

CAMBIOS ESPACIALES Y TEMPORALES EN LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS Y MICROBIOLÓGICAS DEL AGUA DE LA LAGUNA DE TACARIGUA, ESTADO MIRANDA, VENEZUELA

Nora Malaver^{1}, María Rodríguez¹, Ramón Montero²,
Víctor Hugo Aguilar³ y Milagros Salas¹*

¹Instituto de Zoología y Ecología Tropical (IZET). ²Instituto de Ciencias de la Tierra (ICT). ³Instituto de Geografía y Desarrollo Regional (IDGR) Universidad Central de Venezuela. *nora.malaver@gmail.com

RESUMEN

Mediante el análisis funcional de comunidades bacterianas heterotróficas, se analizaron los cambios espacio-temporales de las variables fisicoquímicas y microbiológicas que condicionan la calidad del agua de la laguna de Tacarigua. Adicionalmente, la evaluación del potencial bioquímico de estas comunidades para degradar la materia orgánica, nos permitieron estudiar aspectos ecológicos vinculados a la capacidad de resiliencia del ambiente lagunar. Se realizaron campañas de muestreo durante tres años consecutivos en los cuales se presentaron los eventos climáticos: El Niño (junio 2009), Año Neutro (abril 2010) y La Niña (marzo 2011). En las muestras de agua se determinó la abundancia de bacterias indicadoras heterótrofas, [coliformes totales (CT), fecales (CF), enterococos y vibrios] y la estructura funcional de las comunidades bacterianas heterotróficas. En cada muestra se midieron el pH, la temperatura, la salinidad, la conductividad y la profundidad. El análisis de los parámetros fisicoquímicos y la abundancia de los bioindicadores en los diferentes sectores, mostraron que la calidad del agua de la laguna varía espacial y temporalmente, reportándose valores de CT y CF superiores a los límites permisibles en la legislación venezolana. La variación estacional de lluvia y sequía influye en el comportamiento hidrobiológico y ecológico del sistema lagunar, por lo que los cambios en la estructura funcional de la comunidad bacteriana heterotrófica, permitieron inferir sobre la capacidad de resiliencia del sistema. Los cambios en la estructura funcional de la comunidad bacteriana heterotrófica y la heterogeneidad espacio-temporal del ecosistema, deben ser considerados para la gestión y manejo sustentable del Parque Nacional Laguna de Tacarigua.

Palabras clave: bacterias heterotróficas, bioindicadores, calidad del agua, análisis funcional, laguna de Tacarigua.

Spatiotemporal changes of the physicochemical and microbiological properties of the Tacarigua lagoon, Miranda State, Venezuela

Abstract

Using functional analysis of heterotrophic bacterial communities, the spatiotemporal changes of physicochemical and microbiological variables conditioning water quality of the Tacarigua lagoon were analyzed. Additionally, evaluation of the biochemical potential of these communities to degrade organic matter permitted analysis of the ecological resilience of the lagoon environment. Sampling campaigns were conducted for three consecutive years in which these climate events

Recibido: agosto 2014

Aceptado: mayo 2015

Compilación del Simposio *Humedales: Diversidad, Procesos y Sociedad - Mérida, Venezuela 2013*.

occurred: El Niño (June 2009), Neutral Year (April 2010) and La Niña (March 2011). The abundance of quality indicator bacteria [heterotrophic, total coliform (TC), fecal (CF), enterococci and vibrios], the functional structure of heterotrophic bacterial communities, as well as associated pH, temperature, salinity, conductivity, and depth were determined in each water sample. The analysis of physicochemical parameters and abundance of biomarkers in different sectors showed spatiotemporal variations in water quality through the lagoon. We report values of CT and CF above permissible limits under Venezuelan legislation. The seasonal variation in rainfall and drought affected the hydrobiological and ecological behavior of the lagoon system, so that changes in the functional structure of the heterotrophic bacterial community, allowed interpretation of the system's resilience. Changes in the heterotrophic bacterial community structure and the ecosystem's spatiotemporal heterogeneity should be considered for the sustainable management of the Laguna de Tacarigua National Park.

Keywords: heterotrophic bacteria, bioindicator, water quality, functional analysis, Tacarigua Lagoon.

INTRODUCCIÓN

En el presente trabajo se abordan aspectos relacionados con las variaciones espaciales y temporales de las características físicas, químicas y microbiológicas como indicadoras de la calidad del agua en la Laguna de Tacarigua, a través del uso de los microorganismos como bioindicadores. Determinar el tipo de microorganismos presentes en el agua y su concentración proporciona herramientas indispensables para conocer la calidad de las mismas y para la toma de decisiones en relación al control de vertidos, tratamiento de aguas y conservación de ecosistemas, así como el riesgo de contaminación de las personas y el ambiente. Sin embargo, existe una gran dificultad para determinar la presencia de los microorganismos patógenos involucrados en los procesos de contaminación ambiental, la cual implica costos elevados, tiempo y laboratorios especializados. Ante estas dificultades y frente a la necesidad de realizar evaluaciones rápidas y confiables de la presencia de patógenos, se ha planteado el trabajar con la determinación de grupos indicadores (Arcos *y col.* 2005).

En este sentido, el término "bioindicador" se refiere a aquellos organismos o comunidades en los que su existencia, sus características estructurales, su funcionamiento y sus reacciones dependen del medio en el que se desarrollan y que cambian al modificar las condiciones ambientales (Capó, 2002); de allí que denotan las respuestas a nivel de organismo, población, comunidad y ecosistema (Depledge *y col.*, 1995). Los impactos de la contaminación inducen a cambios en la estructura de las comunidades, en la función biológica de los sistemas acuáticos y al propio organismo, afectando su ciclo de vida, crecimiento y su condición reproductiva. Por lo que, algunos organismos pueden proporcionar información de cambios físicos y químicos en el agua, dado que a lo largo del tiempo revelan modificaciones en la composición de la comunidad. Entre esos organismos están las bacterias coliformes, que son utilizadas

como indicadoras de calidad del agua, las cuales forman parte de la flora gastrointestinal tanto del hombre como de los animales de sangre caliente, se presentan en grandes cantidades y permanecen durante más tiempo en el agua con respecto a los patógenos (Prescott *y col.* 2004).

Así el monitoreo de la calidad bacteriológica del agua mediante el uso del grupo coliforme como bioindicadores, es considerado útil para tomar decisiones sobre la idoneidad de un cuerpo de agua para el contacto humano ya sea directo o indirecto. En este sentido, el uso de estos microorganismos como indicadores de contaminación fecal representa una herramienta de control sanitario y ambiental de los cuerpos de agua y de control epidemiológico de enfermedades infecciosas transmitidas por el agua. De igual manera, los estreptococos fecales actualizados taxonómicamente como enterococos son recomendados como organismos indicadores en áreas de recreación (U.S.EPA, 1984), tienen alta tolerancia a condiciones ambientales adversas tales como: variaciones drásticas de la temperatura, deshidratación, salinidad, luz solar, entre otros. En ambientes acuáticos, marino-costeros y en suelos contaminados estos organismos, son más persistentes que *E. coli*, por lo que se les considera mejores indicadores de contaminación fecal que los coliformes fecales (Salas, 2000; Arco *y col.*, 2005).

En el caso de *Vibrio*, se ha reportado que la prevalencia y viabilidad en ecosistemas acuáticos está asociada a factores como la variabilidad climática, las condiciones fisicoquímicas del medio acuático y la asociación con el plancton, por lo que, el surgimiento del plancton influye en su abundancia y distribución estacional y geográfica (Thompson *y col.*, 2004; Tamerius *y col.*, 2007).

Otros indicadores que se utilizan ampliamente son las bacterias heterótrofas, tomando en cuenta que la adición de grandes cantidades de materia orgánica a los ambientes acuáticos produce la eutrofización de las aguas y el crecimiento masivo de algas (Prescott, 2004). De igual manera, Atlas y Bartha (1998) plantean que, el vertido de aguas residuales domésticas, agropecuarias e industriales en los ecosistemas acuáticos, afecta principalmente la estructura comunitaria, favorece la eutrofización y aumenta la demanda de oxígeno, estimulando el crecimiento masivo de este tipo de bacterias.

Dentro de la complejidad de los ecosistemas y sus respuestas a los contaminantes, las comunidades microbianas se caracterizan por utilizar la mayor parte de los compuestos orgánicos como fuentes de carbono y energía (Atlas y Bartha, 1998). Son diversas las teorías ecológicas que tratan de explicar los diferentes procesos que permiten el mantenimiento de los ecosistemas, tanto terrestres como acuáticos; y todas ellas coinciden en el papel relevante que tienen las comunidades microbianas en el funcionamiento de los ecosistemas (Colwell, 1997). En tal sentido, se han

descrito las interacciones que se establecen entre las bacterias, así como el crecimiento de un importante grupo de microorganismos en presencia de materia orgánica (Alcamo, 2003) y se ha utilizado, la estructura funcional de comunidades microbianas como indicador biológico, debido a la sensibilidad a los cambios y a su capacidad de proveer información que integre diversos factores ambientales (Alkorta *y col.*, 2003).

En este sentido y tomando en cuenta que la identificación de grupos funcionales en un determinado ecosistema permite realizar una evaluación de sus propiedades, tales como capacidad de recuperación y regeneración, potencial degradativo, producción de materia orgánica y resistencia a cambios ambientales. Además, la estimación de la diversidad de grupos funcionales permite determinar la complejidad estructural, y comprender las interacciones entre los componentes bióticos (Gitay y Noble, 1997; Hooper *y col.*, 2002; Zamora *y col.*, 2012). Con base a estos planteamientos, se utilizó el análisis funcional como herramienta bioquímica y microbiológica para evaluar la calidad ambiental de la Laguna de Tacarigua y estudiar de manera integral los cambios espaciales y temporales de la comunidad bacteriana heterotrófica en el ecosistema lagunar.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de Estudio. El Parque Nacional Laguna de Tacarigua (PNLT), fue decretado como tal el 13 de febrero de 1974 según Decreto N° 1607, publicado en Gaceta Oficial N° 30.337, y por ser un humedal de excepcional importancia como reservorio de recursos alimenticios y de biodiversidad fue declarado Sitio RAMSAR en 1996. Está ubicado en la zona litoral central a 10°11'30"-10°20'20"N y 65°41'10"-65°57'20"W, en el municipio Páez del estado Miranda-Venezuela, entre los ríos Cúpira y El Guapo (Figura 1). La laguna de Tacarigua, mantiene una dinámica con factores que tienden a rellenarla, en antagonismo con otros que le dan continuidad, creando un régimen estacionario cambiante que fluctúa desde una condición de poco volumen en época de sequía a una de mayor volumen dependiente de la dinámica de la boca y de los aportes fluviales. Tiene una superficie de 7.800 ha (MARNR, 1992), con una profundidad promedio de 1,2 m, separada del mar por una restinga o barrera litoral de 28,8 km de largo y de 300 a 1.000 m de ancho.

El clima es tropical lluvioso, la precipitación total media anual es de 1.000 mm, con un régimen de precipitación bimodal, presentando dos períodos lluviosos, uno entre mayo y agosto, con máxima en julio, y otro secundario en los dos últimos meses del año, con máximo en noviembre. El período seco se presenta entre los meses de enero-abril y la máxima sequía en marzo (Calzadilla, 1995). Desde el punto de vista climático, el mes más húmedo es noviembre (169,5 mm) y el más seco marzo (14,3 mm), la evaporación es intensa promediando los 2.003,5 mm/año, por

su localización y orientación en la zona costera, esta laguna se halla bajo la influencia de los vientos alisios del noreste (Conde, 1996; Córdova y col., 2011). El principal aporte de agua dulce hacia la laguna lo constituye el Río Guapo, también recibe agua de caños como Pirital, San Nicolás, San Ignacio y la quebrada Chaguaramal. Este sistema de acuerdo a la topografía, características geográficas, geomorfológicas, fisicoquímicas y a la naturaleza de los sedimentos está conformado por cinco sectores o lagunas internas (Figura 1) a saber: El Guapo, El Placer, Laguna Grande, laguna Arena y El Cazote (Okuda y Benitez, 1985).

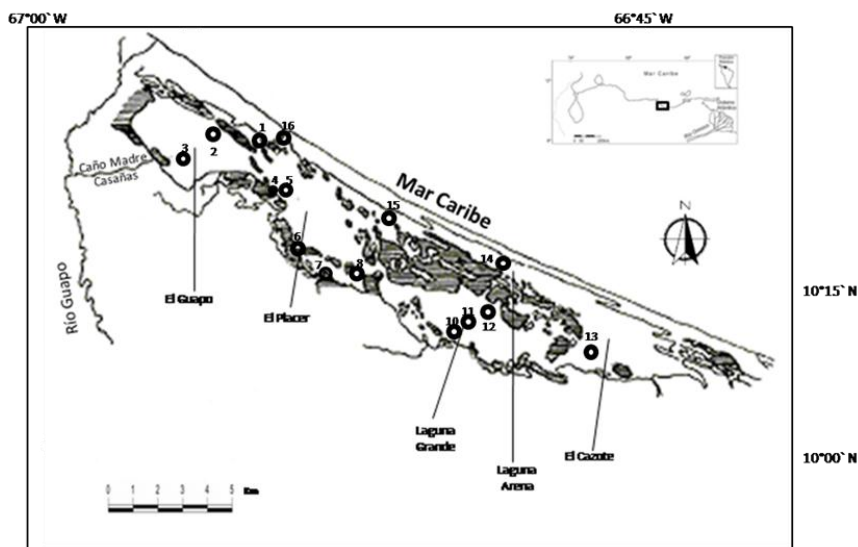


Figura 1. Laguna de Tacarigua. Ubicación de las 16 estaciones de muestreo en las cinco lagunas internas y la Boca. 1.- Caño Tuy, 2.- El Guapo, 3.- Caño Madre Casañas, 4.- El Mono, 5.- El Placer, 6.- Las Lapas, 7.- Caño Pirital, 8.- Carambola, 10.- Caño San Ignacio, 11.- Laguna Grande, 12.- Manatí, 13.- Marapata, 14.- Club Miami, 15.- Túnel del Amor, 16.- La Boca.

Trabajo de campo. Se realizaron tres campañas de muestreos; la primera se efectuó durante el mes de junio 2009, la segunda en abril 2010, y la tercera en marzo 2011, correspondiendo los períodos del muestreo, al evento climático El Niño (junio 2009), año neutro (abril 2010) y La Niña (marzo 2011). La toma de muestras espacialmente abarcó la extensión de la laguna, incluyendo La Boca, se establecieron 16 estaciones de muestreo o localidades georeferenciadas, en zonas que marcan la dinámica de la laguna en sus aspectos ecológicos naturales y por la influencia de la actividad antrópica (Figura 1).

La determinación de las características fisicoquímicas del agua incluyó la medición “*in situ*” de parámetros tales como: pH, temperatura, salinidad y conductividad, utilizando un equipo multiparámetro (Horiba, modelo U10), la turbidez con un turbidímetro (Orion Aquafast II, AQ 2010), la transparencia con el disco de Secchi, y la profundidad con una vara de madera graduada en centímetros. Al mismo tiempo, para determinar la calidad microbiológica se recolectaron muestras de agua con frascos de vidrio estériles a una profundidad de 20 cm, que se refrigeraron a una temperatura de 4 °C por un período no mayor de 6 horas.

Trabajo de laboratorio. Los indicadores de la calidad microbiológica: coliformes totales y fecales, enterococos, Vibrios y bacterias heterótrofas, fueron analizados a través de las siguientes técnicas: (1) Los coliformes totales y fecales se determinaron mediante el método de filtración por membrana, recomendado por la APHA (1998) como herramienta para evaluar la calidad del agua a través de la estimación de microorganismos indicadores; se empleó el medio de cultivo Caldo Coliblu, y para los enterococos se utilizó agar esculina, ambos se incubaron a 35 °C por 24 horas. (2) Para los Vibrios, una vez captadas las muestras se inocularon en caldo Tripticasa de soya (CTS) como medio de activación, y se mantuvieron a temperatura ambiente durante seis horas. Posteriormente se realizaron diluciones seriadas, que se sembraron sobre placas de agar tiosulfato citrato bilis sacarosa (TCBS) por la técnica de siembra por superficie, y se incubaron a 35 °C por un lapso entre 24-48 h. (3) Para las bacterias heterótrofas se empleó la técnica de siembra por superficie en placas de agar tripticasa de soya (ATS), y fueron incubadas a temperatura ambiente (24-48 h). (4) La densidad o la abundancia de coliformes totales, fecales y enterococos se expresaron en unidades formadoras de colonia por cien mililitros (UFC/100 ml), y la de Vibrios, y bacterias heterótrofas en UFC/ml. (5) En la caracterización funcional se utilizó la metodología propuesta por Ramos (1996) que implica el aislamiento de cepas microbianas cultivables y su caracterización bioquímica de manera individual, obteniendo finalmente un registro bioquímico comparable con los demás aislados de la misma muestra. A partir del patrón de utilización de sustratos, se realizó el análisis gremial de la comunidad bacteriana heterótrofica, en el que se describe a la comunidad en función de su estructura de gremios. El concepto de gremio es muy empleado en estudios de ecología, orientado a determinar la estructura gremial de las comunidades microbianas (Atlas y Bartha, 2002). Para realizar este análisis y determinar la estructura funcional de la comunidad bacteriana, se utilizaron los aislados bacterianos obtenidos en los diferentes puntos de muestreos, que constituyen los ceparios correspondientes al 2009 y 2010. Las cepas se caracterizaron bioquímicamente, a través de doce pruebas bioquímicas, las cuales incluyeron: fermentación de azúcares simples (glucosa, lactosa y sacarosa), degradación de azúcares complejos (almidón), celulosa, pectina, quitina, proteínas, lípidos, reducción de nitratos a nitritos, utilización de la urea como fuente nitrogenada, y uso de fósforo inorgánico.

Análisis de los datos. Se utilizaron los paquetes estadísticos PAST (Hammer y Harper, 2001) para realizar análisis de varianza de dos vías (ANOVA) y test de Turkey (HDS, $\alpha = 0,05$) como prueba a posteriori para determinar diferencia entre las medias de los parámetros fisicoquímicos y de las abundancias bacterianas de los diferentes bioindicadores. Con CANOCO v.4.5 se realizó un análisis de redundancia, para relacionar los indicadores microbiológicos (variables efecto o dependiente) con los parámetros fisicoquímicos (variables causa o independiente) en las diferentes localidades.

El resultado del análisis es el gráfico Tri-plot, en el cual se puede resumir de forma simultánea el comportamiento de las variables fisicoquímicas, y los indicadores microbiológicos en las diferentes localidades. Ambos grupos de variables están representadas como vectores, donde la dirección de las flechas se interpreta como el comportamiento creciente de cada variable. Así mismo, la magnitud de la misma se interpreta como la importancia de la variable dentro del análisis. El ángulo entre los vectores indica una relación directa, cuando el mismo entre los dos vectores es cercano a cero, inversa cuando el ángulo entre ellos es cercano a 180° e independiente cuando es de 90° . Esta relación se cumple entre las variables causa entre sí, o las variables efecto entre sí y de forma simultánea entre las variables causa y efecto. Por otra parte, la cercanía de los vectores de las variables causa y los vectores de las variables efecto a los puntos de cada una de las localidades, indica cuanto es la importancia que tienen las mismas en dicha localidad, esto nos permite describir el comportamiento tanto de las variables causa como las variables efecto en cada una de las localidades.

La caracterización funcional se hizo mediante análisis de agrupación simple o vecino más cercano, en el cual la disimilitud entre grupos se mide a través de la distancia Euclidiana. De tal manera que a partir del dendrograma obtenido, se pueden discriminar los diferentes grupos funcionales (GF) que se forman y la distancia a la cual se separan, donde cada cepa individual que difiere de las demás representa un GF distinto dentro de la comunidad, permitiendo establecer relaciones de disimilitud entre los grupos componentes de la comunidad. Un Grupo de Identidad Funcional (GIF) es equivalente a un GF formado por dos o más cepas que realizan igual función en la comunidad. Resulta evidente que dos cepas funcionalmente equivalentes tendrán los mismos valores y se ubicarán en un mismo punto en el hiperespacio, esto significa que la distancia entre ellas es cero y podremos considerarlas como superpuestas y funcionalmente idénticas respecto a los sustratos probados. Adicionalmente, los valores de la distancia máxima de agrupamiento (DMA), constituyen un criterio útil para aquellos estudios en los cuales se pretende comparar la diversidad entre sitios diferentes, o cuando las condiciones cambian en el tiempo. Finalmente, el análisis funcional concluye con el cálculo de un Índice de Diversidad Funcional (IDF), el cual permite cuantificar la diversidad de una comunidad desde el punto

de vista de su actividad bioquímica degradativa. El índice se determina realizando para un dendrograma dado, el cociente entre el número de grupos o clúster formados entre el número total de aislados considerados para realizar el dendrograma, y como resultado se obtiene un número acotado entre 0 y 1; donde 1 representa el valor máximo de diversidad (Ramos, 1996; Zamora *y col.*, 2012).

RESULTADOS

Parámetros Físicoquímicos. Las características físicoquímicas del agua determinadas en los diferentes sectores y localidades, en los tres periodos de muestreo se expresan en la Tabla 1. El análisis de ANOVA de 2 vías determinó diferencias significativas de la temperatura, tanto entre las localidades ($p= 6,518E-37$), como entre los años de muestreo ($p= 8,342E-37$). En la Tabla 2a se resumen los resultados de la prueba de Turkey en una matriz que muestra en celdas sombreadas los pares de localidades que presentan diferencias significativas. Los números se refieren al nombre de las localidades señaladas en la Figura 1. Se observa que la temperatura muestra variaciones temporales y espaciales, presentando en 2009 las mayores diferencias entre localidades, siendo Marapata, Piritál, Carambola, El Mono, Laguna Grande, Manatí, Club Miami y Túnel del Amor las localidades que marcan diferencias. En el 2010 disminuye la variación de la temperatura entre las localidades, y corresponde a Manatí, Madre Casañas, El Mono y la Boca las localidades que muestran mayores diferencias. En 2011 la temperatura se mostró espacialmente más homogénea, las localidades que marcaron diferencias fueron Madre Casañas, el Guapo y el Mono.

Tabla 1. Características físicoquímicas del agua respecto a los periodos de muestreo y distintos sectores de la laguna de Tacarigua (temperatura, pH, turbidez, salinidad, conductividad y profundidad).

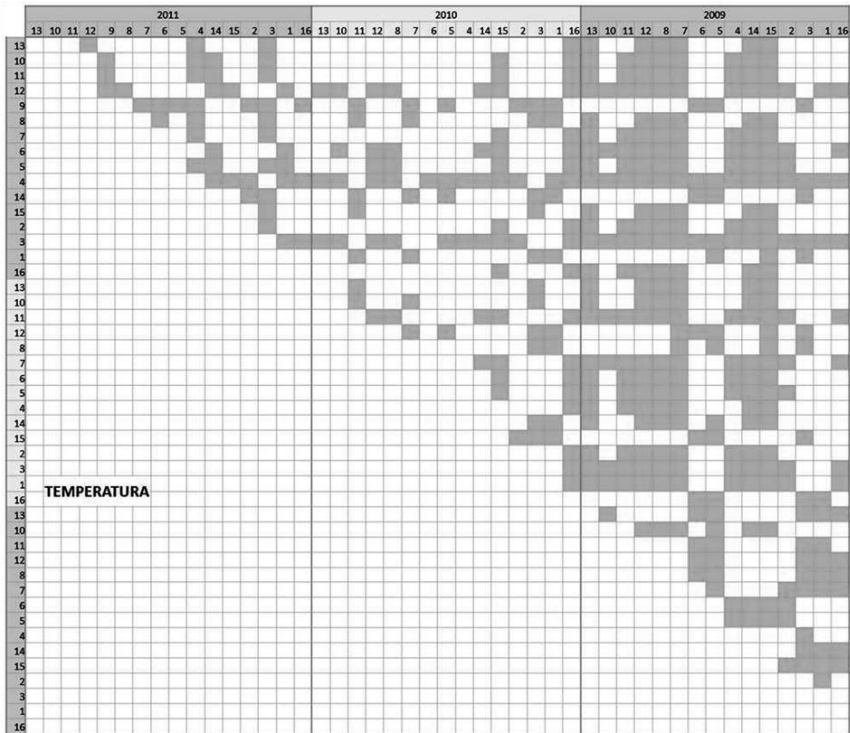
Sector	Puntos muestreo	T °C			pH			Turbidez NTU		
		2009	2010	2011	2009	2010	2011	2009	2010	2011
El Cazote	Marapata	32,9 ± 0,17	30,2 ± 0,13	29,8 ± 0,33	6,1 ± 2,71	8,3 ± 0,06	8,5 ± 0,05	74 ± 9,70	52 ± 10,70	11,1 ± 2,70
	San Ignacio	30,8 ± 0,50	30,7 ± 0,4	29,2 ± 1,33	8,1 ± 0,09	7,9 ± 0,3	8,3 ± 0,16	59,8 ± 3,30	59,8 ± 3,30	12 ± 3,31
Laguna Grande	Laguna Grande	32,1 ± 0,35	31,1 ± 0,63	29,2 ± 0,08	8,8 ± 0,09	7,5 ± 0,15	8,3 ± 0,04	35,8 ± 2,63	22,5 ± 5,00	10 ± 2,13
	Manatí	32,9 ± 0,17	28,3 ± 0,62	27,8 ± 0,43	6,1 ± 2,71	7,5 ± 0,51	7,4 ± 0,09	74 ± 9,70	70,3 ± 3,09	21,2 ± 4,17
El Placer	Carambola	32,8 ± 0,28	31 ± 0,17	30,6 ± 0,13	6,1 ± 2,71	8 ± 0,07	7,7 ± 0,14	33,5 ± 4,51	56 ± 0,81	8,8 ± 1,49

	Pirital	33 ± 0,91	28,3 ± 0,28	29,4 ± 0,59	4,1 ± 3,16	5,9 ± 0,32	6,7 ± 0,04	36,3 ± 15,20	28,3 ± 2,98	20,9 ± 1,50
	El Mono	29,1 ± 1,28	29,4 ± 1,01	26,6 ± 0,27	8,4 ± 0,12	8,7 ± 0,52	6,9 ± 0,13	118,8 ± 14,36	111,3 ± 10,30	26,6 ± 5,13
	Las Lapas	28,8 ± 0,50	29,1 ± 0,33	28,4 ± 1,23	6,8 ± 0,24	6,7 ± 0,22	7,1 ± 0,08	36,3 ± 5,91	36,3 ± 5,90	16,2 ± 3,44
	El Placer	31,4 ± 0,22	29,6 ± 0,33	29 ± 1,10	4,1 ± 0,71	6,9 ± 0,22	7,8 ± 0,45	38,8 ± 5,50	42,3 ± 5,90	35 ± 19,88
Laguna Arena	Club Miami	32,7 ± 1,05	30,7 ± 0,377	31,2 ± 0,22	6,5 ± 2,09	8,1 ± 0,08	8,2 ± 0,05	61,8 ± 19,86	96 ± 11,16	8,3 ± 4,34
	Túnel del Amor	33 ± 0,00	31,5 ± 0,55	30,2 ± 0,79	7,2 ± 1,02	8,3 ± 0,21	8,2 ± 0,16	40 ± 0,00	71,8 ± 6,39	33,6 ± 27,23
Guapo	Guapo	31,1 ± 0,10	29,5 ± 0,21	29,2 ± 0,32	6 ± 0,68	8,3 ± 0,03	7,6 ± 0,17	97,5 ± 17,08	125,5 ± 83,61	160,4 ± 20,35
	Madre Casañas	29 ± 1,68	28,1 ± 1,98	26,8 ± 0,15	4,5 ± 0,81	7,1 ± 0,76	7,3 ± 0,06	42,5 ± 33,04	134,5 ± 83,04	142,8 ± 1,79
	Caño Tuy	30 ± 1,15	28,6 ± 0,15	31 ± 0,17	5,3 ± 0,90	7,4 ± 0,32	8,5 ± 0,08	50 ± 25,82	50,8 ± 5,965	26,2 ± 3,11
La Boca	Boca	30,5 ± 1,29	32 ± 0,63	29,5 ± 0,30	6,5 ± 0,21	8,1 ± 0,09	8,7 ± 0,03	25 ± 5,77	47,3 ± 13,64	5,8 ± 0,32

Sector	Puntos muestreo	Salinidad %			Conductividad (µs/cm)			Profundidad (cm)		
		2009	2010	2011	2009	2010	2011	2009	2010	2011
El Cazote (S1)	Marapata	2,3 ± 0,08	2,4 ± 0,03	1,5 ± 0,02	36100 ± 1,07	41200 ± 4,21	25052 ± 308,98	130 ± 69,50	165 ± 43,49	116 ± 9,86
	San Ignacio	1,9 ± 0,00	1,9 ± 0,01	1,9 ± 0,02	31100 ± 0,34	30700 ± 0,11	29050 ± 5702,41	143,8 ± 17,02	140 ± 17,01	113 ± 62,21
Laguna Grande (S2)	Laguna Grande	2 ± 0,01	1,6 ± 0,04	2 ± 0,02	31500 ± 0,22	26500 ± 1,07	32700 ± 0,13	193,8 ± 72,96	263,8 ± 10,00	250 ± 0,00
	Manatí	2,3 ± 0,08	1,5 ± 0,49	1,8 ± 0,15	36100 ± 1,07	28900 ± 10,18	27192 ± 1059,89	140 ± 0,00	112,5 ± 15	71 ± 12,99
	Carambola	2,1 ± 0,03	1 ± 0,59	0,8 ± 0,05	33400 ± 0,64	22570 ± 112,04	11686,7 ± 5999,71	132,5 ± 13,23	149 ± 1,15	164 ± 16,58
	Pirital	1,8 ± 0,27	0,2 ± 0,11	0 ± 0,02	28800 ± 3,87	36530 ± 245,63	39740 ± 46,19	85 ± 10,00	95 ± 5,77	106 ± 27,02
El Placer (S3)	El Mono	0,5 ± 0,32	0,56 ± 3,65	0 ± 0,03	16400 ± 6,94	16200 ± 6,76	42170 ± 366,00	101,3 ± 6,29	101,3 ± 14,36	113 ± 30,82
	Las Lapas	0,6 ± 0,25	1 ± 0,62	0 ± 0,02	20730 ± 102,78	12345 ± 1584,09	896,6 ± 161,23	102 ± 3,56	102 ± 5,41	108 ± 8,37
	El Placer	2,6 ± 0,03	0,7 ± 0,62	0,9 ± 0,57	40800 ± 0,47	19600 ± 1584,09	12370 ± 4756,80	160 ± 0,00	164,5 ± 5,41	158 ± 32,71

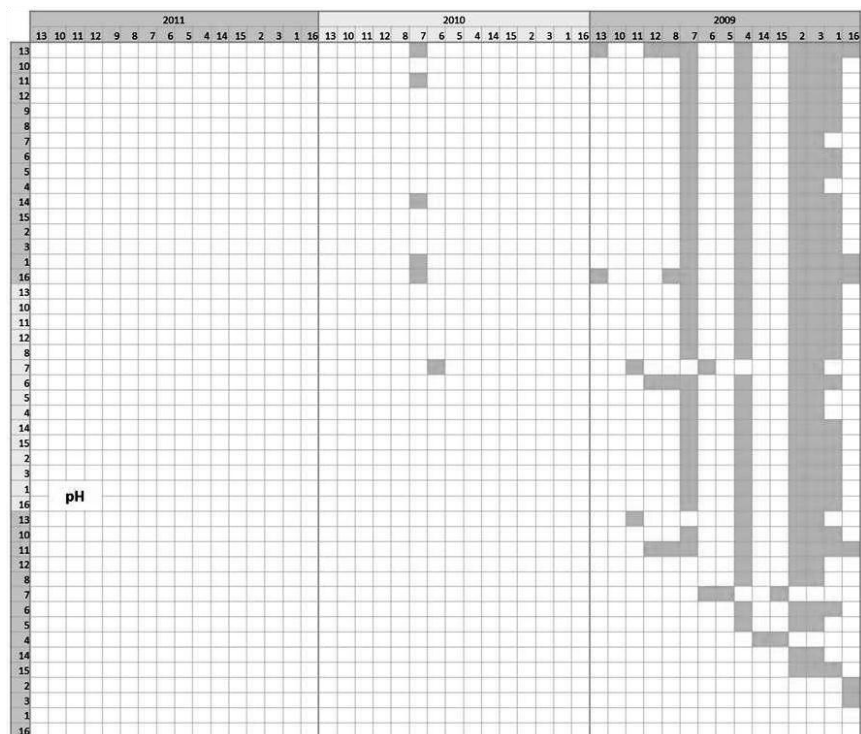
Laguna Arena (S4)	Club Miami	2,4 ± 0,12	1,8 ± 0,00	1,7 ± 0,06	37800 ± 1,58	28700 ± 0,03	28620 ± 418,17	73,8 ± 11,09	96,3 ± 19,73	81 ± 41,53
	Túnel del Amor	2,5 ± 0,06	1,6 ± 0,06	1,7 ± 0,18	37500 ± 1,00	26900 ± 1,40	18726 ± 2638,20	90 ± 8,16	93,8 ± 9,46	102 ± 22,54
Guapo (S5)	Guapo	1,3 ± 0,29	0,8 ± 0,01	0,2 ± 0,15	22600 ± 4,64	13100 ± 0,20	892,4 ± 376,25	112,5 ± 18,48	117,5 ± 50	83,6 ± 5,81
	Madre Casañas	0,5 ± 0,62	0,3 ± 0,31	0 ± 0,00	10700 ± 11,80	334,2 ± 390,43	162,9 ± 1,44	119,5 ± 21,08	112,5 ± 42,52	151,6 ± 48,10
	Caño Tuy	3,1 ± 0,56	1,1 ± 0,09	1,7 ± 0,13	47300 ± 7,85	18900 ± 1,32	24794 ± 568,58	60 ± 0,00	153,3 ± 15,27	185 ± 46,17
La Boca	Boca	2,3 ± 0,08	1,4 ± 0,02	3,2 ± 0,02	33000 ± 0,21	23300 ± 0,47	50400 ± 442,21	100 ± 54,92	160 ± 71,92	240 ± 109,68

Tabla 2a. Diferencias significativas de la temperatura entre las localidades y los periodos de muestreo, destacadas como celdas sombreadas. La numeración corresponde a las localidades señaladas en la Figura 1 que describe el área de estudio.



El pH mostró diferencias significativas tanto entre las localidades muestreadas ($p= 4,17E-17$) como en los periodos de muestreo ($p= 7,02E-17$). Corresponde al 2009 las mayores variaciones espaciales, se registraron valores comprendidos entre $4,1 \pm 3,1$ en el Placer y $8,8 \pm 0,09$ unidades en Laguna Grande (Tabla 1a). La matriz de Turkey (Tabla 2b) muestra que Caño Tuy, el Guapo, Madre Casañas, el Mono y Pirital fueron las localidades donde se observaron las mayores diferencias comparado con el 2010 que mostró diferencias significativas solo en caño Pirital. En 2011 no se mostraron diferencias significativas entre las localidades, excepto en el Guapo y Madre Casañas.

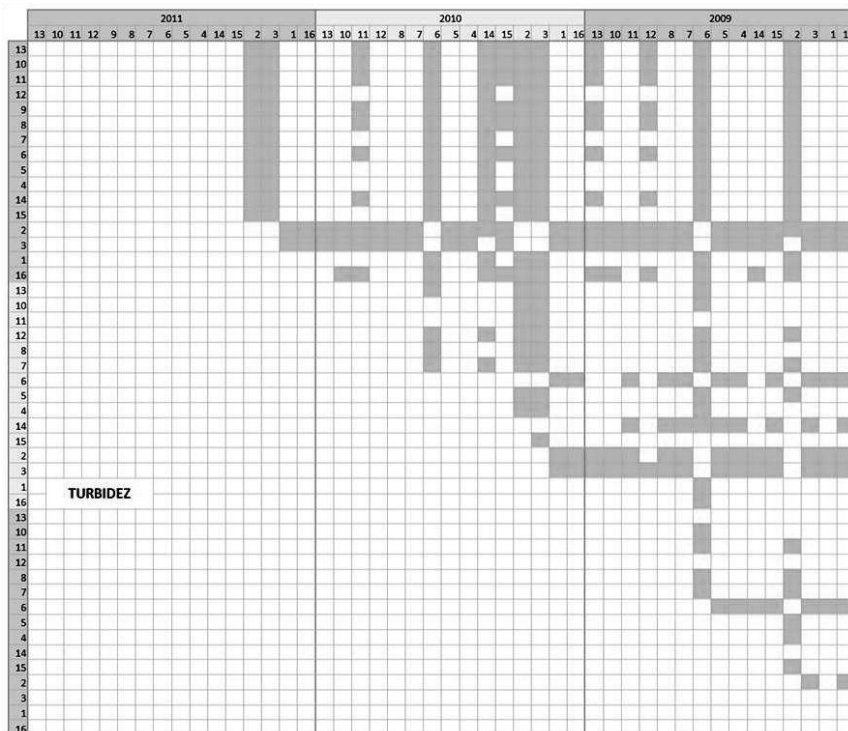
Tabla 2b. Diferencias significativas del pH entre las localidades y los periodos de muestreo, destacadas como celdas sombreadas. La numeración corresponde a las localidades señaladas en la Figura 1 que describe el área de estudio.



La turbidez mostró diferencias significativas entre localidades ($1,878E-37$) y entre los periodos de muestreo ($1,357E-14$), siendo Madre Casañas y el Guapo las localidades con mayores diferencias

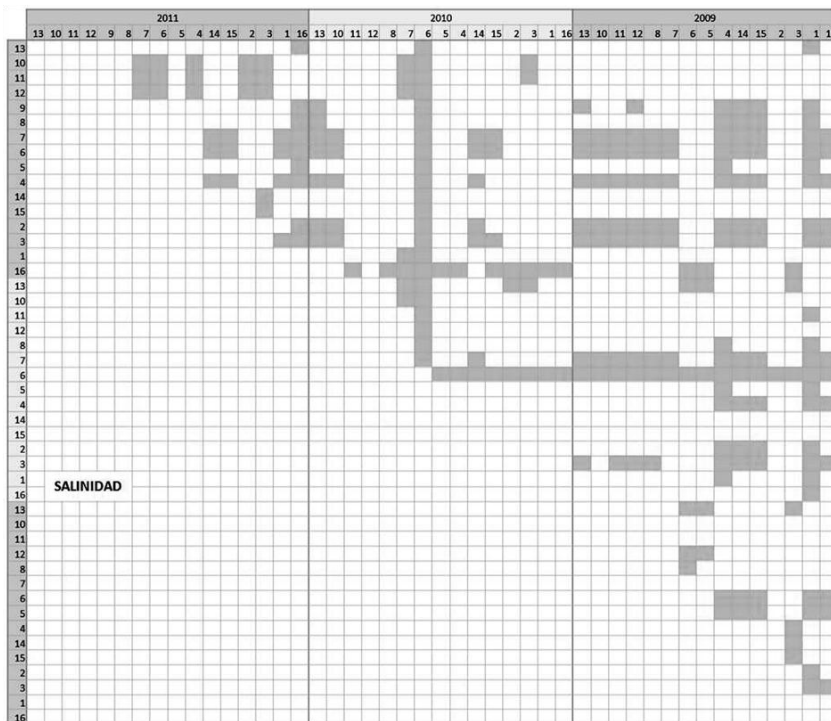
dentro de los tres períodos de muestreo (Tabla 2c). Corresponde al 2009 el período donde la turbidez muestra mayor diferencia entre localidades, siendo el Guapo, las Lapas, Manatí y Marapata las localidades que marcan estas diferencias.

Tabla 2c. Diferencias significativas de turbidez entre las localidades y los períodos de muestreo, destacadas como celdas sombreadas. La numeración corresponde a las localidades señaladas en la Figura 1 que describe el área de estudio.



La conductividad mostró diferencias significativas entre localidades ($7,759E-82$) y entre los períodos de muestreo ($8,989E-107$). Marzo 2011 mostró mayor heterogeneidad entre las localidades, y junio 2009 y abril 2010 mostraron igual comportamiento respecto a la conductividad, siendo Marapatá, Caño San Ignacio, Manatí, Carambola, el Placer, Club Miami, Túnel del Amor, Caño Tuy y la Boca localidades que marcan las diferencias espaciales dentro de los períodos del muestreo (Tabla 2d).

Tabla 2d. Diferencias significativas de salinidad entre las localidades y los periodos de muestreo, destacadas como celdas sombreadas. La numeración corresponde a las localidades señaladas en la Figura 1 que describe el área de estudio.

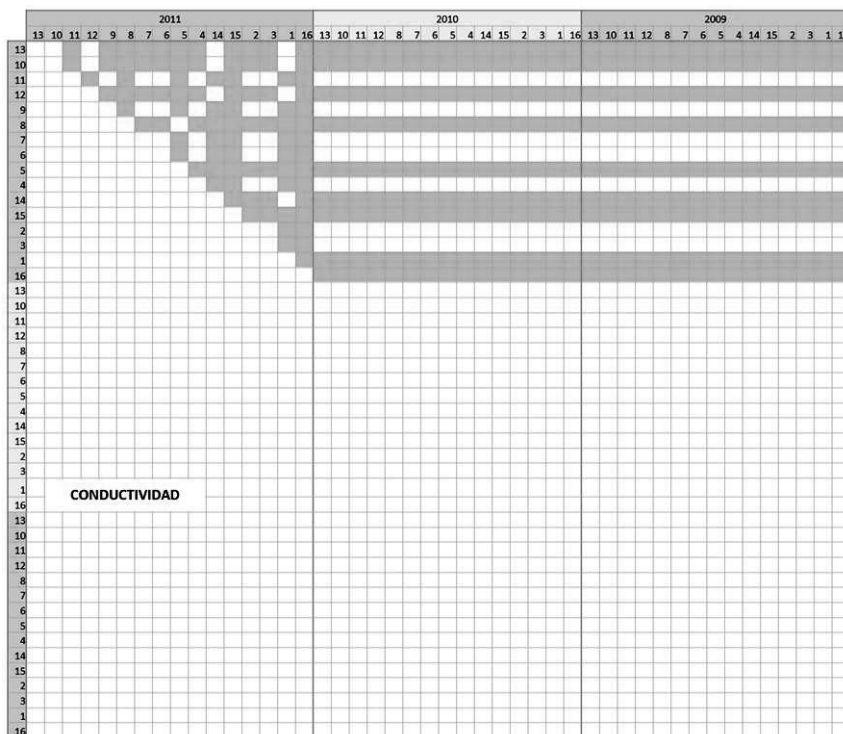


La salinidad del agua varió espacial y temporalmente durante el muestreo, mostró diferencias significativas entre localidades ($2,247E-22$) y entre los periodos de muestreo ($8,70E-10$). En el 2009 y 2010 se registró en la laguna mayor heterogeneidad en las variaciones de este parámetro (Tabla 2e), siendo las Lapas, la Boca, caño Pirital y Carambola las localidades que marcan mayormente las diferencias, con respecto al 2011, donde la laguna se muestra más homogénea con menores diferencias entre las localidades (Tabla 2e), los valores se registraron entre 0 y $3.2 \pm 0,02$ %, observándose los menores valores en las localidades Madre Casañas, caño Pirital, las Lapas y el Mono y la mayor salinidad en la Boca (Tabla 1).

La profundidad mostró diferencias significativas entre localidades ($5,83E-12$) y entre los periodos de muestreo ($7,44E-4$). Se aprecia en la Tabla 1, que registró variaciones entre 60 ± 0 y $263,8 \pm 10$ cm en los tres años del muestreo, observándose en Laguna Grande la mayor

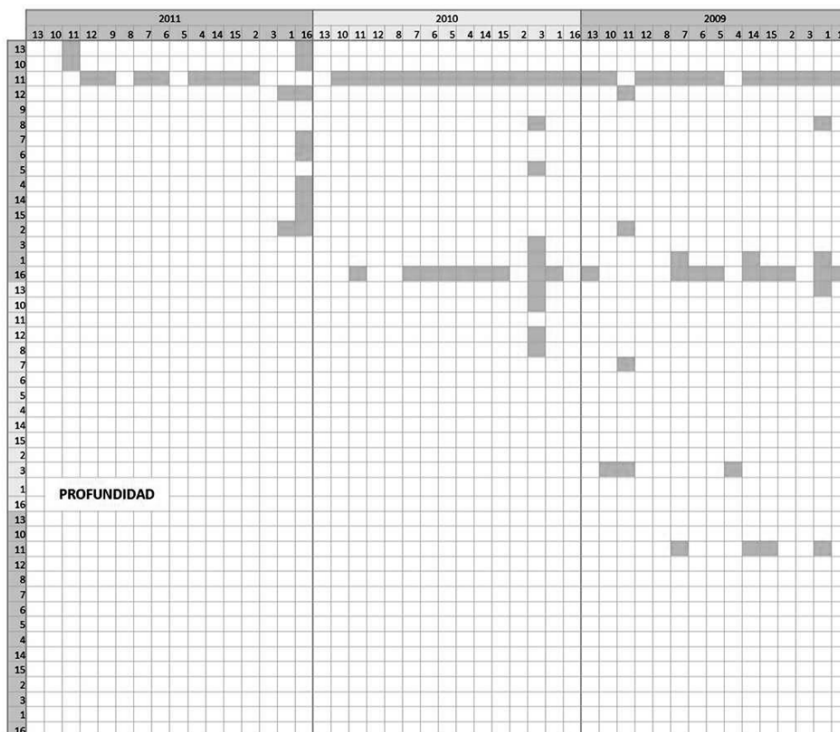
profundidad en los tres periodos. En la Tabla 2f se observa que esta localidad mostr6 las mayores diferencias de profundidad entre las localidades durante los tres periodos muestreados, seguido de la Boca.

Tabla 2e. Diferencias significativas de conductividad entre las localidades y los periodos de muestreo, destacadas como celdas sombreadas. La numeraci6n corresponde a las localidades sealadas en la Figura 1 que describe el 6rea de estudio.



Abundancia espacial y temporal de los bioindicadores. En todos los sectores y en los tres periodos de muestreo, la abundancia de coliformes totales (CT) no mostr6 diferencias significativas. Sin embargo, en el 2009 se detect6 una menor abundancia en 6rdenes de magnitud entre 10^1 y 10^2 , se observ6 un aumento en el a6o 2010 cuyos 6rdenes de magnitud se detectaron entre 10^4 a 10^{11} , determin6ndose la mayor abundancia en la localidad de el Mono (10^{11}). Para marzo 2011, la abundancia vari6 hasta en ocho 6rdenes de magnitud, entre 10^1 y 10^9 , los valores mayores se registraron en las localidades el Mono, ca6o Pirital, el Placer, Laguna Grande y Madre Casa6as (Figura 3a).

Tabla 2f. Diferencias significativas de profundidad entre las localidades y los periodos de muestreo, destacadas como celdas sombreadas. La numeración corresponde a las localidades señaladas en la Figura 1 que describe el área de estudio.



La abundancia de los coliformes fecales (CF) no mostró diferencias significativas en los tres periodos de estudio. Sin embargo, en el año 2009 se observó una abundancia máxima en el orden de 10^1 detectada en la localidad Club Miami (Figura 3b). La abundancia de CF aumentó en el 2010 mostrando variaciones en los órdenes de magnitud entre 10^5 - 10^7 en las localidades Carambola, caño Piritál, el Placer, las Lapas, el Mono y Manatí, y no se detectaron en las localidades Marapatá, caño San Ignacio, Laguna Grande, Club Miami, Túnel del Amor y la Boca. En el 2011, los CF se detectaron en órdenes de magnitud creciente solo en Club Miami (10^1), Marapata (10^5) y el Guapo (10^8).

Los enterococos mostraron variaciones temporales, aunque estadísticamente cercanas al punto crítico de rechazo a la significancia ($p=0,0502$) en los tres periodos de muestreo. La Figura 4 muestra la abundancia espacial y temporal de los enterococos, en el 2009 en todas las localidades mostraron órdenes de magnitud entre 10^5 - 10^8 , excepto en caño

Tuy (10^3). En 2010 las mayores abundancias (10^8) se detectaron en la Boca, Madre Casañas, el Mono, las Lapas y caño Pirital, y en 2011 en Marapata, Laguna Grande, caño Pirital y Carambola entre 10^7 - 10^9 .

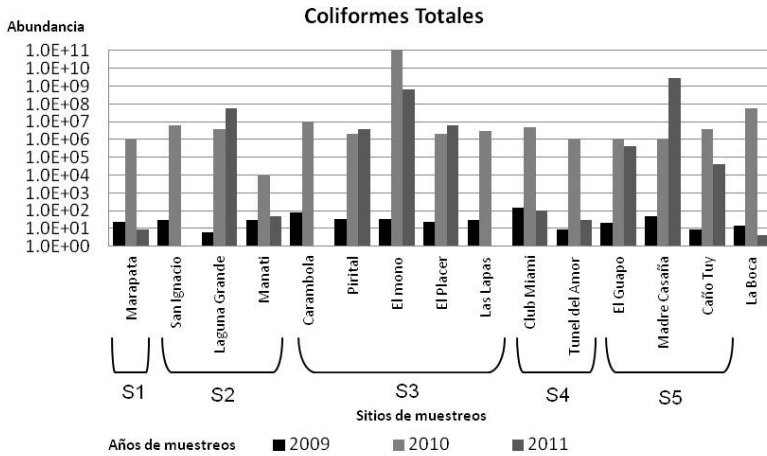


Figura 3a. Abundancia espacial y temporal de Coliformes Totales, expresada en Unidades Formadoras de Colonias (UFC) en los sectores: (S1) El Cazote; (S2) Laguna Grande; (S3) El Placer; (S4) Laguna Arena; (S5) El Guapo y la Boca.

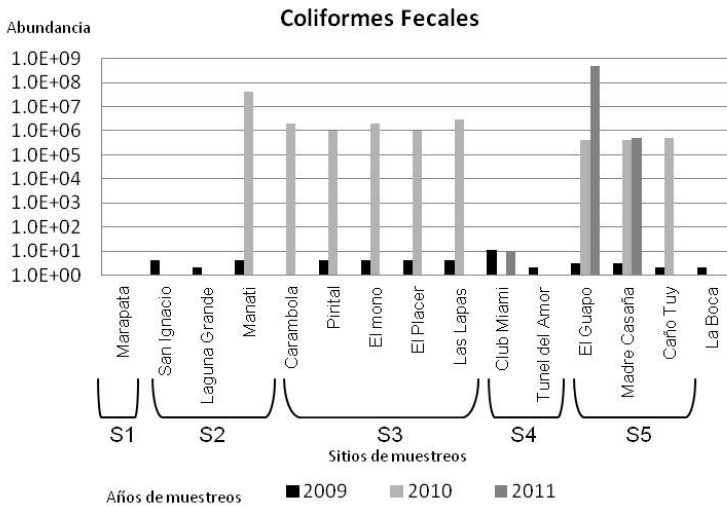


Figura 3b. Abundancia espacial y temporal de Coliformes Fecales, en sectores: (S1) El Cazote; (S2) Laguna Grande; (S3) El Placer; (S4) Laguna Arena; (S5) El Guapo y la Boca.

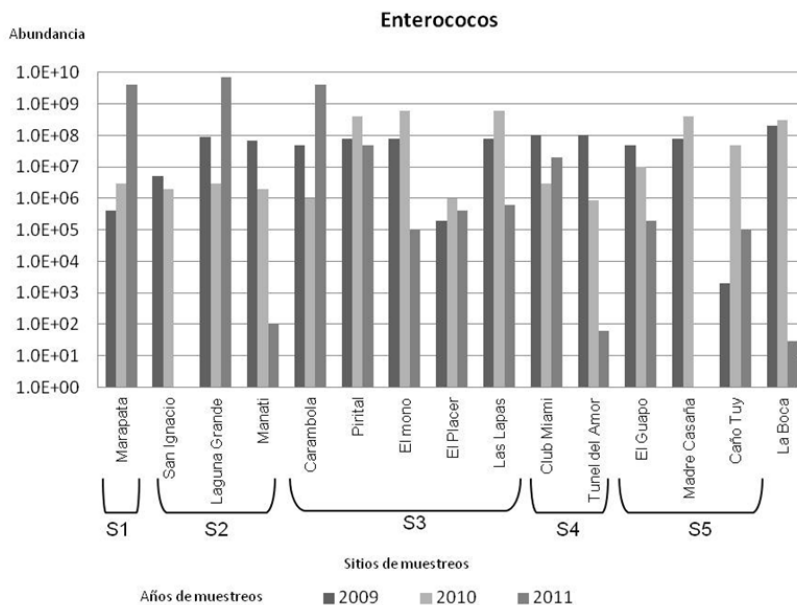


Figura 4. Abundancia espacial y temporal de enterococos en los sectores: (S1) El Cazote; (S2) Laguna Grande; (S3) El Placer; (S4) Laguna Arena; (S5) El Guapo y la Boca.

La abundancia de *Vibrios* no mostró variaciones significativas entre los tres periodos de muestreo. Sin embargo la Figura 5 muestra la abundancia espacial y temporal de *Vibrios*, observándose en 2009 que se detectaron en todos los sectores, las mayores abundancias variaron en órdenes de magnitud entre 10^7 y 10^{11} en las localidades Marapata, San Ignacio, Laguna Grande, Manatí, caño Pirital, las Lapas, el Mono, Club Miami, Túnel del Amor, Guapo, Madre Casañas y la Boca. De igual manera, en el 2010, se detectó la presencia de *Vibrios* en todos los sectores, en órdenes de magnitud entre 10^6 - 10^7 exceptuando la localidad Madre Casañas. En 2011 disminuyó su abundancia en todas las localidades en los órdenes de 10^2 - 10^6 , y no se detectaron en Marapatá y caño Pirital.

La abundancia de las bacterias heterótrofas mostró variaciones significativas ($p= 0,006$) entre los tres periodos muestreados. Se observa en la Figura 6, que su abundancia en el 2009 y 2010, en todos los sectores, vario en órdenes de magnitud entre 10^{11} - 10^{14} y 10^{10} - 10^{13} respectivamente. En marzo 2011 los valores se detectaron en órdenes de magnitud creciente desde 10^2 en las localidades caño Pirital y Caño San Ignacio hasta 10^{10} en Madre Casañas.

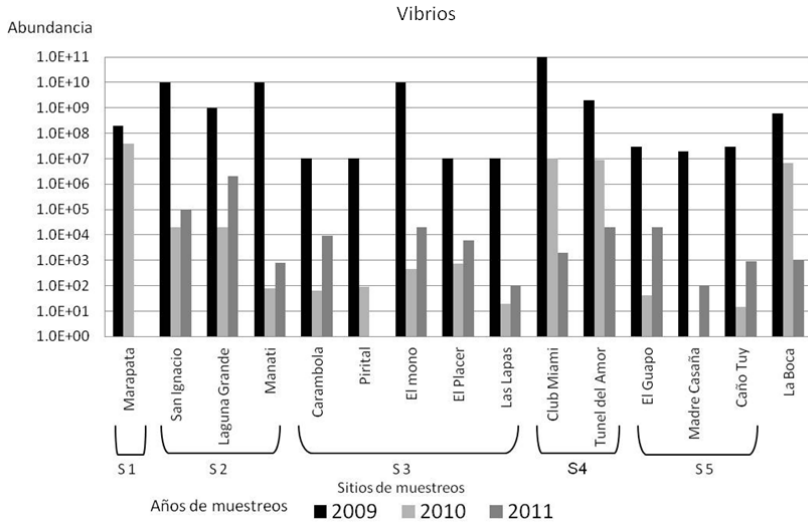


Figura 5. Abundancia espacial y temporal de Vibrios en los sectores: (S1) El Cazote; (S2) Laguna Grande; (S3) El Placer; (S4) Laguna Arena; (S5) El Guapo y la Boca.

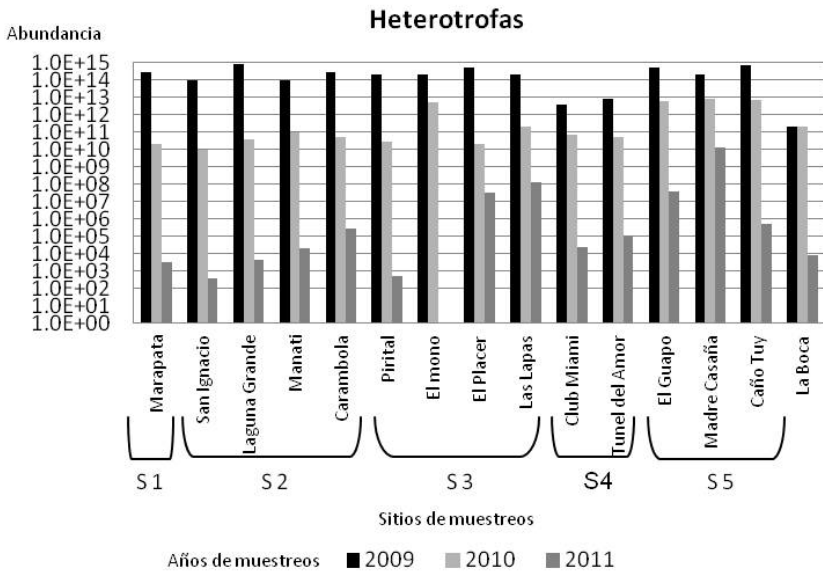


Figura 6. Abundancia Espacial y Temporal de bacterias heterótrofas en los sectores: (S1) El Cazote; (S2) Laguna Grande; (S3) El Placer; (S4) Laguna Arena; (S5) El Guapo y la Boca.

Relacion bioindicadores y las variables fisicoquímicas en las diferentes localidades. La Figura 7 corresponde al tri-plot de bioindicadores, localidades y variables fisicoquímicas, muestra los resultados del análisis de redundancia. Para el año 2009, en el caso de los Vibrios, CT y CF fueron abundantes en Club Miami y caño Tuy ($10^7 - 10^{11}$) y vinculados inversamente a las variables profundidad, conductividad, temperatura y pH. Además, se observa en las localidades Túnel del Amor, Carambola y la Boca la abundancia de los enterococos (10^6-10^8) que se vinculan positivamente con la temperatura, pH y salinidad; en menor magnitud y de forma inversa con la profundidad y conductividad. Para las bacterias heterótrofas se destaca su abundancia este año, en Laguna Grande y con respecto a las variables fisicoquímicas se comportaron contrario a Vibrios, CT y CF.

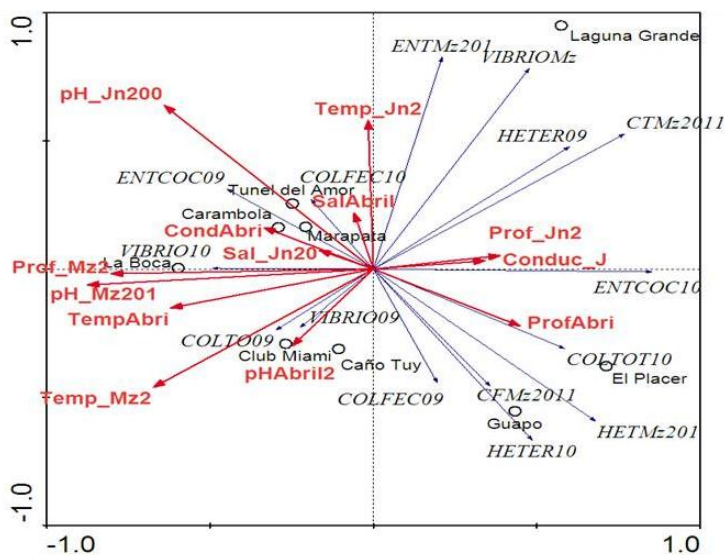


Figura 7. Análisis de redundancia. Triplot de bacterias indicadoras, variables fisicoquímicas y localidades de estudio.

En el 2010 se observa la abundancia de Vibrios y CF (10^6-10^7) en los sectores Túnel del Amor, Carambola, Marapata y la Boca, en el caso de Vibrios se vinculó directamente a conductividad y temperatura y en menor magnitud con pH y salinidad e inversamente con la profundidad. Los CF se relacionaron directamente con salinidad y conductividad e inversamente con temperatura, pH y profundidad. Los CT en este período se destacan en el análisis una mayor abundancia en el Guapo y el Placer y se relacionaron directamente con profundidad e inversamente con salinidad y

conductividad. En el caso de los enterococos se observa su abundancia en Laguna Grande (10^6 - 10^7), y se relacionaron directamente con profundidad e inversamente con conductividad, temperatura y pH. Las bacterias heterótrofas fueron abundantes en el Guapo y el Placer y relacionaron directamente con la profundidad e inversamente con las demás variables. En el 2011 se destaca la abundancia de Vibrios y CT (10^6 - 10^7) en Laguna Grande y se relacionaron inversamente con temperatura, pH y profundidad; los CF fueron abundantes en los sectores el Guapo y el Placer asociados negativamente con pH, temperatura y profundidad. Se destaca la abundancia de los enterococos (10^6 - 10^7) en Laguna Grande, y se relacionaron inversamente con profundidad, temperatura y pH. En el caso de las heterótrofas estuvieron presentes en todos los sectores, pero en menor abundancia (10^2 - 10^{10}) y junto a los CF se vincularon inversamente con la temperatura, pH y profundidad (Figura 7).

Aspectos Ecológicos. Análisis Gremial. La estructura gremial de la comunidad bacteriana heterotrófica, sigue una tendencia similar en los periodos 2009 y 2010 (Figura 8), con un mayor porcentaje de gremios que degradan sustratos tales como proteínas, lípidos, azúcares complejos, moléculas complejas (quitina), transforman nitrato a nitrito, utilizan urea y fosforo inorgánico. Sin embargo, hubo una mayor proporción de estos gremios en el 2009 con respecto al 2010. En cuanto a la utilización de azúcares simples, como la glucosa, muestran una tendencia similar, pero difieren en el uso de la lactosa. En ambos periodos se muestra igual proporción en los gremios degradadores de lignina (lignolítico) y celulosa (celulolítico), el gremio pectinolítico fue mayor en 2009 y la producción de H_2S fue baja en ambos periodos.

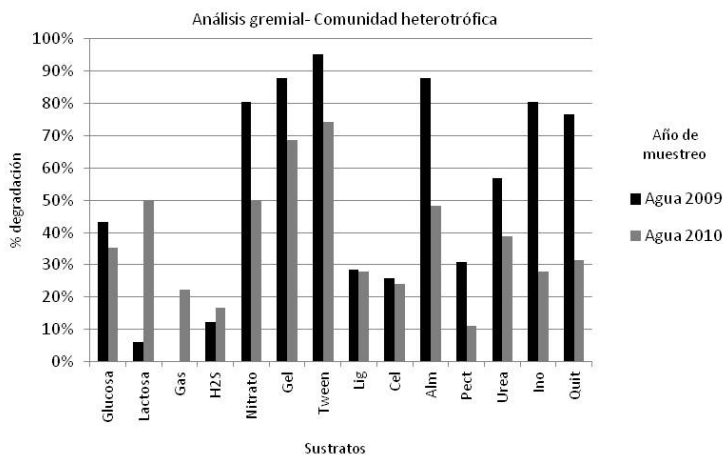


Figura 8. Degradación de sustratos de la comunidad bacteriana heterotrófica expresada en % (2009-2010) (Gel: gelatina; Lig: lignina; Cel: celulosa; Alm: almidón; Pect: pectina; Ino: inositol; Quit: quitina).

Análisis Funcional. Los resultados del análisis de agrupamiento de las cepas bacterianas en los diferentes sectores, con relación a su comportamiento en los distintos sustratos en las que fueron expuestas, se muestran en las Figuras 9 y 10. Al comparar ambos dendrogramas, se destaca que el correspondiente al 2009 mostró una Distancia Máxima de Agrupamiento (DMA) de 2,5 respecto al 2010 que tuvo un valor de 2,7, lo cual permite inferir que la comunidad bacteriana en el 2009 era menos diversa.

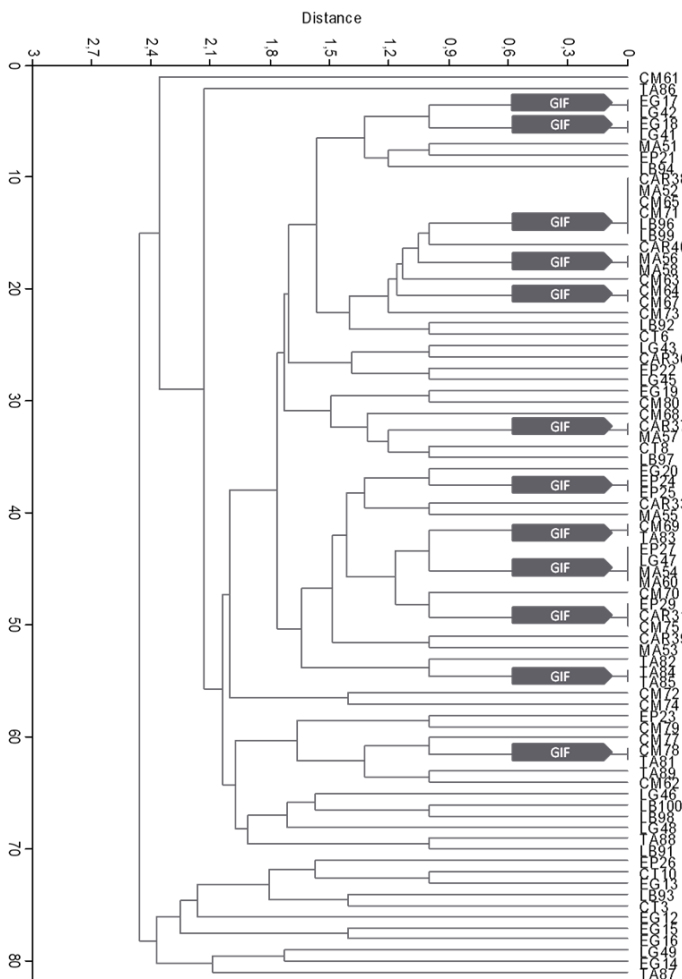


Figura 9. Análisis de Agrupamiento 2009. Distancia de agrupamiento entre 0–2,7 CP: Caño Pirital; MC: Madre Casaña; EP: El Placer; LB: La Boca; LG: Laguna Grande; MAN: Manatí; CAR: Carambola; CM: Club Miami; TA: Túnel del Amor; CT: Caño Tuy; LL: Las Lapas, EM: El Mono; EG: El Guapo.

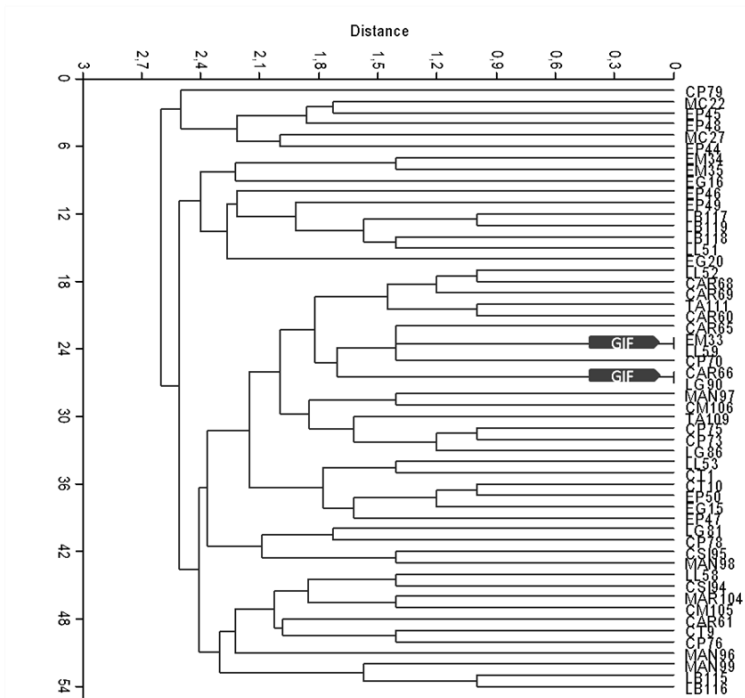


Figura 10. Análisis de Agrupamiento 2009. Distancia de agrupamiento entre 0–2,7 CP: Caño Pirital; MC: Madre Casaña; EP: El Placer; LB: La Boca; LG: Laguna Grande; MAN: Manatí; CAR: Carambola; CM: Club Miami; TA: Túnel del Amor; CT: Caño Tuy; LL: Las Lapas, EM: El Mono; EG: El Guapo.

Por otra parte la menor diversidad se corresponde con la formación de un mayor N° de Grupo de Identidad Funcional (GIF) y un Índice de Diversidad Funcional (IDF) de 0,85 en el 2009, respecto a la comunidad bacteriana del 2010 (Tabla 3).

Tabla 3. Resumen resultados del clúster 2009-2010.

	2009	2010
N	81	54
GF	69	52
GIF	9 GIF/ constituido 2 cepas; 1 GIF/constituido 3 cepas; 1 GIF/constituido 4 cepas 1 GIF/ constituido 6 cepas	2 GIF/ constituido por 2 cepas
IDF	0,85	0,96
DM AA	2,5	2,7

N= Número de cepas; GF = Grupo Funcional; GIF = Grupo de Identidad Funcional; IDF = Índice Diversidad Funcional; DM = Distancia Máxima de agrupamiento.

La abundancia de GIF en el 2009 muestra una redundancia de funciones en un gran número de cepas y un potencial bioquímico para la utilización de sustratos como: proteínas, lípidos, azúcares complejos (almidón), uso de fósforo inorgánico y quitina. En menor proporción pectina, lignina, celulosa y además poseen un potencial para utilizar la urea y transformar nitrato a nitrito. Para el año 2010 se conformaron solo dos GIF integrado por dos cepas cada uno con una menor redundancia de funciones. Ambos coinciden en la utilización de azúcares complejos como el almidón y solo uno de ellos, además, degrada lactosa y lípidos.

DISCUSIÓN

En este estudio se destacan las variaciones espacio-temporales en las características fisicoquímicas del agua, (Tabla 1) los parámetros salinidad, pH, conductividad, temperatura y profundidad, mostraron cambios significativos asociados a estas variaciones, atribuibles a intervenciones antrópicas, cambios globales y eventos climáticos que se presentaron en los tres periodos del muestreo (El Niño en junio 2009, año neutro en abril 2010 y La Niña en marzo 2011), causando perturbaciones en la dinámica del ecosistema.

Así, la fuerte sedimentación a la que se somete el sistema lagunar ocasiona variaciones espaciales en la profundidad y por ende en la topografía del fondo estuarino o batimetría de la laguna, originando la formación de deltas en los sectores asociados a la desembocadura de los afluentes que alimentan al sistema lagunar. Al respecto, Gamboa *y col.*, (1971), señalaron variaciones en la profundidad entre 1,03 a 1,38 m y en las zonas más profundas se registraban valores hasta de 4m. De igual manera en este estudio, se registraron variaciones espaciales y temporales en la profundidad, mostrando máximos valores en Laguna Grande (1,94 m) en el 2009, en Marapata (1,68 m) en el 2010 y de 2,50 m en Laguna Grande en 2011.

Los estudios de Calzadilla, (2002-2003) reportan la formación de Deltas en el caño Madre Casañas, debido a la acumulación de sedimentos aportados desde el río Guapo, encontrándose actualmente seriamente obstruido este canal. Otro delta a considerar por su afectación debido a la sedimentación, corresponde a la quebrada San Ignacio, al respecto Charcartegui y Balady (1978) plantean su desarrollo a partir de aguas lagunares tranquilas y someras del sector Laguna Grande, y se corresponde con un delta del tipo elongado, dominado por procesos fluviales. De igual manera, Cabrera y Fernández (2008) determinaron para esta quebrada, una relación directamente proporcional entre la precipitación y el acarreo de sedimentos en la cuenca de la misma, y por lo tanto, cualquier variación entre las intensidades de la lluvia caída en la cuenca, se traducirá en una

alteración en la producción y transporte de sedimentos, lo que a su vez queda plasmado en la conformación de las facies sedimentarias del delta (intercalación de facies arena-arcillosa). De forma similar, la turbidez, (parámetro relacionado con la sedimentación) mostró diferencias significativas entre localidades, en las tres épocas de estudio, siendo el Guapo y Madre Casañas las localidades que presentan un mayor aporte de sólidos en suspensión y están expuestos a una fuerte acumulación de sedimentos arrastrados por el río. Se destaca en el 2009 que las localidades el Guapo, las Lapas, Manatí y Marapatá muestran las mayores diferencias en la turbidez.

La salinidad varió significativamente entre localidades y períodos de muestreo. Observándose mayor heterogeneidad en el 2009 y 2010 en periodo de fuerte sequía debido al evento climático El Niño y al año neutro respectivamente, con aumento en la concentración salina en las localidades con influencia marina y con circulación de agua restringida por la presencia de islas de manglar, de acuerdo a lo planteado por Okuda y Benítez (1985). Las mayores diferencias entre localidades se registraron en las Lapas, la Boca, caño Pirital y Carambola (Tabla 2 e). En el 2011 la laguna se mostró más homogénea con menores diferencias entre las localidades y las mayor concentración de registró en la Boca. La salinidad en el periodo de lluvia disminuye por el efecto dilución, otro factor a considerar son los aportes de aguas marinas que fluyen desde la boca hacia la laguna. Es importante destacar que las aguas marinas se caracterizan por presentar una cantidad de iones en solución mucho mayor que el agua dulce, por lo que cuando éstas reciben directamente aguas del mar, aunado a su carga sedimentaria, aumentan los iones en solución y por ende se elevan los valores en la salinidad y conductividad. En zonas de agua dulce, como en el sector Madre Casañas, donde no ocurre la mezcla directa con aguas marinas, se registran los valores más bajos de salinidad y conductividad característicos de una zona de agua dulce (Malaver *y col.*, 2012).

La temperatura registró variaciones espaciales y temporales, la mayor heterogeneidad en las variaciones de la temperatura se mostró en el 2009, seguido del 2010 con menores variaciones contrastando con el 2011 donde la temperatura fue más homogénea en la laguna. Estas variaciones en la temperatura se podrían relacionar con los cambios en la profundidad y la hora de registro. Al respecto, Reid y Wood (1976) y Day *y col.* (1987) plantean que la distribución de la temperatura es una función de la profundidad, del intercambio de agua y el flujo de corriente. Senior (1994) y Malaver *y col.*, (2012) reportaron que la temperatura del agua varía estacionalmente, con valores por encima de los 25°C en la época de lluvia, hasta 32,5 °C en época de sequía. Este parámetro influye sobre las comunidades acuáticas, debido a que la actividad de los organismos depende de un óptimo de temperatura, que influye en la variación de las reacciones enzimáticas particularmente en la actividad de los organismos descomponedores (Godshalk y Wetzel, 1978).

En cuanto al pH del agua, este parámetro presentó en 2009 variaciones de condiciones ácidas en el Placer ($\text{pH } 4,1 \pm 3,1$) y de basicidad ($\text{pH } 8,8 \pm 0,09$), en Laguna Grande y las mayores diferencias entre localidades se mostraron en caño Tuy, el Guapo, Madre Casañas, el Mono y caño Piritál. Esta última localidad correspondió al único sector con diferencias significativas en 2010, y en 2011 no se mostraron diferencias significativas en este parámetro entre las localidades (Tabla 2b). Las variaciones en el pH dependerán de las características locales, en las que intervienen la cantidad de agua de mar, calidad de los escurrimientos, la lluvia, la circulación deficiente de agua, la temperatura, la presencia de detritus orgánico y la actividad metabólica de los microorganismos, por ende, tienen gran influencia sobre la vida acuática y sobre las condiciones de sedimentación. En aguas naturales y estuarinas el pH presenta grandes fluctuaciones, lo cual depende del origen del ecosistema. Así en sistemas con altas concentraciones de carbonatos y bicarbonatos, el pH tiende a ser elevado, relacionado con el contenido de CO_2 disuelto en el agua, con la temperatura y la salinidad (Reid y Wood, 1976). El intervalo de pH en la mayor parte de los cuerpos de agua dulce no contaminados oscila entre 6,0 y 9,0; mientras que el agua de mar es ligeramente alcalina, con un valor promedio de 8,3, a consecuencia de su relación con la concentración de CO_2 disuelto en el agua, por lo que se entiende que zonas de agua dulce que tengan influencia directa con aguas marinas adquieran ese carácter ligeramente alcalino.

Los valores de pH menores a 7 pueden estar relacionados con procesos de descomposición de materia orgánica, en cuyo caso éste conlleva a la liberación de ácidos, o a la presencia del CO_2 disuelto en el agua proveniente de la descomposición y del aporte atmosférico o de ambos. Se considera que la tendencia ácida del pH en el bosque de manglar, es atribuible al contenido de ácidos húmicos disueltos en el agua (Contreras, 2002). Los cambios en el pH pueden tener efectos adversos sobre la biota, incidiendo en sus funciones fisiológicas hasta efectos letales sobre la misma. Se han reportado efectos crónicos en el caso de peces de aguas dulces a valores de pH menores a 5, sobre todo con efectos dañinos sobre huevos y larvas (ANZECC, 2000).

En cuanto a los coliformes totales y fecales, no se determinaron diferencias significativas entre los tres periodos de estudios y las abundancias de estos indicadores en los diferentes sectores. Sin embargo, se encontró que la abundancia de coliformes fecales incrementa, conforme al aumento de las descargas fluviales, corroborando la relación estacional que prevalece en el sistema, por lo que la influencia climática constituye una de las principales condicionantes en el comportamiento hidrológico del sistema lagunar tales como: disminución de la precipitación en junio 2009 (Evento climático El Niño), inicio de lluvias precedido de un periodo neutro en abril 2010 y aumento de las lluvias durante marzo 2011 (Evento climático Niña).

La Laguna de Tacarigua recibe alta carga de aguas residuales del río Guapo (su principal afluente), a través del caño Madre Casañas, el cual se muestra como una de las localidades más afectadas del sistema lagunar, con alta carga de coliformes fecales, debido a las descargas directas y constantes de aguas residuales domésticas. Los valores determinados sobrepasan los límites exigidos por la normativa que regula las descargas a cuerpos de agua (Decreto 883), considerándolas como zonas de riesgo para la salud. Por otra parte, la supervivencia en la columna de agua de las bacterias coliformes, confirma los procesos anaerobios de las partículas suspendidas en ésta, independientemente de la concentración de oxígeno disuelto que pudiera darse en el sistema acuoso (Salas, 2000), justificando en parte la heterogeneidad que se manifiesta en distintos sectores de la laguna.

Por otra parte, los enterococos mostraron diferencias significativas entre los periodos de muestreo. Su presencia y variación en la abundancia de estos indicadores en los diferentes sectores de la laguna, durante los muestreos, son atribuibles a que este grupo posee una mayor resistencia ante factores de estrés ambiental, tales como temperatura, pH, salinidad, luz solar, que los caracterizan como mejores indicadores con respecto a las bacterias coliformes fecales, coincidiendo con lo indicado por Namihira-Santillan *y col.*, (2002) en los estudios de calidad de agua realizados en el lago Huayamilpas-México-DF. La presencia de este grupo se ha asociado a contaminación de origen animal, y en este cuerpo de agua podría relacionarse con las poblaciones de aves que se asientan en esta laguna.

En el caso de *Vibrios*, no se determinaron variaciones significativas en su abundancia en los periodos muestreados. Sin embargo la abundancia de este grupo puede atribuirse a oscilaciones de la lámina de agua, debido a ciclos de mayor o menor pluviosidad, por efecto de la variabilidad climática, que origina cambios en las características fisicoquímicas del agua, influyendo sobre la ecología y ciclo biológico de estos microorganismos. En este sentido, Tamerius *y col.* (2007) para el caso particular *Vibrio cholerae*, sostienen que las combinaciones favorables de temperatura, pH y salinidad del agua en ambientes marinos y estuarinos son factores que influyen en la ecología de este organismo. De igual manera, Fernández (2010) planteó que los niveles reducidos de salinidad, las lluvias locales, temperaturas elevadas e influencia de nutrientes favorecen la presencia de *Vibrio cholerae* no toxigénico en aguas costeras. En el caso de la Laguna de Tacarigua, podría inferirse que la viabilidad y prevalencia de *Vibrios*, está asociada a factores como la variabilidad climática, las condiciones fisicoquímicas del medio acuático y el surgimiento del plancton, que influye en la abundancia, distribución estacional y geográfica de estos organismos, coincidiendo con los planteamientos de Thompson *y col.* (2004), Tamerius *y col.* (2007), Fernández (2010) y Malaver *y col.* (2012).

Otro indicador utilizado fueron las bacterias heterotróficas, tomando en cuenta que la dinámica de este ecosistema está influenciada por factores tales como: fuentes de materia orgánica originadas por la cuenca de drenaje, la conexión con el mar, la descarga de aguas residuales, la resuspensión de partículas, el tiempo de residencia, el ciclaje de nutrientes y los organismos autóctonos. En este contexto, la diversidad de las comunidades microbianas que habita en los ecosistemas de manglares, transforma continuamente la vegetación muerta del manglar en fuentes de carbono, nitrógeno, fósforo y otros nutrientes que pueden ser luego utilizados por las plantas del manglar, la degradación del material vegetativo del manglar produce detritus, que contribuye al aporte de materia orgánica en este ambiente estuarino. Por lo que estas bacterias juegan un papel de gran importancia por su acción descomponedora de la materia orgánica y su vinculación a procesos fundamentales que van desde el ciclaje de nutrientes, hasta la geoquímica de los sedimentos en las lagunas estuarinas (Miravet, 2003). Basados en estos planteamientos, se utilizaron las bacterias heterotróficas como indicadores de actividad degradativa de la materia orgánica e indicadores de la calidad ambiental, dado que utilizan el carbono como fuente de energía, cumpliendo un papel importante dentro de los procesos de degradación de materia orgánica, ciclaje y transferencia de nutrientes en el ecosistema (Atlas y Bartha, 2002).

La abundancia de estas bacterias es indicadora de la condición trófica del ecosistema, Miravet, (2003), las clasifica con concentraciones del orden $(4,0 \text{ a } 8,0 \times 10^1 \text{ UFC}/100\text{mL})$ como oligotróficas con tendencias mesotróficas, esto representa un ambiente acuático donde hay suficiente materia orgánica disponible para que las bacterias heterótrofas alcancen concentraciones medias. Condiciones mesotróficas son aquellas donde hay un equilibrio entre las concentraciones de bacterias heterótrofas y sulfato reductoras. Y las concentraciones en el orden de $6,5 \times 10^3$ a $2,7 \times 10^4 \text{ UFC}/100\text{mL}$, corresponde a condiciones “mesotróficas con tendencias eutróficas” las cuales son características de lugares de mayor enriquecimiento orgánico. Finalmente, concentraciones $>2,7 \times 10^4 \text{ UFC}/100\text{mL}$ son indicadoras de condición “eutrófica”. En esta condición, cualquier entrada adicional de materia orgánica eventual o permanente puede provocar cambios drásticos hacia condiciones anóxicas, con la consiguiente predominancia de los grupos bacterianos anaeróbicos y el deterioro de la calidad del agua.

Las bacterias heterótrofas mostraron variaciones significativas en su abundancia entre las diferentes localidades en los tres periodos de estudio, con abundancias en el orden de 10^2 a $10^{14} \text{ UFC}/\text{ml}$, Estas variaciones espaciales y temporales, podrían ser atribuidas a aportes naturales o antrópicos de materia orgánica y a fenómenos climáticos, que generan un factor de dilución por las prolongadas precipitaciones (fenómeno climático de la Niña), o concentración durante épocas de

sequía. Con los resultados obtenidos y de acuerdo a los criterios planteados por Miravet (2003), se podría decir que el cuerpo de agua lagunar se encuentra en condiciones eutróficas, lo que se traduce en un deterioro de la calidad ambiental del ecosistema lagunar. Otro aspecto a considerar relaciona las variaciones observadas en los indicadores utilizados, asociadas a los parámetros fisicoquímicos y una influencia importante de los aportes de agua residual. A través de un análisis de redundancia, se vinculó el comportamiento de las variables fisicoquímicas (variables causa) con los indicadores biológicos (variables efecto) en las diferentes localidades de estudio (Figura 7).

Esto permitió confirmar la heterogeneidad espacial y temporal de la calidad del agua del sistema lagunar, que se comporta como un mosaico de microambientes con características específicas de cada localidad o sector de la laguna. Las condiciones ambientales tales como la salinidad, temperatura, humedad, pH y los recursos, pueden afectar la actividad microbiana modificando la velocidad de los procesos, sin alterar la diversidad de especies, manteniendo la diversidad a corto plazo. Adicional está el impacto natural y/o antrópico, además condicionado por la variación climática, lo que implica que la dinámica ambiental de la laguna está determinada por los ciclos de lluvia y sequía. Así durante la estación seca los aportes pluviales disminuyen, incidiendo en la salinidad, en el volumen de agua que drena hacia el mar y en los aportes de sedimentos y nutrientes. Por otra parte, durante la estación lluviosa las precipitaciones y los ríos incrementan los aportes pluviales y fluviales, disminuyendo la salinidad de la laguna e incrementado el volumen de agua que drena hacia el mar, aportando sedimentos y nutrientes al sistema. Esta heterogeneidad ecológica de la laguna fue también reportada por Okuda y Benitez (1985), cuando describen el efecto de los vientos alisios, que generan un gradiente horizontal de salinidad y nutrientes en la laguna.

Todo ello influye en la distribución de los bioindicadores, lo cual sigue un patrón en el sistema lagunar, que corresponde a una mayor abundancia de éstos por concentración de los mismos al disminuir los aportes pluviales y fluviales en los sectores con mayores contribuciones de materia orgánica e impacto de aguas servidas.

Sin embargo, los CT, CF, Enterococos y Vibrios son visualizados desde el punto de vista de la salud humana, pero los posibles efectos de estos en el ambiente se desconocen, aunque se sabe que se altera la composición de la microbiota natural al adicionarlos (Campbell, 1987). Existen evidencias que estas bacterias pueden transferir su información genética hacia la microbiota nativa y hacia patógenos obligados de peces, tales como *Aeromonas salmonicida* (Arana y col., 1997; Marcinek y col., 1998). Además, la presencia de estos indicadores interfiere con mecanismos de defensa de los peces, pudiendo representar un riesgo

sanitario potencial a la fauna ictica, puesto que existen algunas enterobacterias, que si bien no suelen afectar directamente, su alta concentración en la piel, los tejidos y algunos órganos, pueden provocar aumento en la susceptibilidad a infecciones provocadas por patógenos obligados, como es el caso de algunas coliformes totales y estreptococos fecales (Namihira-Santillan *y col.*, 2002). Sin embargo, a pesar de que los Vibrios pueden causar enfermedades en los organismos, éstos cumplen funciones en el ciclaje de nutrientes, tales como la utilización y degradación de materia orgánica disuelta presente en el ecosistema (Sherr y Sherr, 2000).

Navas (2006) identificó en esta laguna diferentes especies de *Vibrio* en los sectores el Cazote, Laguna Arena y el Guapo, encontrando en los tres sectores aquellas especies que crecen en un rango de salinidad, mientras que aquellas que requieren el ión sodio para su crecimiento se detectaron tanto en el agua como en el sedimento en los sectores el Cazote y Laguna Arena. Destacando que la salinidad es un parámetro que influye en la distribución de las especies de *Vibrio* en el ecosistema.

Otro aspecto a considerar es que, en los sectores Laguna Arena y el Cazote los niveles de materia orgánica son mayores debido al poco flujo de la corriente (Isava, 1996), de modo que las características fisicoquímicas influyen en la prevalencia y distribución de estas especies heterotróficas en el sistema lagunar. Constituyendo la diversidad de especies de Vibrios en este ecosistema, parte importante en el mantenimiento y dinámica del mismo, así como su participación en la descomposición de la materia orgánica asociada al material aloctono y a los organismos que allí habitan (Navas, 2006).

Por otra parte los resultados del análisis funcional muestran que cambios en las condiciones abióticas, se reflejan en la respuesta fisiológica de la comunidad microbiana, puesto que se modifica la estructura de la comunidad heterotrófica y en consecuencia, se modificará la dirección y velocidad de los procesos en los cuales participan.

En concordancia con el planteamiento de Alkorta *y col.* (2003), la estructura funcional de comunidades microbianas representa un buen indicador biológico debido a que muestra gran sensibilidad a los cambios y provee información que integra diversos factores ambientales. Sin embargo, esto requiere de un enfoque multidisciplinario, donde se proponen nuevos parámetros para caracterizar mejor los procesos que tienen lugar en el ecosistema.

En los últimos años se ha utilizado en ecología microbiana el análisis funcional como indicador de la diversidad y estructura de las comunidades microbianas, a través del uso de diferentes fuentes de carbono estableciendo así el perfil metabólico de los microorganismos y

su comportamiento (Garland y Mills, 1991; Zak *y col.*, 1994; Grayston y Campbell, 1996; Malaver y Ramos, 1997; Griffiths *y col.*, 1997; García *y col.*, 2004; Hernández *y col.*, 2006; Zamora *y col.*, 2012a; Frac *y col.*, 2012). Una vía de entrada de materia orgánica a considerar corresponde a la conexión de la laguna con el mar, lo cual genera un mayor aumento de carbono orgánico lábil. Los principales componentes de la materia orgánica disponibles para los microorganismos son lípidos, hidratos de carbono y proteínas. Cuando alcanza el ambiente acuático, en condiciones anaeróbicas tiende a ser completamente degradado por la acción de exoenzimas esterasa y transformado en compuestos inorgánicos.

Después de la hidrólisis de los polímeros se forman monómeros y oligómeros que se hacen disponible para reacciones de oxidoreducción, las cuales culminan en la liberación de energía (Fenchel *y col.*, 1988). Tales biopolímeros son degradados por los microorganismos en la interacción, en consorcios, de al menos dos o tres grupos fisiológicamente distintos de bacterias (Brock *y col.*, 1994; Jones, 2001). Las actividades de enzimas esterases y del sistema de transporte electrónico se han empleado como indicadores del metabolismo microbiano, en los sistemas acuáticos o terrestres (Miravet, 2003).

La comunidad bacteriana heterotrófica responde a los cambios a los cuales son enfrentadas, mostrando el potencial bioquímico o potencial biocatalizador para degradar determinados sustratos, que forman parte de la materia orgánica a descomponer o algún tipo de contaminante o agente exógeno. Por otra parte, la identificación de grupos funcionales permite entonces realizar una evaluación de las propiedades del sistema, tales como: su capacidad de recuperación y regeneración, el potencial degradativo, la producción de materia orgánica y la resistencia a cambios ambientales. Permitiendo con la estimación de la diversidad de grupos funcionales, determinar la complejidad estructural de las comunidades bacterianas y además, comprender las interacciones entre los componentes bióticos. El análisis funcional permite la selección de GF con criterios ecológicos a los cuales posteriormente se les podría aplicar análisis molecular de las cepas microbianas (bacterianas) de interés para su identificación taxonómica.

A través de este tipo de análisis se corrobora que existen cambios espaciales y temporales en las comunidades bacterianas, con efecto de intervención antrópica en el sistema lagunar y de la acción de los cambios globales, evidenciados en variaciones en la estructura funcional en las dos épocas del muestreo. Así en los últimos años se ha utilizado en ecología microbiana el análisis funcional como indicador de la diversidad y estructura de las comunidades microbianas, a través del uso de diferentes fuentes de carbono estableciendo así el perfil metabólico de los microorganismos y su comportamiento (Garland y

Mills, 1991; Zak *y col.*, 1994; Grayston y Campbell, 1996; Malaver y Ramos, 1997; Griffiths *y col.*, 1997; García *y col.*, 2004; Hernández *y col.*, 2006; Zamora *y col.*, 2012a; Fraç *y col.*, 2012). En tal sentido, el trabajo puede servir como una guía para futuras investigaciones dirigidas al estudio del sistema lagunar, que además del uso de bacterias indicadoras de contaminación, se incorpore la caracterización bioquímica y microbiológica, permitiendo una mejor comprensión de los procesos que tienen lugar en ambientes acuáticos, y un enfoque más adecuado para su gestión.

CONCLUSIONES

La calidad del agua de la laguna de Tacarigua varía espacial y temporalmente, reportándose valores de CT y CF superiores a los límites permisibles en la legislación venezolana, que constituyen un riesgo potencial para la salud. La dinámica natural de la laguna está influenciada por el ambiente físico, además de otros factores que afectan las condiciones hidrodinámicas del ecosistema. La variación climática estacional lluvia y sequía, refleja que existe una influencia en el comportamiento hidrobiológico y ecológico del sistema lagunar.

Se evidencian variaciones en la estructura funcional de la comunidad bacteriana heterotrófica, que permiten inferir la capacidad de resiliencia del ecosistema.

En el ecosistema lagunar se establece un mosaico de microambientes con características particulares, condicionado por la variación climática e intervención antrópica, que le confieren heterogeneidad espacial y temporal.

Este estudio confirma las variaciones espacio-temporales de los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos que se reflejan en la calidad del agua a través del uso de bacterias bioindicadoras, y además, hace énfasis en el uso del análisis funcional de comunidades bacterianas heterotróficas en el agua, como herramienta para estudiar el potencial bioquímico que poseen dichas comunidades, asociado a la degradación de materia orgánica y aspectos ecológicos vinculados a la capacidad de resiliencia que posee este ecosistema lagunar.

LITERATURA CITADA

- Alcama, I. 2003. *Microbes and Society. An introduction to Microbiology*. Jones and Bartlett. Boston. MA, EEUU, 443 pp.
- Alkorta, I., A. Aizpurua, P. Riga, I. Albizu, I. Amezcua y C. Garbisu. 2003. Soil enzyme activities as biological indicators of soil health. *Review Environmental Health* 18:65-73.

- ANZECC (Australian and New Zealand Environment Conservation Council). 2000. "An introduction to the Australian and New Zealand guidelines for fresh and marine water quality". Paper N° 4. Vol 1 Capitulo 1-7 National Water Quality Management Strategy, Camberra, Australia.
- Ikorta, I., A. Aizpurua, P. Riga, I. Albizu, I. Amezaga y C. Garbisu. 2003. Soil enzyme activities as biological indicators of soil health. *Review Environmental Health* 18:65-73.
- APHA. 1998. AWWA, WPCF: Standard Methods for Examination of Water and Wastewater. 1998. 20ª ed. Washington DC. EEUU.
- Arana, I., J.L. Justo, A. Muela, M. Pocino, J. Iriberrí e I. Barcina. 1997. Influence of a survival process in a freshwater system upon plasmid transfer between *Escherichia coli* strains. *Microbial Ecology* 31:41-49
- Arcos, M., S. Ávila, S. Estupiñán y A. Gómez. 2005. Indicadores microbiológicos de contaminación de las fuentes de agua. División de investigaciones - Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Mayor de Cundinamarca. Nova - Publicación Científica issn: 1794-2470. Vol.3, Nro. 4. Cundinamarca, Colombia. Pp: 1-116.
- Atlas, R y R. Bartha. 1998. Microbial Ecology: Fundamentals and Applications. Benjamin Cummings. New York, NY. EEUU. 318 pp.
- Atlas, R y R. Bartha. 2002. Ecología Microbiana y Microbiología Ambiental. Addison Wesley. 4ª edición. 677 pp.
- Beardley, C., J. Penthaler, W. Wosiniok y R. Amann. 2003. Are readily culturable bacteria in coastal North Sea waters suppressed by selective grazing mortality? *Applied and Environmental Microbiology* 69:2624-2630.
- Brock T., M. Madigan, J. Matinko y J. Parker. 1994. Biology of Microorganisms. New Jersey: Prentice Hall XVII, 909 pp.
- Cabrera O. y L. Fernández. 2008 Transporte y sedimentación en el delta de San Ignacio, Laguna de Tacarigua, Estado Miranda, Venezuela. *Terra XXIV(35):141-166*.
- Calzadilla A. 2002-2003. Monitoreo de una formación deltaica reciente en un humedal costero tropical utilizando imágenes aerospaciales y SIG. Caso delta del Río Guapo, Laguna de Tacarigua, Tacarigua, Venezuela. *Terra Nueva Etapa*, año/vol. VXIII- XIX N° 27-28 pp: 53-83.
- Calzadilla, A. 1995. Diagnóstico y evaluación del medio físico natural de la cuenca del río Guapo con fines de conservación y aprovechamiento del recurso pesquero en la Laguna de Tacarigua. Edo. Miranda. Trabajo Especial de Grado. Licenciatura en Geografía. Facultad de Humanidades y Educación. U.C.V. Caracas.
- Campbell, R. 1987. Ecología microbiana. Limusa, México, 298 pp.
- Capó, M. 2002. Principios de Ecotoxicología. McGraw Hill. Madrid, España, 314 pp.
- Charcartegui, J. y P. Balady. 1978. Consideraciones preliminares sobre la sedimentación en la Laguna de Tacarigua, Estado Miranda. *Boletín de la Asociación Venezolana de Geología, Minería y Petróleo (AUGMP)*, pp. 96.
- Colwell, R. 1997. Microbial diversity: the importance of exploration and conservation. *Journal of Industrial Microbiology y Biotechnology* 18: 302-307.
- Conde, J.E. 1996. A profile of Laguna de Tacarigua, Venezuela: A tropical estuarine coastal lagoon. *Interciencia* 21:282-292.
- Contreras, E.F. 2002. Los humedales costeros mexicanos. Capitulo 4. En: F. J. Abarca y M. Herzig (eds.). Manual para el manejo y la conservación de los humedales de México. Tercera Edición. Publicación especial bajo colaboración de la Dirección General de Vida Silvestre-SEMARNAT, Arizona Game and Fish Department, North American Wetland Conservation Act, U.S.

- Fish and Wildlife Service, Convención Ramsar, U.S. State Department, Ducks Unlimited of Mexico-A.C., Pronatura Noreste, Canadian Wildlife Service y Society of Wetlands Scientists. Phoenix, Arizona, EE.UU.
- Córdova, K., L. Delgado, S. Ramos e I. Briceño. 2011. Anomalías en la temperatura superficial de cuerpos lacustres de aguas someras: caso Parque Nacional Laguna de Tacarigua. Congreso Venezolano de Geociencias, Memorias Digitales, [en línea], de <http://www.congresovenezolanodegeociencias.com>
- Day, J. C. Hall; A. Hall y A. Yañez-Arencibia. 1987. Estuarine Ecology. Printed in the United States of American. Pp 47-261.
- Depledge, M.; A. Agaard y P. Gyorkos. 1995. Assessment of trace metal toxicity using molecular, physiological and behavioral biomarkers. *Mar. Pollut. Bull.* 21:19-27.
- Fenchel, T.; M. King y H. Blackburn. 1998. Bacterial Biogeochemistry: The ecophysiology of mineral cycling. 2nd ed. Academic Press. London, 307 pp.
- Fernandez, M. 2010. Viabilidad y Supervivencia de *Vibrio cholerae* en ambientes marinos del Golfete de Cuare, Estado Falcón. Tesis Doctoral. Universidad Simón Bolívar. 198 pp.
- Frac, M.; K. Oszust y J. Lipiec. 2012. Community Level Physiological Profiles (CLPP), Characterization and Microbial Activity of Soil Amended with Dairy Sewage Sludge. *Sensors* 12(3):3253-3268.
- Gaceta Oficial, 1996. Normas para la Clasificación y el Control de la Calidad de los Cuerpos de Agua y Vertidos o Efluentes Líquidos. Decreto 883. Gaceta Oficial de la República de Venezuela N° 890. 50-62 pp.
- Gamboa, B.; J. Benítez y T. Okuda. 1971. Estudio de las condiciones hidrográficas y químicas de la Laguna de Tacarigua. Boletín del Instituto de Oceanografía. Universidad de Oriente. 10 (2): 55-72.
- García, A., A. Croquer y N. Malaver. 2004. Algunas características funcionales de las comunidades bacterianas del mucus asociado a tejidos sanos y con Síndrome de Banda Amarilla. *Interciencia* 29(1):39-45.
- Garland, J. y A. Mills. 1991. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of pattern of community-level sole-carbon-source utilization. *Applied Environmental Microbiology* 57:2351-2359.
- Gitay, H. y I.R. Noble. 1997. What are functional types and how should we seek them? En: Plant functional types. Their relevance to ecosystem properties and global change. (T.M. Smith, H.H. Shugart y F. Woodward. Eds.). England, Cambridge Univ. Press 1:3-19.
- Godshalk, G. y R. Wetzel. 1978 a,b,c. Decomposition of aquatic angiosperms. 1. Dissolved components. 2. Particulate components, 3. *Zostera marina* L. and a conceptual model of decomposition. *Aquat. Bot.* 5: 281-300; 301- 327; 329-354.
- Grayston, S. y C. Campbell. 1996. Functional biodiversity of microbial communities in the rhizospheres of hybrid larch (*Larix europletis*) and Sitka Spruce (*Picea sitchensis*). *Tree Physiology* 16:1031-1038.
- Griffiths, B.; K. Ritz y R. Wheatley. 1997. Relationship between Functional Diversity and Genetic Diversity in Complex Microbial Communities. En: Microbial Communities. Functional vs. Structural Approach (H. Insam y A. Røngger. Eds). USA, Springer. 1:1-9.
- Hammer, O; Harper, D.A.T., Ryan, P.D. 2001. PAST: Paleontological Statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* 4(1):9 pp.
- Hernández, C.L., J. Ramos y D. López-Hernández. 2006. Características de la comunidad microbiana y evaluación de algunos parámetros bioquímicos en

- dos sistemas de producción contrastantes en el estado Amazonas, Venezuela. *Agrobiológica* 3(5):15-21.
- Hooper, D.; M. Solan; A. Symstad; S. Díaz; M. Gessner; N. Buchmann; V. Degrange, P. Grime; F. Hulot; F. Mermillod-Blondin; J. Roy; E. Spehn y L. van Peer. 2002. *Species diversity, functional diversity and ecosystem functioning*. En: Biodiversity and Ecosystem Functioning. Synthesis and Perspectives. (M. Loreau, S. Naeem y P. Inchausti, Eds). Oxford University Press. Cap. 17:195-281.
- Isava, F. 1996. Caracterización de la comunidad bacteriana asociada a la interface agua-sedimento, niveles de sedimentos y su importancia ecológica en la Laguna de Tacarigua, Estado Miranda. Trabajo Especial de Grado. Escuela de Biología, Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela. 150 pp.
- Malaver, N. y J. Ramos. 1997. Participación de los microorganismos perifíticos asociados a la raíz de la bora (*Eichhornia crassipes*) en la remoción de fenol. *Acta Biologica Venezuelica* 17(4):35-46.
- Malaver, N., Rodríguez, M y Montero, R. 2012. Escenarios potenciales de afectación del cambio climático sobre el componente biótico y abiótico del ecosistema lagunar PNLT. Estrategias que contribuyan al desarrollo sostenible del sistema lagunar, en beneficio de la comunidad de Tacarigua de la Laguna". Informe Técnico del proyecto PNUD: VEN/SGP/OP4/Y3/RAF/15. Anexo Calidad del agua.
- Marcinek, H.; R. Wirt; A. Mushcoll-Silberhorn y M. Gauer. 1998. Enterococcus fecalis gene tranfer under natural conditions in municipal sewage water treatment plant. *Applied Environmental Microbiology* 64(2):626-632.
- Ministerio del Ambiente y los Recursos Naturales Renovables-MARNR (1992). Áreas Naturales Protegidas de Venezuela. Serie Aspectos Conceptuales y Metodológicos. DGSP/OA/ACM/01, MARNR, Caracas, Venezuela.
- Miravet, M. 2003. Abundancia, actividad y diversidad de las bacterias heterótrofas en el Golfo de Batabanó y su uso como indicadores ambientales. Habana Cuba. Pp. 190. Disponible en: http://www.oceandocs.net/bitstream/1834/3398/1/MIRAVET%20ME_TESIS%20DOCTORADOconISBN.pdf. Consultada Junio 2011.
- Namihira-Santillan, P.E., G. Barrera-Escorcia y A.Z, Marquez-Garcia. 2002. Contaminación por bacterias fecales en el lago. Huayamilpas- Mexico-D.F. *Hidrobiológica* 12 (2):129-136.
- Navas, C. 2006. Caracterización y aspectos ecológicos de *Vibrio* sp. asociados a *Litopenaeus schmitti* (Decapoda, Penaeidae) en tres zonas con distintos niveles de perturbación antropogénica en la laguna de Tacarigua, Edo. Miranda. Trabajo especial de grado. Escuela de Biología. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela, 85pp.
- Okuda, T. y J. Benítez-Álvarez. 1985. Evaluación comparativa de las condiciones hidroquímicas en el sistema lagunar Tacarigua-Unare-Piritu, Venezuela. *Bol. Inst. Oceanogr.* 24:199-211.
- Olivo, B. 2002. Identificación de Impactos Socioeconómicos en el Parque Nacional Laguna de Tacarigua y áreas adyacentes. Informe Final. INPARQUES. Caracas. Pp: 2-19.
- Prescott, L., J. Harley y D. Klein. 2004. "Microbiología". McGraw-Hill Interamericana, Madrid. 5ª edición. Cap.29, 682 pp.
- Ramos, J. 1996. Modelos matemáticos y estadísticos y la biodegradación de crudos. Memorias del V Seminario Guayanés sobre Conservación del Ambiente. Puerto Ordaz, Estado Bolívar, Venezuela. 25 pp.
- Reid, D. y B. Wood. 1976. Ecology of inland waters ans estuaries. Segunda edición. Litton educational Publishing INC. New York. USA. 196 pp.

- Salas, H. 2000. Historia y Aplicación de Normas Microbiológicas de Calidad de Agua en el medio marino. Hojas de divulgación técnica del CEPIS N° 29-1985.
- Senior, W. 1994. Hidroquímica de la laguna de Tacarigua. En: Estudio del sistema lagunar Tacarigua-Unare-Piritu. Informe técnico (Proyecto PC-074). Ediciones William Senior. Instituto Oceanográfico de Venezuela. Universidad de Oriente- Instituto de Zoología Tropical, Universidad Central de Venezuela- CONICIT. PP: 57-90
- Sherr, E. y B. Sherr. 2000. Marine microbes an overview. En: microbial Ecology of the oceans. Wiley-Liss, London. Pp: 13- 46.
- Tamerius, J. D., E.K. Wise, C.K. Uejio, A.L. McCoy y A.C. Comrie. 2007. Climate and human health: synthesizing environmental complexity and uncertainty. Stochastic Environmental Research and Risk Assessment 21, 601-613 The Desing and Implementation of Freshwater Quality Studies and Monitoring Programmes. E&FN Spon, London.
- Thatoi, H., B. Chandra Behera, R. Ranjan Mishra, y S. Kumar Dutta, 2012. Biodiversity and biotechnological potential of microorganisms from mangrove ecosystems: a review. *Ann. Microbiol.* DOI 10.1007/s13213-012-0442-7.
- Thompson J., M. Randa. L. Marcelino, A. Tomita-Mitchell., E. Lim y M. Polz. 2004. Diversity and dynamics of a north Atlantic coastal Vibrio community. *Applied and Environmental Microbiology* 70:4103-4110.
- U.S. Environmental Protection Agency (U.S. EPA). 1984. *The development of data quality objectives. Prepared by the EPA quality assurance management staff and the DQO workgroup.* U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C.
- Zak, J.; Willing, M., D. Moorhead y H. Wildman. 1994. Functional diversity of microbial communities: A quantitative approach. *Soil Biology and Biochemistry* 26:1101-1108.
- Zamora, A., N. Malaver y J. Ramos. 2012. Análisis funcional de microorganismos: un estimador de diversidad y estructura comunitaria. *Acta Biologica Venezuelica* 32(1):57-86.