

Producción del carbono del bacteriobentos fotótrofo en las biopelículas sedimentarias de una laguna costera del sur del Golfo de México

Olivia Aparicio Osorio,¹ María Jesús Ferrara Guerrero, Javier Aldeco, María Guadalupe Figueroa Torres

Resumen. Se estudiaron biopelículas de sedimentos superficiales de la laguna costera de Sontecomapan en el estado de Veracruz, México, con la finalidad de evaluar la contribución del bacteriobentos fotótrofo y del picobentos fotoautótrofo a la producción de carbono primario. Se utilizaron los métodos de conteo directo por epifluorescencia y la autofluorescencia de pigmentos para su evaluación. La biomasa de estas comunidades fue calculada por la relación volumen celular: carbono. Se observó que la mayor contribución de biomasa nueva al bentos fue dada por el bacteriobentos fotótrofo. El análisis espectrofotométrico de la bacterioclorofila *a* y de los carotenoides presentes en el bacteriobentos fotótrofo, cultivado a diferentes concentraciones de oxígeno (pO_2 de 4 y 5%), mostró que la síntesis de la bacterioclorofila *a* y de carotenoides se efectuó en presencia de bajas concentraciones de oxígeno. Estos resultados modifican la creencia de que la síntesis de pigmentos en bacterias anoxigénicas rojas no sulfurosas se ve inhibida en presencia de oxígeno.

Palabras clave. Biopelículas, bacteriobentos fotótrofo, picobentos fotoautótrofo, laguna costera, producción de carbono.

¹ Programa de Maestría en Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, e-mail: krishorus@yahoo.com.mx,

Abstract. *Biofilms of surface sediments from the Sontecomapan coastal lagoon, in the state of Veracruz, Mexico, were studied. The aim was to evaluate the contribution of phototrophic bacteriobenthos and photoautotrophic picobenthos to the production of primary Carbon. Epifluorescence and pigment auto-fluorescence direct counting methods were used for the evaluation. The biomass of these communities were computed by the 'cell volume:Carbon' conversion factor. It was observed that the largest 'new-biomass' contribution to the benthos was due to the phototrophic bacteriobenthos. The spectrophotometric analysis of chlorophyll a and carotenes present in the phototrophic bacteriobenthos, cultured on regulated oxygen concentration (4 and 5% pO₂) were made. The results showed that the syntheses of bacteriochlorophyll-a and carotenes operated under low oxygen concentrations. These results change the belief that pigments syntheses in the red anoxygenic not-sulphured bacteria is inhibited under oxygen presence.*

Key words: *biofilm, phototrophic bacteriobenthos, photoautotrophic picobenthos, coastal lagoon, Carbon production.*

Résumé. *Il a été étudié des biofilms de sédiments superficiels de la lagune côtière de Sontecomapan, de l'État de Veracruz, au Mexique, dans le but d'évaluer l'apport du bacteriobenthos phototrophe et du picobenthos photoautotrophe à la production de carbone primaire. Il a été utilisé des méthodes d'estimation directe par épifluorescence et autofluorescence des pigments pour l'évaluation. La biomasse de ces communautés a été calculée à partir de la relation volume cellulaire: carbone. Il a été observé que la plus grande contribution de biomasse nouvelle au benthos a été apportée par le bacteriobenthos phototrophe. L'analyse spectrophotométrique de la bactériochlorophylle a et des caroténoïdes présentes dans le bacteriobenthos phototrophe cultivé avec des concentrations différentes d'oxygène (pO₂ de 4 y 5%), montre que la synthèse de la bactériochlorophylle a et des caroténoïdes s'effectue en présence de basses concentrations d'oxygène. Ces résultats modifient la croyance que la synthèse de pigments dans les bactéries anoxygéniques rouges non sulfureuses est inhibée en présence d'oxygène.*

Mots-Clés: *Biofilms, bacteriobenthos phototrophe, picobenthos photoautotrophe, lagune côtière, production de carbone.*

INTRODUCCIÓN

En este ensayo se presentan algunos resultados que contribuyen al conocimiento del bacteriobentos fotótrofo (bacterias rojas y verdes quimioorganótrofas capaces de producir pigmentos fotosintéticos a bajas concentraciones de oxígeno o en ausencia de éste) y del picobentos fotoautótrofo (eucariontes fotosintéticos capaces de fijar el CO₂) en cuanto al aporte de carbono orgánico microbiano de las biopelículas formadas en los sedimentos superficiales (5 mm de profundidad) de una laguna costera tropical.

En los ecosistemas lagunares las comunidades bacterianas se encuentran estratificadas en la interfase agua-sedimento en forma de biopelículas, las cuales se diferencian del resto de la columna sedimentaria por su coloración generalmente verde o parda (López-Cortés, 1999; Demergasso *et al.*, 2003). Esta coloración es el resultado del desarrollo de bacterias fotosintéticas que contienen distintos patrones de utilización de la luz disponible en el ambiente.

Los estudios que han sido realizados hasta la fecha han demostrado que las biopelículas sedimentarias están constituidas por una gran diversidad de especies bacterianas (*Chromatium* sp. *C. purpuratum*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Rhodopseudomonas* sp, *Rhodobacter capsulatus*, *Bacillus licheniformis*, *B. brevis*, *Thiobacillus* sp., *Thiocapsa* sp., *Prosthecochloris* sp., *Chlorobium* sp, *Flavobacterium* sp., *Arthrobacter* sp., y *Staphylococcus* sp.), y de cianobacterias (*Microcystis aeruginosa*, *Anabaena cilindrica*, *Aphanothece halophytica* y *Synechococcus* sp.) unidas entre sí mediante una matriz de exopolisacáridos producida por las propias comunidades microbianas, las cuales se encuentran adheridas a un sustrato sólido (López-Cortés, 1999; Demergasso *et al.*, 2003; Ferrara *et al.*, 2004). Las propiedades físicas

y químicas de las biopelículas van a influenciar las actividades de los microorganismos al interior de las mismas, así como su relación con el ambiente exterior (López-Cortes, 1999; Davey y O'Toole, 2000; Kierek-Pearson y Karatan, 2005; Långmark *et al.*, 2005).

Las biopelículas son muy dinámicas ya que su composición y características cambian constantemente, las poblaciones microbianas se mueven dentro de las biopelículas y a menudo nuevas poblaciones desplazan a las originales, lo que permite que haya una sucesión de especies que colonizan la superficie del sustrato donde se adhieren (Atlas y Bartha, 2000). En condiciones naturales, estas comunidades, constituyen un modo de crecimiento que les confiere protección contra las perturbaciones del ambiente como la resistencia a hospederos y agentes antimicrobianos debido a que forman una capa impermeable en donde los microorganismos que se encuentran más cerca de la superficie son los únicos afectados (Wimpenny *et al.*, 2000).

Dentro de una misma biopelícula se pueden encontrar una amplia gama de grupos bacterianos dispuestos en diferentes capas. Esta disposición espacial les permite aprovechar las características fisiológicas particulares de cada grupo en beneficio del conjunto, y formar microhábitats químicos altamente eficientes que juegan un papel importante en los flujos de energía y en los ciclos de los nutrientes del sedimento (Atlas y Bartha, 2000).

Las comunidades microbianas más estudiadas en las biopelículas sedimentarias han sido las cianobacterias y las bacterias heterótrofas. La contribución de las poblaciones bacterianas heterótrofas a las redes tróficas bénticas consiste esencialmente en la producción regenerada de nitrógeno (NH_4^+ , NO_3^-) y carbono (CO_2 y orgánico lábil) (Ferrara-Guerrero y Bianchi, 2000; Zerh y Ward, 2002; Falcón *et al.*, 2007; Roeselers *et al.*, 2008); mientras que la comunidad bacteriana fotótrofa (cianoprocariontas y bacterias rojas no sulfurosas) contribuye a la producción primaria béntica, también regenerada, a través de la fotosíntesis y la quimiosíntesis, procesos que se llevan a cabo en un intervalo micrométrico de pro-

fundidad dentro del sedimento, en el cual las poblaciones de bacterias se concentran en función de los gradientes físicos y químicos (Camacho *et al.*, 2001; Wimpenny *et al.*, 2000).

Aunque generalmente, la fijación de carbono en las biopelículas sedimentarias se considera poco relevante en el aporte de materia orgánica primaria para los ecosistemas acuáticos, en los últimos quince años se han realizado estudios en los que se pone de manifiesto que la producción primaria fotalitoautotrófica y quimiolitoautotrófica de sistemas acuáticos profundos estratificados, al ser resuspendida, puede ser fuente importante de carbono orgánico para el zooplancton de las zonas aerobias superficiales (Camacho *et al.*, 2001), tales como los crustáceos, los rotíferos (Miracle *et al.*, 1992; Salonen y Lehtovaara, 1992) y los ciliados (Finlay *et al.*, 1991; Esteban *et al.*, 1993; Massana *et al.*, 1996).

En México, los pocos estudios realizados sobre estos sistemas estratificados han sido principalmente en tapetes microbianos (Javor y Castenholz, 1981; López-Cortés, 1999, Spear *et al.*, 2003) y estromatolitos del lago volcánico de Alchichica, Puebla (Falcón *et al.*, 2002) y en Cuatro Ciénegas, Coahuila (Falcón *et al.*, 2007; Breitbart *et al.*, 2009); la mayor parte de ellos han aportado conocimiento sobre la estructura de las poblaciones microbianas que los componen, sin embargo, se sabe muy poco sobre la variedad de grupos metabólicos de los microorganismos que habitan en las biopelículas sedimentarias, así como sobre su comportamiento químico y su papel en la descomposición de la materia orgánica y del ciclo de los nutrientes, por lo que en aras de contribuir al conocimiento del papel que juegan las bacterias fotótrofas y el picobentos fotoautótrofo de las biopelículas sedimentarias en la producción primaria béntica en cuerpos de agua someros tropicales, se estudió la variación estacional de su biomasa y la producción de bacteriopigmentos cuando las bacterias fotótrofas se encuentran en ambientes subóxicos (micro-hábitats con concentraciones de oxígeno por debajo de los 4 mg/L).

DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

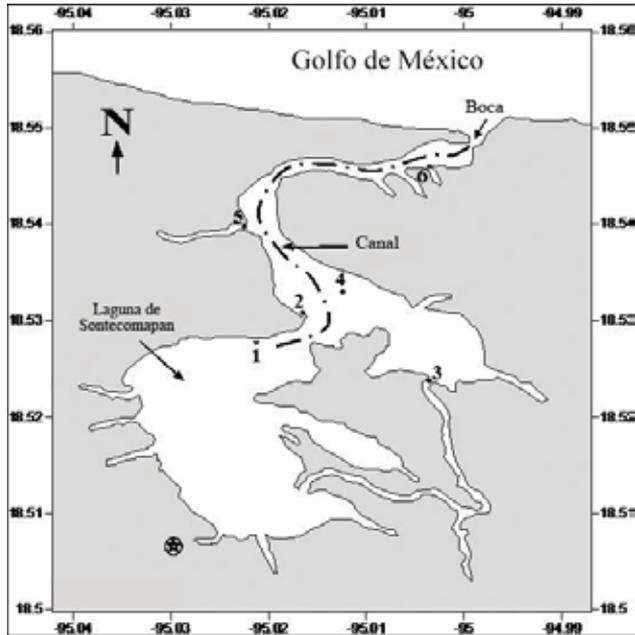
La zona de estudio es la laguna costera de Sontecomapan en el estado de Veracruz, México; ésta se encuentra situada dentro de la Reserva de Biosfera de Los Tuxtlas en la región de la cuenca que forman el volcán de San Martín Tuxtla y la Sierra de Santa Martha. Sus coordenadas geográficas son 18° 30' y 18° 34' norte y 95° 02' y 95° 54' oeste. La profundidad media de la laguna es de 1.20 m con canales más profundos, y la temperatura media anual de la columna de agua es de 23°C (Contreras, 1985).

Es una laguna que presenta fuertes fluctuaciones de salinidad y de oxígeno disuelto a lo largo de un ciclo anual. La salinidad promedio registrada es de 23.7 ± 10.8 UPS, y las concentraciones promedio de oxígeno varían entre 5.13 ± 2.3 y 6.9 ± 1.73 mg/L (Morán-Villa, 2007). La clasificación de los sedimentos va de arcillosos en zonas poco profundas a limo-arenosos en las vecindades de los canales más profundos.

La laguna de Sontecomapan tiene un clima tropical y una moderada influencia antropogénica. Dentro de esta laguna somera existen aportes de diferentes ríos, y durante la temporada invernal es afectada por vientos del norte, que van de fuertes a violentos.

Se establecieron seis estaciones de muestreo, las cuales fueron ubicadas de acuerdo a las características de intercambios de agua de diferente salinidad provenientes de la línea de costa y de los ríos que desembocan en la laguna (Figura 1).

Figura 1. Laguna de Sontecomapan, Veracruz.



MÉTODOS

Los muestreos fueron realizados en dos temporadas del año, época de nortes (enero 2006 y febrero 2007) denominadas N06 y N07 respectivamente, y época de estiaje (mayo 2006) S06. Para la evaluación del carbón primario bacteriano producido por las comunidades bacterianas fotótrofas en las épocas de nortes N06 y N07 y en la de estiaje S06, se utilizaron métodos directos e indirectos. El método directo consistió en el cálculo de la biomasa a través de conteos celulares por microscopía de epifluorescencia utilizando fluorocromos específicos o por autofluorescencia de la clorofila *a* y de la divinil-clorofila *a* (Macissac y Stockner, 1993), en ambos casos se calculó el volumen celular medio para obtener la corres-

pendiente relación biovolumen: carbono (Bratbak, 1993; Norland, 1993). Los métodos indirectos se basan en la evaluación de la concentración de las bacterioclorofilas, ficobilinas y carotenoides (Fiedor *et al.*, 2004).

Para la evaluación de las poblaciones bacterianas de las biopelículas sedimentarias de la laguna se obtuvieron muestras de sedimento con tubos de policarbonato de 10 cm de largo y 3 cm d. i. Para evitar la perturbación de la capa superficial, se introdujo el tubo en el sedimento mediante buceo libre, de esta manera las muestras de sedimento fueron extraídas evitando en todo lo posible que las biopelículas fueran alteradas en su constitución física. Con una jeringa estéril sin punta se tomó un centímetro cúbico de la biopelícula que fue recuperada al cortar los primeros 5 milímetros de la columna de sedimento. Este material fue preservado en un frasco estéril conteniendo 9 ml de formaldehído al 2% y mantenido en refrigeración (4°C) y en oscuridad.

El conteo total del bacteriobentos fotótrofo y del picobentos fotoautótrofo se realizó, utilizando un microscopio de epifluorescencia marca Olympus modelo Bimax 60, por dos métodos: a) el de autofluorescencia (420 a 440nm) de los pigmentos primarios (clorofila *a*) y b) en el que se utiliza el fluorocromo Isotiocinato de Fluoresceína (FITC por sus siglas en inglés) para la tinción de carotenoides (Sherr *et al.*, 1993). Además del conteo total del picobentos fotoautótrofo y bacteriobentos fotótrofo, se realizó una evaluación cuantitativa de las bacterias fotótroficas rojas fotosintéticas no sulfurosas viables, debido a que éstas se encuentran compartiendo los mismos hábitats que los productores primarios microbianos bénticos. El método de conteo utilizado fue el de unidades formadoras de colonias (UFC) en un medio de cultivo sólido específico, propuesto por Pfennig y Trüper (1981), para este tipo bacteriano en condiciones anóxicas.

Los resultados del conteo total de la abundancia del picobentos fotoautótrofo y del bacteriobentos fotótrofo (número de células/cm²) multiplicado por la relación carbono: volumen celular correspondiente (ficogramos de C/ μm^3), permitieron calcular la biomasa microbiana béntica fotótrofa (Sherr *et al.*, 1993).

$$B = Ct/cm^2 \ v \ r$$

Donde: B es la biomasa en gC/m^2 , Ct es el conteo total (número), v es el volumen celular medio en μm^3 , y r es el factor de conversión de volumen celular a Carbono, y su valor es de $0.27 \times 10^{-12} gC\mu m^{-3}$ (Torreton, 1992).

$$Ct = d \ sc \ \frac{1}{v} \ \frac{10}{9} \ n$$

Donde: Ct es el número total de bacterias por cm^2 , d es la dilución de la muestra filtrada, sc es la superficie del campo visual/ la superficie de filtración (μm^2), v volumen de la muestra, $\frac{10}{9}$ es la corrección debida al formaldehído, n es la media del número de bacterias contadas en 20 campos del microscopio.

El volumen celular se calculó a partir de las formas y dimensiones celulares (cocos y bacilos) (Torreton, 1992).

En el caso de los bacilos la fórmula utilizada fue:

$$V = \pi \left(\frac{LW^2}{4} - \frac{W^3}{2} \right)$$

Y para los cocos:

$$V = \pi \frac{W^3}{6}$$

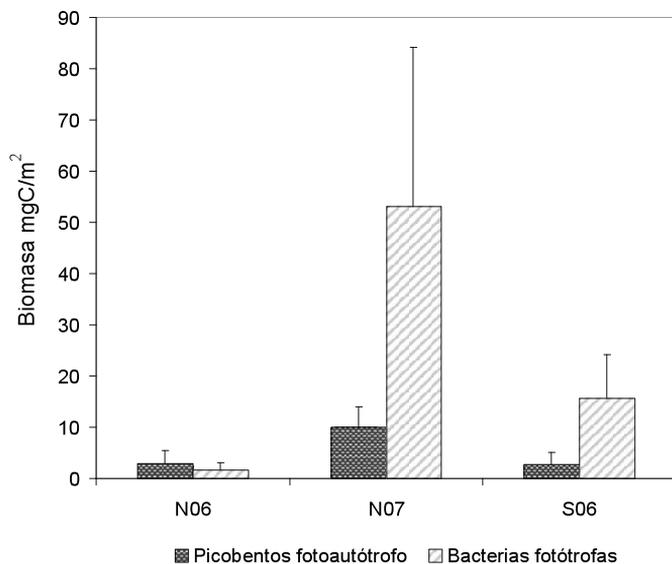
Donde: V es el volumen celular en μm^3 , W es el ancho y L es la longitud de las células.

Los aislados de las bacterias fotótrofas rojas no sulfurosas, obtenidos de la matriz de la biopelículas sedimentarias de la laguna de Sontecomapan, fueron purificados por la técnica de Hungate en tubo rodado a

partir de réplicas sucesivas decimales en medio de cultivo sólido e incubadas a pO_2 de 4% (Ferrara-Guerrero *et al.*, 1993). Se evaluó la capacidad metabólica de este grupo microbiano para producir bacteriopigmentos cuando se encuentran en estrés de oxígeno, para lo cual se realizaron incubaciones en medios de cultivo líquidos específicos (Ferrara-Guerrero *et al.*, 1993; Pfennig y Trüper, 1981), gasificados con mezclas de gases especiales a concentraciones 4 y 5% de O_2 , 10% CO_2 , balanceado con N_2 . Las variables observadas fueron normalizadas ($[X_i - \text{promedio}] / \text{desviación estándar}$), donde X_i representa el valor de cada variable.

Se calculó el coeficiente de correlación y se construyó el dendrograma en plataforma Linux (Figura 2).

Figura 2. Valor medio (\pm DS) de las variaciones de la biomasa del picobentos fotoautótrofo y de las bacterias fotótrofas durante la época de nortes 2006 y 2007 (N06 y N07), y secas 2006 (S06), en la laguna de Sontecomapan, Veracruz.



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las biopelículas sedimentarias de la laguna, el promedio de la biomasa bacteriana autótrofa béntica ($21.86 \pm 16.89 \text{ mgC/m}^2$) fue diez veces mayor que la del picobentos autótrofo (de $2.39 \pm 1.42 \text{ mgC/m}^2$) en dos de las tres épocas del año estudiadas (N07 y N06), lo cual permite que aumente la capacidad amortiguadora del sedimento (De Witt *et al.*, 2001) y la producción de carbón orgánico primario de origen bacteriano en estos sedimentos. De acuerdo a lo reportado por Sundbäck *et al.* (2004), en aguas costeras someras templadas, bien iluminadas, la capa más superficial de los sedimentos es altamente autotrófica y a medida que la profundidad aumenta la actividad heterotrófica se hace más importante. Sin embargo, en esta laguna tropical eutrófica poco iluminada la contribución del picobentos fotoautótrofo al carbón orgánico primario es 10 a 30 veces menor a los valores de producción primaria béntica reportados por Charpy-Roubaud (1988) y Danovaro y Mauro (1995).

Los resultados promedio ($4 \pm 2.2 \times 10^3 \text{ UFC/mL}$) obtenidos del conteo de unidades formadoras de colonias bacterianas rojas no sulfurosas representan la parte del bacteriobentos viable con capacidad de captar energía lumínica a longitudes de onda diferentes a las utilizadas por el picobentos autótrofo, por lo que la abundancia de este primer grupo en las biopelículas muestreadas es importante debido a que aumenta la eficiencia en el uso de la energía béntica en el sistema lagunar de Sontecomapan.

La comunidad bacteriana fotótrofa aislada fue predominantemente anaerobia; sin embargo, en presencia de oxígeno presentó un metabolismo microaerobio. Se sabe que cuando las bacterias rojas no sulfurosas crecen en condiciones aeróbicas se inhibe la síntesis de bacterioclorofilas, y pueden estar prácticamente desprovistas de carotenoides (Kondratieva *et al.*, 1992; Grammel *et al.*, 2003). Sin embargo, los resultados de los bioensayos realizados a diferentes concentraciones de oxígeno mostraron que la producción de carotenoides fue mayor en condiciones subóxicas (pO_2 de 4 y 5%) que en condiciones anaerobias.

Se observó que la presencia de materia orgánica y probablemente la hidrodinámica inducida por los nortes y los ríos fueron determinantes en la presencia o ausencia de las biopelículas sedimentarias. Su presencia fue mayor en las zonas con sedimentos con bajos porcentajes en limos y arcillas (7.4 ± 4.5 y 4.5 ± 2.6 , respectivamente) y grandes aportes de materia orgánica alóctona, que en aquellas que presentaron un porcentaje mayor de limos (33.7 ± 13.9) y arcillas (16 ± 13.4).

El análisis de correlación de las variables ambientales y la presencia de microorganismos fotoautótrofos y fotótrofos muestran valores importantes en dos ambientes. Uno con limos y arcillas y reducida transparencia del agua que favorece la presencia de los fotoautótrofos; y otro con mayor transparencia del agua, iones ortofosfato y amonio, arena y materia orgánica donde las bacterias fotótrofas tienen una mayor presencia. Lo que indica, sin duda, que la formación de biopelículas es un proceso multifactorial, aunque se puede especular que el ambiente propicio es el compuesto por materia orgánica y sedimentos finos. La correlación observada con nutrientes inorgánicos puede ser considerada como un subproducto de la presencia de dichas películas.

Las biopelículas sedimentarias de esta laguna costera estuvieron constituidas básicamente por cianoprocariontas, proclorofitas y bacterias fotótrofas rojas no sulfurosas, lo que coincide con lo señalado por Haglund *et al.* (2002) para biopelículas sedimentarias de otras regiones.

En la literatura consultada sobre la contribución del bacteriobentos fotoautótrofo a la biomasa primaria béntica no se encontró ningún trabajo realizado en biopelículas de lagunas costeras mexicanas, por lo que los resultados preliminares presentados pueden ser considerados pioneros.

CONCLUSIONES

La laguna de Sontecomapan presentó los ambientes sedimentarios adecuados para la formación de biopelículas (materia orgánica con limos y

arcillas y transparencia en la columna de agua), como consecuencia se observó producción de materia orgánica primaria microbiana béntica.

Se detectó en las poblaciones estudiadas del bacteriobentos fotótrofo la presencia de cantidades altas de bacterioclorofila y carotenoides de la serie de las espiriloxantinas. Esta información permitió establecer la fuerte influencia de esta comunidad béntica en la captación de energía lumínica y producción de materia orgánica primaria regenerada en sedimentos superficiales lagunares. Esta biomasa regenerada suele ser incorporada a las cadenas tróficas bénticas de consumidores.

A partir de los bioensayos realizados se pudo observar que en este ambiente tropical las bacterias rojas no sulfurosas responden a la presencia de oxígeno disuelto con mayor producción de pigmentos carotenoides.

En consecuencia, la materia prima generada por el microbentos fotótrofo y fotoautótrofo en esta laguna costera es de gran importancia para la cadena trófica microbiana y de consumidores que se establecen en ella. Una mejor comprensión de esta producción permite conocer el potencial del sistema para generar alimento hacia las poblaciones ribereñas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Conacyt por la beca de posgrado otorgada a la M. en C. A. Olivia Aparicio Osorio (198427), así como el apoyo económico otorgado a través del proyecto 39634 (Influencia de la salinidad sobre la fijación no simbiótica del nitrógeno molecular y diversidad de la comunidad bacteriana microaerofílica en el complejo laguno-arrecifal de Sontecomapan, Veracruz).

BIBLIOGRAFÍA

- Atlas, R. y R. Bartha, 2000, *Ecología microbiana y microbiología ambiental*, 4a. ed., Addison Wesley, España.
- Bratbak, G., 1993, "Microscope methods for measuring bacterial biovolume: epifluorescence microscopy, scanning electron microscopy, and transmission electron microscopy", en Kemp, P. F., B. F. Sherr, E. B. Sherr y J. J. Cole (comps.), *Handbook of methods in Aquatic Microbial Ecology*, Lewis Publishers, Londres.
- Breitbart, A. et al., 2009, "Metagenomic and stable isotopic analyses of modern freshwater microbialites in Cuatro Ciéneas, México", en *Environmental Microbiology*, 11:16-34.
- Camacho, A. et al., 2001, "Microbial microstratification, inorganic carbon photoassimilation and dark carbon fixation at the chemocline of the meromitic Lake Cadagno (Switzerland) and its relevance to the food web", en *Aquatic Science*, 63:91-106.
- _____, 2000, "Spatio-temporal distribution and growth dynamics of phototrophic sulfur bacteria populations in the sulfide-rich Lake Arcas", en *Aquatic Science*, 62:334-349.
- Charpy-Roubaud, J., 1988, "Production primaire des fonds meubles du lagon de Tikehau (atoll des Tuamotu, Polynésie Française)", en *Oceanologica Acta*, 11:241-248.
- Contreras, F., 1985, *Lagunas costeras mexicanas*, Centro de Ecodesarrollo/ Secretaría de Pesca, DF, México.
- Danovaro, R. y F. Mauro, 1995, "Seasonal and inter-annual variation of bacteria in a seagrass bed of the Mediterranean Sea: relationship with labile organic compounds and other environmental factors", en *Aquatic Microbial Ecology*, 9:17-26.
- Davey, M. E. y G. A. O'Toole, 2000, "Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics", en *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64:847-867.

- Demergasso, G. *et al.*, 2003, "Tapetes microbianos del Salar de Lllamará, norte de Chile", en *Revista Chilena de Historia Natural*, 76:485-499.
- De Wit, R. *et al.*, 2001, "ROBUST: the role of buffering capacities in stabilising coastal lagoon ecosystems", en *Continental Shelf Research*, 21: 2021-2041.
- Esteban, B. *et al.*, 1993, "New species double the diversity of anaerobic ciliates in a Spanish lake", en *FEMS Microbiology Letters*, 109:93-100.
- Falcón, I. *et al.*, 2007, "Nitrogen fixation in microbial mat and stromatolite communities from Cuatro Ciénegas, México", en *Microbial Ecology*, 54:363-373.
- _____, 2002, "Nitrogen fixation patterns displayed by cyanobacterial consortia in Alchichica crater-lake, Mexico", en *Hydrobiologia*, 467:71-78.
- Ferrara, J. *et al.*, 2000, "Microaerophilic bacterial biomass measurements based on adenosine triphosphate and direct counting techniques in a semi-solid agar column", en *Ciencias Marinas*, 26:355-367.
- Ferrara, M. *et al.*, 1993, "Isolation and enumeration of anaerobic and microaerophilic bacteria in aquatic habitats", en Kemp, P. F., B. F. Sherr, E. B. Sherr y J. J. Cole (comps.), *Handbook of Methods in Aquatic Microbial Ecology*, Lewis Publisher, Londres.
- Ferrara, R. *et al.*, 2004, "High-diversity biofilm for the oxidation of sulfide-containing effluents", en *Applied Microbiology and Biotechnology*, 64:726-734.
- Fiedor, L. *et al.*, 2004, "Carotenoid-induced cooperative formation of bacterial photosynthetic LH1 complex", en *Biochemistry*, 43:16487-16496.
- Finlay, J., 1991, "Anaerobic ciliates from a sulphide-rich solution lake in Spain", en *European Journal of Protistology*, 27:148-159.
- Grammel, H. *et al.*, 2003, "Microaerophilic cooperation of reductive and oxidative pathways allows maximal photosynthetic membrane biosynthesis in *Rhodospirillum rubrum*", en *Applied Environmental Microbiology*, 69:6577-6586.
- Haglund, L. *et al.*, 2002, "Large differences in the fraction of active bacteria in plankton, sediments and biofilm", en *Microbial Ecology*, 43: 232-241.

- Javor, B. J. y R. W. Castenholz, 1981, "Laminated microbial mats, laguna Guerrero Negro, Mexico", en *Geomicrobiology Journal*, 2:237-273.
- Kierek-Pearson, K. y E. Karatan, 2005, "Biofilm development in bacteria", en *Advances in Applied Microbiology*, 57:79-104.
- Långmark, J. *et al.*, 2005, "Accumulation and fate of microorganism and microspheres in biofilms formed in a pilot-scale water distribution system", en *Applied Environmental Microbiology*, 71:706-712.
- López, A., 1999, "Paleobiological significance of hydrophobicity and adhesion of phototrophic bacteria from microbial mats", en *Precambrian Research*, 96:25-39.
- _____, 1990, "Microbial mats in tidal channels at San Carlos, Baja California Sur, México", en *Geomicrobiology Journal*, 8:69-85.
- Macissac, E. A. y J. G. Stockner, 1993, "Enumeration of phototrophic picoplankton by autofluorescence microscopy", en Kemp, P., B. Sherr, E. Sherr y J. Cole (comps.), *Handbook of Methods in Aquatic Microbial Ecology*, Lewis Publisher, Londres.
- Massana, J. *et al.*, 1996, "Components, structure and fluxes of the microbial food web in a small, stratified lake", en *Aquatic Microbial Ecology*, 11:279-288.
- Miracle, R. *et al.*, 1992, "Biological studies of Spanish meromictic and stratified karstic lakes" en *Limnetica*, 8:59-77.
- Morán, V., 2007, *Influencia de los parámetros físicos y químicos sobre las tasa de fijación del nitrógeno atmosférico y de desnitrificación en la laguna de Sontecomapan, Veracruz*, tesis de Maestría en Ciencias Agropecuarias, UAM-Xochimilco, México.
- Norland, S., 1993, "The relationship between biomass and volume of bacteria", en Kemp, F., B. Sherr, E. Sherr y J. Cole (comps.), *Handbook of Methods in Aquatic Microbial Ecology*, Lewis Publishers, Londres.
- Pfennig, H. y H. Trüper, 1981, "Isolation of members of the family Chlorobiaceae", en Starr, P., H. Stolp, H. Trüper, A. Balows, H. Schlegel (comps.), *The prokaryotes*, Springer-Verlag, Nueva York.

- Roeselers, C. *et al.*, 2008, "Phototrophic biofilms and their potential applications", en *Journal Applied of Phycology*, 20:227-235.
- Salonen, K. y A. Lehtovaara, 1992, "Migrations of haemoglobin-rich *Daphnia longispina* in a small, steeply stratified, humic lake with an anoxic hypolimnion", en *Hydrobiologia*, 229:271-288.
- Sherr, E. *et al.*, 1993, "Staining of heterotrophic protists for visualization via epifluorescence microscopy", en Kemp, F., B. Sherr, E. Sherr y J. Cole (comps.), *Handbook of Methods in Aquatic Microbial Ecology*, Lewis Publisher, Londres.
- Spear, R. *et al.*, 2003, "Complexity in natural microbial ecosystems: the Guerrero Negro experience", en *Biology Bulletin*, 204:168-173.
- Sundbäk, F. *et al.*, 2004, "Benthic nitrogen fluxes along a depth gradient in a microtidal fjord: The role of denitrification and microphyto-benthos", en *Limnology and Oceanography*, 49:1095-1107.
- Torreton, J. P., 1992, *Importance des bactéries hétérotrophes aérobies dans une lagune eutrophiqne tropicale (Lagune Ebrié, Côte d'Ivoire). Biomasse, production, exportations*, tesis de Doctorado de la Universidad de Aix-Marseille II, Francia.
- Wimpenny, W. *et al.*, 2000, "Heterogeneity in biofilms", en *FEMS-Microbiology Review*, 24:661-667.
- Zher, P. y B. Ward, 2002, "Nitrogen cycling in the ocean: new perspectives on processes and paradigms", en *Applied and Environmental-Microbiology*, 68:1015-1024.

