

Aislamiento y caracterización pigmentaria de las bacterias rojas del azufre de la laguna de Tampamachoco, Veracruz

Isolation and pigment characterization of purple sulphur bacteria from Tampamachoco lagoon, Veracruz

María Teresa Núñez-Cardona

DEHA, Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco. Calzada del Hueso 1100, Col. Villa Quietud, 04960, Distrito Federal, México.
mtnunez@cueyatl.uam.mx

Núñez-Cardona, M. T. 2003. Aislamiento y caracterización pigmentaria de las bacterias rojas del azufre de la laguna de Tampamachoco, Veracruz. *Hidrobiológica* 13(3): 171-176.

RESUMEN

Las bacterias fotótrofas habitan una gran diversidad de ambientes acuáticos dentro de los cuales están las lagunas costeras. Dichos sistemas, caracterizados por los cambios constantes en sus propiedades fisicoquímicas, son ambientes que albergan un sinnúmero de organismos y las bacterias rojas del azufre están dentro de ellos. El presente trabajo tuvo por objetivos aislar a este tipo de microorganismos a partir de muestras de agua de la laguna de Tampamachoco y caracterizarlas mediante sus propiedades morfológicas celulares y pigmentarias. Se recolectaron muestras de agua del nivel sub-superficial y se aislaron 8 cepas bacterianas. Una de ellas presentó formas esféricas (cocos) y las otras siete fueron bacilos móviles. Todas las cepas acumularon azufre intracelularmente, lo cual es una característica de los miembros de la familia Chromatiaceae. Después de verificar la pureza de las cepas aisladas, se procedió a analizar sus pigmentos fotosintéticos *in vivo* y sus extractos con disolventes orgánicos (metanol y acetona:metanol). Los espectros de absorción de los pigmentos fotosintéticos mostraron la presencia de *bacteriochlorofila a* y pigmentos de la serie normal de la espiriloxantina y del rodopinal. De acuerdo con sus características morfológicas celulares y pigmentarias se concluye que las bacterias aisladas pertenecen a los géneros *Amoebobacter* y *Chromatium*.

Palabras clave: Bacterias anoxigénicas, *Amoebobacter*, *Chromatium*, espiriloxantina, rodopinal.

ABSTRACT

Phototrophic bacteria grow in different aquatic systems like coastal lagoons. These systems are characterized for their constant physicochemical fluctuations, nevertheless they are suitable habitats for a number of organisms such as the phototrophic bacteria among others. The aim of this paper is to present the results of the isolation from different strains of purple sulphur bacteria from water samples collected just below the surface of the Tampamachoco lagoon and their characterization using morphological and pigment properties. Eight bacteria strains were isolated. One of them were cocci and the others showed motile bacilli. All isolated strains contained sulphur granules which is characteristic of the members of the Chromatiaceae family. After verifying the purity of the isolated strains, their photosynthetic pigments were analyzed *in vivo* and extracted with organic solvents (methanol and acetone-methanol). Absorption spectra of these photosynthetic pigments revealed the presence of bacteriochlorophyll *a* and pigments of the normal spirilloxanthin and rhodopinal

series. According with their morphological and pigment characteristics, the isolated strains were members of the *Amoebobacter* and *Chromatium* genera.

Keywords: Anoxygenic bacteria, *Chromatium*, *Amoebobacter*, spirilloxanthin, rhodopinal.

INTRODUCCIÓN

Las bacterias fotosintéticas del azufre forman un grupo diverso de microorganismos. En el resultado de su fotosíntesis no producen oxígeno, razón por la cual también se les conoce como bacterias anoxigénicas. La fotosíntesis en estos microorganismos depende de la cantidad y calidad de luz que reciben, la disponibilidad de donadores de electrones (sulfuro de hidrógeno, polisulfuros, azufre molecular, compuestos orgánicos de peso molecular bajo) y la concentración de oxígeno; la presencia de este último inhibe la síntesis de sus pigmentos (Cohen-Bazire *et al.*, 1957; van Gemerden *et al.*, 1989; Imhoff, 1995; Stolz, 1992).

A diferencia de los procariontes oxigénicos (ej. Ciano-procariontes), estos microorganismos presentan bacterioclorofilas que pueden ser del tipo *a*, *b*, *c*, *d*, *e* y *g*, además de una gran variedad de carotenos (Pfennig & Trüper, 1989; Imhoff, 1995).

El análisis de los pigmentos de estas bacterias ha sido ampliamente utilizado desde hace mucho tiempo, tanto para su caracterización como para la estimación de su biomasa (extraídos en solventes orgánicos), ya sea en muestras obtenidas de cuerpos de agua (Stal *et al.*, 1984, Bustillos-Guzmán *et al.*, 2000; Sorensen, 1988) o en cultivos (Jensen *et al.*, 1964). Estos pigmentos han mostrado ser importantes para la taxonomía y ecología de este grupo de microorganismos (Friggard *et al.*, 1996).

Cuando las condiciones fisicoquímicas de los sistemas acuáticos les son muy favorables, las bacterias fotosintéticas crecen masivamente, ocupando toda la columna de agua o bien formando capas que pueden observarse a simple vista debido a sus bacterioclorofilas y carotenos, dando tonalidades rosas, verdes, rojas y púrpuras (Pfennig & Trüper, 1981; Mondragón *et al.*, 1984; Lindholm & Weppling, 1987).

De acuerdo con Trüper (1970), las zonas costeras son fácilmente habitables por microorganismos con requerimientos tan especiales como los que presentan las bacterias fotótrofas, las cuales tienen un papel determinante en los flujos de energía así como en los ciclos biogeoquímicos que se llevan al cabo en estos sistemas.

Usando la energía solar, estas bacterias transforman algunos de los productos metabólicos de otros organismos en su propia biomasa, que puede ser aprovechada por inverte-

brados, convirtiéndose así en el primer eslabón de una trama alimenticia (Caumette *et al.*, 1983; Decho & Castenholz, 1986).

El presente trabajo tuvo por objetivos aislar y purificar a las bacterias rojas del azufre (fotótrofas anoxigénicas) a partir de muestras de agua de la laguna de Tampamachoco, y caracterizarlas mediante sus propiedades morfológicas y pigmentarias, contribuyendo así en el conocimiento de este grupo fisiológico tan poco estudiado en México.

MATERIALES Y MÉTODOS

La laguna de Tampamachoco, sitio donde se recolectaron muestras, forma parte del complejo estuarino-lagunar de Tamiahua y Pueblo Viejo, y se ubica a nueve kilómetros de la ciudad de Tuxpam, Veracruz, México.

Para obtener cultivos de bacterias rojas del azufre se recolectaron muestras de agua del nivel sub-superficial (20 cm de profundidad) durante la época de "nortes" (enero de 1991), con ayuda de una botella muestreadora van Dorn de cinco litros de capacidad (Takahashi & Ichimura, 1968). A partir de estas muestras se inocularon tubos de ensayo (35 ml de capacidad) que contenían 30.0 ml de medio de cultivo enriquecido, específico para la familia Chromatiaceae, diseñado por Bielb y Pfennig (en Pfennig & Trüper, 1981).

Los tubos inoculados se mantuvieron con iluminación constante y continua utilizando una lámpara de 60W (luz incandescente) colocada a una distancia de 20-25 cm (van Niel, 1971) y a temperatura ambiente. Una vez que se observó la pigmentación característica en los cultivos enriquecidos (roja, rosa, marrón o púrpura), se procedió al aislamiento y purificación de las cepas bacterianas. Para ello se utilizó la técnica de tubos con agar semi-sólido (van Niel, 1971; Pfennig & Trüper, 1981).

Después de verificar la uniespecificidad de los cultivos bacterianos mediante observaciones al microscopio óptico, éstos se hicieron crecer en frascos de vidrio de 300 ml de capacidad, conteniendo medio de cultivo líquido enriquecido para la familia Chromatiaceae (Pfennig & Trüper, 1981). Con la finalidad de contar con cultivos masivos se les administró una solución de sulfuro de sodio neutralizada con ácido clorhídrico.

El análisis de sus pigmentos fotosintéticos se realizó una vez que se observó crecimiento masivo en los cultivos.

Generalmente esto ocurrió después de cinco días de incubación en las condiciones antes señaladas.

Para obtener el espectro de absorción *in vivo* se centrifugaron 10.0 ml de cultivo a 5,000 rpm durante 20 minutos. Las lecturas se hicieron después de resuspender a las células concentradas en 5.0 ml de medio de cultivo (sin sulfuro de sodio). Como blanco se utilizó medio de cultivo y se orientó la parte opaca de la celda hacia la zona más cercana al fotodetector del espectrofotómetro (Núñez-Cardona, 1999),

Para extraer los pigmentos con solventes orgánicos se utilizaron 10.0 ml de cultivo. Este volumen se centrifugó a 5,000 rpm durante 20 minutos, se eliminó el sobrenadante y las células se resuspendieron en 5.0 ml de disolvente (acetona: metanol en proporción 7:2 ó metanol puro). Las extracciones se hicieron conservando las muestras a 4° C durante 18 horas y en la oscuridad.

Después de transcurrido el tiempo de extracción las lecturas se hicieron con el sobrenadante, previa centrifugación y evitando resuspender a las células sedimentadas. Como blanco se utilizaron los disolventes antes mencionados (Stal *et al.*, 1984). En todos los casos las lecturas se realizaron en un espectrofotómetro Shimadzu modelo UV160 A.

Con los máximos de absorción diferenciales de los pigmentos obtenidos (*in vivo* y extraídos) se elaboró una base de datos (presencia ó ausencia de un máximo de absorción), y para su análisis se utilizó el coeficiente de asociación de Pearson. Para la formación de los grupos se aplicó el ligamiento simple, ambos disponibles en el Systat, versión 5.0.

RESULTADOS

A partir de las muestras de agua obtenidas de la laguna de Tampamachoco fue posible aislar y obtener ocho cultivos uniespecíficos de bacterias rojas del azufre. En la tabla 1 se resumen las características morfológicas y de cultivo de las cepas obtenidas.

Con excepción de la cepa *T1f6* que presentó forma esférica y aerotopos (vacuolas con gas), el resto de las cepas aisladas fueron bacilos delgados con movilidad debido a la presencia de flagelos. En todos los casos se observaron gránulos de azufre en el interior de sus células, lo que las identificó como miembros de la familia Chromatiaceae.

Con respecto a sus propiedades pigmentarias, los resultados obtenidos a partir de células suspendidas (*in vivo*) mostraron máximos de absorción a 370-378, 588-591, 796-798 y 800-892 nm, que corresponden a la bacterioclorofila *a* (Pfennig & Trüper,

Tabla 1. Características morfológicas de las cepas aisladas a partir de las muestras de agua de la laguna de Tampamachoco.

Cepa	Forma	Color cultivo (líquido)	Movilidad por:
T1f6	Cocos	Rosa	Aerotopos
T9s64	Bacilos	Rojo	Flagelos
T9s642	Bacilos	Rojo	Flagelos
T9s62	Bacilos	Rojo	Flagelos
T6f3	Bacilos	Rosa	Flagelos
T7s9	Bacilos	Violeta	Flagelos
T9s68	Bacilos	Violeta	Flagelos
T9s4	Bacilos	Violeta	Flagelos
*DSM185	Bacilos	Rojo-marrón	Flagelos

*Cepa de colección: *Chromatium vinosum*, utilizada como referencia.

1982; Imhoff, 1995) y que en los extractos en metanol y acetona:metanol ésta se hizo evidente a 770-771 nm (Stal *et al.*, 1984).

De manera general, los pigmentos accesorios analizados *in vivo* mostraron máximos de absorción entre 485-550 nm (Matheron, 1976), en metanol entre 460 y 524 nm y en acetona metanol entre 467-529 nm (Eickler & Pfennig, 1982; Zülling, 1985).

En la figura 1 se presenta un ejemplo del espectro de absorción de los pigmentos de la cepa *T9s642* analizados *in vivo* y extraídos con disolventes orgánicos, y en la tabla 2 se incluyen sus máximos de absorción. Considerando los datos de esa tabla, y después de aplicarles el coeficiente de asociación de Pearson, se obtuvo la figura 2 que muestra la relación entre las ocho cepas trabajadas. De acuerdo con el dendrograma obtenido (Fig. 2) las cepas se integraron en dos grupos. El primero se formó con las cepas *T9s4*, *T9s68* y *T7s9* y asociadas a éstas la cepa *T6f3*; el segundo grupo se formó por las cepas *T9s642*, *T9s64* y *T9s62* con las cuales se asoció la cepa de colección *Chromatium vinosum* (DSM185).

La cepa *T1f6*, además de presentar características morfológicas que la distinguieron del resto de los cultivos, mostró también diferencias en cuanto a sus propiedades pigmentarias. De acuerdo con Eickler & Pfennig (1982), los máximos de absorción de sus pigmentos *in vivo* registrados a 515 y 550 nm corresponden a la serie normal de la espiriloxantina. Las propiedades morfológicas y pigmentarias de esta cepa sugieren que pertenece al género *Amoebobacter*.

Con respecto a las propiedades pigmentarias de las cepas que integraron al grupo 1, el color violeta en los cultivos líquidos denotó la presencia de pigmentos de la serie del Rodopinal y puede tratarse de rodopinal o de licopenol (Zülling

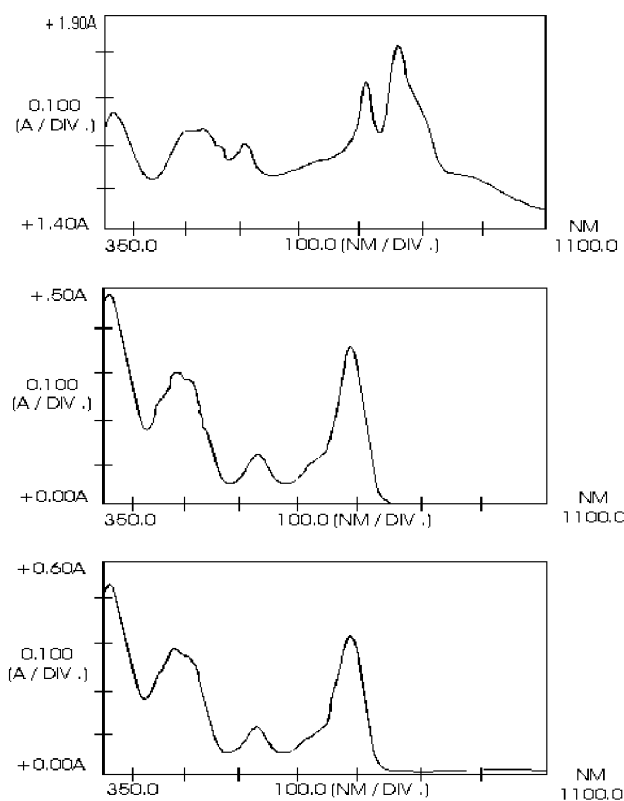


Figura 1. Espectros de absorción de la cepa T9s64-2 (*Chromatium* sp.), obtenidos a partir del análisis de sus pigmentos *in vivo* (A), extraídos con metanol (B) y con acetona:metanol (C).

1985), además de mostrar máximos de absorción *in vivo* a 491, 527-530 nm (Matheron, 1976). Este tipo de pigmentos han sido observados en microorganismos pertenecientes tanto al género *Thiocystis* (Matheron, 1976), como en *Chromatium warmingii*, *C. violascens* (Trüper & Jannash 1968, Pfennig &

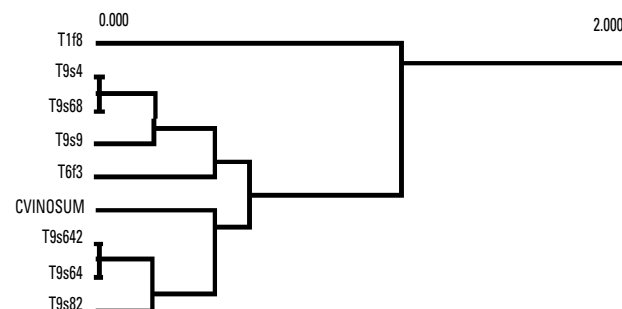


Figura 2. Relación entre las bacterias rojas del azufre aisladas de la laguna de Tampamachoco con base en sus propiedades pigmentarias.

Trüper 1989) y *C. buderi* (Matheron, 1976). En la figura 2 es posible observar la estrecha relación que existe entre las cepas T9s4 y T9s68, por lo que es muy probable que se trate de la misma cepa.

Por otro lado, los carotenos de la cepa T6f3 presentaron máximos de absorción en disolventes orgánicos a 468 nm (metanol); 472 y 502 nm (en acetona:metanol), que de acuerdo con Zülling (1985) corresponden a la tetrahidroespiriloxantina.

Las cepas que se integraron en el grupo dos también presentaron pigmentos de las serie normal de la espiriloxantina. Sus máximos de absorción en células suspendidas se observaron a 485-487 nm y en acetona:metanol a 473-499 nm (Zülling, 1985). En este grupo las cepas T9s642 y T9s64 podrían considerarse como una sola, ya que sus espectros de absorción son prácticamente iguales.

De acuerdo con las propiedades consideradas en este estudio, las cepas del Grupo 1 y 2 pueden incluirse dentro de los miembros del género *Chromatium*.

Tabla 2. Máximos de absorción de los pigmentos de diferentes cepas de la familia Chromatiaceae aisladas a partir de muestras de agua de la laguna de Tampamachoco.

Cepa	Análisis <i>in vivo</i>	Extractos en metanol	Extractos en acetona:metanol
T1f6	370, 515, 550, 590, 801, 823, 892	365, 460, 491, 524, 608, 771	366, 495, 529, 600, 770
T9s64	370, 485, 588, 797, 850,	362, 467, 610, 771	362, 473, 499, 601, 770
T9s642	371, 488, 591, 798, 852	364, 467, 608, 771	362, 473, 499, 601, 770
T9s62	378, 487, 589, 796, 849	362, 467, 610, 771	362, 467, 600, 771
T6f3	374, 591, 802, 854	364, 468, 607, 771	364, 472, 502, 771
T7s9	373, 491, 528, 590, 802, 852	364, 467, 496, 608, 771	362, 473, 502, 588, 770
T9s68	372, 527, 590, 803, 852	365, 472, 499, 606, 770	364, 472, 502, 600, 770
T9s4	373, 530, 591, 802, 854	364, 472, 498, 607, 770	362, 475, 503, 578, 770
DSM185	370, 487, 588, 807, 850	364, 467, 609, 770	361, 474, 502, 601, 770

Cabe señalar que para determinar con exactitud la composición pigmentaria de las cepas aisladas, es necesario analizarlos por Cromatografía de Líquidos de Alta Precisión (HPLC).

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente estudio mostraron que el medio de cultivo y las técnicas para el aislamiento de las bacterias rojas del azufre resultaron adecuados. La capacidad de las bacterias aisladas para acumular azufre intracelularmente, su morfología celular y la presencia de bacterioclorofila a, son aspectos que permitieron incluir a los ocho cultivos uniespecíficos obtenidos dentro de la familia Chromatiaceae (van Niel, 1971; Pfennig & Trüper 1989).

Con respecto a sus carotenos, de las seis rutas biosintéticas propuestas por Schmidt (en Imhoff, 1995), las cepas aquí trabajadas cuentan con al menos dos rutas bien definidas. Una de ellas es la de la Espiriloxantina y la otra del Rodopinal. Cabe señalar que los pigmentos de ésta última se han encontrado en un número pequeño de cepas de la familia Chromatiaceae, particularmente en los géneros *Chromatium* (Trüper & Jannash 1968, Pfennig & Trüper 1989) y *Thiocystis* (Matheron, 1976).

Si bien la cepa de *Amoebobacter* presentó pigmentos de la serie normal de la espiriloxantina, es evidente que su composición pigmentaria es muy diferente de las cepas de *Chromatium* que también presentaron pigmentos de esta serie, por lo que puede decirse que los espectros de absorción obtenidos con diferentes técnicas proporcionan información valiosa y complementaria, permitiendo así contar con más datos para caracterizarlas y separarlas taxonómicamente.

Aunque las bacterias fotosintéticas han sido estudiadas desde hace más de 100 años, actualmente se dedican pocos esfuerzos al aislamiento de cepas nuevas. Esto probablemente se deba a la dificultad para cultivarlas y mantenerlas en cultivos puros, especialmente porque requieren condiciones muy específicas para su crecimiento y proliferación.

Considerando lo antes expuesto, el presente trabajo contribuyó al conocimiento de este grupo de microorganismos mediante la aplicación de técnicas convencionales. Es importante mencionar que el número de cepas aquí analizadas no es más que una pequeña muestra de la riqueza específica de las bacterias anoxigénicas que habitan la laguna de Tampamachoco, por lo que es necesario intensificar y aplicar otras técnicas para su estudio.

De acuerdo con Palleroni (1997), el aislamiento y cultivo de microorganismos es de gran importancia no sólo para conocer la biodiversidad microbiana, sino también porque aún

las técnicas más sofisticadas (ej. biología molecular) que se aplican al estudio de los microorganismos dependen de la información disponible de los ya cultivados y conocidos, además de que ninguna de las técnicas hasta hoy conocida podría facilitar información referente a su función en los sistemas en donde se desarrollan y mucho menos de su metabolismo específico sin su manipulación.

AGRADECIMIENTOS

La autora agradece a la Dra. Martha Signoret Poillon la revisión de este manuscrito. Al CONACyT por financiar el proyecto de investigación: Estudios hidrobiológicos del Sistema estuarino-lagunar Tuxpam-Tampamachoco, Veracruz, Zona Noroccidental del Golfo de México (PCECBNA-000048) del cual surgió este trabajo y por la beca otorgada a la autora para realizar estudios de doctorado en la Universidad Autónoma de Barcelona, España. Asimismo, a los hermanos Erick e Iván Reséndiz Núñez por dibujar las figuras 1 y 2.

REFERENCIAS

- BARER, R. 1955. Spectrophotometry of clarified suspensions. *Science* 121: 709-715.
- BERLANGA-SILLER, C., J. ROMERO-JARERO, M. T. NÚÑEZ-CARDONA & F. J. VILLENNA-IRIVE. 1987. Cuantificación de la contaminación bacteriana y su variación temporo-espacial en Tuxpam-Tampamachoco, Veracruz. In: Estudios hidrobiológicos del Sistema estuarino-lagunar Tuxpam-Tampamachoco, Veracruz, Zona Noroccidental del Golfo de México. Informe final del proyecto No. PCECBNA-000048, CONACyT, México. pp. 192-202.
- BROCK, T. D. & M. T. MADIGAN. 1988. *Biology of Microorganisms*. 5th. Ed. Prentice Hall, New Jersey. pp 684-686.
- BUSTILLOS-GUZMÁN, J., D. LÓPEZ-CORTÉS, F. HERNÁNDEZ & I. MURILLO. 2000. Pigment signatures associated with an anoxic coastal zone: Bahía Concepcion, Gulf of California. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 24(1): 77-88.
- CAUMETTE, P. 1992. Bacterial communities in coastal lagoons an overview. *Vie et Milieu* 42(2): 111-123.
- COHEN-BAZIRE, G., W. R. SISTROM & R. V. STANIER. 1957. Kinetic studies of pigmented synthesis by non-sulfur bacteria. *Journal Cellular Comparative Physiology* 49: 25-68.
- DREWS G. & J. F. IMHOFF. 1991. Phototrophic sulfur bacteria. In: SHIVELY, J. M. & L. BARTON (Eds.) *Variations in autotrophic life*. Academic Press, London, pp. 53-97
- FRIGGARD N. U., K. LARSEN & R. P. COX. 1996. Spectrochromatography of photosynthetic pigments as a fingerprinting technique for microbial phototrophs. *FEMS Microbiology Ecology* 20: 69-77.

- GUERRERO R. C. PEDRÓS-ALIÓ, I. ESTEVE & J. MAS. 1987. Communities of phototrophic sulfur bacteria in lakes of the Spanish Mediterranean region. *Acta Académie Abioensis* 47(2): 125-151.
- IMHOFF J. F. 1995. Taxonomy and Physiology of Phototrophic Purple Bacteria and Green Sulfur Bacteria. In: BLAKENSHIP R. E., M.T. MADIGAN & C. E. BAUER (Eds.). *Anoxygenic photosynthetic Bacteria*. Kluwer Academic Publishers, Amsterdam, pp. 179-205.
- JENSEN, A., O. AASMUNDRUD & K. EIMHJELLEN. 1964. Chlorophylls of photosynthetic bacteria. *Biochimica et Biophysica Acta*: 466-479.
- LINDHOLM T. & K. WEPPLING. 1987. Blooms of phototrophic bacteria and phytoplankton in a small brackish lake on Åland, SW. Finland. *Acta Académie Abioensis* 47(2): 45-53.
- MATHERON, R. 1976. Contribution à l'étude écologique, systématique et physiologique des *Chromatiaceae* et des *Chlorobiaceae* isolées des sédiments marins. Thèse de Docteur ès Sciences. L'Université d'Aix-Marseille III, France 193 p.
- MONDRAGÓN, R., E. VICENTE & J. J. GUILLENEA. 1984. Aislamiento e identificación de bacterias fotosintéticas en el monolimnion del Estany de Cullera (Valencia). *Limnética* 1: 78-85.
- NÚÑEZ-CARDONA, M. T. 1998. Estudio de la composición de las bacterias fototróficas del azufre en el estero de la Mata, Tampamachoco, Veracruz. *Planctología Mexicana* 9: 19-25.
- NÚÑEZ-CARDONA, M. T. 1999. Optimización de técnicas para el análisis de pigmentos y ácidos grasos de bacterias fototróficas del azufre. Tesis de Doctorado en Biología (Microbiología). Facultat de Ciències, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona. 173 p.
- PALLERONI, N. J. 1997. Prokaryotic diversity and the importance of culturing. *Antonie van Leeuwenhoek* 72: 3-19.
- PFENNIG, N. & H. G. TRÜPER. 1981. Isolation of members of the families Chromatiaceae and Chlorobiaceae. In: M. STARR, H. STOLP, H. G. TRÜPER, H. G. BALOWS & H. Schegel (Eds.). *The Prokaryotes*. Springer Verlag, Nueva York, pp. 279-289.
- PFENNIG, N. & H. G. TRÜPER. 1989. Anoxygenic Phototrophic bacteria. In: J.T. STALEY, M.P. BRYANT, N. PFENNIG & J.G. HOLT (Eds.). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. William and Wilkins, Baltimore. Volumen 3, pp. 1635-1709.
- STAL, L. J., H. VAN GEMERDEN & W. KRUMBEIN. 1984. Simultaneous assay of chlorophyll and bacteriochlorophyll in natural communities. *Journal of Microbiology Methods* 2: 295-306.
- STOLZ, J. F. 1990. The Ecology of Phototrophic Bacteria. 1990. In: STOLZ, J. F. (Ed.) *Structure of Phototrophic Prokaryotes*. CRC Press. pp. 106-123
- TAKAHASHI M. & S. ICHIMURA. 1968. Vertical distribution of organic matter production of photosynthetic bacteria in Japanese lakes. *Limnology and Oceanography* 15(6): 929-945.
- VAN GEMERDEN, H. & J. MAS. 1995. Ecology of phototrophic sulfur bacteria. In: BLAKENSHIP R. E., M.T. MADIGAN & C. E. BAUER (Eds.). *Anoxygenic photosynthetic bacteria*. Kluwer Academic Publishers, Amsterdam. pp. 179-205
- VAN GEMERDEN, H., R. DE WITT, S. C. TUGHAB & R. A. HERBERT. 1989. Development of mass blooms of *Thiocapsa roseopersicina* on sheltered beaches on the Orkey Islands. *FEMS Microbiology Letters* 62(2): 111-118.
- VAN NIEL, C. B. 1971. Techniques for the enrichment, isolation, and maintenance of the photosynthetic bacteria. *Methods in Enzymology* 23: 3-28.
- ZÜLLING, H. 1985. Pigment phototropher Bakterien in Sedimenten und ihre Bedeutung für die Seenforschung *Schweizerische Zeitschrift für Hydrologie* 47(2): 88-125.

Recibido: 28 de julio de 2002.

Aceptado: 12 de septiembre de 2003.