



MEDICIÓN Y ANÁLISIS DE FACTORES BIÓTICOS Y ABIÓTICOS PARA CUMPLIR CON EL “PROGRAMA DE EJECUCIÓN DE COMPROMISOS DE LA ADMINISTRACIÓN PORTUARIA INTEGRAL MANZANILLO S.A. DE C.V. (API MANZANILLO) DE LAS MEDIDAS CORRECTIVAS ORDENADAS POR LA PROCURADURÍA FEDERAL DE PROTECCIÓN AL AMBIENTE (PROFEPA) EN LA RESOLUCIÓN ADMINISTRATIVA NO. PFPA13.5/2C.27.5/0028/17/0110” PARA LOGRAR LA RESTAURACIÓN AMBIENTAL DE LAS LAGUNAS: VALLE DE LAS GARZAS Y CUYUTLÁN, COLIMA.

AGOSTO 2019-JULIO 2020

MEDICIONES DE COLIFORMES EN LA LAGUNA DEL VALLE DE LAS GARZAS Y DE LA PTAR.



Informe anual: Agosto 2019-Julio 2020

ÍNDICE DE CONTENIDO

I.	INTRODUCCIÓN.....	6
	I.1. Antecedentes	8
I.	OBJETIVOS	10
	II.1. Objetivo general	10
	II.2. Objetivos específicos.....	11
II.	INDICADORES AMBIENTALES Y METAS DEL PROGRAMA.....	11
III.	DESCRIPCIÓN DE LA METODOLOGÍA EMPLEADA.....	12
	IV.1. Área de estudio	12
	IV.2. Trabajo de campo	14
	IV.3. Trabajo de laboratorio	14
V.	RESULTADOS.....	16
VI.	INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	26
VII.	TENDENCIA DE LA CALIDAD AMBIENTAL	32
VIII.	SUGERENCIAS PARA MEJORAR LA CALIDAD AMBIENTAL.....	35
IX.	CONCLUSIONES	38
X.	BIBLIOGRAFÍA	39

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Coordenadas geográficas de las estaciones de muestreo en la Laguna del Valle de las Garzas y Puerto Interior. DPT, descarga de la planta de tratamiento	13
--	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Delimitación geográfica por Barrios del Valle de las Garzas, Manzanillo. (Tomada de Villa-Jaime, 2014).....	9
Figura 2. Escurrimiento principal y secundario del Arroyo Punta de Agua y su distribución. (Tomada de Villa-Jaime, 2014).....	11
Figura 3. Localización de las estaciones de muestreo en la Laguna del Valle de las Garzas y Puerto Interior.....	13
Figura 4. Muestras de agua colectada en frascos estériles de la LVG y PISP, para determinar bacterias coliformes totales y coliformes fecales.....	16
Figura 5. Muestras de agua del área de estudio y frascos estériles con agua destilada en los que se diluye el volumen de muestra.	17
Figura 6. Reactivo utilizado en las muestras el cual es diluido agitando el frasco, para determinar CT y CF en el área de estudio.	18
Figura 7. Charolas Quanti-Tray rotuladas en las cuales se colocan las muestras de agua preparadas conteniendo el reactivo.	19
Figura 8. Selladora térmica Quanti-Tray marca IDEXX.....	20
Figura 9. Proceso de sellado térmico de las charolas Quanti-Tray IDEXX.....	20
Figura 10. Charolas con muestras de agua incubadas en la estufa para determinar coliformes totales a 35 °C (superior) y coliformes fecales a 44 °C (inferior).	21
Figura 11. Variación temporal de los coliformes totales (CT) en el área de estudio durante el periodo anual.	22

Figura 12. Variación temporal de los coliformes fecales en el área de estudio durante un periodo anual. La línea horizontal roja marca el límite máximo permisible (240 NMP/100 ml) de CF, para la protección a la vida acuática en aguas costeras y estuarios. La línea horizontal azul marca el límite máximo permisible (1000 NMP/100 ml) de CF, para la protección a la vida acuática en agua dulce, incluyendo humedales (LFD-SEMARNAT, 2016). 22

Figura 13. Variación espacial de la abundancia de CT en la LVG y PISP durante un año de estudio (agosto 2019-julio 2020). 24

Figura 14. Variación espacial de la abundancia de CF en la LVG y PISP durante un año de estudio (agosto 2019-julio 2020). La línea horizontal roja marca el límite máximo permisible (240 NMP/100 ml) de CF, para la protección a la vida acuática en aguas costeras y estuarios. La línea horizontal azul marca el límite máximo permisible (1000 NMP/100 ml) de CF, para la protección a la vida acuática en agua dulce, incluyendo humedales (LFD-SEMARNAT, 2016). 24

Figura 15. Variación espacial promedio de los coliformes totales (a) y coliformes fecales (b) durante un ciclo anual en la LVG y PISP. Las barras verticales representan el error estándar de la media. La línea horizontal roja marca el límite máximo permisible (240 NMP/100 ml) de CF, para la protección a la vida acuática en aguas costeras y estuarios. La línea horizontal azul marca el límite máximo permisible (1000 NMP/100 ml) de CF, para la protección a la vida acuática en agua dulce, incluyendo humedales (LFD-SEMARNAT, 2016). 25

Figura 16. Promedio de la variación temporal de los coliformes totales (a) y coliformes fecales (b) durante un ciclo anual en la LVG y PISP. Las barras verticales representan el error estándar de la media. La línea horizontal roja marca el límite máximo permisible (240 NMP/100 ml) de CF, para la protección a la vida acuática en aguas costeras y estuarios. La línea horizontal azul marca el límite máximo permisible (1000 NMP/100 ml) de CF, para la protección a la vida acuática en agua dulce, incluyendo humedales (LFD-SEMARNAT, 2016). 27

Figura 17. Ejemplos del crecimiento microbiológico de los coliformes totales (a) y coliformes fecales (b), después del periodo de incubación. El crecimiento se observa en todas las celdas de las charolas. 28

Figura 18. Variación espacial de la relación entre los coliformes fecales y temperatura del agua en el área de estudio, durante un ciclo anual: agosto 2019-julio 2020. 33

Figura 19. Variación espacial de la relación entre los coliformes fecales y la salinidad en el área de estudio, durante un ciclo anual: agosto 2019-julio 2020..... 34

Figura 20. Variación espacial de la relación entre los coliformes fecales y la concentración de oxígeno disuelto en el área de estudio, durante un ciclo anual: agosto 2019-julio 2020. 35

Figura 21. Variación espacial de la relación entre los coliformes fecales y el pH del agua en el área de estudio, durante un ciclo anual: agosto 2019-julio 2020. 36

I. INTRODUCCIÓN.

El excesivo incremento en las actividades antropogénicas, urbanización e industrialización han perturbado el balance de los ambientes costeros. Las aguas costeras son contaminadas debido a las actividades humanas, el vertido de residuos y descargas de aguas residuales domésticas (Yetis y Selek, 2014; Doreen et al., 2015). Esta situación puede empeorar por las descarga indiscriminada de desechos no tratados, que a menudo están muy cargados de aguas residuales de uso activo. Las aguas residuales transportan microorganismos, algunos de los cuales son patógenos para los humanos (Lipp et al., 2001). De tal forma que, las descargas de aguas residuales crudas contienen cantidades alarmantes de agentes microbianos patógenos, que representan una de las causas de contaminación en los ecosistemas acuáticos (Huttly, 1990; Adjahouinou et al., 2015).

El control de la calidad sanitaria de los ecosistemas acuáticos puede llevarse a cabo mediante la enumeración de bacterias indicadoras de contaminación fecal (Bachoon et al., 2008; Bachoon et al., 2010; Luby et al., 2008). Los indicadores de contaminación fecal más utilizados para determinar la calidad microbiológica de los ecosistemas acuáticos, son las bacterias coliformes totales y termotolerantes, enterococos y la *Escherichia coli*, ésta última se ha asociado más al riesgo sanitario en comparación al resto de los coliformes (Prats et al., 2008; Farnleitner et al., 2010; Robert, 2014). El grupo de microorganismos coliformes es adecuado como indicador de contaminación fecal debido a que estos forman parte de la microbiota normal del tracto gastrointestinal, tanto del ser humano como de los animales homeotermos, están presentes en grandes cantidades en él y permanecen durante más tiempo en el agua con respecto a las bacterias patógenas. Adicionalmente, se pueden utilizar los estreptococos fecales como indicadores de contaminación fecal en lagunas y estuarios (WHO, 2003; Konan et al., 2009). Los microorganismos coliformes constituyen un grupo heterogéneo de amplia diversidad en términos de género y especie (Santiago-Rodriguez et al., 2012; Delgado et al., 2008).

Las enfermedades ocasionadas por el agua contaminada se encuentran entre las que aumentan las tasas de mortalidad en los países en desarrollo (Bou Saab *et al.*, 2007; Hamaidi *et al.*, 2009). Estas enfermedades debidas a gérmenes patógenos que se encuentran en el agua tienen, en su mayoría, efectos epidemiológicos (Hebert y Legare, 2000). Estos patógenos incluyen la salmonella que causa enfermedades recurrentes del agua, como fiebre tifoidea, salmonelosis sistémica, gastroenteritis e infecciones tóxicas, y *Vibrio cholerae* responsable del cólera.

La contaminación bacterial puede causar potenciales riesgos a la salud humana y efectos adversos a los ecosistemas (Erhardt *et al.*, 2016). La composición de las comunidades bacterianas pueden ser influenciadas por muchos factores incluyendo la temperatura, patrones de lluvias, oxígeno disuelto, pH, turbidez, salinidad concentración de metales pesados, materiales tóxicos y otros factores ambientales (Altinoluk-Mimiroglu y Camur-Elipek, 2018).

En México el desarrollo y crecimiento de centros urbanos en la zona costera, representan un serio problema para mantener las condiciones sanitarias y ambientales de los sistemas acuáticos, debido a que todos los desechos generados casi siempre terminan en los ríos, lagos y lagunas costeras. Esto puede afectar la calidad del agua y tener un impacto ecológico y económico (Becerra-Tapia y Vázquez-Botello, 1995).

El crecimiento desmedido de las zonas urbanas ha ocasionado aumento de desechos municipales e industriales, ejerciendo mayor presión en los sistemas costeros y generando problemas en la capacidad de las plantas de tratamiento, para proporcionar un adecuado tratamiento de las aguas residuales (Baños-Cruz, 2012). La Laguna del Valle de las Garzas en el municipio de Manzanillo, recibe aguas residuales de la planta de tratamiento municipal, sin un tratamiento adecuado, además que existen descargas no controladas que ocasionan contaminación bacteriológica, con riesgo hacia la salud pública.

I.1. Antecedentes

Las características ideales de un buen indicador sanitario incluyen: a) estar limitados al hábitat intestinal; b) ser detectados en la muestra cuando los patógenos fecales están presentes; c) mostrar mayor resistencia que los patógenos frente a desinfectantes y condiciones adversas en el ambiente; d) ser incapaces de multiplicarse en el ambiente; e) de detección fácil, rápida y con métodos económicos; y f) la densidad del indicador debe correlacionarse con el grado de contaminación fecal o con el riesgo a la salud (Leclerc *et al.*, 2001; Barrera-Escorcía y Wong-Chang, 2005; Savichtcheva y Okabe, 2006). Una vez que se ha demostrado la presencia de estos grupos indicadores, se puede inferir qué microorganismos patógenos se encuentran presentes y su comportamiento frente a diferentes factores como pH, temperatura, presencia de nutrientes y tiempo de retención hídrica (Del Pilar *et al.*, 2005; Ávila de Navia y Estupiñan, 2009).

El Valle de las Garzas se encuentra conformado de la siguiente manera: aproximadamente una cuarta parte de la superficie total del área comprende el vaso lacustre *Estero Las Garzas* y su zona de humedales. Rodeando a este vaso se presenta un área urbanizada donde coexisten principalmente usos habitacionales, comerciales y turísticos (Figura 1).

La planeación del Valle de las Garzas como un polígono habitacional no atendió los factores ambientales que lo rodean (zonas naturales, cauces de ríos, topografía), así como el crecimiento portuario, turístico y la zona norte de Manzanillo. En este sentido, se perciben serias afectaciones derivadas de transformaciones a los patrones de flujos pluviales, mediante el desvío de los cauces del arroyo en la zona norte de la ciudad, generando problemáticas como el arrastre de tierra y arena durante la temporada de lluvias, el azolve de la Laguna del Valle de las Garzas y la generación de represas.

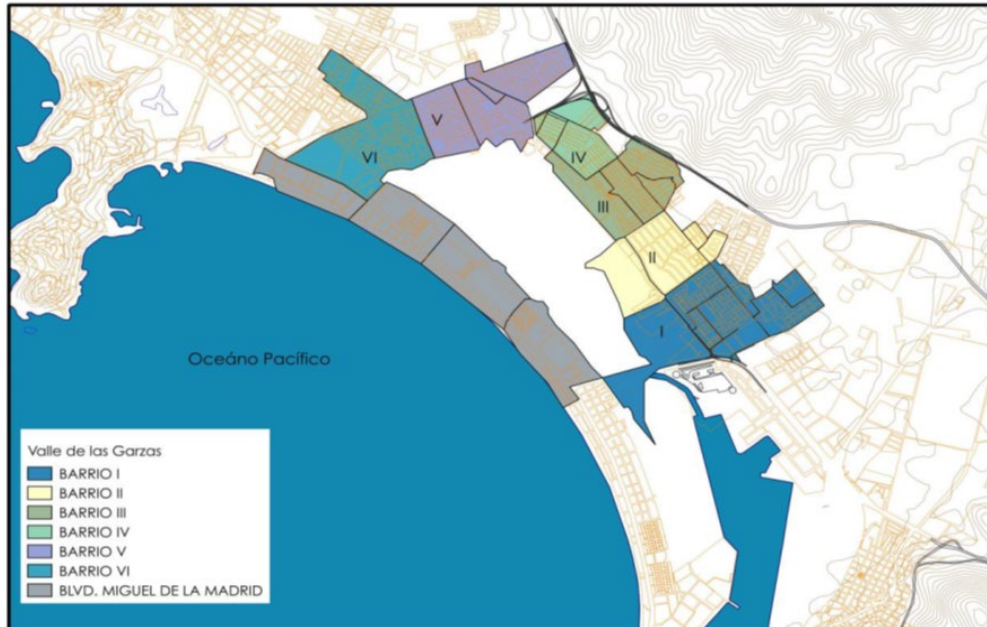


Figura 1. Delimitación geográfica por Barrios del Valle de las Garzas, Manzanillo. (Tomada de Villa-Jaime, 2014).

El arroyo Punta de Agua, cuenca que se ubica en el municipio de Manzanillo y aguas abajo, el arroyo se divide en dos escurrimientos: 1) el cauce principal que descarga hacia el mar cruzando por la comunidad de Salagua; 2) el escurrimiento secundario que se dirige hacia la Laguna de las Garzas cruzando por la zona urbana del Valle de las Garzas. Entre 1999 y 2001, CONAGUA y el Gobierno del Estado implementaron la obra pública conocida como Punta de Agua, una estrategia a corto plazo para solucionar los problemas de inundación en zonas habitacionales ya consolidadas, principalmente Salagua. Esta obra es un canal de distribución de escurrimientos que provienen de la parte norte de Manzanillo y que reparte el gasto sobre el cauce principal hacia Salagua en un 40%, y otro hacia el cauce secundario, el Valle de las Garzas, en un 60% (Figura 2).

Estas acciones derivadas del crecimiento del puerto han provocado afectaciones ecológicas como es la pérdida de humedales por la construcción de infraestructura vial, la alteración y desequilibrio en la dinámica ecológica, desaparición de vías de migración de especies y de áreas de refugio, así como desplazamiento de

animales a la zona urbana como son los cocodrilos. Actualmente, la laguna del Valle de las Garzas presenta además de pérdida de biodiversidad, problemas de contaminación por el vertido de aguas residuales municipales e industriales por parte de la planta de tratamiento, así como por descargas no controladas. De igual manera, las malas prácticas de construcción en las zonas aledañas a la laguna, o en zonas al norte de la ciudad, así como el desmonte en la parte alta de la cuenca Punta de Agua, ha generado acarreo de sedimentos hacia la laguna, generando que se azolve (Villa-Jaime, 2014).

En la Laguna de las Garzas se han reportado altas abundancias de coliformes totales del orden de 11×10^6 NMP/100 ml y de coliformes fecales entre 1×10^6 y 10×10^6 NMP/100 ml, durante los meses de mayo y julio (IMTA, 2010), mostrando un ecosistema con fuerte contaminación bacteriológica y ecológica. Este instituto en julio de 2010 reportó abundancias de coliformes totales del orden de 1.5×10^7 NMP/100 ml y coliformes fecales de 9.9×10^5 NMP/100 ml en la descarga de la planta de tratamiento, mientras que en la dársena norte los valores fueron < 50 NMP/100 ml de coliformes totales y fecales.

I. OBJETIVOS

II.1. Objetivo general

Determinar la variación temporal y espacial de las bacterias coliformes totales y coliformes fecales, que permitan establecer la calidad bacteriológica y ecológica en la Laguna del Valle de las Garzas y Puerto Interior de San Pedrito, como un parámetro indicativo para evaluar el avance de su recuperación ambiental en función de las Consideraciones del Término Séptimo, Condicionante 7 inciso b) de la Resolución Administrativa No. PFPA13.5/2C.27.5/0028/17/0110 de PROFEPA.

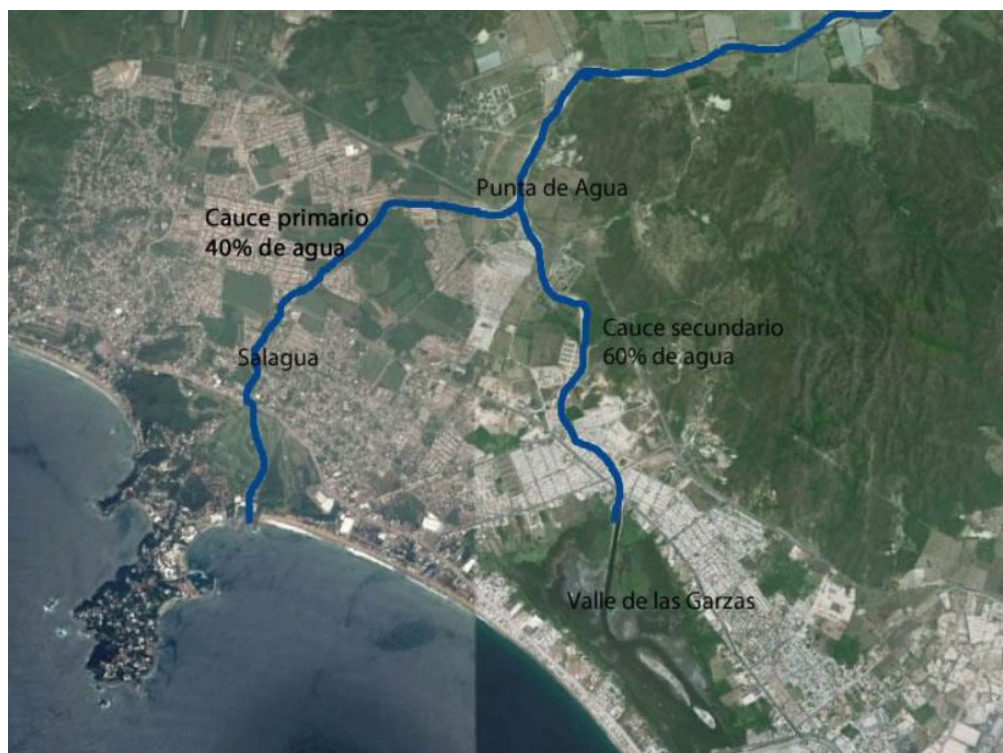


Figura 2. Esguerrimiento principal y secundario del Arroyo Punta de Agua y su distribución. (Tomada de Villa-Jaime, 2014).

II.2. Objetivos específicos

- a) Cuantificar la abundancia de los coliformes totales y coliformes fecales en el agua superficial de la Laguna del Valle de las Garzas y Puerto Interior de San Pedrito, durante un ciclo anual: agosto 2019-julio 2020.
- b) Establecer la relación entre la abundancia de los coliformes fecales (bacterias patógenas) y los parámetros abióticos, durante un ciclo anual: agosto 2019-julio 2020.

II. INDICADORES AMBIENTALES Y METAS DEL PROGRAMA

Los indicadores ambientales de este programa son las bacterias coliformes totales y fecales, cuya presencia ayuda a determinar la calidad sanitaria y ecológica de la Laguna del Valle de las Garzas y Puerto Interior de San Pedrito, como resultado

de las actividades antropogénicas a la que han estado sujetas estos cuerpos de agua.

La meta del programa está asociada a la variabilidad temporal y espacial de la abundancia de los coliformes totales y fecales, con lo cual se establecerá la calidad microbiológica de los cuerpos de agua receptores, así como la relación entre estos microorganismos y los parámetros abióticos.

III. DESCRIPCIÓN DE LA METODOLOGÍA EMPLEADA

IV.1. Área de estudio

La Laguna del Valle de las Garzas se localiza entre 19°05'15.40" de latitud norte, 104°17'55.20" de longitud oeste y, 19°06'08.77" norte con 104°19'31.33" de longitud oeste. Mientras que el Puerto Interior se localiza entre las posiciones 19°03'37.73" norte, 104°18'10.55" oeste y 19°05'08.58" norte, 104°18'03.26" oeste (Figura 3).

La laguna se encuentra limitada al Oriente por los Barrios I, II, III y IV, en el Norte por el Barrio V, al Poniente por la Bahía de Manzanillo y al Sur por el Puerto Interior, el cual al Poniente limita con las colonias Las Brisas y del Pacífico, al Oriente con el poblado de Tapeixtles y parte de la ciudad de Manzanillo, al Sur con la Colonia Burócrata y al Norte con la Laguna del Valle de las Garzas (Figura 3; Tabla 1).



Figura 3. Localización de las estaciones de muestreo en la Laguna del Valle de las Garzas y Puerto Interior.

Tabla 1. Coordenadas geográficas de las estaciones de muestreo en la Laguna del Valle de las Garzas y Puerto Interior. DPT, descarga de la planta de tratamiento

Cuerpo de agua	Estación	Latitud (N)	Longitud (O)
Laguna Valle de las Garzas	DPT	19° 6' 21.78" N	104° 18' 41.40" O
	E-1	19° 5' 44.00" N	104° 18' 48.94" O
	E-2	19° 5' 57.97" N	104° 18' 44.81" O
	E-3	19° 5' 40.40" N	104° 18' 44.07" O
	E-4	19° 5' 23.77" N	104° 18' 24.53" O
	E-5	19° 5' 39.61" N	104° 18' 31.34" O
	E-6	19° 5' 12.04" N	104° 18' 12.12" O
Puerto Interior	E-7	19° 4' 57.08" N	104° 17' 52.61" O
	E-8	19° 3' 39.23" N	104° 18' 10.16" O

IV.2. Trabajo de campo

Las bacterias coliformes totales y coliformes fecales se utilizan como bioindicadores, ya que tienen un comportamiento similar a los patógenos. Este grupo de bacterias ha sido el principal indicador de calidad en los distintos tipos de agua, porque son habitantes comunes del tracto intestinal del hombre y los animales de sangre caliente, están asociados a la contaminación por aguas servidas o residuales, son considerados bioindicadores de la calidad del agua en cuanto al contenido de materia fecal, materia orgánica y nutrientes minerales. La determinación de coliformes fecales representa la fracción de coliformes presentes en la materia fecal (coliformes termotolerantes). Su detección en el ambiente indica contaminación fecal reciente, o presencia de fuentes puntuales de contaminación de origen fecal, y riesgo de aparición de gérmenes patógenos (Malaver *et al.*, 2014).

En el inicio del proyecto se establecieron seis sitios de muestreo (estaciones) en la Laguna del Valle de las Garzas (LVG) y dos en el Puerto Interior de San Pedrito (PISP). Sin embargo, a partir del mes de marzo de 2020 se incluyó la descarga de la planta de tratamiento (DPT), para verificar la calidad bacteriológica del agua que se vierte a la laguna.

Se realizaron 12 muestreos (uno cada mes) durante el año; agosto 2019-julio 2020, para coleccionar agua superficial de las estaciones localizadas en la LVG y en el PISP (Figura 3; Tabla 1). El agua fue coleccionada en frascos estériles directamente en el sitio de muestreo, excepto en la DPT que se coleccionó con una cubeta estéril (Figura 4). El agua de cada estación se mantuvo a 4°C hasta su procesamiento en el laboratorio.

IV.3. Trabajo de laboratorio

La prueba de autoanálisis Colilert fue desarrollada por Edberg *et al.* (1988), la cual fue evaluada por Covert *et al.* (1989) y aprobada por Environmental Protection Agency (EPA) de Estados Unidos. La prueba Colilert fue desarrollada en respuesta a las limitaciones y problemas experimentados en la prueba de

fermentación en tubos múltiples. El método permite detectar tanto los coliformes totales, coliformes



Figura 4. Muestras de agua colectada en frascos estériles de la LVG y PISP, para determinar bacterias coliformes totales y coliformes fecales.

fecales como *Escherichia coli* en un plazo de 24 horas. Se utilizó el método Colilert-18 para determinar los coliformes totales y fecales en las muestras de agua, de acuerdo al método descrito por Edberg *et al.* (1988). Todo el material y agua destilada utilizados en el procesamiento de las muestras son previamente esterilizados, mientras que el área de trabajo donde se procesaron las muestras fue previamente desinfectada.

Para cada muestra se utilizaron dos frascos estériles de 120 ml de capacidad marca IDEXX (uno para coliformes totales y otro para coliformes fecales), a los cuales se les agregaron 90 ml de agua destilada con 10 ml de muestra (dilución 10:1) en el periodo de agosto 2019-marzo 2020. A partir de abril 2020, se utilizó 1 ml de agua de las muestras de la DPT, E-1 y E-2 que fueron diluidos en 99 ml de agua destilada (dilución 100:1), mientras que para las muestras restantes se recolectaron 10 ml de agua que fueron diluidas en 90 ml de agua destilada (dilución 1:10) (Figura 5).

A cada frasco con la muestra diluida en agua destilada se le agregó el reactivo Colilert-18, el cual fue diluido por agitación mecánica (Figura 6). Posteriormente el contenido de los frascos con muestra de agua y reactivo fue vertido en charolas Quanti-Tray de 97 celdas, que son previamente rotuladas (Figuras 7). Para poder sellar las charolas se utilizó una selladora por calor Quanti-Tray (IDEXX, Figura 8), las charolas son introducidas a la selladora con la muestra en su interior (Figura 9). Las charolas selladas conteniendo las muestras fueron incubadas en una estufa a 35°C para determinar coliformes totales y 44°C para coliformes fecales por un periodo de 24 horas (Figura 10).

V. RESULTADOS

Los valores de las bacterias coliformes totales y coliformes fecales fueron transformados a logaritmo base 10 ($X' = \text{Log}_{10} (\text{CT} + 1)$) (Zar, 2006), para poder representarlos en una misma figura. La abundancia de los CT mostraron amplia

variación temporal desde < 10 a > 241960 NMP/100 ml, con un promedio de 60183 NMP/100 ml durante el periodo de estudio (Figura 11). La alta abundancia de estas bacterias se registró a partir de diciembre de 2019. El crecimiento de los CF



Figura 5. Muestras de agua del área de estudio y frascos estériles con agua destilada en los que se diluye el volumen de muestra.



Figura 6. Reactivo utilizado en las muestras el cual es diluido agitando el frasco, para determinar CT y CF en el área de estudio.

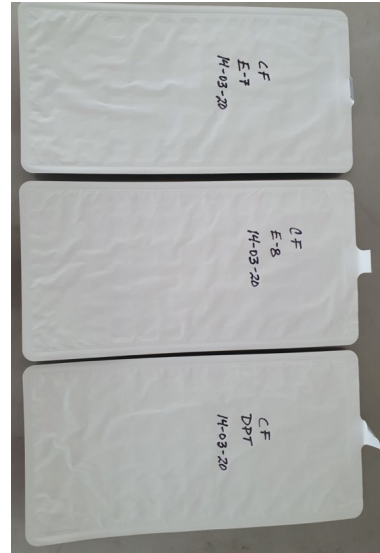
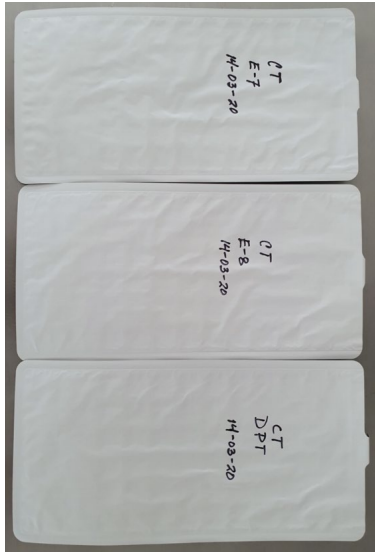


Figura 7. Charolas Quanti-Tray rotuladas en las cuales se colocan las muestras de agua preparadas conteniendo el reactivo.



Figura 8. Selladora térmica Quanti-Tray marca IDEXX.

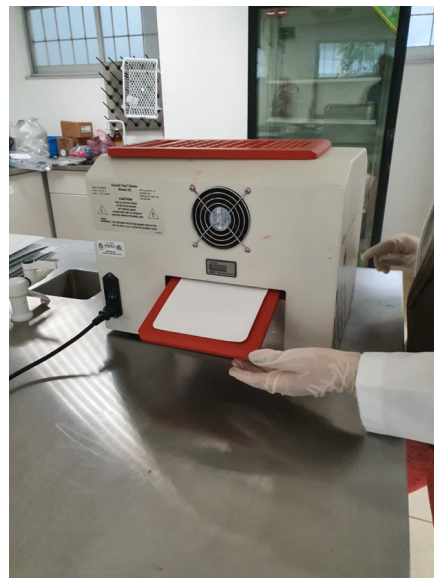


Figura 9. Proceso de sellado térmico de las charolas Quanti-Tray IDEXX.



Figura 10. Charolas con muestras de agua incubadas en la estufa para determinar coliformes totales a 35 °C (superior) y coliformes fecales a 44 °C (inferior).

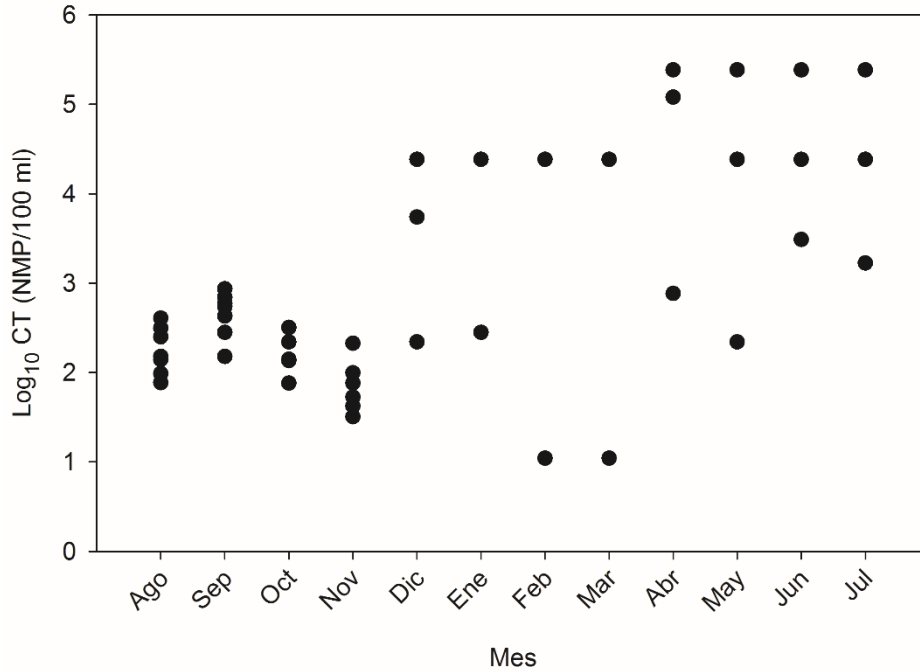


Figura 11. Variación temporal de los coliformes totales (CT) en el área de estudio durante el periodo anual.

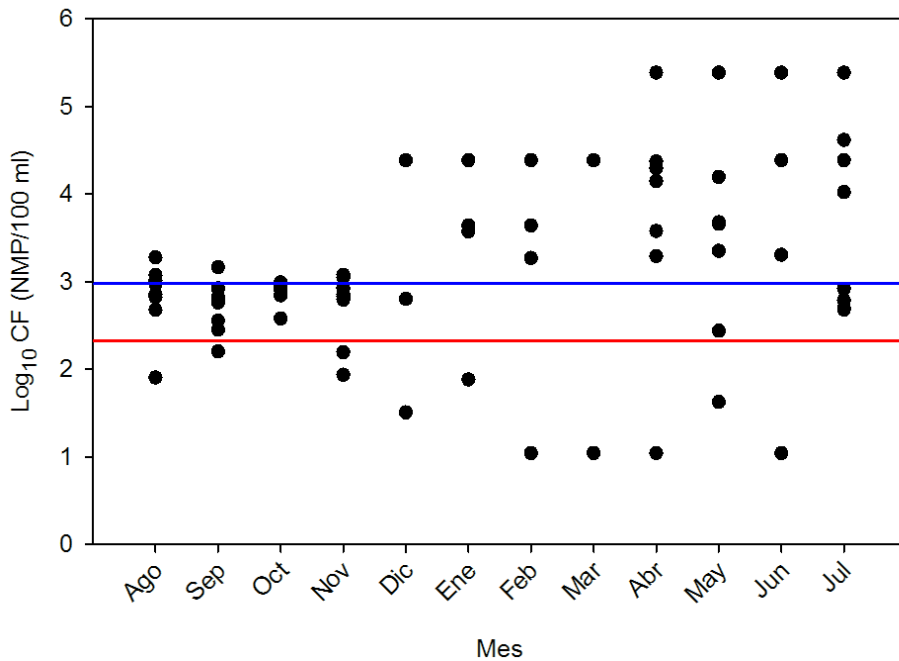


Figura 12. Variación temporal de los coliformes fecales en el área de estudio durante un periodo anual. La línea horizontal roja marca el límite máximo permisible (240 NMP/100 ml) de CF, para la protección a la vida acuática en aguas costeras y estuarios. La línea horizontal azul marca el límite máximo permisible (1000 NMP/100 ml) de CF, para la protección a la vida acuática en agua dulce, incluyendo humedales (LFD-SEMARNAT, 2016).

presentó un patrón similar a los CT, con variación temporal significativa en el año de estudio. La abundancia de estos microorganismos osciló entre <10 a > 241960 NMP/100 ml y un promedio anual de 35693 NMP/100 ml (Figura 12). Durante todos los meses la abundancia de los CF fue mayor a los límites máximos permisibles por la Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-1996, en donde establece que la disposición de aguas residuales en ecosistemas acuáticos no debe rebasar el límite de 1000 NMP/100 ml de CF. Sin embargo, La Ley Federal de Derechos para disposiciones aplicables en materia de aguas nacionales expedida por la Comisión

Nacional del Agua, Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (2016), establece los lineamientos de calidad del agua y los límites máximos permisibles para CF de acuerdo a su uso:

Uso 1: Protección a la vida acuática: Agua dulce, incluyendo humedales, que debe contener como máximo 1000 NMP/100 ml.

Uso 2: Protección a la vida acuática: Aguas costeras y estuarios, con una abundancia máxima de CF de 240 NMP/100 ml.

Sin embargo, se observan valores de CF que se encuentran por debajo de estos límites, cumpliendo con la NOM-001 y LFD-SEMARNAT (Figura 12).

La abundancia de CT muestra valores > 241960 NMP/100 ml en las estaciones de la LVG, DPT, así como en la dársena norte del PISP (E-7), mientras que las abundancias más bajas se determinaron en el canal de entrada al PISP (E-8) (Figura 13). Por su parte la abundancia de los CF presenta un gradiente con valores más altos en la DPT y las estaciones E-1 y E-2, y más bajos en el PISP. Además, se observa que las abundancias de los CF en la LVG fueron más altas que los límites establecidos en la NOM-001 y LFD-SEMARNAT, excepto en la E-8 en octubre de 2019 y julio de 2020, que fueron mayores a 240 NMP/100 ml (Figura 14).

En cada estación de muestreo se calculó el promedio del periodo de estudio, de tal forma que la abundancia de CT presenta un marcado gradiente a partir de la DPT hacia el canal de entrada al PISP. En la DPT el promedio fue 198407

NMP/100 ml, $\sim 1 \times 10^5$ NMP/100 ml en E-1 y E-2, hasta una media de 570 NMP/100 ml en E-8 (Figura 15a). La abundancia de los CF presentó el mismo patrón que los CT, con

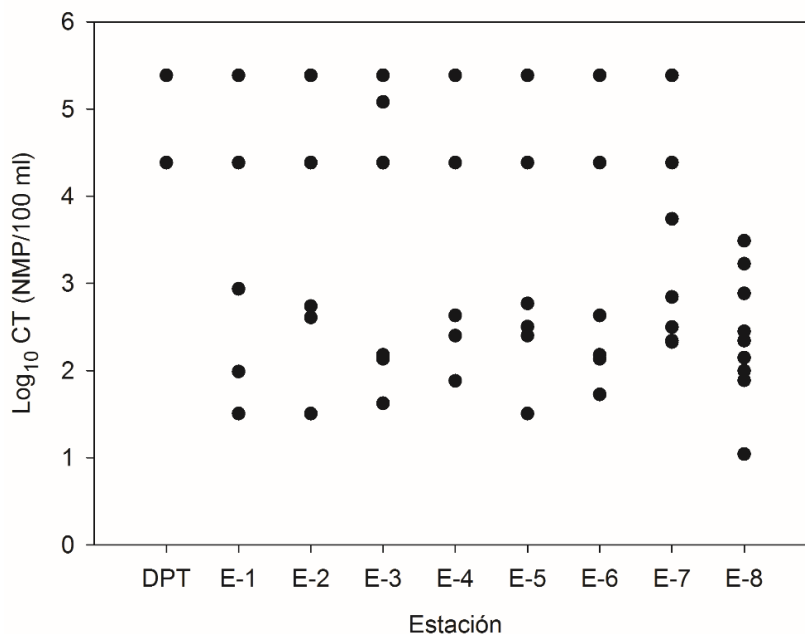


Figura 13. Variación espacial de la abundancia de CT en la LVG y PISP durante un año de estudio (agosto 2019-julio 2020).

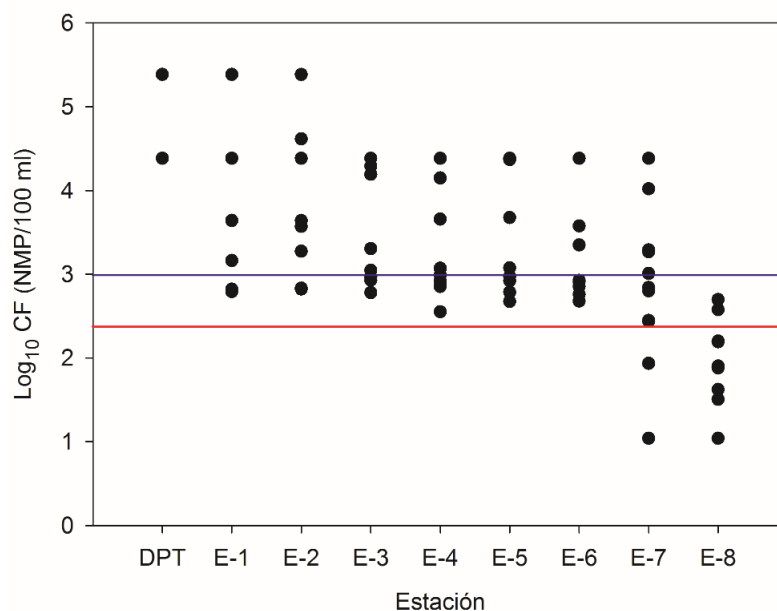


Figura 14. Variación espacial de la abundancia de CF en la LVG y PISP durante un año de estudio (agosto 2019-julio 2020). La línea horizontal roja marca el límite máximo permisible (240 NMP/100 ml) de CF, para la protección a la vida acuática en aguas costeras y estuarios. La línea horizontal azul marca el límite máximo permisible (1000 NMP/100 ml) de CF, para la protección a la vida acuática en agua dulce, incluyendo humedales (LFD-SEMARNAT, 2016).

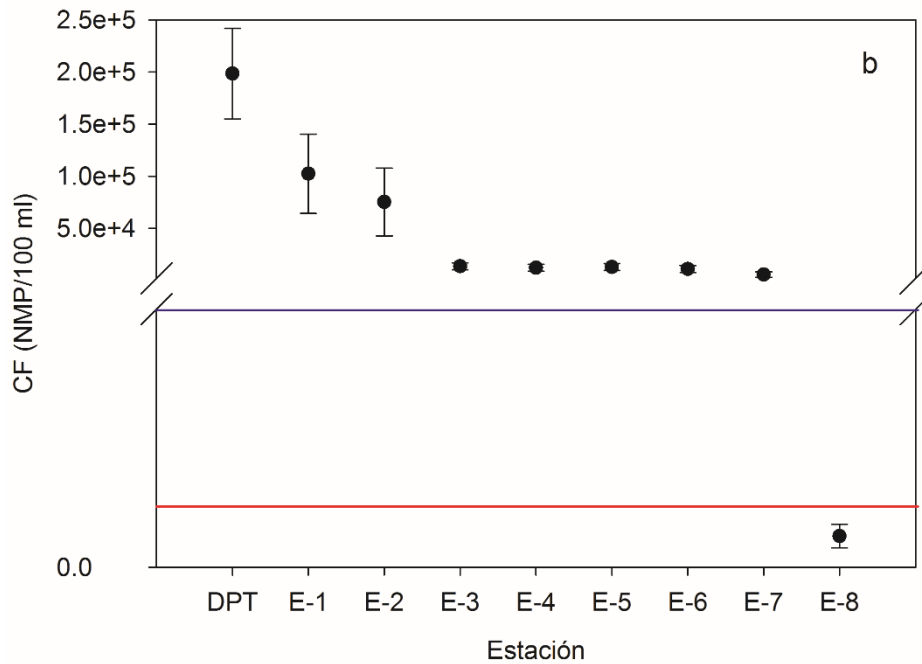
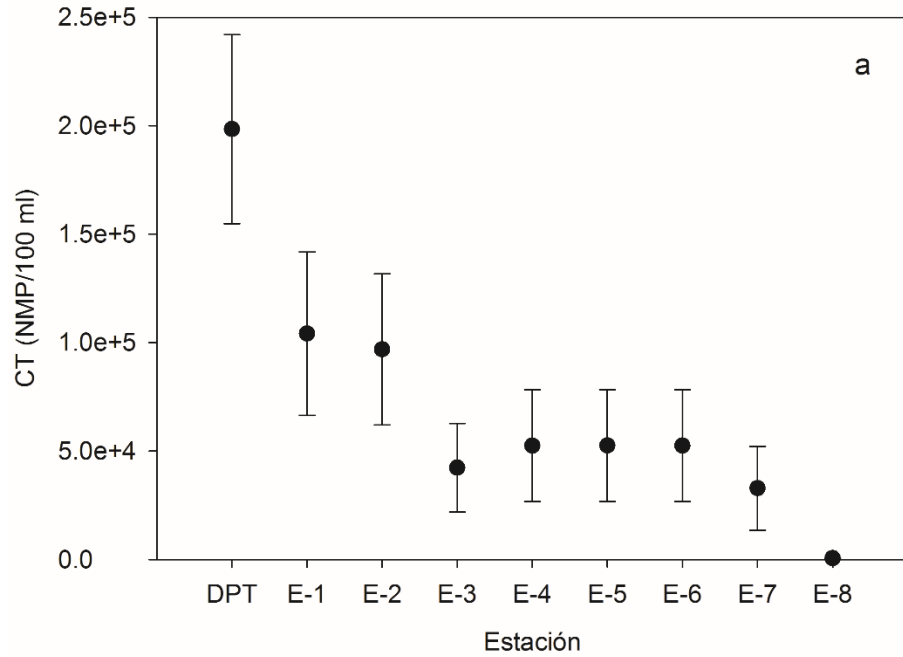


Figura 15. Variación espacial promedio de los coliformes totales (a) y coliformes fecales (b) durante un ciclo anual en la LVG y PISP. Las barras verticales representan el error estándar de la media. La línea horizontal roja marca el límite máximo permisible (240 NMP/100 ml) de CF, para la protección a la vida acuática en aguas costeras y estuarios. La línea horizontal azul marca el límite máximo permisible (1000 NMP/100 ml) de CF, para la protección a la vida acuática en agua dulce, incluyendo humedales (LFD-SEMARNAT, 2016).

un marcado gradiente de la DPT a la E-8, las abundancias más altas oscilaron entre > 75000 y < 200000 NMP/100 ml (E-2, E-1 y DPT). Se observa que el promedio de CF en cada estación fue mayor a los límites establecidos por LFD-SEMARNAT (2016) y por la NOM-001-SEMARNAT (1996), excepto en la E-8 cuyo promedio es de 121 NMP/100 ml (Figura 15b).

El promedio mensual de los CT presenta importante variación temporal con abundancias entre 79 y 55258 NMP/100 ml en noviembre de 2019 y abril de 2020, respectivamente. Las abundancias menores se presentaron en los primeros cuatro meses y aumentaron a partir de diciembre de 2019, con clara tendencia a incrementar en los últimos muestreos (Figura 16a).

El promedio mensual de los CF también fueron bajos de agosto a noviembre, por debajo de los 1000 NMP/100 ml, pero mayores de 240 NMP/100 ml establecidos en la NOM-001 (SEMARNAT, 1996) y LFD-SEMARNAT (2016). A partir de diciembre los promedios mensuales incrementaron en el área de estudio y son superiores a los dos límites mencionados (Figura 16b). El intervalo promedio mensual cambió entre 314 NMP/100 ml en noviembre a 13430 NMP/100 ml en julio, considerando las abundancias de las estaciones de la LVG y PISP.

VI. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

El volumen de muestra utilizado de cada estación para determinar la abundancia de los CT y CF fue de 10 ml (dilución 10:1), desde agosto 2019 hasta marzo 2020. A partir de diciembre el crecimiento de los microorganismos se presentó en toda la charola (en la que se sembró la muestra), de tal forma que al calcular el número más probable por 100 ml (90 ml de agua destilada esterilizada y 10 ml de muestra) (NMP/100 ml), se alcanzó el valor máximo de la tabla de probabilidad: > 24196 NMP/100 ml, con un intervalo de confianza de 0 a ∞ (infinito). Debido a que > 24196 no es un valor exacto, se decidió disminuir el volumen de muestra (99 ml de agua destilada y 1 ml de muestra; dilución 100:1), pero nuevamente la abundancia de los coliformes alcanzó el valor máximo: > 241960 NMP/100 ml, con un intervalo

de confianza de 0 a ∞ . Posiblemente si se usará un menor volumen de muestra (0.1 o

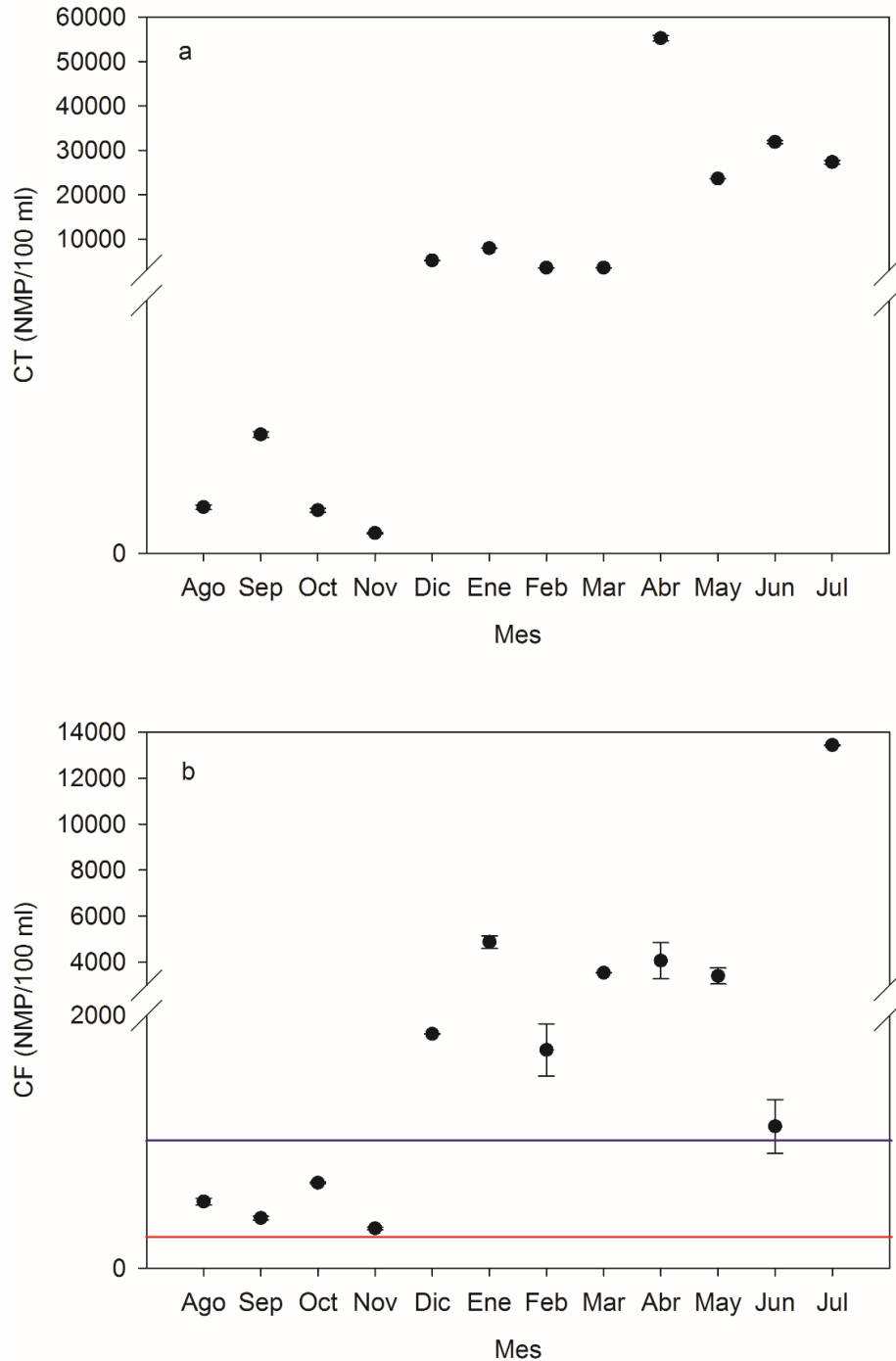


Figura 16. Promedio de la variación temporal de los coliformes totales (a) y coliformes fecales (b) durante un ciclo anual en la LVG y PISP. Las barras verticales representan el error estándar de la media. La línea horizontal roja marca el límite máximo permisible (240 NMP/100 ml) de CF, para la protección a la vida acuática en aguas costeras y estuarios. La línea horizontal azul marca el límite máximo permisible (1000 NMP/100 ml) de CF, para la protección a la vida acuática en agua dulce, incluyendo humedales (LFD-SEMARNAT, 2016).



Figura 17. Ejemplos del crecimiento microbiológico de los coliformes totales (superior) y coliformes fecales (inferior), después del periodo de incubación. El crecimiento se observa en todas las celdas de las charolas.

0.01 ml) se podría tener un valor más exacto de la abundancia de los coliformes. En las figuras donde se representan estos valores, debe quedar claro que no es un valor preciso, son mayores a estos valores, ¿qué tanto son mayores?, no lo sabemos. La Figura 17 muestra algunos ejemplos del crecimiento bacteriológico de los CT y CF en las charolas, posterior al tiempo de incubación.

Los coliformes son una familia de bacterias que se encuentran comúnmente en las plantas, el suelo y los animales, incluyendo los humanos. La presencia de bacterias coliformes es un indicio de que el agua puede estar contaminada con aguas negras u otro tipo de desechos en descomposición (Ramos-Ortega *et al.*, 2008). Generalmente, las bacterias coliformes se encuentran en mayor abundancia en la capa superficial del agua o en los sedimentos del fondo (Munn, 2004). La contaminación fecal ha sido y sigue siendo el principal riesgo sanitario en el agua, ya que supone la incorporación de microorganismos patógenos que pueden provocar enfermedades en la salud humana. Por ello, el control sanitario de riesgos microbiológicos es tan importante, y constituye una medida sanitaria básica para mantener un grado de salud adecuado en la población (Marín *et al.*, 2004).

Las bacterias coliformes que representan riesgo sanitario de salud pública son los coliformes fecales, también conocidos como bacterias indicadoras ya que su presencia o ausencia reflejan: contaminación de las aguas para sus diferentes usos, identificación de contaminantes, niveles máximos permisibles, y el control en los procesos de tratamiento de aguas (Larrea *et al.*, 2012). Además, indican la existencia de contaminación fecal de origen humano o animal, ya que las heces contienen coliformes termotolerantes que están presentes en la microbiota intestinal, siendo *E. coli* la más representativa, con un 90-100 % (Carrillo y Lozano, 2008). Si bien los coliformes totales llegan a ser más abundantes que los organismos termotolerantes, son estos últimos los que se utilizan como indicadores de contaminación bacteriológica, que generan problemas de salud.

Las bacterias entéricas como *E. coli* y estreptococos fecales, son consideradas las principales indicadoras de contaminación fecal, estrechamente asociadas a problemas de salud como enfermedades gastrointestinales y cutáneas, infecciones en las vías respiratorias y auditivas (USEPA, 2003). También se ha

encontrado correlación positiva entre la contaminación fecal y las bacterias patógenas humanas tales como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *salmonella sp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterococcus faecalis* y *Bacillus mycoides*. La presencia de estos microorganismos en los ecosistemas acuáticos son una evidencia de contaminación fecal.

En este estudio se utilizaron los coliformes fecales como indicadores de contaminación microbiológica en las aguas de la LVG y el PISP. Los resultados muestran que los CF durante el año fueron mayores a los límites (240 y 1000 NMP/100 ml) establecidos por la NOM-001-SEMARNAT (1996) y LFD-SEMARNAT (2016), aun cuando en 10 meses se observaron abundancias de CF menores a estos límites (Figura 12). Asimismo, los promedios mensuales de estas bacterias en el área de estudio, indican mala calidad microbiológica y que se encuentra contaminada con materia fecal que proviene de humanos y animales de sangre caliente (Figura 16b).

Adicionalmente, a la amplia variación temporal de parte de los CF, también se observó importantes cambios espaciales con abundancias más altas en la DPT, E-1 y E-2, con tendencias a decrecer hacia el Mirador en la LVG (E-6) y abundancias más bajas en el canal de ingreso al PISP (E-8). Los valores de CF en la LVG rebasaron los límites permisibles de 240 y 1000 NMP/100 ml, así como en la dársena norte (E-7) del PISP (Figura 14). Esto significa que tanto la LVG como la dársena norte se encuentran contaminadas bacteriológicamente y no cumplen con la calidad sanitaria. El promedio anual de los CF por estación presenta un marcado gradiente en su abundancia, con promedios más altos en la zona norte de la laguna y más bajos en E-6 (Figura 15b). En esta figura se muestra que todos los promedios de las estaciones de la LVG y PISP, rebasaron ambos límites establecidos por la NOM-001-SEMARNAT (1996) y LFD-SEMARNAT (2016), excepto en la E-8. Esto indica que las aguas de la LVG y la dársena norte tienen mala calidad microbiológica, indicando que sus aguas están contaminadas con bacterias patógenas humanas, que representan un serio riesgo de salud para la

población. La mala calidad del agua también afecta a la ecología del cuerpo lagunar, generando condiciones de eutroficación.

La abundancia de CT y CF de la DPT son significativamente menores a los reportados por el IMTA (2010), pero los valores registrados en la E-6 y E-7 del presente estudio son más altos a los determinados por el IMTA (2010).

La capacidad de los coliformes fecales de reproducirse fuera del intestino de los animales homeotérmicos es favorecida por la existencia de condiciones adecuadas de materia orgánica, pH, humedad, entre otras variables. La abundancia de los CF muestra tendencia a disminuir con el decremento de la temperatura del agua, indicando una relación directa, de tal forma que, la temperatura favorece el crecimiento de estos organismos (Figura 18). Sin embargo, existen otras variables ambientales que afectan su crecimiento con las cuales mantiene una relación inversa. Este es el caso del incremento de la salinidad, concentración de oxígeno disuelto y pH, que ocasionan disminución en la abundancia de los CF (Figura 19-21). Los CF han mostrado que crecen en aguas menos salinas, en condiciones de anoxia o hipoxia y con bajo pH. Estas condiciones se presentan cuando las bacterias heterotróficas utilizan el oxígeno disuelto para degradar la materia orgánica y se producen protones que ocasionan la disminución del pH. Yetis y Selek (2014) reportaron para la Laguna Akyatan, Turquía, los valores más altos de CT y CF cuando el promedio de salinidad, oxígeno disuelto y pH fueron los más bajos, que es similar a lo observado en este estudio. Valores altos de pH afectan la sobrevivencia de los coliformes (Hong *et al.*, 2010) y se considera un indicador importante de la calidad del agua en los ecosistemas acuáticos (Kacar, 2011). Swiatecki (1997) reportó que los cambios estacionales en temperatura son correlacionados con la dinámica del desarrollo de bacterias en ecosistemas acuáticos. La salinidad también afecta el crecimiento de las bacterias debido a que influye en el estrés osmótico, disminuyendo su abundancia (Aanderud *et al.*, 2016).

VII. TENDENCIA DE LA CALIDAD AMBIENTAL

Los resultados de CF por estación de muestreo y mensuales en la LVG y en la dársena norte del PISP indican mala calidad bacteriológica provocada por contaminación fecal de origen humano y animal. Esto es debido a que las abundancias de CF rebasan los límites máximos permitidos por SEMARNAT (1996, 2016). La tendencia que mostraron los CF durante el año fue incrementando a partir de diciembre de 2019, con abundancias > 241960 NMP/100 ml, reafirmando el serio problema en la calidad del agua, la cual puede contener bacterias patógenas humanas, con impacto ambiental negativo en el ecosistema, representando, además, un importante riesgo de salud pública.

Aun cuando se han realizado obras hidráulicas en la laguna para mejorar la circulación, y por ende la calidad del agua, sin embargo, esto no se ha logrado porque el agua que vierte la Planta de Tratamiento al cuerpo lagunar continúa fuertemente contaminado, con altas abundancias de bacterias patógenas. Adicionalmente, las descargas de aguas no controladas de la población aledaña a la laguna, también contribuyen con la mala calidad del agua.

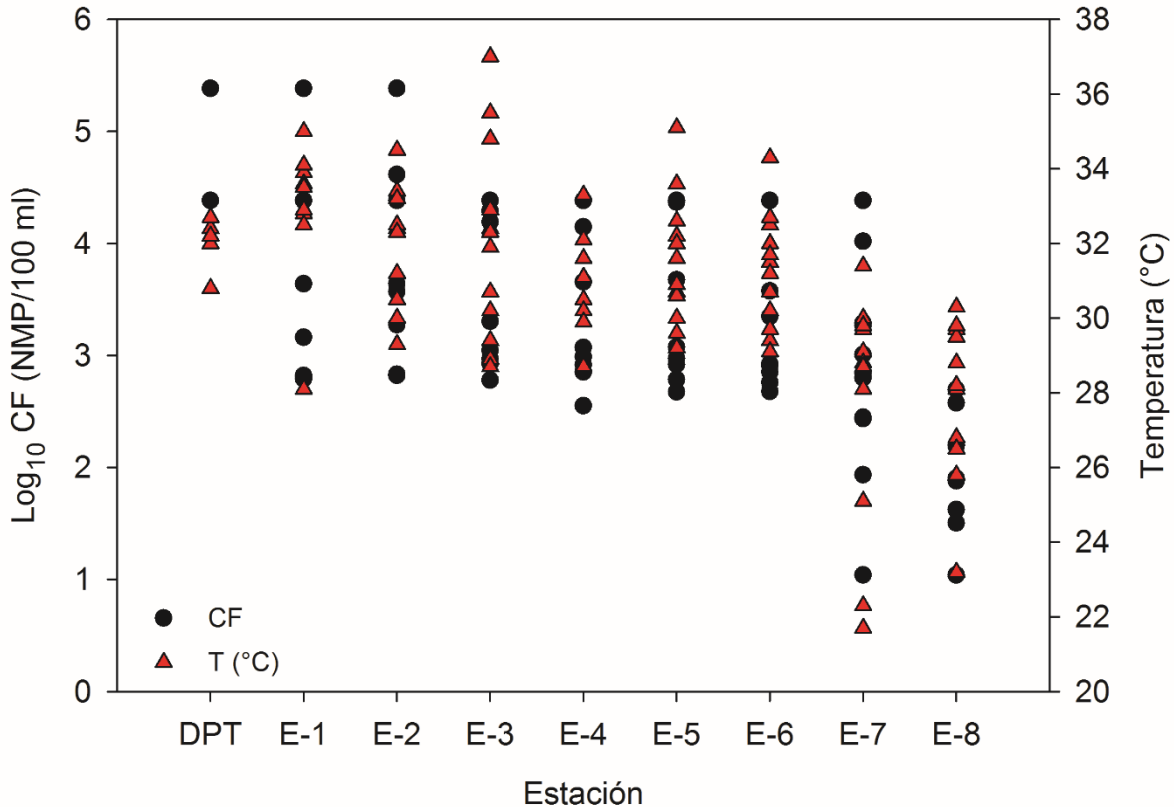


Figura 18. Variación espacial de la relación entre los coliformes fecales y temperatura del agua en el área de estudio, durante un ciclo anual: agosto 2019-julio 2020.

El origen de las bacterias CF siempre se han asociado con actividades antropogénicas (descargas de aguas residuales y agrícolas pobremente tratadas). Sin embargo, diversos estudios han documentado que estas bacterias también se encuentran en las heces fecales de una amplia variedad de animales de sangre caliente y aves (Evanson y Ambrose, 2006). Por tanto, es necesario entender la magnitud de la contaminación fecal en los ecosistemas acuáticos que están sometidos a un incremento excesivo en actividades humanas, urbanización e industrialización, que perturban el balance ecológico en dichos ecosistemas (Yetis y Selek, 2014), como es el caso de la LVG y la dársena norte del PISP.

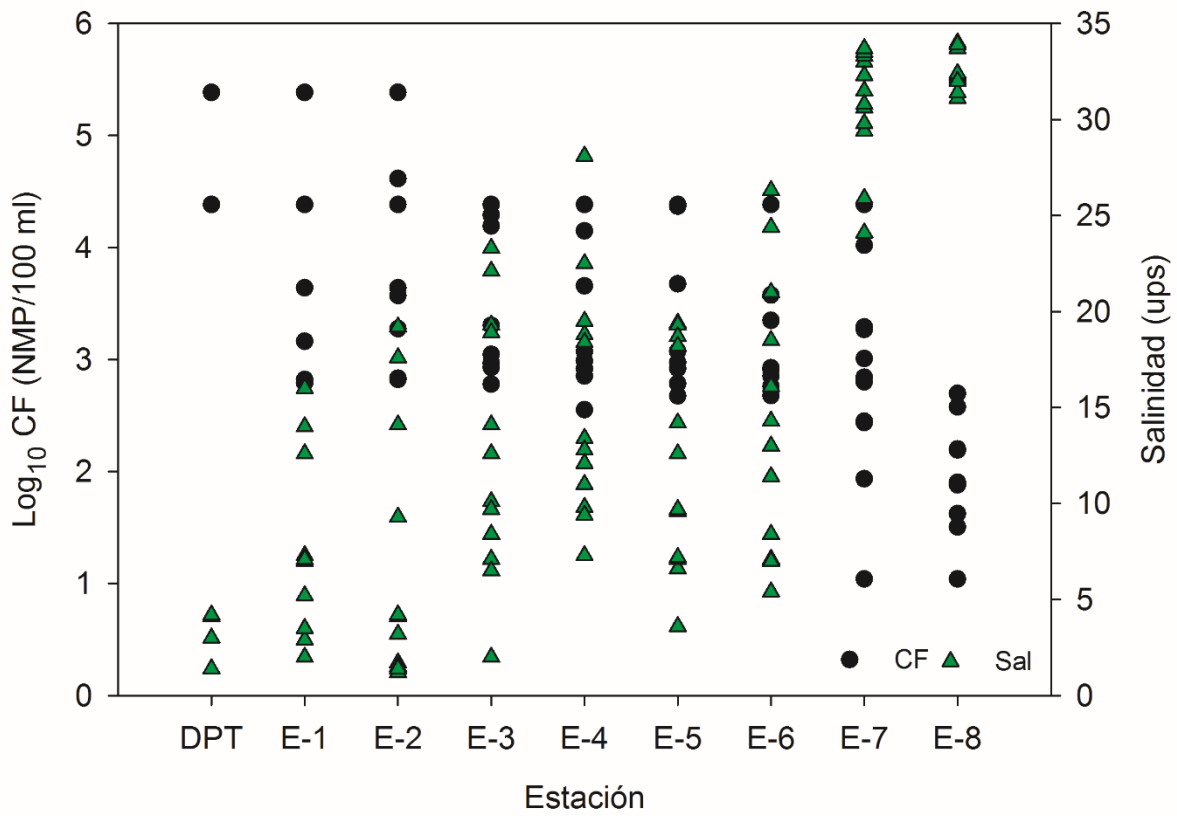


Figura 19. Variación espacial de la relación entre los coliformes fecales y la salinidad en el área de estudio, durante un ciclo anual: agosto 2019-julio 2020.

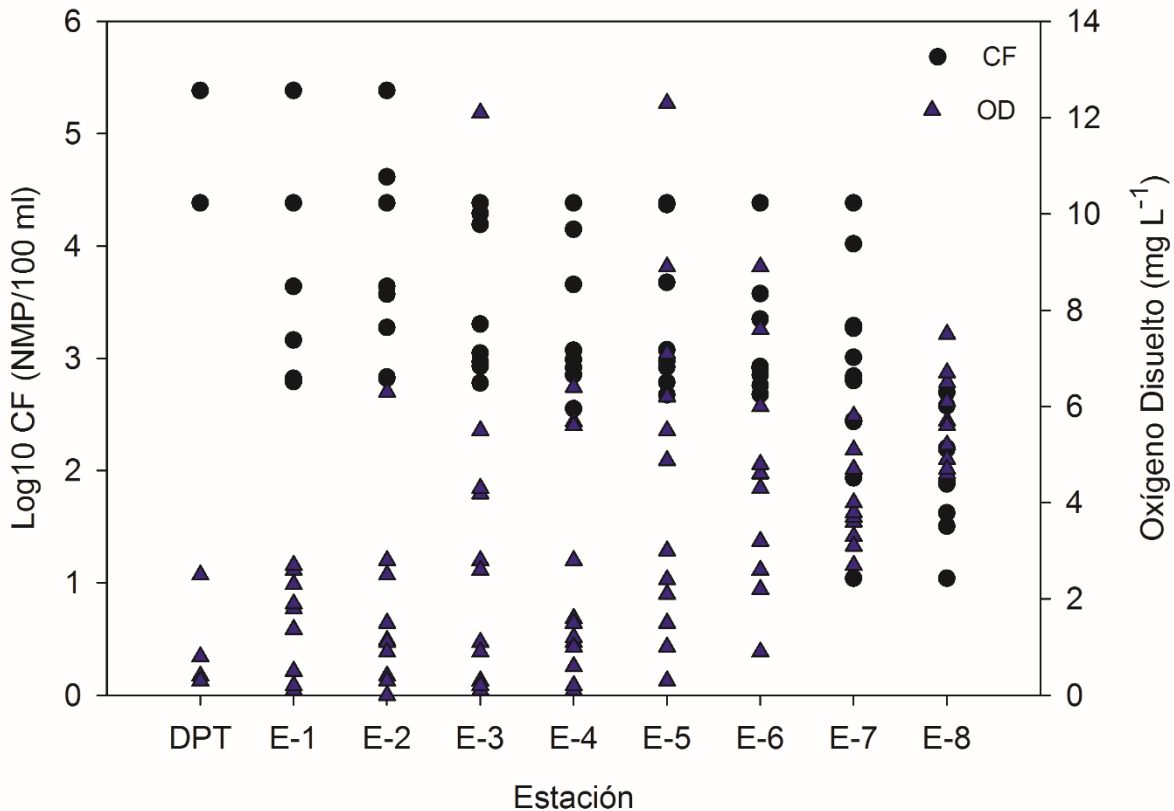


Figura 20. Variación espacial de la relación entre los coliformes fecales y la concentración de oxígeno disuelto en el área de estudio, durante un ciclo anual: agosto 2019-julio 2020.

VIII. SUGERENCIAS PARA MEJORAR LA CALIDAD AMBIENTAL

La presencia de bacterias alóctonas es considerada como uno de los contaminantes biológicos más importantes en ecosistemas acuáticos, los cuales muestran una estrecha relación entre el aumento de bacterias fecales patógenas humanas con la cercanía de las zonas urbanas e industriales. Los indicadores microbiológicos frecuentemente utilizados en la evaluación de la calidad del agua son las bacterias coliformes fecales, *Escherichia coli*, estreptococos fecales y esporas anaerobias reductoras de azufre (Gesche *et al.*, 2003). El crecimiento de estas bacterias también depende de factores ambientales, por ejemplo; Rivera *et al.* (2010) encontraron correlación positiva entre los coliformes fecales con la temperatura y pH, pero correlación negativa con el oxígeno disuelto. Mientras que

Yetis y Selek (2014) reportaron correlación negativa entre los CF con la salinidad, pH y oxígeno.

La calidad del agua en los ambientes acuáticos es un factor fundamental para mantener la biodiversidad, en el caso de las lagunas costeras puede ser evaluada a través de indicadores físicos, químicos y biológicos. Con esta premisa, las bacterias cuentan con características que les confieren factibilidad de ser utilizadas como indicadores de contaminación del agua o de impacto ambiental, por poseer una gran versatilidad que les permiten adaptarse a cualquier tipo de ambiente, por adverso que este sea, facilitando de este modo la identificación del riesgo de contraer enfermedades como consecuencia de contaminación antrópica (Malaver *et al.* 2014).

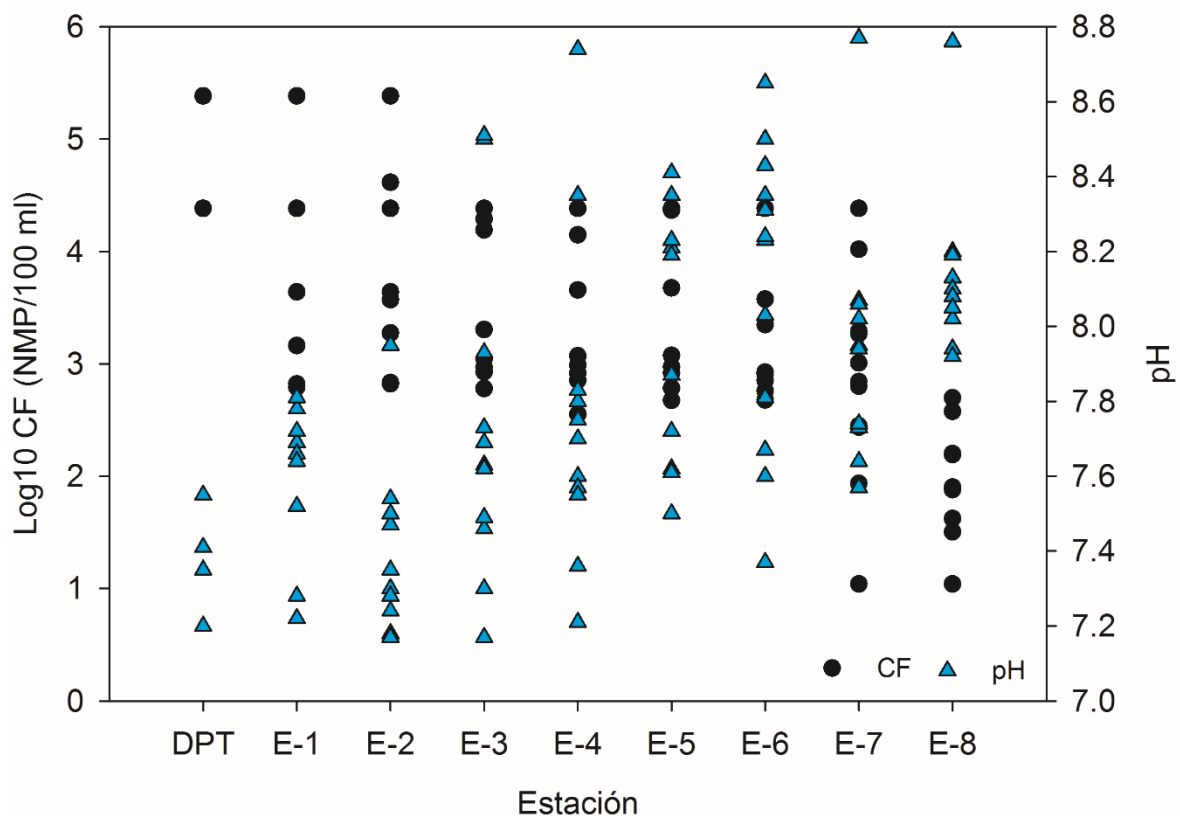


Figura 21. Variación espacial de la relación entre los coliformes fecales y el pH del agua en el área de estudio, durante un ciclo anual: agosto 2019-julio 2020.

Los resultados de CT y CF reportados durante el año muestran que la Laguna del Valle de las Garzas está exportando contaminación fecal hacia la dársena norte del PISP y eventualmente podrían salir estas bacterias hacia la Bahía de Manzanillo, que se encuentra adyacente al puerto. Por ello, es necesario realizar las siguientes acciones para mejorar la calidad del agua en la laguna.

- a) Mejorar la eficiencia de la planta de tratamiento para que la calidad del agua que se descarga a la laguna, cumpla con lo establecido por la Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-1996 y por La Ley Federal de Derechos para disposiciones aplicables en materia de aguas nacionales expedida por la Comisión Nacional del Agua, Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (2016).
- b) Eliminar las descargas no controladas de aguas residuales domésticas e industriales no tratadas que se vierten en la laguna, las cuales contribuyen con la contaminación microbiológica en el ecosistema.
- c) Controlar las fugas de aguas residuales de los registros que se encuentran en los canales pluviales durante la temporada de lluvias, que descargan a la laguna, para evitar la contaminación bacteriana en el cuerpo lagunar.
- d) Ampliar la infraestructura de la planta de tratamiento actual o construir una segunda planta, de tal forma que entre ambas proporcionen el adecuado tratamiento a las aguas residuales urbanas e industriales antes de verterlas a la laguna, cumpliendo con la calidad microbiológica establecida por la LFD-SEMARNAT (2016).
- e) Mantener la profundidad actual en la laguna que permita el intercambio de agua con el PISP, a través de las mareas para mejorar la circulación y la calidad del agua.
- f) Es necesario colocar avisos en la zona del Mirador para indicarle a la población que evite pescar organismos en la LVG y no consumirlos por la contaminación bacteriológica que presenta la laguna.

IX. CONCLUSIONES

La abundancia de los CT fue alta en el área de estudio con valores > 241960 NMP/100 ml, principalmente en la LVG y la dársena norte del PISP. A partir de diciembre de 2019, los valores registrados fueron > 24196 NMP/100 ml, sin embargo, cuando se utilizó dilución 100:1, los valores reportados fueron > 241960 NMP/100 ml. Los CF mostraron la misma tendencia que los CT durante el año, incrementando a partir de diciembre de 2019. En todos los meses del ciclo anual estudiado, las bacterias patógenas CF presentaron abundancias mayores a los límites máximos permisibles establecidos por la NOM-001-SEMARNAT (1996) y LFD-SEMARNAT (2016), para el uso de: Protección a la vida acuática: Aguas costeras y estuarios, y para la Protección a la vida acuática: Agua dulce, incluyendo humedales. Este mismo patrón fue observado en las estaciones de la LVG y en la dársena norte, con un claro gradiente en la abundancia de los coliformes de la parte norte de la laguna hacia el canal de entrada al PISP.

Las altas abundancias de los coliformes representan una preocupante contaminación fecal con bacterias patógenas humanas, que son el resultado de las descargas de aguas residuales urbanas e industriales controladas, pobremente tratadas, además de descargas no controladas de aguas residuales que contaminan el ecosistema. Estas bacterias son consideradas como indicadores de contaminación fecal que pueden generar infecciones de diversos tipos.

El crecimiento de los CF o termotolerantes responde a los cambios que presentan las variables ambientales como temperatura, salinidad, oxígeno disuelto y pH, entre otros. Estas variables también regulan la abundancia de las bacterias que son beneficiadas con el aumento de temperatura, sin embargo, tienden a disminuir cuando la salinidad, oxígeno y pH incrementan.

Los resultados reportados en este estudio muestran la suficiente evidencia de que la LVG presenta mala calidad del agua, como resultado de la alta contaminación fecal que contiene microorganismos patógenos y representan riesgo hacia la salud pública. Mientras se sigan vertiendo aguas a la laguna que no cumplan con los estándares de calidad microbiológica, ésta continuará contaminada con bacterias patógenas humanas, con importante riesgo sanitario.

X. BIBLIOGRAFÍA

- Aanderud, Z. T., J. C. Vert, J. T. Lennon, T. W. Magnusson, D. P. Breakwell, A. R. Harker. 2016. Bacterial dormancy is more prevalent in freshwater than hypersaline lakes. *Frontiers in Microbiology*, 7: 853. DOI:10.3389/fmicb.2016.00853.
- Adjahouinou, D. C., M. Lagnika, N. D. Tossavi, E. D. Fiogbe. 2015. Fecal contamination level of Cotonou Lagoon waters (Benin, West Africa). *International Journal of Multidisciplinary and Current Research*, 3: 245-250.
- Altinoluk-Mimiroglu, P. y B. Camur-Elipek. 2018. Comparative analysis of chemical and bacterial distribution of coastal lagoons and freshwater lakes in Turkish Thrace. *Hidrobiológica*, 28(1): 61-69.
- Ávila de Navia, S. L. y S. M. Estupiñan. 2009. Calidad sanitaria del agua de la Ciénaga Mata de Palma en el Departamento del Cesar, Colombia. *NOVA*. 7(11):85-91.
- Bastholm, S., L. Wahlstrøm, L. Appel, P. Roslev. 2008. A simple bioluminescence procedure for early warning detection of coliform bacteria in drinking water. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24: 2323-2330.
- Bachoon, D.S., S. Markand, E. Otero, G. Perry, A. Ramsubaugh. 2010. Assessment of non-point sources of fecal pollution in coastal waters of Puerto Rico and Trinidad. *Marine Pollution Bulletin*, 60: 1117-1121.
- Baños-Cruz, L. G. 2012. Distribución y concentración de coliforms totales, coliformes fecales, *Escherichia coli* y enterococos en el agua y sedimento en el Estero Salado. Tesis de Maestría, Universidad de Guayaquil. 60 pp.
- Barrera-Escorcia, G. y I. Wong-Chang. 2005. Contaminación por microorganismos en zonas costeras. *En*: Botello, A. V., J. Rendón-von Osten, G. Gold-Bouchot, C. Agraz-Hernández (eds.). *Golfo de México Contaminación e Impacto Ambiental: Diagnóstico y Tendencias*. 2ª ed. Univ. Autónoma de Campeche, Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto Nacional de Ecología, México, pp. 475-486.

- Becerra-Tapia, N. y A. Vázquez-Botello. 1995. Bacterias coliformes totales, fecales y patógenas en el sistema lagunar Chantuto-Panzacola, Chiapas, México. *Hidrobiológica*, 5(1-2): 87-94.
- Bou Saab, H. N. Nassif, A. G. El Samrani, D. Rosette, S. Medawar, N. Ouaiini. 2007. Suivi de la qualité bactériologique des eaux de surface (Rivière Nahr Ibrahim, Liban). *Revue des Sciences de l'Eau*, 208(49): 341- 352.
- Carrillo, E. M. y A. M. Lozano. 2008. Validación del método de detección de coliformes totales y fecales en agua potable utilizando Agar Chromocult. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. Microbiología Industrial. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá.
- Covert, T. C., L. C. Shadix, E. W. Rice, J. R. Haines, R. W. Freyberg. 1989. Evaluation of the autoanalysis Colilert test for detection and enumeration of total coliforms. *Applied and Environmental Microbiology*, 55: 2443-2447.
- Del Pilar M, S. Ávila, S. Mónica, A. C. Gómez. 2005. Indicadores microbiológicos de contaminación de las fuentes de agua. *NOVA - Publicación Científica*. 3(4):1794-2470.
- Delgado, Y., M. E. Miravet, R. Núñez. 2008. Indicadores microbiológicos de calidad del agua en la costa oeste de la Ciudad de La Habana. *Hig San Ambient.*, 8: 387-391.
- Doreen, N., J. Okot-Okumu, F. J. Muyodi. 2015. Microbial safety assessment of recreation water at Lake Nabugabo, Uganda. *African Journal of Environmental Science and Technology*, 9(10): 773-782. DOI:10.5897/AJEST2015.1979.
- Edberg, S. C., M. J. Allen, D. B. Smith, the National Collaborative Study. 1988. National field evaluation of a defined substrate method for the simultaneous enumeration of total coliforms and *Escherichia coli* from drinking waters: comparison with the standard multiple tube fermentation method. *Applied Environmental Microbiology*, 54: 1595-1601.
- Ehrhardt, J., A. S. Alabi, P. G. Kremsner, W. Rabsch, K. Becker, F. T. Foguim, T. Kuczus, M. Esen, F. Schaumburg. 2016. Bacterial contamination of water

- samples in Gabon, 2013. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 50(5): 718-722. DOI:10.1016/j.jmii.2016.03.009.
- Evanson, M. y R. F. Ambrose. 2006. Sources and growth dynamics of fecal indicator bacteria in a coastal wetland system and potential impacts to adjacent waters. *Water Research*, 40: 475-486.
- Farnleitner, A. H., G. Ryzinska-Paier, G. H. Reischer, M. M. Burtscher, S. Knetsch, A. K. T. Kirschner, T. Dirnböck, G. Kuschnig, R. L. Mach, R. Sommer. 2010. *Escherichia coli* and enterococci are sensitive and reliable indicators for human, livestock and wildlife faecal pollution in alpine mountainous water resources. *Journal Applied Microbiology*, 109(5): 1599-1608.
- Gesche, E., A. Vallejos, M. Sáez. 2003. Eficiencia de anaerobios sulfito-reductores como indicadores de calidad sanitaria de agua. Método de Número Más Probable (NMP). *Archivos de Medicina Veterinaria*, 35(1): 99-107.
- Hamaidi, M. S., F. Hamaidi, A. Zoubiri, F. Benouaklil, Y. Dhan. 2009. Etude de la dynamique des populations phytoplanctoniques et résultats préliminaires sur les blooms toxiques à cyanobacteries dans le barrage de Ghrib (Ain Defla-Algérie). *European Journal of Scientific Research*, 32(3): 369-380.
- Hebert, S. y S. Legare. 2000. Suivi de la qualité des rivières et petits cours d'eau. Direction du suivi de l'état de l'environnement. Ministère de l'Environnement, Québec, envirodoq, no.ENV-2001-0141, rapport no. QE-123. pp.24.
- Hong, H., J. Qiu, Y. Liang. 2010. Environmental factors influencing the distribution of total and fecal coliform bacteria in six water storage reservoirs in the Pearl River Delta Region, China. *Journal Environ. Sci.*, 22(5): 663-668.
- Huttly, S. R. 1990. The impact of inadequate sanitary conditions on health in developing countries, *World Health Statistics*, 48. pp. 118-126.
- Instituto Mexicano de Tecnología del Agua. 2010. Programa de monitoreo de las condiciones ambientales en la Laguna de Valle de las Garzas, Laguna San Pedrito, Manzanillo, Colima. Informe Final: Monitoreo abril-diciembre 2010. Coordinación de tratamiento y calidad del agua. Pp. 110.

- Kacar, A. 2011. Analysis of spatial and temporal variation in the levels of microbial fecal indicators in the major rivers flowing into the Aegean Sea, Turkey. *Ecology Indicators*, 11(5): 1360-1365.
- Konan, K. S., A. M. Kouassi, A. A. Adingra, D. Gnakri. 2009. Spatial and temporal variation of fecal contamination indicators in Grand-Lahou lagoon, Côte d'Ivoire. *Journal of Applied Biosciences*, 23: 1422-1435.
- Larrea-Murrell, J. A., M. M. Rojas-Badía, B. Romeu-Álvarez, B., N. M. Rojas-Hernández, M. Heydrich-Pérez. 2012. Bacterias indicadoras de contaminación fecal en la evaluación de las aguas: revisión de la literatura. *CENIC. Ciencias Biológicas*, 44(3): 24-34.
- Leclerc, H., D. A. A. Mossel, S. C. Edberg, C. B. Struijk. 2001. Advances in the bacteriology of the coliform group: Their suitability as markers of microbial water safety. *Annual Review Microbiology*, 55: 201-234.
- Lipp, E. K., S. A. Farrah, J. B. Rose. 2001. Assessment and impact of microbial fecal pollution and human enteric pathogen in a coastal community. *Maritime Pollut Bull*, 42(4): 286 – 293.
- Luby, S. P., S. K. Gupta, M. A. Sheikh, R. B. Johnston, P. K. Ram, M. S. Islam. 2008. Tubewell water quality and predictors of contamination in three flood-prone areas in Bangladesh. *Appl. Microbiol*, 105: 1002- 1008.
- Malaver, N., M. Rodríguez, V. H. Aguilar. 2014. Un Diagnóstico de la calidad microbiológica del agua de la Laguna de Tacarigua, Estado Miranda, Venezuela. *Acta Biol. Venez.*, 34(2): 203-226.
- Marín, B., Vivas, L. J., Troncoso, W., Acosta, J. A., Vélez, A. M., Betancourt, J. 2004. Diagnóstico y evaluación de la calidad ambiental marina en el Caribe y Pacífico colombiano red de vigilancia para la conservación y protección de las aguas marinas y costeras de Colombia. *Diagnóstico Nacional y Regional 2003. INVEMAR*.
- Munn, C. B. 2004. *Marine Microbiology: ecology and applications*. New York. BIOS Scientific Publisher.

- Prats, J., T. García-Armisen, J. Larrea, P. Servais. 2008. Comparison of culture-based methods to enumerate *Escherichia coli* in tropical and temperate freshwaters. *Letters in Applied Microbiology*, 46(2):243-248.
- Ramos-Ortega, L. M., L. A. Vidal, S. Vildary, L. Saavedra-Díaz. 2008. Análisis de la contaminación microbiológica (coliformes totales y fecales) en la Bahía de Santa Marta, Caribe colombiano. *Acta Biol. Colomb.* 13(3): 87-98.
- Rivera, R., P. de Los Ríos, Á. Contreras. 2010. Relations fecal coliforms/ fecal streptococci as indicators of the origin of fecal pollution in urban and rural water bodies of Temuco, Chile. *Cien Inv Agr.* 37(2):141-149.
- Robert, M. 2014. Microorganismos indicadores de la calidad del agua potable en Cuba. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 45(1): 32-43.
- Santiago-Rodriguez, T. M., R. L. Tremblay, C. Toledo-Hernandez, J. E. Gonzalez-Nieves, H. Ryu, J. W. Santo Domingo, G. A. Toranzos. 2012. Microbial quality of tropical inland waters and effects of rainfall events. *Appl and Environ Microbiol.*, 78(15): 5160-5169.
- Savichtcheva, O. y S. Okabe. 2006. Alternative indicators of fecal pollution relations with pathogen and conventional indicators, current methodologies for direct pathogen monitoring and future applications perspectives. *Water Research*, 40: 2463-2476.
- SEMARNAT (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales). 1996. Normas Oficiales Mexicanas. Comisión Nacional del Agua. pp. 65.
- SEMARNAT (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2016. Ley Federal de Derechos, Disposiciones aplicables en materia de aguas nacionales. Comisión Nacional del Agua. pp. 173.
- Swiatecki, A. 1997. Spatial and seasonal changes in bacterioplankton of heated Koninskie lakes. *Archives of Polish Fisheries*, 5(1): 167-182.
- United States Environment Protection Agency. 2003. Bacterial water quality standards for recreational waters (freshwater and marine waters), status report. Office of Water (4305T). EPA-823-R-03-008. pp. 32.
- Villa-Jaime, L. 2014. Espacio urbano y vulnerabilidad: construcción social del riesgo hidrometeorológicos. El caso de Valle de las Garzas, Manzanillo. Tesis

de maestría, Maestría en Comunicación de la Ciencia y la Cultura.
Tlaquepaque, Jalisco: ITESO.

World Health Organization. 2003. Guidelines for safe recreational water environments, volume 1: Coastal and fresh waters. WHO Library Cataloguing in Publication Data. pp. 253.

Yetis, A. D. y Z. Selek. 2014. Determination of total and fecal coliforms of Akyatan Lagoon in terms of microbiological pollution. Arabian Journal Geoscience. DOI 10.1007/s12517-014-1268-3.

Zar, J. H. 2010. Biostatistical Analysis. Fifth edition. Prentice Hall. 944 pp.