

DIVERSIDAD FUNCIONAL MICROBIANA Y BIOGEOQUÍMICA EN LA PLANICIE DE INUNDACIÓN DEL RÍO MAPIRE (ESTADO ANZOÁTEGUI, VENEZUELA)

Microbial and biogeochemical functional diversity in the floodplain of the Mapire River (Anzoátegui State, Venezuela)

*Alejandra Zamora-Figueroa**, *Nora Malaver e Ismael Hernández-Valencia*

Centro de Ecología Aplicada. Instituto de Zoología y Ecología Tropical.
Universidad Central de Venezuela. Caracas. *alejandra.zamora@gmail.com.

RESUMEN

El objetivo fue determinar la participación de los microorganismos del suelo en los procesos biogeoquímicos en una planicie de inundación en el río Mapire. Se colectaron muestras en un hidropériodo completo, mediante muestreo sistemático en 4 puntos con diferente intensidad de la inundación. Se determinaron variables fisicoquímicas y grupos funcionales de microorganismos de interés. El perfil fisiológico de la comunidad microbiana cultivable se caracterizó mediante pruebas bioquímicas. Un análisis de PERMANOVA permitió diferenciar sitios y épocas. Las variables se asociaron a los ciclos biogeoquímicos a través de análisis de redundancia. Se observaron patrones temporales en las variables asociadas al ciclo del carbono y del nitrógeno. La dinámica del fósforo estuvo determinada por solubilización microbiana, mineralización y su occlusión en minerales ferrosos. Las complejas interacciones microbianas regulan los procesos biogeoquímicos, interacciones dependientes de cambios fisicoquímicos del suelo a lo largo del hidropériodo ocasionados por las diferencias espaciales a lo largo del gradiente.

Palabras clave: cambios estacionales del suelo, gradiente de inundación, perfiles fisiológicos, comunidades microbianas cultivables, ciclos biogeoquímicos.

Keywords: seasonal soil changes, flood gradient, physiological profiles, cultivable microbial communities, biogeochemical cycles.

INTRODUCCIÓN

Diversos estudios en biogeoquímica de humedales han demostrado que la hidrología es el principal factor que afecta la estructura de la comunidad microbiana (Brockett *y col.*, 2012), pues los períodos de sequía y re-humedecimiento del suelo generan estrés osmótico y competencia por recursos ocasionando presión selectiva (Castro *y col.*, 2010). Las fluctuaciones del nivel freático traen como consecuencia varias condiciones de humedad del suelo, presentando zonas óxicas y anóxicas, en donde ocurren una amplia gama de procesos anaeróbicos y aeróbicos

que pueden llevar a la supresión y/o activación de grupos microbianos claves (p.e. denitrificadores, nitrificadores) en el ciclaje y disponibilidad de nutrientes para la vegetación ribereña (Luo *y col.*, 2020).

La evaluación del uso de diferentes fuentes de carbono por un microorganismo o consorcio de ellos, es una metodología que permite establecer el perfil fisiológico de ensamblajes microbianos heterotróficos capaces de ser metabólicamente activos y cultivables (Stefanowicz, 2006; Zamora *y col.*, 2012;). Algunas investigaciones demuestran que éstos métodos convencionales de microbiología, combinados con un enfoque de ecología de comunidades permiten detectar cambios estructurales o funcionales de la comunidad microbiana del suelo (Garau *y col.*, 2007), como las que se presentan en las planicies de inundación, y cuya comprensión es un requisito previo para el manejo sostenible de este tipo de ecosistemas en el contexto de la adaptación y mitigación del cambio climático.

Debido al represamiento que produce el río Orinoco, la desembocadura del río Mapire se transforma en un lago estacional, en donde las características del gradiente de inundación están claramente delimitados por la topografía y la composición florística y estructura de la vegetación ribereña (Chacón *y col.*, 2008) y en donde todos estos factores pueden incidir en la actividad microbiana y biogeoquímica de los suelos de la planicie de inundación. Por esta razón, la desembocadura del río Mapire representa una oportunidad para evaluar los cambios temporales y espaciales en la actividad microbiana y cómo las variables del suelo influyen sobre ella.

Considerando el valor ecológico que la planicie de inundación representa para el ecosistema, así como los servicios ambientales que ofrece como humedal, este trabajo tuvo como objetivo destacar los procesos biogeoquímicos en los cuales participan los microorganismos bacterianos y fúngicos heterotróficos aislados en el gradiente de inundación del río Mapire a lo largo de un hidropereodo completo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio. El sitio de estudio se encuentra al sur del estado Anzoátegui, Venezuela, en la planicie de inundación del río Mapire (7°44'N y 64°45'W). En esta zona ocurre la formación de un lago de inundación estacional como consecuencia del represamiento de las aguas por el río Orinoco, lo que genera un lecho de inundación perpendicular al cauce del río, y donde se puede delimitar claramente un gradiente de inundación que depende de la topografía del área. El estudio se realizó a lo largo de un hidropereodo completo: sequía (T1, Marzo 2009), inicio de lluvias (T2, Mayo 2009) e inundación (T3, Agosto 2009) en cuatro zonas del gradiente, delimitadas previamente por Chacón *y col.* (2008): (i) zona baja (MAX), donde la profundidad de la lámina es de 12 m durante ocho meses por año desde mayo a diciembre, de textura

arcillosa (54.2% arcilla, 23.3% limos y 22.5% arena); (ii) zona intermedia (MED), donde la inundación alcanza un máximo de cinco metros de profundidad durante cinco meses al año desde junio a noviembre, de textura arcillosa (65% arcilla, 20.8% limos y 14.2% arena); (iii) zona alta (MIN), en la que la lámina de agua presenta 1 m de profundidad sólo dos meses por año desde julio a septiembre, de textura franco-arcillo-arenosa (21.7% arcilla, 20.8% limos y 57.5% arena) y se incluyó una zona más elevada topográficamente (NF), donde en ninguna época del año ocurre inundación, de textura arenosa (18.3% arcilla, 20% limos y 61.7% arena).

Colecta de muestras. En cada zona y período, se colectaron muestras de suelo empleando un diseño muestral sistemático. Los puntos de muestreo se arreglaron en tres transeptos perpendicular al margen del río, separados por 1.5 m cada uno siguiendo el gradiente de la inundación. En cada punto de muestreo se tomaron muestras de suelo por triplicado del horizonte superficial del perfil del suelo (0-10 cm), usando un *core* circular con 8 cm de diámetro ($n=3$ por zona y fecha de muestreo, total $n= 36$). Las muestras fueron secadas (excepto las muestras para la determinación de humedad y aislamiento microbiano) a temperatura ambiental, entre 26 a 28°C. Fueron pasadas por un tamiz de apertura de malla de 10 mm y homogeneizadas a fin de tomar una fracción representativa para los diferentes análisis.

Análisis fisicoquímico del suelo. Se determinó el pH en una proporción suelo: agua 1:2.5, carbono orgánico total (C_t) y soluble (C_s), fracción ligera de la materia orgánica (C_n), nitrógeno total (N_t), iones nitrato (NO_3^-) y amonio (NH_4^+), fósforo total (P_t), fósforo disponible en resina (P_d) de acuerdo a las metodologías descritas por Anderson e Ingram (1993). Los iones de Fe(II) se extrajeron con solución de HCl 0,5N (Chao y Zhou, 1983) y se cuantificaron mediante el método colorimétrico de la ferrozina (Stookey, 1970).

Análisis microbiológicos. El número total de bacterias y hongos cultivables se cuantificó como unidades formadoras de colonias (UFC) en placas de agar tripticasa de soya para bacterias aerobias, agar tioglicolato para bacterias anaerobias y agar malta para hongos por el método de diluciones seriadas. Las placas se incubaron a 26 °C durante 24 h para bacterias y 72 h para hongos. Se utilizó un sistema GasPack para la incubación de bacterias anaeróbicas. Un total de 30 cepas de bacterias aeróbicas y 30 cepas de bacterias anaeróbicas para cada zona de gradiente (10 cepas por estación y sitio) y todas las cepas de hongos morfológicamente distintas (filamentosas y levaduras) se aislaron aleatoriamente de cada testigo. La densidad de bacterias sulfatoredutoras se determinó mediante el método indicado por Zamora y Malaver (2012). La densidad de bacterias metanogénicas y reductoras de hierro se cuantificó según lo indicado en Fernández y col. (2006) y las bacterias nitrificantes de acuerdo a Garassini (1962).

La caracterización funcional de las comunidades microbianas se realizó a través del potencial bioquímico de cada cepa bacteriana y fúngica aislada. Se realizaron un total de 14 pruebas bioquímicas vinculadas a la mineralización de materia orgánica y ciclaje de N y P en el suelo, que incluyeron: a) utilización de compuestos carbonados como glucosa, lactosa, peptonas, almidón (MacFaddin, 2004), celulosa, lignina, quitina y pectina (Parkinson *y col.*, 1971), b) producción de enzimas como ureasas, proteasas, fitasas, nitrato y nitrito-reductasas (MacFaddin, 2004) y lipasas (Slifkin, 2000) y c) solubilización de fosfatos (Pikovskaya, 1946). Los resultados se expresaron como frecuencias de uso de cada sustrato (número de respuestas positivas) con respecto al número total de cepas.

Análisis estadístico. Se utilizó el análisis multivariante permutacional de varianza de dos vías (PERMANOVA por sus siglas en inglés; Anderson *y col.*, 2008) para determinar diferencias estadísticamente significativas de las variables microbiológicas y fisicoquímicas del suelo, entre épocas y sitios de muestreo de la planicie de inundación. Cada prueba se realizó utilizando 9999 permutaciones bajo la suma de cuadrados (SS) de Tipo III y un modelo reducido para generar un estadístico F permutado y un valor de *p*. Para ello se usó el software PRIMER 6 & PERMANOVA+ versión 6.1.16. A partir de los valores de frecuencia de utilización de cada sustrato se realizó un análisis de componentes principales (ACP), a fin de representar los patrones de actividad fisiológica de las comunidades microbianas en las distintas zonas del gradiente durante las diferentes épocas del año. Se realizó también un análisis de redundancia canónica (RDA) para determinar la influencia de las variables ambientales sobre las variables microbiológicas asociadas a los ciclos de carbono, nitrógeno y fósforo. Para estos análisis se usó el software CANOCO versión 4.56 (Braak y Smlauer, 1997).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de PERMANOVA indicó diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las zonas del gradiente y entre los periodos para las variables fisicoquímicas y microbiológicas (Tablas 1 y 2). La interacción entre las estaciones y las zonas también fue significativa ($p < 0.05$) tanto para las variables fisicoquímicas como para las microbiológicas. El factor temporal tiene mayor relevancia que el espacial (Tabla 1), ya que la temporada explicó el 15.4% de la varianza de las condiciones fisicoquímicas del suelo, la zona explicó el 9.3% de la varianza y el 62.2% de la varianza se explica por la interacción de ambos factores. El análisis de PERMANOVA de las variables microbiológicas (Tabla 2) mostró que la estación y la zona explicaban igualmente la varianza (20,3% y 20,2%, respectivamente) y la variabilidad restante se explica por una interacción de la estación y la zona. Los parámetros fisicoquímicos del suelo afectan la actividad microbiana de manera compleja, y las comunidades microbianas responden a los cambios en el medio mientras mantienen su actividad durante todo el hidropериodo. Al respecto, Lowell *y col.* (2009) sugieren que

la heterogeneidad del hábitat en forma de diferencias espaciales en las propiedades químicas y el contenido de nutrientes en el suelo determina la composición de la comunidad microbiana en las llanuras aluviales.

Tabla 1. Análisis PERMANOVA de las variables fisicoquímicas del suelo en el gradiente de inundación.

Variable	d.f.	SS	PseudoF	Pperm	% CV
Época	2	1.97 x 10 ⁵	15.09	0.001	15.4%
Zona	3	1.44 x 10 ⁵	7.35	0.001	9.26%
Época x Zona	6	5.97 x 10 ⁵	15.23	0.001	62.22%
Residuales	24	1.57 x 10 ⁵			13.12%
Total	35	1.09 x 10 ⁶			

d.f. grados de libertad. SS suma de cuadrados. PseudoF estadístico-F permutado. Pperm, valor de P permutado. %CV, coeficiente de variación porcentual.

Tabla 2. Análisis PERMANOVA de las variables microbiológicas del suelo en el gradiente de inundación.

Variable	d.f.	SS	PseudoF	Pperm	% CV
Época	2	23877	205.99	0.001	20.33%
Zona	3	26745	153.82	0.001	20.2%
Época x Zona	6	51445	147.94	0.001	58.28%
Residuales	24	1391			1.19%
Total	35	1.03 x 10 ⁵			

d.f. grados de libertad. SS suma de cuadrados. PseudoF estadístico-F permutado. Pperm, valor de P permutado. %CV, coeficiente de variación porcentual.

Se destacan cambios temporales en los patrones de consumo de sustratos complejos (celulosa, lignina, pectina y quitina), simples (actividad de α -amilasas, β -amilasas, proteasas), así como uso de aceptores de electrones alternativos (nitrito y nitrato reductasas, sulfatoreductasas). El análisis de ordenación realizado en este estudio (Figura 1) muestra que la estructura funcional de la comunidad microbiana varía en el espacio y el tiempo, pero fueron las variaciones estacionales las que tuvieron mayor impacto. Este resultado coincide con lo planteado por Delong (2010) quien señaló que en sistemas bajo perturbaciones recurrentes, tales como los pulsos de inundación, las dinámicas temporales dominan los patrones de diversidad microbiana. Los perfiles fisiológicos cambiaron de acuerdo a las variaciones de las condiciones fisicoquímicas y disponibilidad de sustratos en cada posición a lo largo del gradiente (Figura 1). Resultados similares fueron encontrados por Samaritani *y col.* (2017) quienes reportaron que la estacionalidad influye en mayor medida la estructura de la comunidad microbiana, en relación a las variaciones espaciales a través de una planicie de inundación restaurada. Estos autores concluyen que la estacionalidad afectó la disponibilidad de carbono, la humedad del suelo y en consecuencia contenido de nutrientes fue heterogéneo, y por tanto la estructura comunitaria fue variable espacial y temporalmente.

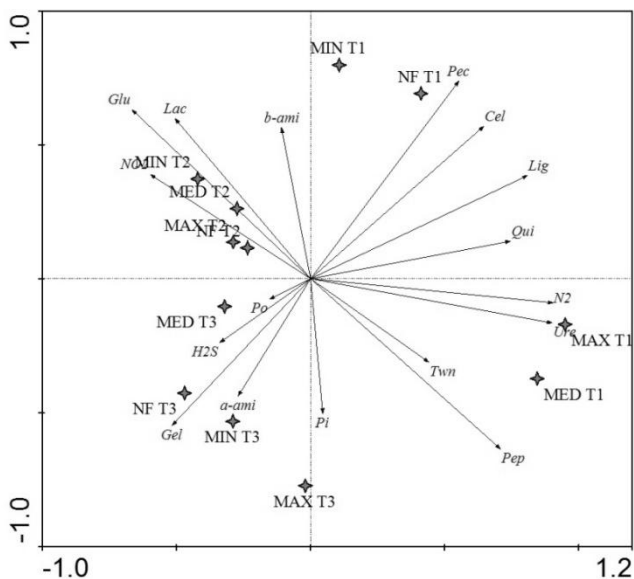


Figura 1. Análisis de Componentes Principales de los patrones de utilización de sustratos de comunidades microbianas en el gradiente de inundación. MAX, zona máxima inundación. MED, zona de inundación media. MIN, zona de mínima inundación. NF, zona no inundada. T1, sequía. T2, inicio de lluvias. T3, inundación. Glu, metabolismo de glucosa. Lac, metabolismo de lactosa. Pep, metabolismo de peptonas. α -ami, Actividad de α -amilasas. b-ami, Actividad de β -amilasas. Pec, degradación de pectina. Cel, degradación de celulosa. Lig, degradación de lignina. Qui, degradación de quitina. Gel, actividad de proteasas. Twn, actividad de lipasas. NO₂, actividad de nitrato-reductasas. N₂, actividad de nitrato-reductasas. Ure, actividad de ureasas. Pi, solubilización de fosfatos. Po, actividad de fitasas.

El análisis de redundancia de las variables asociadas al ciclo del carbono (Figura 2A), muestra un patrón temporal en la expresión de los grupos funcionales degradadores de polisacáridos asociados a un incremento de las fracciones de carbono durante T2, cambiando el patrón de uso de sustratos en las otras épocas del año. En ese sentido Wilson *y col.* (2011) indicaron que un efecto de los pulsos de inundación es el incremento en la materia orgánica que estimula la actividad microbiana. El aumento en el carbono orgánico disponible durante T2 se atribuye al aumento de la biomasa microbiana y la actividad como consecuencia del cambio en la humedad del suelo, el lavado de nutrientes de la hojarasca, así como la lisis de las células microbianas por el choque osmótico causado por la rehumedecimiento del suelo (Ou *y col.* 2019), lo que incrementa los gremios microbianos asociados con la mineralización de los sustratos disponibles. El aumento en el N_t y NO₃⁻ se asoció con la expresión de grupos proteolíticos, peptinolíticos, denitrificadores en las

zonas más bajas del gradiente, MAX y MED (Figura 2B), mientras que las zonas MIN y NF se caracterizaron por un mayor contenido de NH_4 , y esta variable se asoció con la densidad de bacterias anaeróbicas y con grupos con actividad de nitrato-reductasas, y en menor medida con la densidad de bacterias nitratoras, siguiendo un aparente patrón espacial. Los resultados coinciden con lo reportado por Bei y col. (2020) quienes encontraron que las zonas más frecuentemente inundadas o que permanecen mayor tiempo bajo la lámina de agua tienden a acumular mayor concentración de N_t debido a que estos suelos presentan mejores condiciones hidrológicas. En ese sentido, Shrestha (2012) mostraron que la mineralización de N es el proceso limitante en el ciclo, por lo que el NH_4^+ se moviliza rápidamente, mientras que el NO_3^- se acumula más tiempo debido a las condiciones aerobias predominantes.

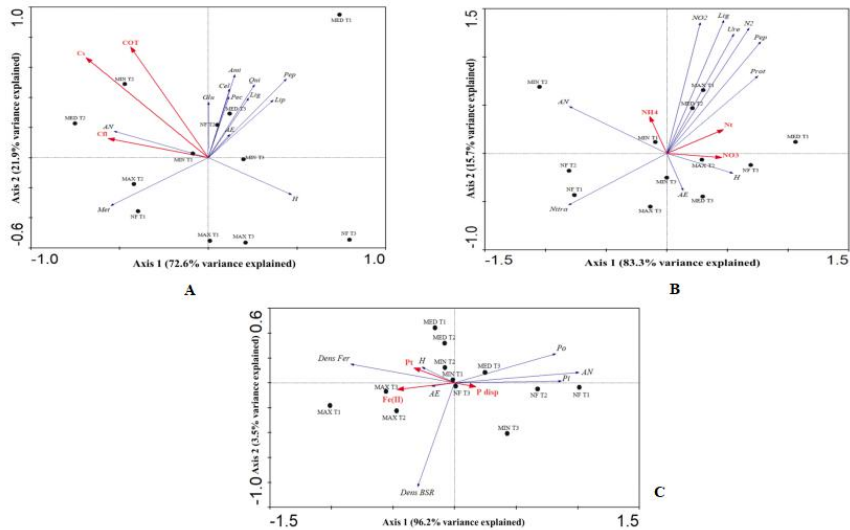


Figura 2. Análisis de Redundancia (triplet) de la relación entre los patrones de utilización de sustratos de comunidades microbianas y las variables fisicoquímicas del suelo asociados al ciclo del carbono (A), nitrógeno (B) y fósforo (C) en el gradiente de inundación. MAX. zona máxima inundación. MED. zona de inundación media. MIN. zona de mínima inundación. NF. zona no inundada. T1. sequía. T2. inicio de lluvias. T3. inundación. Dens AN, densidad de bacterias anaeróbicas. Dens H, densidad de hongos. DensFer, densidad de bacterias ferrosas. DensBSR, densidad de bacterias sulfatoreductoras. DensNitra, densidad de bacterias nitrificantes. DensMet, densidad de bacterias metanogénicas. Glu, degradación de glucosa, Pep, degradación de peptonas. Ami, hidrólisis de almidón. Pec, degradación de pectina. Cel, degradación de celulosa. Lig, degradación de lignina. Qui, degradación de quitina. Prot, degradación de proteínas (proteinasas). Lip, degradación de lípidos (lipasas). NO_2^- , reducción de nitratos a nitritos (nitrato reductasas). N_2 , denitrificación (nitrito reductasas). Ure, degradación de urea (ureasas). Pi, solubilización de fosfatos. Po, degradación de fósforo orgánico (fitinasas). Ct, carbono total. Cs, carbono soluble. Nt, nitrógeno total. NO_3^- , nitrato. NH_4^+ , amonio. Pt, fósforo total. Pd, fósforo disponible. Fe(II), cationes ferrosos.

Finalmente, el análisis canónico de las variables abióticas y microbiológicas relacionadas con el ciclo del fósforo indica un patrón espacial de las variables (Figura 2C), mostrando que el fósforo total es mayor en zonas más arcillosas (MAX Y MED), correlacionado al contenido de iones Fe(II) y mayor densidad de bacterias de bacterias ferrosas y sulfatoreductoras, aeróbicas y hongos. Mientras que las zonas mejor drenadas (MIN y NF) el contenido de fósforo disponible fue mayor, asociado con mayor frecuencia de grupos de solubilizadores de fosfatos y mineralizadores de fósforo orgánico, así como mayor densidad de bacterias anaerobias. Chacón y col. (2008) plantearon que el *pool* geoquímico de P en la planicie de inundación del río Mapire se encuentra asociado a los minerales de Fe(III), y que éste es liberado por reducción microbiana. Esta hipótesis puede estar respaldada por nuestros resultados, que indican que la actividad microbiana, particularmente anaeróbica está relacionada con la concentración de P_d en el suelo.

CONCLUSIONES

Los procesos biogeoquímicos en la planicie de inundación están sujetos a complejas interacciones microbianas, determinadas principalmente por cambios fisicoquímicos del suelo a lo largo del hidropériodo ocasionados por las diferencias espaciales a lo largo del gradiente. Los perfiles fisiológicos cambiaron de acuerdo a las variaciones de las condiciones fisicoquímicas y disponibilidad de sustratos en cada posición del gradiente. Se concluye concluyen que la estacionalidad afectó el contenido de carbono, nitrógeno y fósforo, y por tanto la estructura comunitaria fue variable espacio-temporalmente.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue financiada por FONACIT, Proyecto N° 2009000461. Los autores agradecen a Nelson Moncada por el apoyo técnico en campo y laboratorio.

LITERATURA CITADA

- Anderson, J. y J.S. Ingram. 1993. Tropical Soil Biology and Fertility: A Handbook of Methods. Wallingford. UK. CAB International. 221p.
- Anderson, M.J., R.N. Gorley y K.R. Clarke. 2008. PRIMER+ for PERMANOVA: Guide to Software and Statistical Methods. Plymouth, UK. PRIMER-E. 214p.
- Bai, J., L- Yu, S. Du, Z. Wei, Y. Liu, L. Zhang y X. Wang. 2020. Effects of flooding frequencies on soil carbon and nitrogen stocks in river marginal wetlands in a ten-year period. *J. Environ. Manage.* doi: 10.1016/j.jenvman.2020.110618.
- Braak, C.J. y P. Smilauer 1997. Canoco for Windows version 4.51. Biometris - Wageningen, The Netherlands. Plant Research International.

- Brockett, B.F.T., C.E. Prescott y S.J. Grayston, 2012. Soil moisture is the major factor influencing microbial community structure and enzyme activities across seven biogeoclimatic zones in western Canada. *Soil Biol. Biochem.* 44: 9–20.
- Castro, H.F., A.T. Classen, E.E. Austin, R.J. Norby y C.W. Schadt. 2010. Soil microbial community responses to multiple experimental climate change drivers. *Appl. Environ. Microbiol.* 76: 999–1007.
- Chacón, N., N. Dezzeo, B. Muñoz y J.M. Rodríguez. 2005. Implications of soil organic carbon and the biogeochemistry of iron and aluminum on soil phosphorus distribution in flooded forest of the lower Orinoco River, Venezuela. *Biogeochemistry* 73: 555–566.
- Chacón, N., N. Dezzeo y M.S. Rangel. 2008. Seasonal changes in soil phosphorus dynamics and root mass along a flooded tropical forest gradient in the lower Orinoco River, Venezuela. *Biogeochemistry* 87:157–168.
- Chao, T.T. y L. Zhou. 1983. Extraction techniques for selective dissolution of amorphous iron oxides from soils and sediments. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 47: 225 – 232.
- Delong, M.D. 2010. Food webs and the upper Mississippi river: contributions to our understanding of ecosystem function in large rivers. *Hydrobiology*, 640, 89–101.
- Fernández, L.C., N.G. Rojas, T.G. Roldán, M.E. Ramírez, H.G. Zegarra, R. Uribe, R.J. Reyes, D. Flores, J.M. Arce. 2006. *Manual de técnicas de análisis de suelos aplicadas a la remediación de sitios contaminados*. México DF. México DF. Instituto Mexicano del Petróleo. Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales. Instituto Nacional de Ecología. 184p.
- Garau, G., P. Castaldi, L. Santona, P. Deiana y P. Melis. 2007. Influence of red mud, zeolite and lime on heavy metal immobilization, culturable heterotrophic microbial populations and enzyme activities in a contaminated soil. *Geoderma* 142: 47–57.
- Garassini, L.A. 1962. El suelo y su microflora. *Revista de la Facultad de Agronomía UCV. Alcance N° 4*. Caracas. Facultad de Agronomía UCV. 226p.
- Luo, G., C. Xue, Q. Jiang, Y. Xiao, F. Zhang, S. Guo, Q. Shen y N. Ling N. 2020. Soil carbon, nitrogen, and phosphorus cycling microbial populations and their resistance to global change depend on soil C:N:P stoichiometry. *mSystems*. DOI: 10.1128/mSystems.00162-20
- McFaddin, J. 2004. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. 3ª Edición. Buenos Aires Argentina: Ediciones Panamericana. 850 p.
- Ou, Y., A.N. Rousseau, L. Wang, B. Yan, T. Gumiere y H. Zhu. 2019. Identification of the alteration of riparian wetland on soil properties, enzyme activities and microbial communities following extreme flooding. *Geoderma* 337: 825–833.
- Parkinson, D., T.R.G. Gray y S.T. Williams. 1971. Methods for studying the ecology of soil micro-organisms. IBP Handbook No 19. International Biological Programme. Oxford. Blackwell Scientific Publications. 116p.
- Pikovskaya, R.L. 1948. Mobilization of phosphorus in soil in connection with vital activities by some microbial species. *Mikrobiologia* 17: 362–370.
- Rinklebe, J., C. Franke y H.U. Neue. 2007. Aggregation of floodplain soils based on classification principles to predict concentrations of nutrients and pollutants. *Geoderma*, 141: 210–223.
- Samaritani, E., E.A.D. Mitchell, J. Rich, J. Shrestha, B. Fournier y B. Frey. 2017. Soil bacterial communities and ecosystem functioning change more strongly with season than habitat in a restored floodplain. *Appl. Soil Ecol.* 112: 71–78.
- Shrestha, J., P.P.A. Niklaus, E. Frossard, E. Samaritani, B. Huber, R. L. Barnard, P. Schleppei, K. Tockner y J. Luster. 2012. Soil nitrogen dynamics in a river floodplain mosaic. *J. Environ. Qual.* 41, 2033–2045.

- Slifkin, M. 2000. Tween 80 opacity test responses of various *Candida* species. *J. Clin. Microbiol.* 38(12), 4626–4628.
- Stefanowicz, A.M., M. Niklińska y R. Laskowsk. 2008. Metals affect soil bacterial and fungal functional diversity differently. *Environ. Toxicol. Chem.* 27(3): 591–598.
- Stookey, L.L. 1970. Ferrozine: a new spectrophotometric reagent for iron. *Anal. Chem.* 42(7): 779 – 781.
- Wilson, J.S., D.S. Baldwin, G.N. Rees, y B.P. Wilson. 2011. The effects of short-term inundation on carbon dynamics, microbial community structure and microbial activity in floodplain soil. *River Res. Appl.* 27: 213–225.
- Zamora, A.C. y N. Malaver. 2012. Methodological aspects for the culture and quantification of heterotrophic sulfate-reducing bacteria. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.* 32:121-125.