

1991 - A

COD. 083296607

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



DETECCION DE BACTERIAS COLIFORMES COMO INDICE DE
CONTAMINACION EN EL ESTERO " EL CHORRO ", MUNICIPIO
DE TOMATLAN, JALISCO, MEXICO.

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE :

LICENCIADO EN BIOLOGIA

P R E S E N T A :

JOSE SAUL HERNANDEZ GARZA

GUADALAJARA, JAL., SEPTIEMBRE 1993



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Expediente

Número

Sección

C. JOSE SAUL HERNANDEZ GARZA
P R E S E N T E . -

Manifiestamos a usted, que con esta fecha, ha sido aprobado el tema de Tesis "DETECCION DE BACTERIAS COLIFORMES TOTALES COMO INDICE DE CONTAMINACION EN EL ESTERO "EL CHORRO" MUNICIPIO DE TOMATLAN, JALISCO" para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informo que ha sido aceptada como Directora de dicha Tesis la Biol. Marisela G. Mendoza Meneses.

A T E N T A M E N T E
 " PIENSA Y TRABAJA "
 Guadalajara, Jal., 26 de Julio de 1993.
 EL DIRECTOR



FACULTAD DE
CIENCIAS BIOLÓGICAS

DR. ELIGIO PIMIENTA BARRIOS

EL SECRETARIO

M. EN C. MA. GEORGINA GUZMAN GODINEZ

c.c.p.- Biol. Marisela Mendoza Meneses; Directora de tesis.- pte.

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

DETECCION DE BACTERIAS COLIFORMES COMO INDICE
DE CONTAMINACION. EN EL ESTERO "EL CHORRO",
MUNICIPIO DE TOMATLAN, JALISCO.

TESIS PROFESIONAL

que para obtener el título de
LICENCIADO EN BIOLOGIA

P R E S E N T A:

JOSE SAUL HERNANDEZ GARZA

DIRECTOR DE TESIS:

BIOL. MARISELA G. MENDOZA MENESES

SINODALES:

Q.F.B. MARGARITA BONILLA

M. en C. EMILIO MICHEL MORFIN

BIOL. GUILLERMO BARBA CALVILLO

A G R A D E C I M I E N T O S

A la Universidad de Guadalajara por haberme permitido realizarme como profesionista.

A la Facultad de Ciencias Biológicas por haberme permitido cursar esta extraordinaria carrera.

A mi director de tesis la Biol. Marisela G. Mendoza Meneses por su acertada dirección, invaluable apoyo en todo momento y por su amistad.

Al Dr. en C. Jesús Sánchez por su asesoría en la interpretación de los resultados.

A la Q.F.B. Margarita Bonilla por su ayuda en el préstamo del material del laboratorio que está a su cargo.

A todas aquellas personas que de alguna u otra manera intervinieron en la realización de este trabajo.

DEDICATORIAS

A mis padres Saúl Hernández Rivera y Francisca Garza de Hernández que siempre han estado en todo momento conmigo y me alientan a seguir adelante.

A mis hermanos Miguel, Paco, Fernando y Brenda.

A mis compañeros de generación, en especial Angel y Tofio.

El presente trabajo se desarrolló en el laboratorio de Biología II de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad de Guadalajara bajo la dirección de la Biól. Marisela Guillermina Mendoza Meneses.

RESUMEN

Se evaluó el índice de bacterias coliformes en el estero "El Chorro", municipio de Tomatlán, Jalisco, con la técnica de Número Más Probable (NMP). Se muestrearon 4 estaciones al azar por un lapso de 7 meses (sep. 1992 - may. 1993), determinándose además los parámetros pH, donde se registra sólo una variación máxima de una unidad (7-8) por lo que se puede inferir que no influye en forma drástica en la concentración bacteriana; de la misma forma se pudo determinar que la profundidad (1 m, 2 meses; 15 cm, 5 meses) no afectó los resultados; las temperaturas mínimas del agua se registraron en enero con 22°C y las máximas de 31°C en octubre; la temperatura ambiente menor fué de 24°C en enero y la mayor de 34°C en marzo; la boca del estero se encontró cerrada los meses de septiembre, marzo y mayo, con un mayor índice bacteriano y estuvo abierta en octubre, noviembre, enero y febrero, disminuyendo en estos meses la densidad bacteriana. Los datos cuantitativos obtenidos a partir de 7 meses de muestreo, se sometieron a análisis estadístico, a fin de evaluar las variaciones temporales (entre meses) y espaciales (entre estaciones). Los resultados evidenciaron una nula variación espacial ($P < 0.05$). Sólo los meses de Octubre y Marzo resultaron significativamente diferentes a todos los demás meses ($P < 0.05$). Se rechaza una posible dependencia lineal entre la temperatura del agua y la concentración bacteriana en un límite de confianza del 95%. De acuerdo al contenido bacteriano se clasificaron las aguas del estero, en base al reglamento de la Secretaría de Salubridad y Asistencia.

C O N T E N I D O

	Pág.
Resumen	vii
I. INTRODUCCION	1
II. ANTECEDENTES	13
III. OBJETIVO	17
IV. DESCRIPCION DE LA ZONA DE ESTUDIO	19
Figura 1	22
V. METODOLOGIA	23
Figura 2	28
Figura 3	29
VI. RESULTADOS	30
Tabla 1	36
Tabla 2 y 3	37
Tabla 4 y 5	38
Tabla 6 y Cuadro I	39
Tabla 7 y Cuadro II	40
Tabla 8 y Cuadro III	41
Gráfica 1	42
Gráfica 2	43
Gráfica 3	44
VII. DISCUSION	45
VIII. CONCLUSIONES	49
IX. LITERATURA CITADA	52

I. INTRODUCCION

A pesar de ser tan común, el agua es extraordinaria. Está en todas partes, adoptando la forma de océanos, campos de hielo, lagos y ríos, cubre cerca de las tres cuartas partes de la Tierra; conjuntamente, estas extensiones contienen más de 1350 millones de kilómetros cúbicos de agua, y por debajo de la superficie, filtrándose por suelos y rocas, hay unos 8 millones más de kilómetros cúbicos de agua, casi toda en forma de vapor. (17).

El agua es incolora, inolora e insabora, como sustancia química, es única, ya que es un compuesto de gran estabilidad, solvente notable y poderosa fuente de energía química, además sustenta todas las formas de vida: algunos organismos de gran simplicidad pueden existir sin aire, pero ninguno puede desarrollarse sin agua. (17).

Existe libre en la naturaleza en los tres estados físicos y constituye alrededor de 70% del peso corporal humano en donde tiene importante papel en la regulación térmica. (1).

Tal conjunto de cualidades ha llevado a darle al agua una larga lista de usos en la satisfacción de

Un agua potable e inocua debe ajustarse a las siguientes características de calidad. Debe ser o estar:

1. Libre de organismos patógenos.
2. Baja en concentraciones de compuestos muy tóxicos o que tengan efectos serios a largo plazo.
3. Clara.
4. No salina (salada).
5. Libre de compuestos que provoquen un olor o sabor desagradables. (31).

De las diversas formas de contaminación, la ocasionada por desechos domésticos como basura y aguas negras, son de gran importancia puesto que reflejan el grado de desarrollo o subdesarrollo de un pueblo, una ciudad o un país. Esto sin contar el daño ecológico a las formas de vida que se encuentran o tienen contacto con el agua que comúnmente es la receptora de los subproductos del hombre. (31).

Las áreas cercanas a ríos, lagos, lagunas, esteros y el mar son portadoras de diversos contaminantes, entre los cuales, las aguas residuales son notables por contener una serie de microorganismos como bacterias, virus, protozoarios, etc., indicadores significativos de la

necesidades en las comunidades humanas, como: bebida, higiene personal, uso recreativo en sistemas abiertos, riego, aseo de utensilios, lavado de alimentos, retiro de desechos domésticos e industriales, etc., involucrando por esto riesgos para la salud, los que surgen de los siguientes hechos:

1. El agua se pone en contacto directo con sustancias tóxicas y microorganismos patógenos.
2. Como resultado estos agentes se incorporan al agua disueltos o en suspensión.
3. El contacto ocurre espontáneamente en la naturaleza o como consecuencia del uso que hacemos del agua lo que es prácticamente inevitable.
4. Al hacer uso del agua, ésta se pone en contacto directo con el cuerpo humano, externa e internamente. (1).

El agua como elemento indispensable para las distintas formas de vida, necesita ser protegida contra cualquier contaminante (agente físico, químico o biológico) que cambie las características naturales e ideales para el desarrollo de los organismos. (20).

calidad del agua. (20).

Por otra parte, reconociendo que la necesidad del uso de ésta es de tal magnitud, su análisis es fundamental ya que puede acarrear una gran variedad de agentes patógenos. (12).

Por ejemplo, los análisis bacteriológicos que se realizan en cuerpos lacustres son esenciales, porque están directamente relacionados con la salud pública (32), y debido a que en éstos se realizan actividades de diversa índole por parte de pobladores cercanos a dichos sistemas hídricos, aumenta más el grado de importancia para llevar a cabo su evaluación.

La determinación de índices bacteriológicos de un grupo específico (el coliforme) demostrará por su sola presencia que ha ocurrido contaminación. Estos índices bacteriológicos se usan para demostrar la contaminación del agua por organismos originarios de los desechos de animales de sangre caliente incluyendo al hombre. (26). Es precisamente el agua el transporte de estos microorganismos y mediante el análisis de coliformes podemos establecer los posibles riesgos de contaminación y el peligro para la salud pública, ya que presentan una fuente de infección para las enfermedades de origen hídrico como son la

tifoidea, paratifoidea, cólera, disentería, así como también infecciones en la piel y el oído entre otras. (2,32).

Los coliformes se clasifican como bacilos cortos, no esporulados, aerobios y anaerobios facultativos, Gram negativos, que fermentan la lactosa con producción de acidez y gas a temperatura de $35\text{ C} \pm 0.5$ en 48 horas. (1,2,14,26,32).

El grupo coliforme comprende más de 20 especies particulares y se llama coliforme por el hecho de que tiene su hábitat natural en el intestino grueso de los seres humanos y los animales (14); a menudo se denominan "bacilos entéricos". En este grupo se incluyen algunos de los patógenos intestinales más importantes en el hombre, por ejemplo, los agentes de la fiebre tifoidea y disentería bacilar. Muchos bacilos entéricos no causan enfermedad cuando quedan confinados en el tracto intestinal de un huésped normal, pero en el huésped alterado o frente a una oportunidad de invadir otros sitios del cuerpo, pueden tener la capacidad de producir enfermedad en cualquier tejido. De hecho, los microorganismos de esta familia son responsables de la mayoría de las infecciones hospitalarias; causan infecciones de las vías urinarias y de heridas, neumonía, meningitis y septicemia. Dentro de

los géneros más importantes se encuentran: Escherichia sp., Shigella sp., Klebsiella sp., Enterobacter sp. y Salmonella sp., que producen como ya mencionamos enfermedades entéricas, disenterías bacilares, fiebre tifoidea y gastroenteritis. (15).

Dentro de los métodos utilizados para el recuento de estos microorganismos, algunos son directos, en el sentido de contar directamente cada microorganismo. Otros métodos son indirectos; en ellos el analista no observa directamente al microorganismo, sino algún producto del mismo que guarda relación en su intensidad o abundancia, con los originalmente presentes en el material en estudio. (1).

La cuenta de colonias por vaciado en placa, la cuenta de colonias por inoculación en superficie con la técnica de Miles y Misra y la técnica por extensión en superficie, son algunas de las más utilizadas, donde se efectúa un recuento real de unidades (las colonias microbianas), a partir del cual, mediante cálculo, se llega a la cifra que expresará la carga microbiana presente. (1). La única prueba microbiológica estatutoria vigente en muchos países en el mundo es la "Prueba de Determinación de Coliformes". Generalmente consiste en el método de Número Más Probable (NMP) realizado en medio líquido. (10). La

técnica del Número Más Probable (NMP) difiere de las descritas en que no existe tal recuento, la estimación del contenido de microorganismos se hace con base a la magnitud del cambio observado en los cultivos como resultado de la actividad bacteriana. (1); esta técnica se basa en el concepto de que el nivel de dilución de la muestra original necesaria para obtener un resultado negativo es una prueba fisiológica en un medio de crecimiento particular y está relacionado con el tamaño de la misma población. (10).

La técnica de NMP se fundamenta en la fermentación de la lactosa con formación de gas, en condiciones específicas de tiempo y temperatura por medio del grupo coliforme y encuentra gran aplicación para determinar la calidad sanitaria del agua. (32).

Esta técnica descansa en una base estadística, matemática inobjetable, para expresar cuantitativamente la densidad de microorganismos en el material. La prueba consiste en inocular series de tubos con un medio de cultivo y algún dispositivo o indicador que permita poner de manifiesto un microorganismo o un grupo particular de ellos. Un cierto número de tubos se inocula con volúmenes definidos de muestra; por ejemplo, 3 tubos con 10 ml, 3 con 1 ml y 3 con 0.1 ml. Después de la incubación es de esperarse, si la distribución de

microorganismos viables es homogénea a la muestra original, un número de tubos positivos en proporción directa al contenido microbiano de la muestra. Para cada combinación de tubos positivos, con respecto a los inoculados, existe un número que puede consultarse en las tablas que para el efecto acompañan al método. (1).

En la preparación de estas tablas se ha utilizado el cálculo estadístico mediante fórmulas que conducen a límites de confianza para el número que por tal razón se ha clasificado de más probable. Los límites de confianza de 0.95 significan que de 100 ensayos practicados en la muestra bajo estudio, 95 de ellos darán resultados entre tales límites. (1).

La técnica de NMP requiere de mucho más material que la utilizada en los recuentos en placa y se considera en general, que posee una menor exactitud y precisión; es sin embargo, incomparablemente más sensible ya que pone de manifiesto unos cuantos microorganismos o uno solo, en un gran volúmen de muestra (teóricamente litros). Por esta razón encuentra aplicación en el análisis de agua. (1).

Con frecuencia en la aplicación de la técnica de NMP de un grupo particular de microorganismos,

el ensayo se extiende a dos o más estadios; en el primero, que constituye la prueba presuntiva, los tubos positivos pueden ser el resultado de la actividad del microorganismo en cuestión, o también de otros con comportamiento similar e incluso, de asociaciones de diferentes microorganismos. Lo que viene a ser la prueba presuntiva en la investigación de microorganismos coliformes, consiste en inocular alícuotas de la muestra en tubos de fermentación con caldo lactosado. En ellos, estos microorganismos proliferan fácilmente fermentando la lactosa y liberando anhídrido carbónico que en gran cantidad se acumula en la campana o tubo de Durham. Un efecto semejante puede ocurrir en ausencia de organismos coliformes como resultado de la acción sinérgica de dos tipos de bacterias; una capaz de fermentar la lactosa hasta ácido láctico y pirúvico; y otra que metaboliza estos ácidos generando el gas aldehído y ácidos menores. Algunas bacterias Gram positivas también pueden, aunque en menor grado producir gas a partir de la lactosa. Se hace por ello indispensable efectuar un segundo ensayo, llamado prueba confirmatoria en la cual los organismos coliformes, en caso de existir, proliferan activamente en tanto que los falsos positivos serán inhibidos por la presencia de sustancias selectivas antibacterianas adicionales al medio de confirmación. (1).

Las normas establecidas por el reglamento

para la prevención y control de la contaminación de las aguas editado por la Secretaría de Salubridad y Asistencia (1977), establece distintas clasificaciones de las aguas costeras. En función de sus usos y características de calidad, dicta:

Para la clase C1, que es el uso de cultivo de mariscos de consumo directo y áreas de acuacultura, una concentración de bacterias coliformes menor a 70/100 ml.

Para aguas clase C2, de uso de recreación con contacto primario y todos los demás usos excepto C1, la concentración mensual deberá ser menor a 1000 coliformes por 100 ml.

Para la clase C3, de uso recreativo sin contacto primario y todos los demás usos excepto los anteriores establece un promedio mensual menor a los 2000 coliformes por 100 ml. de agua.

En la clase C4, de usos de explotación pesquera de especies de escama y todos los demás usos excepto los anteriores da un valor mensual a los 10,000 coliformes por 100 ml. de agua. (20).

Lo anteriormente descrito, determina la

importancia de llevar a cabo monitoreos continuos de los cuerpos de agua, para delimitar las estrategias a seguir en cuanto a su uso.

II. ANTECEDENTES

Son escasos los estudios al respecto realizados en cuerpos de agua como esteros, ríos, lagos, lagunas, etc. La mayor parte de la bibliografía hace mención a trabajos en sistemas de agua potable. En ciudades como, Guadalajara (8,12,25) los resultados obtenidos son bastante satisfactorios, cumpliendo perfectamente con las normas establecidas por la Secretaría de Salubridad y Asistencia; en algunas poblaciones, como en Jiquilpan, Michoacán (11) se presentó una contaminación ligera de colibacilos, al igual que en Ahualulco del Mercado, Jal. (18) Puerto Vallarta, Jal. (24) con resultados poco satisfactorios, donde el aumento de las colonias depende de el lugar de la toma; y El Grullo, Jal. (5,19) la determinación de coliformes con la Técnica de NMP fué menos de 2 en 100 ml.; Ciudad Guzmán, Jal. (35) los resultados registrados cumplierón con las normas de Salubridad; Milpillas, Jal. (33) poblado que carece de sistemas de agua potable y se abastece por medio de pozos, los cuales se encuentran contaminados por E. coli, existiendo una relación directa con la patología infecciosa gastrointestinal y su frecuencia en este lugar.

En general, la mayoría de los sistemas de

agua potable en las poblaciones mencionadas, cumplieron de manera satisfactoria con los reglamentos decretados por la Secretaría de Salubridad y Asistencia en el año de 1977. Cuando el nivel de coliformes en las pruebas bacteriológicas excedió de los límites normales, el tratamiento con cloro resultó ser el método más efectivo para eliminar esta contaminación. El método más empleado para cuantificar el índice de coliformes fué la técnica de NMP.

Entre los pocos estudios llevados a cabo en cuerpos lacustres y fluviales son:

En el año de 1986 en el río Tamazula (7) se evaluó el grado de contaminación y el peligro que ésto representa, encontrándose una alta concentración de bacterias (Enterobacter sp., Shigella sp., Salmonella sp., Escherichia sp.) como fuente de enfermedades, determinándose que sólo era apta para el uso agrícola, pues no presentan gran cantidad de bacterias patógenas que pudieran adherirse a los cultivos. En 1989 en los manantiales de Pihuamo, Jal. (6) el reporte del análisis microbiológico indicó, que las muestras rebasan la norma de potabilización y se recomendó hervir el agua. En la Laguna de Cuyutlán, Manzanillo, Col., en el año de 1984 (20) se evaluarón los niveles microbiológicos de coliformes fecales y de estreptococos fecales y como resultado, se

encontró un aumento en los niveles permisibles de acuerdo al reglamento para la prevención y control de la contaminación de aguas, editado por la Secretaría de Salubridad y Asistencia en 1977. En los años de 1974 (21), 1979 (13) y 1992 (23), se realizaron una serie de estudios en el lago de Chapala, donde se encontraron altas concentraciones de microorganismos patógenos de origen fecal, como E. coli, Salmonella sp., Proteus sp., Klebsiella sp., Enterobacter sp. y Shigella sp. convirtiendo a los peces en portadores peligrosos; las riberas de la población de Ocotlán y Chapala resultaron las zonas más contaminadas sugiriéndose hacer estudios epidemiológicos en la población de toda la ribera del lago. Y en 1988 en el estero de Bahía Blanca-Argentina (2) se empleó como indicadora de contaminación fecal a E. coli para lograr el conocimiento de su distribución espacial y fluctuaciones durante el año; los datos mostrarán una marcada variación espacial, clasificando al estero en distintas zonas de acuerdo al contenido de E. coli en sus aguas, aumentando en las zonas de descarga.

Como se puede observar, los estudios de éste tipo son escasos a pesar de ser necesarios para conocer el uso potencial, de acuerdo a su calidad, de estos cuerpos de agua.

III. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el índice de contaminación por bacterias coliformes en el estero "El Chorro", municipio de Tomatlán, Jalisco, mediante la técnica de Número Más Probable (NMP).

IV. DESCRIPCION DEL AREA DE ESTUDIO:

LOCALIZACION.— El presente estudio se llevó a cabo dentro de la zona de Reserva Federal, en el estero llamado "El Chorro", municipio de Tomatlán, Jalisco, ubicado en las coordenadas 19°53' latitud norte y 105°24' longitud oeste, con una superficie de 350 has. y con una máxima capacidad de 11'664,000 m³. Pertenece a la región hidrológica de la costa de Jalisco, cuenca hidrológica Tomatlán-Tecuán y según la clasificación de Lankford, de acuerdo a sus características en origen y forma pertenece al tipo IA, presentando una barrera arenosa que lo separa del mar, pero con salida de agua, ya sea de forma continua o temporalmente, hacia éste y usualmente con un gradiente hiposalino. (Fig. 1).

CLIMA.— El clima de la región norte es clasificado como subhúmedo AwO (W) con lluvias en verano, la zona centro y sur es de tipo semiseco Bshw (W). La temperatura media anual es de 26.8°C a 28°C, donde junio, julio y agosto por lo general son los meses más cálidos, registrándose temperaturas promedio de 28.7°C, con una precipitación media anual de 200 a 800 mm.

VEGETACION.- La selva baja caducifolia es la representativa del área de estudio, encontrándose algunos manchones de pastizales inducidos y cultivados; predomina la agricultura de riego. La zona litoral presenta vegetación de dunas costeras y en los esteros es común encontrar manglares.

FISIOGRAFIA.- La zona se encuentra dentro de la provincia denominada sierras de la costa de Jalisco y Colima presentando llanuras y deltas.

SUELO.- Es una asociación edáfica de regosol calcárico, cambisol eútrico y regosol eútrico.

MAREAS.- El régimen de mareas para esta zona es de tipo mixto, predominantemente semidiurnas, ocurriendo dos pleamares y dos bajamares por día, la cual se convierte en diurna unos días antes y después de los cuarto menguantes y crecientes. (16,28,29,34).

V. METODOLOGIA

RECOLECCION DE MUESTRAS

Para la recolección de muestras, se determinó un área del estero en donde estuvo más expuesto al contacto humano, eligiéndose 4 puntos (estaciones) al azar. (Fig. 2). Las tomas se realizaron mensualmente a una profundidad de 1 m y de 15 cm.

Se utilizaron frascos de vidrio resistentes, de boca ancha con tapón de rosca y una capacidad de aproximadamente 150 ml., los cuales fueron envueltos en papel estrasa y esterilizados. Se sumergió el frasco cerrado, con el cuello hacia abajo, se destapó y se giró de modo que el cuello quedara ligeramente más elevado que la base. La boca del frasco se dirigió en sentido contrario a la de la corriente evitando con ésto que el agua tocara primero las manos provocando una contaminación. (27).

Se midió la temperatura del agua ya que es un parámetro muy importante debido a sus efectos directos sobre las reacciones químicas y biológicas en la vida

acuática; para determinarla se utilizó un termómetro de mercurio, sumergiéndolo en el agua en el área donde se recolectó la muestra y a la misma profundidad de 15 cm., dejándose transcurrir el tiempo suficiente para que la lectura fuera constante. (27).

La lectura del pH se realizó mediante tiras de papel indicador.

Después de realizado el muestreo, los frascos se etiquetaron con los siguientes datos: lugar de muestreo, fecha, hora de recolección, temperatura del agua y ambiente, además del pH del agua. (26,27).

Inmediatamente las muestras fueron colocadas dentro de una hielera para conservarlas durante el transporte, hasta su análisis. (26,27).

ANALISIS DE LA MUESTRA

La metodología que se siguió para el procesamiento de la muestra fué el uso de la técnica de Número Más Probable con el método de tubos múltiples de fermentación. (Fig. 3).

PRUEBA PRESUNTIVA.- Con una pipeta estéril , se agrega 1 ml. de muestra a un tubo de ensayo que contiene 9 ml. de

solución salina estéril obteniendo una dilución de 10-1. Del tubo con la dilución 10-1 se agrega 1 ml. de muestra a otro tubo con solución salina estéril para obtener una dilución de 10-2, y de éste a otro tubo para la dilución 10-3. Posteriormente se agrega 1 ml. por cada dilución a 3 tubos de caldo lactosado estéril. se homogeniza la muestra y se incuban a $35^{\circ}\text{C} \pm 0.5$, durante 24 horas.

Los tubos que presenten una pequeña burbuja de gas dentro de los tubos Durham, se consideran positivos; aquellos que no exhiban formación de gas se colocaron nuevamente en la incubadora durante un periodo adicional de 24 horas.

Los tubos de fermentación inoculados que muestren gases dentro de las 48 horas, se consideran positivos indicando la presencia de coliformes.

Los tubos de fermentación inoculados que no manifiesten gases dentro de las 48 horas, se consideran negativos. Esta ausencia de gases es una prueba definitiva de la inexistencia de bacterias coliformes y por lo tanto el análisis queda concluido en estos tubos. (2,4,14,22,26,32).

PRUEBA CONFIRMATIVA.- Por cada uno de los tubos de

fermentación que son positivos para la prueba presuntiva, se inoculan 3 tubos de fermentación con caldo bilis verde brillante estéril, utilizando un asa de siembra. Se marca el nuevo tubo inoculado con el mismo número que se identificó al tubo de la prueba presuntiva. Se colocan los tubos a una temperatura de $35^{\circ}\text{C} \pm 0.5$. observandose después de 24 horas de incubación. Los tubos que presentan formación de gas se consideran positivos; aquellos donde no hay producción de gas se incuban por 24 horas más.

Los tubos de fermentación con caldo bilis verde brillante que presentan formación de gas dentro de las 48 horas se consideran positivos confirmando la presencia de bacterias coliformes; por el contrario, la ausencia de gases es un testimonio definitivo de la ausencia de estos microorganismos. (2,4,14,22,26,32).

Con el número total de tubos positivos de cada serie, obtenidos hasta las 48 horas; se busca el número más probable en las tablas de Número Más Probable. Los resultados se expresan como total de número de bacterias por 100 ml. de muestra. (32,14).



NORTE

- ESTACIONES DE MUESTREO
- XXX BARRERA DE ARENA
(CUANDO ESTA CERRADA
LA BOCA DEL ESTERO)

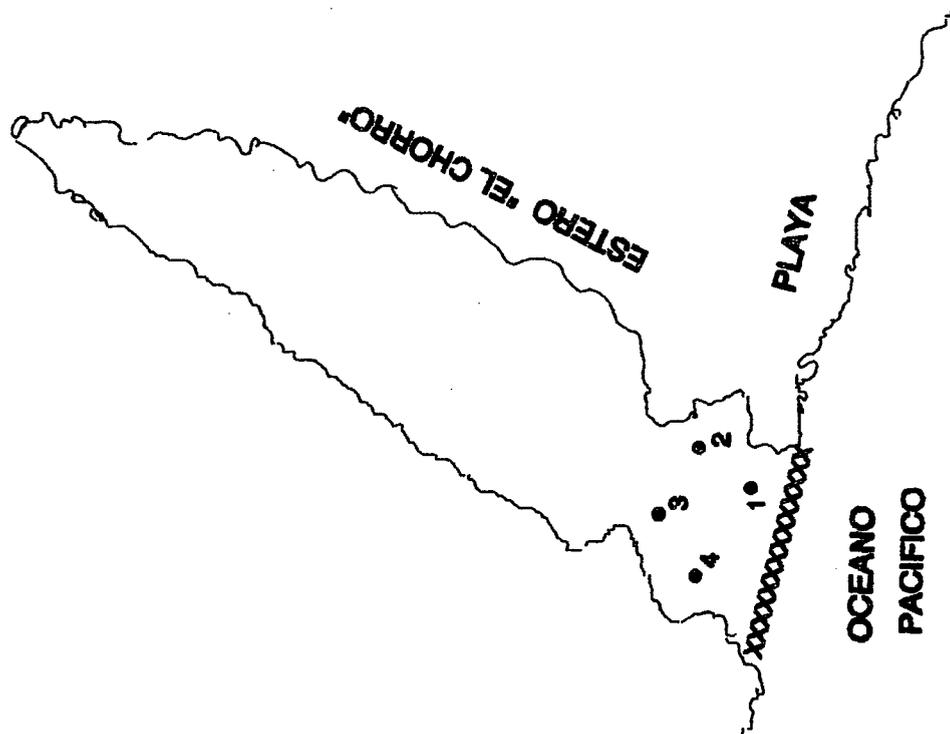


FIG. 2 LOCALIZACION DE ESTACIONES EN EL AREA DE ESTUDIO.

D I A G R A M A D E F L U J O

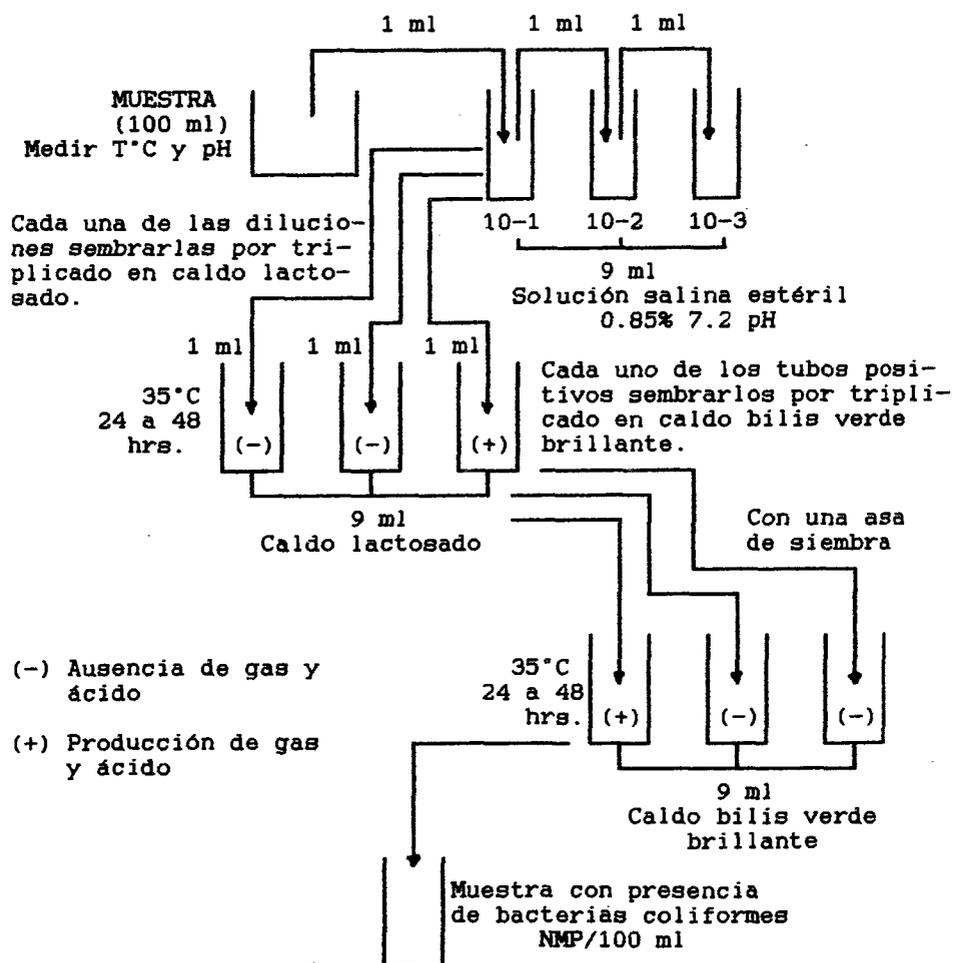


FIG. 3. DIAGRAMA DE FLUJO DEL PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS.

VI. RESULTADOS

Los muestreos se realizaron en los meses de Septiembre, Octubre, Noviembre, Enero, Febrero, Marzo y Mayo, correspondientes a 1992 y 1993.

Los resultados registrados a partir de la Tabla de NMP. (Tabla 1) se obtuvieron de la siguiente manera: por ejemplo, en el mes de Enero en la estación 3, el resultado fué de 3-1-0, es decir, 3 tubos positivos en la dilución 10-1; 1 tubo positivo en la dilución 10-2 y 0 tubos positivos en la dilución 10-3; posteriormente se buscó en la Tabla de NMP el código 3.1.0, siendo el resultado para este caso de 430 bac/100 ml.

Los datos generales de las cuatro estaciones de muestreo, aparecen en la Tabla 2, 3, 4, 5 respectivamente, con los siguientes datos por mes: pH, temperatura del agua, temperatura ambiente, profundidad, situación de la boca del estero y cantidad de bacterias coliformes en 100 ml.

En general, el comportamiento del parámetro pH a lo largo de los meses y estaciones de muestreo, fué significativamente muy similar como se observa en la Gráfica

1, en donde las estaciones 1 y 4 sólo en el mes de Enero el valor fué de 8 y en los restantes de 7; en las estaciones 2 y 3, 8 fué el valor en los meses de Noviembre y Enero, 7 para el resto de los meses.

Se observa el análisis de varianza por medio de la prueba de Duncan en la media de los cuadrados medios, que sólo los meses de Febrero, Marzo y Mayo son significativamente iguales, con 7; Noviembre y Octubre resultaron diferentes, con 7.5 y 8 respectivamente. (Tabla 6 y Cuadro 1).

En cuanto a la temperatura del agua, los valores máximos se registraron en el mes de Octubre y los mínimos en Enero; como aparecen en la Gráfica 2. En la estación 1, el valor más alto fué de 31°C y el más bajo de 23°C. En la estación 2, fué de 30°C y de 22°C. En la estación 3, fué de 31°C el máximo y de 22°C el mínimo. En la estación 4, 31°C en Octubre y 22°C en Enero.

La temperatura entre las 4 estaciones en un mismo mes, nunca excedió de 1°C, incluso hay valores idénticos en todas las estaciones en el mes de Noviembre de 29°C, como se muestra en la Gráfica 1.

El análisis de varianza, por medio de la

prueba de Duncan, en el mes de Septiembre y Noviembre son significativamente iguales con 29.5 y 29 respectivamente; Febrero y Marzo también lo son con 25.2 y 25.5 respectivamente y los meses de Octubre, Enero y Mayo son significativamente diferentes de todos los demás con 30.7, 22.5 y 26.5 respectivamente. (Tabla 7 y Cuadro 2).

La temperatura ambiente más alta se registra en Marzo con 34°C y la más baja en Enero con 24°C; con un promedio de 29.2°C.

El índice de bacterias coliformes registrado entre las estaciones a través de los meses de estudio, muestra que Marzo es el mes con más alta concentración y Octubre el mes con el más bajo índice. Como se observa en la Gráfica 3, en la estación 1, Marzo registra el valor máximo con 2400 bac/100 ml y Octubre, Noviembre y Mayo con 0 bac/100 ml. En la estación 2, nuevamente se presentó el valor más alto en Marzo con 2400 bac/100 ml. y el mínimo en Octubre con 0 bac/100 ml. Como se indica en la estación 3, Marzo nuevamente es el mes con mayor índice de bacterias con un total de 2400 bac/100 ml. y los valores mínimos esta vez ocurrieron en los meses de Noviembre y Febrero con 0 bac/100 ml. Por último en la estación 4, Mayo es el mes que registra el mayor índice de bacterias con 2400 bac/100 ml. y los meses de Octubre, Noviembre y Febrero los valores más bajos

con 0 bac/100 ml.

Se observa el análisis de varianza con límites de confianza de 95%, donde los datos del índice de bacterias obtenidos durante el estudio sufrieron una transformación tipo raizbac (raíz cuadrada de la concentración de bacterias), por lo cual en la prueba de Duncan, los resultados dieron una diferencia significativa entre los meses de Octubre y Marzo con 2.424 y 44.366 respectivamente, con relación a Septiembre con 9.539; Noviembre con 7.624; Enero con 16.558; Febrero con 7.583 y Mayo con 19.83. (Tabla 8 y Cuadro 3).

Se aplicó un análisis de varianza entre las estaciones de muestreo y el índice de bacterias y se concluyó que no hubo diferencia significativa entre éstas.

El estero tuvo un promedio mensual de 1994 bac/100 ml. y un promedio de 498.5 bac/100 ml por estación.

El coeficiente de correlación entre la temperatura y el índice de bacterias resultó muy bajo, $r=0.2963$. Se rechaza una regresión lineal entre la temperatura y el índice de bacterias con límites de confianza de 95%.

La boca del estero estuvo cerrada los meses de Septiembre, Marzo y Mayo con una concentración promedio

mensual de 3 784 bac/100 ml. y estuvo abierta en Octubre, Noviembre, Enero y Febrero con un indice promedio mensual de 651 bac/100 ml.

No. de tubos positivos en las diluciones.			NMP por 100 ml	No. de tubos positivos en las diluciones.			NMP por 100 ml
1 ml	1/10 ml	1/100 ml		1 ml	1/10 ml	1/100 ml	
0	0	0	<30	2	0	0	91
0	0	1	30	2	0	1	140
0	0	2	60	2	0	2	200
0	0	3	90	2	0	3	260
0	1	0	30	2	1	0	150
0	1	1	61	2	1	1	200
0	1	2	92	2	1	2	270
0	1	3	120	2	1	3	340
0	2	0	62	2	2	0	210
0	2	1	93	2	2	1	280
0	2	2	120	2	2	2	350
0	2	3	160	2	2	3	420
0	3	0	94	2	3	0	290
0	3	1	130	2	3	1	360
0	3	2	160	2	3	2	440
0	3	3	190	2	3	3	530
1	0	0	36	3	0	0	230
1	0	1	73	3	0	1	390
1	0	2	110	3	0	2	640
1	0	3	150	3	0	3	950
1	1	0	73	3	1	0	430
1	1	1	110	3	1	1	750
1	1	2	150	3	1	2	1200
1	1	3	190	3	1	3	1600
1	2	0	110	3	2	0	930
1	2	1	150	3	2	1	1500
1	2	2	200	3	2	2	2100
1	2	3	240	3	2	3	2900
1	3	0	160	3	3	0	2400
1	3	1	200	3	3	1	4600
1	3	2	240	3	3	2	11000
1	3	3	290	3	3	3	24000
							6 >

TABLA 1. TABLA DE NUMERO MAS PROBABLE (NMP)/100 ML., DE BACTERIAS COLIFORMES EMPLEANDO 3 PORCIONES EN UNA MUESTRA EN SERIE GEOMETRICA. (14).

ESTACION 1

MESES	pH	T°C AGUA	T°C AMB.	PROFUN. M.	BOCA DEL ESTERO	BACTERIAS 100 ML.
SEP		30	29	1	CERRADA	91
OCT		31	28	1	ABIERTA	0
NOV	7	29	26	0.15	ABIERTA	0
ENE	8	23	24	0.15	ABIERTA	230
FEB	7	25	32	0.15	ABIERTA	230
MAR	7	26	34	0.15	CERRADA	2400
MAY	7	26	32	0.15	CERRADA	0

TABLA 2. DATOS GENERALES DE LA ESTACION 1, EN EL ESTERO, "EL CHORRO".

ESTACION 2

MESES	pH	T°C AGUA	T°C AMB.	PROFUN. M.	BOCA DEL ESTERO	BACTERIAS 100 ML.
SEP		29	29	1	CERRADA	91
OCT		30	28	1	ABIERTA	0
NOV	8	29	26	0.15	ABIERTA	930
ENE	8	22	24	0.15	ABIERTA	230
FEB	7	25	32	0.15	ABIERTA	230
MAR	7	25	34	0.15	CERRADA	2400
MAY	7	27	32	0.15	CERRADA	230

TABLA 3. DATOS GENERALES DE LA ESTACION 2, EN EL ESTERO "EL CHORRO".

ESTACION 3

MESES	pH	T°C AGUA	T°C AMB.	PROFUN. M.	BOCA DEL ESTERO	BACTERIAS 100 ML.
SEP		29	29	1	CERRADA	91
OCT		31	28	1	ABIERTA	94
NOV	8	29	26	0.15	ABIERTA	0
ENE	8	22	24	0.15	ABIERTA	430
FEB	7	25	32	0.15	ABIERTA	0
MAR	7	25	34	0.15	CERRADA	2400
MAY	7	27	32	0.15	CERRADA	230

TABLA 4. DATOS GENERALES DE LA ESTACION 3, EN EL ESTERO "EL CHORRO".

ESTACION 4

MESES	pH	T°C AGUA	T°C AMB.	PROFUN. M.	BOCA DEL ESTERO	BACTERIAS 100 ML.
SEP		30	29	1	CERRADA	91
OCT		31	28	1	ABIERTA	0
NOV	7	29	26	0.15	ABIERTA	0
ENE	8	23	24	0.15	ABIERTA	230
FEB	7	26	32	0.15	ABIERTA	0
MAR	7	26	34	0.15	CERRADA	930
MAY	7	26	32	0.15	CERRADA	2400

TABLA 5. DATOS GENERALES DE LA ESTACION 4, EN EL ESTERO "EL CHORRO".

ANALISIS DE VARIANZA

CAUSA DE VARIACION	SC	GL	CM	F	PROB.
pH	3.2	4	0.8	12	0.0001
ERROR	1.0	15	0.067		
TOTAL	4.2	19			

TABLA 6. ANALISIS DE VARIANZA DE pH. EN EL ESTERO "EL CHORRO".

SC. Suma de Cuadrados.

CM. Cuadrados Medios.

GL. Grados de Libertad.

F. F Calculada.

PRUEBA DE DUNCAN

MESES	GRUPO	MEDIA DE LOS CUADRADOS MEDIOS	
NOV	1	7.5	*
ENE	2	8	*
FEB	3	7	*
MAR	4	7	*
MAY	5	7	*

CUADRO I. PRUEBA DE DUNCAN.

* Alineados verticalmente. Significativamente iguales.

* No alineados. Significativamente diferentes.

ANALISIS DE VARIANZA

CAUSA DE VARIACION	SC	GL	CM	F	PROB.
TEMPERATURA	200.500	6	33.417	127.59	0
ERROR	5.5	21	0.262		
TOTAL	206.0	27			

TABLA 7. ANALISIS DE VARIANZA DE TEMPERATURA, EN EL ESTERO "EL CHORRO".

SC. Suma de Cuadrados.

CM. Cuadrados Medios.

GL. Grados de Libertad.

F. F Calculada.

PRUEBA DE DUNCAN

MESES	GRUPO	MEDIA DE LOS CUADRADOS MEDIOS	
SEP	1	29.5	*
OCT	2	30.75	*
NOV	3	29.0	*
ENE	4	22.5	*
FEB	5	25.25	*
MAR	6	25.5	*
MAY	7	26.5	*

CUADRO II. PRUEBA DE DUNCAN.

* Alineados verticalmente. Significativamente iguales.

* No alineados. Significativamente diferentes.

ANALISIS DE VARIANZA

CAUSA DE VARIACION	SC	GL	CM	F	PROB.
BACTERIAS	4737.267	6	789.544	6.465	0.0006
ERROR	2564.825	21	122.135		
TOTAL	7302.092	27			

TABLA 8. ANALISIS DE VARIANZA DE BACTERIAS, EN EL ESTERO "EL CHORRO".

SC. Suma de Cuadrados.
GL. Grados de Libertad.

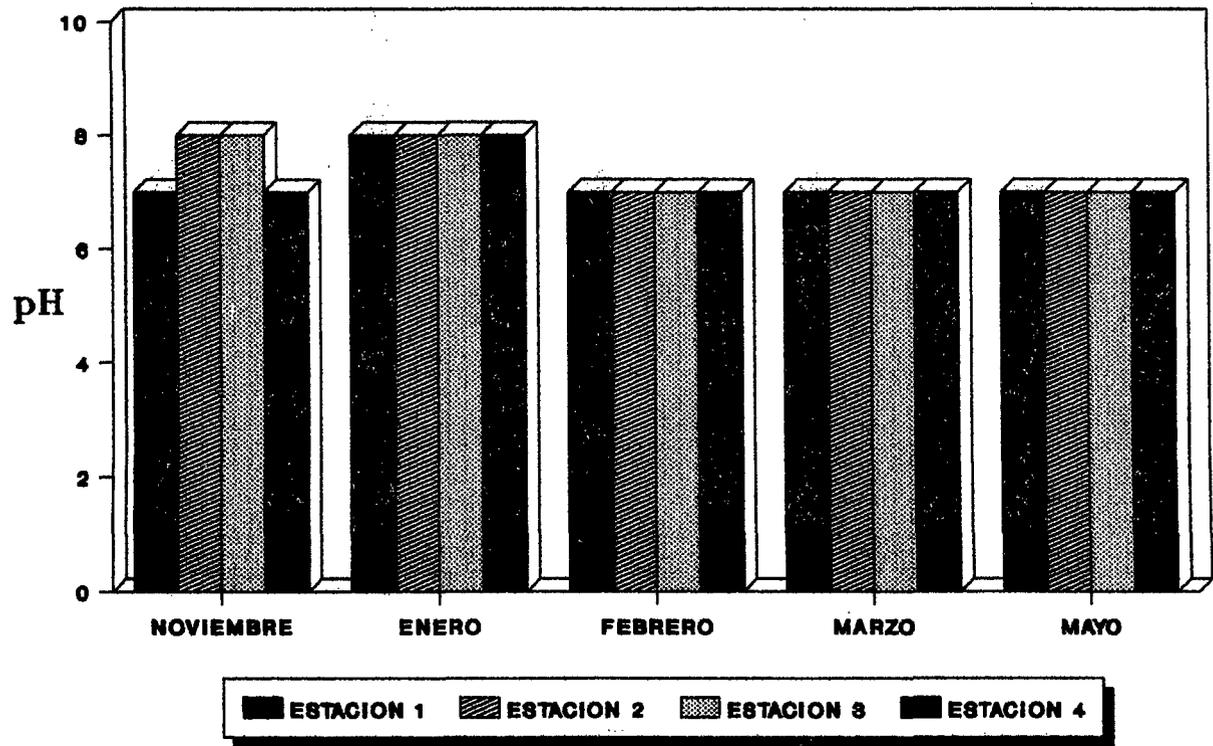
CM. Cuadrados Medios.
F. F Calculada.

PRUEBA DE DUNCAN

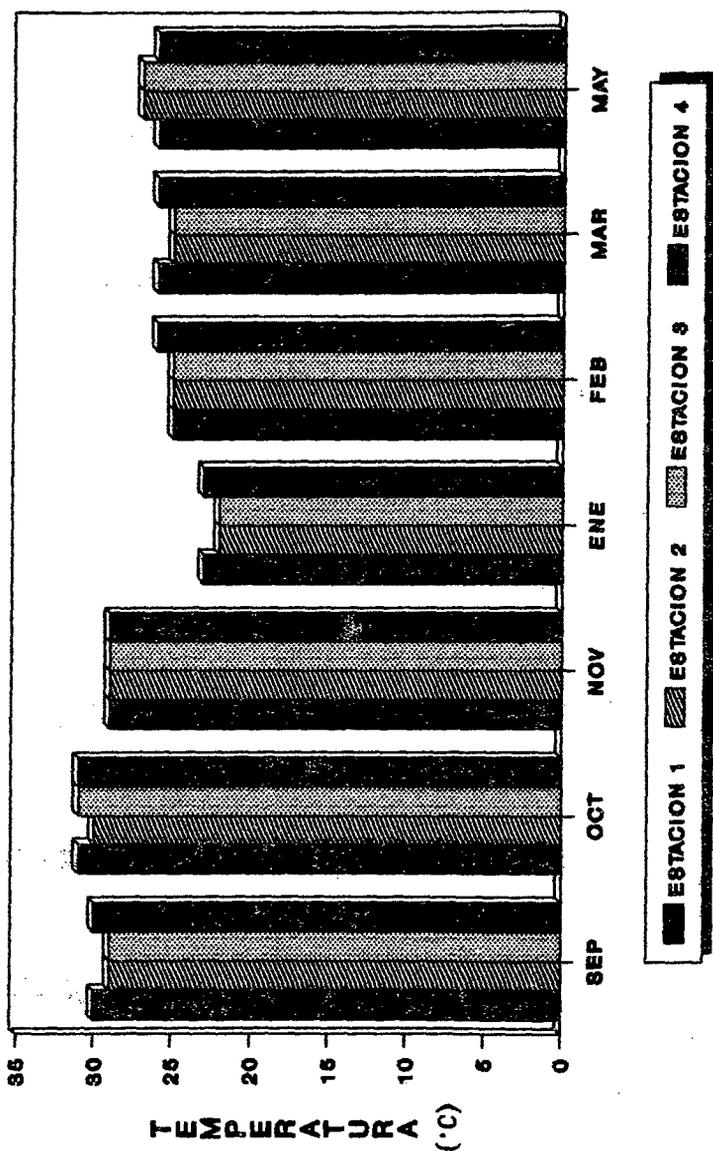
MESES	GRUPO	MEDIA DE LOS CUADRADOS MEDIOS	
SEP	1	9.539	*
OCT	2	2.424	*
NOV	3	7.624	*
ENE	4	16.558	*
FEB	5	7.583	*
MAR	6	44.366	*
MAY	7	19.83	*

CUADRO III. PRUEBA DE DUNCAN.

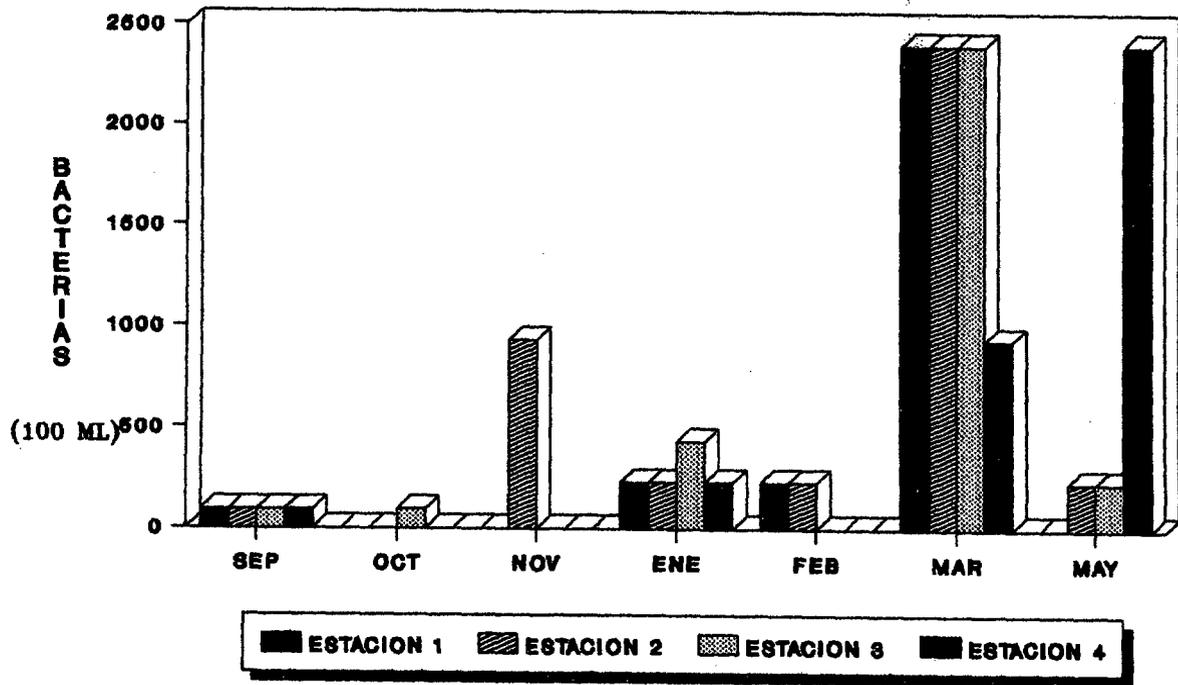
* Alineados verticalmente. Significativamente iguales.
* No alineados. Significativamente diferentes.



GRAFICA 1. Fluctuación del pH entre las estaciones durante el estudio.



GRAFICA 2. Fluctuación de la temperatura entre las estaciones durante el estudio.



GRAFICA 3. Comportamiento del índice bacteriano entre las estaciones durante el estudio.

VII. DISCUSION

El análisis bacteriológico de coliformes en el estero "El Chorro", casi no presentó variaciones temporales, siendo Octubre el mes con la menor concentración, existiendo un aumento gradual en la densidad bacteriana; hasta el mes de Marzo que presentó el mayor índice; y espacialmente, es decir, entre estaciones, fueron significativamente iguales; a diferencia con los resultados por Baldini y Cabezali (2) en el estudio realizado en el estero de Bahía Blanca-Argentina, donde se observó mediante el análisis de varianza una distribución de Escherichia coli con diferencias significativas entre los meses, no así en las distintas estaciones del año, asimismo se observa una acentuada fluctuación de la bacteria entre los puntos muestreados del estero. En el caso del estero "El Chorro", probablemente los resultados se deban al hecho de que los puntos de muestreo no resultaron lo suficientemente alejados uno del otro como para que se observara un cambio entre las estaciones, por otra parte como se muestreó en la parte más baja del estero (nivel del mar) las muestras se distribuyeron uniformemente. Se eligió muestrear la parte más baja del estero, correspondiente a la boca, porque es el punto donde se presenta el mayor contacto humano, utilizándolo para distintas actividades, sobresaliendo la

pesca y recreación.

De acuerdo a los resultados estadísticos no se observa una relación lineal entre los parámetros físicos (temperatura del agua y pH) y las densidades bacteriológicas encontradas, en un límite de confianza del 95%, esto se confirma por lo descrito en Ortiz (20), en el estudio realizado en la Laguna de Cuyutlán, Manzanillo, Colima, en que se evaluaron los parámetros de Temperatura Ambiente, Temperatura del Agua, Salinidad, Demanda de Oxígeno y la Profundidad y no se determinó una dependencia entre éstos y las concentraciones bacteriológicas encontradas.

No se detectaron patrones de fluctuación temporal y espacial, ni diferencias significativas entre los recuentos a partir de 15 cm. y 1 m. (pruebas preliminares) de profundidad, y aunque es en la parte superficial donde se lleva a cabo el mayor número de reacciones, producto de la actividad de la energía solar, parece ser que en el caso de las bacterias no existe tal diferencia ya que no hay variación significativa entre los recuentos a 15 cm y 1 m., lo cual indica que las bacterias tienen amplio rango de distribución vertical, corroborando lo descrito por Baldini y Cabezali, en el estudio llevado a cabo en el Estero de Bahía Blanca-Argentina, concluyéndose que las muestras extraídas de los dos niveles, subsuperficial y 3 metros de

profundidad no existen diferencias significativas, probablemente a que las corrientes de marea y el oleaje, producido por frecuentes vientos, contribuirían a la homogenización de las capas superiores de la columna del agua.

Existe una tendencia a un aumento de la concentración de bacterias cuando está cerrada la boca del estero y una disminución cuando se encuentra abierta; como se observó en Marzo que fué el mes con mayor cantidad de bacterias estando la boca cerrada y a diferencia del mes de Octubre donde se observó una menor densidad con la boca del estero abierta; esto se puede explicar por las corrientes que se generan cuando éste cuerpo de agua se comunica con el mar, arrastrando periódicamente todas las impurezas existentes entre ellas las bacterias que se pudieran depositar y multiplicar cuando está cerrada. Además que sube el nivel del agua del estero cuando está cerrado y se observa un decremento estando abierto; otra cuestión muy relevante es que se ha demostrado que el agua de mar tiene propiedades bactericidas, como lo describe Perez (23), por lo que cuando esta abierta la boca del estero, hay una gran entrada de agua marina, contribuyendo con esto a una disminución en las densidades de éstas bacterias.

VIII. CONCLUSIONES

El promedio de los niveles de coliformes, de acuerdo a la Secretaría de Salubridad y Asistencia en cuanto a sus usos, el estero "El Chorro" presenta que:

Para la Clase 1 (C1), está restringido el uso del cultivo de mariscos de consumo directo, ya que rebasa con mucho los niveles permisibles; sólo en el mes de Octubre el promedio mensual de coliformes fué menor.

Para las aguas de Clase 2 (C2), de uso de recreación con contacto primario y todos los demás usos excepto C1, sólo Mayo está restringido ya que rebasa la concentración promedio.

Mayo es el mes que rebasa la densidad de coliformes permitidas para las aguas de Clase 3 (C3), de uso recreativo sin contacto primario y todos los demás usos excepto las anteriores. Los restantes meses están dentro de los límites tolerables.

Durante los meses muestreados y las respectivas estaciones son aptas para la Clase 4 (C4), de uso de explotación pesquera de especies de escama y todos

los demás usos excepto las anteriores.

La temperatura y el pH no tienen una dependencia directa con el índice de coliformes.

La apertura y el cierre de la boca del estero influye en la concentración de éstos microorganismos, disminuyendo cuando está abierta.

La profundidad no influye en los niveles de coliformes.

No hubo una diferencia significativa entre las estaciones, en cuanto a la densidad de éstas bacterias.

Estos resultados sólo son válidos para el estero "El Chorro", en los meses correspondientes al estudio; si se pretende tener un conocimiento global del comportamiento de dicho estero, se deberán hacer continuamente monitoreos para establecer las pautas a seguir en el manejo de este sistema hídrico.

IX. LITERATURA CITADA

- (1) AMADOR, L.R.; D. AVILES (1993); Manual de Laboratorio de Microbiología Sanitaria; Primera Edición; Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Departamento de Microbiología; Instituto Politécnico Nacional; México, D.F. p.p.1-15 y 63-64.
- (2) BALDINI, M.D.; C.B. CABEZALI (1988); Distribución de Escherichia coli en Aguas del Estuario de Bahía Blanca- Argentina; Rev. Lat-amer; Microbiol. 30: 229-234.
- (3) BAYARDO, B. (1982); Análisis Bacteriológicos y Bacteriología Determinativa; Cuarta Edición; Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Guadalajara; México.
- (4) CARPENTER, J. (1983); Microbiología; Tercera Edición; Ed. Interamericana; México, D.F.
- (5) CEBALLOS, E.B. (1981); Índice por Contaminación por Bacilos Coliformes del Agua de Consumo en la Población del Grullo, Jalisco; Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Guadalajara; México. (Tesis de Licenciatura).
- (6) ELIZALDE, B.M.; D. GILETA (1989); Estudio Físico-Químico-Bacteriológico Para las Aguas del Manantial de Pihuamo, Jal.; Fac. de Ciencias Químicas, Universidad de Guadalajara; México. (Tesis de Licenciatura).
- (7) ESPINOZA, M.F. (1986); Estudio de la Contaminación Bacteriana de las Aguas del Río Tamazula y el Peligro que Estas Representan; Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Guadalajara; México. (Tesis de Licenciatura).

- (8) FLORES, M.S.; R. SUAREZ (1985); Potabilidad del Agua de Guadalajara; Fac. de Ciencias Químicas, Universidad de Guadalajara; México. (Tesis de Licenciatura).
- (9) GARCIA, E. (1973); Clasificación Climática Según el Sistema de Koppen Modificado por García; Secretaría de Programación y Presupuesto; Carta de Climas; Guadalajara, Jal.
- (10) GRANT, W.D.; P. E. LONG (1989); Microbiología Ambiental; Ed. Acribia, S.A.; Zaragoza, España. p.p. 19 y 186.
- (11) GUDINO, F.R.; L. GUDINO (1982); Estudio de Potabilidad del Agua de la Población de Jiquilpan, Michoacán; Fac. de Ciencias Químicas, Universidad de Guadalajara; México. (Tesis de Licenciatura).
- (12) GUZMAN, R.M. (1984); Estudio Evaluativo de la Contaminación Bacteriológica de Tipo Coliforme Fecal en el Abastecimiento de Agua a la Zona Metropolitana de Guadalajara y sus Posibles Soluciones; Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Guadalajara; México. (Tesis de Licenciatura).
- (13) HERNANDEZ, H.L. (1979); Determinación Presuntiva del Grado de Contaminación de las Aguas del Lago de Chapala y de los Afluentes del Mismo; Fac. de Ciencias Químicas, Universidad de Guadalajara; México. (Tesis de Licenciatura).
- (14) HILLEBOE, H.E. (1990); Manual de Tratamiento de Aguas Negras; Décima Reimpresión; Ed. Limusa; México, D.F. p.p. 189-192.
- (15) JOKLIK, W.K. Y COL. (1986); Zinsser Microbiología; 18va. Edición; Ed. Panamericana; Buenos Aires, Argentina. p.p. 688 y 689.

- (16) LANKFORD, R. (1977); Coastal Lagoons of Mexico Their Origin and Classification; México, D.F.; Centro de Ciencias del Mar y Limnología, U.N.A.M. p.p. 183-215.
- (17) LUNA, B.L.; D. KENNETH (1972); Agua; Ed. Offset Multicolor, S.A.; México, D.F.; Colección Científica de Time Life. p.p. 9.
- (18) MARTINEZ, C.A.; B. PRADO (1977); Estudio Químico-Físico y Bacteriológico Para Potabilizar el Agua de la Población de Ahualulco del Mercado, Jal. y Su Estudio Técnico y Económico del Tratamiento de Sus Aguas de Desecho; Fac. de Ciencias Químicas, Universidad de Guadalajara; México. (Tesis de Licenciatura).
- (19) OROZCO, V.R. (1978); Características Físico-Químicas y Bacteriológicas de el Agua Usada en el Grullo, Jal. y Su Tratamiento Adecuado Para Su Potabilización; Fac. de Ciencias Químicas, Universidad de Guadalajara; México. (Tesis de Licenciatura).
- (20) ORTIZ, L.J. (1984); Evaluación de los Niveles Microbiológicos de Coliformes Fecales en la Laguna de Cuyutlán, Manzanillo, Colima, México; Revista Informativa de la Escuela de Ciencias Marinas, Num. 2 y 3, Abril-Septiembre de 1984; Universidad de Colima, México. p.p. 23-35.
- (21) PAREDES, A.M. (1974); Índice de Contaminación por Colibacilos Fecales en Diversos Sitios del Lago de Chapala; Fac. de Ciencias Químicas, Universidad de Guadalajara; México. (Tesis de Licenciatura).
- (22) PELCZAR, H.D. (1977); Microbiología; Cuarta Edición; Ed. Mac Graw Hill; México, D.F. p.p. 786.
- (23) PEREZ, J.M. (1980); La Polución de las Aguas Marinas; Ed. Omega; Barcelona, España.

- (24) REA, A.M. (1992); Estudio Ecológico delo Lago de Chapala; Fac. de Ciencias Químicas, Universidad de Guadalajara; México. (Tesis de Licenciatura).
- (25) ROBLES, V.E. (1987); Determinación de la Potabilidad Que se Consume en Puerto Vallarta, Jal.; Fac. de Ciencias Químicas, Universidad de Guadalajara; México. (Tesis de Licenciatura).
- (26) ROSAS, C.S. (1977); Estudio Bacteriológico del Agua Potable Basado en el Sistema Agua Azul en la Ciudad de Guadalajara; Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Guadalajara; México. (Tesis de Licenciatura).
- (27) S.A.R.H. (1980); Curso de Microbiología del Agua; Volúmen I, Segunda Edición; México, D.F. p.p. 79-86, 100-116 y 138-141.
- (28) S.A.R.H. (1983); Microbiología y Aplicaciones en los Procesos Biológicos de Tratamiento de Agua; México, D.F. p.p. 1-11.
- (29) S.A.R.H. (1987); Anuario Estadístico del Estado de Jalisco; Tomo I; I.N.E.G.I.; México, D.F.
- (30) MUNICIPIOS DE JALISCO (1988) Enciclopedia de los Municipios de México
- (31) SCHULTZ, C.; D.A., OKUN (1990); Tratamiento de Aguas Superficiales para Países en Desarrollo; Primera Edición; Ed. Noriega Limusa; México, D.F. p.p. 28, 29 y 364.
- (32) SECRETARIA DE PROGRAMACION Y PRESUPUESTO (1981); Síntesis Geográfica de Jalisco; I.N.E.G.I.; México, D.F.
- (33) S.E.D.U.E. (1985); Manual de Técnicas Análíticas para Aguas Residuales; México, D.F. P.P. 289-301.

Aguas Residuales; México, D.F. P.P. 289-301.

- (34) SOLIS, DE L.M. (1977); La Bacteriología del Agua de Consumo de la Población de Milpillás, Jal.; Fac. de Ciencias Químicas, Universidad de Guadalajara; México. (Tesis de Licenciatura).
- (35) Téllez, L.J. Y COL. (1993); Plan Estatal de Ordenamiento Ecológico; Gob. del Estado de Jal., S.E.D.E.U.R., Comisión Estatal de Ecología; Recursos Naturales de Jalisco; Diagnóstico y Análisis de su Conservación; Guadalajara, Jal., México.
- (36) URIBE, S.J. (1983); Calidad Sanitaria del Agua Que Se Consume en la Población de Ciudad Guzmán, Jal.; Fac. de Ciencias Químicas, Universidad de Guadalajara; México. (Tesis de Licenciatura).