

## ESTUDIO TAXONÓMICO DE BACTERIAS HETERÓTROFAS AISLADAS DE AGUAS DEL LAGO PEÑUELAS (V REGION, CHILE)

Bernardo Prado A \*, Patricio Barrios H \*, Mario Morales S \*,  
Manuel Saavedra G \* y Ana del Moral G \*\*.

\* Laboratorio de Microbiología,  
Universidad Técnica Federico Santa María,  
Sede Viña del Mar, Casilla 920 V, Chile.

\*\* Departamento de Microbiología,  
Facultad de Farmacia, Universidad de Granada,  
Granada, España.

**Palabras clave :** Taxonomía numérica, bacterias heterótrofas, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Aeromonas*, *Acinetobacter*.

**Key words:** Numerical taxonomy, heterotrophic bacteria, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Aeromonas*, *Acinetobacter*.

### RESUMEN

Se realizó un estudio taxonómico de 109 cepas de bacterias heterótrofas aisladas de las aguas del Lago Peñuelas, localizado en la V Región, Valparaíso, Chile, junto a 8 cepas de referencia. Se efectuaron 107 pruebas fenotípicas que fueron analizadas por taxonomía numérica. Se encontraron 7 fenones utilizando el coeficiente de apareamiento simple de Sokal y Michener (Ssm) y la técnica de agrupamiento UPGMA, a un nivel de semejanza del 70%. Los fenones A (9 cepas) y F (3), fueron asignadas al género *Bacillus*, 41 cepas fueron incluidas en el género *Flavobacterium* (fenones C y E), el fenón B (11), fue asignado al género *Aeromonas* y los fenones D (37) y G (6) fueron incluidos en el género *Acinetobacter*.

### INTRODUCCION

El Lago Peñuelas (33°10'S-71°29'W) es la fuente de abastecimiento de agua potable para los sectores altos de las ciudades de Valparaíso y Viña del Mar. Su uso y desarrollo debe ir por lo tanto, precedido de estudios de calidad y compatibilidad con su función primordial, el abastecimiento de agua potable. Este lago ofrece también

### SUMMARY

*[Taxonomic study of heterotrophic bacteria isolated from water of Peñuelas Lake (V Region, Chile)]*

A taxonomy study has been carried out on 109 strains of heterotrophic bacteria isolated from water of Peñuelas Lake, located in V Región, Valparaíso, Chile, and on eight reference strains. The 107 phenotypic tests were analyzed by numerical taxonomy. Using Ssm coefficient and the unweighted pair group method of association (UPGMA) at the 70% similarity level, seven phenons were obtained. Phenons A (9 strains) and F (3), were assigned to genus *Bacillus*, 41 strains were included to genus *Flavobacterium* (phenons C and E); phenon B included (11) that resembled the genus *Aeromonas* and phenons D (37) and G (6) were assigned to genus *Acinetobacter*.

la posibilidad de ser considerado como un campo de investigación detallada, relacionado con su funcionamiento como ecosistema.

Las bacterias como agentes descomponedores de la materia orgánica, ejercen una función decisiva, gracias a la cual reingresan con rapidez las sustancias orgánicas más importantes en los ciclos de la materia, permitiendo así a las plantas y demás elementos de la cadena alimen-

taria la producción de nuevos compuestos orgánicos. El presente estudio fue ideado con el propósito de lograr un conocimiento más acabado de la distribución taxonómica de los grupos bacterianos presentes en el agua de este lago, dado la escasa información al respecto. Navarro y Avaria (1971), dan a conocer la constitución del fitoplancton, Sancha y Castillo (1975), efectuaron la caracterización químico-bacteriológica de las aguas, con el objetivo de ver su calidad como fuente de agua potable. Recientemente Zúñiga y Carvajal (1990), en relación con la distribución de cianobacterias, señalan que en el lago, pese a la alta variedad de especies fitoplanctónicas, en determinadas épocas del año sólo tiende a predominar una de ellas, *Microcystis incerta*. Schmid-Araya y Zúñiga (1992), señalan la relación con la variabilidad temporal que presenta el zooplancton en el cuerpo de agua y Villagrán y Domínguez (1989), la distribución de corrientes mediante el uso de derivadores, encontrando que en el lago existen fuertes corrientes, lo cual permite la circulación constante del cuerpo de agua y con ello la resuspensión de los nutrientes que pudieran tender a sedimentar. A pesar de estos estudios, nada se sabe de la composición de los grupos taxonómicos bacterianos presentes en estas aguas, los cuales son elementos importantes en los ciclos de la materia. De esto nace el interés de nuestra investigación, que nos permite una aproximación preliminar de los diversos grupos taxonómicos bacterianos, teniendo presente que en el futuro deberán realizarse estudios más acabados, para completar los datos en un ciclo anual.

## MATERIALES Y METODOS

### Aislamiento y mantenimiento de las cepas.

Las bacterias fueron aisladas de muestras de agua tomadas a 5 cm de la superficie, entre los meses de Agosto de 1990 y Enero de 1991, en 12 estaciones diferentes en el Lago Peñuelas, provincia de Valparaíso (V Región, Chile) y a 12 Km de esta ciudad (Fig. 1). Los métodos de aislamiento y selección se basaron en los descritos por Quesada et al., 1983 y Márquez et al., 1987. Las 109 cepas de bacterias heterótrofas seleccionadas fueron mantenidas en agar nutritivo inclinado (Gow y Mills, 1984).

### Cepas de referencia.

Las siguientes cepas de referencia fueron incluidas en este trabajo: *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli* C, *Enterobacter cloacae*, *Bacillus pumillus*, *Micrococcus luteus* y *Staphylococcus aureus*. Estas cepas fueron obtenidas de la colección

de cultivos del Laboratorio de Microbiología Ambiental de la Universidad Católica de Valparaíso.

### Caracterización de los aislamientos.

Se realizaron 107 pruebas fenotípicas, incluyendo test morfológicos, fisiológicos, bioquímicos y nutricionales para cada cepa (Tabla 1), basándose en los procedimientos descritos por Quesada et al., 1984; Márquez et al., 1987 y Cowan & Steel, 1974).

### Análisis numérico.

Fueron seleccionados 98 caracteres fenotípicos para el análisis numérico. Los resultados positivos y negativos fueron codificados como 1 y 0 respectivamente. La similitud entre las cepas se estimó aplicando el coeficiente de apareamiento simple Ssm, (Sokal y Michener, 1958) y la agrupación, por el método de acoplamiento promedio no ponderado UPGMA. Se evaluó el test de error examinando 10 cepas por duplicado (Sneath y Johnson, 1972). También se obtuvo la correlación cofenética para el método aplicado (Sneath y Sokal, 1973). El análisis computacional se llevó a cabo con el programa MINT de taxonomía numérica (Rohlf, 1985), utilizando un computador Eclipse modelo MV/10.000, en el Centro de Cálculo de la Universidad de Granada, Granada, España.

## RESULTADOS

Los resultados del análisis numérico de las características de las cepas agrupadas, se muestran en el dendograma simplificado de la figura 2. La correlación cofenética fue de 0.73426. El error estimado fue 2,8%, el cual no afectó el análisis de grupos de las bacterias heterótrofas. La mayoría de las cepas se agruparon en 7 fenones a un nivel de semejanza del 70%. Dos cepas no quedaron incluidas en los fenones y las ocho utilizadas como referencia se agruparon en forma separada.

**Fenón A.** Este grupo incluye a 9 cepas que son bacilos gram positivos, móviles y formadores de esporas. Catalasa positivos y oxidasa negativos. Anaerobios facultativos. Se desarrollan bien a concentraciones de 0 al 5% de NaCl, a pH de 6-10 y a temperaturas comprendidas entre 4 y 45°C. Producen ácidos de glucosa y glicerol, pero no de arabinosa, galactosa, myo-inositol y ramnosa. Hidrolizan el almidón, la esculina y la gelatina. Son hemolíticos, no crecen en agar MacConkey. Son capaces de utilizar diversos compuestos como única fuente de carbono, nitrógeno y energía (Tabla 1). Este fenón fue por sus características, incluido en el género *Bacillus*.



TABLA I

Frecuencia de características positivas encontradas en cada grupo, expresadas como porcentaje del total de pruebas realizadas para cada grupo.

Fenón	A	B	C	D	E	F	G	Fenón	A	B	C	D	E	F	G
Nº Cepas	9	11	36	37	5	3	6	Nº Cepas	9	11	36	37	5	3	6
Gram positivos	100	0	0	0	0	100	0	Arginina dehidrolasa	66	100	56	0	20	0	17
Gram negativos	0	100	100	100	100	0	100	Crecimiento en							
Esporas	100	0	0	0	0	0	0	Agar MacConkey	0	100	69	78	100	0	83
Movilidad	100	100	0	0	0	100	0	Gas de O/F	0	81	6	0	0	0	0
Crecimiento en NaCl%								Fermentadores	100	100	53	0	53	100	0
3	100	64	75	86	100	67	83	Utilización de compues-							
5	100	82	50	70	100	67	67	tos orgánicos como única							
10	22	18	30	30	20	0	33	fuerza de Carbono y energía:							
15	0	0	28	11	20	0	0	Almidón	100	91	92	97	100	67	17
Crecimiento a diferentes pH								L-arabinosa	77	81	6	89	100	67	100
4	0	54	6	22	0	33	33	Esculina	100	100	83	97	100	100	67
5	11	54	19	51	0	0	33	D-fructosa	100	72	100	95	100	100	100
6	100	100	64	81	100	33	17	D-galactosa	100	100	94	100	100	33	100
10	100	100	100	100	100	100	100	D-glucosa	100	100	94	100	100	100	100
Crecimiento a diferentes T° C:								Inulina	100	100	97	100	100	67	33
4	100	100	86	89	80	100	100	Maltosa	33	90	92	100	100	33	17
40	100	100	94	97	100	100	100	D-manosa	100	100	97	100	100	100	100
45	100	27	47	59	80	33	17	L-rafina	100	100	100	97	100	100	50
Producción de ácidos de:								L-ramnosa	100	100	97	97	100	100	67
L-arabinosa	0	36	8	0	20	67	0	Sacarosa	44	100	97	24	100	100	50
D-galactosa	0	91	14	0	20	33	0	D-xilosa	100	81	100	100	100	100	67
D-glucosa	100	100	97	0	100	100	17	D-treosa	100	100	97	100	100	100	67
DL-glicerol	100	100	14	0	40	33	0	Adonitol	77	72	83	86	20	0	0
Myo-inositol	0	0	0	3	0	0	0	Dulcitol	88	100	94	86	20	0	0
Lactosa	11	36	17	0	60	100	0	DL-glicerol	100	100	92	97	100	33	83
Maltosa	33	64	3	0	0	0	0	D-manitol	100	100	92	78	40	33	100
Manitol	33	64	33	63	60	100	17	Myo-inositol	100	100	97	100	0	0	0
L-ramnosa	0	0	3	0	0	33	0	Etol	88	100	100	92	20	0	17
Sacarosa	33	45	28	14	0	100	17	Propanol	100	100	100	95	60	67	17
Oxidasa	0	100	100	0	100	0	0	D-sorbitol	88	100	97	95	40	0	33
Gas de glucosa	0	18	11	0	60	100	0	1-butanol	100	90	97	92	60	33	17
Gas de lactosa	0	0	11	0	60	100	0	Acetato	100	100	92	89	20	67	83
Indol	0	18	0	0	40	0	0	Benzoato	22	9	22	54	0	0	0
Rojo de Metilo	100	18	0	0	100	100	0	Caprilato	22	9	33	59	0	33	50
Voges Proskauer	0	9	14	0	40	33	33	Citrato	100	100	97	97	60	100	100
Citrato	100	73	89	100	30	100	100	Oxalato	88	100	94	84	20	33	17
Nitratos	55	18	0	0	100	100	0	Piruvato	100	90	100	100	100	100	100
H <sub>2</sub> S	77	91	53	0	100	67	33	Succinato	11	91	28	5	20	0	0
Hemólisis	88	82	72	62	100	100	100	Utilización de amino-							
Hidrólisis de:Almidón	100	91	92	0	60	33	83	ácidos como única fuente							
Caseína	55	82	30	0	40	33	0	de carbono, nitrógeno y							
Gelatina	88	73	69	100	100	33	50	energía:							
Urea	77	27	0	3	0	0	0	L-alanina	88	82	97	100	100	100	100
Esculina	88	82	58	46	80	67	33	L-arginina	100	100	97	95	100	100	100
DNA	22	64	36	70	100	33	33	L-asparagina	55	73	89	95	80	100	83
Tween 20	44	82	69	84	80	33	50	L-cisteína	66	64	36	62	20	0	33
Tween 80	44	73	72	0	60	100	100	L-prolina	100	82	94	89	60	100	83
Malonato	11	0	56	64	20	67	50	L-isoleucina	100	100	97	100	100	100	100
Crecimiento en KCN	66	100	58	97	100	100	67	L-leucina	77	91	92	89	80	100	67
Lisina descarboxilasa	11	0	69	0	60	33	67	L-glicina	100	82	97	89	100	100	100
Acido de lisina	0	0	11	0	0	0	0	L-oritina	100	82	100	93	80	100	83
Ornitina descarboxilasa	11	0	89	0	60	0	67	L-serina	66	64	92	97	80	100	100
TSI glucosa	88	100	39	0	100	67	33	L-triptofano	100	100	97	97	100	100	83
TSI sacarosa	22	36	6	0	0	67	17	L-valina	55	64	94	95	100	100	100
TSI H <sub>2</sub> S	22	36	6	0	0	0	0	L-lisina	100	73	94	92	40	100	100
TSI gas	0	9	6	16	20	0	0								

Todas las cepas fueron de forma bacilar, catalasa positivas, capaces de crecer a 0 y 0,5% de NaCl, tienen crecimiento óptimo a pH 7 y 8. Crecen bien a temperaturas de 15, 28 y 37°C.

FIGURA 1  
Ubicación de las estaciones de muestreo en el Lago Peñuelas.

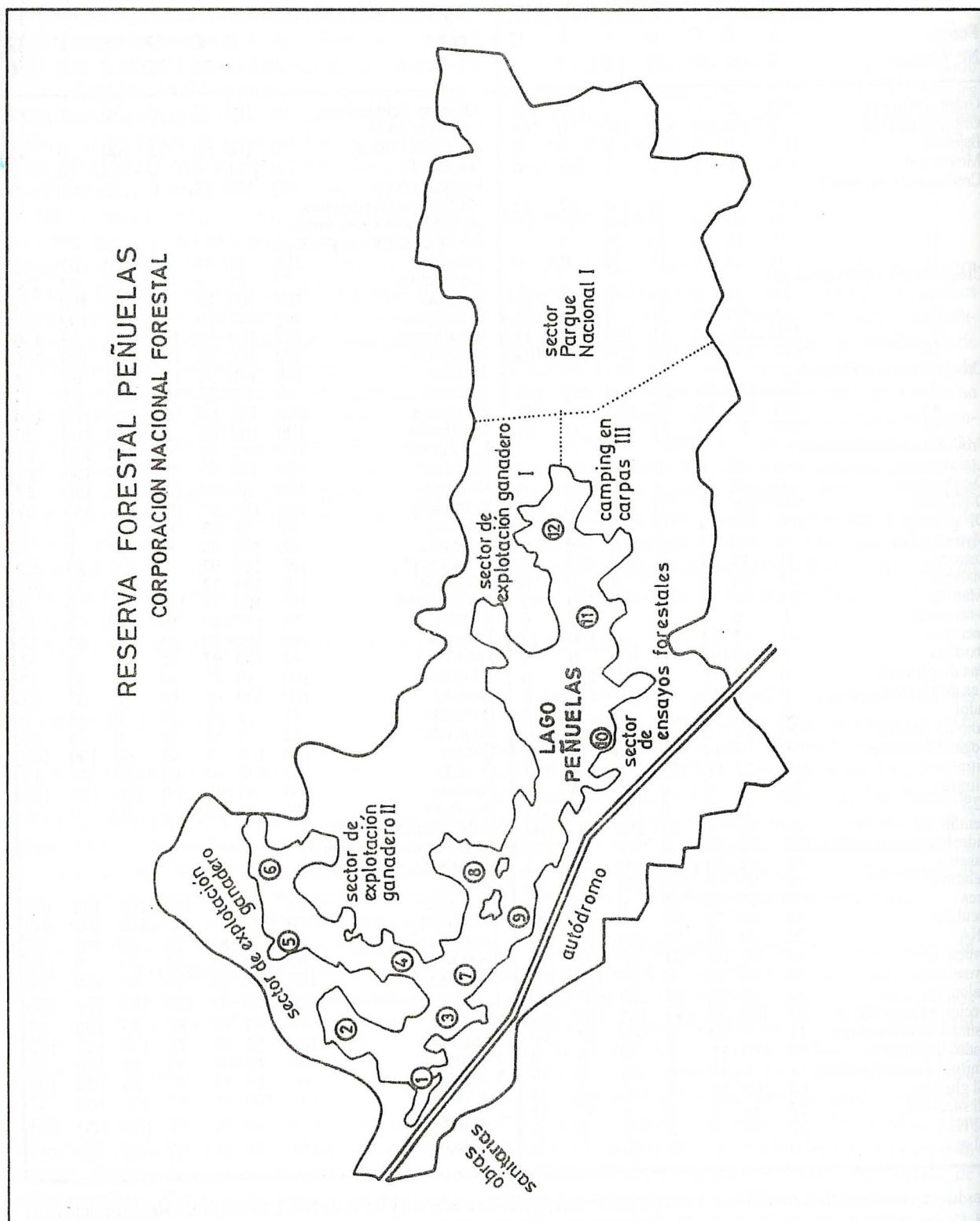
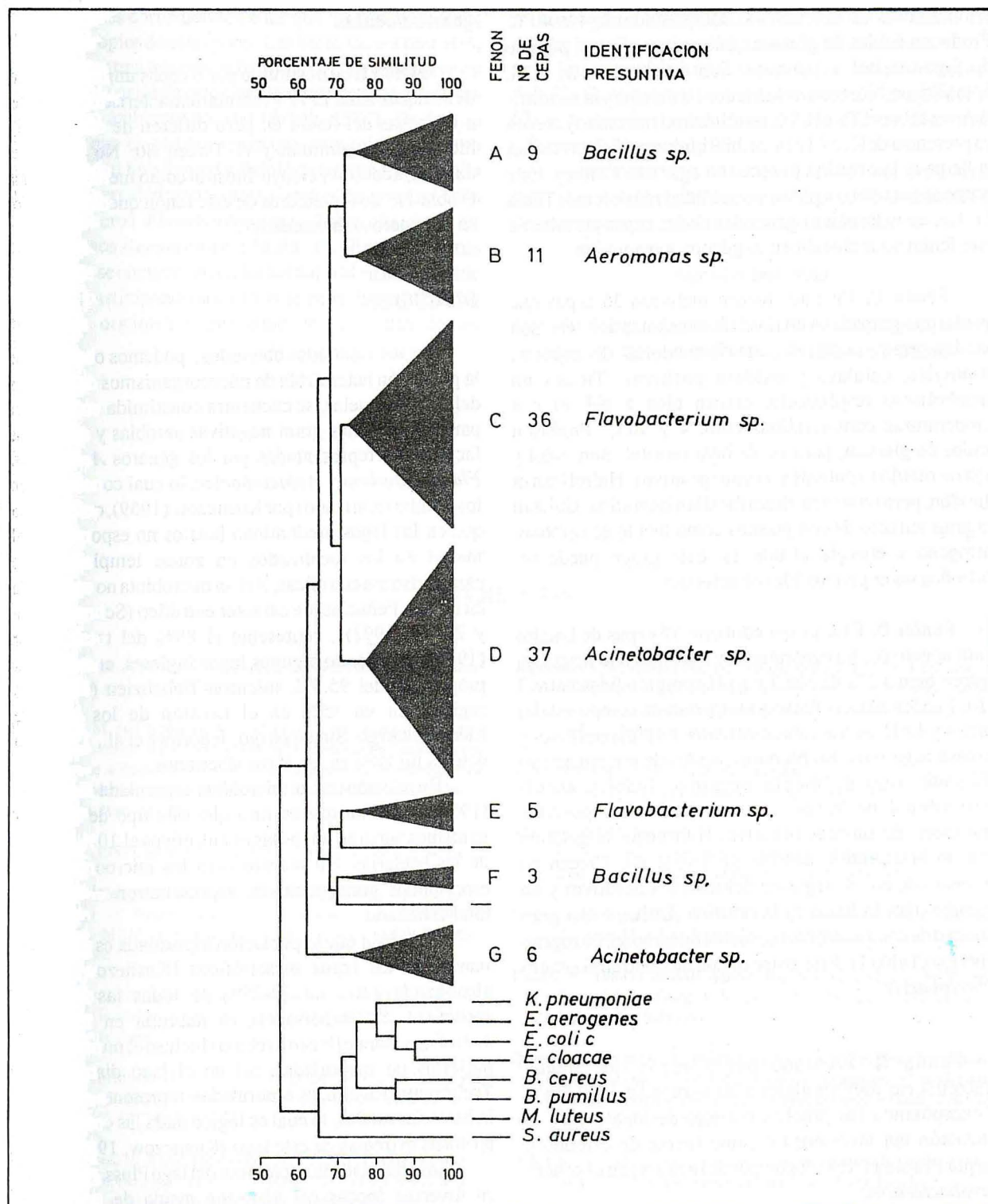


FIGURA 2

Dendograma simplificado de los agrupamientos de las cepas en 7 fenones, basado en el coeficiente de Ssm y la técnica UPGMA, para las 109 cepas de bacterias heterótrofas del Lago Peñuelas y 8 cepas de referencia.





**Fenón B.** Compuesto por 11 cepas reunidas a un nivel de semejanza del 75%. Bacilos gram negativos, no esporulados, móviles, oxidasa y catalasa positivos. Tienen un metabolismo fermentativo. Crecen a una concentración de 0 a 5% de NaCl y a un rango de pH entre 6 y 10. Las temperaturas de crecimiento comprenden de 4 a 40°C. Producen ácidos de glucosa, galactosa y glicerol pero no de myo-inositol y ramnosa. Son productores de H<sub>2</sub>S, hemolíticos, hidrolizan el almidón, la caseína y la esculina. Actúan sobre el Tween 20, no utilizan el malonato y crecen en presencia de KCN. Utilizan la arginina, no descarboxilan la lisina ni la ornitina y crecen en agar MacConkey. Este grupo se caracteriza por su versatilidad nutricional (Tabla 1). Las características generales de las cepas permiten a este fenón su inclusión en el género *Aeromonas*.

**Fenón C.** En éste fueron incluidas 36 cepas que quedaron agrupadas a un nivel de semejanza del 73%. Son bacilos gram negativos, no formadores de esporas, inmóviles, catalasa y oxidasa positivos. Tienen un metabolismo respiratorio, crecen bien a pH 10 y a temperaturas comprendidas entre 4 y 40°C. Producen ácidos de glucosa, pero no de myo-inositol. Son indol y rojo de metilo negativos y citrato positivos. Hidrolizan el almidón, pero no la urea, descarboxilan la ornitina. Utilizan un gran número de compuestos como fuente de carbono, nitrógeno y energía (Tabla 1). Este grupo puede ser incluidos en el género *Flavobacterium*.

**Fenón D.** Este grupo contiene 37 cepas de bacilos gram negativos, no esporulados y de movilidad negativa. Crecen bien a 3% de NaCl y a pH comprendidos entre 7 y 10. Pueden desarrollarse a temperaturas comprendidas entre 4 y 40°C. Son aerobios estrictos, catalasa positivos y oxidasa negativos. No producen ácidos de ningún azúcar ensayado, rojo de metilo negativo. Indol y acetilmetilcarbinol negativos, citrato de Simón positivo, reducción de nitratos negativo. Hidrolizan la gelatina pero no el almidón, caseína ni Tween 80. Crecen en presencia de KCN, arginina dehidrolasa negativos y no descarboxilan la lisina ni la ornitina. Utilizan una gran variedad de compuestos como fuente de carbono, nitrógeno y energía (Tabla 1). Este grupo queda incluido en el género *Acinetobacter*.

**Fenón E.** Formado por 5 cepas que tienen características muy similares a las agrupadas en el fenón C, exceptuando las pruebas del rojo de metilo y de la utilización del myo-inositol como fuente de carbono y energía (Tabla 1). Este fenón puede incluirse en el género *Flavobacterium*.

**Fenón F.** Este grupo constituido por 3 cepas, tiene características similares al fenón A, exceptuando que no forman esporas, producen gas de la glucosa y no utilizan el dulcitol, etanol, myo-inositol y sorbitol como fuente nutricional (Tabla 1). Estas cepas han sido incluidas en el género *Bacillus*.

**Fenón G.** Constituido por 6 cepas unidas a un nivel de semejanza del 75%. Presentan características similares a las cepas del fenón D, pero difieren de éste en que hidrolizan el almidón y el Tween 80. No utilizan el dulcitol, adonitol y el myo-inositol como fuente de energía (Tabla 1). Los miembros de este fenón quedan incluidos en el género *Acinetobacter*.

## DISCUSION

De los resultados obtenidos, podemos observar que la población heterótrofa de microorganismos de las aguas del Lago Peñuelas, se encuentra constituida en su mayor parte de bacterias gram negativas aerobias y anaerobias facultativas representadas por los géneros *Aeromonas*, *Flavobacterium* y *Acinetobacter*, lo cual concuerda con los estudios realizados por Kusnezow (1959), quien señala que en los lagos predominan bacilos no esporulados, al menos en los localizados en zonas templadas y de características eutróficas. Así, la microbiota no esporulada en el lago Peñuelas, de carácter eutrófico (Schmid-Araya y Zúñiga 1992), representa el 89% del total. Taylor (1942), estudiando algunos lagos ingleses, encontró una proporción del 95,5%, mientras Babenzien (1966), las registra en un 85% en el neuston de los lagos de Mecklemburgo. Sin embargo, Jegorowa et al., 1952, solo detecta un 18% en los lagos siberianos.

En relación con la microbiota esporulada Kusnezow (1959), comenta que es raro que este tipo de microorganismos superen en los lagos eutróficos el 10% del total de las bacterias. En nuestro caso los microorganismos esporulados gram positivos, representaron el 11% del total estudiado.

Se señala que la población esporulada es a menudo mayor en los lagos mesotróficos (Kusnezow, 1959), alcanzando entre un 20-25% de todas las bacterias saprófitas. Su importancia es máxima en los lagos distróficos, donde llegan a rebasar incluso el número de las bacterias no esporuladas, así en el lago distrófico de Tschornojé (Rusia), las esporuladas representa el 85% de la bacterias totales, lo cual es lógico dada las condiciones técnicas extremas de este lago (Kusnezow, 1959).

Los análisis de la microbiota del lago Pluss, realizados en diversas épocas del año, con ayuda de taxonomía

numérica, han revelado que en primavera, verano y otoño se encuentran en él grupos específicos de bacterias para cada una de estas estaciones (Witzel et al., 1982). Los resultados de este estudio, realizados en primavera-verano, concuerdan con esto, ya que los grupos predominantes corresponden a los que los citados autores dan como propios de esta época. Las bacterias encontradas, suelen poseer una tolerancia fisiológica con rangos que les permiten utilizar un amplio espectro de sustancias nutritivas de su medio ambiente natural (Brock, 1987). De esto se desprende que es posible tener una comunidad con una alta diversidad nutricional o fisiológica, pero a su vez con una baja diversidad taxonómica, como es en nuestro caso con los géneros *Flavobacterium*, *Acinetobacter* y en ciertos casos *Aeromonas* (Tabla 1). Estos géneros bacterianos se encuentran en forma natural en las aguas de los lagos, participando activamente en la degradación de la materia orgánica y por ende en los ciclos de los

nutrientes. Es un hecho conocido que en la época del año en que se realizó el estudio, hay una circulación mayor de las aguas del lago (Villagrán y Domínguez, 1989), por lo tanto, la disponibilidad y versatilidad de nutrientes es mayor, lo cual puede seleccionar a grupos de microorganismos capaces de llevar a cabo una mineralización activa de los nutrientes presentes.

Las características de las agrupaciones en los fenones A, B, C y D, se consideraron basandonos en los trabajos de Claus & Berleley, 1984; Popoff, 1984; Holme et al. 1984 y Bouvet & Grimont, 1986.

Futuros estudios en un ciclo anual, nos permitirán comparar con más detalles la variación de la diversidad taxonómica bacteriana en el Lago Peñuelas.

### Agradecimientos

Los autores agradecen al Dr. Luis R. Zúñiga M., por su participación en la revisión del presente trabajo.

## REFERENCIAS

- Babenzien, H. D. (1966). Untersuchungen zur mikrobiologie der neuston. Int. Ver. Limnol. 16: 1503-1511.
- Bouvet, P. J. M. and Grimont, P. A. D. (1986). Taxonomy of the genus *Acinetobacter* with recognition of *Acinetobacter janksonii* sp. nov. and *Acinetobacter junii* sp. nov. and emended description of *Acinetobacter calcoaceticus* and *Acinetobacter anoxydans*. Int. J. System. Bact. 36: 228-240.
- Brock, T. D. (1987). Microbiología. 4ª Ed. Hispanoamericana, México.
- Claus, D. y Berkeley, W. R. C. (1984). Genus *Bacillus*. In: Bergey's Manual of System. Bact. Vol. II. Sneath, P. H., Mair, N. S., Sharpe, M. M. and Holt, J. C. (ed.) William and Wilkins Co. Baltimore.
- Cowan, S. T. y Steel, K. J. (1974). Manual para la identificación de bacterias de importancia médica. Segunda Ed. Cambridge, Cambridge University Press.
- Gow, J. A. y Mills, F. H. J. (1984). Pragmatic criteria to distinguish psychrophiles and psychrotrophs in ecological systems. Appl. Environ. Microbiol. 47: 213-215.
- Holme, B., Owen, R. J. and McMeekin, A. T. (1984). Genus *Flavobacterium*. In: Bergey's Manual of System. Bact. Vol. I. Krieg N.R. and Holt, J. C. (ed.) William and Wilkins Co. Baltimore.
- Jerorowa, A. A., Derjugina, J. P. y Kusnezow, S. I. (1959). Die charakterisierung der saprophytischen mikroflora des wasserseiner Anzahl von Seen verchiederen Trophic grades. Tr. in-ta microbiologie. Ann SSR., tz (from Kusnezow, 1959).
- Kusnezow, S. I. (1959). Die Rolle der mikroorganismen im Stoffkreislauf der Seen. Deutscher Verlag d. Wissenschaften, Berlin.
- Marquez, M. C., Ventosa, A. y Ruiz-Berraquero, F. (1987). A taxonomic study of heterotrophic halophilic and non-halophilic bacteria from a Solar Saltern. J. of Gen Microbiol. 133:45-56.
- Navarro, N. R. y Avaria, S. P. (1971). Fitoplancton del Lago Peñuelas. An. Mus. Hist. Nat. Valparaíso. 4:287-338.
- Popoff, M. (1984). Genus III. *Aeromonas*. In Bergey's Manual of System. Bact. Vol. I. Krieg N. R. and Holt, J. G. (ed.) William and Wilkins Co. Baltimore.
- Quesada, E., Ventosa, A., Rodríguez-Valera, F., Megías, L. y Ramos-Cormenzana, A. (1983). Numerical taxonomy of moderately halophilic gram-negative bacteria from hypersaline soils. J. of Gen. Microbiol. 129:2649-2657.
- Rohlf, F. J. (1985). Numerical taxonomy system of multivariate statistical programs. State University of New York, Stony Brook.



- Sancha, A. M. y Castillo G. J.** (1975). Estudio de la calidad química y bacteriológica de aguas del Lago Peñuelas. Univ. de Chile, Fac. de Ciencias Físicas y Matem. Publicación I-35.
- Schmid-Araya, J. y Zúñiga, L. R.** (1992). Zooplankton community structure in two Chilean reservoirs. *Archiv. für Hydrobiol.* 123: 305-335.
- Sneath, P. H. A. y Johnson, R.** (1972). The influence on numerical taxonomic similarities of error in microbiological test. *J. Gen. Microbiol.* 72:377-392.
- Sneath, P. H. A. y Sokal, R. R.** (1973). Numerical taxonomy. The principles and practice of numerical classification, San Francisco, W. H. Freeman.
- Sokal, R. R. y Michener, C. D.** (1958). A statistical method for evaluation systematic relationships. *Univ. Kansas, Sci. Bull.* 38:1409-1438.
- Taylor, C. B.** (1942). Bacteriology of freshwater. III. The types of bacteria present in lakes and streams and their relationship to the bacterial flora of soil. *Hygiene* 2:284-296.
- Villagrán, H. y Domínguez, P.** (1989). Uso de derivadores y distribución de corrientes en sistemas dulceacuícolas. *An. Mus. Hist. Nat. Valparaíso.* 20:109-114.
- Witzel, K. P., Overbeck, H. J. and Moaledj, K.** (1982). Microbial communities in Lake Pluss and analysis with numerical taxonomy of isolated. *Arch. Hydrobiol.* 94:38-52.
- Zúñiga, L. R. y Carvajal, R. A.** (1990). Cyanobacterial blooms in Lake Peñuelas, a drinking water reservoir. In: *Proceedings Second Biennial Water Quality Symposium, Microbiological Aspects.* pp. 297-301.