Revista de la Universidad del Zulia



Fundada en 1947 por el Dr. Jesús Enrique Lossada

> Ciencias Exactas Naturales y de Salud

Año 4 Nº 9

Mayo - Agosto 2013 Tercera Época Maracaibo - Venezuela REVISTA DE LA UNIVERSIDAD DEL ZULIA 3ª época Ciencias Exactas, Naturales y de la Salud /// Año 4 № 9, Mayo-Agosto 2013, 11 - 33 ISSN 0041-8811 ~ Depósito legal pp 76-654

Caracterización microbiológica del suelo, agua y aire en el humedal Quebrada de Guaranao, Paraguaná, estado Falcón

Yarubit Rojas* Milagros Jordán* Francisco Yegres** José Araujo*

Resumen

Esta investigación consistió en la caracterización de los microorganismos presentes en el humedal Quebrada de Guaranao bajo el enfoque de la Microbiología Ambiental. Se aplicó 3 muestreos en 4 estaciones representativas en los componentes agua, suelo y aire, para aislar y caracterizar hongos y bacterias determinando la diversidad funcional. Se evaluaron microalgas en el agua y parámetros de pH, oxígeno disuelto (OD), temperatura (°C) y coliformes. Los diplococos Gram negativos fueron el grupo más representativo en el componente agua y aire, seguido de los cocos Gram negativos en el suelo. En todos los componentes la principal especie fúngica fue *Aspergillus flavus* seguido de *A. niger*. La diversidad funcional fue de 0,72 en aire, 0,76 del

* Unidad de Microbiología Ambiental UNEFM, **Laboratorio LIADSA / CIB, Universidad Nacional Experimental Francisco de Miranda, Coro, estado Falcón. yarupichu@gmail.com

RECIBIDO: 05-04-2013 /// ACEPTADO: 02-05-2013

suelo y 0,90 en agua. En el agua las clorofitas se identificaron como grupo mayoritario, el rango de pH fue 5.8 - 6.0, oxígeno 5-18 mg/L, temperatura promedio 33° C, y los coliformes NMP/100 ml $\leq 2.2 - \geq 16$.

PALABRAS CLAVE: Aspergillus, clorofita, diplococos, diversidad funcional, microbiología ambiental.

Microbiological Characterization of Soil, Water and Air in the Wetland Guaranoa Ravine, Paraguana, State of Falcon

ABSTRACT

This research involved the characterization of microorganisms in the wetland Guaranao Ravine using the environmental microbiology approach. Three (3) samplings were taken at four representative stations for the components water, soil and air, in order to isolate and characterize fungi and bacteria and determine functional diversity. Microalgae and pH, dissolved oxygen (DO), temperature (°C) and coliforms were evaluated in the water. Gram negative diplococci were the most representative group in the water and air components, followed by Gram negative cocci in the soil. In all components, the main fungal species was *Aspergillus flavus*, followed by *A. niger*. Functional diversity was 0.72 in air, 0.76 in soil and 0.90 in groundwater. In water, chlorophytes were identified as the majority group; the range was 5.8 to 6.0 pH, oxygen 5 - 18 mg/L, average temperature 33 °C, and coliforms NMP/100 ml ≤ 2.2-≥ 16.

KEYWORDS: Aspergillus, chlorophyta, diplococci, environmental microbiology, functional diversity.

Introducción

La microbiología ambiental es usada como una herramienta para el diagnóstico de diversos espacios que son impactados por el hombre, de este modo los microorganismos son usados como indicadores del estado del ambiente. La Quebrada de Guaranao es un humedal costero localiza-

do en la Península de Paraguaná, municipio Carirubana del estado Falcón, en el cual se haya presente el ecosistema de manglar, este cumple funciones tanto de carácter geomorfológico y ecológico, al proporcionarle refugio a variedades de especies de animales como peces y aves. De igual manera, constituye una zona de apareamiento cría y alimentación para gran número de peces e invertebrados marinos (MARN, 1983; López, 2007).

En 1991 fue nombrada a través del Decreto Nacional 1.848 Parque Metropolitano Guaranao (INPARQUES, 1990). Su principal atractivo radica en el hecho de ser el único curso natural permanente de agua dulce que queda en Paraguaná y centro conservador de plantas y animales; esto constituye a este humedal un espacio de interés para ser estudiado y propuesto como Sitio RAMSAR (Secretaría de la Convención de Ramsar, 2010). La contaminación de sistemas acuáticos naturales por el vertido de aguas residuales domésticas y urbanas, representa una de las principales causas de pérdida de calidad ambiental de los ríos, estuarios y las aguas costeras en general. La gestión correcta de éste y otros problemas sólo puede abordarse tras el conocimiento de la identidad e importancia de las fuentes contaminantes descargadas en el sistema receptor.

Las aguas residuales domésticas pueden contener gran diversidad de agentes contaminantes de naturaleza química, capaces de provocar cambios importantes en los ecosistemas locales, así como numerosos microorganismos patógenos, los cuales representan un problema de salud pública, es por esta razón que se hace necesario evaluar la calidad de las aguas y su grado de contaminación por materia fecal lo cual representa importancia desde el punto de vista ecológico, sanitario y estético (González et al., 2009). Los microorganismos son importantes indicadores de la calidad del suelo debido a que cumplen funciones vitales en el reciclado de nutrientes, supresión de patógenos, transformación de residuos, degradación de contaminantes, entre otras. Además la composición sobre la estructura de las comunidades y su función bacteriana es importante para establecer un índice del estado de los ecosistemas y caracterizar la actividad fisiológica alta y rápida respuesta a los cambios ambientales (Nielsen, 2002).

Para esto las bacterias heterotróficas pueden ser usadas debido a que son sensibles ante cambios y fluctuaciones de los factores abióticos del sistema y a los efectos antrópicos sobre el ambiente (De Giorgio *et al.*, 1998; Bobkova, 2002; Kudryavtsez *et al.*, 2002). De igual manera la diversidad

de las comunidades microbiológicas generalmente disminuye en respuesta a perturbaciones o estrés ambiental y el número de poblaciones sobrevivientes poseen propiedades específicas que le permiten persistir dentro de las comunidades perturbadas dando información sobre el estado ambiental (Atlas y Bartha, 2002). En Venezuela, los estudios sobre estructura de comunidades bacterianas y diversidad funcional son pocos, y estos se han desarrollado en el estudio de sucesiones microbianas durante los procesos de descomposición de materia vegetal y de estructura funcional en el agua del corredor ribereño del bajo río Orinoco (Bastardo, 1988, 1993, 1999, 2007; Danovaro et al., 1998). Sin embargo estos estudios no incluyen a los hongos, es por ello que bajo el enfoque que propone la microbiología ambiental se estableció como objetivo de esta investigación, evaluar la calidad microbiológica ambiental de la Quebrada de Guaranao en sus componentes agua, aire y suelo, mediante la caracterización de las bacterias, hongos y microalgas.

1. Metodología

1.1. Área de estudio

La zona de estudio correspondió al humedal Quebrada de Guaranao en su curso bajo, esta área está definida por una poligonal cerrada que abarca una superficie mayor a 140 ha que se distribuye desde la intercomunal Alí Primera (Punto Fijo), Los Taques hasta la salida al mar en el puerto internacional, atravesando los sectores Blanquita de Pérez, Bloques de BTV, La Rosa, Los Caciques, Santa Irene, Josefa Camejo, Bolívar e Industrial atravesados por cuatro calles, donde se establecieron (4) estaciones de muestreo para abordar los espacios descritos en la poligonal. La ubicación de las estaciones se tomaron según los criterios de: accesibilidad, posible efecto de la actividad antrópica y la entrada y salida del cuerpo de agua. Las estaciones de muestreo fueron georeferenciadas utilizando un GPS marca Garmin © modelo Etrex (Figura 1).

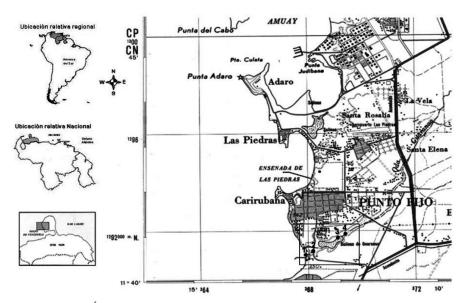


FIGURA 1. Área de Estudio. Quebrada de Guaranao, Punto Fijo, estado Falcón, Venezuela, indicando las estaciones de muestreo

1.2. Toma de muestra

La toma de muestra se realizó en tres periodos de tiempo durante 3 meses uno por mes, para ello se aplicaron muestreos en cada estación, por triplicado en los siguientes componentes. Aire: se realizó un muestreo aleatorio simple de un radio no mayor de 5 mts, aplicando el método de sedimentación pasiva, el cual consistió en exponer a las corrientes de aire placas de Petri que contenían medios de cultivos previamente preparados de Agar Nutritivo (AN) marca BP © y Papa Dextrosa Agar (PDA) marca BP ©, colocándolas a una altura de aproximadamente de 1.5 mts en un lapso de tiempo de 10 a 15 minutos (Kolwzan, 2006; Microkit, 1999). Suelo: En cada estación se realizó un muestreo aleatorio simple, tomando para cada réplica un área cuadrada de 3 mts, en la que se colectaron 200 gramos de suelo con una pala previamente esterilizada a una profundidad de 20 cm. Se distribuyeron en el área de la siguiente manera: cuatro muestras en las esquinas y una en el centro, mezclando las porciones en una bolsa plástica transparente de 1 L para la obtención de una muestra integrada por cada estación (Lorch et al., 1998). Se trasladaron al laboratorio para su respectivo análisis y procesamiento. Agua: las muestras de agua fueron colectadas de tres formas. La primera para la caracterización de bacterias y hongos en envases de vidrio transparente de 250 ml previamente esterilizados (Kerr, 1970; Eaton y Greenberg, 1995). La segunda para el estudio de las microalgas colectadas aproximadamente a un metro de la orilla en la parte superficial de la columna de agua en envases estériles y fijando la muestra con lugol al 0,9 % (Vicente et al., 2005). La tercera forma de colecta del agua, se realizó con envases de plástico ámbar de litro y medio previamente curado con agua superficial para los análisis físico-químicos. Todas las muestras colectadas fueron selladas, rotuladas, identificadas y refrigeradas para su conservación y posterior procesamiento (APHA, 1998).

1.3. Crecimiento de hongos y bacterias del componente aire, suelo y agua

Las muestras de los componentes agua y suelo se prepararon para su inoculación mientras que las obtenidas directamente del muestreo de aire fueron colocadas en condiciones de incubación para su crecimiento. Del suelo se pesó 10 gr y se diluyó en 100 ml de agua destilada con NaCL al 0.85%; del agua se tomaron alícuotas de las muestras colectadas en cada estación. De ambos tipos de muestra se inoculó 0.1 ml con espátula de Driglasky en placas con AN o PDA y finalmente todas las placas resultantes de los componentes fueron incubadas a 30-37 °C en tiempos de 3-5 días para hongos y de 1-2 días para bacterias (Lorch et al., 1998). Las bacterias y hongos fueron caracterizados por su macromorfología en placa de Petri y los aspectos micromorfológicos en bacterias fueron caracterizadas por su morfología y tinción diferencial de Gram (Sutton, 2011; Santabrosio, 2009). Para el estudio de los hongos se realizaron microcultivos en cámara húmeda evaluando los aspectos morfológicos de los cuerpos fructíferos distintivos de cada especie por microscopía fotónica (Riddell, 1950; Casas, 1994; Abarca, 2000).

1.4. Caracterización de microalgas mediante microscopía fotónica

Las muestras de agua destinadas para el análisis de microalgas se caracterizaron dentro de los grupos de Diatomeas, Clorofítas y Cianobacterias según el método propuesto por el Instituto Nacional de Ecología INE (1982). Estos grupos se evaluaron en un microscopio fotónico Marca Nikón-FDX aplicando el método de cámara de Neubauer (Vicente et al.,

2005). Los datos obtenidos de la caracterización de los microorganismos en los diversos componentes fueron organizados y colocados en tablas descriptivas. Para el análisis de los datos se utilizó el programa estadístico Infostat versión 2.0 año 2002. Aplicando la prueba de análisis de la varianza y el test de Duncan tomando en cuenta un valor de p,05 para evaluar la significancia de las variables de estudio.

1.5. Pruebas físico-químicas y coliformes del componente agua

A cada muestra obtenida de la estaciones de muestreo, se le determinó la temperatura en (°C); (pH) por el método electrométrico (4500-H); oxígeno disuelto (OD) aplicando el método de Winckler (APHA, 1998); coliformes totales (CT) y fecales (CF) empleando la técnica de tubos múltiples recomendada por APHA (1998). Los datos obtenidos fueron comparados y reportados según la norma Decreto 883, descrita por la Gaceta Oficial de la República de Venezuela Nº 5021 Extraordinario 18 de diciembre de 1995.

1.6. Establecimiento de la Diversidad Funcional de hongos bacterias y microalgas para los componentes suelo, agua y las especies fúngicas y bacterianas en el componente aire.

Se estudiaron las diversas cepas aisladas determinando la capacidad de degradación bioquímica. Las cepas aisladas como puras presentes en tubos mantenidas a 4°C en AN o PDA fueron reactivadas en cultivos en un lapso de hasta 48 horas. En cada cepa aislada se determinó: la capacidad de fermentar glucosa o lactosa; producción de sulfuro; prueba de indol; motilidad; H₂S; Voges-Proskauer según Mac Faddin (1993). A los datos obtenidos de las diversas pruebas bioquímicas se les aplicó un análisis multivariado (Cluster de datos) para la obtención de los grupos de hongos y bacterias con las mismas características funcionales. La media utilizada fue la distancia euclidiana media (Sneath y Sokal 1973). Las cepas cuya distancia fue cero, se consideraron integrantes del mismo grupo funcional (Vargas et al., 1992). Estos datos fueron usados para el cálculo de la frecuencia de aparición de los grupos funcionales (Fi), del índice de diversidad funcional (IDF) y el índice de importancia (Pi), propuesto por Ramos (1996) (Bastardo et al., 2007).

2. Resultados

Se visualiza en la tabla 1, la caracterización de las bacterias recuperadas del agua mostró 8 cepas que difieren en los caracteres macro y microscópicos, el análisis estadístico entre las cepas no mostró diferencias significativas. Sin embargo, este grupo muestra a los diplococos G (-) como el más representativo con una media de 0,75, seguido de los cocos G (-), con una media de 0,50.

Se presenta en la tabla 2, la evaluación de las cepas por las características macromorfológicas y micromorfológicas, en el suelo presentó 6 cepas de cocos en donde 2 cepas eran bacterias Gram (+) y 4 cepas eran bacterias Gram (-) se muestra que la principal macromorfología fue la N4. La evaluación de los datos mostró tres grupos con diferencias estadísticas, el grupo más representativo son los cocos Gram (-) con una media de 4,00 seguido de los diplococos Gram (-) con una media 1,50, el resto de las cepas se comportó similar estadísticamente, como un solo grupo con una media de 0,25.

TABLA 1. Caracterización macromorfológica en placa y morfotinción de Gram de bacterias recuperadas de los componentes agua de la Quebrada de Guaranao

| N | Сера | Micromorfología | Macromorfología | | | |
|---|-----------|---------------------------|-----------------|-----------|----------|-----------|
| | | | Borde | Elevación | Color | Forma |
| 1 | 3AGE1AN,A | Cocos Gram (-) | Ramificado | Plano | Blanco | Irregular |
| 2 | 3AGE1AN,B | Cocos Gram (-) | Entero | Plano | Amarillo | Circular |
| 3 | 3AGE2AN,A | Estafilococos Gram (+) | Entero | Plano | Blanco | Circular |
| 4 | 3AGE2AN,B | Coco bacilos Gram (+) | Entero | Plano | Amarillo | Circular |
| 5 | 3AGE2AN,C | Coco bacilos Gram (-) | Ramificado | Plano | Amarillo | Irregular |
| 6 | 4AGE1AN,A | Diplococos Gram (+) | Entero | Plano | Amarillo | Circular |
| 7 | 4AGE2AN,A | Cocos Gram (+) | Filamentoso | Plano | Beige | Rizoide |
| 8 | 4AGE134AN | Diplococos Gram (-) | Entero | Plano | Beige | Irregular |

Fuente: Elaboración propia (2013).

TABLA 2. Caracterización macromorfológica en placa y morfotinción de Gram de bacterias recuperadas de los componentes suelo de la Quebrada de Guaranao

| N | Сера | Micromorfología | Macromorfología | | | |
|---|---------------|------------------------|-----------------|-----------|----------|-----------|
| | | | Borde | Elevación | Color | Forma |
| 1 | 1SE1AN | Diplococos Gram (-) | Entero | Plano | Blanco | Irregular |
| 2 | 1SE2AN | Cocos Gram (+) | Entero | Plano | Blanco | Irregula |
| 3 | 1SE3AN | Estreptococo Gram (+) | Entero | Plano | Blanco | Irregular |
| 4 | 4SE1234 AN | Cocos Gram (-) | Entero | Plano | Beige | Irregular |
| 5 | 4SE2AAN | Diplococos Gram (-) | Entero | Plano | Amarillo | Circular |
| 6 | 4SE2AN | Diplococos Gram (-) | Lobulado | Plano | Amarillo | Granular |

Fuente: Elaboración propia (2013).

En la tabla 3 se presentan las cepas recuperadas del aire, las cuales mostraron 15 cepas bacterianas de las cuales 7 fueron bacterias Gram (+) y 8 fueron bacterias Gram (-), diferentes en sus características macroscópicas y microscópicas de las cuales, el análisis estadístico mostró que la principal cepa que fueron Diplococos Gram (-) con una media de 1,25 seguido de cocos Gram (+) con una media de 0,75 y el resto de las cepas fueron representadas con una media entre 0,50 y 0,25.

La caracterización de las cepas de hongos del agua, visualizada en la tabla 4, en base a la micromorfología y macromorfología señaló tres cepas de un mismo género. La media más alta fue *Aspergillus flavus* con 0,50 seguido de *A. niger* con una media de 0,25.

La tabla 5 se muestra que aunque no hay grupos significativos estadísticamente en las cepas de hongos evaluados del suelo; el grupo que presentó la media más alta fue *Aspergillus flavus* con una media de 0,50, seguido de un grupo de tres cepas con una media similar de 0,25 *Aspergillus niger, Gotrichum sp., y Rizophus sp.* respectivamente.

TABLA 3. Caracterización macromorfológica en placa y morfotinción de Gram de bacterias recuperadas de los componentes aire de la Quebrada de Guaranao

| N | Сера | Micromorfología | | Macromo | orfología | |
|----|---------------|--------------------------|------------|-----------|-----------|------------|
| | | | Borde | Elevación | Color | Forma |
| 1 | 2AiE2AN,A | Coco bacilos Gram(+) | Entero | Plano | Beige | Circular |
| 2 | 2AiE2AN, B | Bacilos Gram (+) | Entero | Plano | Amarillo | Irregular |
| 3 | 2AiE3AN, A | Cocos Gram (+) | Ramificado | Plano | Blanco | Irregular |
| 4 | 2AiE3AN, B | Diplococos Gram (-) | Entero | Plano | Blanco | Circular |
| 5 | 2AiE4AN, A | Cocos Gram (-) | Ramificado | Plano | Blanco | Irregular |
| 6 | 2AiE4AN, B | Bacilos Gram (+) | Entero | Plano | Blanco | Circular |
| 7 | 3AiE1AN, A | Coco bacilos Gram (-) | Entero | Plano | Blanco | Circular |
| 8 | 3AiE1AN, B | Diplococos Gram (-) | Entero | Plano | Amarillo | Circular |
| 9 | 3AiE1AN, C | Cocos Gram (+) | Entero | Plano | Blanco | Irregular |
| 10 | 3AiE2AN, A | Diplococos Gram (+) | Ramificado | Plano | Blanco | Irregular |
| 11 | 4AiE4AN, A | Diplococos Gram (-) | Entero | Plano | Amarillo | Circular |
| 12 | 4AiE4AN, B | Cocos Gram (+) | Lobulado | Plano | Naranja | Irregular |
| 13 | 4AiE4AN, C | Diplococos Gram (-) | Ramificado | Elevado | Gris | Algodonoso |
| 14 | 4AiE4AN, D | Cocos Gram (-) | Lobulado | Elevado | Marrón | Granulado |
| 15 | 4AiE4AN, E | Diplococos Gram (-) | Entero | Elevado | Negro | Circular |

Fuente: Elaboración propia (2013)

TABLA 4. Caracterización macromorfológica en placa e identificación por microcultivo de hongos recuperados de los componentes agua de la Quebrada de Guaranao.

| Ν | Cepa | Micromorfología _ | Micromorfología | | | |
|---|----------------|--------------------|-----------------|-----------|--------|-----------|
| | | | Borde | Elevación | Color | Forma |
| 1 | 3AGE1PD A,A | Aspergillus flavus | Entero | Plano | Negro | Irregular |
| 2 | 3AGE1PD A,B | Aspergillus flavus | Entero | Elevado | Blanco | Redondo |
| 3 | 3AGE2PD A,C | Aspergillus niger | Entero | Elevado | Verde | Irregular |

Fuente: Elaboración propia (2013).

TABLA 5. Caracterización macromorfológica en placa e identificación por microcultivo de hongos recuperados de los componentes suelo de la Quebrada de Guaranao.

| N | Сера | Micromorfología | Macromorfología | | | |
|---|-----------------|--------------------|-----------------|-----------|----------|------------|
| | | | Borde | Elevación | Color | Forma |
| 1 | 3SE1PD A,A | Rizophus sp. | Ramificado | Elevado | Blanco | Algodonoso |
| 2 | 3SE2PD A,A | Aspergillus niger | Ramificado | Elevado | Negro | Algodonoso |
| 3 | 2SE3PD A,A | Aspergillus flavus | Entero | Elevado | Verde | Redondo |
| 4 | 2SE3PD A,B,C | Geotrichum sp. | Lobulado | Elevado | Verde | Irregular |
| 5 | 2SE2AN, A | Aspergillus flavus | Entero | Plano | Amarillo | Irregular |

Fuente: Elaboración propia (2013).

TABLA 6. Caracterización macromorfológica en placa y microcultivo de hongos recuperados de los componentes aire de la Quebrada de Guaranao

| N | Сера | Micromorfología | | Macromor | fología | |
|---|----------------|--------------------|------------|-----------|---------|-----------|
| | | | Borde | Elevación | Color | Forma |
| 1 | 2AIE2PD A,A | Aspergillus flavus | Entero | Elevado | Blanco | Circular |
| 2 | 2AIE3PD A,A | Rizophus sp. | Entero | Elevado | Marrón | Irregular |
| 3 | 2AIE3PD A,B | Aspergillus sp. | Ramificado | Elevado | Blanco | Irregular |
| 4 | 2AIE3PD A,C | Aspergillus sp. | Ramificado | Elevado | Blanco | Irregular |
| 5 | 2AIE4PD A,A | Penicillum sp. | Ramificado | Elevado | Blanco | Irregular |
| 6 | 2AIE4PD A,B | Aspergillus niger | Entero | Plano | Negro | Irregular |
| 7 | 2AIE4PD A,C | Aspergillus niger | Entero | Elevado | Blanco | Irregular |
| 8 | 3AiE2PD A,A | Aspergillus niger | Entero | Elevado | Blanco | Redondo |
| 9 | 3AiE2PD A,B | Aspergillus flavus | Entero | Elevado | Negro | Redondo |

Fuente: Elaboración propia (2013).

Se presenta anteriormente la tabla 6, referida a la caracterización de hongos recuperados del aire, la cual mostró 9 cepas que difieren en los caracteres macro y microscópicos; el análisis estadístico, no mostró diferencias significativas entre las cepas estudiadas. Sin embargo, este grupo muestra al *Aspergillus niger* como el más representativo con una media de 0,75 seguido de *Aspergillus flavus* con una media de 0,50 seguido del resto de las cepas caracterizadas.

Ciencias Exactas, Naturales y de la Salud

La figura 2 muestra la distribución de los grupos de microalgas evaluadas por la cámara de Neubauer. El análisis estadístico señaló que los grupos de microalgas más representativos para todas las estaciones de muestreo fueron las clorofitas seguido de las cianobacterias y luego las diatomeas.

La diversidad funcional del aire (tabla 7) muestra 18 grupos funcionales de 25 cepas evaluadas, el grupo funcional que presentó mayor IDF fue el grupo funcional 8 con una Pi de 0,12 seguido de los grupos funcionales 5, 7, 10, 12, 17 con Pi de 0,08.

La diversidad funcional del suelo (tabla 8) muestra 10 grupos funcionales de 25 cepas evaluadas, el grupo funcional que presentó mayor índice de importancia funcional fue el grupo funcional 1,2,3 con una Pi de 0,15 seguido de los grupos funcionales 4,5,6,7,8,9,10 con Pi de 0,08.

La diversidad funcional del agua (tabla 9) muestra 10 grupos funcionales de 25 cepas evaluadas, el grupo funcional que presentó mayor índice de importancia funcional fue el grupo funcional 3 con una Pi de 0,182 seguido de los grupos funcionales 1-2,4-10 con Pi de 0,091.

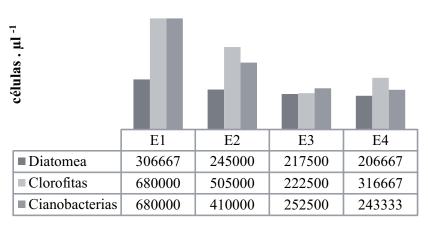


FIGURA 2. Promedio de distribución de microalgas de las muestras de agua, evaluadas por cámara de Neubauer provenientes de la Quebrada Guaranao Fuente: Elaboración propia (2013).

TABLA 7. Diversidad funcional de cepas de bacterias y hongos recuperadas del aire

| | S | I | M | V | H ₂ S | Glu | Lac | N Cepas | Pi |
|--------|----|----|----|----|------------------|-----|-----|------------|------|
| 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0,04 |
| 2 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0,04 |
| 3 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0,04 |
| 4 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0,04 |
| 5 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 2 | 0,08 |
| 6 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0,04 |
| 7 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 2 | 0,08 |
| 8 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 3 | 0,12 |
| 9 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0,04 |
| 10 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 2 | 0,08 |
| 11 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0,04 |
| 12 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 2 | 0,08 |
| 13 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0,04 |
| 14 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0,04 |
| 15 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0,04 |
| 16 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0,04 |
| 17 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 2 | 0,08 |
| 18 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0,04 |
| \sum | 5 | 14 | 14 | 11 | 3 | 16 | 8 | 25 | |
| % | 20 | 56 | 56 | 44 | 12 | 64 | 32 | 100 | |

Leyenda: S: sulfuro; I: Indol; M: motilidad; V: Voges-P, H2S, Glu: Glucosa, Lac: Lactosa; Pi: Índice de Importancia. Fuente: Elaboración propia (2013).

TABLA 8. Diversidad funcional de cepas aisladas del suelo

| | S | I | G | V | H ₂ S | Glu | Lac | N Cepa | Pi |
|--------|----|----|----|----|------------------|-----|-----|-----------|------|
| 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 2 | 0,15 |
| 2 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 2 | 0,15 |
| 3 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 2 | 0,15 |
| 4 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0,08 |
| 5 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0,08 |
| 6 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0,08 |
| 7 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0,08 |
| 8 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0,08 |
| 9 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0,08 |
| 10 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0,08 |
| \sum | 2 | 6 | 6 | 6 | 3 | 9 | 7 | 13 | 1 |
| % | 15 | 46 | 46 | 46 | 23 | 69 | 54 | 100 | |

Leyenda: S: sulfuro; I: Indol; M: motilidad; V: Voges-P, H2S, Glu: Glucosa, Lac: Lactosa; Pi: Índice de Importancia.

Fuente: Elaboración propia (2013).

TABLA 9. % Diversidad funcional de cepas aisladas del agua

| | S | I | M | V | H ₂ S | Glu | Lac | N Cepa | Pi |
|--------|----|----|----|----|------------------|-----|-----|-----------|-------|
| 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0,091 |
| 2 | 1 | 0 | 1 | O | 1 | 1 | 0 | 1 | 0,091 |
| 3 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | 0,182 |
| 4 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0,091 |
| 5 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0,091 |
| 6 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0,091 |
| 7 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0,091 |
| 8 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0,091 |
| 9 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0,091 |
| 10 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0,091 |
| \sum | 3 | 8 | 6 | 4 | 3 | 8 | 3 | 11 | 1 |
| % | 27 | 73 | 55 | 36 | 27 | 73 | 27 | 100 | |

Fuente: Elaboración propia (2013).

La tabla 10, señala el índice de diversidad funcional de los diferentes componentes estudiados, para el aire el índice de diversidad funcional (IDF) fue de 0,72, este valor representa el número de grupo funcional más importante dentro de los componentes estudiados. Asimismo el componente suelo muestra un índice de diversidad funcional (IDF) de gran interés con un valor de 0,76 seguido del (IDF) del agua el cual fue de 0,90.

Clasificación según el Decreto 883 Gaceta Oficial de la República de Venezuela N° 5021 Extraordinario 18 de diciembre de 1995, Coliformes totales (CT), Coliformes fecales (CF) Promedio aritmético de nivel de bacterias en agua (NMP/100 ml).

En la tabla 11 se muestran los diferentes parámetros fisicoquímicos evaluados en cada una de las estaciones de muestreo. El valor obtenido del pH que se midió en la estación 3, señala que fue de 6,0 el cual indica que está dentro de los límites establecidos para clasificarlo como un parámetro correspondiente a las aguas del tipo 1A y 1B. Sin embargo, las estaciones 1, 2, 4 mostraron valores muy cercanos al establecido por el decreto 883. En cuanto a la temperatura, los valores registrados a mediodía en cada una de las estaciones de muestreo fueron 32°C o 33°C, lo que señala que los valores fueron similares. El oxígeno disuelto en la estación 1, fue muy alto lo cual sobrepasó los límites establecidos por el decreto 883, mientras la estación 2 obtuvo un valor de 6 mg/L siendo éste el rango apropiado para señalarlo como apto para aguas de subtipo 4A y 4B. Por otra parte, las estaciones 3 y 4 no presentaron valores aceptables para ser clasificados por el decreto 883 ya que estuvieron fuera de los rangos establecidos. Con respecto a los coliformes totales y fecales los valores obtenidos de las estaciones 3 y 4 señalan que estos son los aceptados por los límites establecidos en el decreto 883 para aguas de tipo 1A Y 1B.

Tabla 10. Índices de grupos funcionales encontrados en los diversos componentes

| 18 GF / 25 CEPAS IDF 0,72 | AIRE |
|---------------------------|-------|
| 10 GF / 13 CEPAS IDF 0,76 | SUELO |
| 10 GF / 11 CEPAS IDF 0,90 | AGUA |

IDF número de grupos funcionales/ total de cepas / componente Fuente: Elaboración propia (2013).

| Parametros | E 1 | E2 | E 3 | E4 | Tipo1A-1B | Subtipo 4A-4B |
|----------------------------|------------|------------|--------------|--------------|-----------|---------------|
| Ph | 5,9 | 5,9 | 6,0 | 5,8 | 6,0-8,5 | S/L |
| Temperatura (°C) | 33 | 33 | 33 | 32 | S/L | S/L |
| Oxigeno disueltO (mg/L) | 18 | 6 | 5 | 7 | 4m g/L | 6 mg/L |
| Coliformes (CT) y (CF) | ≥16 | 16 | ≤ 2,2 | ≤ 2,2 | ≤ 2,2 | NMP/100 ml |
| Clasificación | 4B | 4 <u>a</u> | 1A | 1A | | |

TABLA 11. Resultados de las pruebas físico-químicas y coliformes

Fuente: Elaboración propia (2013).

3. Discusión de los resultados

La evaluación a través de las características micro y macromorfológicas muestran a los cocos como la morfología más frecuente en todos los componentes estudiados. Así mismo los diplococos Gram negativos fueron la agrupación morfotintorial más representativa con las medias más alta en los componentes agua 0.75 (tabla 1), suelo 4.00 (tabla 2) y aire 1.25 (tabla 3). Esta data muestra como bacterias formadas por dos cocos que se asocian en forma de parejas (Prescott et al., 2002) pueden ser viables en los diversos componentes estudiados, esto puede ser posible ya que algunos diplococos poseen capsula que le permite resistir a los diversos cambios ambientales. Se propone la posibilidad de su desplazamiento entre los componentes, del aeroplancton, neuston, edafon y el agua de la zona de estudio (Mosso, 2002; Atlas y Bartha, 2002). Sin embargo, entre los diversos géneros que se presentan como diplococos están Nesseria que pertenece al grupo filogenético beta con 24 especies y Moraxella del grupo filogenético Gamma con 8 especies, estas son comunes en animales y algunas son patógenas. Estos dos géneros no son resistentes a los cambios ambientales de temperatura y desecación lo que no los hacen viables durante mucho tiempo en los diversos componentes del ambiente.

En cuanto el género *Acinetobacter* del grupo filogenético Gamma, del cual se han descrito 7 especies puede formar cápsulas para la resistencia a cambios ambientales, de igual manera puede formar parte de la flora

normal de la piel del hombre y es común en el suelo, el agua y aguas residuales. Este género es capaz de alterar los alimentos y ocasionalmente produce enfermedades nosocomiales puesto que posee una transformación natural de alta eficacia (Madigan et al., 2006). Sin embargo, su presencia en suelo y el agua puede estar asociada al reciclamiento de los nutrientes.

La especie fúngica más representativa en los componentes de estudio fue *Aspergillus flavus* con una media de 0,50 para todos los componentes (tablas 4, 5, 6) seguido de *Aspergillus niger*, la cual fue también encontrada en todos los componentes en especial en el componente aire (tabla 6). Esto propone al género *Aspergillus* como un microorganismo con capacidad de estar presente en la arena (Izquierdo et al., 1986), el suelo, el agua y el aire debido a su versatilidad para degradar tanto compuestos simples como xenobióticos lo que le da un valor ambiental a este microorganismo como agente capaz de reciclar la materia orgánica a las diferentes cadenas tróficas (Hoog et al., 2000) y estar presentes en todos los componentes del ambiente. Puede considerarse a esta especie como una especie indicadora del aumento de la actividad antrópica en los espacios donde hay mayor cantidad de esta.

Los datos evaluados (figura 2) muestran al grupo de microalgas clorofitas como el grupo estadísticamente más alto, seguido de las cianobacterias y las diatomeas en todas las estaciones. Sin embargo las estaciones E1 y E2 presentan valores mayores para todos los grupos en comparación de las estaciones E3 y E4. La presencia marcada de clorofitas en mayor proporción con respecto a los demás grupos propone la posibilidad de que este cuerpo de agua en especial en las estaciones E1 y E2 tengan un alto contenido de nutrientes y esto se debe a que en estas estaciones se produce descarga de aguas servidas provenientes de los desarrollos habitacionales y comunidades que se encuentran alrededor de dicho tramo de la quebrada (Vicente et al., 2005; Morillo et al., 2010). La mayoría de los hongos y bacterias presentes en los ecosistemas del ambiente estudiado en la Quebrada de Guaranao son capaces de metabolizar diversos compuestos orgánicos de los componentes aire (tabla 7), suelo (tabla 8) y agua (tabla 9) cuyo origen puede ser natural o xenobiótico.

De los resultados obtenidos de las pruebas bioquímicas, en todos los componentes evaluados la glucosa presentó el porcentaje más elevado seguido del indol (tabla 7, 8, 9) la primera prueba corresponde a microorganismos heterotróficos y la segunda a la capacidad de descarboxilación oxidativa del indol asociado a la capacidad de romper moléculas cíclicas de los compuestos aromáticos xenobióticos. El componente con mayor Índice de Diversidad Funcional (IDF) fue el aire 0.72 (tabla 10) así mismo fue el componente donde fue posible recuperar mayor número de cepas (tabla 7), esto es debido a la gran actividad vehicular cercana a las estaciones de muestreo que genera una cantidad de polución al aire. De modo tal que lo enrarece, aumentando así el número de elementos dispersos en los aerosoles, que incluyen a compuestos orgánicos y xenobióticos lo cuales se convierten en nutrientes disponibles para hongos y bacterias presentes en el aeroplancton. De la misma manera el componente suelo presentó un IDF de 0,76 esto propone la posibilidad de que la microflora autóctona del suelo es capaz degradar biomoléculas que permiten mantener el flujo de nutrientes en los ecosistemas (Díaz-Borrego, 2007). El componente agua mostró un IDF de 0,90 estos resultados son consistentes con los obtenidos por un estudio similar realizado por Bastardo (2007). La variación de la diversidad funcional bacteriana en el agua de la Quebrada de Guaranao determinada en este estudio, es comparable con la reportada para un ecosistema costero de Venezuela, donde este índice varió entre 0,90 y 0,72 (Linares, 1996).

La diversidad de las comunidades microbiológicas generalmente disminuye en respuesta a perturbaciones o estrés ambiental, mientras que el número de poblaciones sobrevivientes poseen propiedades específicas que le permiten persistir dentro de las comunidades perturbadas (Atlas y Bartha, 2002). Los resultados obtenidos de las pruebas físico-químicas y coliformes totales (CT) y fecales (CF) (tabla 11) muestran un decrecimiento de la calidad del agua desde las estaciones E4-E3 la cuales se clasifican como de tipo 1A, y las estaciones E2 como 4A, y E1 como 4B. Los microorganismos presentes en los diversos componentes (aire, suelo y agua) pueden tanto generar nichos específicos o intra específicos para el uso y transformación de la materia y la energía asociados a los diversos ciclos biogeoquímicos (Riemann 1983; Mudryk y Donderski 1997; Schelesinger, 2000). Sin embargo, estos flujos pueden ser alterados por el efecto que genera la actividad antrópica. De este modo las comunidades microbianas de bacterias y hongos pueden verse aumentadas cuando nutrientes y las condiciones ambientales son propicias para su aumento, en especial si poseen capacidades de cambiar su metabolismo constitutivo por uno inductivo para degradar compuestos orgánicos xenobióticos con diversos grados de recalcitrancia en los componentes o en sus interfaces.

Conclusiones

Los resultados demuestran que el humedal Quebrada de Guaranao en su tramo más cercano al estuario posee una mayor cantidad de nutrientes y contaminación antrópica que es aprovechada por la biota de la zona. La mayor diversidad funcional encontrada fue el componente aire, la cual puede ser producto de la actividad vehicular cercana a la zona de estudio.

Referencias

- Abarca, L. (2000). Taxonomía e identificación de especies implicadas en la Aspergilosis nosocomial, *Rev Iberiam Micol* (17). S79-S84.
- APHA, American Public Health Association. (1998). Standar Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th ed. American Public Health Association, Washington D.C.
- Atlas, M., Bartha, R. (2002). *Ecología Microbiana y Microbiología Ambiental*, 4 ed. Pearson, Madrid.
- Bastardo, A., Bastardo, H., Rosales, J. (2007). Diversidad Funcional de las Bacterias Heterótrofas del Bajo Río Orinoco, Venezuela, *Ecotropicos*. 20 (1). 15-23.
- Bastardo, H. (1988). Estudio preliminar del proceso de descomposición en el bosque de manglar de la Laguna de Tacarigua. *Acta Científica Venezolana*. (39). 184-185.
- Bastardo, H. (1993). Decomposition proccess in Aviceniagerminans, Rhizophora mangle and Lagunculariaracemosa under oil spill. Acta Biológica Venezuela. 14 (2). 53-60.
- Bastardo, H. (1999). El proceso de descomposición y su importancia ambiental. Trabajo de ascenso a Titular en el escalafón Universitario de la Ilustre Universidad Central de Venezuela.
- Beveridge, T., Graham, L. (1991). Capas de la superficie de las bacterias. *Microbiol Rev.* 55 (4). 684-705.
- Bobkova, A. (2002). The matter in sedimentation traps as a biological system. *Hydrobiological Journal*. 38 (1). 97-104.

Ciencias Exactas, Naturales y de la Salud

- Casas, R. (1994). Micología General. 2 ed. Ediciones de la Biblioteca de la Universidad Central de Venezuela. 24: 430-439, Caracas, Venezuela.
- Danovaro, R., Della Croce, N., Fabiano, M. (1998). Biochemical composition of particulate organic matter and bacterial dynamics at the sediments-water interface in a Mediterranean seagrass system. *Hydrobiologia* (363). 241-251.
- De Giorgio, P., Cole, J. (1998). Bacterial growth efficiency in natural aquatic systems. *Annual Review Ecological Systematic* (29). 503-541.
- Díaz Borrego, L., Dupontt, J., Cantini, L., Soto, L.M. (2007). Diversidad funcional de bacterias presentes en un suelo cultivado con guayaba (*Psidium guajava L.*). *Ciencia*. 15(4).
- Eaton, A., Greenberg, A. (1995). Standard Methods for the examination of Water and Wastewater, 19th ed. American Public Health Association, Washington D.C.
- Gaceta oficial de la República de Venezuela (1995) No. 5021, Extraordinario, 18 de Diciembre de 1995. Decreto 883 del 11-10-95. Normas para la clasificación y el control de la Calidad de los cuerpos de agua y vertidos o efluentes líquidos de las descargas a medios costeros, Caracas, Venezuela.
- González, M., Crucita, L., Bettina, H., Vásquez, A. (2009). Calidad Microbiológica de la ostra *Crassostrea rhizophorae* y aguas de extracción, Estado Sucre, Venezuela. *Rev Cient*. (19). 6.
- Hoog GS, Guarro J, Gené J, Figueras MJ. (2000). Atlas of Clinical Fungi. 2 ed. Utrech-Reus, Centralbureau voor Schilmmelcultures-Universitat Rovira y Virgili, 973-976.
- INE. Instituto Nacional de Ecología (1982). Manual de técnicas de Muestreo y Análisis de plancton y Perifiton, 3 ed. N° 228.
- INPARQUES. Instituto Nacional de Parques, Consultores Técnicos Integrales (CTL) (1990). Diagnostico Preliminar de la Quebrada Guaranao para delimitar la Poligonal de Afectación Futuro Parque Metropolitano Punto Fijo-Edo Falcón, Caracas.
- Izquierdo, J., Piera, G., Aledany, MC., Lucena, F. (1986). Estudio de la flora fúngica de la arena de la playa de Barcelona. MED POL Research Project Final Report.
- Kerr, T. (1970). Applications in General Microbiology. A Laboratory Manual. Hunter Publishing Company.
- Kolwzan, B., y Waldemar, A., Kazimierz, G., Adam, A. (2006). Introdution to Envronmental Microbiology, 1^{ra} ed. Wydawnicza Politechniki Wroclawskiej, Wroclaw.

- Kudryavtsez, V., Tsuban, A. (2002). Number, biomass, and production of bacterioplankton in the open part of the Baltic Sea. *Hydrobioological Journal*. 38 (1). 134-139.
- Linares, A. (1996). Distribución espacial y temporal de las bacterias acuáticas y su implicación sanitaria en la calidad del agua de la Laguna de Tacarigua. T.E.G. Escuela de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela.
- López, Y., Piñero, M. (2007). Investigación y acción participativa como herramienta epistémica en la integración escuela-comunidad para el rescate y conservación de la Laguna de Guaranao en el sector Bolívar. *Multiciencias* (7). 308-318.
- Lorch, J., Benckiser, G., Ottow, JCG. (1998). Basic methods for counting microorganisms in soil and water. In Methods in applied soil microbiology and biochemistry. (ed. K Alef, P Nannipieri) ed. Academic Press. London.
- Mac Faddin, J. (1993). Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Editorial Médica Panamericana S. A. México.
- Madigan, M., Martinko, J., Parker, J. (2006). *Biología de los Microorganismos Brock* 11^a ed. Prentice Hall.
- MARN, Ministerio de Ambiente y Recursos Naturales (1983). Informe del Saneamiento Ambiental del parque Metropolitano de la Laguna de Guaranao.
- Microkit, S. (1999). Proyecto Microkit para optimizar la sensibilidad de los parámetros del muestreo microbiológico del aire.
- Morillo, G., Jonte, L., Araujo, I., Angulo, N., Herrera, L., Morales, E. (2010). Efectos del nitrógeno y cloruros en la dinámica del fitoplancton del lago de Maracaibo, Venezuela. *Interciencia*. 35(8). 575-580.
- Mosso, M.A., Ullán, C., de la Rosa, M.C. (2002). El aire: hábitat y medio de transmisión de microorganismos. *Observatorio medioambiental*. (5). 375-402.
- Mudryk, Z., Donderski, W. (1997). The ocurrence of heterotrophic bacteria decomposing some macromolecular compounds in shallow estuarine lakes. *Hydrobiologia*. 342 (343). 71-78.
- Nielsen, NM., Winding, A., Binnerup, S., Hansen, BM., Kroer, N. (2002). Microorganisms as indicators of soil health. National Environmental Research Institute (NERI). *Technical report* No. 388.
- Prescott, LM., Herley, JP., Donald, AK. (2002). Microbiología 5^{ta}, Mac Graw Hill, Madrid.
- Santabrosio, E. Ortega, M., Garibaldi, P. (2009). tinción y observación de microorganismos. Universidad Tecnológica Nacional.
- Schhlesinger, W. (2000). Biogeoquímica un análisis del Cambio global, Ariel España.

Ciencias Exactas, Naturales y de la Salud

- Secretaría de la Convención de Ramsar (2010). Uso racional de los humedales: Conceptos y enfoques para el uso racional de los humedales. Manuales Ramsar para el uso racional de los humedales, 4ª ed., (1). Secretaría de la Convención de Ramsar, Gland Suiza.
- Sneath, P., Sokal, R. (1973). Numerical Taxonomy. The principles and practice of numerical classification. W.H. Freeman and Company.
- Sutton, S. (2011). Activities of the USP Microbiology and Sterility Assurance Expert Committee During the 2005-2010 Revision Cycle, *American Pharmaceutical Review*. 1(8). 12-30.
- 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.
- Riddell, Roland (1950). Permanent Stained Mycological Preparations Obtained by Slide Culture, *Mycologia*. 42 (2). 265-270.
- Riemann, B. (1983). Biomass and production of phytobacterioplankton in eutrophic Lake Tystrup, Denmark. *Freshwater Biology*. (13). 389-398.
- Vargas, B., Ramos, L., Manzanero, M. (1992). Estudios de las comunidades bacterianas de un sistema de lodos activados. *Ecotropicos*. 5 (2). 1-10.
- Vicente, E., Hoyos, C., Sánchez, P., Cambra, J. (2005). Metodología para el establecimiento el Estado Ecológico según la Directiva Marco del Agua, Protocolos de muestreo y análisis para fitoplancton, Ministerio del Ambiente, España.