones de:

- A) Oxígeno Disuelto vs. Salinidad.
- B) Temperatura vs. Oxígeno Disuelto.

72-C

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

apareado a un incremento en la concentración de OD es debido a que el agua de mar, a diferencia del agua del estero, posee menor cantidad de materia orgánica susceptible a oxidación, y además existe mayor oxigenación del agua cerca de la boca por el oleaje, turbulencia, etc. En el segundo caso un incremento del OD relacionado con un incremento en la T, es debido a la insolación, la que aumenta la T así como la productividad primaria, que será responsable de un aumento en la concentración de OD.

Muestreo del 28-29 de octubre de 1982

Este muestreo se realizó al final de la época de lluvias, cuando la precipitación era casi nula y el aporte del río había disminuído considerablemente. Unos días antes de realizar el muestreo la boca se había cerrado, lo que permitió que el estero elevara su nivel, por acumulación del agua que el río seguía aportando a éste. El día del muestreo la boca fue abierta por pescadores de la zona, y por la diferencia de nivel entre el estero y el mar, fluyó gran cantidad de agua del estero hacia el mar. En la Figura 35A, se observa la diferencia de nivel, así como el decremento del mismo debido a la apertura de la boca. En la Figura 35B, se presenta la velocidad y dirección de las corrientes medidas en las estaciones de muestreo, como se ve existe solamente reflujó, y la veloci

dad de la corriente disminuye al ir en ascenso la marea. La boca se cerró por efecto combinado de la marea, la corriente litoral, la disminución del flujo del río y del volumen del estero.

En la Figura 35C se presenta la variación en S de ambas estaciones de muestreo. La variación fue dentro del intervalo de 6 a 11 o/oo para la Estación Sur y de 8 a 14 o/oo para la Estación Norte. En general la Estación Norte presentó S más alta a través del tiempo que la Estación Sur, debido a que ésta última tiene influencia del río.

La variación en la T se presenta en la Figura 35D, en la que se observa que ambas estaciones tienen un comportamiento similar, teniéndose T alta durante el día y baja durante la madrugada. La variación de OD fue de 3.3 a 6.7 ml/l en la Estación Sur y de 4.2 a 6.5 ml/l en la Estación Norte (Fig. 35E) el valor mínimo se presentó durante la madrugada y el máximo durante el día, debiéndose posiblemente a respiración y productividad primaria.

Los STS variaron en forma similar en ambas estaciones de muestreo, teniéndose como valor máximo 54 mg/l y como mínimo 30 mg/l (Fig. 35H), la variación de los STS estuvo controlada por el aporte del río. La MOP presentó variaciones considerables a través del tiempo, variando de 1.44 a 7.88 mg/l en la

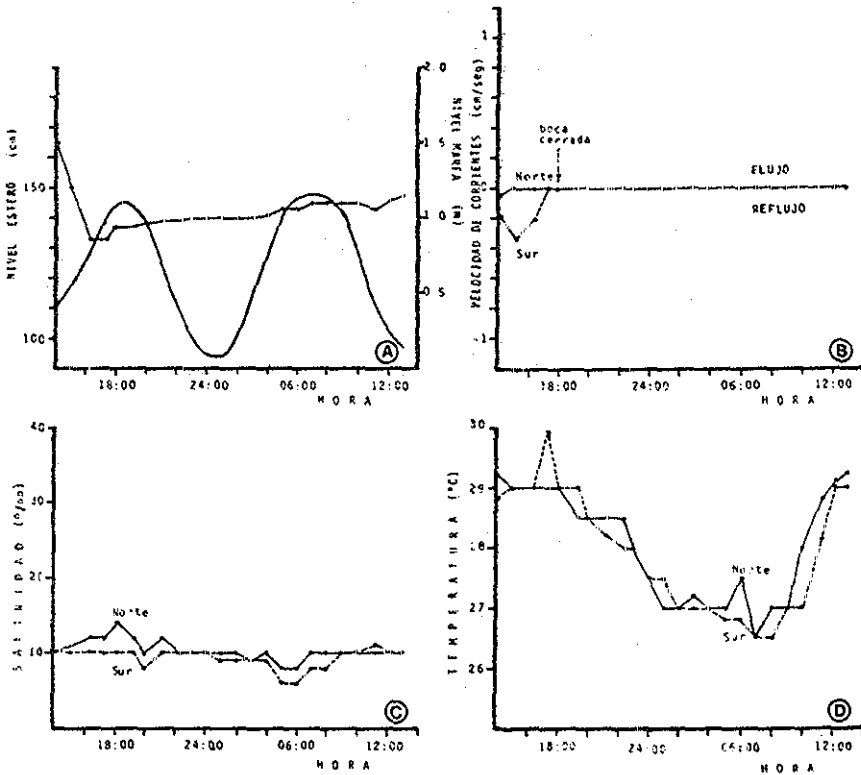


Figura 35: Muestreo de 24 horas del 28 - 29 de octubre de 1982, realizado en el estero El Verde, en las Estaciones Norte y Sur. Se presenta la variación diaria de:
 A) Nivel de la marea y Nivel del estero
 B) Velocidad de corrientes de flujo y reflujo
 C) Salinidad
 D) Temperatura

74-A

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

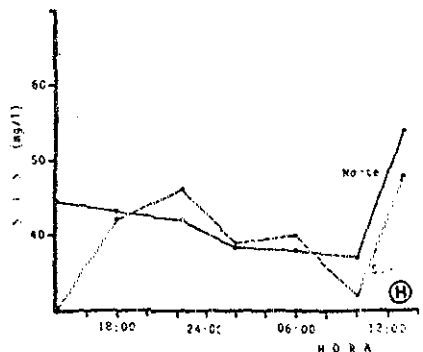
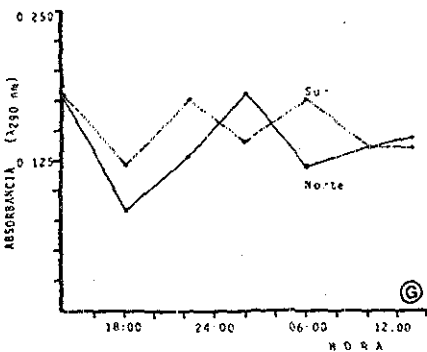
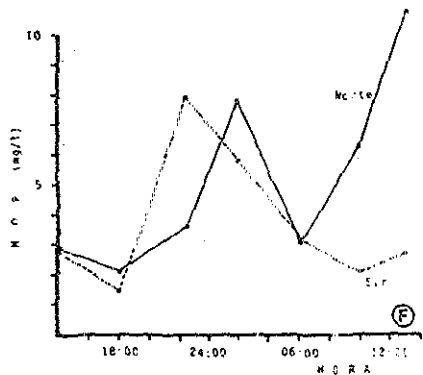
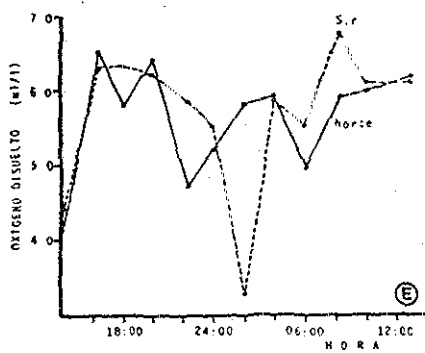


Figura 35: Continuación.
 E) Oxígeno Disuelto
 F) Materia Orgánica Particulada
 G) Absorbancia
 H) Sólidos Totales Suspendedos.

74-b

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Estación Sur y de 2.16 a 10.67 mg/l en la Estación Norte (Fig. 35F), se observa que cuando la boca se encontraba abierta se presentó un descenso en la MOP, aumentando posteriormente cuando la boca se cerró, debido quizás a la acumulación cerca de la boca por el aporte continuo que seguía proveyendo el río. Los valores de ABS, se presentan en la Figura 35G, en la que se observa que si bien existió una variación, ésta no fue tan amplia como en muestreos anteriores, lo que se debió quizás a que por una parte había disminuído el flujo del río, y por otra a que el río ya había solubilizado y acarreado a la mayor parte de las sustancias orgánicas adsorbidas en el sedimento de canales y áreas de inundación en el estero, por lo cual el aporte de sustancias disueltas disminuyó, menguando así la ABS del agua.

Se realizaron pruebas de significancia (Prueba de Student para datos pares), con el fin de determinar si existió o no un comportamiento similar de los parámetros medidos entre las estaciones de muestreo. Un resumen de las pruebas se presenta en la Tabla 7, observándose que el único parámetro de comportamiento distinto entre las estaciones fue la S. La S fue mayor en la Estación Norte que en la Estación Sur debido, como ya se ha mencionado, a la influencia que tiene el río sobre esta estación.

Tabla 7: Resumen de la Prueba de Student para Datos Pares aplicada a los parámetros medidos en el muestreo del 28-29 de octubre de 1982, entre las estaciones de muestreo Norte y Sur.

Parámetro	Grados de libertad	t obtenido	t tablas $\alpha < 0.05$	$H_0: \mu_{Sur} - \mu_{Norte} = 0$ $H_a: \mu_{Sur} - \mu_{Norte} \neq 0$
S	22	4.47	2.07	Ho rechazada
T	23	1.45	1.45	Ho aceptada
OD	11	0.28	2.20	Ho aceptada
STS	6	1.29	2.44	Ho aceptada
MOP	6	1.05	2.44	Ho aceptada
ABS	6	1.00	2.44	Ho aceptada
Corrientes	5	1.78	2.57	Ho aceptada

75-A

Asimismo se obtuvieron las ecuaciones lineales que relacionan a los diferentes parámetros medidos, presentándose aquellas que fueron significativas en la Figura 36. Se observa una relación directa entre la T y la S (Fig. 36A), debida posiblemente a que incrementos en la T aumentan la evaporación y por consiguiente la S. La S y la ABS presentaron una relación inversa (Fig. 36B), debida posiblemente a que el agua dulce que aporta el río al estero, trae en solución compuestos orgánicos que precipitan con cambios en la fuerza iónica del medio. Los STS y la T presentaron una relación directa (Fig. 36C), la que se considera es debida a factores tales como la profundidad, la turbulencia, la insolación, etc.

Estimación de la Exportación del Volumen de Agua, Materia Orgánica Particulada y Materia Orgánica Soluble del Estero Hacia el Mar.

Las estimaciones obtenidas con los resultados de los muestreos de 24 hrs se presentan en la Tabla 8, en la que se observa que para los tres muestreos realizados existió siempre un volumen neto exportado del estero hacia el mar.

- En el primer muestreo (23-24 de agosto de 1982) en el que el balance hidrológico estuvo dominado por el río, se presentó un reflujo constante a través de las 24 hrs, lo que ocasionó una

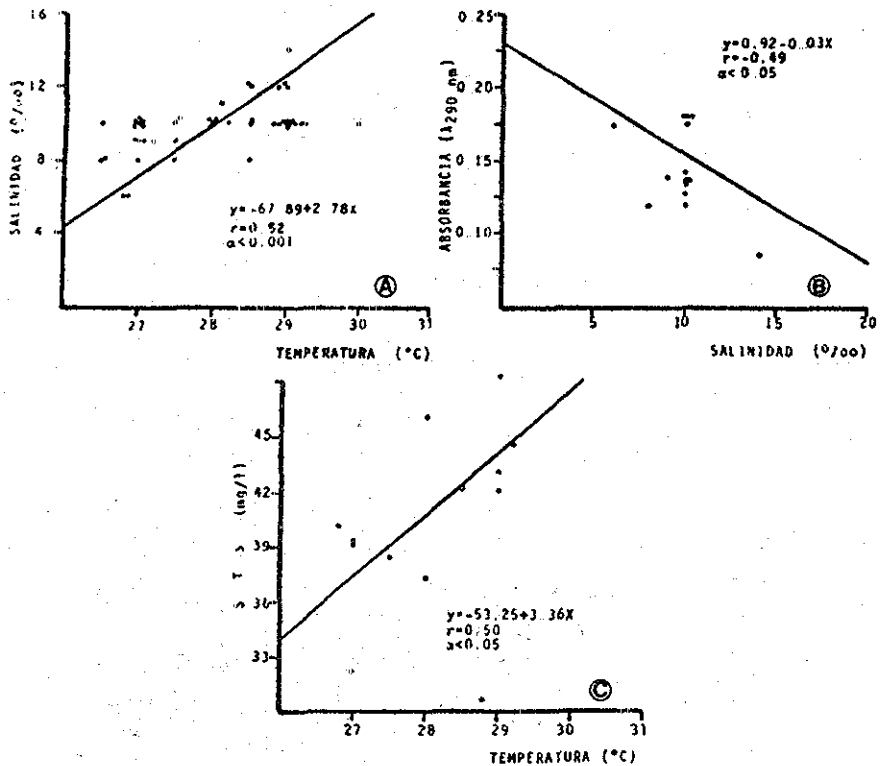


Figura 36: Ecuaciones lineales de la relación entre los parámetros medidos durante el muestreo de 24 horas del 28 - 29 de octubre de 1982. Se presentan las ecuaciones de:
 A) Temperatura vs. Salinidad
 B) Salinidad vs. Absorbancia
 C) Temperatura vs. Sólidos Totales Suspendidos.

Tabla 8: Estimación de la exportación del volumen de agua, materia orgánica particulada y materia orgánica soluble del estero El Verde hacia el mar, para los muestreos de 24 horas.

Fecha	Estación	Volumen (m ³)	MOP (ton)	MOS (ton)
23 - 24 Agosto	Sur reflujo	449,177	4.1	21.3
	flujo	0	0.0	0.0
	Norte reflujo	62,536	0.9	3.2
	flujo	0	0.0	0.0
	Total exportado	511,713	5.0	24.5
4 - 5 octubre	Sur reflujo	410,956	1.5	9.6
	flujo	196,199	-	-
	Norte reflujo	169,200	0.8	1.5
	flujo	113,472	-	-
	Total exportado	270,485	2.3	11.1
28 - 29 octubre	Sur reflujo	167,682	0.6	5.9
	flujo	0	0.0	0.0
	Norte reflujo	30,576	0.3	0.9
	flujo	0	0.0	0.0
	Total exportado	198,258	0.9	6.8

exportación neta de 511 713 m³, exportándose el 87.7% por la Estación Sur, y el 12.3% por la Estación Norte.

Respecto a la MOP se exportaron 5.0 ton, correspondiendo el 82.0% a la Estación Sur y el 18.0% a la Estación Norte. La exportación de MOS estimada fue de 24.5 ton, de las cuales el 86.9% fue exportado por la Estación Sur y el 13.1% por la Estación Norte.

En el segundo muestreo (4-5 de agosto de 1982) en el que existió un balance hidrológico entre el río y el mar, se presentaron flujos y reflujos a través de ambas estaciones, obteniéndose un reflujo neto de 270 485 m³, correspondiendo 79.4% a la Estación Sur y el 20.6% a la Estación Norte.

La MOP exportada se calculó en base a los reflujos en 2.3 ton, siendo exportado el 66.8% por la Estación Sur y el 33.2% por la Estación Norte.

Respecto a la MOS, ésta se estimó indirectamente dado que para este muestreo no se tuvieron lecturas de ABS. La estimación se realizó multiplicando el volumen neto exportado (Tabla 8) por la concentración de MOS promedio obtenida de los muestreos del 28 de agosto y del 2 de septiembre de 1982 (Fig. 9), teniéndose por lo tanto que:

$$41.2 \text{ g/m}^3 \times 270.485 \text{ m}^3 = 11.1 \text{ ton}$$

Para estimar qué porcentaje de las 11.1 ton exportadas corresponde a cada estación, se consideró la relación entre la MOS Estación Sur: MOS Estación Norte para los demás muestreos, encontrándose que dicha relación para el muestreo del 23-24 de agosto corresponde a:

$$\frac{\text{MOS Estación Sur}}{\text{MOS Estación Norte}} = \frac{21.3 \text{ ton}}{3.2 \text{ ton}} = 6.65$$

siendo para el muestreo del 28-29 de octubre de:

$$\frac{\text{MOS Estación Sur}}{\text{MOS Estación Norte}} = \frac{5.9 \text{ ton}}{0.9 \text{ ton}} = 6.55$$

siendo el promedio de estas relaciones de 6.60.

Considerando que esta relación, se mantiene durante el muestreo del 4-5 de agosto, la estimación de las cantidades exportadas de MOS para cada una de las estaciones corresponde a:

$$\text{MOS Estación Sur} + \text{MOS Estación Norte} = 11.1 \text{ ton}$$

siendo

$$\text{MOS Estación Sur} = 6.6 \text{ MOS Estación Norte}$$

por lo que

$$6.6 \text{ MOS Estación Norte} + \text{MOS Estación Norte} = 11.1 \text{ ton}$$

$$\text{MOS Estación Norte} = \frac{11.1 \text{ ton}}{7.6} = 1.46 \text{ ton}$$

$$\text{MOS Estación Sur} = 11.1 \text{ ton} - 1.46 \text{ ton} = 9.64 \text{ ton}$$

Con dichas estimaciones se tiene que la Estación Sur exporta el 86.8% del total, y la Estación Norte el 13.2%.

Durante el tercer muestreo (28-29 de octubre de 1982) se presentó reflujo por unas cuantas horas para después cerrarse la boca, siendo estimado el volumen exportado en 198 258 m³, exportándose el 84.5% por la Estación Sur y el 15.5% por la Estación Norte.

La estimación de la MOP exportada se calculó en 0.9 ton, correspondiendo el 62.2% a la Estación Sur y el 37.8% a la Estación Norte.

La MOS exportada se estimó en 6.8 ton de las cuales el 86.7% se exportó por la Estación Sur y el 13.3% por la Estación Norte.

Como se observa el volumen exportado del estero hacia el mar es, al principio de la época de lluvias cuando el río llega con un intenso flujo, 1.9 veces más que el segundo muestreo cuando existe un balance entre el estero y el mar, y 2.6 veces más que el volumen exportado durante el tercer muestreo. En

el segundo muestreo se exporta un volumen de agua 1.4 veces mayor que en el último de los muestreos.

La MOP exportada durante el primer muestreo es 2.2 y 5.5 veces más que en el segundo y tercer muestreos, respectivamente. La MOP exportada durante el segundo muestreo es 2.4 veces más respecto a la exportada en el tercer muestreo.

Al igual que las estimaciones anteriores, para la MOS se tuvo que durante el primer muestreo se exportó 2.2 y 3.6 veces más que en el segundo y tercer muestreos, respectivamente. La exportación del segundo muestreo con respecto al tercero fue de 1.6 veces más.

Se tiene, con los resultados obtenidos, que en general la exportación de MOS a través de la Estación Sur fue 6.6 veces mayor que en la Estación Norte, siendo mayor a principio de la época de lluvias y disminuyendo paulatinamente hasta que se cierra la boca.

Con los valores obtenidos de exportación de MOP y MOS en los muestreos de 24 hrs (Tabla 8), se realizó una estimación de la cantidad de materia orgánica exportada durante el año por el estero y por el río hacia la zona costera adyacente.

Para realizar esta estimación se consideró lo siguiente:

- i) que las mediciones de la Estación Sur corresponden a la suma de valores de las aportaciones del río y del brazo Sur del estero;
- ii) que las mediciones de la Estación Norte corresponden a la aportación del brazo Norte del estero;
- iii) que el aporte del brazo Sur varía de una manera similar al brazo Norte;
- iv) que los flujos presentados para cada una de las estaciones Sur y Norte, durante el muestreo del 4-5 de octubre, representan el volumen de cada uno de los brazos respectivamente;
- v) que el primer muestreo es representativo para el mes de agosto, el segundo muestreo para el mes de septiembre y el tercero para el mes de octubre; y
- vi) que la boca permanece abierta todo agosto, todo septiembre y la mitad de octubre. La exportación de MOP atribuida al río se calcula de la forma siguiente.

$$\frac{\text{Volumen brazo Sur}}{\text{Volumen brazo Norte}} = \frac{196\,199\text{ m}^3}{113\,472\text{ m}^3} = 1.72$$

por lo tanto

$$\text{brazo Sur} = 1.72 \text{ brazo Norte}$$

si $\text{MOP Estación Sur} = \text{MOP brazo Sur} + \text{MOP río}$

se tiene que

$$\text{MOP río} = \text{MOP Estación Sur} - (1.72 \text{ MOP Estación Norte})$$

por lo que la exportación para cada mes corresponde a:

agosto $[4.1 \text{ ton} - (1.72 \times 0.9 \text{ ton})] \times 30 \text{ días} = 76.6 \text{ ton/mes}$

septiembre $[1.5 \text{ ton} - (1.72 \times 0.7 \text{ ton})] \times 30 \text{ días} = 8.8 \text{ " "}$

octubre $[0.6 \text{ ton} - (1.72 \times 0.3 \text{ ton})] \times 15 \text{ días} = 1.3 \text{ " "}$

Total MOP río 86.7 ton/año

La MOP exportada por el estero se calcula de la forma siguiente:

MOP estero = MOP brazo Norte + MOP brazo Sur

sabiendo que MOP brazo Sur = 1.72 MOP brazo Norte

MOP estero = 2.72 MOP brazo Norte

por lo que la exportación de MOP atribuida al estero para cada mes corresponde a:

agosto $2.7 \times 0.9 \text{ ton} \times 30 \text{ días} = 73.4 \text{ ton/mes}$

septiembre $2.7 \times 0.7 \text{ ton} \times 30 \text{ días} = 57.1 \text{ " "}$

octubre $2.7 \times 0.3 \text{ ton} \times 15 \text{ días} = 12.2 \text{ " "}$

Total MOP estero 142.7 ton/año

Total MOP exportada 229.4 ton/año

Del total de MOP exportada del ecosistema hacia la zona costera adyacente el 37.8% corresponde al río y el 62.2% al estero.

La exportación de MOS para el río se calcula de forma similar a la MOP, por lo que se tiene lo siguiente:

agosto	[21.3 ton - (1.72 x 3.2 ton)] x 30 días=	473.8 ton/mes
septiembre	[9.6 ton - (1.72 x 1.5 ton)] x 30 días=	210.6 " "
octubre	[5.9 ton - (1.72 x 0.9 ton)] x 15 días=	<u>65.3 " "</u>
	Total MOS río	749.7 ton/año

La exportación de MOS por el estero corresponde a:

agosto	2.72 x 3.2 ton x 30 días=	261.1 ton/mes
septiembre	2.72 x 1.5 ton x 30 días=	122.4 " "
octubre	2.72 x 0.9 ton x 15 días=	<u>36.7 " "</u>
	Total MOS estero	420.2 ton/año
	Total MOS exportada	1 169.9 ton/año

Del total de la MOS exportada el 64% corresponde al río y el 36% al estero.

Experimentos de Laboratorio

Utilización de las Hojas de *Laguncularia racemosa* Como Fuente Alimenticia y su Actividad Antibiótica.

Los resultados de este experimento se presentan en la Tabla 9, en la que se observa que en el agar mínimo sin fuente de car-

bono los únicos microorganismos que se desarrollan son hongos, los cuales crecen tanto sobre hojas secas de *L. racemosa*, como sobre fragmentos de hojas de las que se habían extraído taninos (entre otras sustancias solubles en agua), así como también sobre fragmentos de detritus con 90 días de degradación, y sobre el control de celulosa. El crecimiento de los hongos en este medio de cultivo fue indiferente a la temperatura de incubación. Se observó alrededor de las hojas secas y de las hojas extraídas un halo de color café-rojizo posiblemente debido, entre otros, a la difusión de taninos en el agar.

En el agar nutritivo incubado a 25°C se tiene que las hojas secas de *L. racemosa* presentan un halo de inhibición considerable sobre bacterias que se desarrollan sobre el agar, creciendo únicamente sobre las hojas hongos. Los fragmentos de hojas extraídas, de detritus y el control de celulosa, presentan un crecimiento masivo de diversas especies de bacterias sobre su superficie, y no se presenta ningún halo de inhibición sobre las bacterias creciendo en el agar.

En el agar nutritivo incubado a 35°C se tiene que sobre los fragmentos de hojas secas no crece ningún microorganismo y a su alrededor presentan un gran halo de inhibición sobre las diferentes especies bacterianas que se desarrollan sobre el agar. Los fragmentos de hojas extraídas presentan solamente crecimiento de hongos sobre su superficie, presentándose un

ligeró halo de inhibición sobre los microorganismos, principalmente bacterias, que se desarrollan sobre el agar. Sobre los fragmentos del detritus con 90 días de biodegradación y el control, se presenta un crecimiento masivo de microorganismos y no se presentan halos de inhibición.

Cabe mencionar que alrededor de los fragmentos de hojas secas, colocados sobre las placas de agar nutritivo, se presenta un precipitado color naranja aproximadamente 15 min después de haber colocado los fragmentos dentro de las cajas de Petri.

Observaciones al Microscopio Electrónico de Barrido de la Biodegradación de Hojas de *L. racemosa* en Condiciones de Laboratorio.

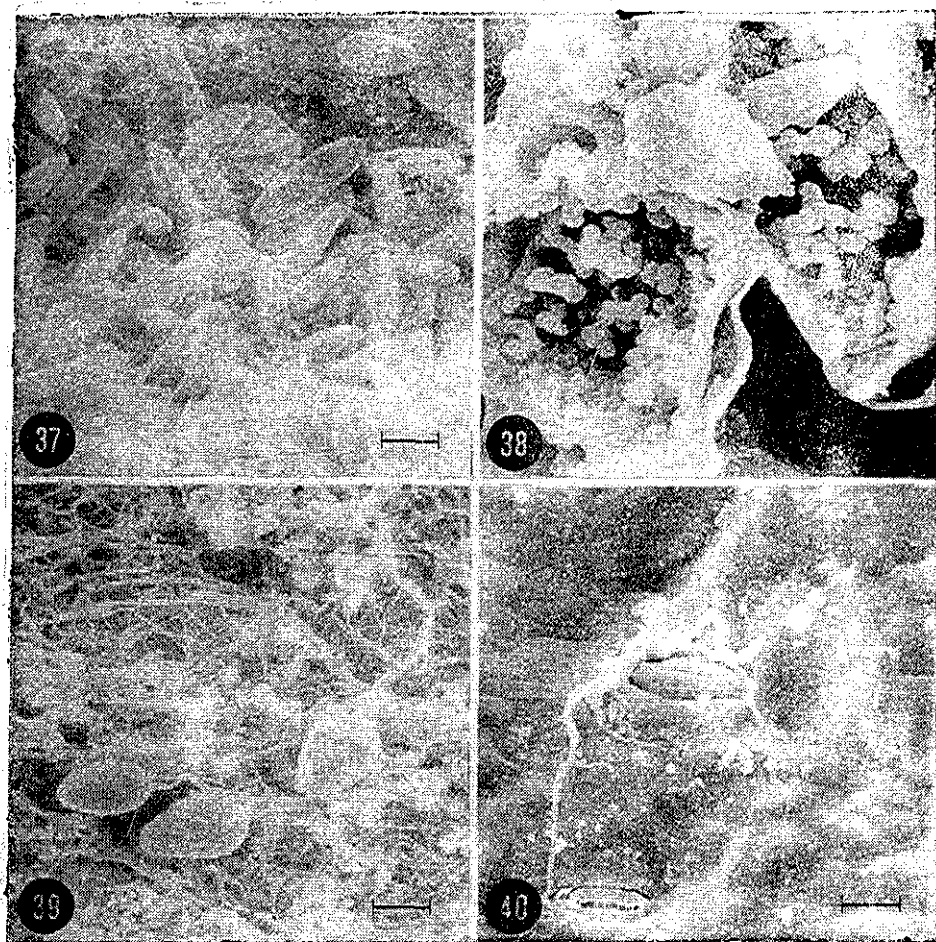
Los grupos de organismos responsables de la biodegradación efectuada en los acuarios fueron básicamente los mismos que los observados en la biodegradación efectuada en el campo, con excepción de los tanaidáceos, los que no se presentaron en los acuarios debido al proceso de filtración del agua de los mismos.

En el Acuario 1 (5 g de hojas, sin sedimento) no se presentaron microorganismos sobre la superficie de las hojas sino hasta el tercer día de biodegradación, día en el cual se pre-

sentaron gran cantidad de cocos, manteniéndose como único grupo hasta el dieciseisavo día en el que se presentaron bacilos. Hasta los 90 días de biodegradación los cocos son el único grupo presente, fecha en la que se presentan grandes cantidades de diatomeas (Fig. 37), encontrándose el detritus en un estado avanzado de biodegradación.

En el Acuario 2 (10 g de hojas, sin sedimento) en el cual la concentración inicial de hojas fue el doble que la del Acuario 1, se tiene que desde los primeros días la superficie de las hojas es colonizada por gran cantidad de hongos, así como por cocos y cocobacilos. En células de las hojas que perdieron su integridad se presentan dentro de ellas, adosados a las paredes celulares, acúmulos de cocos (Fig. 38). A los 7 días se presentan sobre el detritus hongos, bacilos y fitoflageladas en gran cantidad, que persisten hasta el onceavo día (Fig. 39). Posteriormente sólo se observan hongos desarrollándose profusamente sobre el detritus, y en algunas muestras después de 30 días de biodegradación se observan protozoarios ciliados.

Las hojas del Acuario 3 (5 g de hojas, con sedimento) presentaron en los primeros días una superficie más o menos limpia, con crecimiento de hongos en algunas de las hojas al primer día (Fig. 40). Al tercer día la superficie se colonizó con gran cantidad de cocos y hongos. En el sexto día se presenta sobre la superficie de las hojas a algunas fitoflageladas, las que



- Figuras 37-40: Observación al microscopio electrónico de barrido del detritus de hojas de *Laguncularia racemosa*, procedente de los Acuarios.
- 37) Acuario 1 - Hojas con 90 días de biodegradación, con la presencia de diatomeas. Escala 6.6 μm .
- 38) Acuario 2 - Hojas en los primeros días de biodegradación, con presencia de acúmulos de cocos adosados a las paredes celulares. Escala 6.6 μm .
- 39) Acuario 2 - Hojas de 7 a 11 días de biodegradación, con la presencia de hongos, bacterias y fitoflageladas. Escala 20.0 μm .
- 40) Acuario 3 - Hojas con 1 día de biodegradación, con crecimiento de hongos. Escala 20.0 μm .

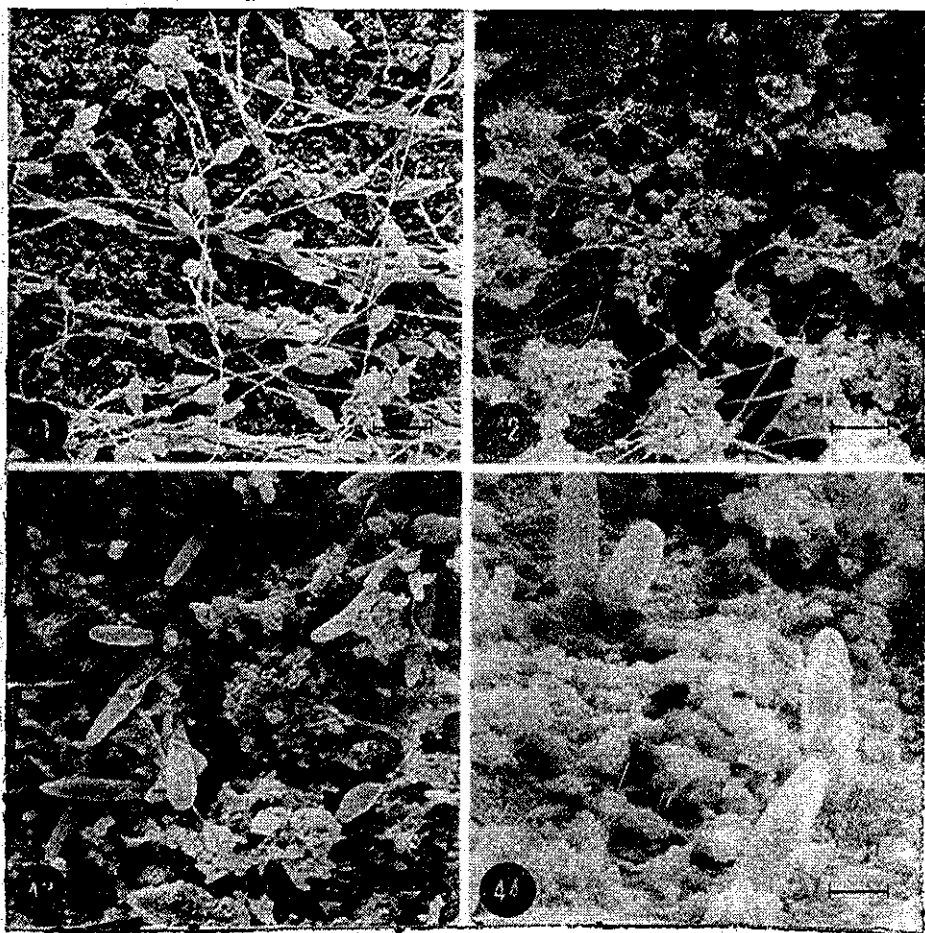
86-A

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

aumentan su número al séptimo día (Fig. 41). Las fitoflageladas desaparecen y la superficie del detritus se cubrió totalmente por micelio y acúmulos bacterianos, observándose en el día 30 que los hongos forman una capa miceliar abajo de la cual se encontraban grandes concentraciones de cocos, permaneciendo así hasta los 90 días, y observándose al igual que en las muestras de campo, restos de paredes celulares, compuestas de material refractario, sobre las cuales se encuentran cocos y hongos. En este acuario no se observaron protozoarios.

En el Acuario 4 (10 g de hojas, con sedimento) la superficie de las hojas en el primer día se mantuvo sin ser colonizada, al segundo día alrededor del 30% de la superficie se encontró cubierta por cocos, y al tercer día se presentaron hongos creciendo sobre el detritus, permaneciendo estos microorganismos como único grupo (Fig. 42), hasta el séptimo día en el cual se presentaron fitoflageladas. En el día 30 se observó sobre la superficie del detritus gran cantidad de diatomeas, presentándose también fitoflageladas y protozoarios (Figs. 43 y 44). A los 90 días se tuvo al detritus completamente disgregado presentándose adheridos a su superficie discretos acúmulos de cocos.

Las variaciones de ABS en cada uno de los acuarios, se presentan en la Figura 45, observándose que existe un marcado incremento de la ABS en el onceavo día de biodegradación. Se pre



- 41) Acuario 3 - Hojas con 7 días de biodegradación, con la presencia de fitoflageladas. Escala 100.0 μm .
- 42) Acuario 4 - Hojas con 7 días de biodegradación, con la presencia de hongos y fitoflageladas. Escala 16.6 μm .
- 43) y 44) Acuario 4 - Hojas con 30 días de biodegradación, con la presencia de diatomeas, fitoflageladas y protozoarios. Escalas 16.6 y 6.6 μm respectivamente.

87-A

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

sentó, en general, una variación mayor en la ABS de los acuarios con mayor cantidad inicial de hojas, siendo los valores de ABS menores en los acuarios con sedimento.

A pesar de que los diferentes acuarios presentaron diferentes grupos de microorganismos en el proceso de biodegradación, se tiene que el incremento en el contenido protéico del detritus (Fig. 45) no varió significativamente entre los acuarios.

Utilización de las Hojas de *L. racemosa* Como Fuente de Carbono

Los resultados de este experimento se presentan en la Figura 46, observándose en ella las curvas de crecimiento para los cultivos en caldo nutritivo y en caldo mínimo con dextrosa al 0.2% como fuente de carbono, ambas son curvas típicas de crecimiento microbiano, teniéndose un crecimiento mayor en el caldo nutritivo. Se presentan también las curvas de crecimiento de los cultivos en caldo mínimo con las diferentes concentraciones de hojas de mangle, se observa que a menor concentración de hojas se tiene una fase de latencia mayor, y una fase de crecimiento y un crecimiento menor. La curva de crecimiento obtenida con una concentración de 0.5 mg/ml de hojas, es similar a la obtenida utilizando dextrosa al 0.2% como fuente de carbono, obteniéndose mayor crecimiento con una concen-

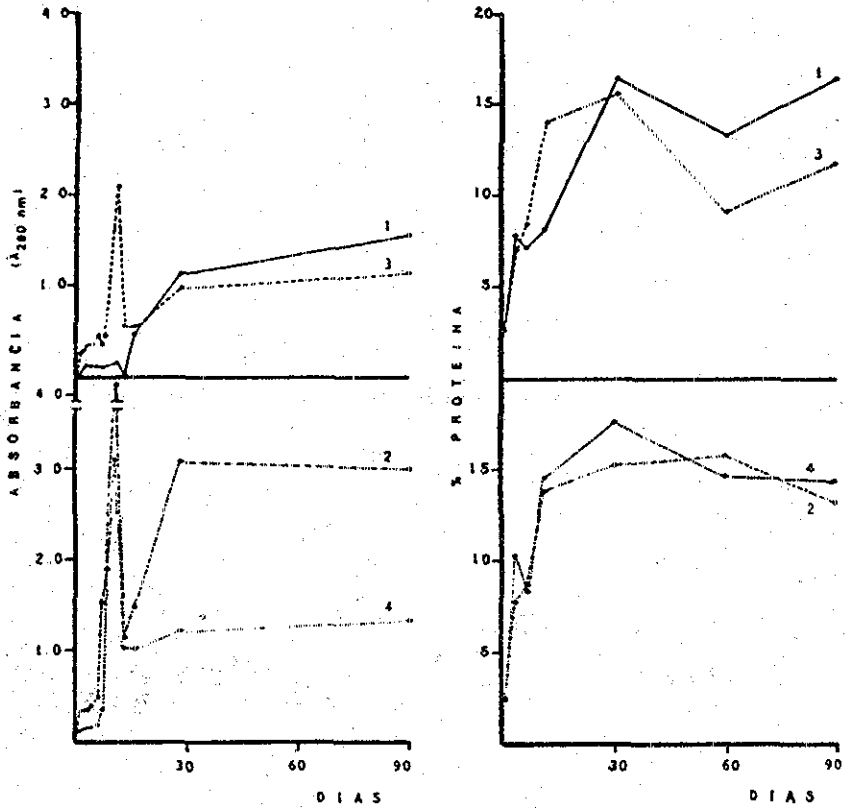


Figura 45: Variaciones de la Absorbancia del agua y del porcentaje de Proteína del detritus, de cada uno de los Acuarios.

88-A

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

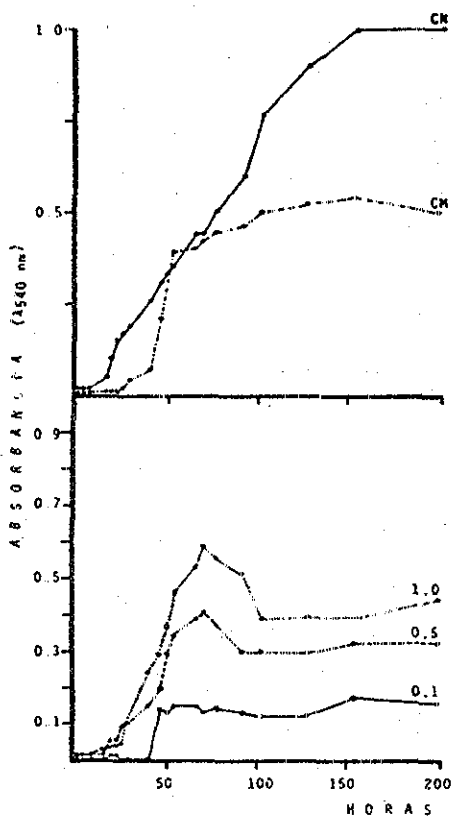


Figura 46: Curvas de crecimiento de cultivos mixtos, procedentes del estero, en caldo nutritivo (CN), caldo mínimo (CM) con dextrosa al 0.2 % y caldo mínimo con 0.1, 0.5 y 1.0 mg de hojas de *Laguncularia racemosa* por ml de medio de cultivo.

tración de 1.0 mg/ml sin alcanzar el crecimiento obtenido en el caldo nutritivo.

Con estos resultados se puede decir que existen microorganismos (cocos), presentes en el estero, que no solamente utilizan a las hojas de mangle como sustrato sólido en donde adherirse, sino que también las utilizan como fuente de carbono, dependiendo el crecimiento de estos organismos, entre otros factores, de la concentración de la materia orgánica presente en el medio.

Obtención de Taninos y Sustancias Húmicas de Lixiviados y del Estero.

Como resultado de los procedimientos ya descritos se obtuvieron taninos y sustancias húmicas de lixiviados de hojas de *L. racemosa*, en forma de cristales amorfos de coloración café-rojiza. Con estos compuestos se prepararon soluciones determinándose su espectro de absorción (Fig. 47), así como la relación entre concentración vs. ABS (Fig. 12).

Al filtrar 75 l de agua del estero, por las columnas de Amberlite se lograron obtener 570 mg de ácidos húmicos. La eficiencia de las columnas para la adsorción de ácidos húmicos, determinada en función de la ABS, fue del 14.6 y 17.0%

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

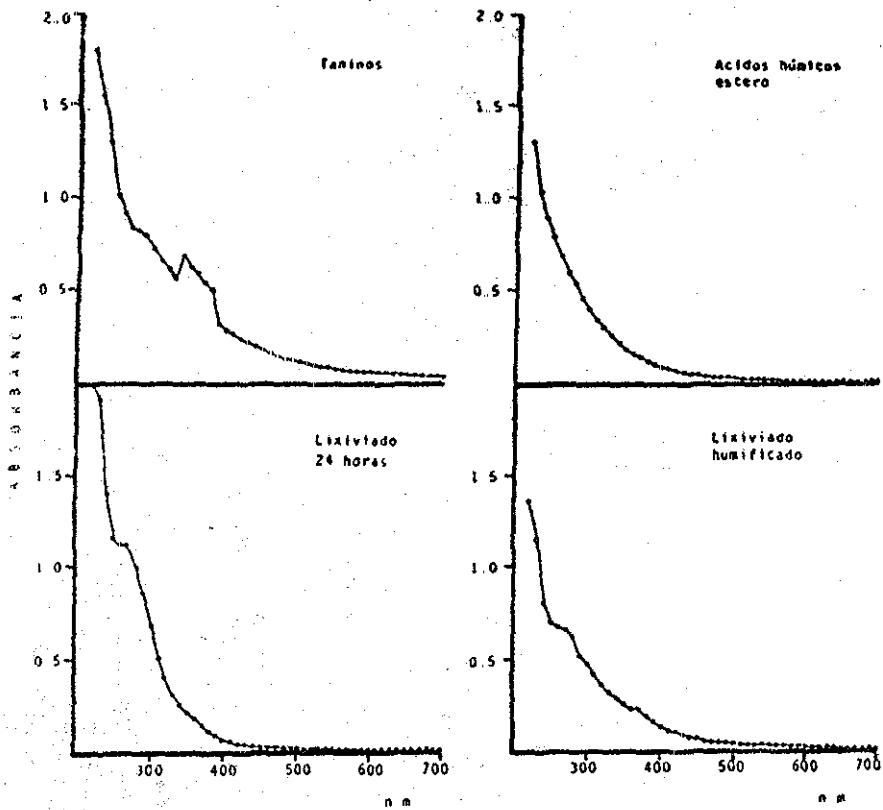


Figura 47: Espectros de Absorbancia de soluciones de taninos y lixiviados de hojas de *Laguncularia racemosa*, y de ácidos húmicos del estero El Verde.

89-A

para cada columna (Tabla 10), por lo que se estima que la concentración de ácidos húmicos en el estero es de:

$$\frac{570 \text{ mg} \times 10}{75 \text{ l} \times \% \text{ eficiencia}} = 44.7 - 52.0 \text{ mg/l}$$

La ABS de la muestra inicial de agua del estero, filtrada en las columnas de Amberlite, fue de 0.205, lo que da una estimación (Fig. 12) de 55.1 mg/l de ácidos húmicos en el estero, este valor es similar a los obtenidos con las columnas de Amberlite de 44.7 - 52.0 mg/l. Entre estos valores existe una diferencia de 3.1 a 10.4 mg/ml, que representa en promedio un 13.9% más de MOS al determinar ésta por medio de la ABS respecto al valor obtenido con el peso. Es posible que este valor mayor de MOS calculado a partir de la ABS de las muestras, se deba a la pérdida de MOS al lavar las columnas, y a que parte haya sido materia orgánica volátil (Mackinnon, 1981) que se perdió en el proceso de secado.

La eficiencia de adsorción de las columnas de Amberlite respecto a muestras, con cantidades conocidas, de taninos y sustancias húmicas de lixiviados, se presenta en la Tabla 10. Se calculó la eficiencia de las columnas en función de la ABS inicial - ABS filtrado, así como por el peso muestra inicial - peso muestra adsorbida (posteriormente eluida, secada y pesada). En dicha Tabla 10 se observa que la eficiencia de las

Tabla 10: Eficiencia de adsorción de las columnas de Amberlite para la materia soluble del estero, los taninos, las sustancias húmicas de lixiviados de hojas de *Laguncularia racemosa* y los ácidos húmicos del estero.

	Absorbancia (290 nm)			Peso (mg)		
	A	Columna X	B	A	Columna X	B
Agua estero						
muestra inicial	0.205	-	0.205	-	-	-
filtrado	0.175	-	0.170	-	-	-
eficiencia de retención (%)	14.6	15.8	17.0	-	-	-
Taninos						
muestra inicial	1.450	-	1.180	100	-	80
filtrado	0.060	-	0.015	5	-	1
eficiencia de retención (%)	95.8	97.2	98.7	95.0	96.8	98.7
Lixiviado 24 hrs						
muestra inicial	36.0	-	36.0	465	-	465
filtrado	10.5	-	10.3	245	-	225
eficiencia de retención (%)	70.8	71.0	71.3	47.3	49.4	51.6
Acidos húmicos						
muestra inicial	0.600	-	0.600	50	-	50
filtrado	0.010	-	0.050	0	-	2
eficiencia de retención (%)	98.3	94.9	91.6	100	98.0	96.0

90-A

columnas para la adsorción de taninos y ácidos húmicos del estero es superior al 91%, ya sea determinada por peso o por ABS. Para las muestras de sustancias húmicas de lixiviados se tiene una eficiencia de adsorción del 71% (promedio de las dos columnas) calculada con la ABS y del 49% (promedio de las dos columnas) calculada en función del peso de la muestra original y el peso de las sustancias adsorbidas en las columnas.

Efecto de la Penicilina Sobre la Biodegradación de Materia Orgánica.

La pérdida de peso y el incremento en el contenido protéico de las hojas de *L. racemosa* en medio mínimo con y sin penicilina se presenta en la Tabla 11, así como en la Figura 48. Se observa que la pérdida de peso en los cultivos, a los 30 días de biodegradación, parece no estar afectada por la presencia inicial de taninos o sustancias húmicas de lixiviados. Esta pérdida varió entre 36.8 y 37.2% del peso inicial para los cultivos sin penicilina, y entre 14.8 y 18.9% del peso inicial para los cultivos con penicilina. El porcentaje del contenido protéico del detritus obtenido al mes varió de 11.9 a 17.2% en los cultivos sin penicilina y de 18.8 a 20.8% en los cultivos con penicilina. La cantidad de proteína en peso para cada muestra, calculada en función del peso residual y su porcentaje de proteína, tuvo una variación de 37.5 a 54.4 mg

Tabla 11: Pérdida de peso e incremento en Proteína, después de 30 días de biodegradación, de los cultivos control, con taninos (50 mg/l), con sustancias húmicas de lixiviados (150 mg/l), con taninos-sustancias húmicas (50-150 mg/l) y con la adición de 400,000 U.I. de penicilina.

	% Pérdida de peso	% Proteína	Proteína (mg)
control	36.82	15.94	50.3
control con penicilina	18.94	20.87	84.5
taninos	36.92	17.27	54.4
taninos con penicilina	18.06	19.75	80.9
lixiviados	37.22	16.63	52.2
lixiviados con penicilina	17.12	20.87	86.4
taninos y lixiviados	36.94	11.92	37.5
taninos y lixiviados con penicilina	14.86	18.81	80.0

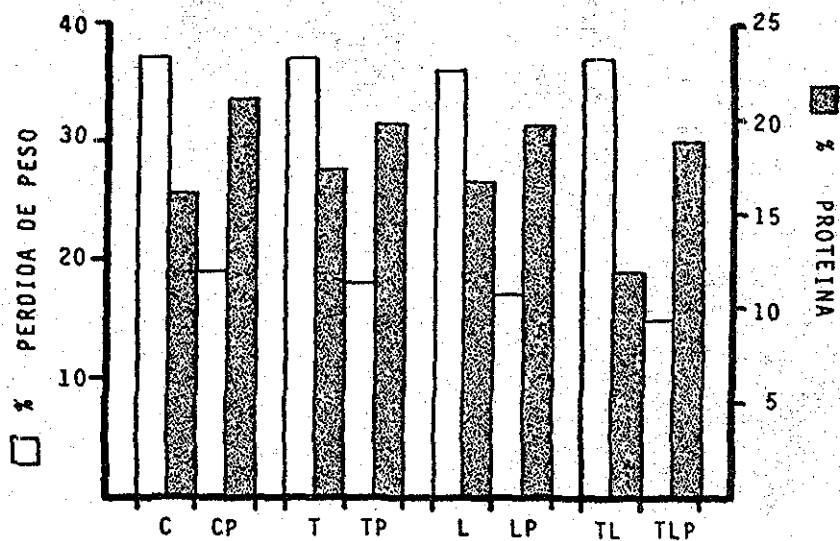


Figura 48: Porcentajes de Pérdida de peso y de Proteína de hojas de *Laguncularia racemosa* biodegradadas en el laboratorio, para cultivos control (C), cultivos adicionados de taninos (T), de sustancias húmicas de lixiviados (L) y de penicilina (P).

para los cultivos control, y de 80.0 a 86.4 mg para los cultivos con penicilina. A través del tiempo se observó un profuso crecimiento de hongos en los cultivos con penicilina, lo que no sucedió en los cultivos control. Se observó además, que al agregar la penicilina a los medios de cultivo, aparecía un precipitado blanquecino en el fondo de los matraces.

Actividad Antibiótica de los Taninos, Sustancias Húmicas de Lixiviados y Ácidos Húmicos del Estero, Sobre Microorganismos Heterótrofos.

Como resultado de este experimento se tuvo que todos los compuestos probados presentaron actividad antibiótica contra el cultivo mixto de microorganismos heterótrofos, procedentes de muestras de agua del estero. La muestra del lixiviado de 24 hrs produjo los halos de inhibición mayores, le siguieron los taninos, los ácidos húmicos del estero y el lixiviado humificado (4 meses).

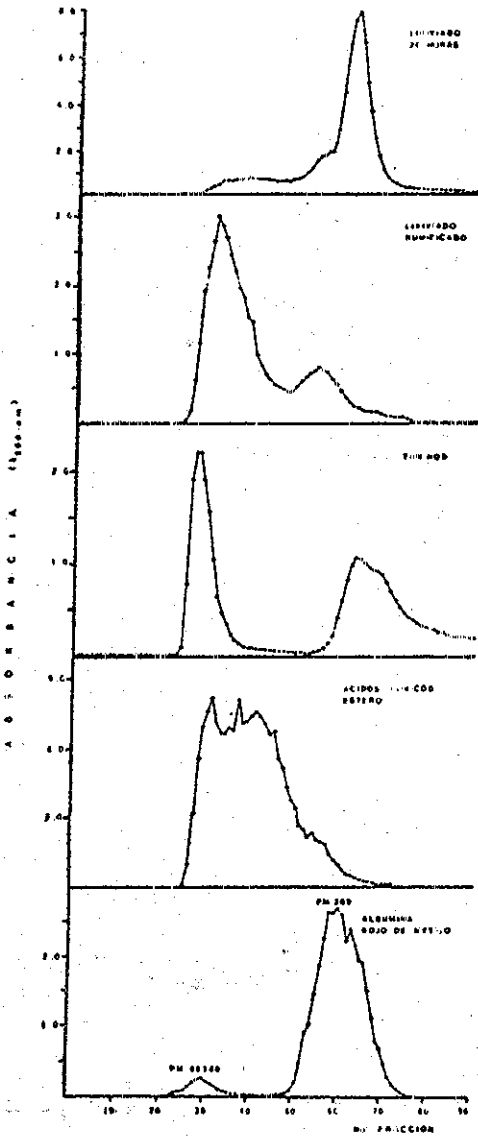
Separación Cromatográfica de Taninos, Lixiviados y Ácidos Húmicos del Estero.

Los cromatogramas de cada una de las muestras procesadas se presentan en la Figura 49. Se observa que para los taninos obtenidos en el laboratorio existen 2 picos, uno en la frac-

ción 27-28 y otro en la fracción 62-64, presentando un hombro discreto en la fracción 68-69. Para la muestra del lixiviado de 24 hrs se presentan 2 picos en las fracciones 32-34 y 61-62, observándose 2 hombros, uno discreto en la fracción 38-39 y uno aparente en la fracción 54-55. Para el lixiviado humificado se observan también 2 picos, uno en la fracción 31-32 y otro en la fracción 54-55, presentándose 2 hombros en las fracciones 38-39 y 67-68.

El cromatograma con picos menos definidos fue el de los ácidos húmicos aislados de agua del estero, en este cromatograma se presentaron 5 picos, el primero de ellos en la fracción 31-32, el segundo en la fracción 37, el tercero en la fracción 41, el cuarto y quinto en las fracciones 45 y 54 respectivamente; se presentaron además 2 hombros, en las fracciones 35 y 56-57. Con el fin de determinar el volumen de exclusión de la columna se corrió en ésta una mezcla de albúmina (PM 68 500) y rojo de metilo (PM 269), y cuyo cromatograma se presenta también en la Figura 49, se observa que el volumen de exclusión de la columna se tiene en la fracción 23, correspondiendo a un volumen de 30.3 ml.

Actividad Antibiótica y Espectro de Absorbancia de las Distintas Fracciones Cromatográficas de Taninos, Lixiviados y Ácidos Húmicos del Estero.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 49: Cromatogramas de soluciones de taninos y lixivias de hojas de *Laguncularia racemosa*, de ácidos húmicos del estero El Verde y de albumina-rojo de metilo.

Los taninos presentaron actividad antibiótica al igual que sus fracciones cromatográficas, siendo mayor el halo de inhibición causado por la fracción 63, de bajo peso molecular (~250) que el causado por la fracción 28 de alto peso molecular (>2,000).

Del lixiviado de 24 hrs, que presentó actividad antibiótica, se probaron 3 fracciones cromatográficas, la 36, la 54 y la 62, de las cuales presentaron actividad antibiótica la primera y la última, siendo éstas de alto (>2,000) y bajo (~250) peso molecular respectivamente. La fracción 54 de peso molecular intermedio (~700) no presentó actividad antibiótica, en las condiciones utilizadas.

Del lixiviado humificado, las fracciones probadas, la 31 (PM>2,000) y la 59 (PM~700), presentaron ambas actividad antibiótica.

Para la muestra de ácidos húmicos del estero se probaron 4 fracciones cromatográficas, la 31, la 37, la 41 y la 54, de las cuales la única que presentó una clara actividad antibiótica fue la fracción 31 (PM>2,000), presentando la fracción 41 (PM entre 2,000 y 250) un tenue halo de inhibición, siendo las dos fracciones restantes no activas en las condiciones utilizadas.

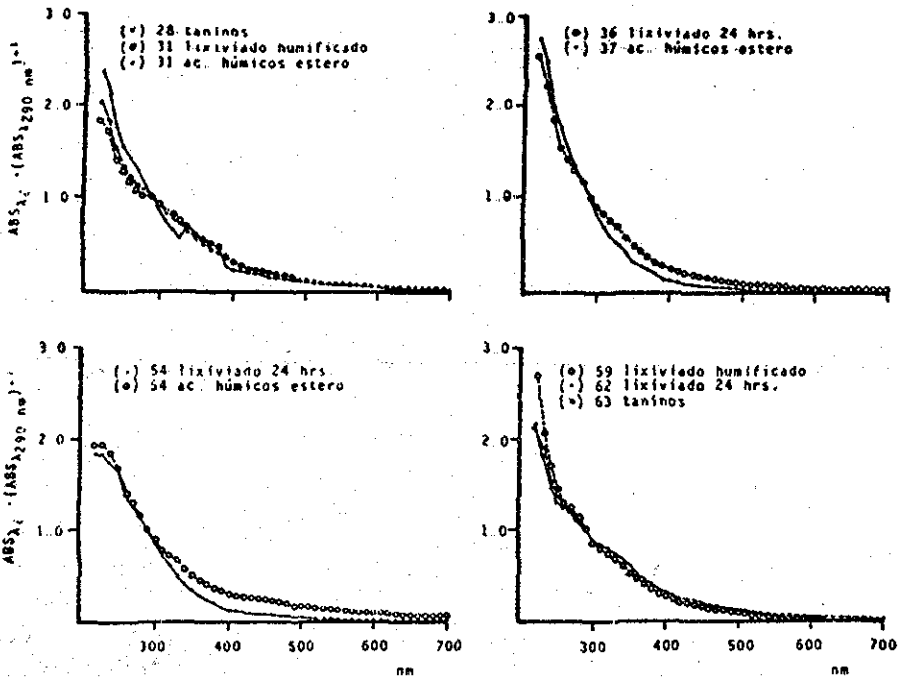


Figura 50: Espectros de Absorbancia normalizados a 290 nm, de las fracciones cromatográficas de taninos y lixivados de hojas de *Laguncularia racemosa*, y de ácidos húmicos del estero El Verde.

94-A

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

Los espectros de absorción de cada una de las fracciones, normalizados a 290 nm, se presentan en la Figura 50.

Efecto de Sustancias Húmicas de Lixiviados Sobre la Biodegradación de la Materia Orgánica.

Los resultados de las variaciones en la ABS, en el peso y en el contenido de proteína de las hojas de mangle, sujetas a diferentes concentraciones iniciales de sustancias húmicas, a través del proceso de biodegradación, se presentan en la Figura 51.

Para las bolsas control con recambio de agua, se observa que el mayor incremento de ABS, debido a la liberación de diversos compuestos de las hojas en proceso de biodegradación, se presentó a los 6 días, para disminuir posteriormente, aumentando de nuevo a los 81 días. Con los resultados obtenidos para este control, se calculó una curva de liberación de sustancias húmicas de las hojas en condiciones de laboratorio. La relación encontrada de la liberación de las sustancias húmicas, en función de la ABS, a través del tiempo fue exponencial, y se presenta en la Figura 52.

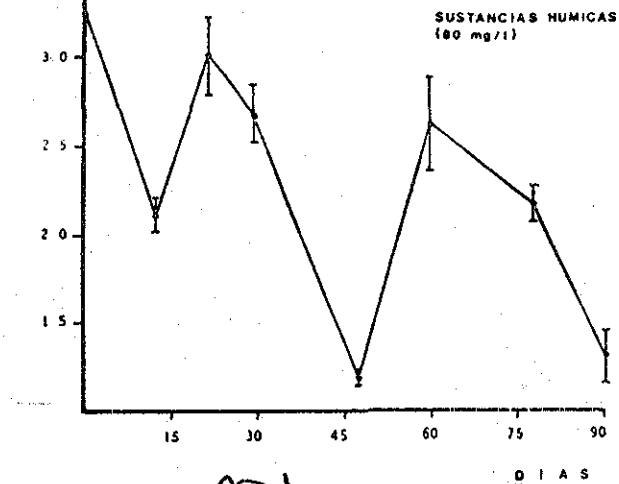
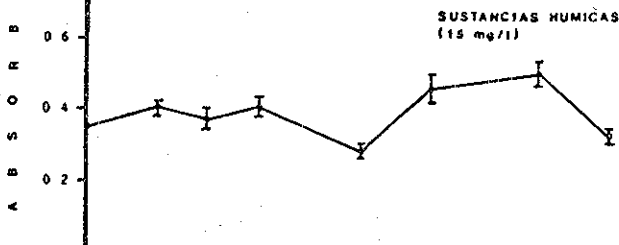
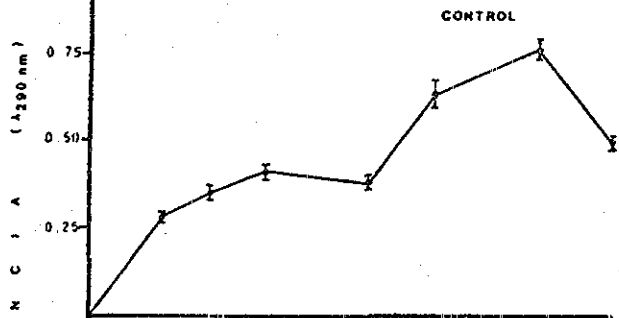
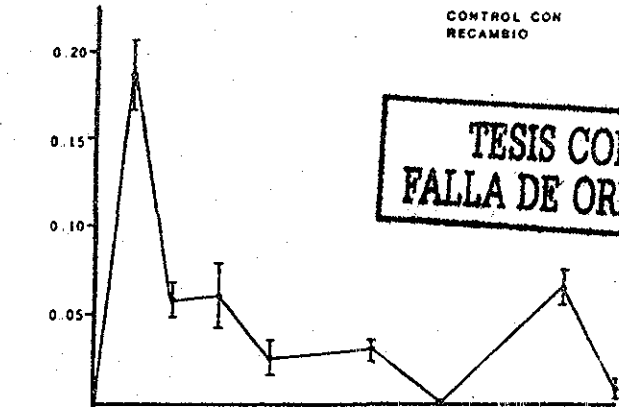
La variación de la ABS en el grupo control sin recambio de agua se presentan también en la Figura 51, en la que se obser

Figura 51: Variación en la Absorbancia del agua al degradarse, en condiciones de laboratorio, hojas de *La guncularia racemosa* con distintas concentraciones iniciales de sustancias húmicas. Se presenta desviación standard.

95-A

CONTROL CON
RECAMBIO

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



95-b

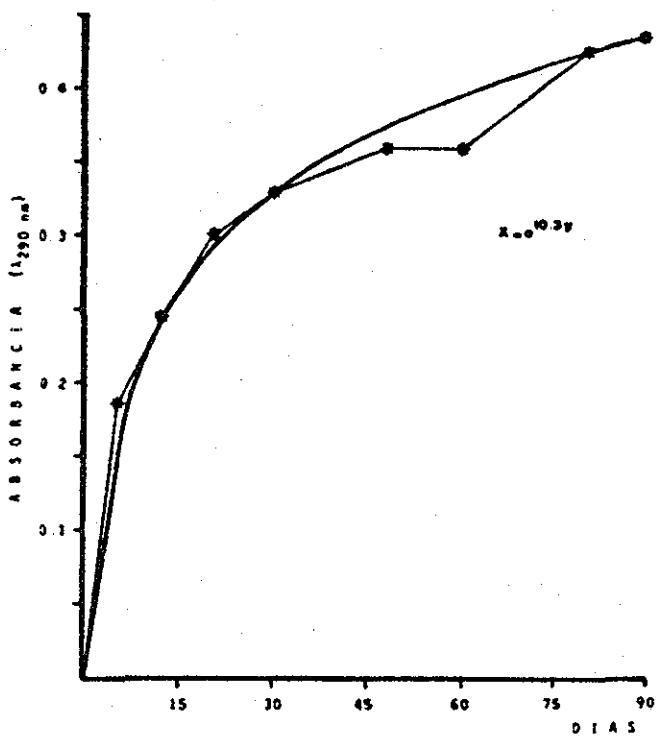


Figura 52: Curva de lixiviación de sustancias húmicas de hojas de *Laguncularia racemosa*.
 (*) valores observados, (—) valores calculados.

va que existe un incremento continuo desde el primer día hasta los 75 días de biodegradación.

Las bolsas con concentración inicial de sustancias húmicas de 15 mg/l presentaron poca variación en la ABS, a través del tiempo, presentándose un ligero incremento a los 78 días.

Para el grupo de bolsas con concentración inicial de sustancias húmicas de 80 mg/l se obtuvo una amplia variación de la ABS, siendo oportuno el indicar que el valor de ABS mayor fue el valor inicial.

Los valores obtenidos respecto a la pérdida de peso del detritus, así como su incremento en el contenido protéico, se presentan en la Figura 53. Para el control con recambio de agua se observa que el decremento del peso inicial a través de los 90 días de biodegradación corresponde al 32.4% en promedio, incrementándose la proteína hasta un 12.1% (Fig. 53).

El control sin recambio de agua llegó a perder el 32.8% en promedio del peso inicial, durante el período de estudio, incrementándose la proteína, de una manera similar al control con recambio, hasta 12.2% (Fig. 53).

Las bolsas con concentración inicial de sustancias húmicas de 15 mg/l perdieron el 26.2% promedio en peso, en los 90 días

de biodegradación, incrementándose su contenido protéico hasta 10.6% (Fig. 53).

Las hojas en las bolsas con una concentración inicial de sustancias húmicas de 80 mg/l perdieron hasta un 25.5% en promedio de peso, e incrementaron su contenido protéico hasta 10.6% (Fig. 53).

Para determinar si la presencia inicial de sustancias húmicas tuvo efecto sobre la degradación de las hojas de mangle, se procedió a realizar un análisis de varianza (Zar, 1974) con los pesos residuales de las muestras de 90 días de biodegradación, un resumen de este análisis se presenta en la Tabla 12. Se encontró que existe diferencia significativa entre los distintos grupos de bolsas, por lo que se prosiguió con el análisis de los resultados, realizando una prueba de Student-Newman-Keuls (Zar, 1974), cuyos resultados se presentan también en la Tabla 12. Como se observa existe diferencia significativa en la degradación de materia orgánica, en condiciones de laboratorio, entre los grupos control y los grupos con una concentración inicial de sustancias húmicas, sin existir diferencia significativa entre los controles, así como entre las bolsas con diferentes concentraciones de sustancias húmicas.

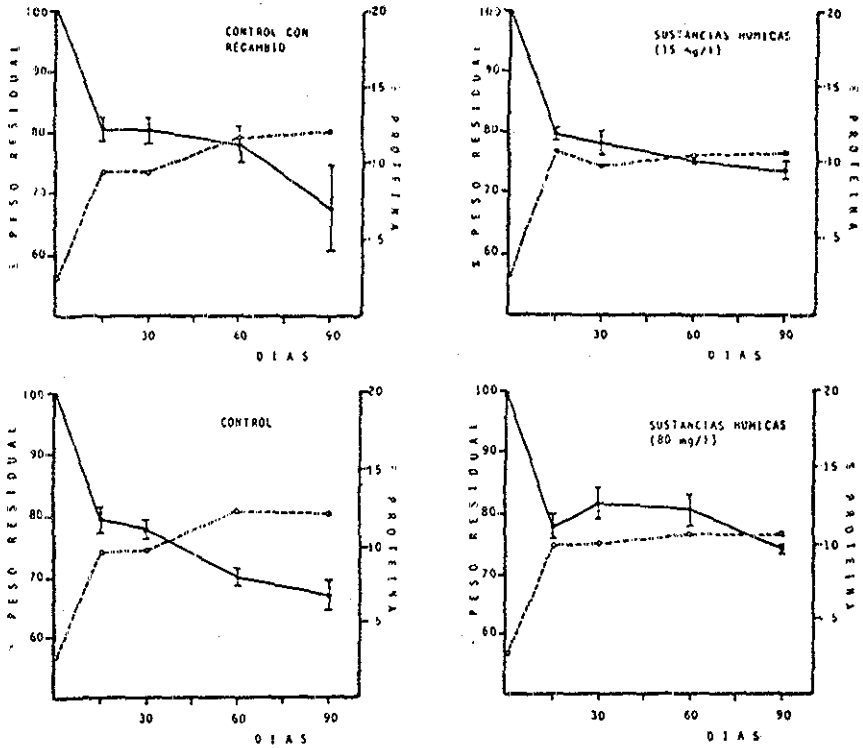


Figura 53: Porcentajes de Peso residual (—) y de incremento de Proteína (---) del detritus de hojas de *Laguncularia racemosa* biodegradado en el laboratorio, con distintas concentraciones iniciales de sustancias húmicas. Se presenta desviación standard.

97-A

TRABAJO CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 12: Resumen del Análisis de Varianza y de la Prueba de Student-Neuman-Keuls, aplicadas a la pérdida de peso del detritus en las bolsas control (μ_1), control con recambio (μ_2), con 15 mg/l de sustancias húmicas (μ_3) y con 80 mg/l de sustancias húmicas (μ_4). Siendo SS = suma de cuadrados, GL = grados de libertad, MS = cuadrados medios, F = distribución F, SE = error standard, $\bar{X}_b - \bar{X}_a$ = diferencia entre medias, q = distribución q, p = número de medias en el intervalo.

Análisis de varianza

Ho: La pérdida de peso entre los diferentes grupos de bolsas es igual.

Ha: La pérdida de peso entre los diferentes grupos de bolsas es diferente.

Fuente de variación	SS	GL	MS
Total	0.0477	19	
Grupos	0.0229	3	0.0076
Error	0.248	16	0.0015

$$F = \frac{0.0076}{0.0015} = 5.06$$

Dado que $F_{0.05(3,16)} = 4.08$, se rechaza Ho.

97-b

Tabla 12: continuación.

Prueba de Student-Neuman-Keuls

Comparación	$(\bar{X}_b - \bar{X}_a)$	ES	q	P	$q_{0.05,16,p}$	
$\mu_4 - \mu_1$	$0.7441 - 0.6715 = 0.0726$	0.0173	4.196	4	4.046	Ha
$\mu_4 - \mu_2$	$0.7441 - 0.6752 = 0.0689$	0.0173	3.982	3	3.649	Ha
$\mu_4 - \mu_3$	$0.7441 - 0.7378 = 0.0063$	0.0173	0.368	2	2.998	Ho
$\mu_3 - \mu_2$	$0.7378 - 0.6752 = 0.0626$	0.0173	3.614	2	2.998	Ha
$\mu_3 - \mu_1$	$0.7378 - 0.6715 = 0.0663$	0.0173	3.827	3	3.649	Ha
$\mu_2 - \mu_1$	$0.6752 - 0.6715 = 0.0037$	0.0173	0.213	2	2.998	Ho

Conclusión: $\mu_1 = \mu_2 \neq \mu_3 = \mu_4$

Los controles son iguales entre sí y diferentes a las muestras con sustancias húmicas, que a su vez son iguales entre sí.

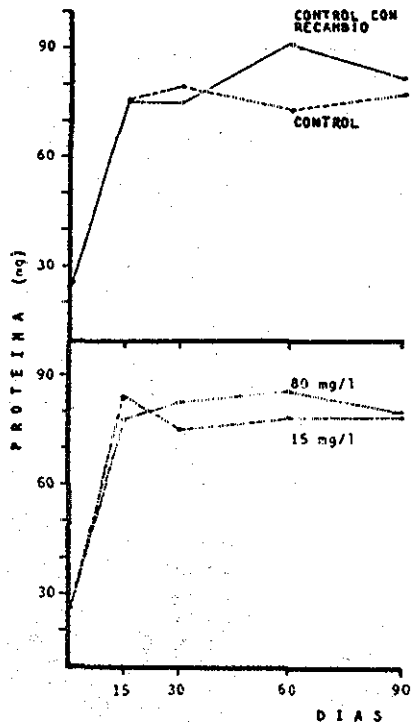
Con los resultados de pérdida de peso a través del tiempo, se realizaron regresiones lineales y exponenciales, las que se presentan en la Tabla 13, observándose que en general las ecuaciones exponenciales se ajustan mejor a los resultados obtenidos, siendo el coeficiente de degradación K, mayor en el control sin recambio, seguido por los coeficientes del control con recambio, de concentración de 15 mg/l de sustancias húmicas y finalmente el de concentración de 80 mg/l de sustancias húmicas. Sabiendo que existe diferencia significativa entre los grupos de bolsas control y los grupos de bolsas con sustancias húmicas, y considerando al coeficiente de degradación K del control sin recambio como el 100%, se tiene que el control con recambio posee un coeficiente de degradación 8.7% menor que el control sin recambio, y los coeficientes de los grupos con 15 y 80 mg/l de sustancias húmicas son 31 y 42% menores, respectivamente, que el control sin recambio.

Se calculó en base a los porcentajes de pérdida de peso y de incremento de proteína la cantidad real de proteína en mg para el detritus de los diferentes grupos de bolsas, presentándose los resultados en la Figura 54.

Se realizaron regresiones lineales con los resultados obtenidos de los diversos parámetros de aquellas que fueron significativas, se presentan las curvas obtenidas en la Figura

Tabla 13: Regresiones lineales y exponenciales de la pérdida de peso de hojas de *Laguncularia racemosa*, a través del tiempo, para bolsas control, control con recambio de agua, con 15 y 80 mg/l de sustancias húmicas. Siendo y = peso en gramos, t = tiempo en meses, r = coeficiente de correlación, α = confiabilidad y K = constante de degradación exponencial en años⁻¹.

	Regresión lineal	Regresión exponencial	K (año ⁻¹)
control	$y = -0.12t + 0.93$ $r = -0.86$ $\alpha < 0.001$	$y = 0.90 e^{-0.11t}$ $r = -0.88$ $\alpha < 0.001$	1.39
control con recambio	$y = -0.60t + 0.91$ $r = -0.65$ $\alpha < 0.001$	$y = 0.92 e^{-0.10t}$ $r = -0.82$ $\alpha < 0.001$	1.27
sust. húmi cas 15 mg/l	$y = -0.90t + 0.92$ $r = -0.78$ $\alpha < 0.001$	$y = 0.89 e^{-0.07t}$ $r = -0.77$ $\alpha < 0.001$	0.97
sust. húmi cas 80 mg/l	$y = -0.06t + 0.91$ $r = -0.59$ $\alpha < 0.001$	$y = 0.90 e^{-0.06t}$ $r = -0.70$ $\alpha < 0.001$	0.82

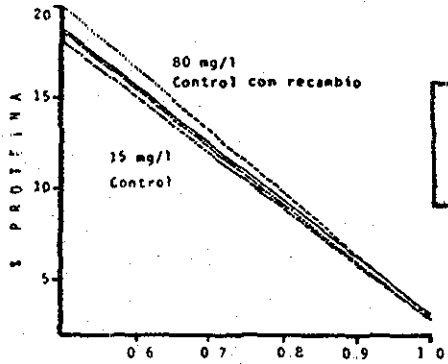
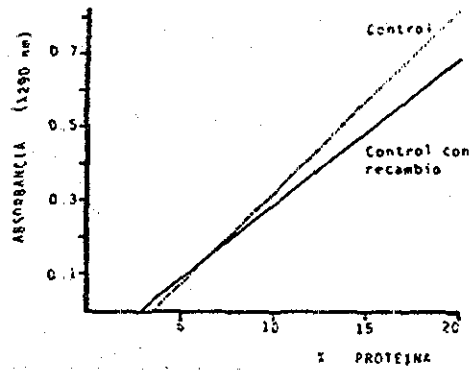
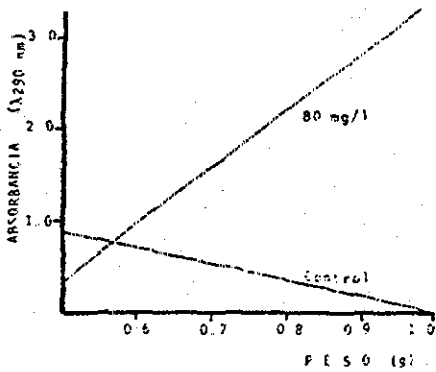


TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 54: Variación en la cantidad absoluta de Proteína del detritus residual, biodegradado en condiciones de laboratorio, con distintas concentraciones iniciales de sustancias húmicas obtenidas de lixiviados de hojas de *laguncularia racemosa*.

55. Se observa que existe una correlación directa entre el contenido proteico y el tiempo para ambos controles. Se presenta también una correlación significativa para la variación entre el peso y la ABS, siendo para el control sin recambio una correlación inversa y para el grupo con 80-mg/l de sustancias húmicas una correlación directa. Las correlaciones de variación en el peso e incremento de proteína fueron inversas para todas las muestras. La correlación entre el contenido proteico y la ABS fue directa, obteniéndose solamente para los controles.

La pérdida de peso a través del tiempo dió una correlación directa en todos los casos, observándose que los controles tienen mayor pendiente que los grupos de bolsas con sustancias húmicas.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

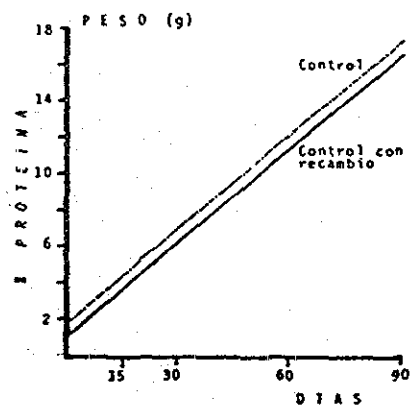
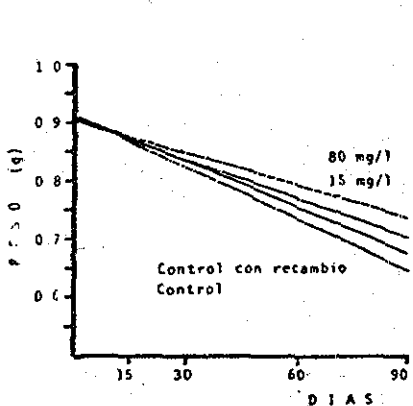


Figura 55: Relaciones lineales entre los parámetros medidos durante la biodegradación de hojas de *Laguncularia racemosa*, en condiciones de laboratorio, para cultivos control y cultivos con concentraciones iniciales (15 y 80 mg/l) de sustancias húmicas de lixiviados de hojas de *Laguncularia racemosa*.

DISCUSION

La discusión de los resultados obtenidos durante el desarrollo de este trabajo se ha dividido en las siguientes partes:

- 1) Variación anual de los parámetros ambientales en el estero.
- 2) Exportación de materia orgánica del estero hacia la zona costera adyacente.
- 3) Biodegradación del detritus.
- 4) Influencia de las sustancias húmicas sobre la biodegradación del detritus.

Variación Anual de los Parámetros Ambientales en el Estero.

En una laguna costera con las características del estero El Verde (situada en una región cálida-subhúmeda, con una corriente litoral que mantiene la boca de la laguna cerrada la mayor parte del año, con aporte de agua dulce por lluvias y escurrimientos locales y con la afluencia del río a mediados del verano) se considera que los fenómenos que causan cambios drásticos en los parámetros ambientales son: la afluencia del río, la insolación y la apertura de la boca (Mee, 1977).

Salinidad

La S puede variar debido a los aportes de agua dulce, a los aportes de agua de mar y a la evaporación. En el estero debido a que el aporte de agua dulce es estacional, los cambios en la S que se presentan fuera de la época de lluvias, se deben principalmente a la evaporación y a la apertura artificial de la boca.

Para el período de muestreo de este trabajo (Fig. 2) el pequeño cambio de S de febrero a junio de 1982 se debió a la evaporación, valor que disminuyó en julio por precipitación local, llegando a un mínimo en agosto con la afluencia del río. Al abrirse la boca se exportó gran cantidad de agua dulce hacia el mar, presentándose flujos de marea que aunados a la disminución en el aporte del río, produjeron un aumento gradual en la S hasta que la boca se cerró. El incremento de S de octubre de 1982 a enero de 1983 se debió a las aperturas ocasionales de la boca, realizadas por pescadores de la zona, cerrándose la boca en pocas horas por efecto de la corriente litoral. La S disminuyó posteriormente por efecto de lluvias extemporáneas volviéndose a elevar por la apertura artificial de la boca.

La S en las distintas estaciones de muestreo no varió significativamente (Fig. 2) debido al pequeño tamaño del estero,

así como a que recibe agua dulce tanto por la desembocadura del río, como de las marismas en los extremos del estero. No se encontró un gradiente salino de la boca hacia el final del estero (Tabla 1). A través del año no se detectaron valores altos de S en ninguna de las estaciones, lo que indica que el estero no es hipersalino como algunas otras lagunas costeras, con aporte de agua estacional, del litoral Pacífico de México (Phleger y Ayala-Castañares, 1972; Yáñez-Arancibia, 1978; Mee, 1978).

Temperatura

La variación de la T en el estero se rige de acuerdo a la variación climática de la zona, teniendo valores máximos en el verano y mínimos en el invierno. Se observa en agosto de 1982 (Fig. 3) una disminución en la T del agua, lo cual no concuerda con el patrón de variación climática para la zona de estudio, y ésta se debe a la afluencia del río con agua de menor T que la del estero, procedente de las montañas, así como a lluvias locales.

Al igual que para la S no se encontró diferencia significativa de la T entre las estaciones de muestreo, a excepción de la Estación 4, la que presentó consistentemente una T

mayor (Fig. 3), que el resto de las estaciones, sin importar la época del año. Esto se debió a la someridad de la estación, así como a la insolación.

Oxígeno Disuelto

La variación de OD en una laguna costera está influenciada principalmente por la productividad primaria, la respiración y la oxidación de compuestos orgánicos. El OD en el agua del estero no presentó a través del tiempo, grandes variaciones, a excepción de un mínimo en agosto de 1982 y un máximo en enero de 1983 (Fig. 4). El mínimo que se presentó se debió a una serie de factores combinados que son: el aporte de materia orgánica, susceptible a oxidación, por parte del río y las marismas; la resuspensión de sedimentos reducidos del estero y marismas, por la afluencia del río; la inhibición de la productividad primaria del fitoplancton por una gran concentración de sustancias húmicas en el estero (Prakash y MacGregor, 1983) y por incremento en la turbidez al aumentar la concentración de STS, que impiden el paso de la luz (Postma, 1967); el aumento en la concentración de MH en la columna de agua (Fig. 5) incrementando la respiración del sistema (Odum y de la Cruz, 1967; Palumbo y Ferguson, 1978); y finalmente la presencia de compuestos orgánicos (solubles y particulados) autóctonos potencialmente oxidables.

El valor máximo detectado se debió a un incremento en la productividad primaria en el estero (Flores-Verdugo, com. pers.), lo que ocasionó una sobresaturación de OD durante las horas de muestreo.

La Estación 4 presentó en todos los muestreos una concentración de OD mayor que en las demás estaciones (Fig. 4), debido a la presencia de *Ruppia* sp., y a que la hora de muestreo siempre fue a mediodía.

Microorganismos Heterótrofos

Es conocido que los MH, principalmente hongos y bacterias, son importantes componentes de las comunidades lagunares, debido a la multiplicidad de sus efectos sobre la materia orgánica, y su persistencia a través del tiempo (De la Lanza, 1981).

La mineralización de la materia orgánica y la transformación de compuestos orgánicos de difícil degradación, a formas asimilables (biomasa microbiana) para otros organismos (Palumbo y Ferguson, 1978), son quizás las actividades más importantes de los MH. La mineralización del detritus a través de los procesos metabólicos de los MH, pone a disposición de los productores primarios nutrientes esenciales

para la síntesis de materia orgánica. Esta mineralización se puede considerar como la oxidación del carbono de sustratos orgánicos a óxidos de carbono, por lo que la respiración es un índice de ésta (Wright, 1974). El conocer la concentración de los MH de un cuerpo de agua permite conocer el potencial heterotrófico del mismo, así como evaluar su biomasa como fuente potencial de alimento para consumidores primarios. Los MH son importantes incluso para consumidores de segundo y tercer orden, puesto que sintetizan ciertos nutrientes esenciales para éstos, p. ej. vitaminas (Palumbo y Ferguson, 1978).

Entre los factores que afectan la distribución y concentración de los MH se tiene a la S, el OD, la T, el pH, la concentración de STS y MOP, además la afluencia del río y las mareas (Wood, 1967; Stevenson *et al.*, 1974; Zobell, 1974; Baillie y Welsh, 1980).

Las concentraciones de MH en el estero El Verde variaron durante el periodo de estudio de 5.88×10^2 a 6.40×10^6 MH/ml (Fig. 5), siendo estos valores extremos similares a los obtenidos en otras lagunas costeras y estuarios de 2.00×10^3 a 5.20×10^7 MH/ml (Hood, 1970 *vide* Day *et al.*, 1973; Stevenson *et al.*, 1974; Palumbo y Ferguson, 1978). Dichos valores son mayores por dos órdenes de magnitud a los reportados para aguas costeras de 6.30×10^4 MH/ml (Ezura *et al.*,

1974). Teniendo en el estero El Verde, concentraciones de MH viables, similares a las de otros sistemas lagunares, se puede considerar que la mineralización en el estero, estimada como respiración, debe de representar entre el 38 y 63% de la respiración total del sistema, según lo reportado por Day y colaboradores (1973), lo que indica la importancia en lagunas costeras de la actividad microheterotrófica.

En el presente estudio no se pudo determinar por medio de simples regresiones lineales la relación entre la concentración de MH y los parámetros medidos, lo cual se debe posiblemente a que los MH se encuentran afectados por la interacción de varios parámetros a la vez. Es conocido que el efecto causado por la S es dependiente de la T (Atlas y Bartha, 1981), y que un aumento en T incrementa la actividad microbiana (Salle, 1974; Rose, 1977). Además en ambientes lagunares-estuarinos se han determinado concentraciones mayores de MH en agua salobre (3-10 o/oo) que en agua dulce o marina (Palumbo y Ferguson, 1978), así como aumentos en las poblaciones microbianas con incremento de T en el agua y sedimentos (Day *et al.*, 1973). Dicho lo anterior es evidente que los valores mínimos que se presentan a través del tiempo (Fig. 5) se deben en parte a una S mayor de 10 o/oo y a una T baja.

Se sabe que el lavado de marismas y zonas de inundación realizado por las mareas, incrementa la concentración de MH en las aguas de estuarios y lagunas costeras (Stevenson *et al.*, 1974; Baillie y Welsh, 1980), por lo que el aumento de junio-julio de 1982 en la concentración de MH en el estero, se debió además del incremento en la T y la baja en la S, al lavado de las marismas y tierras aledañas al estero, no por las mareas, puesto que la boca en dicha fecha aún se encontraba cerrada, sino por las lluvias y escurrimientos locales.

Respecto a la concentración promedio de los MH en las diferentes estaciones (Fig. 11) se observa que las concentraciones son altas 1.61×10^5 - 6.57×10^5 MH/ml y la variación entre las estaciones es mínima, lo que indica una alta actividad microheterotrófica (Mantoura, 1981) y una gran cantidad de energía (biomasa microbiana) disponible para consumidores de niveles tróficos superiores (Atlas y Bartha, 1981).

Sólidos Totales Suspendidos

Los sólidos suspendidos en una laguna costera están constituidos por una fracción orgánica y una inorgánica. La fracción orgánica se encuentra integrada principalmente por detritus (fracción muerta) y plancton (fracción viva), y la inorgánica por sedimentos y precipitados (Wood, 1967).

La procedencia del material suspendido en una laguna puede ser de varias fuentes como son: sedimentos y detritus de origen continental acarreado por ríos y escurrimientos; formación de precipitados de material soluble y agregados orgánicos (Rashid, 1971; Rashid y Prakash, 1972), por cambios en la fuerza iónica del medio al variar la S (Postma, 1967); plancton autóctono; resuspensión de sedimentos y detritus de la laguna por el río, el viento, escurrimientos locales o corrientes de marea (Odum y de la Cruz, 1967; Baillie y Welsh, 1980).

La proporción en las lagunas costeras, de cada una de las fracciones que conforman a los STS dependerá de la disponibilidad de las fracciones, así como de los mecanismos relacionados con su presencia. Dicho esto se entiende que los valores mínimos de los STS en el estero durante los meses de abril y mayo de 1982 (Fig. 6), se deben a que no existió aporte de STS por parte del río o escurrimientos y lluvias locales, así como tampoco un florecimiento fitoplanctónico, ni resuspensión de sedimentos por corrientes de marea, dado que la boca se encontraba cerrada. Posiblemente los STS presentes en dicha época se deben al aporte de detritus por parte de la vegetación bordeante y sumergida, así como por la resuspensión debida al viento, de sedimentos en zonas someras de la laguna, y a la formación de precipitados por incremento en la S, debido a la evaporación.

El valor máximo que se presenta en julio-agosto de 1982 se debe principalmente a: i) la afluencia del río con su carga; ii) la resuspensión de sedimentos del estero; iii) la formación de agregados orgánicos, y iv) la remoción de gran cantidad de sólidos de las marismas y áreas aledañas por lluvias y escurrimientos. Posteriormente en agosto-octubre la concentración de STS se mantiene más o menos constante, debido a que las corrientes de marea mantienen en suspensión gran cantidad de sedimentos, provenientes tanto de los canales como de las zonas de inundación, así como por la formación de precipitados por la mezcla de agua dulce-agua de mar (Sholkovitz *et al.*, 1978). El aumento que se presenta en enero de 1983 se debe principalmente al acarreo de STS por lluvias y escurrimientos extemporáneos, así como por un incremento en la productividad primaria del estero (Flores-Verdugo, *com. pers.*).

La concentración promedio de los STS a través del período de estudio para cada una de las estaciones de muestreo (Fig. 11) varió de 35.4 a 49.6 mg/l, que son valores similares a los obtenidos por Cruz-Orozco (1971 *vide Day et al.*, 1973) de 35 a 42 mg/l en pequeñas lagunas costeras con comunicación a la Bahía de Barataria, Luisiana.

Materia Orgánica Particulada

La MOP junto con la MOS conforman, según la definición de Darnell (1967), el detritus, el cual tiene importancia primordial en algunas lagunas costeras y estuarios, dado que la trama trófica de éstos se apoya principalmente en el detritus, que es la base energética de donde se parte para la iniciación de las cadenas tróficas (Teal, 1962; Odum y de la Cruz, 1967; Heald, 1969; Fenchel, 1970; entre otros).

En general, en la mayoría de los trabajos realizados sobre detritus no se toma en cuenta, por razones técnicas, la fracción orgánica soluble, por lo que en éstos se ha considerado como detritus solamente a la materia orgánica particulada.

El detritus particulado generalmente tiene como parte integral del mismo a microorganismos, bacterias y hongos, lo que ocasiona que se sobrestime la MOP (Day *et al.*, 1973).

En el presente estudio dadas las técnicas utilizadas se incluyeron como MOP a los MH adheridos a las partículas de detritus, lo que se considera como una medida realista, puesto que indica el verdadero potencial alimenticio del detritus, esto es sabiendo que lo que asimilan del detritus los organismos detritívoros, es la microbiota asociada, pues excretan los restos de detritus libres de microorganismos, lo

que ocasiona que las partículas fecales sean colonizadas nuevamente, reiniciándose el ciclo de degradación de la materia orgánica (Newell, 1965; Fenchel, 1970; Nishihira, 1983).

La variación de MOP a través del tiempo en el estero (Fig. 7) sigue un patrón similar al de los STS, presentándose un incremento de abril a agosto de 1982 debido a un incremento en la defoliación de los mangles en los meses de mayo, junio y julio (Flores-Verdugo, 1981), aportándose gran cantidad de materia orgánica al estero, lo que concuerda con otros trabajos en donde se dice que los manglares aportan hasta el 50% de su defoliación a las lagunas costeras adyacentes (Heald, 1969; Mann, 1972).

La variación de la MOP en cada una de las estaciones (Fig. 7) indica que el principal aporte de MOP al estero proviene de las marismas y áreas de inundación, que vierten sus aguas hacia las Estaciones 1, 2 y 3, siendo menor la variación y la concentración en las Estaciones 4, 5 y 6. En la Estación 4 se entiende este patrón de variación debido a que es una zona de baja energía (campo de *Ruppia* sp.), en donde se permite la sedimentación de partículas pequeñas. Cabe resaltar que los valores de concentración de MOP y la variación en el tiempo en la Estación 6 (influencia directa del río) son bajos en comparación con las Estaciones 1, 2, 3 y 5, más sin embargo los STS (Fig. 6) son mayores en dicha estación, que en las demás.

Aunque no existió diferencia significativa entre los valores de MOP para la Estación 1 y la Estación 6 (Tabla 1), se observa que existe una tendencia a la formación de un gradiente del final del canal Sur del estero hacia la boca (Fig. 11), de acuerdo a lo observado en otros lugares (Happ *et al.*, 1977).

Dadas las características del estero El Verde, así como por la alta concentración de MOP y turbidez (debida a los STS y la MOS), se considera que en el estero domina la cadena trófica del detritus, siguiendo lo sugerido por Odum y colaboradores (1982).

Absorbancia

La ABS del agua de mar, lagunas costeras, ríos y lagos, se debe al contenido de sustancias orgánicas e inorgánicas disueltas en ella, y se ha utilizado dicha ABS como una medida relativa del contenido de MOS (Mattson *et al.*, 1974; Palumbo y Ferguson, 1978).

La MOS presente en los diferentes cuerpos de agua está constituida por compuestos químicamente polidispersos, macromoleculares, con características ácido-solubles (Mantoura, 1981), considerándose que entre el 60 y 80% de estos com-

compuestos son sustancias húmicas, las que poseen gran ABS en el ultravioleta (Hergert, 1960; Somers y Harrison, 1967; Feeny y Bostock, 1968; Gardner y Landrum, 1983; Plechanov *et al.*, 1983; Prakash y MacGregor, 1983).

La MOS al igual que la MOP es de suma importancia en el medio ambiente lagunar-estuarino, pues además de que representa una fuente potencial de energía, por ser parte del detritus, posee compuestos con actividad biológica, entre ellos los ácidos húmicos y los taninos (Rice, 1965; Sieburth y Conover, 1965; Somers y Harrison, 1967; Benoit y Starkey, 1968; Lewis y Starkey, 1968; Prakash y Rashid, 1968; Rice y Pancholy, 1972; Prakash *et al.*, 1973; Bohlool *et al.*, 1977; Sedláček *et al.*, 1983).

Las fuentes principales de procedencia de la MOS en las lagunas costeras son las mismas que para la MOP, manglares, marismas y fitoplancton, siendo importantes también las excreciones de organismos consumidores.

La variación de la ABS a través del tiempo en el estero (Fig. 8) presenta dos máximos, uno en agosto de 1982 y otro en enero de 1983. El primero de ellos se debió básicamente a 3 fenómenos: i) a un incremento en la tasa de defoliación de los mangles de mayo a julio (Flores-Verdugo, 1981), lixiviándose de las hojas gran cantidad de MOS; ii) a la influencia del río, que acarrea gran cantidad de MOS y otros

compuestos disueltos, procedentes de la cuenca hidrográfica; y iii) al lavado por lluvias y escurrimientos locales, de las zonas de inundación y marismas cercanas al estero, las que son ricas en sustancias húmicas (Christman y Gjessing, 1983). El segundo máximo de ABS se debió a las lluvias y escurrimientos extemporáneos, siendo menor su valor debido a que durante la época de lluvias se lavaron los suelos y no se permitió, con las lluvias extemporáneas, la acumulación de materiales solubles en las zonas que aportan materia orgánica al estero.

Respecto a la ABS promedio por estación, ésta sí presentó una diferencia significativa entre la Estación 1, al final del estero, y la Estación 6, cercana a la boca (Tabla 1), y si se considera a la ABS como un índice de la concentración de MOS, se tiene que se presenta un gradiente de concentración del final del estero hacia la boca (Fig. 11), lo que concuerda con lo indicado para otros sistemas costeros (Happ *et al.*, 1971).

Se puede pensar que el usar la ABS como una medida relativa de la concentración de la MOS, no indica realmente las variaciones de ésta en el medio ambiente, pues existen compuestos inorgánicos que absorben en el ultravioleta, y tal es el caso de los nitratos.

Se sabe que en el estero El Verde el principal aportador de nitratos es el río (Galindo, 1981), lo que implica que el aumento en MOS considerado en este trabajo, por el incremento en ABS, puede deberse a un incremento en la concentración de nitratos y no a compuestos orgánicos solubles. Si se observa la Figura 8, en la que se presenta la ABS a través del tiempo para cada una de las estaciones, se tiene que el incremento en ABS en la Estación 6, influenciada directamente por el río, es muy inferior al incremento de ABS en las demás estaciones de muestreo a las cuales son acarreadas grandes cantidades de materia orgánica. Se presenta también en dicha figura un incremento en la ABS en enero-febrero de 1983, que se debió no a la afluencia del río, sino a lluvias extemporáneas, es de notarse que en la única estación en la que no se presentó un incremento sustancial en la ABS fue la Estación 6, lo que sugiere que el incremento en ABS se debió no al incremento en la concentración de nitratos, sino por el incremento en la concentración de MOS, aportada por el lavado de zonas de inundación y marismas.

Cabe la posibilidad de que al ser inundadas dichas zonas, éstas aporten nitratos al estero e incrementen la ABS, pero se ha determinado en el estero que cuando llega el río, el incremento en nitratos cerca de la boca (Estación 6) es de 4.3 veces más que el incremento al final del canal Sur del estero (Estación 1) (Galindo, 1981), y comparando los va-

lores de ABS, obtenidos en agosto de 1982, entre la Estación 1 y la 6, la ABS de la Estación 1 es 4.1 veces más que la ABS de la Estación 6, indicando que el incremento en ABS se debe a MOS y no a nitratos.

Otro punto que indica que la estimación de la MOS en base a la ABS es adecuada, es la relación MOS:MOP. Se sabe que esta relación varía dependiendo del lugar, se considera que en lagos continentales es de 10:1 (Paerl, 1973), en el océano es menor de 5:1 y desde 1:1 hasta mayores de 10:1 en estuarios y lagunas costeras (Margalef, 1977). Para el estero El Verde la relación promedio de las estaciones, para el período de muestreo fue de 5.4 (± 2.2):1, siendo similar a la obtenida por Happ y colaboradores (1977) de 5.7:1 en un estuario de Luisiana.

Esta relación varió a través del año, observándose que la relación se incrementa de la época de secas a la época de lluvias, hasta antes de que se abra la boca, y cuando ésta se abre disminuye paulatinamente la relación. Este comportamiento es debido a la baja energía del estero cuando la boca se encuentra cerrada (no hay oleaje, ni mareas, ni corrientes), lo que permite que la MOP se degrade, liberándose en el proceso MOS, por lo que se aumenta la relación hasta antes de que dicha materia orgánica sea exportada del estero hacia la zona costera adyacente.

Dicho lo anterior se considera que a la longitud de onda utilizada, 290 nm, los nitratos no interfieren en la estimación de MOS, y que si bien la ABS no da valores exactos de la concentración de MOS, con ella se pueden estimar concentraciones aproximadas, permitiendo observar variaciones de la MOS a través del tiempo.

Se estimó la variación promedio mensual de la MOS en el estero en base a la ABS (Fig. 9), por medio de la curva patrón de MOS vs. ABS (Fig. 12), estimándose también el valor promedio de MOS por estación (Fig. 11).

Los valores estimados de concentración de MOS a partir de la ABS, son comparables a los obtenidos en otras lagunas costeras del litoral Pacífico de México, en las que se determinó la concentración de MOS del agua de las lagunas por adsorción en resinas (Amberlite). En los meses de noviembre y diciembre (época de secas) se tiene en promedio para las lagunas de Apozahualco, Chautengo, Mitla y Tecomate, estado de Guerrero, una variación de ácidos húmicos de 2.59 a 7.15 mg/l (González-Villaseñor, 1977), variación que se compara con los valores estimados de MOS para la época de secas del estero, de febrero a mayo de 1982, de 0.83 a 7.50 mg/l (Fig. 9), considerando que las sustancias húmicas son más del 80% de la MOS (Plechanov *et al.*, 1983; Prakash y MacGregor, 1983).

Para la laguna de Chautengo se tiene un incremento de MOS de diciembre a junio, o sea de la época de secas a la época de lluvias, siendo la variación de 6.98 a 17.91 mg/l (González-Villaseñor, 1977), que son valores comparables con los estimados de 5.92 a 19.81 mg/l de febrero a junio de 1982 (Fig. 9) para el estero El Verde.

Cabe decir que los valores estimados, en base a la ABS, posteriores a junio de 1982, son muy altos, hasta de 165.9 mg/l (Fig. 9). Esta concentración no se ha reportado para ningún sitio debido quizás a que los estudios sobre MOS han sido realizados en el océano, en estuarios y en lagunas costeras con boca permanente, lo que ocasiona la dilución de la MOS. Se considera que la alta concentración de MOS estimada se debe a que el estero El Verde, al ser una laguna de boca efímera, funciona como una poza de concentración hasta antes de que la boca se abra, lo que ocasiona que la concentración de MOS sea muy alta.

Esta alta concentración de compuestos orgánicos debe de tener repercusiones ecológicas en el estero, sobretodo considerando que un gran porcentaje de ellos son sustancias con actividad biológica.

Exportación de Materia Orgánica del Estero Hacia la Zona Costera Adyacente.

Ya se ha mencionado que la importancia de la exportación (outwelling) de materia orgánica de lagunas costeras y estuarios hacia las zonas costeras adyacentes, radica en el aumento de la productividad de dichas zonas debido en parte a la exportación de nutrientes y detritus soluble, los que promueven el crecimiento de productores primarios (Prakash y Rashid, 1968), así como por la exportación de detritus particulado el cual es fuente alimenticia para un gran número de organismos marinos (Newell, 1965; Odum, 1970; Lenz, 1977).

La mayoría de los estudios de exportación de materia orgánica se han realizado en lagunas costeras y estuarios con comunicación permanente con el mar, en donde la exportación se encuentra regulada por el flujo del río, las lluvias locales y las mareas (Odum y de la Cruz, 1967; Happ *et al.*, 1977; Baillie y Welsh, 1980; entre otros).

En lagunas de boca efímera como el estero El Verde, la exportación está condicionada totalmente a la apertura de la boca, y cuando ésta se abre regula la exportación en primera instancia la presión hidrostática, generada por la diferencia de nivel entre el estero y el mar, según lo in-

dicado por Flores-Verdugo (1981), y posteriormente el flujo del río, las lluvias y escurrimientos locales y las mareas.

La súbita exportación de grandes volúmenes de agua dulce y materia por parte del estero hacia la zona costera adyacente, afecta las condiciones ambientales de dicha zona, siendo los cambios más palpables la disminución de la S y de la concentración de OD, así como un gran aumento en la turbidez y la ABS.

El área de influencia de la descarga del estero puede cubrir una gran franja litoral, puesto que la dilución y distribución de la descarga se efectúa por medio de la corriente litoral y las corrientes de rip. En la época del año en la cual la boca del estero se abre (agosto, septiembre, octubre) la corriente litoral tiene dirección norte (Poli, 1983), que es hacia donde se tendrá un gradiente de concentración del material exportado.

Resulta evidente desde el punto de vista ecológico que la exportación de materia orgánica de una laguna con boca permanente afectará a las comunidades marinas de forma distinta que la exportación de materia orgánica de una laguna de boca efímera. Si bien en las lagunas con boca permanente existen fluctuaciones en la cantidad de materia orgánica exportada, estas fluctuaciones se convierten en un fuerte

pulso de exportación en las lagunas de boca efímera, el cual se debe a la acumulación durante casi un año de materia orgánica, la que se exporta en gran parte, desde el momento de la apertura de la boca hasta que el nivel del estero se iguala con el del mar.

Dicha acumulación de materia orgánica, en sistemas de boca efímera, ocasiona que el volumen de agua exportado posea una concentración de materia orgánica mayor, que el volumen exportado de sistemas con boca permanente, sobretodo en los primeros días de apertura de la boca.

Al calcular las concentraciones de MOS y MOP de los volúmenes de agua exportados durante los tres muestreos de 24 hrs (Tabla 8), se tiene que las concentraciones correspondientes son 47.8, 41.0 y 34.2 mg/l para la MOS y 9.7, 8.5 y 4.5 mg/l para MOP, teniéndose que los valores de los dos primeros muestreos son mayores que los valores de las concentraciones promedio de las estaciones, determinadas a través del año, de 37.4 mg/l para la MOS y de 6.8 mg/l para la MOP.

La materia orgánica exportada, tanto soluble como particulada, y su concentración tendrán diversos efectos sobre las condiciones ambientales del medio marino. Así se tiene que la MOS en baja concentración, promueve la productividad primaria, lo que se debe a: i) la solubilización de ciertos

nutrientes poniéndolos a disposición de los productores (Prakash y MacGregor, 1983); ii) a que las sustancias húmicas quelan compuestos tóxicos, entre ellos metales pesados (Prakash *et al.*, 1973), que inhiben a productores y consumidores; y iii) a que aumentan la densidad óptica del agua, dado que las sustancias húmicas absorben en el ultravioleta (Hergert, 1960; Mantoura, 1981; Christman y Gjessing, 1983), por lo que se sugiere que evitan la fotoinhibición de los productores primarios. En forma contraria si la concentración de MOS es elevada, se inhibe a los productores primarios afectando por lo tanto la productividad del sistema (Prakash y Rashid, 1968; Prakash *et al.*, 1973).

En el caso de la MOP, que es una fuente alimenticia para un gran número de organismos, su concentración determina en algunos lugares, la estructura de las comunidades bentónicas, presentándose mayor número de detritívoros que de filtradores, en áreas de alta concentración y visceversa en áreas de baja concentración (Rhoads y Young, 1970). La MOP es un sustrato sólido en el cual se adsorben nutrientes, que se presentan en bajas concentraciones en el medio marino, lo que crea microambientes adecuados para el desarrollo de poblaciones microbianas. En concentraciones elevadas la MOP causará el desarrollo de las poblaciones microbianas, incrementando la respiración del sistema, afectando la concentración de oxígeno disuelto.

Si bien los valores estimados de la MOS y MOP que se exportan del estero a la zona costera aparentemente son elevados para un cuerpo de agua tan pequeño ($\sim 420\ 000\ m^3$), no lo son cuando se toma en cuenta que el río aporta gran cantidad de la materia orgánica exportada, la que proviene del lavado de la cuenca hidrográfica. Cabe hacer notar que la cantidad de MOP exportada por el estero, 62.2% del total, es mayor a la exportada por el río, 37.8%, lo que indica el gran aporte de MOP por el estero y las zonas adyacentes. Respecto a la MOS, es mayor la cantidad exportada por el río, 64.0% del total, que la exportada por el estero, 36.0%, lo que indica el acarreo de materiales húmicos que se encuentran acumulados en suelos de la cuenca hidrográfica.

Odum y colaboradores (1982), a partir de varios otros trabajos realizados en diversas áreas, presentan un intervalo de exportación de MOP de 7.3 a 419.8 g C/m²/año, intervalo dentro del cual se encuentra el valor estimado para el estero El Verde. El valor estimado corresponde al total exportado por el estero durante el año, entre la superficie del estero:

$$\frac{142.7\ \text{ton/año}}{420\ 000\ m^2} = 339\ \text{g/m}^2/\text{año} = \underline{141\ \text{g C/m}^2/\text{año}^*}$$

*g materia orgánica = 2.4 x g carbono orgánico (Margalef, 1977).

Dicho valor de exportación de MOP se encuentra también dentro del intervalo que presenta Twilley (1982), calculado también de varios trabajos, de 73 a 657 g C/m²/año. Este mismo autor presenta para MOS un intervalo de 8.4 a 140 g C/m²/año, teniéndose para el estero la siguiente estimación:

$$\frac{420.2 \text{ ton/año}}{420\,000 \text{ m}^2} = 1,000 \text{ g/m}^2/\text{año} = \underline{416 \text{ g C/m}^2/\text{año}^*}$$

la cual es 2.9 veces más que el valor mayor del intervalo, siendo un valor aceptable si se toma en cuenta la opinión de Odum y colaboradores (1982), quienes consideran que la exportación de MOS siempre se ha subestimado.

Biodegradación del Detritus

En ecosistemas lagunares estuarinos donde domina la trama trófica del detritus sobre el pastoreo, los manglares y la vegetación de marisma son de los principales aportadores de detritus al sistema (Happ *et al.*, 1977; Odum *et al.*, 1982). Es por lo tanto en estos ecosistemas en donde el carbono incorporado por la vegetación bordeante controla, en gran medida, la cantidad de energía disponible para mantener la producción secundaria (Newell, 1982). En el estero El Verde la defoliación de los mangles aporta gran cantidad de materia orgánica hacia el ecosistema lagunar (Flores-Verdugo,

1981), siendo la biodegradación de ésta la unión entre los productores primarios y los consumidores. La biodegradación, entendida como flujo de energía y obtención de biomasa microbiana, es la parte central del proceso que mantiene la alta tasa de producción secundaria, a partir del subsidio de energía en forma de detritus, procedente de los productores primarios alóctonos. El primer paso que tiene lugar en la biodegradación del detritus es la colonización de éste por microorganismos, hongos y bacterias principalmente, cuyos procesos modifican el habitat permitiendo que otras poblaciones microbianas se puedan desarrollar sobre y a partir de él, en lo que se considera como una sucesión heterotrófica (Atlas y Bartha, 1981).

En un principio la colonización de las hojas de mangle puede estar afectada por la cutícula cêrea de las hojas, así como por la lixiviación de compuestos tales como los taninos, ocasionando que la superficie del detritus sea colonizada lentamente y por pocos microorganismos (Cundell *et al.*, 1979). Es sabido que los taninos precipitan a los polisacáridos (Lewis y Starkey, 1968; Grant, 1976), los que son compuestos fundamentales en la adhesión de las bacterias a superficies (Bitton y Marshall, 1980), por lo que su presencia puede evitar, en parte, la colonización del detritus.

Según las observaciones realizadas en este trabajo, se puede decir que los microorganismos colonizadores del detritus son siempre hongos y bacterias, tanto en condiciones de campo como en condiciones de laboratorio, lo que concuerda con las observaciones de otros autores (Mann, 1972; Gosselink y Kirby, 1974; Sieburth *et al.*, 1974; Cundell *et al.*, 1979; Montagna y Ruber, 1980; Newell, 1982; Odum *et al.*, 1982). Se observó también que las especies de microorganismos colonizadores del detritus, pueden variar de lugar a lugar, más los grupos funcionales de éstos son los mismos.

En algunas hojas de *L. racemosa* se observó, antes de que éstas se desprendieran del árbol, la presencia de actinomicetos (Fig. 21), lo que concuerda con lo observado en hojas de *Rhizophora mangle*, en las que se presentan hongos sobre su superficie antes de ser escindidas (Fell *et al.*, *vide* Cundell *et al.*, 1979). La colonización de las hojas de *L. racemosa* tanto en condiciones de campo como en condiciones de laboratorio se tuvo antes de 7 días, lo que difiere con lo reportado para hojas de *R. mangle*, las que son colonizadas profusamente hasta después de 28 días de biodegradación (Cundell *et al.*, 1979). Esta diferencia en el tiempo de colonización es debida, quizás, a que la biodegradación de las hojas de *R. mangle* se efectuó en condiciones marinas en la columna de agua, y las hojas de *L. racemosa* se biodegradaron en condiciones salobres y cercanas al sedimento.

Se ha dicho que la colonización total del sustrato por microorganismos no es continua, pues sólo parte de la superficie es ecológicamente disponible (Hardgrave, 1972). Esto se observó al inicio de la colonización, tanto en el campo como en el laboratorio (Figs. 20-23, 27-28, 40-41), así como hacia los 90 días de biodegradación (Figs. 26, 30). En etapas intermedias de la biodegradación a medida que el detritus es colonizado, éste es modificado, permitiendo la implantación y el crecimiento de otras poblaciones microbianas, lo que ocasiona una cobertura total del sustrato (Figs. 24-25, 29, 39, 43-44). Dicha modificación consiste, en parte, en la utilización de los compuestos lábiles de las hojas por los diferentes grupos de microorganismos heterótrofos, quedando como fuente alimenticia potencial, los compuestos refractarios tales como, celulosa, hemicelulosa, lignina, etc., son biodegradados por pocos grupos de microorganismos, razón por la que, al ser estos compuestos la fuente alimenticia, disminuye la cobertura microbiana del detritus (Montagna y Ruber, 1980).

La variación en la cobertura no es más que un reflejo de la sucesión heterotrófica que se presenta sobre las partículas del detritus, teniéndose que al ir en avance la biodegradación, el flujo de energía y el sustrato disminuyen, culminando con la extinción de la micro-comunidad cuando el suplemento energético se termina (Atlas y Bartha, 1981).

A nivel de comunidad el suplemento energético en forma de biomasa, por parte de los productores primarios es continuo, por lo que siempre se tiene detritus en el estero (Figs. 7, 9). Dicho detritus mantiene una sucesión heterótrofica, pudiendo llegar a una comunidad climax según algunos autores (Atlas y Bartha, 1981).

En general la sucesión observada a través de la biodegradación del detritus presentó la secuencia siguiente:

- Día 0 el detritus presenta pocos o ningún microorganismo sobre su superficie (Figs. 20, 40)
- Día 0-7 lixiviación de compuestos orgánicos (Fig. 45) la superficie es colonizada activamente por hongos y bacterias (Figs. 22-23)
- Día 7-15 degradación del detritus por actividad microbiana, hongos, bacterias y fitoflageladas principalmente (Figs. 22-23, 27-28, 39, 41)
- Día 15-30 mineralización de algunos compuestos, utilización de los nutrientes por productores primarios, principalmente diatomeas (Figs. 24-25, 37)
- Día 30-60 crecimiento de la población microbiana utilizando los compuestos lábiles del detritus (Figs. 25, 29, 38-39), presencia de microdepredadores (protozoarios) (Figs. 43-44) y

consumo del detritus por macrobentos (tanai-
dáceos)

Día 60-90 permanencia de compuestos refractarios (celu-
losa, hemicelulosa, lignina) y presencia de
microorganismos capaces de degradarlos (Figs.
26, 30)

la que concuerda con los resultados de varios autores (Mann,
1972; Odum y Heald, 1975; Odum *et al.*, 1982; entre otros).

Si bien la mayoría de los grupos de microorganismos respon-
sables de la biodegradación del detritus se presentan tanto
en las muestras de campo como en las de laboratorio, la tasa
de biodegradación varió entre ellas.

La mayor tasa de biodegradación del detritus se obtuvo en
la Estación 4 (Fig. 18; Tabla 4), lo que se debió, en parte,
a la presencia de organismos masticadores que por su acti-
vidad, disminuyen el tamaño de las partículas incrementando
la superficie específica del detritus, ocasionando así un
aumento en la biodegradación del mismo por acción microbia-
na (Fenchel, 1970; Mann, 1972).

La predación de los microorganismos por protozoarios, in-
crementa la tasa reproductiva de éstos, lo que favorece la
biodegradación del detritus (Fenchel, 1970; Hardgrave,
1972).

En la Estación 5 se obtuvo una tasa de biodegradación menor que para la Estación 4 (Fig. 18; Tabla 4), debido a que el sitio en donde se encontraban localizadas las bolsas de degradación, presentaba condiciones microaerobias, siendo ésta la causa probable de la ausencia de organismos masticadores, presentándose sobre el detritus solamente bacterias y fitoflageladas (Figs. 27-29).

En la Estación 3 se estimaron las menores tasas de biodegradación debidas posiblemente a: i) la ausencia de predadores; ii) a que los sedimentos de la estación estaban constituidos por arena fina y limosa, que son sedimentos que poseen relativamente bajas concentraciones de microorganismos (Wood, 1967; Oppenheimer, 1969), lo que influye sobre la biodegradación; y iii) a que a menor T disminuye la tasa de biodegradación (Teal, 1962; Montagna y Ruber, 1980; Day *et al.*, 1981).

Si se considera que no existen diferencias significativas respecto a los parámetros ambientales a lo largo del estero (Tabla 1), excepto para la MOS, la diferencia en la tasa de biodegradación del detritus en las distintas estaciones sugiere que ésta, se encuentra regulada en mayor medida por procesos biológicos, que por variaciones en los parámetros ambientales.

Las constantes de degradación (K) de *L. racemosa* obtenidas en este trabajo varían de 1.82 a 7.30 (Tabla 4), teniéndose que este intervalo es similar al presentado por Twilley (1982) a partir de varios trabajos, de 0.92 a 8.39 para hojas de *R. mangle*, *Avicennia germinans* y *L. racemosa*. Odum y colaboradores (1982) indican que hojas de *R. mangle* en condiciones marinas se degradan sustancialmente en 4 meses, quedando en las bolsas de degradación un peso residual del 9.0% del peso inicial.

En la Estación 4 después de 4 meses de biodegradación se tiene un peso residual de 9.8%, calculado a partir de la regresión exponencial (Tabla 4), el que es un valor similar al obtenido por Odum y colaboradores (1982). Estos autores indican que esta activa biodegradación del detritus se debe a la presencia de organismos masticadores, cangrejos y anfípodos, lo que concuerda con lo observado en la Estación 4, en donde se presentaron tanaidáceos, los que efectúan el proceso de masticación.

Day y colaboradores (1981) reportan que hojas de *R. mangle* en condiciones salobres, pierden el 50% del peso inicial en 70 días, siendo calculada para las hojas de *L. racemosa* de este trabajo (Tabla 4), una pérdida del 50% del peso inicial a los 38 días para la Estación 4, a los 52 días para la Estación 5, y a los 76 y 123 días para la Estación 3 (bolsas

de 300 μm y 1.5 mm respectivamente), lo que indica que la biodegradación de las hojas de *L. racemosa* es más rápida que la de *R. mangle*.

Es conocido ampliamente que durante el proceso de biodegradación del detritus, éste varía su composición bioquímica, siendo lo más importante el incremento en el contenido de nitrógeno orgánico debido a la colonización de microorganismos, hongos y bacterias principalmente (Odum y de la Cruz, 1967; Heald, 1969; Mann, 1972; Gosselink y Kirby, 1974; Odum y Heald, 1975; Day *et al.*, 1981; Odum *et al.*, 1982). Se ha dicho que este incremento se debe a la acumulación de compuestos microbianos ricos en nitrógeno como mucopolisacáridos y glicoproteínas (Hobbie y Lee, 1980), y también a la formación de compuestos complejos de exoenzimas microbianas con polifenoles (taninos) propios del detritus (Tenore y Rice, 1980).

Se ha reportado que para *R. mangle* en condiciones salobres se incrementa la proteína de 2.6 a 7.5% en 3 meses (Day *et al.*, 1981), a 20.6% en 6 meses (Odum *et al.*, 1982) y a 22% en 12 meses (Heald, 1969). En condiciones marinas se tiene que la proteína se incrementa de 3.2 a 5.6% en 70 días (Cundell *et al.*, 1979).

El incremento máximo promedio del porcentaje de proteína, para el detritus procedente de hojas de *L. racemosa*, en este trabajo, fue de 2.6 a 14.3% para las muestras de campo y de 2.6 a 16.4% para las muestras de acuarios, en un período de 3 meses, lo que indica que las hojas de *L. racemosa* son colonizadas y degradadas más rápidamente que las hojas de *R. mangle*. Los valores máximos de incremento en el porcentaje de proteína del detritus, fluctuaron entre 13.8 y 15.8% para campo, alcanzándose estos máximos a los 30 días en las Estaciones 4 y 5, y a los 90 días para la Estación 3 (Fig. 18). Los valores máximos obtenidos para las hojas biodegradadas en los acuarios fluctuaron entre 15.6 y 17.7%, presentándose los valores máximos a los 30 días de biodegradación (Fig. 45), lo que concuerda con los resultados obtenidos en el campo.

El contenido protéico del detritus en acuarios fue ligeramente mayor que el obtenido en el campo, a causa de una mayor densidad relativa de microorganismos sobre el detritus (Figs. 37-39, 44), que se debió, entre otras causas, a la falta de organismos masticadores que los consumieran.

Es interesante el notar que sin importar la tasa de biodegradación, ni los microorganismos responsables de ésta, el incremento en el porcentaje de proteína del detritus es similar en las diversas condiciones de campo y laboratorio (Figs. 18, 45).

A diferencia de esta similitud en el porcentaje de proteína del detritus, la cantidad absoluta de proteína sí varió para las diferentes condiciones de campo y laboratorio. Se considera que la cantidad absoluta de proteína del detritus se incrementó por la actividad microbiana (De la Cruz y Gabriel, 1974; Odum y de la Cruz, 1967), siendo este incremento dependiente de la concentración inicial de sustrato detrítico (Fig. 19). La disminución del contenido absoluto de proteína del detritus, en las Estaciones 4 y 5 (Fig. 19) se debió probablemente al consumo de proteína por predadores. Dicha disminución no se observó en la Estación 3 ni en las muestras de laboratorio, debido a la ausencia de organismos consumidores.

El hecho de que la cantidad absoluta de proteína se incremente durante la colonización y biodegradación del detritus implica la existencia de fuentes externas de nitrógeno. A este respecto se ha reportado que durante la biodegradación de hojas de *R. manglae* existe una activa fijación de N_2 por microorganismos heterótrofos, teniéndose la tasa más alta de fijación a los 14 días de biodegradación (Gotto y Taylor, 1976).

Este fenómeno es de suma importancia para el ecosistema, pues ocasiona que se incremente la cantidad absoluta de nitrógeno, lo que compensa en parte, las pérdidas de este ele

mento que pueda sufrir el ecosistema por sedimentación y exportación.

Expuesto lo anterior, se considera que los microorganismos heterótrofos, a través de los procesos de fijación de N_2 y de mineralización del detritus (liberando amonio, nitritos y nitratos), evitan que el nitrógeno sea un nutriente limitante en lagunas costeras. Siendo estos procesos responsables, en gran medida, de la alta productividad de los ecosistemas lagunares-estuarinos.

Influencia de las Sustancias Húmicas Sobre la Biodegradación del Detritus.

Dado que las sustancias húmicas se encuentran distribuidas en todos los ambientes acuáticos (Prakash y MacGregor, 1983) y que los taninos son una parte considerable de ellas (Steelink *et al.*, 1983), se ha sugerido que éstos afectan la tasa de biodegradación del detritus (Somers y Harrison, 1967; Walsh, 1974; Atlas y Bartha, 1981).

Los mangles poseen gran cantidad de taninos, tanto en las hojas como en la corteza, se sabe que las hojas de *R. mangle* poseen 5.2% de taninos (Cundell *et al.*, 1979) y que algunas especies de mangles poseen hasta un 42% de taninos (peso seco) en la corteza (Walsh, 1974). Esto implica que el gran

aporte de hojas de los mangles hacia el estero El Verde, representa un incremento considerable de taninos en el medio ambiente lagunar, siendo estos taninos capaces de promover o inhibir el crecimiento de determinados microorganismos (Lee y Baker, 1972 *vide* Panier y Panier, 1976; Bate-Smith, 1973; Walsh, 1974; Grant, 1976).

Dicho lo anterior se considera que los taninos seleccionan a los microorganismos responsables de la colonización, sucesión y degradación del detritus. Esta selección se debe en parte a que los taninos precipitan polisacáridos (Lewis y Starkey, 1968) los que son esenciales para la colonización de superficie por bacterias (Bitton y Marshall, 1980), así como por la inactivación de exoenzimas microbianas y la formación de compuestos complejos con sustancias nutritivas (carbohidratos, polipéptidos), impidiendo así el desarrollo de ciertos grupos de microorganismos (Benoit y Starkey, 1968; Lewis y Starkey, 1968; Bate-Smith, 1973).

La selección antes mencionada se observó en este trabajo, teniendo que la inhibición causada por las sustancias lixiviadas de los fragmentos de hojas de *L. racemosa* en cajas de Petri, fue preferentemente sobre bacterias y no sobre hongos (Tabla 9). A causa de esto, se considera como más importantes a los hongos que a las bacterias en los pasos iniciales de la biodegradación de materia orgánica (Schultz

y Quinn, 1973). Asimismo, se observó que los fragmentos de hojas degradadas en el campo (90 días) y aquellos de hojas a las que se les habían extraído los taninos, no presentaron actividad antibiótica, lo que indica que los taninos de las hojas de *L. racemosa* se lixivian hacia el medio ambiente acuático, lo cual se ha observado también para las hojas de *R. mangle* (Cundell et al., 1979).

Si bien en las placas de agar se observó una clara selección por parte de los lixiviados de los fragmentos de las hojas de mangle, inhibiendo a las bacterias, por las observaciones realizadas en el MEB se tiene que existen algunos grupos de bacterias que intervienen en los procesos de colonización, degradación y sucesión del detritus (Figs. 23, 28, 38). Se ha reportado que las hojas de *R. mangle* son utilizadas como fuente alimenticia por bacterias del género *Cellulomonas* (Pinto y Ramírez, 1982), que las degradan activamente a pesar del alto contenido de taninos que poseen. En este trabajo se obtuvo también un activo crecimiento de bacterias utilizando como fuente de carbono a las hojas de *L. racemosa*, siendo el crecimiento de la población microbiana dependiente de la concentración inicial del sustrato (Fig. 46).

El realizar una selección artificial de los microorganismos colonizadores de las hojas de *L. racemosa*, por medio de la adición de penicilina en exceso, a los cultivos en su fase

inicial, originó un mayor desarrollo de hongos a causa de: i) que los hongos no tuvieron competencia puesto que se inhibió la actividad bacteriana por el efecto específico de la penicilina, y ii) a la eliminación gradual de los taninos lixiviados continuamente de las hojas, los que precipitan al formar compuestos complejos con el exceso de penicilina, impidiendo así la acción inespecífica de los taninos sobre exoenzimas fúngicas.

Se considera que la biodegradación efectuada en los cultivos con penicilina fue mayor que en aquellos cultivos sin penicilina. Si bien la pérdida de peso medida fue mayor en los cultivos sin penicilina (Fig. 48), esto es aparente pues el peso residual medido incluyó tanto al detritus como a los microorganismos (masa micelial). Lo anterior se ve apoyado, por el hecho de que los cultivos con penicilina presentaron un contenido protéico mayor que los cultivos sin penicilina, lo que se debió a una intensa actividad microbiana.

Los resultados discutidos hasta este punto indican que las sustancias húmicas y taninos de lixiviados de hojas de *L. racemosa* afectan en cierta medida la colonización, sucesión y tasa de biodegradación del detritus. Además el saber que tanto los taninos extraídos en el laboratorio, como los lixiviados de hojas de *L. racemosa* y los ácidos húmicos obtenidos del estero presentaron actividad antibiótica *in vitro*

en contra de bacterias provenientes del estero, refuerza la idea de que las sustancias húmicas en general y los taninos en particular, afectan la tasa de biodegradación del detritus.

Resulta importante por lo tanto, el saber si existen compuestos similares entre los taninos, lixiviados y ácidos húmicos del estero, y si éstos presentan actividad anti-biótica.

Si bien los espectros de absorción de los taninos, lixiviados y ácidos húmicos del estero, mostraron ligeras diferencias (Fig. 47), los cromatogramas muestran la presencia de fracciones de igual peso molecular (Fig. 49) con espectros de absorción similares (Fig. 50).

En el cromatograma para taninos (Fig. 49) se presentan dos fracciones una de alto peso molecular, mayor de 2000, y otra de bajo peso molecular, ~250. La fracción de peso molecular elevado está constituida posiblemente por taninos condensados y la de bajo peso molecular por monómeros tales como catequina, epicatequina, melacacidina, etc. (Somers y Harrison, 1967; Roux, 1972; Bate-Smith, 1973; Sarkar, *et al.*, 1976).

El cromatograma para los ácidos húmicos de campo se presenta desplazado hacia pesos moleculares elevados (Fig. 49), no presentándose fracciones menores a 250, teniéndose al menos 4 fracciones distintas, lo que concuerda con lo obtenido por De Haan (1983) para sustancias húmicas de lagos. Las dos primeras fracciones de alto peso molecular son posiblemente taninos condensados y ácidos húmicos de 700 a 2000, la tercera fracción corresponde probablemente a ácidos fúlvicos con peso molecular de ~700 (Prakash y MacGregor, 1983), y la última fracción con peso molecular de 250-700 corresponde posiblemente a taninos hidrolizables (Roux, 1972).

Los cromatogramas de los lixiviados son similares entre sí (Fig. 49), teniéndose que el lixiviado de 24 hrs posee mayor concentración de compuestos de bajo peso molecular, que el lixiviado humificado, el que tiene mayor concentración de compuestos de alto peso molecular. Esto se debe posiblemente a la polimerización de monómeros de catequina, malacacidina, galocatequina, etc., por acción de enzimas, lacasa y fenoloxidasas, procedentes de microorganismos responsables de la humificación (Bollag, 1983).

Aunque se ha reportado que las fracciones de bajo peso molecular son menos activas o no presentan actividad inhibitoria, en este trabajo se tuvo que, sin importar su peso molecular, las fracciones probadas presentaron actividad an-

tibiótica, por lo que quizás su actividad no dependió del peso molecular sino como se ha propuesto del número de sitios activos (Haslam, 1974).

El que los taninos condensados y las sustancias húmicas sean de difícil degradación, y el hecho de que las muestras de campo y el lixiviado humificado tiendan a estar constituidos por compuestos de alto peso molecular (Fig. 49), indica que dichas sustancias tienden a permanecer a través del tiempo tanto en el medio ambiente como en los cultivos de laboratorio, en una forma similar a la permanencia y acumulación de dichas sustancias en suelos de bosques (Rice y Pancholy, 1973). Dada esta acumulación en el ecosistema, de sustancias húmicas con actividad antibiótica, resulta interesante el conocer el tiempo de lixiviación de dichos compuestos, así como evaluar su efecto sobre la biodegradación del detritus.

La lixiviación de sustancias orgánicas de las hojas de *L. racemosa*, se presenta desde el primer día (Fig. 45), llegando a su máximo entre los 11 y 15 días (Figs. 45, 51). En este período se lixivian más del 50% de la MOS, estimada en función de la ABS (Fig. 52), por lo que a diferencia de lo estimado para *R. mangle*, que lixivian sus taninos hasta el día 28 de biodegradación, las hojas de *L. racemosa* lixivian MOS desde que caen dentro del estero. Dicho esto, se estima que incrementos en la defoliación de los mangles, ocasionan

variación en la concentración de sustancias húmicas en el campo, lo que se refleja en incrementos en la ABS del agua del estero. En el estero El Verde, el incremento en la defoliación de los mangles en el mes de junio (Flores-Verdugo, 1981), fue precedido por un máximo de ABS (Fig. 8).

Dicho esto se considera que aumentos en la concentración de sustancias húmicas y taninos en el estero, debidos al incremento en la materia orgánica (hojas) dentro del cuerpo de agua, deben de afectar la biodegradación de dicha materia orgánica.

Con los resultados obtenidos en el laboratorio (Fig. 51, Tabla 12) se demostró que la presencia de sustancias húmicas y taninos de lixiviados de hojas de *L. racemosa*, al inicio de la biodegradación, ocasionan una disminución significativa de ésta, siendo la magnitud de la disminución dependiente de la concentración inicial de dichos compuestos en el medio.

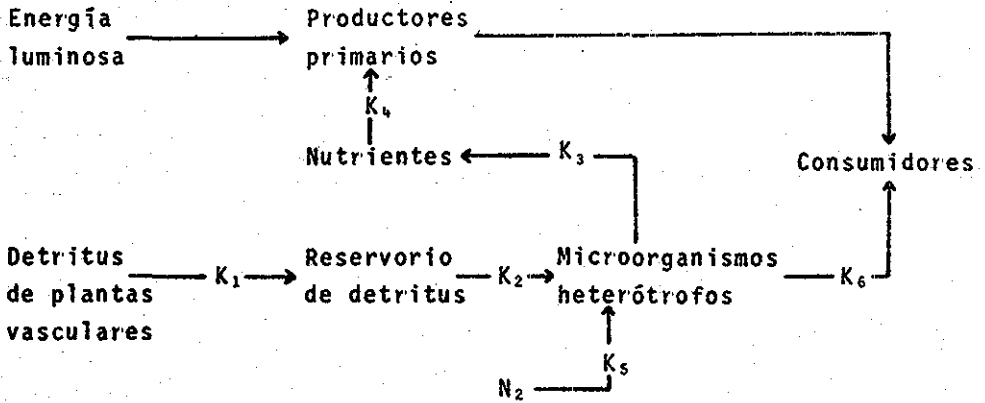
En función de las observaciones realizadas tanto en el campo como en el laboratorio, se considera que en el estero El Verde, los mangles y las marismas aportan gran cantidad de sustancias húmicas (taninos particularmente), las que poseen actividad inhibitoria sobre microorganismos heterótrofos, condicionando así la colonización y sucesión de microorganismos sobre el detritus, lo que ocasiona variación en la tasa de biodegradación del mismo.

La variación en la tasa de biodegradación de la materia orgánica origina que diferentes fracciones del reservorio del detritus del estero, presenten su valor alimenticio óptimo (valor máximo del contenido absoluto de nitrógeno orgánico) a diferentes tiempos. Esto ocasiona que se presente en el medio ambiente lagunar un suplemento continuo y gradual de nitrógeno orgánico asimilable, que soporta a los consumidores primarios.

Dicho lo anterior se estima que el detritus, a través de su variación en el proceso de biodegradación, tiene un efecto estabilizador en el flujo ordenado de energía a través de los diferentes niveles tróficos en el ecosistema, siendo las sustancias húmicas en general y los taninos en particular los compuestos responsables de dicho efecto.

Con los resultados obtenidos así como con las propiedades reportadas para las sustancias húmicas y taninos, se sugiere que dichas sustancias afectan a través de la trama trófica del ecosistema los siguientes procesos:

TRAMA TROFICA DEL PASTOREO



TRAMA TROFICA DEL DETRITUS

en donde: K_1 - Representa la tasa de defoliación que está en función de las condiciones ambientales (Flores-Verdugo, 1981).

K_2 - Representa la colonización, sucesión y asimilación de los compuestos del detritus, por diferentes grupos de microorganismos heterótrofos, y está en función de la concentración de taninos en el medio ambiente.

K_3 - La mineralización de la materia orgánica y la solubilización de nutrientes, se tienen en función de la concentración de sustancias húmicas y taninos.

K_4 - La incorporación de nutrientes por los productores primarios, favorecida por presencia de

bajas concentraciones de sustancias húmicas (Prakash y Rashid, 1968; Prakash *et al.*, 1973; Prakash y MacGregor, 1983).

- K₅- Fijación de N₂ por microorganismos heterótrofos, en función de la disponibilidad de compuestos orgánicos lábiles (Gotto y Taylor, 1976), que se encuentra afectada por la presencia de taninos.
- K₆- Tasa de consumo en función de la disponibilidad de alimento. Afectada en parte por la presencia de taninos los que por su astrigencia (Benoit y Starkey, 1968; Bate-Smith, 1973) impiden el consumo del detritus.

CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos en este trabajo se concluye lo siguiente:

- Que la variación en los parámetros ambientales medidos en el estero El Verde se debe principalmente a las lluvias, a la llegada del río y a la apertura de la boca.
- Que la llegada del río antes de la apertura de la boca ocasiona la estratificación del estero.
- Que existe un gradiente de concentración de MOS del final del estero hacia la boca.
- Que el estero El Verde es un ecosistema exportador de materia orgánica, exportándose 1.6 veces más MOP por el estero que por el río, siendo exportada 1.7 veces más MOS por el río que por el estero.
- Que la biodegradación de las hojas de *L. racemosa* se efectúa activamente por hongos y bacterias, tanto en campo como en laboratorio.
- Que la predación de la microbiota asociada a las partículas del detritus ocasiona un incremento en la tasa de biodegradación del mismo.

- Que el incremento en el porcentaje del contenido protéico del detritus es similar, a través de la biodegradación, en condiciones de campo y de laboratorio.
- Que el incremento de nitrógeno orgánico en el detritus, a través de la biodegradación, implica la existencia de fuentes externas de nitrógeno, siendo la fijación de N_2 una fuente probable.
- Que a través del proceso de biodegradación del detritus se presenta una sucesión definida de grupos microbianos.
- Que los microorganismos responsables de la colonización, degradación y sucesión del detritus son similares en el campo y en el laboratorio.
- Que la tasa de biodegradación de hojas de *L. racemosa* es mayor que la reportada para hojas de *R. mangle*.
- Que las hojas de *L. racemosa* lixivian materia orgánica desde el primer día de biodegradación.
- Que la MOS obtenida de lixiviados de hojas de *L. racemosa*, los taninos purificados de éstas y los ácidos húmicos del estero guardan una correlación lineal con la ABS a 290 nm.
- Que la MOS lixiviada de fragmentos de hojas de *L. racemosa*, los taninos y los ácidos húmicos del estero producen halos

de inhibición *in vitro*, sobre microorganismos heterótrofos procedentes del estero.

- Que los ácidos húmicos del estero y los lixiviados humificados están constituidos por compuestos con peso molecular mayor de 250.
- Que los taninos y los lixiviados de 24 hrs poseen compuestos tanto con alto peso molecular (>2,000) como compuestos de bajo peso molecular (<250).
- Que los cromatogramas de las sustancias húmicas de lixiviados, de taninos y de ácidos húmicos del estero presentan fracciones similares entre sí, las que poseen actividad antibiótica, *in vitro*, contra microorganismos heterótrofos.
- Que las sustancias húmicas en general y los taninos en particular de lixiviados de hojas de *L. racemosa*, disminuyen significativamente la tasa de biodegradación del detritus, hasta un 42%, en condiciones de laboratorio.

LITERATURA CITADA

- ADAMS, S.M. y J.W. ANGELOVIC, 1970. Assimilation of detritus and its associated bacteria by three species of estuarine animals. *Chesapeake Sci.*, 11: 249-254.
- A.O.A.C., 1970. Association of Official Analytical Chemists. Ed. William Horwitz. Washington.
- ATLAS, R.M. y R. BARTHA, 1981. *Microbial ecology: Fundamentals and applications*. Addison-Wesley Publishing Co. USA. 560 pp.
- BAILLIE, P.W. y B.L. WELSH, 1980. The effect of tidal re-suspension on the distribution of intertidal epipellic algae in an estuary. *Estuar. Coast. Mar. Sci.*, 10: 165-180.
- BATE-SMITH, E.C., 1973. Haemanalysis of tannins: the concept of relative astrigency. *Phytochemistry*, 12: 907-912.
- BENOIT, R.E. y R.L. STARKEY, 1968. Enzyme inactivation as a factor in the inhibition of decomposition of organic matter by tannins. *Soil Science*, 105(4): 203-208.

BITTON, G. y K.C. MARSHALL, 1980. *Adsorption of microorganisms to surfaces*. J. Wiley and Sons. Nueva York. 439 pp.

BOHLOOL, B.B., E.L. SCHMIDT y C. BEASLEY, 1977. Nitrification in the intertidal zone: Influence of effluent type and effect of tannin on nitrifiers. *Appl. Environm. Microbiol.*, 34(5): 523-528.

BOLLAG, J.M., 1983. Cross-coupling of humus constituents and xenobiotic substances. In: Christman, R.F. y E.T. Gjessing (Eds.) *Aquatic and terrestrial humic materials*. Ann Arbor Science Pub. Ann Arbor, Michigan, 1983: 127-141.

BOTELLO, A.V., E.F. MANDELLI, S. MACKO y P.L. PARKER, 1980. Organic carbon isotope ratios of recent sediments from coastal lagoons of the Gulf of Mexico, Mexico. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 44: 557-559.

BOYLEN, C.W. y T.D. BROCK, 1973. Bacterial decomposition processes in Lake Wingra sediments during winter. *Limnol. Oceanogr.*, 18: 628-634.

CHAN, R., 1980. *Composición y abundancia de la ictiofauna del estero de El Verde, Sinaloa*. Tesis Licenciatura. IPHCICIMAR. 50 pp.

- CHRISTMAN, R.F. y E.T. GJESSING (Eds.), 1983. *Aquatic and terrestrial humic materials*. Ann Arbor Science Pub. Ann Arbor, Michigan. 538 pp.
- CRANWELL, P.A., 1976. Decomposition of aquatic biota and sediment formation: organic compounds in detritus resulting from microbial attack on the alga *Ceratium hirundinella*. *Freshwater Biology*, 6: 41-48.
- CUNDELL, A.M., M.S. BROWN, R. STANFORD y R. MITCHELL, 1979. Microbial degradation on *Rhizophora mangle* leaves immersed in the sea. *Estuar. Coast. Mar. Sci.*, 9(3): 281-286.
- DARNELL, R.M., 1967. The organic detritus problem. In: Lauff, G.H. (Ed.) *Estuaries*, AAASP, 83: 374-375.
- DAY, J.W., W.G. SMITH, P. WAGNER y W. STOWE, 1973. Community structure and carbon budget in a salt marsh and shallow bay estuarine system in Louisiana. Center for Wetland Resources, Louisiana State Univ. *Sea Grant Publ. No. LSU-sg-73-04*. 80 pp.
- DAY, J.W., R.H. DAY, M.T. BARREIRO y F. LEY-LOU, 1981. Primary production in the Laguna de Terminos, a tropical estuary in the southern Gulf of Mexico. *Símposium Internacional en Lagunas Costeras*. Burdeos, Francia., Sept. 7-12, 1981.

- DE HAAN, H., 1983. Use of UV spectroscopy, gel filtration, pyrolysis mass spectrometry and numbers of benzoate-metabolizing bacteria in the study of humification and degradation of aquatic organic matter. In: Christman, R.F. y E.T. Gjessing (Eds.) *Aquatic and terrestrial humic materials*. Ann Arbor Science Pub. Ann Arbor, Michigan, 1983: 165-182.
- DE LA CRUZ, A.A., 1975. Proximate nutritive value changes during decomposition of salt marsh plants. *Hidrobiol.*, 47: 475-480.
- DE LA CRUZ, A.A. y B.C. GABRIEL, 1974. Caloric, elemental and nutritive changes in decomposing *Juncus roemerianus* leaves. *Ecology*, 55: 882-886.
- DE LA LANZA, G., 1981. *Importancia de la materia orgánica en los sedimentos de la Laguna de Huizache-Caimanero, Sinaloa, México*. Tesis Doctorado. UACPP-CCH, UNAM. 93 pp.
- EADIE, B.J. y L.M. JEFFREY, 1973. $\delta^{13}C$ analysis of oceanic particulate organic matter. *Mar. Chem.*, 1: 199-209.
- ERTEL, J.R. y J.I. HEDGES, 1983. Bulk chemical and spectroscopic properties of marine and terrestrial humic acids, melanoidins and catechol-based synthetic polymers. In:

- Christman, R.F. y E.T. Gjessing (Eds.) *Aquatic and terrestrial humic materials*. Ann Arbor Science Pub. Ann Arbor, Michigan, 1983: 143-163.
- ESCALONA, G.R., 1984. Un método para estimar flujos de nitrógeno reciclado en lagunas costeras someras. *An. Inst. Cienc. del Mar y Limnol., Univ. Nal. Autón. México*, 11: en prensa.
- EWALD, M., C. BELIN, P. BERGER y H. ETCHEBER, 1983. Spectrofluorimetry of humic substances from estuarine waters: progress of the technique. In: Christman, R.F. y E.T. Gjessing (Eds.) *Aquatic and terrestrial humic materials*. Ann Arbor Science Pub. Ann Arbor, Michigan, 1983: 461-466.
- EZURA, Y., K. DAIKU, K. TAJIMA, T. KIMURA y M. SAKAI, 1974. Seasonal differences in bacterial counts and heterotrophic bacterial flora in Akkeshi Bay. In: Colwell, R.R. y R.Y. Morita (Eds.) *Effect on the ocean environment on microbial activities*. University Park Press, Baltimore, 1974: 112-123.
- FEENY, P.P. y H. BOSTOCK, 1968. Seasonal changes in the tannin content of oak leaves. *Phytochemistry*, 7: 871-880.

- FENCHEL, T., 1970. Studies on the decomposition of organic detritus derived from the turtle grass *Thalassia testudinum*. *Limnol. Oceanogr.*, 15: 14-20.
- FLORES-VERDUGO, F. J., 1981. Primary productivity of mangrove in a tropical estuarine-coastal lagoon ecosystem with ephemeral mouth. *Síposium Internacional en Lagunas Costeras*. Burdeos, Francia. Sept. 7-12, 1981.
- FRY, B., R.S. SCALAN y P.L. PARKER, 1977. Stable carbon isotope evidence for two sources of organic matter in coastal sediments: seagrass and plankton. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 41: 1875-1877.
- GALINDO, J.G., 1981. *Estudio preliminar sobre la producción primaria y la dinámica de los nutrientes en el Estero El Verde, Mazatlán, Sin., México*. Tesis de Maestría, UACPP-CCH, UNAM. 32 pp.
- GARCIA, E., 1973. *Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen*. UNAM, México, D.F.
- GARDNER, W.S. y P.F. LANDRUN, 1983. Characterization of ambient levels of UV-absorbing dissolved humic materials in natural waters. In: Christman, R.F. y E.T. Gjessing (Eds.) *Aquatic and terrestrial humic materials*. Ann Arbor Science Pub. Ann Arbor, Michigan, 1983: 203-218.

- GILLAM, A.H. y M.A. WILSON, 1983. Application of ^{13}C -NMR spectroscopy to the structural elucidation of dissolved marine humic substances and their phytoplanktonic precursors. In: Christman, R.F. y E.T. Gjessing (Eds.) *Aquatic and terrestrial humic materials*. Ann Arbor Science Pub., Ann Arbor, Michigan, 1983: 25-35.
- GOLLEY, F., H.T. ODUM y R.F. WILSON, 1962. The structure and metabolism of a Puerto Rican red mangrove forest in May. *Ecology*, 43(1): 455-465.
- GONZALEZ-VILLASENOR, L. I., 1977. Estudio preliminar sobre el contenido de ácidos orgánicos coloridos en el agua de lagunas costeras de Guerrero, México. *An. Centro Cienc. del Mar y Limnol., Univ. Nal. Autón. México*, 4: 243-247.
- GOSSELINK, J.G. y C.J. KIRBY, 1974. Decomposition of salt marsh grass, *Spartina alterniflora* Loisel. *Limnol. Oceanogr.* 19(5): 825-832.
- GOTTO, J.W. y B.F. TAYLOR, 1976. N_2 fixation associated with decaying leaves of the red mangrove (*Rhizophora mangle*). *Appl. Environm. Microbiol.*, 31(5): 781-783.
- GRANT, W.D., 1976. Microbial degradation of condensed tannins. *Science*, 193: 1137-1139.

- HAINES, E.B., 1977. The origins of detritus in Georgia salt marsh estuaries. *Oikos*, 29: 254-260.
- HAPP, G., J. GOSSELINK y J.W. DAY, 1977. The seasonal distribution of organic carbon in a Louisiana Estuary. *Estuar. Coast. Mar. Sci.*, 5: 695-705.
- HARGRAVE, B.T., 1972. Aerobic decomposition of sediment and detritus as a function of particle surface area and organic content. *Limnol. Oceanogr.*, 17(4): 583-596.
- HARRISON, P.G. y K.H. MANN, 1975. Detritus formation from eelgrass (*Zostera marina* L.): the relative effects of fragmentation, leaching, and decay. *Limnol. Oceanogr.*, 20: 924-934.
- HASLAM, E., 1974. Polyphenol - protein interactions. *Biochem. J.*, 139: 285-288.
- HEALD, E.J., 1969. *The production of organic detritus in a south Florida estuary*. Tesis Doctoral. Universidad de Miami. 110 pp.
- HEALD, E.J. y W.E. ODUM, 1970. The contribution of mangrove swamps to Florida fisheries. *Proc. Gulf. Carib. Fish. Inst.*, 22: 130-135.

HENDRICKX, M.E., 1984. Studies of the coastal marine fauna of southern Sinaloa, Mexico. II. The decapod crustaceans of Estero El Verde. *An. Inst. Cienc. del Mar y Limnol., Univ. Nat. Autón. México*, 11: en prensa.

HENDRICKX, M.E. y L. SANCHEZ, 1983. Estudio de la fauna marina y costera del Sur de Sinaloa, México. V. Contribución al conocimiento de los crustáceos plantónicos del Estero El Verde. *Rev. Biol. Trop.*, 31(2): 283-290.

HENDRICKX, M.E., F. FLORES-VERDUGO, A.M. VAN DER HEIDEN y R. BRISEÑO-DUEÑAS, 1983. Fauna survey of the decapod crustaceans reptiles and coastal birds of the Estero El Verde, Sinaloa, México, with some notes on their biology. *An. Inst. Cienc. del Mar y Limnol., Univ. Nat. Autón. México*, 10: 187-194.

HERGERT, H.L., 1960. Chemical composition of tannins and polyphenols from conifer wood and bark. *Forest Products J.*, 10: 610-617.

HOBIE, J.E. y C. LEE, 1980. Microbial production of extracellular material: importance in benthic ecology. In: Tenore, K.R. y B.C. Coull (Eds.) *Marine Benthic Dynamics*. University of South Carolina Press. Columbia, Carolina del Sur, 1980: 341-346.

- JACKSON, M.L., 1970. *Análisis químico de suelos*. 2a. Ed. Eds. Omega, S.A., Barcelona, 1970: 300-303.
- KRUCYZNCKSKI, W.L., C.B. SUBRAHMANYAM y S.H. DRAKE, 1978. Studies on the plant community of a north Florida salt marsh. II. Nutritive value and decomposition. *Bull. Mar. Sci.*, 28: 707-715.
- LANKFORD, R.R., 1977. Coastal lagoons of Mexico: Their origin and classification. In: Wiley, M. (Ed.) *Estuarine Processes. Circulation, sediments and transfer of material in the estuary*. Acad. Press Inc., New York, 2: 182-215.
- LENZ, J., 1977. On detritus as a food source for pelagic filter-feeders. *Marine Biology*, 41: 39-48.
- LENIS, J.A. y R.L. STARKEY, 1968. Vegetable tannins, their decomposition and effects on decomposition of some organic compounds. *Soil Science* 106(4): 241-247.
- LOT, A. y F. MENENDEZ, 1977. Los manglares: una síntesis general. *Biología*, 7: 58-62.
- MACIAS-REGALADO, E. y A. CALDERON-PEREZ, 1980. Influencia de los "tapos" (artes de pesca fijas) en la migración de postlarvas al sistema lagunar de Huizache-Caimanero, Sinaloa,

- México. (Crustacea, Decapoda, *Penaeus*). *An. Inst. Cienc. del Mar y Limnol., Univ. Nat. Autón. México*, 7: 39-50.
- MACKINNON, M.D., 1981. The measurement of organic carbon in sea water. In: Duursma, E.K. y R. Dawson (Eds.) *Marine Organic Chemistry. Evolution, composition, interactions and chemistry of organic matter in sea water*. Elsevier Scientific Publishing Co. Amsterdam, 1981: 415-444.
- MANN, K.H., 1972. Macrophyte production and detritus food chains in coastal waters. *Mem. Ist. Ital. Idrobiol., Pallanza, Italia*, 29: 353-383.
- MANTOURA, R.F.C., 1981. Dissolved organic constituents in estuaries. Manuscrito inédito: 9 pp.
- MANTOURA, R.F.C. y J.P. RILEY, 1975a. The analytical concentration of humic substances from natural waters. *Anal. Chim. Acta*, 76: 97-106.
- _____, 1975b. The use of gel filtration in the study of metal binding by humic acids and related compounds. *Anal. Chim. Acta*, 78: 193-200.
- MARGALEF, R., 1977. *Ecología*. Ediciones Omega, S.A., Barcelona, 951 pp.

- MATTSON, J.S., C.A. SMITH, T.J. JONES y S.M. GERCHAKOV, 1974. Continuous monitoring of dissolved organic matter by UV-visible photometry. *Limnol. Oceanogr.*, 19: 530-535.
- MEE, L.D., 1977. *The chemistry and hidrography of some tropical coastal lagoons Pacific coast of Mexico*. Tesis Doctoral. Universidad de Liverpool. 125 pp.
- _____, 1978. Coastal lagoons. In: Riley, J.P. y R. Chester (Eds.) *Chemical Oceanography Vol. VII*. 1978. Acad. Press New York: 441-489.
- MELCHOR, J.M., 1980. *Estudio sobre la biología y ecología de los chihuales Arius caeruleus Gunther y Arius liropus (Bristol) del estero de El Verde y Laguna de Caimanero, Sinaloa (Pisces: Ariidae)*. Tesis Licenciatura. IPN-CICIMAR. 39 pp.
- MENZEL, D.W. y R.F. VACCARO, 1964. The measurement of dissolved organic carbon and particulate carbon in seawater. *Limnol. Oceanogr.* 3: 785.
- MERCER, E.H. y M.S.C. BIRBECK, 1972. *Electron microscopy. A handbook for biologists*. 3a. Ed. Blackwell Scientific Publications. Oxford. 145 pp.

MONTAGNA, P.A. y E. RUBER, 1980. Decomposition of *Spartina alterniflora* in different seasons and habitats of a Northern Massachusetts salt marsh, and a comparison with other Atlantic regions. *Estuaries*, 3(1): 61-64.

NEWELL, R., 1965. The role of detritus in the nutrition of two marine deposit feeders, the prosobranch *Hydrobia ulvae* and bivalve *Macoma balthica*. *Proc. Zool. Soc. Lond.*, 144: 25-45.

_____, 1982. The energetics of detritus. Utilisation in coastal lagoons and nearshore waters. *Oceanologica Acta, Proceedings International Symposium on Coastal Lagoons*, SCOR/IABO/UNESCO, Bardeaux, Francia, 8-14 septiembre, 1981: 347-355.

NISHIHIRA, M., 1983. Grazing of the mangrove litters by *Terebralia palustris* (Gastropoda: Potamididae) in the Okinawan mangal: preliminary report. *Galaxea*, 2: 45-58.

ODUM, E.P., 1969. The strategy of ecosystem development. *Science*, 164: 262-269.

_____, 1972. *Ecología*. 3a. Ed. Nueva Editorial Interamericana. México. 639 pp.

- ODUM, W.E., 1970. Utilization of the direct grazing and plant detritus food chains by the striped mullet *Mugil cephalus*. In: Steele, J.H. (Ed.) *Marine Food Chains*, Univ. Calif. Press: 222-240.
- ODUM, W.E., C.C. Mc IVOR y T.J. SMITH III, 1982. *The ecology of the mangroves of South Florida: a community profile*. U.S. Fish and Wildlife Service, Office of Biological Services, Washington, D.C., FWS/OBS -81/24: 144 pp.
- ODUM, W.E. y A.A. DE LA CRUZ, 1967. Particulate organic detritus in a Georgia salt marsh-estuarine ecosystem. In: Lauff, G.H. (Ed.) *Estuaries*, AAASP, 83: 383-388.
- ODUM, W.E. y E.J. HEALD, 1975. The detritus based food web of an estuarine mangrove community. In: Cronin, L.E. (Ed.) *Estuarine Research Vol. 1*, Academic Press, Nueva York: 265-286.
- OPPENHEIMER, C.H., 1969. Geomicrobial effects on estuarine environments. In: Ayala-Castañares, A. y F.B. Phleger (Eds.) *Lagunas Costeras, un Simposio: Mem. Simp. Intern. Lagunas Costeras*. UNAM-UNESCO, Nov. 28-30, 1967. México, D.F.: 439-450.

- ORTEGA-ROMERO, P., 1983. *Estudio de la ocurrencia y diagénesis reciente de minerales de azufre en la Laguna Costera Tropical*. Tesis de Maestría. UACPP-CCH, UNAM. 198 pp.
- PAERL, H.W., 1973. Detritus in Lake Tahoe: structural modification by attached microflora. *Science*, 180: 496-498.
- PALUMBO, A.V. y R.L. FERGUSON, 1978. Distribution of suspended bacteria in the Newport River estuary, North Carolina. *Estuar. Coast. Mar. Sci.*, 7: 521-529.
- PANNIER, F. y R.F. DE PANIER, 1976. Manglares: un enfoque fisiológico. *Biología*, 6: 51-57.
- PARKER, P.L., 1974. The biogeochemistry of the stable isotopes of carbon in a marine bay. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 28: 1155-1164.
- PHLEGER, F.B., 1969. Some general features of coastal lagoons. In: Ayala-Castañares, A. y F.B. Phleger (Eds.) *Lagunas Costeras, Un Simposio: Mem. Simp. Intern. Lagunas Costeras*. UNAM-UNESCO, Nov. 28-30, 1967. México, D.F.: 5-26.
- PHLEGER, F.B. y A. AYALA-CASTAÑARES, 1972. Ecology and development of two coastal lagoons in northwest Mexico. *An. Inst. Biol. Univ. Nal. Autón. México, Ser. Cienc. del Mar y Limnol.* 43: 1-20.

- PINTO, T. y R.E. RAMIREZ, 1982. Aislamiento y caracterización de microorganismos degradadores primarios de materia orgánica particulada de la Laguna de Términos, Campeche. Tesis Licenciatura. Facultad de Química, UNAM. 71 pp.
- PLECHANOV, N., B. JOSEFSSON, D. DYRSSEN y K. LUNDQUIST, 1983. Investigations on humic substances in natural water. In: Christman, R.F. y E.T. Gjessing (Eds.) *Aquatic and terrestrial humic materials*. Ann Arbor Science Pub. Ann Arbor, Michigan, 1983: 387-405.
- POLI, C.R., 1983. *Patrón de inmigración de postlarvas de Penaeus spp. en la boca del Río Baluarte, Sinaloa, México*. Tesis Doctorado. UACPP-CCH, UNAM. 182 pp.
- POOL, D.J., S.C. SNEDAKER y A.E. LUGO, 1977. Structure of mangrove forest in Florida, Puerto Rico, México, and Costa Rica. *Biotropica*, 9(3): 195-212.
- POSTMA, H. 1967. Sediment transport and sedimentation in the estuarine environment. In: Lauff, G.H. (Ed.) *Estuaries*, AAASP, 83: 158-179.
- PRAKASH, A., M.A. RASHID, A. JENSEN y D.V. SUBBA RAO, 1973. Influence of humic substances on the growth of marine Phytoplankton: diatoms. *Limnol. Oceanogr.*, 18(4): 516-524.

- PRAKASH, A. y D.J. MacGREGOR, 1983. Environmental and human health significance of humic materials: an overview. In: Christman, R.F. y E.T. Gjessing (Eds.) *Aquatic and terrestrial humic materials*. Ann Arbor Science Pub. Ann Arbor, Michigan, 1983: 481-494.
- PRAKASH, A. y M.A. RASHID, 1968. Influence of humic substances on the growth of marine Phytoplankton: dinoflagellates. *Limnol. Oceanogr.*, 13: 598: 606.
- RASHID, M.A., 1971. Role of humic acids of marine origin and their different molecular weight fractions in complexing di and tri-valent metals. *Soil Sci.*, 111: 298-306.
- RASHID, M.A. y A. PRAKASH, 1972. Chemical characteristics of humic compound isolated from some decomposed marine algae. *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 29: 55-60.
- RHOADS, D.L. y D.K. YOUNG, 1970. The influence of deposit-feeding organisms on sediment and stability and community trophic structure. *J. Mar. Res.*, 28: 150-178.
- RICE, E.L., 1965. Inhibition of nitrogen-fixing and nitrifying bacteria by seed plants II. *Physiol. Plant.*, 18: 255-268.

RICE, E.L. y S.K. PANCHOLY, 1972. Inhibition of nitrification by climax ecosystems. *Amer. J. Bot.*, 59(10): 1033-1040.

_____, 1973. Inhibition of nitrification by climax ecosystems. II. Additional evidence and possible role of tannins. *Amer. J. Bot.*, 60(7): 691-702.

ROSE, A.H., 1977. *Microbiología Química*. 2a. Ed. Editorial Alhambra, S.A. Barcelona. 522 pp.

ROUX, D.G., 1972. Recent advances in the chemistry and chemical utilization of the natural condensed tannins. *Phytochemistry*, 11: 1219-1230.

SALLE, A.J., 1974. *Fundamental principles of bacteriology*. 7a. Ed. Tata McGraw-Hill Publishing Company LTD., Nueva Delhi. 1094 pp.

SANCHEZ, L., 1980. *Variaciones estacionales del zooplancton en el estero El Verde, Sinaloa, México, con especial referencia a los Copepoda, Calanoidea y Cladocera*. Tesis Licenciatura. IPN-CICIMAR. 54 pp.

S.A.R.H., 1982. Boletín metereológico mensual. Dirección General del Servicio Metereológico Nacional, México, D.F. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos.

- SARKAR, S.K., R.E. HOWARTH y B.P. GOPLEN, 1976. Condensed tannins in herbaceous legumes. *Crop. Science*, 16: 543-546.
- SCHULTZ, D.M. y J.G. QUINN, 1973. Fatty acid composition of organic detritus from *Spartina alterniflora*. *Estuar. Coast. Mar. Sci.*, 1: 177-190.
- SEDLÁČEK, J., T. KÄLLQVIST y E. GJESSING, 1983. Effect of aquatic humus on uptake and toxicity of cadmium to *Selenastrum capricornutum* Printz. In: Christman, R.F. y E.T. Gjessing (Eds.) *Aquatic and terrestrial humic materials*. Ann Arbor Science Pub. Ann Arbor, Michigan, 1983: 495-516.
- SHOLKOVITZ, E.R., E.A. BOYLE y N.B. PRICE, 1978. The removal of dissolved humic acids and iron during estuarine mixing. *Earth and Planet. Sci. Lett.*, 40: 130-136.
- SHUMAN, M.S., B.J. COLLINS, P.J. FITZGERALD y D.L. OLSON, 1983. Distribution of stability constants and dissociation rate constants among binding sites on estuarine copper-organic complexes: rotated disk electrode studies and an affinity spectrum analysis of ion-selective electrode and photometric data. In: Christman, R.F. y E.T. Gjessing (Eds.) *Aquatic and terrestrial humic materials*. Ann Arbor Science Pub. Ann Arbor, Michigan, 1983: 349-370.

SIEBURTH, J. McN., R.D. BROOKS, R.V. GESSNER, C.D. THOMAS y J.L. TOOTLE, 1974. Microbial colonization of marine plant surfaces as observed by scanning electron microscopy. In: Colwell, R.R. y R.Y. Morita (Eds.) *Effect of the ocean environment on microbial activities*. University Park Press, Baltimore, 1974: 418-432.

SIEBURTH, J. McN. y J.T. CONOVER, 1965. Sargassum tannin, an antibiotic which retards fouling. *Nature*, 208: 52-53.

SOMERS, T.C. y A.F. HARRISON, 1967. Wood tannins-isolation and significance in host resistance to *Verticillium* wilt disease. *Australian J. Biol. Sci.*, 20: 475-479.

STEELINK, C., M.A. MIKITA y K.A. THORN, 1983. Magnetic resonance studies of humates and related model compounds. In: Christman, R.F. y E.T. Gjessing (Eds.) *Aquatic and terrestrial humic materials*. Ann Arbor Science Pub. Ann Arbor, Michigan, 1983: 83-115.

STEVENSON, L.H., C.E. MILLWOOD y B.H. HEBELER, 1974. Aerobic, heterotrophic bacterial populations in estuarine water and sediments. In: Colwell, R.R. y R.Y. Morita (Eds.) *Effect of the ocean environment on microbial activities*. University Park Press, Baltimore, 1974: 268-285.

- STRICKLAND, J.D.H. y T.R. PARSONS, 1972. *A practical handbook of seawater analysis*. Fisheries Research Board of Canada, Bull. 167, Ottawa, Canada.
- TEAL, J.M., 1962. Energy flow in the salt marsh ecosystem of Georgia. *Ecology*, 43(4): 614-624.
- TENORE, K.R. y D.L. RICE, 1980. A review of trophic factors affecting secondary production of deposit-feeders. In: Tenore, K.R. y B.C. Coll (Eds.) *Marine Benthic Dynamics*. University of South Carolina Press. Columbia, Carolina del Sur, 1980: 325-340.
- TUSCHALL, J.R. y P.L. BREZONIK, 1983. Complexation of heavy metals by aquatic humus: a comparative study of five analytical methods. In: Christman, R.F. y E.T. Gjessing (Eds.) *Aquatic and terrestrial humic materials*. Ann Arbor Science Pub. Ann Arbor, Michigan, 1983: 275-294.
- TWILLEY, R.R., 1982. Litter dynamics and organic carbon exchange in black mangrove (*Avicennia germinans*) basin forests in a Southwest Florida estuary. Tesis Doctoral. Publicación Especial No. 60. Universidad de Florida.
- WALSH, G.E., 1974. Mangroves a Review. In: Reimold, F.J. y W.H. Queen (Eds.) *Ecology of Halophytes*. Acad. Press Inc. Nueva York: 51-174.

- WELSH, B.L., 1980. Comparative nutrient dynamics of a marsh-mudflat ecosystem. *Estuar. Coast. Mar. Sci.*, 10: 143-164.
- WIEBE, W.J. y L.R. POMEROY, 1972. Microorganisms and their association with aggregates and detritus in the sea: A microscopic study. *Mem. Ist. Ital. Idrobiol.*, 29: 325-352.
- WILLIAMS, S.T., C.J. VELDKAMP y C.S. ROBINSON, 1973. Preparation of microbes for scanning electron microscopy. In: Johari, O. (Ed.) *Proc. of the Workshop on SEM in Pathology*, IITRI, Chicago, 111: 735-742.
- WOOD, E.J.F., 1967. *Microbiology of oceans and estuaries*. Elsevier Pub. Co. Nueva York. 319 pp.
- WOOD, E.J.F., W.E. ODUM y J.C. ZIEMAN, 1969. Influence of seagrass on the productivity of coastal lagoons. In: Ayala-Castañares, A. y F.B. Phleger (Eds.) *Lagunas Costeras un Simposio*, Mem. Símp. Inter. Lag. Cost., UNAM-UNESCO: 495-502.
- WRIGHT, R.T., 1974. Mineralization of organic solutes by heterotrophic bacteria. In: Colwell, R.R. y R.Y. Morita (Eds.) *Effect of the ocean environment on microbial activities*. University Park Press, Baltimore, 1974: 546-565.

- YANEZ-ARANCIBIA, A., 1978. Taxonomía, ecología y estructura de las comunidades de peces en lagunas costeras con bocas efímeras del Pacífico de México. *Centro Cienc. del Mar y Limnol., Univ. Nal. Autón. México, Publ. Esp.* 2: 1-306.
- ZAR, J.H., 1974. *Biostatistical analysis*. Prentice-Hall, Inc. Nueva Jersey, 620 pp.
- ZOBELL, C.E., 1974. Bacteriology of the sea. In: Salle, A.J. (Ed.) *Fundamental principles of bacteriology*. 7a. Ed. Tata-McGraw-Hill Publishing Co. Ltd., Nueva Delhi: 673-687.