AgEcon SEARCH
RESEARCH IN AGRICULTURAL & APPLIED ECONOMICS

The World's Largest Open Access Agricultural & Applied Economics Digital Library

This document is discoverable and free to researchers across the globe due to the work of AgEcon Search.

Help ensure our sustainability.

Give to AgEcon Search

AgEcon Search
http://ageconsearch.umn.edu
aesearch@umn.edu

*Papers downloaded from **AgEcon Search** may be used for non-commercial purposes and personal study only. No other use, including posting to another Internet site, is permitted without permission from the copyright owner (not AgEcon Search), or as allowed under the provisions of Fair Use, U.S. Copyright Act, Title 17 U.S.C.*

Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua

UNAN-León

Facultad de Ciencias y Tecnología

Departamento de Biología "Edgar Munguía Álvarez"

Evaluación de la concentración de proteína y metabolitos libres (glucosa y aminoácidos) en el río Estero Real y su relación con los parámetros físicos y químicos. Período Mayo-Octubre 2013.

Requisito previo para optar al título de

Licenciado en Biología

Autores:

Katherinne del Rosario Osorio Urtecho, Br.

Mariela del Socorro Prado Olivares, Br.

Tutor:

Ariel José Aguilar, Ph. D.

León de Nicaragua

Marzo, 2013

CERTIFICACIÓN

ARIEL JOSÉ AGUILAR, Profesor Titular en el Departamento de Biología, Facultad de Ciencia y Tecnología de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua- León, (UNAN-León).

CERTIFICA:

Que la presente memoria titulada "Evaluación de la concentración de proteína y metabolitos libres (glucosa y aminoácidos) en el río Estero Real y su relación con los parámetros físicos y químicos" presentada por las Bras. Katherinne del Rosario Osorio Urtecho y Mariela del Socorro Prado Olivares para optar al grado de Licenciada en Biología por la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua-León, ha sido realizada bajo mi dirección y que hallándose concluida autorizo su presentación para que pueda ser juzgada por el tribunal correspondiente.

Y para que así conste y surta los efectos oportunos, firmo el presente en León, a 13 de marzo de 2014.

Dr. Ariel José Aguilar

DEDICATORIA

Le dedico este trabajo investigativo a:

Mis padres Albin Osorio y Yadira Urtecho de Osorio por su apoyo incondicional y todo el sacrificio en pro de mi desarrollo profesional, espiritual y moral preparándome para el futuro.

A mis abuelos Carlos Osorio, Rosario Zapata, Reyna Condega y Hermógenes Urtecho por sus oraciones y todo su apoyo.

A mi hermanito Albin Osorio Urtecho esperando siga mis pasos.

¡A mis familiares y amigos!

Br. Katherinne del Rosario Osorio Urtecho

Le dedico este trabajo investigativo a:

Mis padres Leonardo Orlando Prado y Francisca Olivares Rodríguez por su apoyo incondicional, por su amor y todo el esfuerzo que me brindan día a día para prepararme para mi futuro profesional.

Mi hermana Tania Prado Olivares por brindarme su amistad y cariño para salir adelante.

Al señor Raymond Flores y a su esposa Magaly Sánchez Flores, a la señorita Martha Sánchez Saravia y a la señora Nidia Sánchez Prio por todas las muestras de cariño que me brindaron para poder superar todos los obstáculos y salir adelante.

¡A mis familiares y amigos!

Br. Mariela del Socorro Prado Olivares

FINANCIACIÓN

La presente Tesis de grado ha sido realizada en el Laboratorio de Fisiología Animal, Departamento de Biología, Facultad de Ciencia y Tecnología de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, bajo la dirección del Doctor Ariel José Aguilar. La investigación desarrollada en esta Tesis, ha sido subvencionada por el PRESANCA II-CSUCA a través del proyecto "Relación entre la regulación de la ingesta de alimento en Tilapias (*Oreochromis niloticus*) por factores metabólicos y neuroendocrinos y el estrés producido por factores ambientales" (código: C5) a cargo del Dr. Ariel José Aguilar.

El recorrido sobre las aguas del río Estero Real fue apoyado por los gerentes de granjas D. Bruno Amaru (Langostinos de Centroamérica) y D. Máximo Hernández (Grupo PESCANOVA).

AGRADECIMIENTOS

Primeramente damos gracias a Dios por darnos aliento de vida cada día y poder llegar a culminar esta etapa de nuestras vidas. Y por otra parte enumerar y agradecerle a todas aquellas personas que nos han ayudado a finalizar este trabajo sería una labor poco menos interminable. Es por ello que nos limitaremos a mencionar a aquellas personas cuya contribución ha sido más significativa.

Damos muchas gracias a nuestro tutor el Dr. Ariel José Aguilar por habernos dado la oportunidad de trabajar nuestra tesis como parte del trabajo llevado a cabo en el Laboratorio de Fisiología Animal por su ayuda prestada y atención en todo momento, por sus palabras de ánimo, su optimismo, por trasmitirnos sus conocimientos y consejos tanto para la vida laboral como enseñanza para la vida diaria y en fin gracias por formar parte de esta etapa de formación y culminarla con mucho éxito.

También le agradecemos al Sr. Máximo Hernández Jefe de Producción de CAMANICA, S.A por permitirnos participar de una capacitación y brindarnos alojamiento en las instalaciones de la granja camaronera II Aguas, gracias a todo el personal por habernos atendido muy bien y trasmitirnos sus conocimientos.

Por otra parte también agradecemos a la Universidad Centroamericana (UCA) por todo su apoyo y conocimiento brindado proveniente de los responsables de la Estación Biológica de Puerto Morazán y en especial a la Ing. Eufrecia Valladares por su apoyo en nuestro primer muestreo.

De igual manera agradecemos al Señor Wendel García Director Técnico APEMAC y a la Lic. Lidia Romero Técnico de laboratorio, por habernos compartido sus conocimientos en la capacitación referente a nuestro trabajo investigativo.

También queremos agradecerle de manera especial al Laboratorio de Microbiología UNAN-León por el apoyo incondicional brindado para la realización y culminación de esta investigación.

Gracias también a nuestros compañeros y maestros, que nos apoyaron y nos permitieron entrar en su vida durante estos casi cinco años de convivir dentro y fuera del salón de clase.

Y por último pero no menos importante a nuestros padres, hermanos, familiares y amigos que nos acompañaron en este proceso de forma incondicional, comprendiéndonos, apoyándonos, alentándonos a seguir adelante en los buenos y malos momentos.

¡A todos muchísimas Gracias!

ÍNDICE

	Pág.
DEDICATORIA	II
CERTIFICADO	III
FINANCIACION	IV
AGRADECIMIENTOS	V
ÍNDICE	VI
LISTA DE ABREVIATURAS	VIII
LISTA DE TABLAS	X
LISTA DE FIGURAS	XI
RESUMEN	XII
1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS	3
3. LITERATURA REVISADA	4
3.1 Sistemas estuarinos	5
3.1.1 Clasificación Estuarina	5
3.1.2 Descripción de la zona de estudio	6
3.1.2.1 Clima	7
3.1.2.2 Hidrología	8
3.1.3 Importancia del Estero Real	8
3.2 Parámetros fisicoquímicos	9
3.2.1 Salinidad	9
3.2.2 Temperatura	10
3.2.3 pH	10
3.2.4 Oxígeno disuelto	11
3.2.5 Turbidez	11
3.3 Metabolitos y Proteínas	12
3.3.1 Aminoácidos	12
3.3.1.1 Clasificación	12
3.3.1.2 Reacción de Ninhidrina	14
3.3.2 *Proteínas*	15
3.3.2.1 Clasificación	15
3.3.2.2 Estructura	16
3.3.2.3 Determinación de proteínas	16
3.3.2.3.1 Método del Ácido Bicinconínico (BCA)	17
3.3.3 Glucosa	18
3.3.3.1 Determinación de glucosa	19
3.4 Ecosistema acuático	19
3.4.1 Principales microorganismos descomponedores	20
3.4.1.1 Bacterias	20
3.4.1.2 Actinomicetos	21
3.4.1.3 Hongos	21
3.4.1.4 Microalgas	23
3.4.2 Mecanismo de degradación de la materia orgánica	23
3.4.2.1 Degradación de celulosa	25
3.4.2.2 Degradación de xilano	26
3.4.2.3 Degradación de quitina	27
3.4.2.4 Degradación de lignina	27
3.5 Eutrofización	28
3.5.1 Efectos del proceso de eutrofización	28
3.5.2 Causas del proceso de la eutrofización	29
3.5.3 Principales modificaciones del incremento de nutrientes en el	30

ambiente fisicoquímico del agua y del sedimento.....
4. MATERIALES Y METODOS..... 32
4.1 Área de estudio..... 33
4.2 Metodología experimental para la toma de muestras..... 34
4.3 Determinaciones analíticas..... 36
4.3.1 Cuantificación de niveles de metabolitos libres en el cuerpo de agua..... 36
4.3.1.1 Glucosa..... 36
4.3.1.2 Aminoácidos..... 37
4.3.2 Cuantificación de proteínas libres en el cuerpo de agua..... 38
4.3.3 Cuantificación de niveles de proteínas, glucosa y aminoácidos libres en sedimento..... 39
4.4 Análisis estadísticos..... 39
5. RESULTADOS..... 40
5.1 Parámetros físicos y químicos..... 41
5.1.1 Turbidez..... 42
5.1.2 Oxígeno disuelto..... 43
5.1.3 Salinidad..... 46
5.2 Proteínas y Metabolitos..... 49
5.2.1 Proteínas y metabolitos libres en el cuerpo de agua..... 49
5.2.1.1 Proteínas..... 49
5.2.1.2 Aminoácidos..... 52
5.2.1.3 Glucosa..... 55
5.2.2 Proteínas y metabolitos libres en el sedimento..... 58
5.2.2.1 Proteínas..... 58
5.2.2.2 Aminoácidos..... 61
5.2.2.3 Glucosa..... 64
5.3. Relación de la concentración de metabolitos (glucosa y aminoácidos) y proteínas con los parámetros (salinidad y temperatura)..... 67
5.3.1. Análisis en el cuerpo de agua..... 67
5.3.1.1.Relación de la concentración de proteína libre con la concentración salina y temperatura..... 67
5.3.1.2. Relación de la concentración de aminoácidos libres con la concentración salina y temperatura..... 68
5.3.1.3. Relación de la concentración de glucosa libre con la concentración salina y temperatura..... 69
5.3.2. Análisis en sedimento..... 70
5.3.2.1. Relación de la concentración de proteína con la concentración salina..... 70
5.3.2.2. Relación de la concentración de aminoácidos libres con la concentración salina..... 71
5.3.2.3. Relación de la concentración de glucosa con la concentración salina..... 72
6. DISCUSIÓN..... 73
7. CONCLUSIONES..... 83
8. RECOMENDACIONES..... 86
9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS..... 88

ABREVIATURAS

APHA: American Public Health Association

aa: Aminoácidos

ANOVA: Análisis de Varianza

AGO: Agosto

BAL: Bacterias Acido Lácticas

BCA: Acido Bicinconínico

CSIG: Centro de Sistema de Información Geográfica.

CIDEA: Centro de Investigación de Ecosistemas Acuáticos

CRM: Cuenta Reto del Milenio

C: Citosina

cm: Centímetros

cm^3: Centímetros cúbicos

°C: Grados Celsius

3D: Forma Tridimensional

G: Guanina

JUN: Junio

JUL: Julio

Km: Kilómetros

Lip: Lignina Peroxidasa

Mnp: Magneso Peroxidasa

ml: mililitro

mg/L: miligramo/ Litro

M: Molaridad

min.: minutos

mM: milimolar

May: Mayo

nm: nanómetros

N: Normalidad

OH: Grupo Hidroxilo

OCT: Octubre

pH: Medida de acidez o alcalinidad de una disolución

(P): Puntos de Muestreo

PCA: ácido perclórico

R: Cadena Lateral

rpm: revoluciones por minuto

SEP: Septiembre

UV: Rayos Ultravioleta

MARENA: Ministerio del Ambiente y los Recursos Naturales

PRADEPESCA: Programa Regional de Apoyo al Desarrollo de la Pesca en el Istmo Centroamericano

RAMSAR: Convención Internacional Sobre los Humedales

LISTA DE TABLAS

Pág.

Tabla 1. Valores promedio de concentración salina en el rio Estero Real. Periodo 2000-2004..... 9

Tabla 2. Valores promedio de temperatura registrados en el río Estero Real. Periodo 2000-2004..... 10

Tabla 3. Valores promedio de oxígeno disuelto registrados en el río Estero Real. Periodo 2000-2004..... 11

Tabla 4. Principales métodos para la cuantificación de proteínas sus rangos de sensibilidad y sus ventajas y desventajas..... 17

Tabla 5. Microorganismos celulíticos..... 26

Tabla 6. Coordenadas de puntos de muestreos en el río Estero Real, Nicaragua..... 34

Tabla 7. Valores promedios de pH, Oxígeno Disuelto (O_2 mg/L), Temperatura (^{o}C), Turbidez (cm)..... 41

Tabla 8. Valores de Turbidez (cm) en cada punto de muestreo, en los meses de Agosto, Septiembre y Octubre..... 42

Tabla 9. Valores de Oxígeno disuelto por puntos de muestreo en el tiempo..... 44

LISTA DE FIGURAS

Pág

Figura 1 Mapa de ubicación de los puntos de muestreo realizados en el río Estero Real..... 7
Figura 2 Fórmula General de aminoácidos..... 12
Figura 3 Aminoácidos Proteicos..... 13
Figura 4 Reacción de Ninhidrina con los aminoácidos..... 14
Figura 5 Principio de la Reacción..... 18
Figura 6 Principio de la Reacción en la Glucosa..... 19
Figura 7 Iniciación del proceso de humificación..... 24
Figura 8 Esquema de las causas de la Eutrofización..... 29
Figura 9 Efecto de la eutrofización en los cuerpos de agua..... 31
Figura 10 Mapa de puntos de muestreo..... 33
Figura 11 Toma de muestras de agua y sedimento..... 35
Figura 12 Procesamiento de muestras previo al análisis de Glucosa y Aminoácidos..... 36
Figura 13 Pasos para el análisis de Glucosa..... 37
Figura 14 Pasos para el análisis de aminoácidos..... 37
Figura 15 Pasos para el análisis de proteína..... 38
Figura 16 Pasos para el análisis de Proteína, Glucosa y Aminoácidos en muestras de sedimento..... 39
Figura 17 Valores promedios de Disco de Secchi en el tiempo..... 43
Figura 18 Concentraciones promedios de oxígeno disuelto (mg/L), en el tiempo..... 45
Figura 19Concentraciones salinas (ppm) en el tiempo..... 46
Figura 20 Valores promedios de concentraciones salinas (ppm), por punto de muestreo..... 47
Figura 21 Promedio de concentraciones salinas (ppm) en el tiempo..... 48
Figura 22 Concentraciones promedio de proteínas (µg/ml) en agua, por mes de muestreo. 49
Figura 23Concentración promedio de proteínas (µg/ml) en agua, por punto de muestreo.. 50
Figura 24 Concentraciones promedio de proteínas (µg/ml) en agua, en el tiempo..... 51
Figura 25 Concentraciones promedio de aminoácidos (µM) en agua, en cada mes de muestreo. 52
Figura 26 Promedio de concentración de aminoácidos (µM)en agua, por punto de muestreo..... 53
Figura 27 Concentraciones promedio de aminoácidos (µM) en agua, en el tiempo..... 54
Figura 28 Concentraciones promedio de glucosa (µM) en agua, en cada mes de muestreo.. 55
Figura 29 Promedio de la concentración de glucosa (µM) en agua, por punto de muestreo.. 56
Figura30 Concentraciones promedio de glucosa (µM) en agua, en el tiempo..... 57
Figura 31 Concentraciones promedio de proteínas (µg/gr) en sedimento, por mes de muestreo..... 58
Figura 32 Concentraciones promedio de proteínas (µg/gr) en sedimento, por punto de muestreo. 59
Figura 33 Concentraciones promedio de proteínas (µg/gr) en sedimento, en el tiempo..... 60
Figura 34 Concentraciones promedio de aminoácidos (µM) en sedimento, en cada mes de muestreo..... 61
Figura 35 Concentraciones promedio de aminoácidos (µM) en sedimento, por punto de muestreo. 62
Figura 36 Concentraciones promedio de aminoácidos (µM) en sedimento, en el tiempo..... 63
Figura 37 Concentraciones promedio de glucosa (µM) en sedimento, en cada mes de muestreo. 64
Figura 38 Promedio de la concentración de glucosa (µM) en sedimento, por punto de muestreo. 65
Figura 39 Concentraciones promedio de glucosa (µM) en sedimento, en el tiempo..... 66
Figura 40 Relación entre el promedio de la concentración salina(ppm) y el promedio de la concentración de proteínas (µg/gr) y la relación entre el promedio del valor de 67

temperatura °C y el promedio de la concentración de proteína (µg/mL) en el cuerpo de agua……
Figura 41 Relación entre el promedio de la concentración salina (ppm)y el promedio de la concentración de aminoácidos (µM),y la relación entre el promedio del valor de temperatura °C y el promedio de la concentración de aminoácidos (µM) , en el cuerpo de agua…….. 68
Figura 42 Figura 42 Relación entre el promedio de la concentración salina (ppm) y el promedio de la concentración de glucosa (µM), y la relación entre el promedio del valor de temperatura ^{0}C y el promedio de la concentración de glucosa (µM), en el cuerpo de agua…… 69
Figura 43 Relación entre el promedio de la concentración salina (ppm) y el promedio de la concentración de proteínas (µg/gr), en el sedimento…….. 70
Figura 44 Relación entre el promedio de la concentración salina (ppm) y el promedio de la concentración de aminoácidos (µM), en el sedimento…… 71
Figura 45 Relación entre el promedio de la concentración salina (ppm) y el promedio de la concentración de glucosa (µM), en el sedimento……... 72

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación consistió en evaluar, por primera vez, la salud del cuerpo de agua del río Estero Real mediante la variación de los parámetros fisicoquímicos y su reflejo en la dinámica del metabolismo intermedio de los principales compuestos orgánicos. Por tanto, evaluamos la dinámica de las concentraciones de los compuestos energéticos (proteínas, aminoácidos y glucosa) esenciales para el buen funcionamiento de la vida de los diferentes organismos y su relación con los parámetros físicos y químicos (salinidad y temperatura), en el periodo de invierno (mayo-octubre). El río se dividió en 10 puntos de muestreo, desde la cooperativa Herrera Membreño hasta AGRIMAR II (23 Km). Una vez al mes se tomaron lecturas de los parámetros físicos y químicos y recolectaron muestras de agua y sedimento para evaluar las concentraciones de los compuestos energéticos. El río Estero Real presenta los mayores niveles de turbidez de Puerto Morazán hacia aguas arriba. En los meses de mayo y octubre, el sector de la Cooperativa Herrera Membreño presentó valores de salinidad de 31.6 ppm y 0 ppm, respectivamente. Los valores de oxígeno disuelto, en promedio, son menores a 2 mg/L en los meses de mayo-septiembre y en octubre llegan a 3.15 mg/L. En todo el periodo de estudio el valor de pH del agua presenta un rango de 6.956 y 7.158 para los meses julio y agosto, respectivamente. En el agua, el comportamiento de las concentraciones de proteínas y glucosa presentan alta relación con respecto al comportamiento de la concentración salina, con una R= 0.865 y R= 0.857 respectivamente; no siendo tan acentuada para los aminoácidos debido a que la relación es de R= 0.595. No obstante, aunque la variación de la temperatura muestra alguna relación con respecto a la dinámica de las concentraciones de proteínas (R=0.257), aminoácidos (R=0.619) y glucosa (R=0.446) los valores son inferiores a los mostrados con la variación salina. En sedimento, los niveles de los tres compuestos energéticos estudiados tienen una tendencia a incrementar en el tiempo. Así, la relación de la concentración salina con respecto a los niveles de proteínas presenta (R=0.626), la concentración de aminoácidos (R=0.652) y la concentración de glucosa (R=XXX) denotando una relación de la salinidad menor a la observada en el cuerpo de agua. Nuestros resultados permiten sugerir que el cuerpo de agua, que conforma el río Estero Real, presenta graves problemas de estrés que afecta seriamente su salud, situación que podría llevar a la perdida de la biodiversidad estuarina.

1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

El ecosistema "Delta del Estero Real", Nicaragua, pertenece al gran sistema estuarino Golfo de Fonseca, el cual es compartido por Nicaragua, Honduras y El Salvador. Dicho humedal es un ecosistema que cubre más de 70 mil hectáreas de esteros y bosques de mangle. En él se desarrolla fundamentalmente el cultivo de camarón y las actividades de pesca artesanal (Lezama, 2006). Actualmente, el ecosistema del Estero Real está siendo afectado debido al vertido de aguas con alto contenido de nutrientes provenientes de las actividades acuícolas y de las descargas con alto contenido de sedimento y materia orgánica e inorgánica provenientes de los afluentes al Estero (UCA, 1999; Lezama, 2006).

Ante tal situación, la capacidad de recuperación de este importante cuerpo de agua se ve afectada producto del estrés al que está sometido, reflejándose fundamentalmente en los bajos valores de turbidez y concentraciones de oxígeno disuelto que prevalecen en toda el área de estudio, respectivamente. Bajo ese contexto, el río Estero Real no puede caracterizarse en este momento como un ecosistema sano, debido a la incapacidad de regeneración y su respuesta al estrés (Costanza, 1992). Por tanto, cabe mencionar que bajo esas circunstancias el Estero Real presenta condiciones de aerobicidad y anaerobicidad que resultan estresantes para todos los organismos que habitan ese ecosistema, pudiendo repercutir en la perdida de la biodiversidad. Así, este escenario indica que las rutas de la degradación de la materia orgánica son debido a la activación-inhibición de organismos anaerobios y aerobios, respectivamente. En este sentido, para explicar el grave riesgo de muerte del cuerpo de agua del Estero Real cabe destacar que bajo situaciones de anaerobicidad el producto final del metabolismo de las proteínas y glúcidos deriva en metabolitos tóxicos, tales como: amonio toxico, sulfuro de hidrógeno y metano, que son gases perjudiciales para la salud animal y vegetal (Korhonen et al., 2012; Fenchel y Finlay 1995). Es más, en este cuerpo de agua existe un alto riesgo para la salud humana, debido a las condiciones favorables para el crecimiento de microalgas liberadoras de toxinas y de bacterias perjudiciales.

Por tal razón, para evaluar las condiciones de salud del cuerpo de agua del Estero Real, en el periodo lluvioso, nuestro estudio se enfoca sobre el metabolismo acuático intermedio y su relación con los parámetros físicos y químicos, evaluando las concentraciones de proteínas y metabolitos libres (glucosa y aminoácidos) para conocer por un lado las concentraciones en estado libre y por otro lado la dinámica fluctuante que nos permita contar con un indicador del nivel de estrés que afecta el estado de salud del cuerpo de agua (Gutiérrez, 2009).

2. OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

A lo largo de las últimas décadas se ha caracterizado al río Estero Real como uno de los recursos naturales de gran valor para la economía de muchas familias que se dedican al desarrollo de actividades de pesca y acuicultura. La cantidad de sedimento, materia orgánica y contaminantes químicos procedentes del arrastre de los afluentes y las descargas con alto contenido de nutrientes por parte de actividades acuícolas han deteriorado la salud de este cuerpo de agua, sometiéndolo a un nivel de estrés cada vez más intenso que provoca un alargamiento del período de recuperación.

Tradicionalmente se ha caracterizado a los parámetros fisicoquímicos y biológicos como indicadores de la salud de los cuerpos de agua. Sin embargo, para determinar la salud de un ecosistema acuático es necesario evaluar la velocidad de degradación de la materia orgánica y el resultado del metabolismo intermedio a través del análisis de las concentraciones de metabolitos libres que están presentes ante las diversas condiciones. Se sabe que muchos organismos actúan de forma conjunta para llevar a cabo el proceso de degradación de la materia y los que más se vinculan son las bacterias, hongos, actinomicetos y microalgas. Los estudios relativos al metabolismo acuático con énfasis en resultados del metabolismo intermedio de las proteínas y glúcidos son escasos y en el río Estero Real son prácticamente nulos.

Por ello el objetivo general de la presente memoria de investigación es evaluar las concentraciones de proteínas y metabolitos libres (glucosa y aminoácidos) y su relación con los parámetros fisicoquímicos en las aguas del río Estero Real, en el período (mayo-octubre) 2013.

Los objetivos específicos que se abordan son los siguientes:

- Medir los valores de los parámetros fisicoquímicos (oxígeno disuelto, salinidad, temperatura, pH y turbidez) desde el sector de la Cooperativa Herrera Membreño hasta la camaronera AGRIMAR II.

- Determinar la fluctuación de las concentraciones de proteína, glucosa y aminoácidos libres en el cuerpo de agua y sedimento, desde el sector de la Cooperativa Herrera Membreño hasta la camaronera AGRIMAR II.

- Relacionar las concentraciones de proteínas, aminoácidos y glucosa en el cuerpo de agua y sedimento con las fluctuaciones de los parámetros fisicoquímicos.

3. LITERATURA REVISADA

3.1. Sistemas estuarinos

Un estuario se define como un cuerpo de agua costero semicerrado con una conexión libre con el mar abierto, dentro del cual el agua de mar es diluida con agua dulce derivada del drenaje terrestre. Desde un punto de vista físico la definición de un estuario debe reconocer ciertas similitudes básicas en la distribución de la salinidad y la densidad, así como el patrón de circulación y los procesos de mezclado; se debe marcar también la importancia de los límites que controlan la distribución de las propiedades, el movimiento y la mezcla del agua (Pritchard, 1967).

Regularmente los estuarios se asocian a la desembocadura de los ríos; y las lagunas costeras a cuerpos de agua aislados que se asocian a llanuras costeras con aportes menores o estacionales de agua dulce. El reconocimiento de la diversidad y complejidad de diversos tipos de estuarios y lagunas costeras, la importancia de su extensión geográfica por diversos países y el interés en el estudio demostrado por algunos organismos y programas internacionales, ha llevado a algunos autores a pensar que son ecosistemas diferentes (Pritchard, 1967; Day, 1980).

La variación estacional del rango de marea y la descarga fluvial en un estuario, como es el caso del río Estero Real, influencian forzosamente la distribución espacial y temporal de los parámetros físico-químicos y de igual manera el material suspendido. El agua salina del océano que circula hacia dentro del estuario se mezcla con el agua de origen fluvial que se mueve hacia el océano, determinando un patrón de movimiento de todo el material suspendido y disuelto. Asimismo las distintas concentraciones de sales, contaminantes, oxigeno, plancton de nutrientes y sedimentos son en parte controlados por un patrón de movimiento que varían considerablemente en cortos periodos (Pritchard, 1955; Meade, 1972).

3.1.1. Clasificación Estuarina

Los estuarios se clasifican en función de diversos parámetros, ya sean físicos o químicos. A su vez existen clasificaciones fundamentadas en la morfología, el rango mareal y el grado de estratificación salina de la columna de agua. Teniendo en cuenta estos aspectos se presenta una clasificación basada en la salinidad, y en la diferencia fundamental entre los tipos de estuarios en las variaciones entre la descarga fluvial y el rango mareal; reconociendo así tres tipos de estuarios (Pritchard, 1967):

a) Estuario de cuña salina (altamente estratificado).

Este tipo de estuario se desarrolla cuando un río desemboca en el mar con mareas muy débiles (régimen micromareal) donde el agua dulce, menos densa, transita por encima del agua salada, más densa, y se forma una cuña salina que va penetrando y adelgazándose aguas arriba. Entre el agua dulce y salada hay un marcado gradiente de salinidad, por lo que se forma una haloclina muy definida. Por otra parte las isohalinas (líneas de puntos de igual salinidad) se van disponiendo de forma horizontal, de tal manera que la posición de la cuña salina depende del caudal fluvial que se encuentre en el estero. Cuando el caudal baja, la cuña salina logra penetrar más aguas arriba logrando desplazar la cuña salina hasta la desembocadura (Pritchard, 1967).

b) Estuario parcialmente mezclado

Este se origina cuando un río desemboca en el mar con un rango mareal moderado (régimen mesomareal). Siendo las corrientes mareales significativas en toda la masa de agua lo que propicia movimientos arriba y abajo del estuario con el flujo y con el reflujo. Estos movimientos originan fenómenos de mezcla debido a la fricción entre las aguas, las corrientes mareales y la fricción con el fondo. Resultando que estos procesos de mezcla hagan que la haloclina sea mucho menos definida que en los estuarios de cuña salina (Pritchard, 1967).

c) Estuario totalmente mezclado (Sin estratificación)

Este es un tipo de estuario con rango mareal alto (régimen macromareal) dado que las corrientes mareales son capaces de romper la estratificación vertical, haciendo posible que la energía del mar haga que la columna de agua se encuentre completamente mezclada y que las isohalinas posean una disposición vertical, con un aumento de gradiente de salinidad en dirección al mar (Pritchard, 1967).

3.1.2. Descripción de la zona de estudio

El Estero Real se encuentra situado en el extremo Sureste del Golfo de Fonseca, Departamento de Chinandega y pertenece al gran Sistema Estuarino denominado como Golfo de Fonseca (Lezama, 2000). Es el río más extenso del occidente de Nicaragua y recorre 137 km (CIDEA, 2006). Los ríos que desembocan en el Estero Real son: Tecomapa, y el río Villanueva (CIDEA-UCA, 2006).

Cuenca del Estero Real

Figura 1. Mapa de ubicación.
Fuente: CSIG-UNAN-LEON

3.1.2.1. Clima

La cuenca hidrográfica del río Estero Real se localiza dentro de la región climática tropical de Sabana, siendo su principal característica la presencia de una marcada estación seca durante 6 meses (noviembre-abril), (Curie, 1994). Las lluvias se muestran con marcada estacionalidad en la época de invierno, que inicia en Mayo y concluye en Octubre. La evaporación no supera los 2,000 mm anuales. La temperatura media anual es de aproximadamente 27ºC y la humedad relativa media es de aproximadamente 74%, mostrando una disminución en la época seca y un aumento en la época lluviosa. Los vientos adquieren una velocidad media anual de 6.8 km/h y su magnitud se relaciona en forma inversa con la humedad relativa. Sin embargo, solo en los meses de septiembre y octubre la velocidad media de los vientos es de 5.7 km/h y es cuando se muestran los valores más altos de la humedad relativa (Lezama, 2000).

3.1.2.2. Hidrología

En la parte alta del Estero Real, de la cuenca (Achuapa, El sauce), la contribución de agua dulce en forma de escorrentía, mayoritariamente procede de los ríos Tecomapa y Villa nueva. Aun no existe un estudio o datos de la cantidad del aporte de agua dulce proveniente de los ríos en la parte baja del Estero Real, pero tomando en cuenta que existen más ríos en la parte alta y considerando el aporte de agua dulce en forma de precipitación para toda la cuenca (37.7 millones de m^3 de agua dulce por día) es natural pensar que es mayor el aporte de agua dulce en la parte alta de la cuenca ya que esta viene de la suma del agua proveniente de los ríos más el agua en forma de precipitación (CIDEA-UCA, 2006). En el aspecto hidrológico, las mareas y las descargas fluviales son comprensiblemente importantes; sin embargo la lluvia, la escorrentía superficial y la infiltración tienen mayor relevancia local. La fluctuación horizontal de mareas durante el aguaje con la creciente tiene un recorrido del agua de 13 a 19 km. y de 13 a 20 km. con la vaciante. Por otro lado, se estima que el tiempo de recambio de agua en el Estero Real toma de 2 a 3 meses. Para Puerto Morazán se estimó como tiempo de recambio de agua 2 a 6 semanas en la época de invierno y en la zona aguas arriba de Puerto Morazán, el tiempo de recambio hasta el Océano Pacífico puede ser de hasta 4 meses (Curie, 1994).

La cuenca del Estero Real muestra serios problemas de erosión hídrica en los sectores oeste y norte del complejo volcánico Chonco-Casitas. Así mismo existen dificultades ambientales relacionadas a la destrucción de manglares y contaminación de las aguas producto del dinamismo de la camaronicultura (CRM, 2011). De tal forma que en la época de lluvia, los ríos arrastran sedimentos contaminados por las actividades agrícolas y las depositan en las partes altas y medias de la cuenca, alterando la calidad fisicoquímica de las aguas, lo cual repercute en un severo daño ecológico (CRM, 2011).

3.1.3. Importancia del Estero Real

El Estero Real fue pronunciado por el Ministerio del Ambiente y Recursos Naturales (MARENA) como reserva natural protegida a partir de 1983 y reconocido por la convención RAMSAR como **"Humedal de Importancia Internacional"**. Desde el año 2003 es una de las cuencas hidrográficas más transcendentales y sede actual de la creciente producción camaronera del país (MARENA, 2006). Actualmente, el ecosistema estuarino del Estero Real enfrenta un proceso crítico de deterioro, debido a que este ecosistema ofrece la oportunidad de efectuar numerosas actividades tales como; la extracción de mangle para leña, madera para construcciones rusticas, camarón juvenil en lagunas de invierno (caletas y ramales secundarios), pesca de escama en lagunas y esteros, punches, conchas, animales silvestres y la producción de camarones en sistema de estanquería, lo que ha propiciado el manejo incorrecto de este recurso natural (Gutiérrez y Sánchez, 2007).

3.2. Parámetros fisicoquímicos

En los distintos ecosistemas acuáticos la presencia de agentes externos o contaminantes de tipo orgánico o inorgánico causa modificaciones en las características físicas y químicas del agua, perturbando la composición y distribución de las comunidades acuáticas. (Roldan, 1992). En ese sentido, las modificaciones ecológicas repercuten en los índices de biodiversidad (Sala et al., 2000) debido a que afectan a las poblaciones de peces, plancton y especies de vida silvestre (Solís et al., 2011).

3.2.1. Salinidad

En los ecosistemas acuáticos la salinidad puede variar en dirección tanto horizontal como vertical y aun en un mismo punto puede sufrir variaciones en las diferentes estaciones del año. La temperatura es uno de los factores que hace cambiar la salinidad en un cuerpo de agua, debido a que si es elevada provoca una evaporación intensa y, por ende, un aumento de la concentración de sales. Por el contrario los aportes de agua dulce propicia la dilución del cuerpo de agua, repercutiendo en la disminución de la salinidad (Abarca, 2002; Contreras, 2001).

Estudios realizados por el CIDEA, en el período del 2000 al 2004, muestran que en la época de verano el río Estero Real presenta las mayores salinidades, reduciéndose éstas en la época de invierno (CIDEA-UCA, 2006). Por otro lado, con respecto a la conducta de los gradientes salinos, el río Estero Real se puede clasificar en la categoría de "verticalmente mezclado" (CIDEA-UCA, 2006).

Tabla 1. Valores promedios de concentración salina en el río Estero Real. Período 2000-2004.

Año	Máximo (ppm)	Mínimo (ppm)
2000	18.0	0.0
2001	19.8	0.0
2002	32.1	0.0
2003	35.4	0.1
2004	29.7	0.1

Fuente: CIDEA-UCA (2006)

3.2.2. Temperatura

La temperatura del agua se establece fundamentalmente por muchos factores dentro de los principal tenemos la posición geográfica del agua (Contreras, 2002). Por tanto, la temperatura es uno de los factores ambientales más importantes para el funcionamiento de los organismos acuáticos debido a que afecta la densidad y viscosidad del agua, la solubilidad de los gases y en particular la del oxígeno disuelto; de la misma manera afecta la velocidad de las reacciones químicas y bioquímicas (productividad primaria, reproducción y crecimiento de los organismos), (Chapman, 1992; APHA, 1995). Bajo ese

contexto, la temperatura del agua tiene una gran importancia en el desarrollo de los diversos procesos que en ella se realizan, de forma que un aumento de la temperatura modifica la solubilidad de las sustancias (aumentando la de los sólidos disueltos y disminuyendo la de los gases) y afectando la actividad biológica (Chapman, 1992; APHA, 1995).

Estudios realizados en el Rio Estero Real por el CIDEA, indican que la temperatura y la salinidad están gobernadas por gradientes de marea y el aporte pluvial (CIDEA-UCA, 2006). Los valores de temperatura entre el período 2001-2004 se muestran a continuación.

Tabla 2. Valores promedios de temperatura registrados en el río Estero Real. Período 2000-2004.

Año	Máximo (ºC)	Mínimo (ºC)
2000	31.6	27.0
2001	34.9	27.0
2002	32.7	26.6
2003	32.6	26.5
2004	34.1	26.3

Fuente: CIDEA-UCA (2006)

3.2.3. pH

El pH en los ecosistemas acuáticos nos indica cuán ácida o básica es el agua. El agua con un de pH 7 no se considera ni ácida ni básica sino neutra, cuando el pH es inferior a 7 el agua es ácida y cuando el pH es superior a 7 el agua es básica (Contreras, 2001). De tal modo, que la escala de pH es de 0 a 14.Si la concentración de dióxido de carbono crece en un cuerpo de agua, la concentración de iones de hidrógeno aumenta, disminuyendo el valor de pH. Por el contrario, si disminuye la concentración de dióxido de carbono, la de iones de hidrógeno desciende, aumenta el valor del pH. De tal forma, que en el día el fitoplancton disminuye la concentración de CO_2, por ende, aumenta el valor del pH del agua y en la noche los valores de pH disminuyen debido al incremento en la concentración de CO_2 (Chapman, y V. Kimtsach, 1992).

3.2.4. Oxígeno disuelto

El oxígeno disuelto es un factor primordial para el desarrollo del metabolismo acuático (APHA, 1995). En condiciones estuarinas, las concentraciones de oxígeno disuelto fluctúan en base al nivel de enriquecimiento de nutrientes, actividad fotosintética y la concentración de microorganismos descomponedores (Rabalais et al., 2002).

Estudios realizado por el CIDEA, en el río Estero Real, señalan que la distribución de oxígeno disuelto muestra una conducta similar al gradiente salino, disminuyendo gradualmente desde la boca del estero principal al interior. Durante la época de lluvia (mayo-octubre) las concentraciones de

oxígeno muestran valores de 4.0 mg/L cerca de la boca del estero disminuyendo hasta 1.6 mg/L en el interior y en la época seca (noviembre-abril) las concentraciones de oxígeno alcanzan valores mayores de 3.6 mg/L en todo el estero (CIDEA-UCA, 2006).

Tabla 3. Valores promedios de oxígeno disuelto registrados en el río Estero Real. Período 2000-2004.

Año	Máximo (mg/L)	Mínimo (mg/L)
2000	5.33	0.54
2001	7.09	1.70
2002	7.06	0.30
2003	7.00	0.44
2004	6.42	0.43

Fuente: CIDEA-UCA (2006)

3.2.5. Turbidez

La luz es un factor determinante para la vida de los ecosistemas acuáticos, de tal forma que la penetración de la luz en un cuerpo de agua propicia la actividad fotosintética (Gutiérrez et al., 2006). Por tanto en cuerpos de agua con alto nivel de eutrofización y partículas disueltas es muy poca la penetración de la luz en el cuerpo de agua (Hutchinson, 1975; Wetzel, 2001). El disco de Secchi es el equipo usado para realizar las mediciones de turbidez, posee cuatro cuadrantes alternos (2 negros y 2 blancos) que sirven para definir hasta donde llega la penetración de la luz en la columna de agua (Chapman, y V. Kimtsach, 1992).

3.3 Metabolitos y proteínas

3.3.1. Aminoácidos

Los aminoácidos son moléculas orgánicas que funcionan como unidades estructurales de las proteínas (Chang, 2007); poseen un grupo carboxilo, un grupo amino y un grupo R situados sobre el átomo de carbono α (Figura 2). Los grupos R varían en su estructura, en tamaño y en su tendencia a las interacciones con el agua, lo cual constituye un reflejo de su polaridad (Lehninger, 1979/2009).

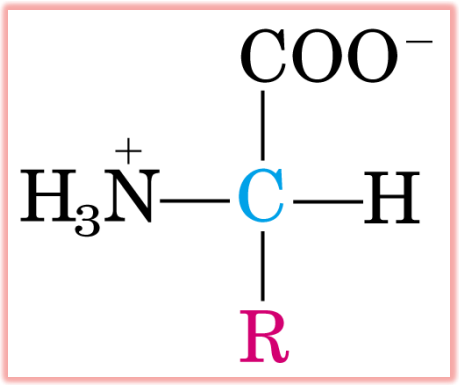


Figura 2. Fórmula general de α aminoácidos.
Fuente: Garrett y Grisham (2009)

3.3.1.1. Clasificación de los aminoácidos

a) En cuanto a su carácter ácido o básico así pueden ser:

- Neutros
- Ácidos
- Básicos

b) Basado en la polaridad de sus grupos R cuando se hallan en disolución acuosa, a pH próximo a 7.0:

- Aminoácidos apolares.
- Aminoácidos polares: (sin carga o con carga neutra; con carga: Aminoácidos básicos y aminoácidos ácidos (Figura 3) (Lehninger, 1979/2009).

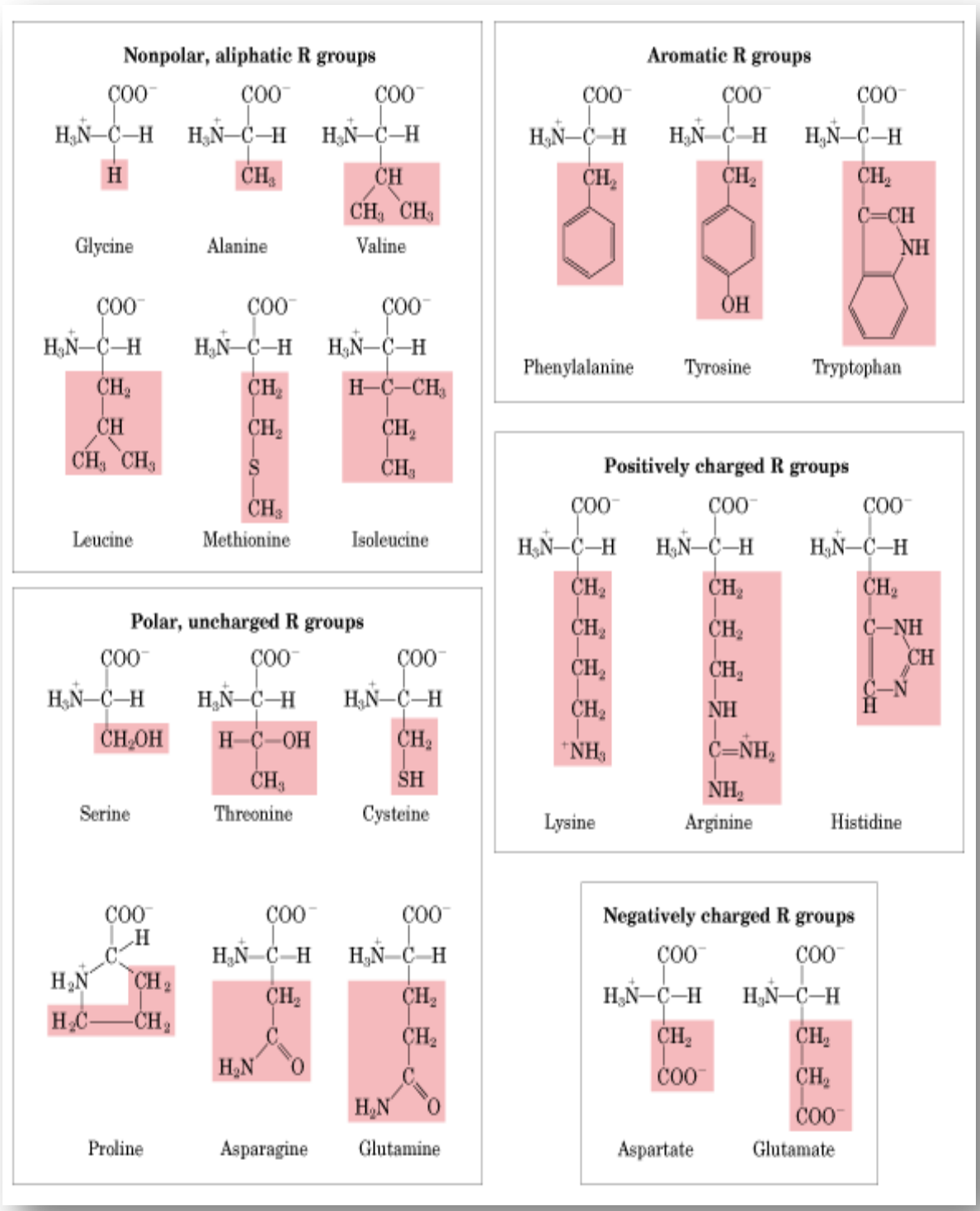


Figura 3. Aminoácidos proteícos.
Fuente: Lehninger (2009)

3.3.1.2. Reacción de Ninhidrina

La reacción de la Ninhidrina es utilizada profusa y prácticamente (Figura 4) para la valoración cuantitativa de cantidades muy pequeñas de aminoácidos. El pionero en realizar estudios de análisis de aminoácidos fue Moore (1948), quien se enfocó en el desarrollo del reactivo de ninhidrina para uso en la determinación de aminoácidos, y encontró que la presencia de ninhidrina reducida en la solución es esencial si se puede obtener el color púrpura. (Moore y Stein, 1948/1954; Moore et al., 1958; Spackman et al., 1958; Bidlingmeyer et al., 1984), que puede ser leído espectrofotométricamente a longitud de ondas de 570 – 440 nm (Pertierra y Tejión, 2006).

En esta reacción cada aa reacciona con 2 moléculas de Ninhidrina (que actúan como agente y oxidantes). La primera Ninhidrina oxida al aa y forma NH3, $C0_2$, R-COH (aldehido) y Ninhidrina reducida (Hidrindantina). La segunda Ninhidrina reacciona con el NH3 y la Ninhidrina reducida para formar el complejo coloreado púrpura (Ruhemann, 1910/1911; Abderhalden y Schmidt, 1913; Harding y Warenford, 1916; Grassmann y von Arnim, 1934; Van Slyke y Hamilton, 1943; Morrell, 1944; MacFadyen, 1950a; MacFadyen y Fowler, 1950b; Troll y Cannan, 1953; Yemm y Coocking, 1955; West, 1965; Friedman, 2004).

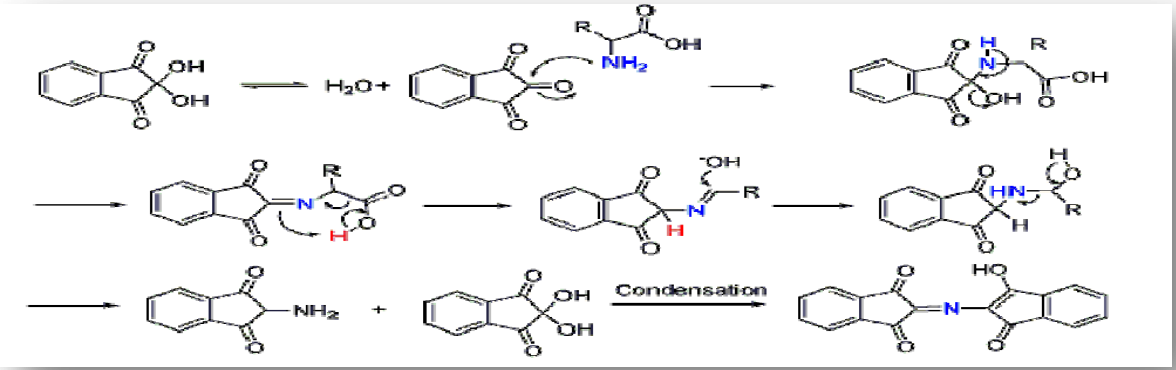


Figura 4. Reacción de Ninhidrina con los aminoácidos
Fuente: Villanueva (s.f)

3.3.2. Proteínas

Las Proteinas son sustancias orgánicas nitrogenadas complejas que se hallan en las células animales y vegetales. Son polímeros lineales en los que las unidades monoméricas son los aminoácidos que se pliegan en una notable diversidad de formas tridimensionales. (Pertierra y Tejión, 2006); y tienen una función fundamental en casi todos los procesos biológicos (Chang, 2007). Su misión en el organismo es de dos tipos: una de tipo estructural y la otra de tipo funcional. Por hidrolisis todas las proteínas rinden α- aminoácidos como productos finales (Lehninger, 1979).

3.3.2.1. Clasificación de las proteínas.

Las proteínas se dividen en dos clases principales, basándose en su composición: proteínas simples y proteínas conjugadas.

- Proteinas simples: Son aquellas que por hidrolisis producen solamente aminoácidos, sin ningún otro producto, orgánico e inorgánico, de hidrolisis.
- Proteinas conjugadas: Son aquellas que por hidrolisis producen no solamente aminoácidos, sino también otros componentes orgánicos e inorgánicos. (Glicoproteínas (carbohidratos), Lipoproteínas (grasas), Nucleoproteínas (ácido ribonucleico), Fosfoproteínas (ésteres de fosfato), Metaloproteínas (hierro)).

En las moléculas de las proteínas los sucesivos restos de aminoácidos se hallan unidos covalentemente mediante enlaces peptídico, formando largas cadenas no ramificadas. Por lo tanto las proteínas también se clasifican de acuerdo al número de subunidades en:

- Monoméricas: La proteína consta de una sola cadena polipeptídica (lisozima).
- Oligoméricas: 2 o más cadenas polipeptídicas, generalmente un número par.

Las proteínas también pueden dividirse en dos grandes clases, basándose en sus características físicas: proteínas globulares y proteínas fibrosas.

- Proteinas globulares: Son solubles en los sistemas acuosos y difunden con facilidad. Su cadena o cadenas polipeptídica, se hallan plegadas estrechamente y adoptan formas compactas globulares o esféricas. Las proteínas globulares desempeñan habitualmente una función móvil o dinámica (insulina, mioglobina, ribonucleasa).

- Proteínas fibrosas: Son insolubles en agua y físicamente tenaces. Actúan como elementos estructurales o protectores en el organismo (colágeno, queratina, elastina).

De acuerdo con la función biológica que desempeñan existen diferentes tipos de proteínas.

- Proteínas con actividad catalítica.
- Proteínas de transporte.
- Proteínas de reserva.
- Proteínas contráctiles.
- Proteínas estructurales.
- Proteínas de defensa.
- Proteínas reguladoras de diversos procesos biológicos (Toporek, 1977; Lehninger, 1979; Conn, 1990).

3.3.2.2. Estructura de las proteínas.

Primaria: Secuencia de aminoácidos en el esqueleto covalente de una proteína.

Secundaria: Es la orientación relativa de los átomos del esqueleto (que forman en enlace peptídico). Depende de la región planar en cada enlace peptídico, la formación de puentes de hidrógeno, separación adecuada de los grupos R.

Terciaria: Describe el enrollamiento de toda la proteína en una forma tridimensional (3D). Está determinada por las interacciones hidrófobos de las cadenas laterales, puentes disulfuro, puentes de hidrógeno y grupos prostéticos.

Cuaternaria: Describe como se unen las moléculas de proteínas diferentes en grandes estructuras agregadas (Toporek, 1977; Lehninger, 1979).

3.3.2.3. Determinación de proteínas

Existen diferentes métodos para la cuantificación de proteínas. Muchos de estos métodos se basan en:

a) la propiedad intrínseca de las proteínas para absorber luz en el UV,

b) para la formación de derivados químicos, o

c) la capacidad que tienen las proteínas de unir ciertos colorantes.

Los métodos más utilizados de acuerdo a su sensibilidad, sus ventajas e inconvenientes se muestran en la Tabla 4 (Lowry et al*.*, 1951; Bradford, 1976; Fujimoto et al., 1985).

Tabla 4. Principales métodos para la cuantificación de proteínas sus rangos de sensibilidad y sus ventajas y desventajas.

Métodos derivados colorimétricos	Rango de sensibilidad (μg)	Ventajas	Inconvenientes
Biuret	1000-10000	Bastante específico para proteínas Muestra pocas interferencias Es barato	Tiene poca sensibilidad
Lowry	25-100 a 500 nm 2-30 a 660 nm 1-2 a 750 nm	Tiene bastante sensibilidad	No todas las proteínas reaccionan igual Muestra muchas interferencias
Bradford	1-15	Muy sensible	Muestra interferencias con detergentes
BCA	**0.5- 10**	**Es el método más sensible** **Es el que muestra menos interferencias**	

3.3.2.3.1. Método del Ácido Bicinconínico (BCA)

El ácido bicinconínico, sal sódica, es un compuesto capaz de formar un complejo púrpura intenso con iones Cu^{1+} en medio alcalino. Este reactivo forma la base de un método analítico capaz de monitorizar el ión cuproso producido en una reacción entre las proteínas con Cu^{2+} en medio alcalino (reacción de Biuret). La estabilidad del reactivo y el cromóforo proporciona un método para la cuantificación de proteínas que es sencillo, rápido, muy sensible, y que muestra una gran tolerancia a compuestos que afectan a otros métodos (Fujimoto et al., 1985).

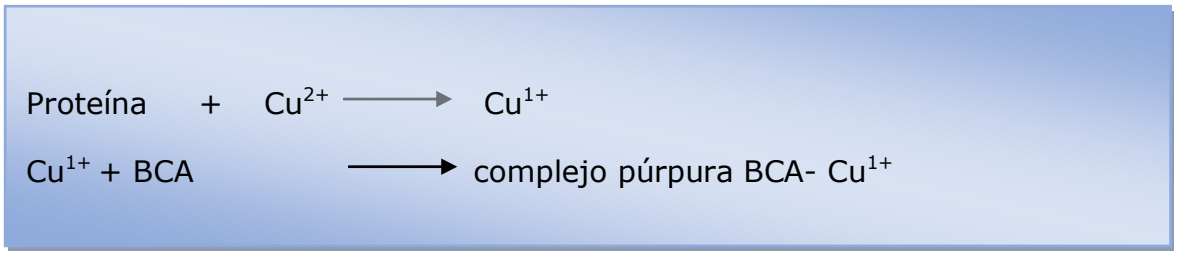


Figura 5. Principio de la reacción del método del Ácido Bicinconínico
Fuente: Fujimoto et al., (1985)

3.3.3. Glucosa

La glucosa es la hexosa más común en los polisacáridos. Los organotrofos pueden utilizar compuestos como la glucosa como fuente de carbono y como fuente de energía. Los polisacáridos son polímeros formados a partir de monómeros de azúcar (Brock y Madigan, 1991). Los disacáridos más corrientes son la maltosa, la celobiosa, la lactosa y la sacarosa. La maltosa se forma como un producto intermedio de la acción de las amilasas sobre el almidón que contiene dos restos de D-glucosa unidos mediante un enlace glucosídico entre el átomo de carbono 1 del primer resto de glucosa, y el átomo de carbono 4 de la segunda glucosa. La celobiosa contiene dos unidades de D-glucosa y es la unidad que se repite en la celulosa. La sacarosa es un disacárido de glucosa y fructuosa. Es extremadamente abundante en el reino vegetal. El almidón y el glucógeno contienen únicamente unidades de glucosa, es decir que son glucanos.

Entre los polisacáridos de reserva el almidón es el más abundante en las plantas y en los tejidos animales, especialmente en el hígado y músculos, es el glucógeno, depositado normalmente en forma de grandes gránulos en el citoplasma celular.

a. El almidón contiene dos tipos de polisacáridos, la α-amilosa y la amilopectina. La amilosa puede hidrolizarse por medio del enzima α-amilasa, de tal manera que se obtienen finalmente una mezcla de glucosa y maltosa. Por trabajo conjunto de la α-amilasa y de la α 1,6 glucosidasa se puede degradar completamente a la amilopectina.

b. El glucógeno es un polisacárido ramificado al igual que la amilopectina y se hidroliza de igual forma con mucha facilidad por acción de α-amilasa y de la α 1,6- glucosidasa.

c. La celulosa es el componente principal de las gruesas y rígidas paredes celulares de las plantas y constituye el 50 % de la materia orgánica total de la biosfera. Cuando la celulosa es hidrolizada completamente produce únicamente D-glucosa y en el caso de hidrólisis parcial el resultado son unidades de celobiosa (Lehninger, 1979; Conn, 1990).

3.3.3.1. Determinación de glucosa

La glucosa se determina después de la oxidación enzimática en presencia de glucosa oxidasa. El peróxido de hidrógeno formado reacciona bajo la catálisis de peroxidasa con fenol y 4-aminofenazona formando un complejo rojo-violeta usando la quinoneimina como indicador. (Teuscher y Richterich, 1971; Barham y Trinder, 1972).

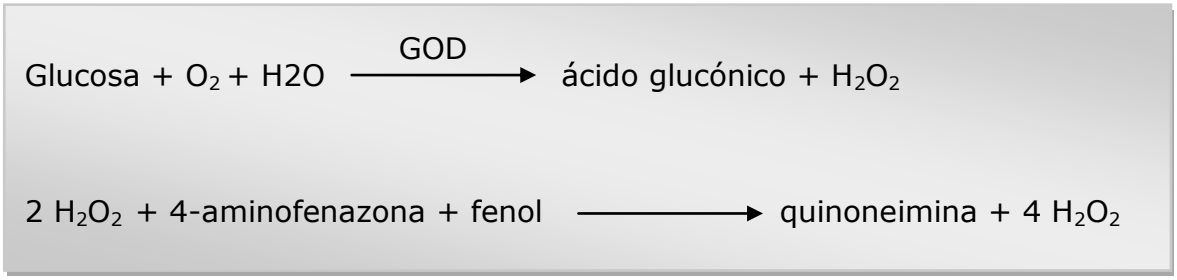


Figura 6. Principio de la reacción de Glucosa
Fuente: Teuscher y Richterich, (1971); Barham y Trinder, (1972)

3.4. Ecosistema acuático

En los mares y océanos de todo el mundo los microorganismos son responsables de los procesos de descomposición de la materia orgánica (Atlas y Bartha, 2002). El agua dulce continental en forma de ríos y las filtraciones de agua subterránea se encuentra con el agua de mar en los estuarios y de manera característica los estuarios son más productivos que el mar y que las aguas continentales (Day, 1950) debido a que los nutrientes transportados por los ríos son depositados en los esteros. Además, los estuarios se caracterizan por mantener un gradiente de salinidad baja en la parte alta y alto cerca de la desembocadura (Curie, 1994). Todos los esteros están sujetos al flujo de las mareas, puesto que los nutrientes que llegan procedentes de los ríos oscilan a través del estuario debido al flujo de las mareas en un movimiento neto hacia el mar abierto (Atlas y Bartha, 2002).

El neustón es la capa que sirve como hábitat favorable para microorganismos fotoautótrofos, debido a que los productores primarios tienen acceso ilimitado al dióxido de carbono atmosférico y a la radiación luminosa. En la superficie de esta microcapa se da un enriquecimiento de algunos nutrientes minerales y en algunos metales. La microbiota autóctona característica del neustón comprende algas, bacterias, hongos y protozoos (Valkanov, 1968). En ambientes acuáticos los microorganismos son agentes activos en el reciclado de minerales y en la biodegradación de la materia. Las bacterias descomponedoras y las poblaciones fúngicas son muy importantes en estuarios costeros y el total de biomasas fúngica viva puede aumentar más del 10 por ciento de la comunidad total durante la degradación de los brotes vegetales, los cuales están compuestos en su mayor parte por celulosa, hemicelulosa y lignina (Paul y Clark, 1996).

La participación bacteriana en la degradación de los brotes ocurre principalmente sobre las partículas caídas en el cuerpo de agua e implica la producción de exoenzimas y la captura de los productos disueltos (Atlas y Bartha, 2002). Tanto en condiciones aeróbicas como anaeróbicas los macro y microorganismos comparten la capacidad de degradar nutrientes orgánicos sencillos y algunos biopolímeros como almidón, celulosa, pectina y proteínas (Flanagan, 1978).

3.4.1. Principales microorganismos descomponedores

3.4.1.1. Bacterias

Las bacterias desempeñan un papel central en la transformación de la materia y en el flujo de energía en los ecosistemas acuáticos ya que participan en el intercambio de elementos químicos en las fases suelo-agua y agua-atmósfera (Fenchel et al., 1998).

La fase inicial del ataque microbiano se caracteriza por la rápida pérdida de materia orgánica fácilmente descomponible. Las moléculas mayores deben primero ser degradadas a moléculas más pequeñas por enzimas secretadas al exterior por la propia bacteria (exoenzimas). En el caso de las bacterias Gram negativas estas exoenzimas se encuentran localizadas fundamentalmente en el espacio periplásmico (ubicado entre la membrana externa y la membrana citoplasmática), mientras que en las bacterias Gram positivas están ancladas en la membrana citoplasmática. Estas enzimas son activas sobre: proteínas, polisacáridos, lípidos y ácidos nucleicos entre otros (Lynd et al., 2002). Estas enzimas pueden ser constitutivas (se sintetizan siempre) o inducibles (se sintetizan sólo cuando está presente su substrato); es difícil determinar cuáles son los mínimos nutrientes necesarios para que la bacteria sobreviva y se multiplique, sin embargo, considerando los componentes celulares, se afirma que las bacterias necesitan fundamentalmente: agua, fuente de Carbono, Nitrógeno (N_2), Azufre (S), Dadores de H_2 y receptores de H_2, Iones inorgánicos (P, K, Mg), elementos trazas u oligoelementos, los nutrientes que se encuentran en el medio que rodea a las bacterias deben proporcionar las condiciones físico-químicas apropiadas, que favorezcan el crecimiento bacteriano, tales como, temperatura, presión osmótica y pH (Atlas y Bartha, 2002; Forbes et al., 2002; Artijas, 2008; Felix et al., 2010).

Las Bacterias Acido Lácticas (BAL) son bacterias estrictamente fermentativas, crecen a un pH entre 4,8 y 9,6 y no forman esporas. Pueden ser bacilos y cocos Gram positivos, inmóviles, catalasa y oxidasa negativos, anaerobias aerotolerantes. Este tipo de bacterias promueve la fermentación de materia orgánica y descomponen materiales como lignina y celulosa (Zhou et al., 2009); poseen la capacidad de inhibir a otros microorganismos debido a la producción de sustancias antimicrobianas como ácido láctico, peróxido de hidrógeno y bacteriocinas (antibacterianos), o sustancias parecidas a antibióticos como acidofilina, lactocidina producidas por *Lactobacillus acidophilus,* lactolina producida por *Lactobacillus plantarum*y, nisina producida

por *Streptococcus lactis,* (Visser et al., 1986). De igual manera las BAL son productores de nistatina y de ácidos orgánicos como ácido acético, butírico, capróico, propiónico, ácido 4-hidroxi-feniláctico y ácido-3-fenilacético reconocidos como antifúngicos (Lowe y Arendet, 2004; Ström, 2005; Yanagida et al*.,* 2006).

3.4.1.2. Actinomicetos

Los actinomycetes son bacterias filamentosas Gram positivas, son procariontes que mineralizan la materia orgánica que hongos y bacterias verdaderas generalmente no degradan y estos son abundantes en suelos, pero también encontradas en ambientes acuáticos dulceacuícolas y marinos**.** (Cross, 1981; Jensen y Fenical, 1994). Son aerobios heterótrofos principalmente, formadores de esporas y con alto contenido G+C (70 – 74%) en su DNA. El género principal es *Streptomyces* cuyo olor característico a tierra húmeda se debe a compuestos volátiles como la geosmina. Especies de la familia Streptomycetaceae se encuentran extensamente distribuidas y estudiadas debido a la producción de metabolitos secundarios como enzimas inhibitorias extracelulares que funcionan como antibióticos (Lezhava et al*.,* 1995; Samac y Kinkel, 2001; Leiva et al., 2004; Schlatter et al*.,* 2009).

Son capaces de degradar moléculas complejas y sustancias recalcitrantes como celulosa, lignocelulosa, xilano y lignina; adicionalmente juegan un importante papel en el proceso de descomposición de material orgánico, debido a sus enzimas líticas (González et al., 2009; Sousa et al., 2008; Zhou et al., 2009; Lynd et al., 2002). Dentro de los microorganismos capaces de degradar celulosa, Solans y Vobis (2003) demuestran que los actinomicetos y en especial los *Streptomyces* poseen cerca de un 33% de actividad degradadora de celulosa. Aunque, también se sabe que son capaces de producir otras enzimas degradadoras como: catalasa, amilasa, lipasa, celulasas y xilanasas que actúan en la descomposición de materia orgánica (Jiménez, 2011).

3.4.1.3. Hongos

Los hongos poseen características fundamentales tales como: Todos son heterótrofos (quimioorganótrofos), teniendo que alimentarse de materia orgánica preformada que utilizan como fuente de energía; poseen una pared celular rígida formada por polisacáridos, polipéptidos y quitina; debido a la rigidez de la pared celular no pueden fagocitar partículas alimenticias sino que absorben nutrimentos simples y solubles que obtienen al desintegrar polímeros mediante enzimas extracelulares llamadas despolimerasas; y presentan talo o micelio. (Bresinsky, 1986; Méndez, 2008).

Los hongos acuáticos se pueden distribuir en cuatro grupos:

Phycomicetes: Presentan formas de propagación flageladas y por esta razón parecen especialmente adaptados a medio acuático.

Hifomicetes: "Hongos imperfectos" tienen un micelio septado, que generalmente se encuentran en tejidos vegetales en descomposición. Estos hongos son los responsables de los procesos de colonización y degradación del material vegetal que cae en la superficie de los cuerpos de agua, permitiendo que otros organismos presentes en el ecosistema acuático lo utilicen para su alimentación.

Ascomicetes: Dentro de este grupo se encuentran las levaduras y estas se podrían considerar como el tipo biológico de hongos mejor adaptados a vivir suspendidos en el agua.

Basidiomicetes: dentro de este grupo pertenecen los hongos lignolíticos o hongos de la pudrición blanca (Santamarina et al., 1997).

Los hongos por medio de la secreción de enzimas hidrolíticas desempeñan un papel fundamental en la depolimerización de los componentes orgánicos, de los diferentes residuos, en el medio acuático y terrestre (Marx et al., *2001*). Por tanto, los hongos son unos de los grupos principales y fundamentales en los procesos de degradación de la materia orgánica, puesto que la producción de estas enzimas extracelulares son potencialmente útiles en la degradación del sustrato ya que estas hidrolizan moléculas grandes como el almidón, celulosa, hemicelulosa, pectina, lípidos y ácidos nucleicos (Cruz et al*., 2009*). Entre estas enzimas las más importantes son celulasas, hemicelulasas, proteasas, lipasas, fosfatasas y arisulfatasas (Mondini et al., 2004).

Los hongos filamentosos producen una gran cantidad de xilanasas extracelulares en comparación con las levaduras y bacterias que los hace ser los principales degradadores de xilano (Kulkarni et al., 1999; Lynd et al., 2002; Pham et al., 1998). Así mismo, los hongos también son responsables de la mayor celulosis en la naturaleza (Ferrer et al*.,* 2011), por la eficiencia y diversidad de sus sistemas celulolíticos, y sus ventajas adaptativas (Ramos y Forchiassin, 1996).

Por otra parte los hongos de la pudrición Ascomycotas y Basidiomycotas son importantes en el proceso de descomposición de la madera hasta su mineralización, esto debido a la actividad de su complejo enzimático especializado de peroxidasas, lacasas y celulasas deshidrogenasa, que tienen gran importancia en el ciclo del carbono (Chaparro y Rosas, 2006). Los troncos de madera contienen azucares en las columnas de las brácteas del parénquima que se encuentran longitudinalmente. Por tanto, cuando los restos de árboles (ramas, tocones hojas etc) caen, las columnas son rápidamente colonizadas por hongos que pueden cambiar el color de la madera (Ej. *Trichoderma* spp.). Una vez ocurrido esto, la madera se vuelve accesible solo para los hongos de la pudrición (Ascomycota y en especial Basidiomycota) (Chaparro y Rosas, 2006), los cuales atacan la madera e invaden sus células para obtener alimento.

De acuerdo al modo de ataque y de las condiciones en que los hongos crecen las principales categorías en la descomposición son:

La pudrición blanda: Ocurre cuando el daño causado por el microorganismo es superficial. Es causada por Ascomycetes y Deuteromycetes los cuales generan una destrucción localizada de la celulosa alrededor de la hifa, formando una cavidad en la pared secundaria (Chaparro y Rosas, 2006).

La pudrición café: Causada principalmente por basidiomicetes, los cuales degradan las hemicelulosas y las celulosa despolimerizada (Chaparro y Rosas, 2006).

La pudrición blanca: Degradan profunda y completamente los componentes lignocelulósicos (Rayner y Boddy, 1988).

3.4.1.4. Microalgas

Una propiedad muy conocida de las microalgas es la producción de enzimas extracelulares, tales como; amilasa, proteasa, lipasa, celulasa y fosfatasa que participan en los procesos de degradación de la materia orgánica (Rodríguez, 2010); Los géneros *Cholorococcum y Spongiococcum* producen enzimas proteolíticas extracelulares y enzimas amilolíticas (Archibal y Bold, 1970; Deason, 1976), *Chlorella, Ankistrodesmus y Scenedesmus* poseen la habilidad de degradar gelatina y en diatomeas tales como *Navícula* y *Nitzschia* se ha descubierto actividad agarolítica, proteolítica, y fosfatasa (Tanaka y Ohwada, 1987).

3.4.*2. Mecanismos de degradación de la materia orgánica*

La materia orgánica sujeta a la degradación microbiana proviene de remanentes vegetales, restos de animales y plancton. Los microorganismos tienen capacidad de producir exoenzimas degradadoras de compuestos orgánicos en las aguas a fin de generar sustratos más asimilables para su crecimiento y metabolismo. (Rodríguez, 2010). Durante la descomposición de los residuos vegetales, la materia orgánica se biodegrada transformándose en pequeñas moléculas con fracciones solubles en agua a un ritmo variable. Así, los compuestos hidrolizados o fermentados se solubilizan y algunos de estos alcanzan la mineralización rápidamente, como las proteínas y carbohidratos, mientras que los constituyentes de las membranas vegetales se descomponen lentamente (Gutiérrez *et al.,* 2008); entre ellos, las celulosas y hemicelulosas se degradan más rápido que las ligninas; esta primera etapa de descomposición da origen a precursores de cadenas alifáticas como péptidos, polisacáridos y aminoazúcares (Chaparro y Rosas, 2006).

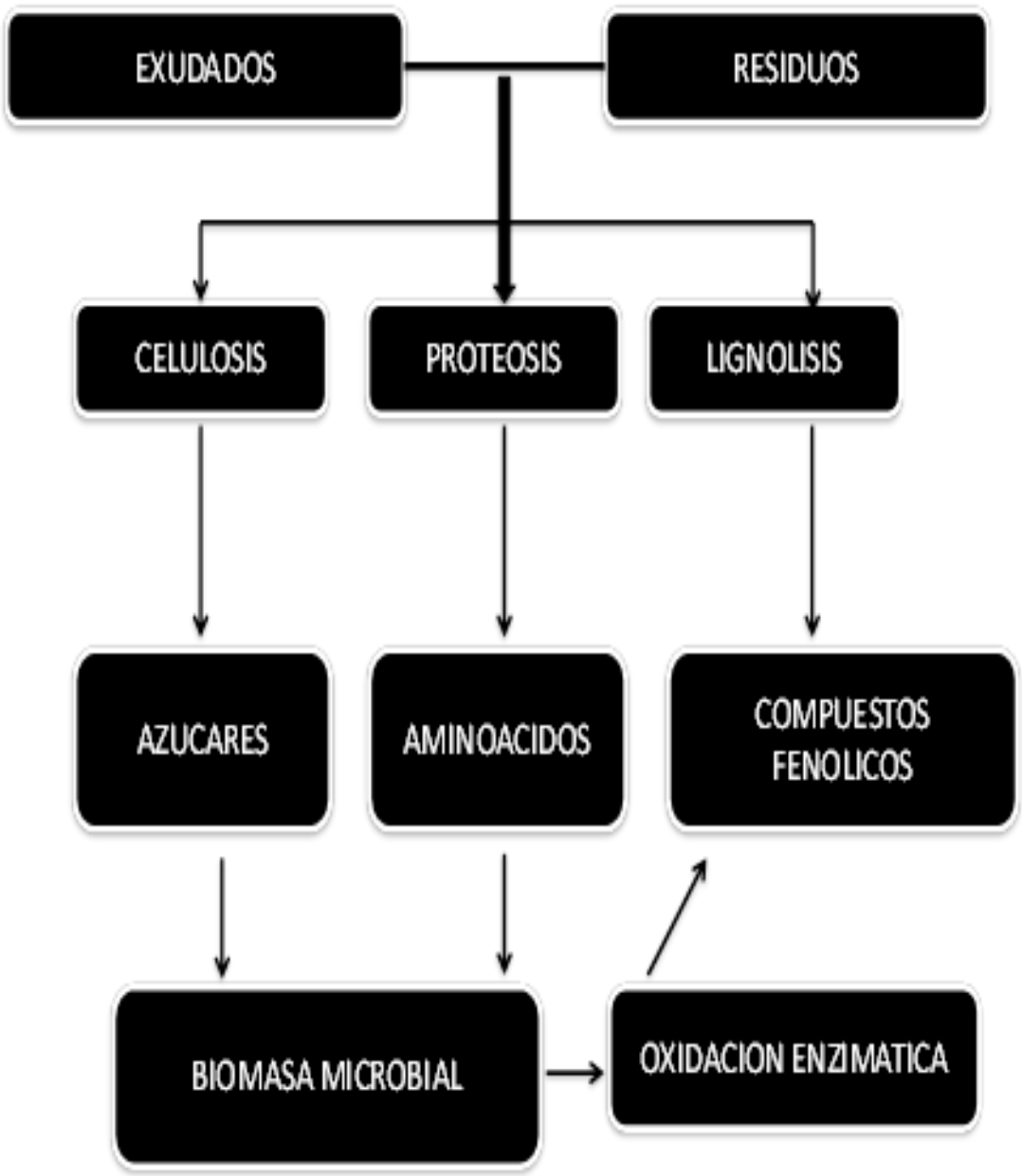


Figura 7. Iniciación proceso de humificación.

3.4.2.1. Degradación de celulosa

La celulosa es uno de los componentes más abundantes de la biomasa vegetal. En su forma nativa se compone de una cadena lineal de unidades de glucosa con enlaces glicosídicos β- 1,4 (Fan y Lee, 1980). Y constituye una abundante fuente de carbono, limitada a los microorganismos capaces de hidrolizar los enlaces glicosídicos β- 1,4, debido al complejo sistema de enzimas denominadas celulasas o celulolíticas (Ferrer et al., 2011). Dentro de las enzimas que participan en el proceso de degradación de materia orgánica, las celulasas son una de las más importantes, puesto que participan en el ciclo del carbono mediante la degradación de desechos vegetales (Gutiérrez et al., 2008). Esta hidrólisis es llevada a cabo por tres enzimas (i) la endo β-1,4 glucanasa (β-1,4 glucano glucanohidrolasa), (ii) la exo β- 1,4 celobiohidrolasa y (iii) la β-1,4 glucosidasa (Chaparro y Rosas, 2006*;* Zhang et al., *2*006; Ferrer et al., 2011). La endo β-1,4 glucanasa hidroliza aleatoriamente los enlaces β-1,4 glucosídico intramoleculares accesibles de cadenas de celulosa, para producir oligosacáridos de varias longitudes. La exo β-1,4 celobiohidrolasa cliva los extremos no reductores del sustrato, generando unidades de celobiosa o glucosa y por último la β-1,4 glucosidasa, completa el proceso hidrolítico convirtiendo los fragmentos de celobiosa a glucosa o removiendo glucosa desde los extremos no reductores de pequeños celoligosacárido (Chaparro y Rosas, 2006; Zhang, et al., *2*006). Finalmente la glucosa libre puede ser tomada por las células microbianas como fuente de carbono (Chaparro y Rosas, 2006).

Tanto las bacterias como los hongos y los actinomycetes, aerobio, anaerobios, mesófilos y termófilos que ocupan una variedad de hábitat son capaces de degradar celulosa (Gaitan y Pérez, 2007) debido a la síntesis de las celulasas (Jiménez, 2011; Stutzerberger, 1972; Ceroni y Gutierrez, 1988; Barbosa y de Queiroz, 1996).

Tabla 5. Microorganismos celulolíticos

Grupos de microorganismos celulolíticos	Género
Hongos	*Trichoderma reesei*
	Phanerochaetes chrysosporium
	Fusarium solani
	Penicillum funiculosum
	Trichoderma koningii
	Trametes sp
	Aspergillus sp.
	Mucor sp.
	Geotrichum sp.
	Rhizoctonia sp.
	Paecilomyces sp.
	Cladosporium sp.
	Bulgaria sp.
	Chaetoium sp
Bacterias aerobias	*Cellulomonas sp.*
	Microbispora bispora
	Thermomoospora sp.
	Cytophaga sp.
	Pseudomonas sp.
	Thermobifidia sp.
Bacterias anaerobias	*Acetivibrio cellulolyticus*
	Butivibrio sp.
	Bacteroides cellulosolvens
	Bacteroides succinogenes
	Clostridium cellulovorans
	Clostridium thermocellum
	Ruminococcus albus
	Ruminococcus flavefaciens
Actinomicetos	*Streptomyces drozdowiczii*
	Streptomyces cellulolyticus
	Thermonospora curvata
	Thermonospora chromogena,
	Thermonospora alba
	Thermomobifidia fusca

Fuente. Lynd et al., (2002); Semedo et al., (2004); Grigorevski et al., (2005); Li (1997); Ramírez y Coha (2003)

3.4.2.2. Degradación de Xilano

El xilano es el segundo polisacárido más abundante después de la celulosa. Sin embargo, es degradado más rápidamente que la celulosa, principalmente por hongos filamentosos (Pham et al., 1998) debido a su alta producción de xilanasas extracelulares (Kulkarni et al., 1999; Lynd et al., 2002).

La xilanasa es un heteropolisacárido que puede ser segregado de manera constitutiva o inducida. La degradación del xilano, es llevada a cabo por un grupo de enzimas como la endo-β-D-xilanasas que rompe los enlaces glicosídicos al azar; la arabinofuranosidasa hidroliza las cadenas laterales de arabinosa; la acetilxilanesterasa libera grupos acetatos; la glucoronidasa remueve las cadenas laterales de ácido glucurónico a partir de unidades de xilosa; la β-xilosidasas son enzimas activas sobre oligosacáridos cortos, llevando a cabo la hidrólisis de los enlaces β-1,4-aril-xilopiranósido produciendo xilosa (Ponce y Pérez, 2002).

3.4.2.3. Degradación de Quitina

La quitina es un homopolímero insoluble, formado por residuos de N-acetil-D-glucosamina unida por enlaces β-1,4. Su estructura es similar a la de la celulosa exceptuando el grupo hidroxilo (-OH) presente en el carbono dos de la celulosa. Este polímero se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza como un componente estructural de hongos, insectos, crustáceos y protozoos (Mukherjee y Sen, 2007).

Al igual que el xilano, la quitina es otro de los compuestos más abundantes del planeta y se encuentra relacionado con protección y resistencia en animales inferiores como crustáceos, zooplancton, fitoplancton y hongos con excepción de los oomicetos. Es un polisacárido insoluble y se encuentra en formas tales como alfa-quitina, beta-quitina y gama-quitina (Sastoque, 2005; Yoon et al*.,* 2000). El proceso biológico de la degradación de quitina es llevado a cabo mediante la acción de quitinasas que hidrolizan el enlace glicosídico β-1,4; estas enzimas forman parte del sistema quitinolítico junto a las quitobiosas, enzimas de acción sinérgica y consecutivas presentes en *Streptomyces*.

Muchos *Streptomyces* pueden utilizar la quitina como única fuente de carbono. Por lo tanto, pueden degradar la pared celular de hongos. En los actinomicetos, específicamente en *Streptomyces,* se han descrito muchas quitinasas de tipo endo y exocelulares. Incluso, algunos microorganismos llegan a poseer una gran variedad de quitinasas como el caso de *S. lividans que posee* tres enzimas para hidrolizar las diferentes clases de quitina que se encuentran en la naturaleza (Yoon et al*.,* 2000).

3.4.2.4. Degradación de lignina

La lignina es un polímero con una alta concentración de anillos aromáticos y un profundo grado de polimerización (Castillo, 2004). Por tanto, le confiere una protección física a la celulosa y la hemicelulosa contra el ataque enzimático debido a su alta resistencia a la descomposición; la lignina es eficientemente degradada en la naturaleza, principalmente por los hongos de la pudrición blanca o hongos lignolíticos (Basidiomicetos) que atacan y metabolizan la mayor parte de los constituyentes de la madera, siendo capaces de

despolimerizar y metabolizar la lignina mediante la secreción de un complejo extracelular de enzimas oxidasas y peroxidasas que catalizan las primeras reacciones. Rompiendo las uniones dentro de la compleja molécula de lignina para generar moléculas más pequeñas (Chaparro y Rosas, 2006; Dávila y Vásquez, 2006; Córdoba, 2009).

La habilidad de un microorganismo de degradar lignina, se debe al funcionamiento de diversas enzimas; las más importantes son la lignina peroxidasa (LiP), manganeso peroxidasa (MnP) y las lacasas (Selvam *et al.,* 2003), las cuales pueden estar presentes en dependencia de la especie de hongo o el sustrato. Estas enzimas inician el proceso de degradación de la lignina por la mediación de la enzima lignina peroxidasa (LiP), la cual rompe enlaces C-C o enlaces éter (C-O-C) de las cadenas arilpropano, formando en algunos casos monolignoles como el ácido ferúlico, que luego por la acción de enzimas peroxidasas (LiP y MnP) pasa a vainillina (Chaparro y Rosas, 2006).

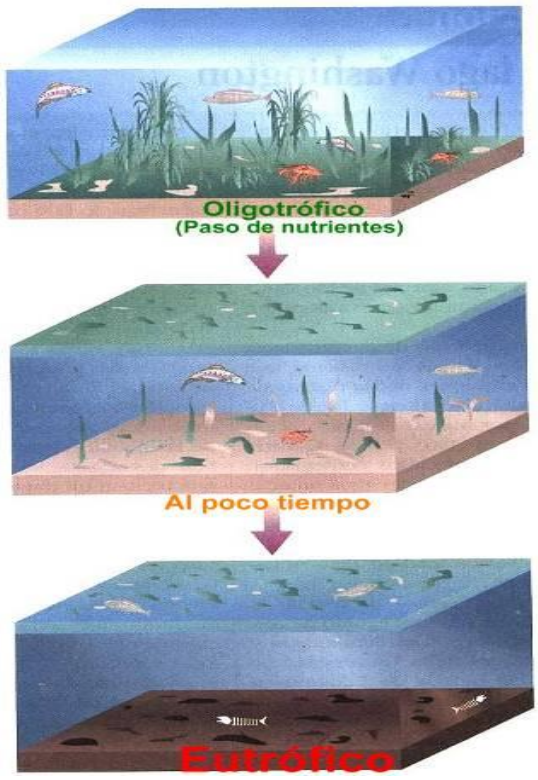
3.5. Eutrofización

La eutrofización en los cuerpos de agua es producto del incremento de las concentraciones de nutrientes, principalmente nitrógeno y fósforo que estimulan el crecimiento de algas. En las últimas décadas, el efecto del cambio climático y el crecimiento de la actividad industrial de la población, tales como diversas prácticas agrícolas, plantas de tratamiento de aguas servidas, escurrimiento urbano y la quema de combustibles fósiles han aumentado las aportaciones de nutrientes en los cuerpos de agua (Bricker et al., 1999). Se sabe que las algas se desarrollan cuando tienen presentes condiciones favorables como temperatura, sol y nutrientes. El enriquecimiento en nutrientes, en las aguas, produce un crecimiento excesivo de algas, las cuales al morir se depositan en el fondo de los ríos o lagos, generando residuos orgánicos que al descomponerse consumen gran parte del oxígeno disuelto, por lo que se propicia la muerte por asfixia de la fauna y flora, hasta el punto de matar el río o lago por completo (Nebel y Wright, 1999).

3.5.1. Efectos del proceso de eutrofización

Los ecosistemas acuáticos eutrofizados experimentan una alteración de la biota y de la diversidad biológica, la cual es provocada por la proliferación de cianofitas y macrófitas en demasía. El desarrollo de estos organismos provoca opacidad que impide la penetración de la luz hasta regiones profundas de la columna de agua. Bajo ese contexto las consecuencias directas son la imposibilidad de llevar a cabo la fotosíntesis en lugares cada vez menos profundos y por lo tanto, la disminución en la producción de oxígeno libre (Ackefors y Enell, 1992). Esta situación provoca que el fondo del ecosistema acuático se convierta de forma gradual en un ambiente anaerobio, y el consecuente aumento en la concentración de gases como anhídrido sulfuroso (H_2S), metano (CH_4) y anhídrido carbónico (CO_2) hace poco factible la vida de la mayoría de las especies que forman dicho ecosistema. Dándose por tanto, la

mortandad masiva de la biota acuática (Korhonen, 2012) debido a la acumulación de sustancias toxicas que reducen las condiciones óptimas de bienestar animal y vegetal, facilitando la aparición de organismos patógenos y vectores de enfermedades (Ackefors y Enell, 1992).



Primera Etapa (Oligotrófico)

- Agua clara
- La luz penetra
- Prospera la vegetación acuática sumergida

Segunda Etapa (Mesotrófico)

- Agua turbia
- La vegetación acuática sumergida queda en la oscuridad

Tercera Etapa (Eutrófico)

- Agotamiento del oxígeno
- Muerte de los vertebrados por sofoco

Figura 8. Esquema de las causas de la Eutrofización
Fuentes: Nebel y Wright (1999)

3.5.*2. Causas del proceso de la eutrofización*

Las principales causas antropogénicas pueden ser:

a. Una de las más antiguas causas es la descarga de aguas residuales, las cuales son ricas en nutrientes, contribuyendo al cambio trófico del cuerpo de agua receptor.

b. El uso excesivo de fertilizantes genera la contaminación del agua mediante el aporte de nitrógeno (en forma de sales de nitrato y amonio) y fósforo (como fosfato).

c. La deforestación y la erosión en suelos agrícolas influyen en la carga de nutrientes, debido a que los escurrimientos al pasar por una tierra que no tiene protección lavan la capa fértil, llevándose consigo los nutrientes.

La presencia de gases ambientales tales como óxidos de nitrógeno (NO_2) y óxidos de azufre (SO^2) al entrar en contacto con el agua atmosférica forman ion nitrato (NO-3) e ion sulfato (SO-24) que forman sales solubles al alcanzar el suelo con los cationes del mismo, generando un empobrecimiento de dichos iones. Dichas sales son volcadas fácilmente en los cuerpos de agua, dando lugar a un proceso de eutrofización (Ackefors y Enell, 1992).

La eutrofización de los cuerpos de agua es de preocupación, debido a que puede tener muchas consecuencias negativas. Estos incluyen impactos ecológicos (como el deterioro de la calidad del agua y la pérdida de la diversidad biológica), estéticos, recreativos y efectos en la salud humana. Que finalmente repercuten en la economía de los países (National Eutrophication, 2002).

3.5.3. Principales modificaciones del incremento de nutrientes en el ambiente fisicoquímico del agua y del sedimento.

El aumento de la carga de nutrientes determina una mayor biomasa de productores primarios y secundarios en el sistema, que se traduce en una notoria modificación de la transparencia y coloración del agua producto del incremento del fitoplancton (Moss, 1996). Por tanto, la excesiva generación de materia orgánica supera la capacidad de degradación del sistema, determinando su acumulación en el sedimento, condicionando la distribución de la concentración de oxígeno disuelto en la columna de agua. Por otro lado, en los sistemas poco productivos la concentración de oxígeno disuelto está determinada principalmente por factores físicos (fundamentalmente por la temperatura) y no se observan diferencias muy notorias entre las capas superficiales y profundas (Moss y Phillips, 1996; Scheffer, 1998). El aumento de la productividad promueve diferencias verticales en la concentración de oxígeno, registrándose valores elevados en superficie producto de la actividad fotosintética y valores cercanos a cero en el fondo, resultado de la degradación de la materia orgánica (Wetzel, 2001).

Cuando la respuesta al proceso de eutrofización es el desarrollo excesivo de plantas flotantes libres, el intercambio gaseoso entre la columna de agua y la atmósfera se ve limitado, registrando condiciones de hipoxia o anoxia en toda la columna de agua (Moss y Phillips, 1996; Scheffer, 1998). El déficit de oxígeno contribuye al predominio de la descomposición anaeróbica que genera gases sulfhídrico o metano, lo que se traduce en problemas de olor y sabor del agua. El aumento de la productividad primaria también determina variaciones

diarias del pH en la columna de agua debido a que el consumo de CO_2 por los procesos fotosintéticos basifica el agua, mientras que los procesos de descomposición acidifican el agua debido a la liberación de CO_2. Si bien durante el proceso de eutrofización la concentración de nutrientes aumenta considerablemente, la elevada actividad fotosintética puede determinar que las fracciones disueltas directamente asimilables como el amonio (N-NH4+), el nitrato (N-NO3) y fósforo reactivo soluble (principalmente PO4-3) presenten valores muy bajos o indetectables debido a su alta tasa de incorporación (Gorga et al., 2002).

Figura 9. Efecto de la eutrofización en los cuerpos de agua.
Fuente: (Gorga et al., 2002)

4. MATERIALES Y METODOS

4.1. Área de estudio.

El presente estudio se realizó en el río Estero Real, Departamento de Chinandega, Nicaragua. La zona de estudio tiene una longitud de 23 Km; dividos en 10 puntos de muestreo (P).

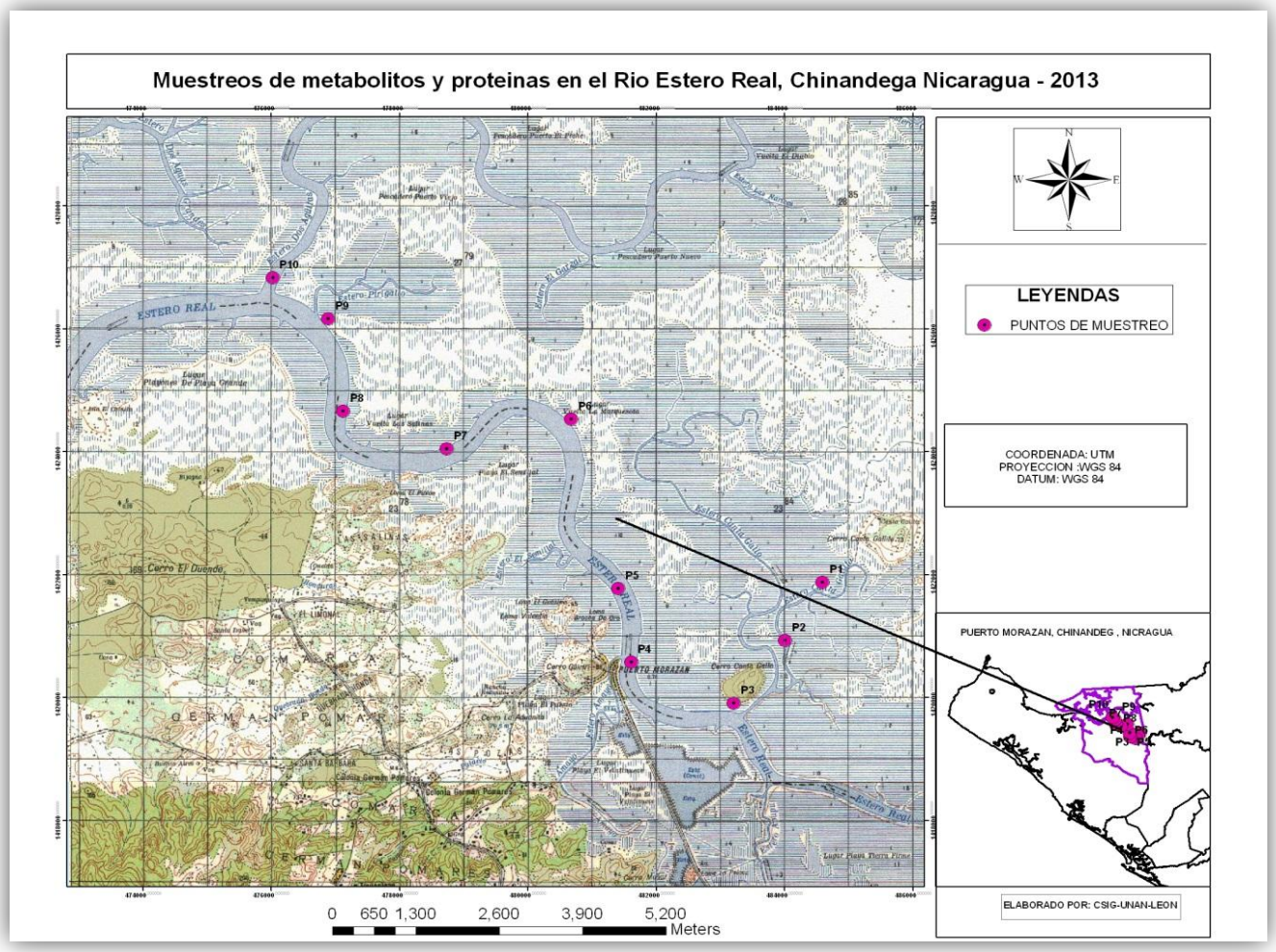


Figura 10. Mapa de puntos de muestreos. (P1: Herrera Membreño: N 12º51.730', W 087º08.539'; P2: San Martin N 12º51.205', W 087º08.844'; P3: Empalme N 12º50.632', W 087º09.235'; P4: Puerto Morazán: N 12º50.984', W 087º10.193'; P5: Carlos Fonseca: N 12º51.909', W 087º10.505'; P6: Langostinos: N 12º56.147', W 087º10.695'; P7: El Semillal: N 12º52.868', W 087º11.740'; P8: La Treinta: N 12º53.229', W 087º12.637'; P9: AGRIMAR I: N 12º53.993', W 087º12.774'; P10: AGRIMAR II: N 12º54.419', W 087º13.252').

Tabla 6. Coordenadas puntos de muestreo en el Río Estero Real, Nicaragua.

Puntos	Localidades	Longitud	Latitud
P 1	Herrera Membreño	87°08.539'	12°51.730'
P 2	San Martin	87°08.844'	12°51.205'
P 3	Empalme	87°09.235'	12°50.632'
P 4	Puerto Morazan	87°10.193'	12°50.984',
P 5	Carlos Fonseca	87°10.505'	12°51.909'
P 6	Langostino	87°10.695'	12°56.147',
P 7	El Semillal	87°11.740'	12°52.868',
P 8	La treinta	87°12.637	12°53.229'
P 9	AGRIMAR I	87°12.774'	12°53.993'
P 10	AGRIMAR II	87°13.252'	12°54.419'

4.2. Metodología experimental para la toma de muestras

Los muestreos se hicieron una vez al mes (Mayo-Octubre) realizando un recorrido que inicio en la Cooperativa Herrera Membreño (P1) y finalizo en AGRIMAR II (P10), siempre entre las 10 y 11 de la mañana, en marea alta.

El procedimiento para la realización de la toma de datos fue el siguiente:

1. Los parámetros fisicoquímicos se midieron a una profundidad de 20 cm de la superficie del cuerpo de agua, siempre en el centro del río.

2. Las muestras de agua y sedimento para la evaluación de cada uno de los parámetros de análisis (Proteína, glucosa y aminoácidos) se realizo usando el procedimiento que se muestra en la figura 11.

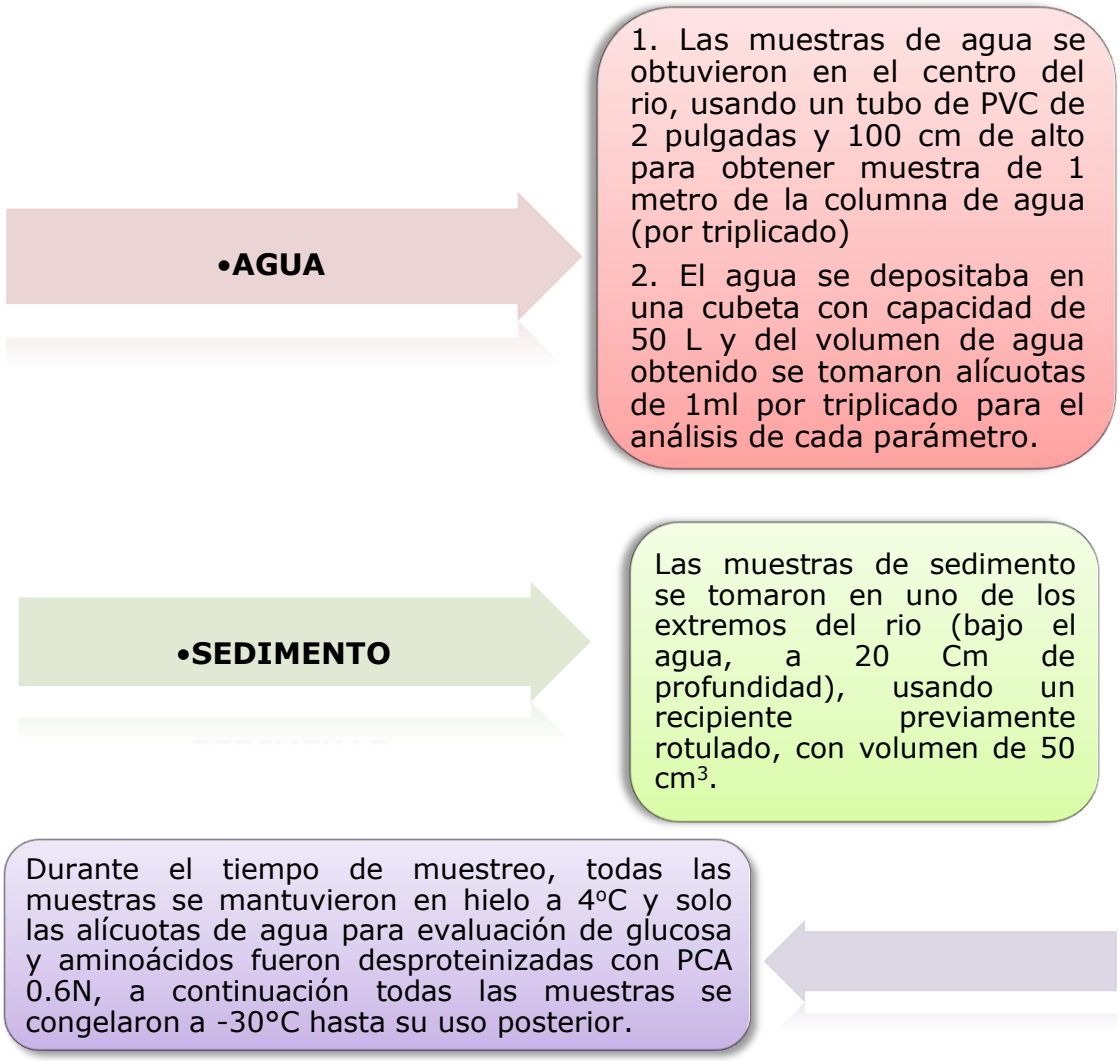


Figura 11. Toma de muestras de agua y sedimento.

4.3. Determinaciones Analíticas

4.3.1. Cuantificación de niveles de metabolitos libres en el cuerpo de agua

Procedimiento previo a la realización del análisis de las muestras para evaluar glucosa y aminoácidos:

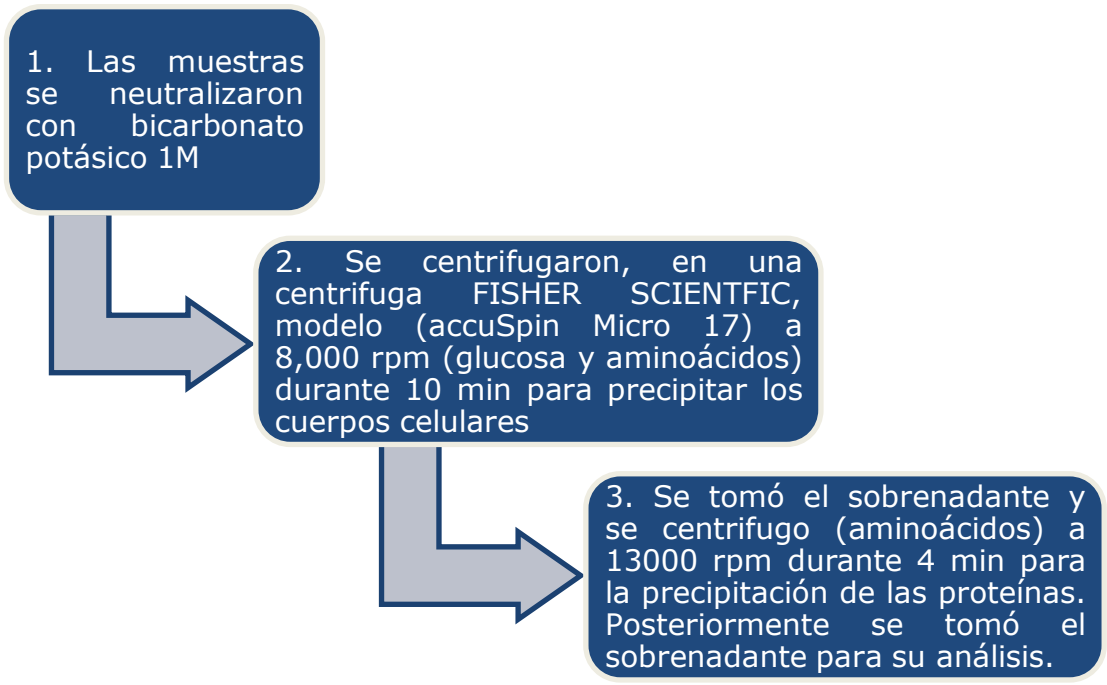


Figura 12. Procesamiento de muestras previo al análisis de glucosa y aminoácidos.

En cada ensayo experimental las muestras siempre se analizaron en paralelo con la curva de calibración dentro de la microplaca; a partir de la cual se extrapolaron los valores de concentraciones de las muestras.

4.3.1.1. Glucosa

En todos los experimentos los niveles de glucosa libre en agua se determinaron enzimáticamente utilizando un kit comercial (Spinreact, España) adaptado al formato de microplacas.

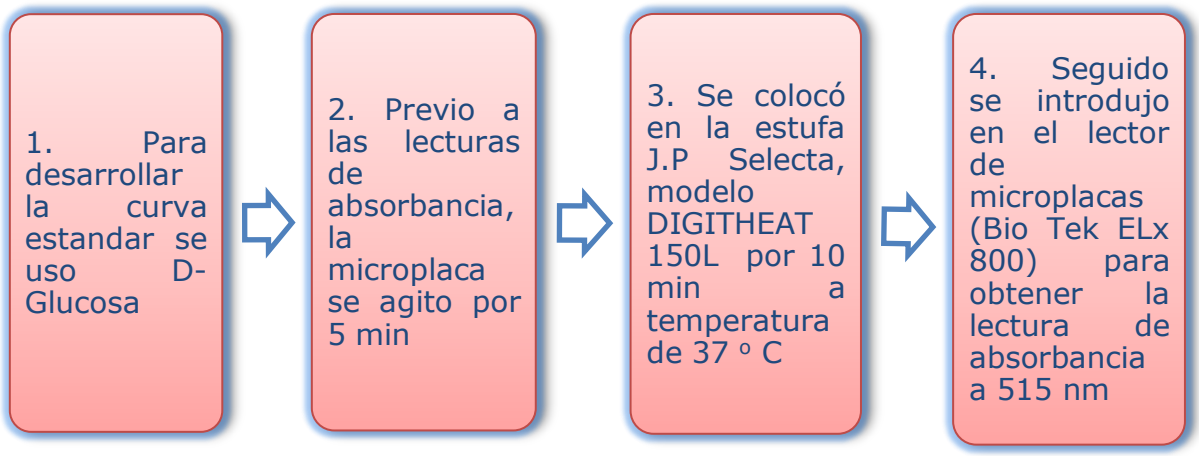


Figura 13. Pasos para el análisis de glucosa.

4.3.1.2. Aminoácidos

Los niveles de aminoácidos libres en agua, una vez obtenido el sobrenadante (apartado 4.3.1), se cuantificaron usando el método colorimétrico de la Ninhidrina propuesto por Moore (1968).

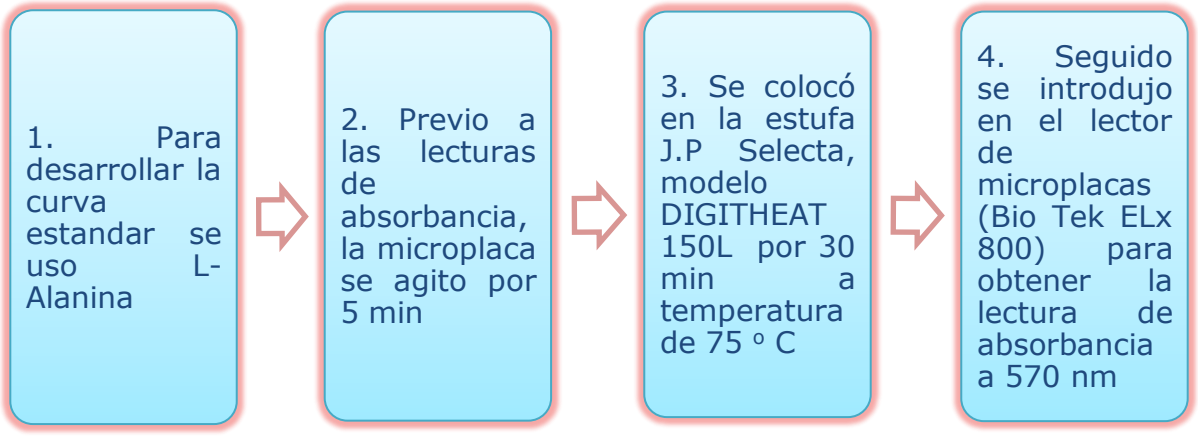


Figura 14. Pasos para el análisis de aminoácidos.

4.3.2. Cuantificación de niveles de proteínas libres en el cuerpo de agua

La cuantificación de los niveles de proteínas en agua, se hizo de acuerdo con el Método del Ácido Bicinconínico (Fujimoto et al., 1985).

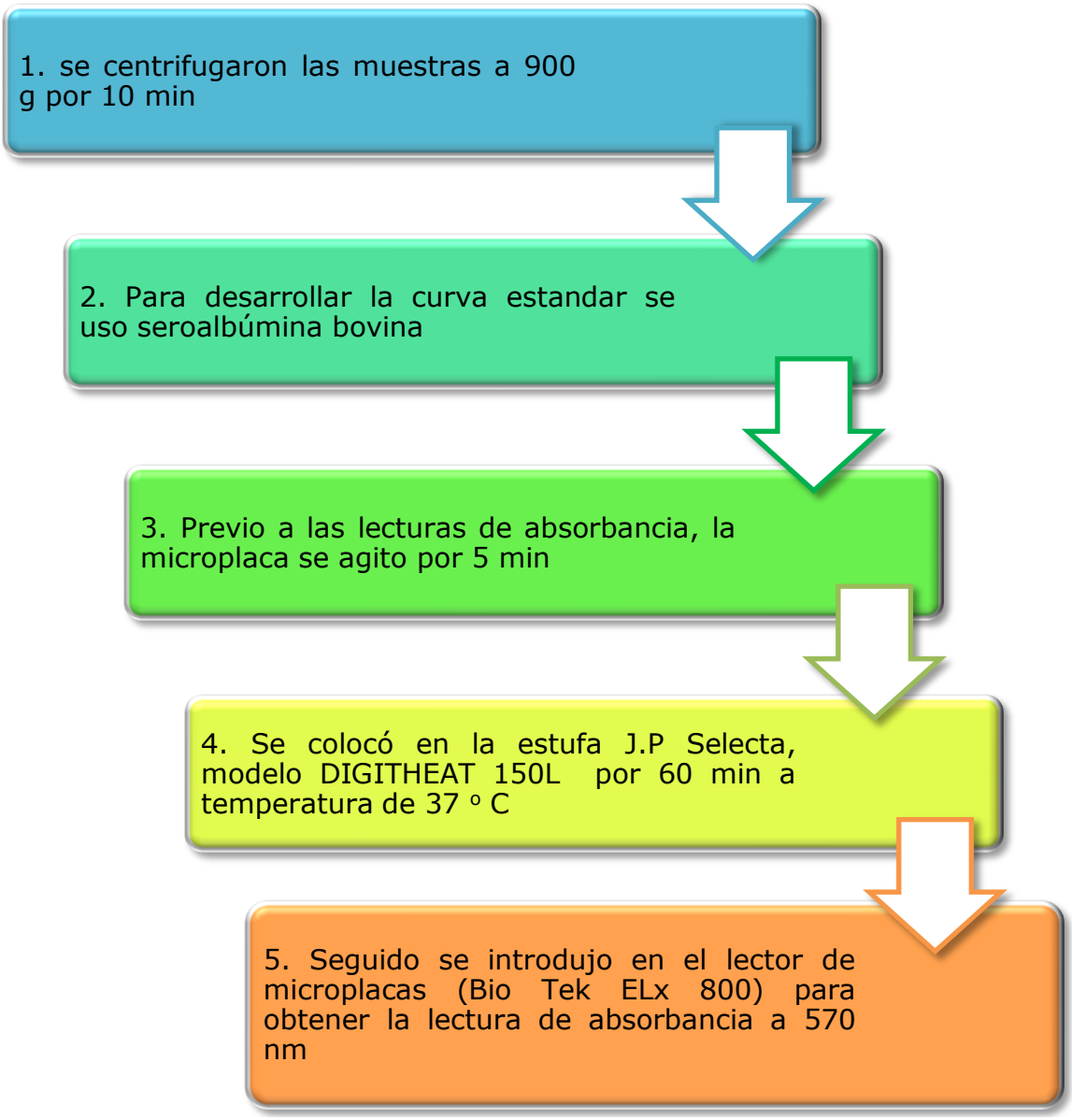


Figura 15. Pasos para el análisis de proteínas.

4.3.3. Cuantificación de niveles de proteínas, glucosa y aminoácidos en sedimento

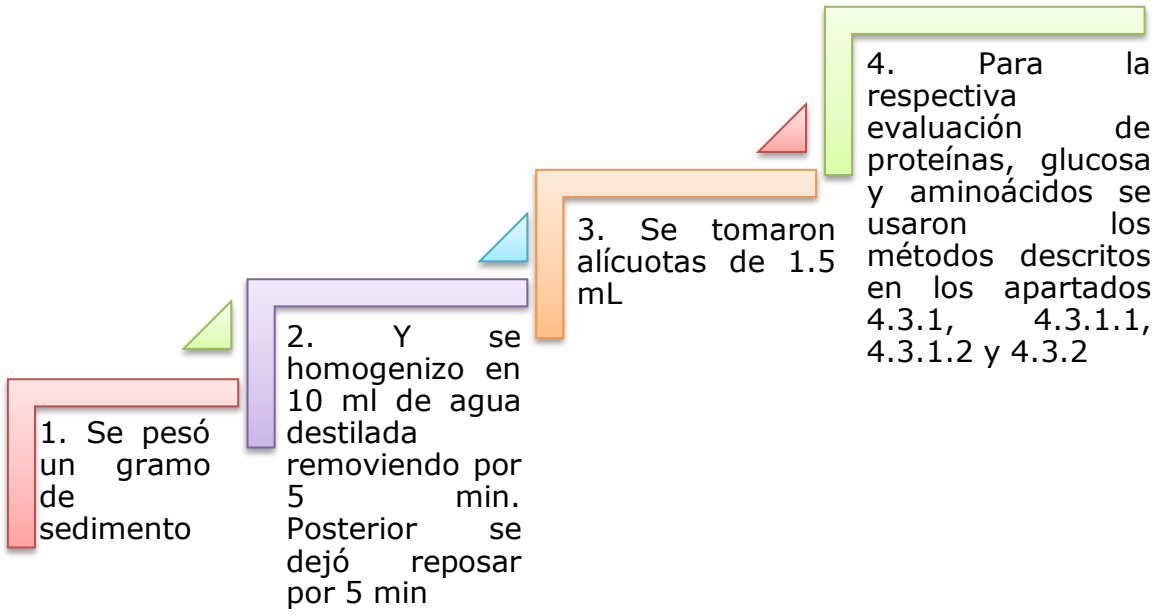


Figura 16. Pasos para el análisis de proteínas, glucosa y aminoácidos en muestras de sedimento.

4.4. Análisis Estadísticos

Para todos los experimentos la comparación entre los grupos se realizó usando Sigma Stat (SPSS Inc., Chicago, IL). Los datos se muestran como media ± E.E.M. de cada grupo y las diferencias entre ellos se evaluaron mediante un ANOVA de una vía. Tras los análisis de varianza se realizó el test de comparaciones múltiples de Student Newman Keuls. En todos los casos el nivel de significación se estableció con un valor de $P<0.05$. Previamente a estas pruebas estadísticas, se analizaron los datos mediante una prueba de normalidad (Shapiro-Wilks) y de homogeneidad de varianzas (prueba C de Cochran). La relación entre los parámetros fisicoquímicos y los niveles de metabolitos se determino usando el análisis de regresión por pasos hacia atrás para tomar solamente las variables con $P<0.001$.

5. RESULTADOS

5.1. Parámetros Físicos y Químicos

En la tabla 7.Se muestran los valores promedios obtenidos por mes para cada una de las variables (pH, Oxígeno Disuelto, Temperatura, Turbidez). En ella se observa que no existen diferencias significativas entre los valores obtenidos para las variables de turbidez, pH y temperatura; pero si existen diferencias significativas de los valores promedios de oxígeno disuelto en el mes de octubre (**3.15** mg/L) con respecto a los demás meses de estudio.

Tabla 7. Valores promedio de pH, Oxígeno Disuelto (mg/L), Temperatura (° C), Turbidez (cm). N=10. * indica diferencia significativa entre meses (P<0.05).

	Parámetros			
Meses	pH	$O_{2\ mg/L}$	T °C	Turbidez (Cm)
Mayo		1.763	31.41	
Junio	7.151	1.715	31.95	
Julio	6.956	1.863	31.29	
Agosto	7.158	1.93	32.19	35
Septiembre	6.969	1.51	30.17	22
Octubre	6.998	**3.15***	30.24	29

5.1.1. Turbidez

La tabla 8. De manera general, al observar el promedio de los tres meses de monitoreo encontramos que los cinco primeros puntos, son los sectores que presentan los valores más bajos del disco de Secchi; lo cual corresponde a que estos sitios del Río Estero Real son los que presentan mayor turbidez.

Tabla 8. Valores de Turbidez (cm) en cada punto de muestreo, en los meses de Agosto, Septiembre y Octubre. P1: Herrera Membreño, P2: San Martín, P3: Empalme, P4: Muelle Puerto Morazán, P5: Carlos Fonseca, P6: Plantel Langostino, P7: El Semillal, P8: Desagüe La Treinta P9: AGRIMAR I, P10: AGRIMAR II.

	AGOSTO	**SEPTIEMBRE**	**OCTUBRE**	**Promedio de tres meses de muestreo**
P 1	20	19	29	22
P 2	20	14	24	19
P 3	40	14	24	26
P 4	35	19	19	24
P 5	40	19	24	27
P 6	50	24	24	32
P 7	50	24	34	36
P 8	30	29	34	31
P 9	45	34	34	37
P 10	20	24	44	29
Promedio de diez puntos de muestreo	35	22	29	

La figura 17. Refleja que los valores de cada mes de muestreo presentan una tendencia decreciente en el tiempo. (b=-3). Los resultados del ANOVA de una vía, tras el Test de comparaciones de Student Newman Keuls (SNK) reflejan que el mes de Septiembre es el que presenta menor valor de Disco de Secchi por lo tanto el mayor valor de turbidez.

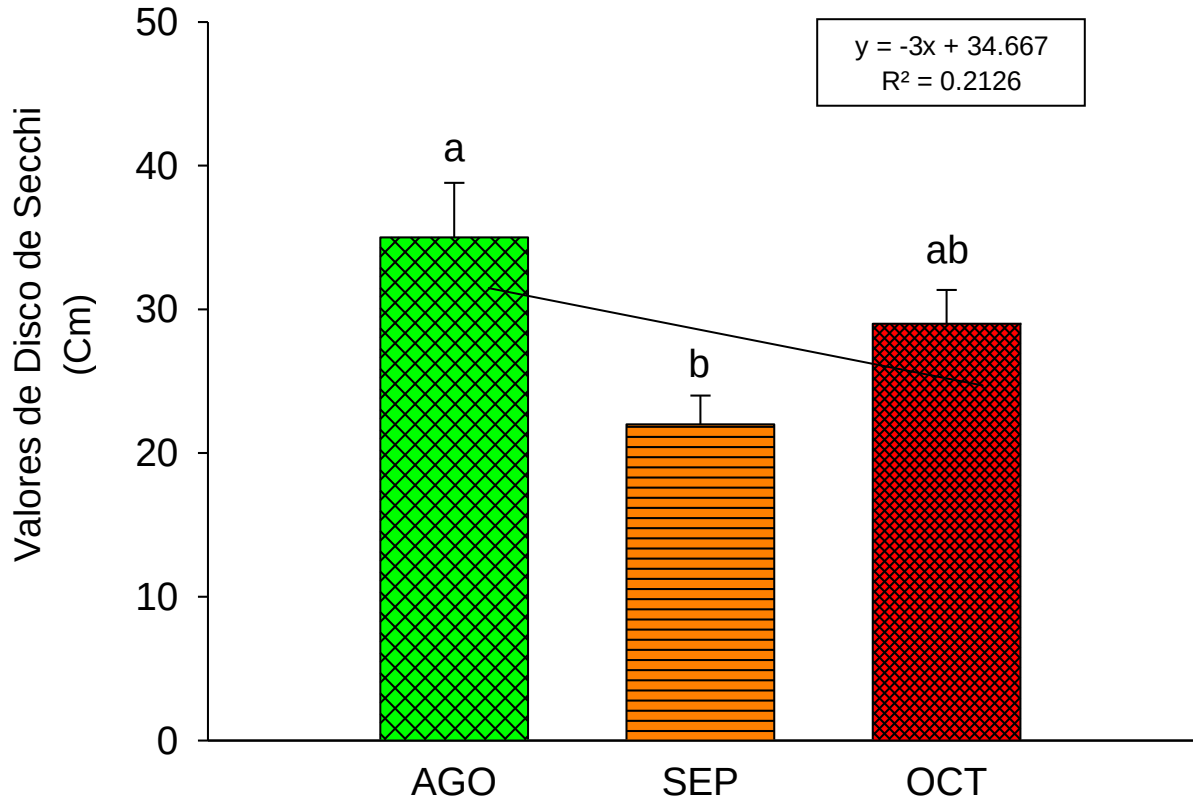


Figura 17. Valores promedio de disco de Secchi, en el tiempo. AGO: Agosto, SEP: Septiembre, OCT: Octubre. Cada valor se corresponde a la media ± EEM, N=10. Letras diferentes indican diferencias significativas (P<0.05) entre grupos.

5.1.2. Oxígeno Disuelto.

En la tabla 9. Se observan las concentraciones de oxígeno disuelto encontradas en cada punto de muestreo, en el tiempo; se refleja un leve incremento en los diez puntos de muestreos en el mes de octubre, con respecto a los meses anteriores.

Tabla 9. Valores de Oxígeno disuelto (mg/L) en cada punto de muestreo, en el tiempo. P1: Herrera Membreño, P2: San Martín, P3: Empalme, P4: Muelle Puerto Morazán, P5: Carlos Fonseca, P6: Plantel Langostino, P7: El Semillal, P8: Desagüe La Treinta, P9: AGRIMAR I, P10: AGRIMAR II.

	MAYO	JUNIO	JULIO	AGOSTO	SEPTIEMBRE	OCTUBRE
P 1	1.86	1.77	2.46	1.5	2.2	4.1
P 2	1.9	1.84	1.63	1.5	1.5	2.7
P 3	1.72	1.79	1.7	1.9	1.4	3.2
P 4	1.95	1.81	1.8	1.7	1.3	3.2
P 5	1.51	1.56	2.13	1.7	1.2	3
P 6	1.78	1.74	1.8	2	1.9	2.8
P 7	2.06	1.61	1.63	2.1	1.1	3.2
P 8	1.48	1.68	1.63	2.4	1.4	3
P 9	1.54	1.69	1.85	2.3	1.4	2.9
P 10	1.83	1.66	2	2.2	1.7	3.4

La figura 18. Muestra el comportamiento de las concentraciones promedios de oxígeno disuelto en los 6 meses de muestreo. Desde mayo a octubre se observa una leve tendencia a incrementar (b = 0.1825) siendo el mes de octubre el que presenta la mayor concentración de oxígeno disuelto, difiriendo significativamente de los meses anteriores.

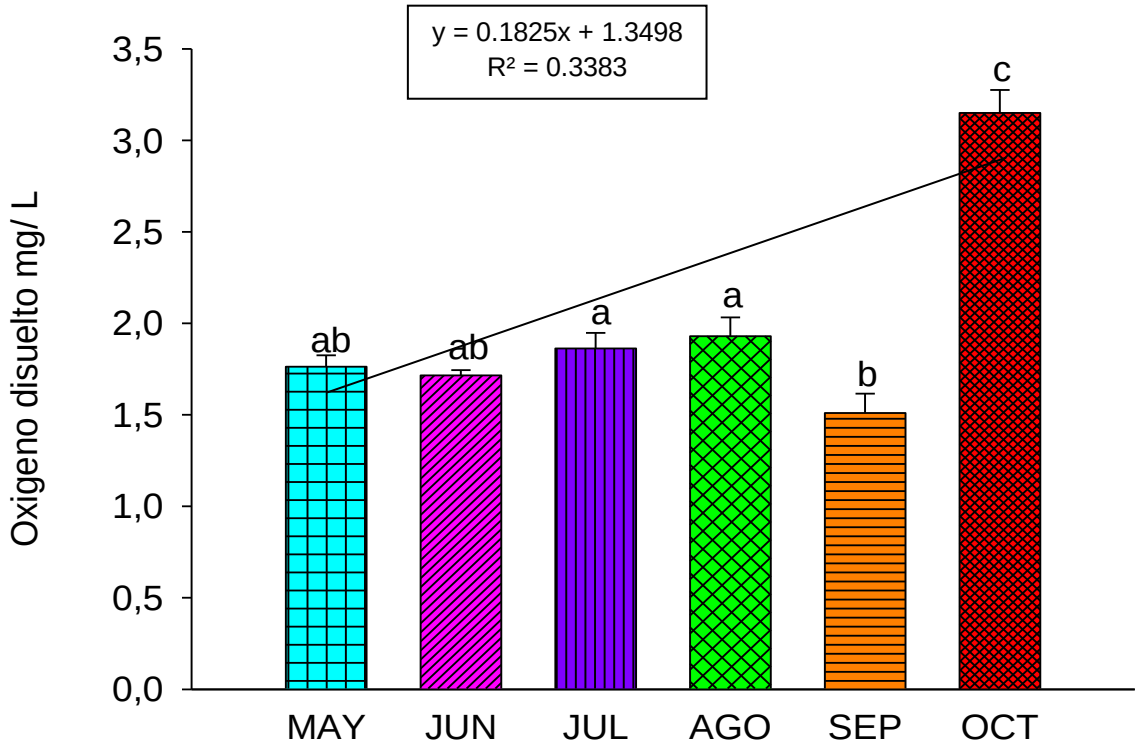


Figura 18. Valores promedio de la concentración de oxígeno disuelto (mg/L), en el tiempo. MAY: Mayo, JUN: Junio, JUL: Julio, AGO: Agosto, SEP: Septiembre, OCT: Octubre. Cada valor se corresponde a la media ± EEM, N=10. Letras diferentes indican diferencias significativas (P<0.05) entre grupos.

5.1.3. Salinidad

La figura 19. Muestra que todos los meses presentan el mismo comportamiento creciente de las concentraciones salinas a medida que los puntos se sitúan más cercanos a la boca del estero, y que los mayores rangos de estratificación salina a lo largo de nuestra área de estudio se experimentan en los meses de junio, julio y agosto, siendo el mes de julio el que presenta el mayor rango, con un valor de 12.5 ppm entre el punto 1 y el punto 10 de muestreo.

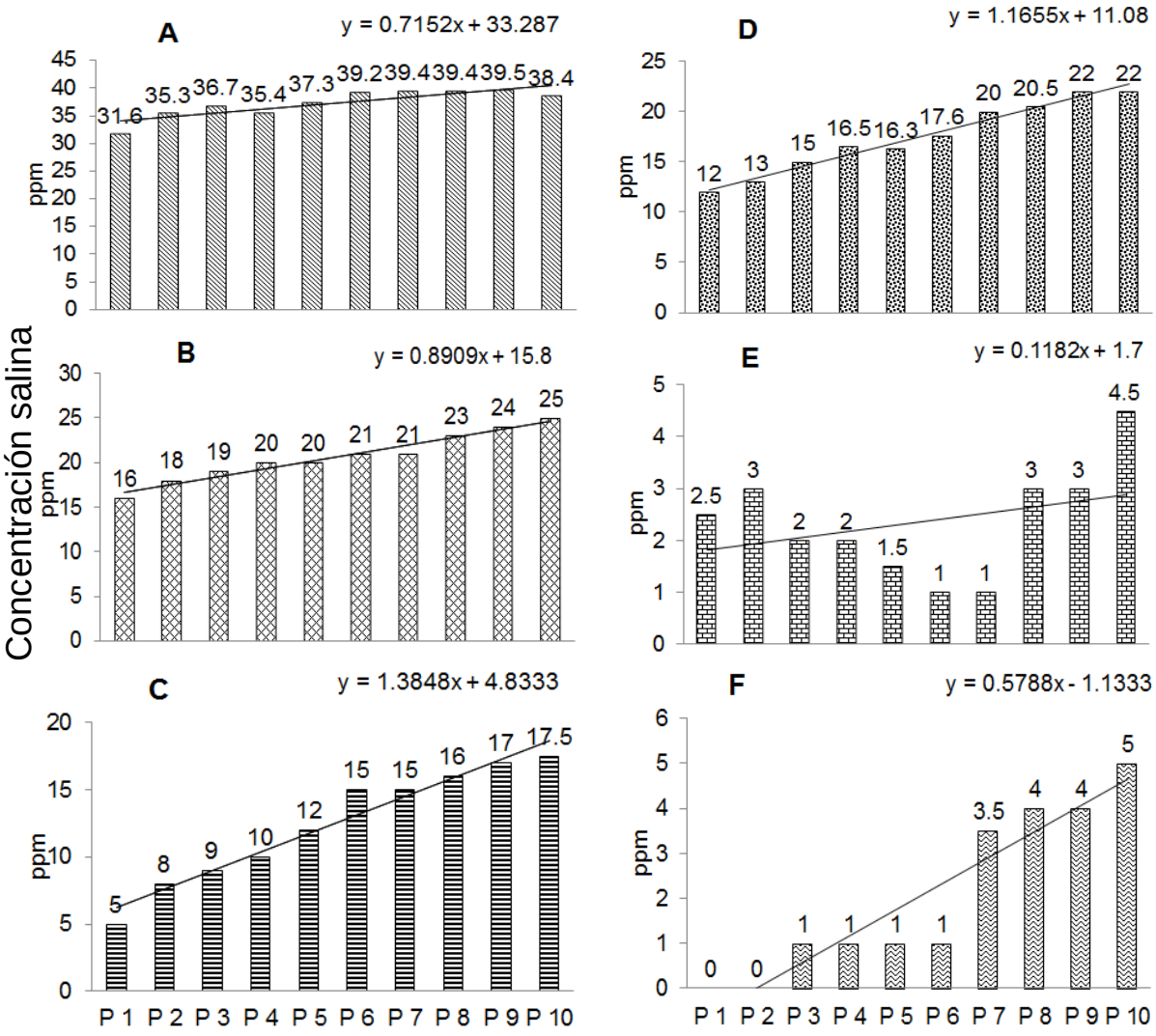


Figura 19. Concentración salina (ppm) en cada uno de los diez puntos de muestreo, en el tiempo. P1: Herrera Membreño, P2: San Martín, P3: Empalme, P4: Muelle Puerto Morazán, P5: Carlos Fonseca, P6: Plantel Langostino, P7: El Semillal, P8: Desagüe La Treinta, P9: AGRIMAR I, P10. A: Mayo, B: Junio, C: Julio, D: Agosto, E: Septiembre, F: Octubre.

En la figura 20. Se muestran los valores promedios de concentración salina de cada punto de muestreo, en el tiempo. Tras el análisis de varianza se observan, de manera general, diferencias significativas de las concentraciones salinas en las aguas del Estero Real, en todos los puntos de muestreos. Denotándose que a medida que entramos en el período lluvioso la concentración salina inicia un descenso hasta llegar a valores de cero en los primeros dos puntos de muestreos.

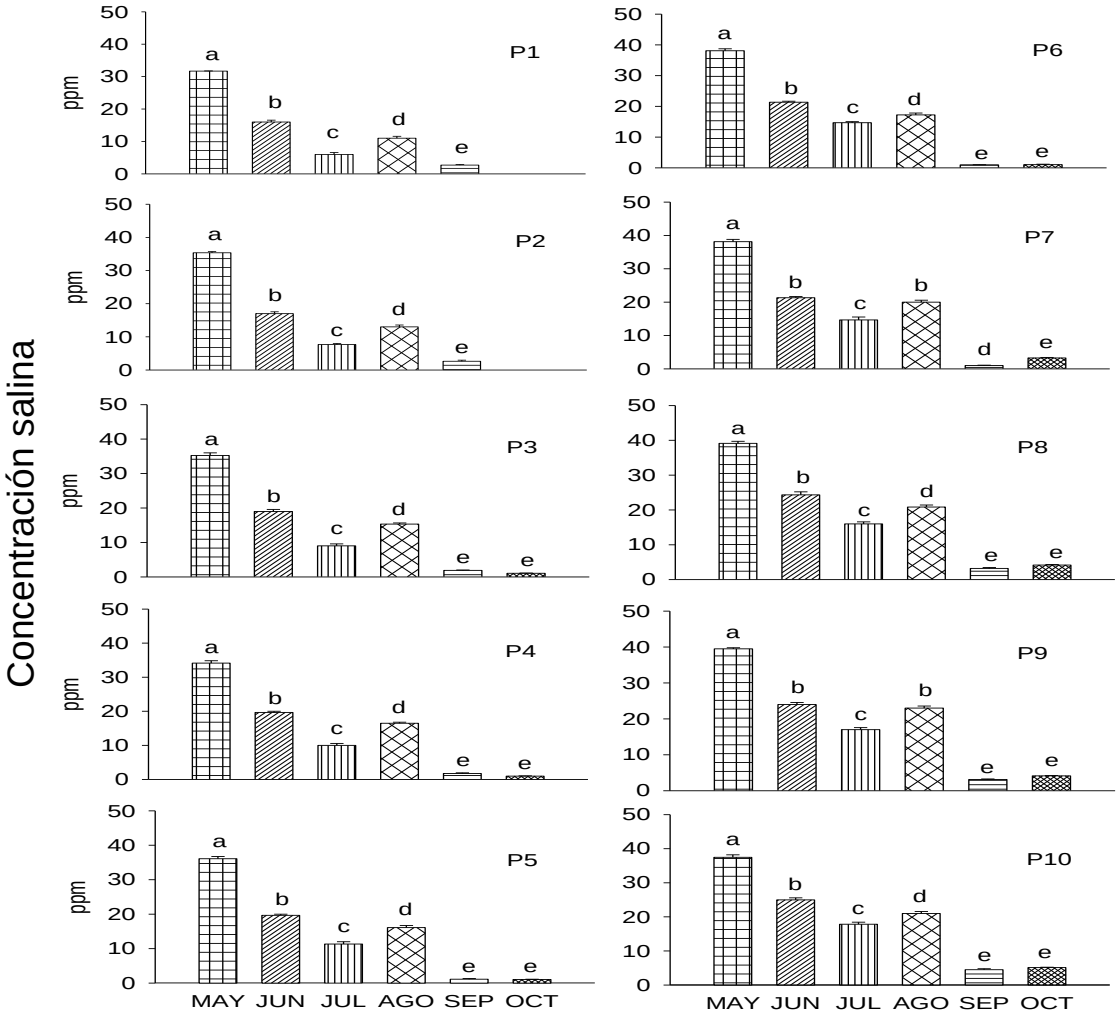


Figura 20. Valores promedio de la concentración salina (ppm) en cada punto de muestreo. P1: Herrera Membreño, P2: San Martín, P3: Empalme, P4: Muelle Puerto Morazán, P5: Carlos Fonseca, P6: Plantel Langostino, P7: El Semillal, P8: Desagüe La Treinta, P9: AGRIMAR I, P10: AGRIMAR II. MAY: Mayo, JUN: Junio, JUL: Julio, AGO: Agosto, SEP: Septiembre, OCT: Octubre. Cada valor se corresponde a la media ± EEM, N=3. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P<0.05$) entre grupos.

En la figura 21. Se muestran las concentraciones de salinidad promedio de cada mes de muestreo. Se observa que el comportamiento de la salinidad en el tiempo presenta una tendencia decreciente (b= -6.4531), obteniéndose la mayor concentración salina en el mes de mayo con un valor promedio de 36 ppm, y la menor en el mes de octubre con un valor promedio de 2 ppm.

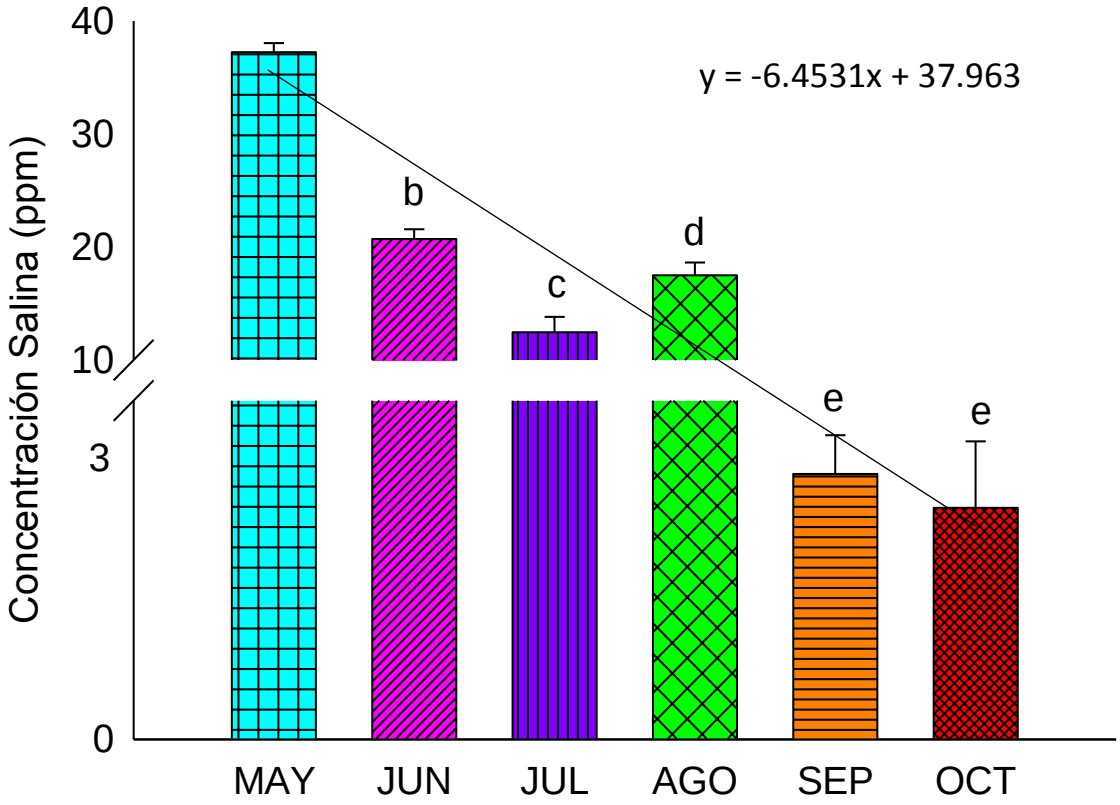


Figura 21. Valores promedio de la concentración salina (ppm) en el tiempo. MAY: Mayo, JUN: Junio, JUL: Julio, AGO: Agosto, SEP: Septiembre, OCT: Octubre. Cada valor se corresponde a la media ± EEM, N=10. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P<0.05$) entre grupos.

5.2. Proteína y Metabolitos

5.2.1. Proteínas y Metabolitos libres en el cuerpo de agua.

5.2.1.1. Proteínas

En la figura 22. Se observa, de manera general, que la concentración de proteína libre en agua presenta una ligera tendencia a incrementar del punto 1 al punto 10 de muestreo, en algunos meses. Sin encontrar diferencias significativas entre puntos.

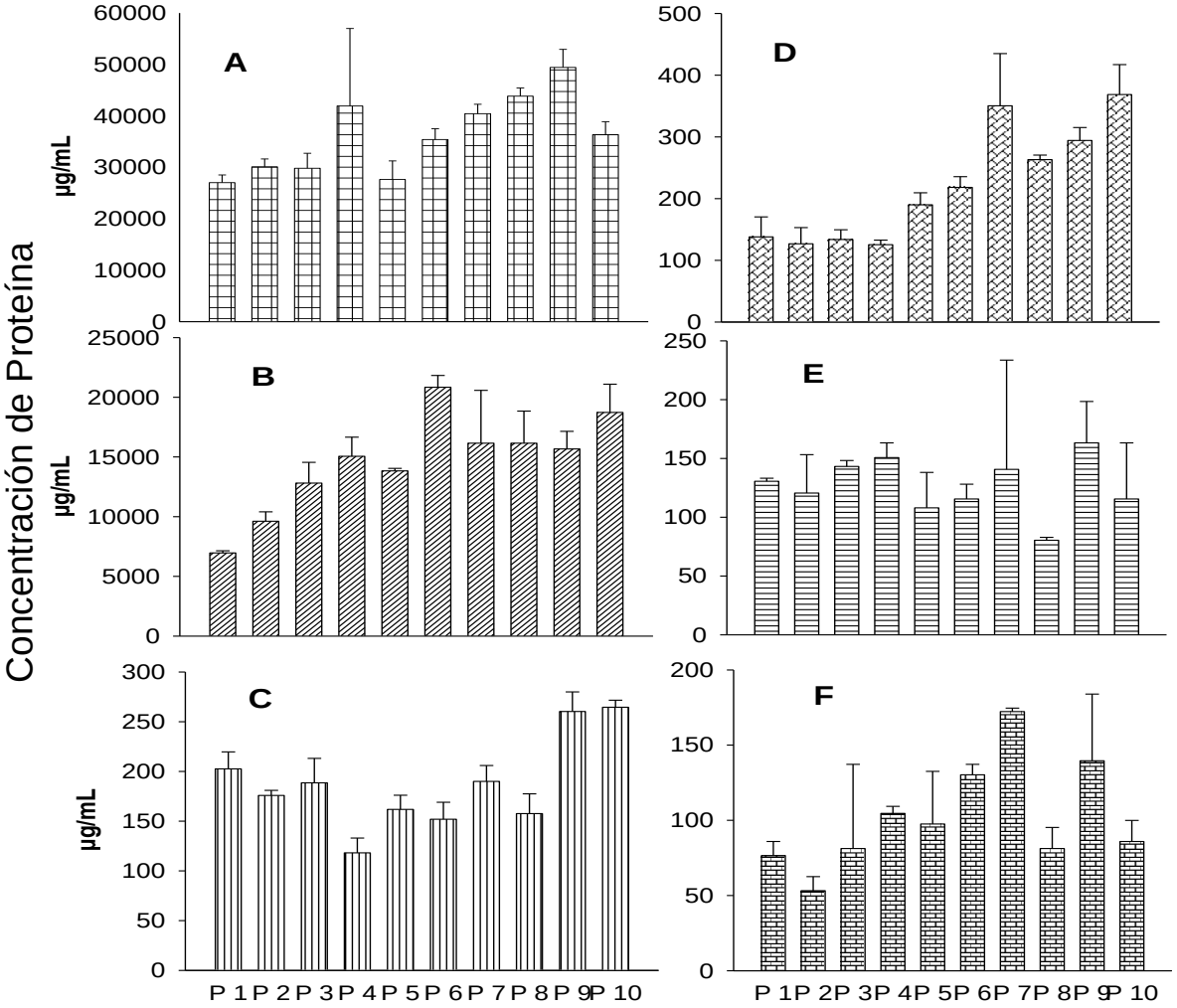


Figura 22. Concentración de proteína (µg/mL) en agua, en cada mes de muestreo. P1: Herrera Membreño, P2: San Martín, P3: Empalme, P4: Muelle Puerto Morazán, P5: Carlos Fonseca, P6: Plantel Langostino, P7: El Semillal, P8: Desagüe La Treinta, P9: AGRIMAR I, P10. A: Mayo, B: Junio, C: Julio, D: Agosto, E: Septiembre, F: Octubre. Cada valor se corresponde a la media ± EEM, N=3.

La figura 23. Muestra el promedio de las concentraciones de proteína obtenidas en cada punto de muestreo. De manera general, en todos los puntos de muestreo se observa una tendencia decreciente en el tiempo y los meses de mayo y junio son los que presentan las mayores concentraciones, difiriendo significativamente de los demás meses estudiados.

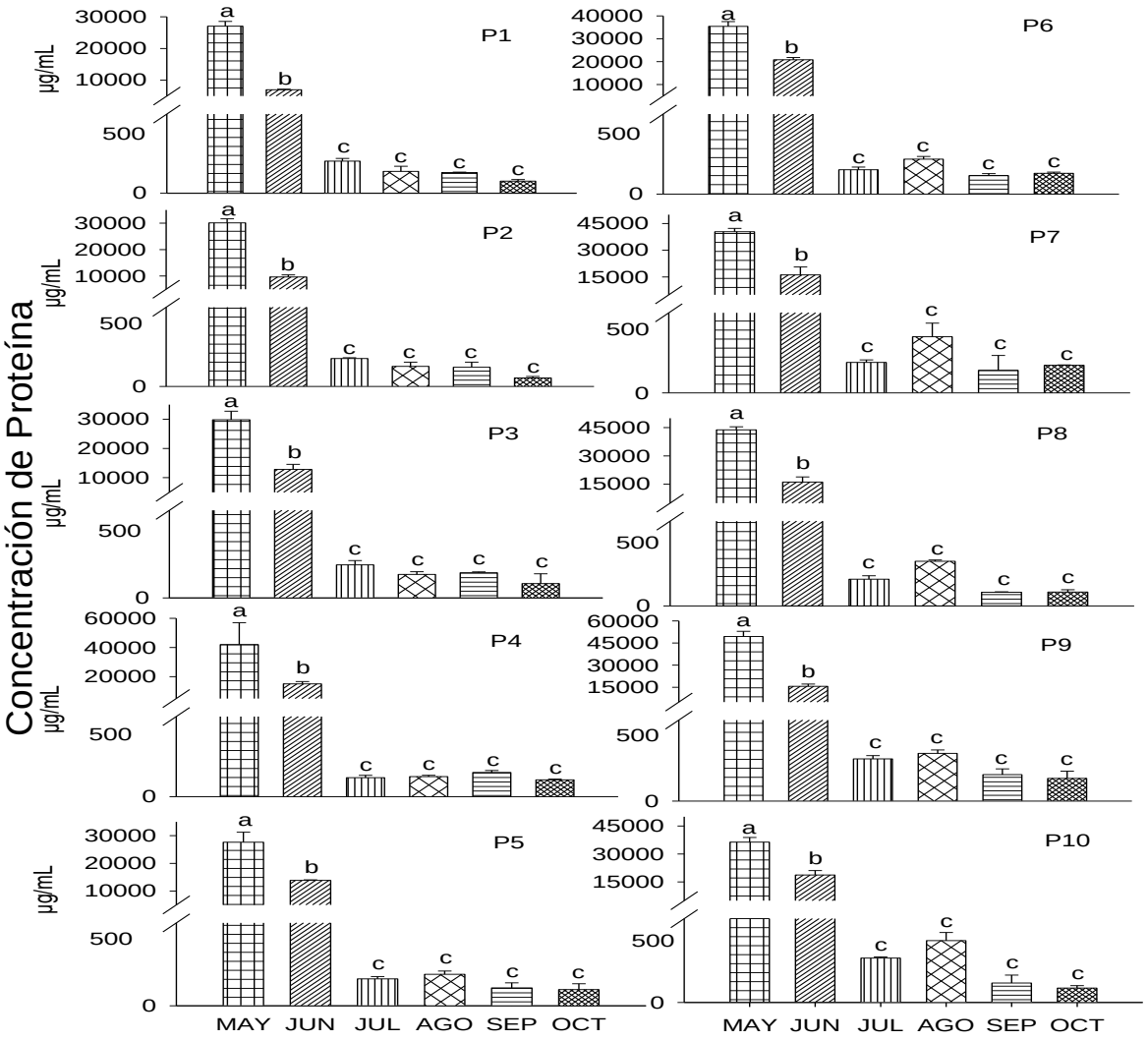


Figura 23. Valores promedio de la concentración de proteína (µg/mL) en agua, en cada punto de muestreo. P1: Herrera Membreño, P2: San Martín, P3: Empalme, P4: Muelle Puerto Morazán, P5: Carlos Fonseca, P6: Plantel Langostino, P7: El Semillal, P8: Desagüe La Treinta, P9: AGRIMAR I, P10: AGRIMAR II. MAY: Mayo, JUN: Junio, JUL: Julio, AGO: Agosto, SEP: Septiembre, OCT: Octubre. Cada valor se corresponde a la media ± EEM, N=3. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P<0.05$) entre grupos.

Los valores de las concentraciones promedios de proteína libres en el cuerpo de agua (figura 24) presentan una tendencia decreciente (b=-6.3947) a medida que avanzamos en el tiempo, siendo los meses de mayo y junio los que presentan diferencias significativas con respecto a los demás meses de estudio.

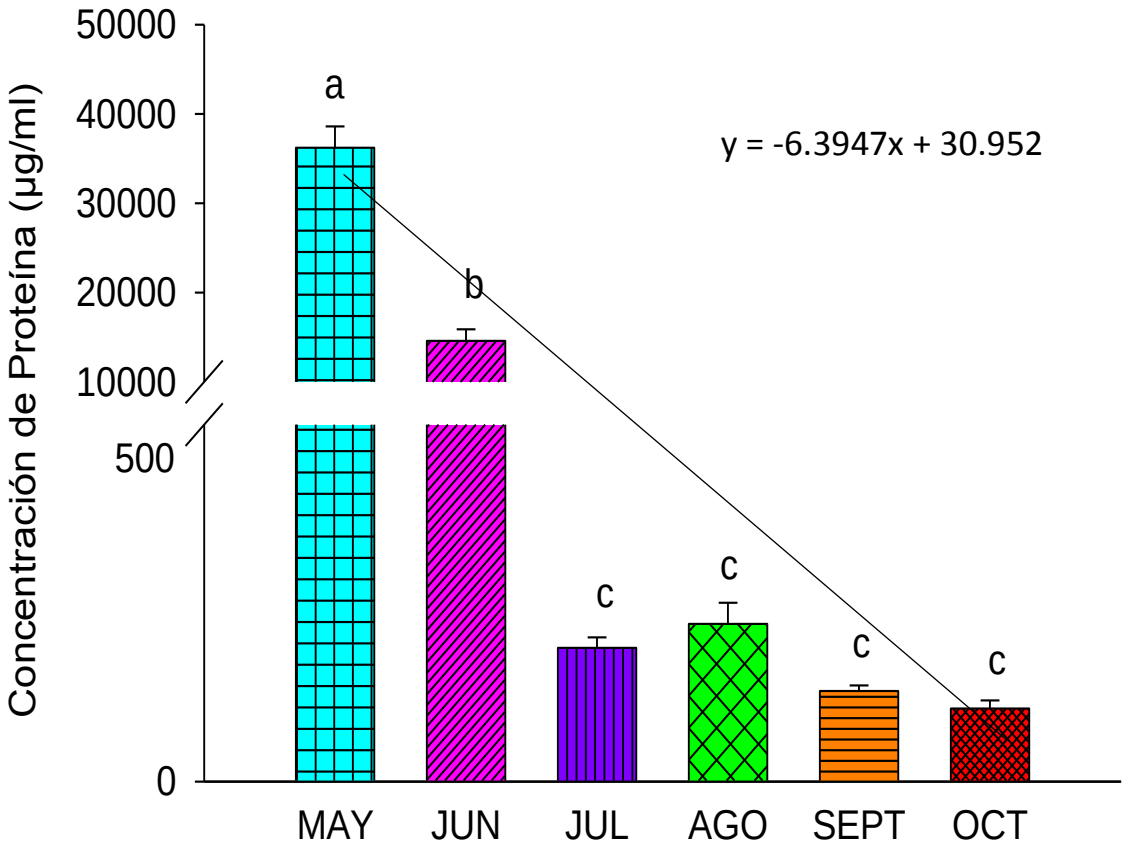


Figura 24. Valores promedio de la concentración de proteína (µg/mL) en agua, en el tiempo. MAY: Mayo, JUN: Junio, JUL: Julio, AGO: Agosto, SEP: Septiembre, OCT: Octubre. Cada valor se corresponde a la media ± EEM, N=10. Letras diferentes indican diferencias significativas (P<0.05) entre grupos.

5.2.1.2. Aminoácidos

Al analizar el comportamiento de los promedios de las concentraciones de aminoácidos libres en el sedimento no se observan tendencias de variaciones de las concentraciones entre puntos, en ninguno de los meses muestreados. Cabe destacar que las concentraciones de aminoácidos en los meses de septiembre y octubre son mayores con respecto a los cuatro meses anteriores (figura 25).

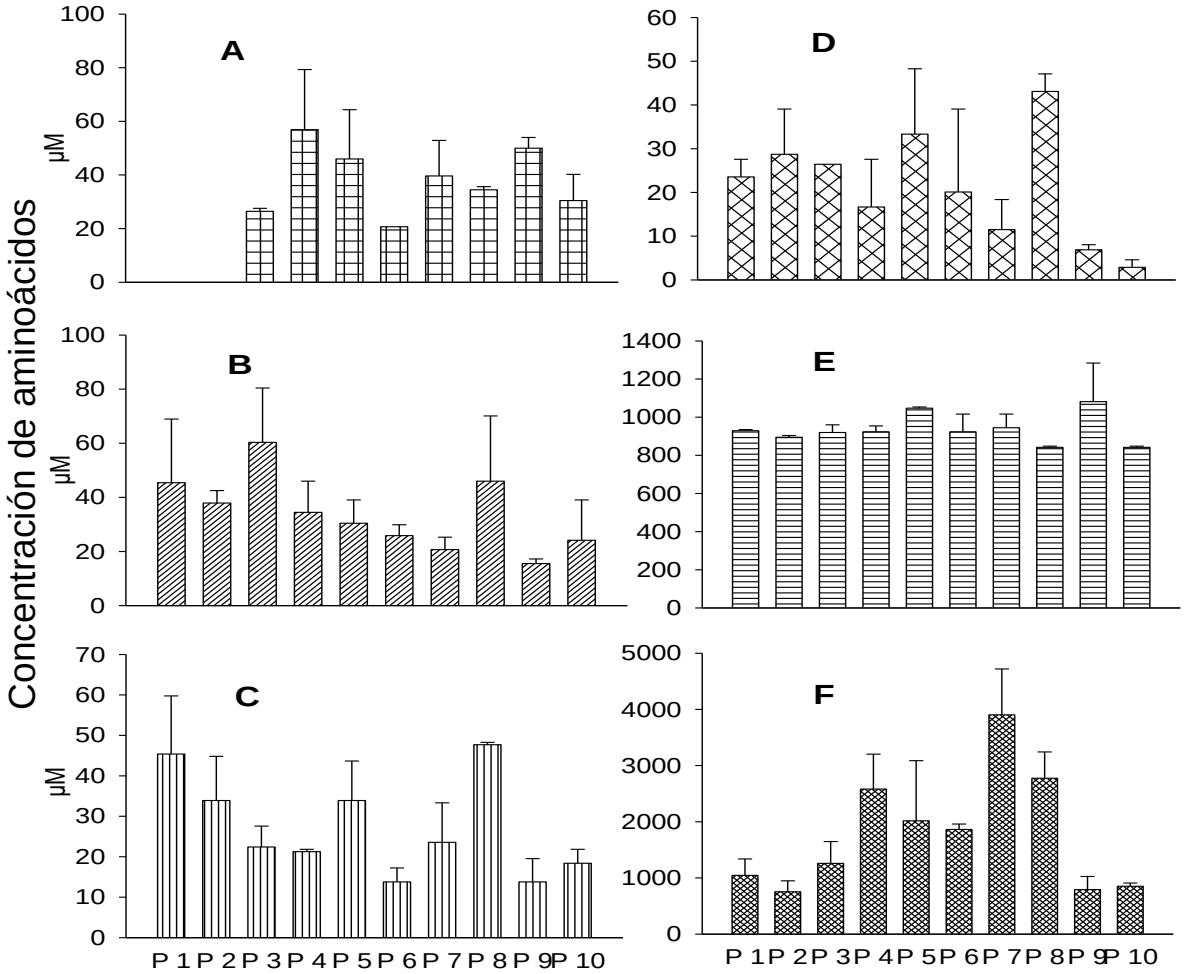


Figura 25. Valores promedio de la concentración de aminoácidos (µM) en agua, en cada mes de muestreo. A: Mayo, B: Junio, C: Julio, D: Agosto, E: Septiembre, F: Octubre. P1: Herrera Membreño, P2: San Martín, P3: Empalme, P4: Muelle Puerto Morazán, P5: Carlos Fonseca, P6: Plantel Langostino, P7: El Semillal, P8: Desagüe La Treinta, P9: AGRIMAR I, P10. AGRIMAR II. Cada valor se corresponde a la media ± EEM, N=3.

En la figura 26. Se observa, de manera general, que en los meses de septiembre y octubre se encuentran las mayores concentraciones de aminoácidos libres en el cuerpo de agua. Por tanto, estos meses presentan diferencias significativas con respecto a los demás meses estudiados.

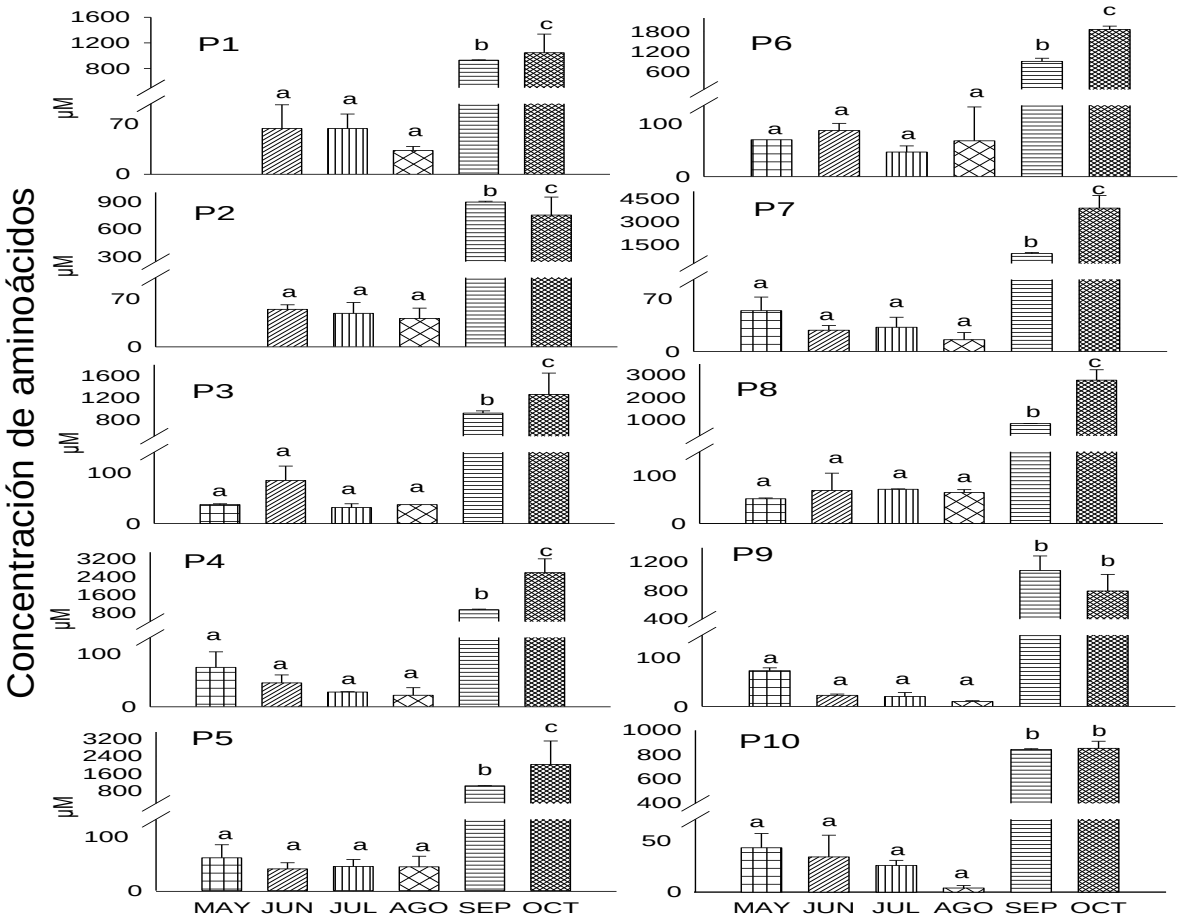


Figura 26. Valores promedio de la concentración de aminoácidos (µM) en agua, en cada punto de muestreo. P1: Herrera Membreño, P2: San Martín, P3: Empalme, P4: Muelle Puerto Morazán, P5: Carlos Fonseca, P6: Plantel Langostino, P7: El Semillal, P8: Desagüe La Treinta, P9: AGRIMAR I, P10: AGRIMAR II. MAY: Mayo, JUN: Junio, JUL: Julio, AGO: Agosto, SEP: Septiembre, OCT: Octubre. Cada valor se corresponde a la media ± EEM, N=3. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P<0.05$) entre grupos.

Los promedios de las concentraciones de aminoácidos libres en el cuerpo de agua (figura 27) presentan una tendencia creciente (b=215.34) a medida que avanzamos en el tiempo; siendo los meses de septiembre y octubre los que presentan las mayores concentraciones con respecto a los cuatro meses anteriores.

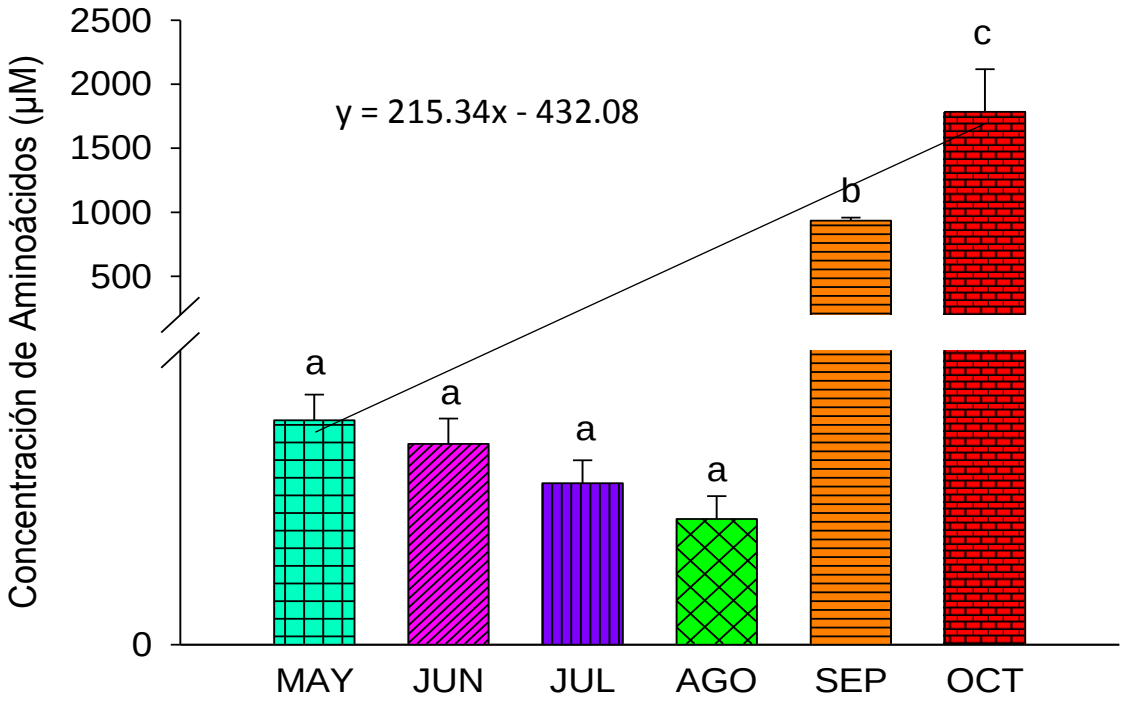


Figura 27. Valores promedios de la concentración de aminoácidos (µM) en agua, en el tiempo. MAY: Mayo, JUN: Junio, JUL: Julio, AGO: Agosto, SEP: Septiembre, OCT: Octubre. Cada valor se corresponde a la media ± EEM, N=10. Letras diferentes indican diferencias significativas (P<0.05) entre grupos.

5.2.1.3. Glucosa

En la figura 28. Se muestra, de manera general, que no existen diferencias significativas entre puntos de muestreo, a excepción de algunas tendencias a incrementar desde el punto 1 al punto 10 en los meses de julio y agosto. Cabe destacar que los meses de mayo y junio son los que presentan las mayores concentraciones de glucosa libre en el cuerpo de agua.

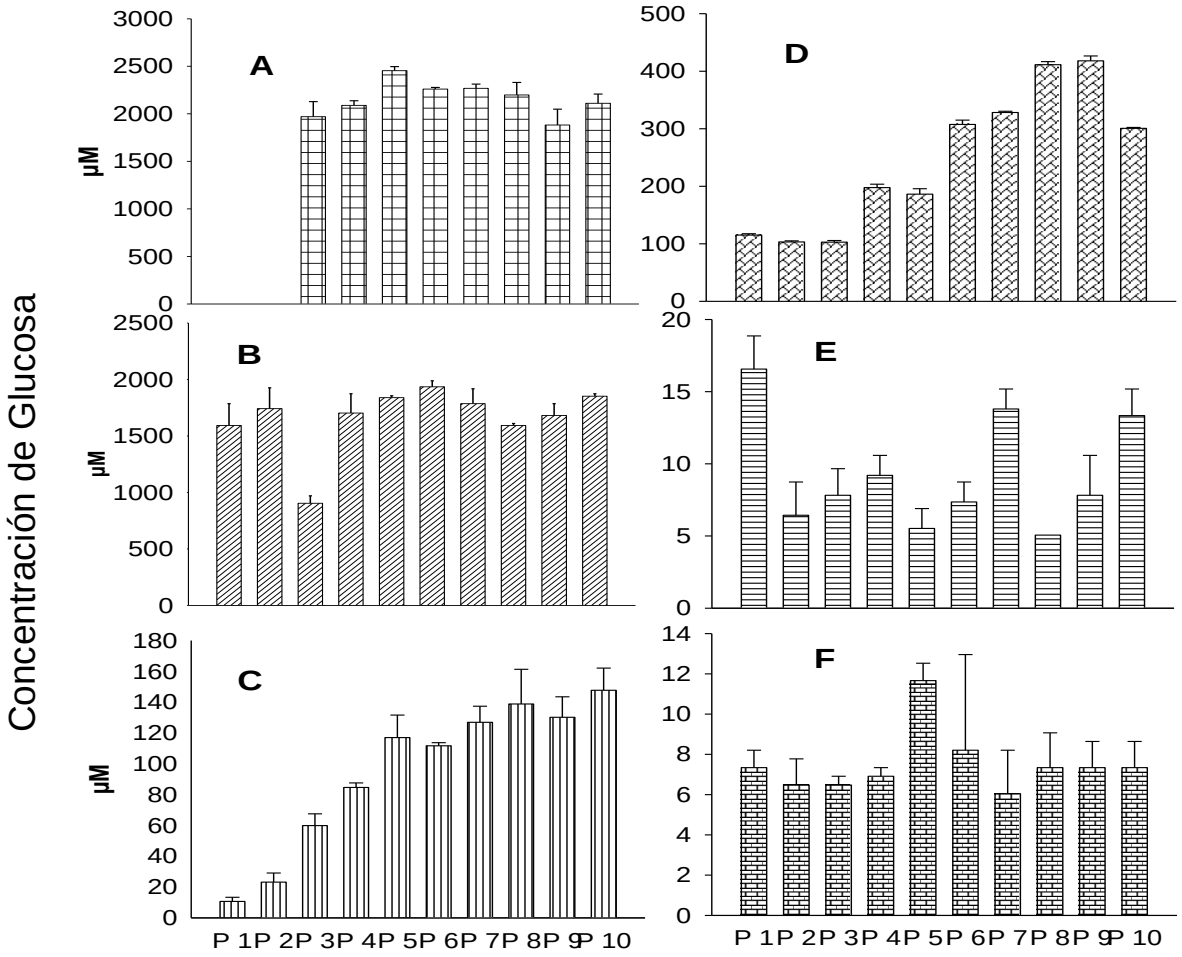


Figura 28. Valores promedios de la concentración de glucosa (µM) en agua, en cada mes de muestreo. A: Mayo, B: Junio, C: Julio, D: Agosto, E: Septiembre, F: Octubre. P1: Herrera Membreño, P2: San Martín, P3: Empalme, P4: Muelle Puerto Morazán, P5: Carlos Fonseca, P6: Plantel Langostino, P7: El Semillal, P8: Desagüe La Treinta, P9: AGRIMAR I, P10: AGRIMAR II. Cada valor se corresponde a la media ± EEM, N=3.

En la figura 29. Se muestra una tendencia decreciente en el tiempo de las concentraciones de glucosa en todos los puntos de muestreos. De manera general los meses de mayo, junio, julio y agosto son los que presentan concentraciones de glucosa sobre 500 µM, a diferencia de los meses de septiembre y octubre donde se observan concentraciones menores a 200 µM.

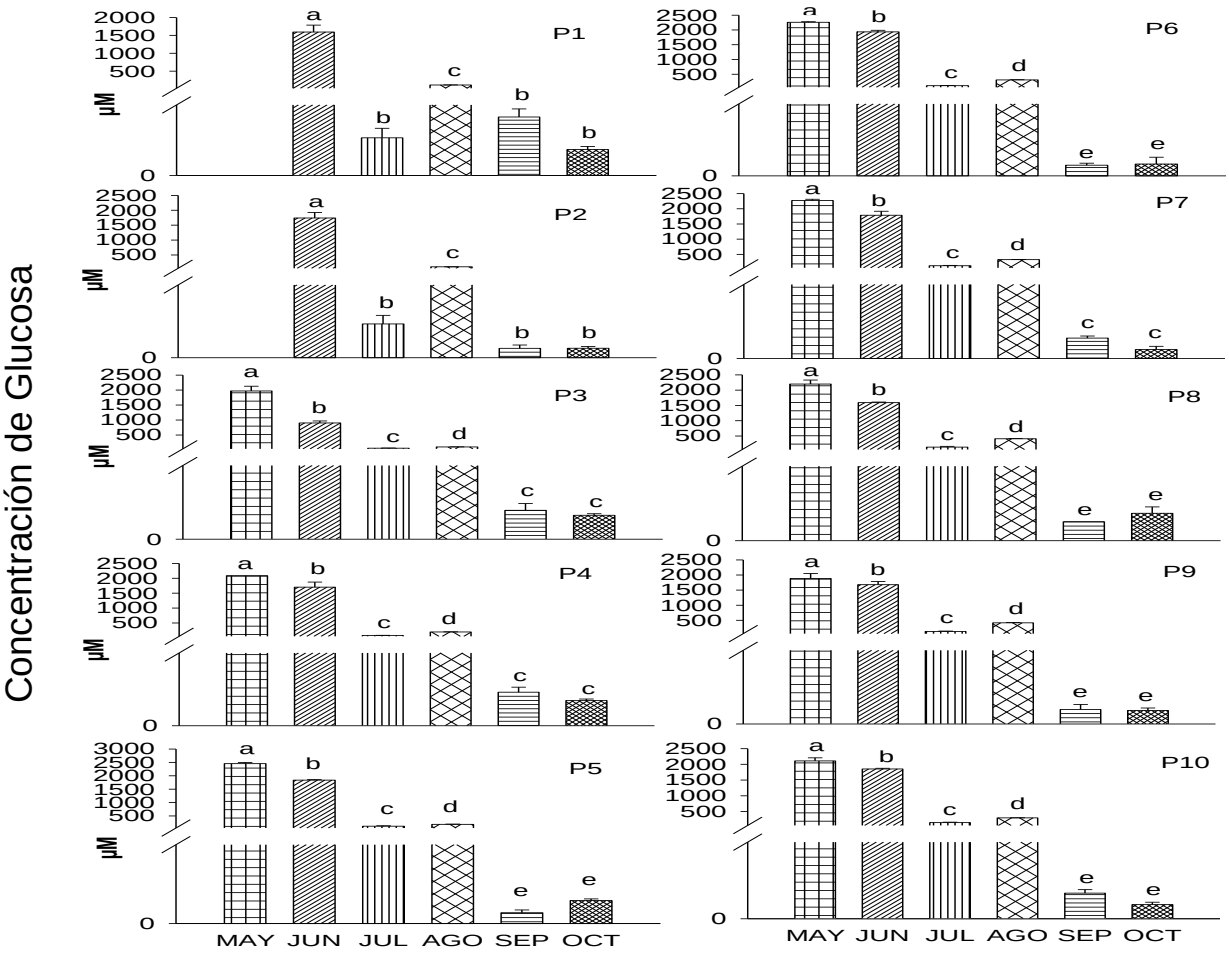


Figura 29. Valores promedio de la concentración de glucosa (µM) en agua, en cada punto de muestreo. P1: Herrera Membreño, P2: San Martín, P3: Empalme, P4: Muelle Puerto Morazán, P5: Carlos Fonseca, P6: Plantel Langostino, P7: El Semillal, P8: Desagüe La Treinta, P9: AGRIMAR I, P10: AGRIMAR II. MAY: Mayo, JUN: Junio, JUL: Julio, AGO: Agosto, SEP: Septiembre, OCT: Octubre. Cada valor se corresponde a la media ± EEM, N=3. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P<0.05$) entre grupos.

Los valores promedios de las concentraciones de glucosa libres en el cuerpo de agua (figura 30) presentan una tendencia decreciente (b=-444.06) a medida que avanzamos en el tiempo. En los meses de mayo y junio se presentan las mayores concentraciones de glucosa libre, a diferencia de los meses de septiembre y octubre donde las concentraciones son más bajas.

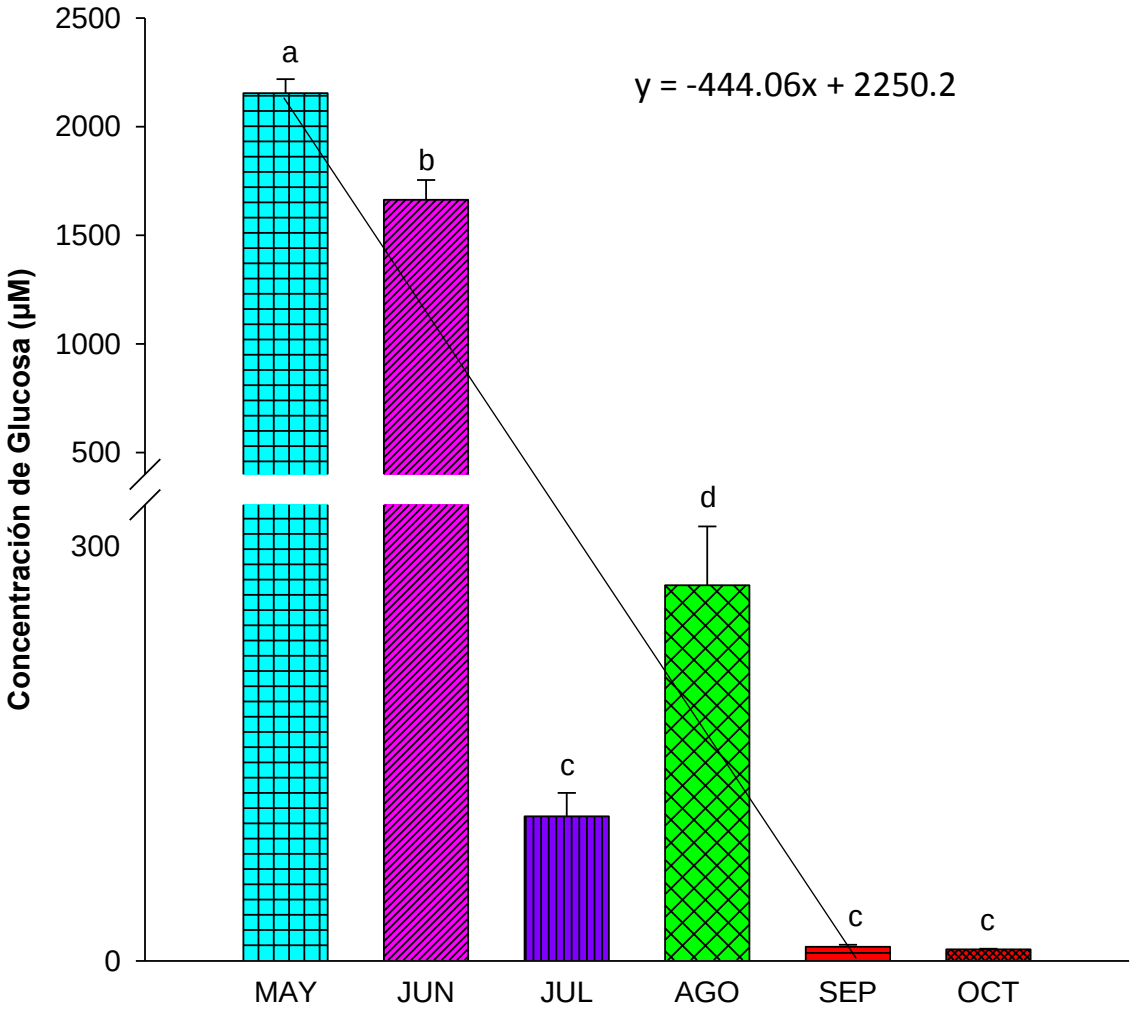


Figura 30. Promedio de las concentraciones de glucosa (µM) en agua, en el tiempo. MAY: Mayo, JUN: Junio, JUL: Julio, AGO: Agosto, SEP: Septiembre, OCT: Octubre. Cada valor se corresponde a la media ± EEM, N=10. Letras diferentes indican diferencias significativas (P<0.05) entre grupos.

5.2.2. Proteínas y metabolitos libres en el sedimento.

5.2.2.1. Proteínas

Al analizar el comportamiento de los promedios de las concentraciones de proteína en el sedimento no se observan tendencias de variaciones de las concentraciones entre puntos, en ninguno de los meses muestreados. Cabe destacar que las concentraciones de proteínas en los meses de Septiembre a Octubre son mayores con respecto a los cuatro meses anteriores (figura 31).

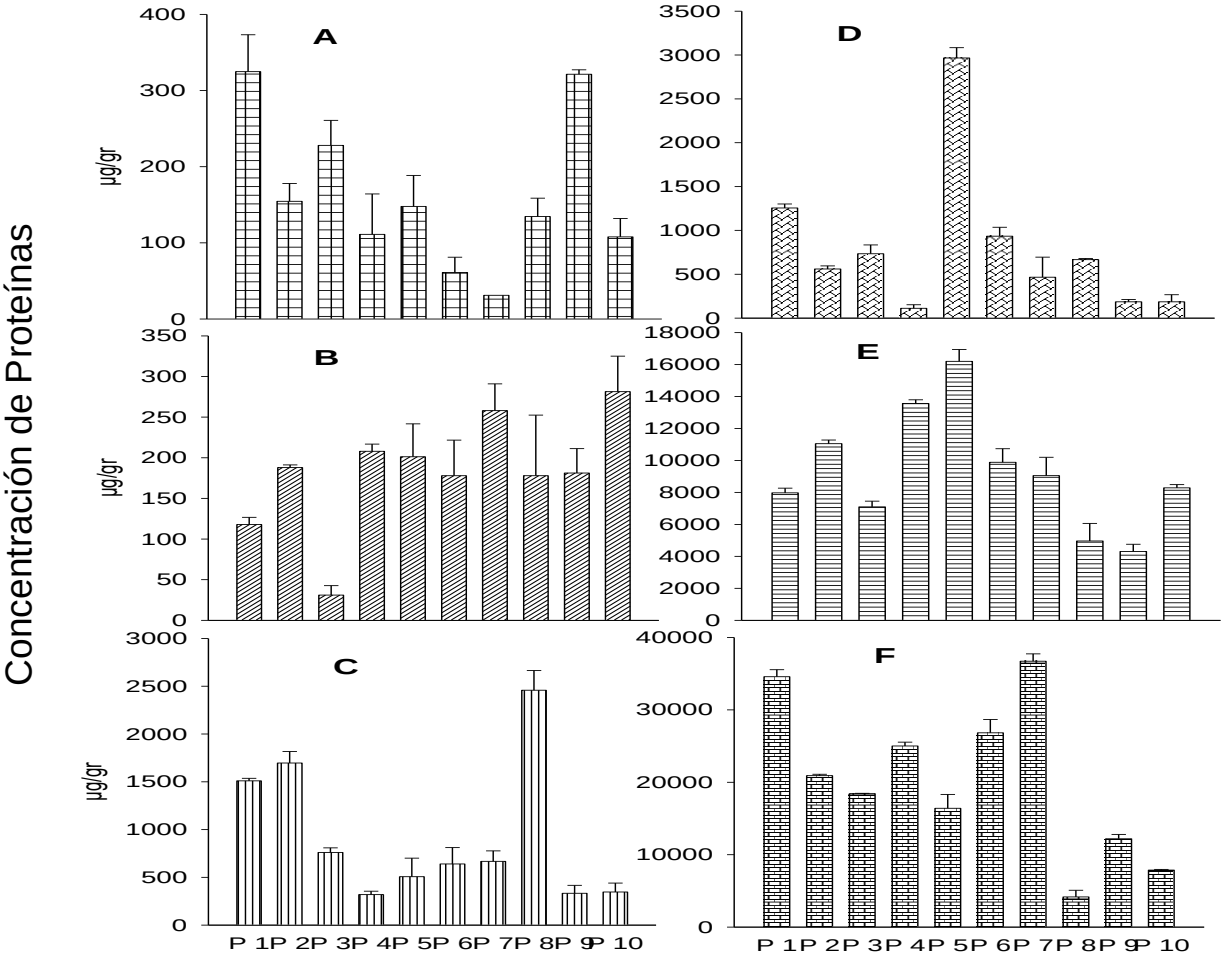


Figura 31. Valores promedio de la concentración de proteína (µg/gr) en sedimento, por mes de muestreo. A: Mayo, B: Junio, C: Julio, D: Agosto, E: Septiembre, F: Octubre. P1: Herrera Membreño, P2: San Martín, P3: Empalme, P4: Muelle Puerto Morazán, P5: Carlos Fonseca, P6: Plantel Langostino, P7: El Semillal, P8: Desagüe La Treinta, P9: AGRIMAR I, P10: AGRIMAR II. Cada valor se corresponde a la media ± EEM, N=3.

Las concentraciones de proteínas en el sedimento tienden a incrementar a medida que avanzamos en el período lluvioso (mayo-octubre). De manera general, los meses de septiembre y octubre presentan las mayores concentraciones de proteína con respecto a los demás meses estudiados, en todos los puntos de muestreo. Por otro lado, se observa que los puntos 8, 9 y 10 son los que presentan las más bajas concentraciones de proteínas con respecto a los siete primeros puntos de muestreo, en el tiempo (figura 32).

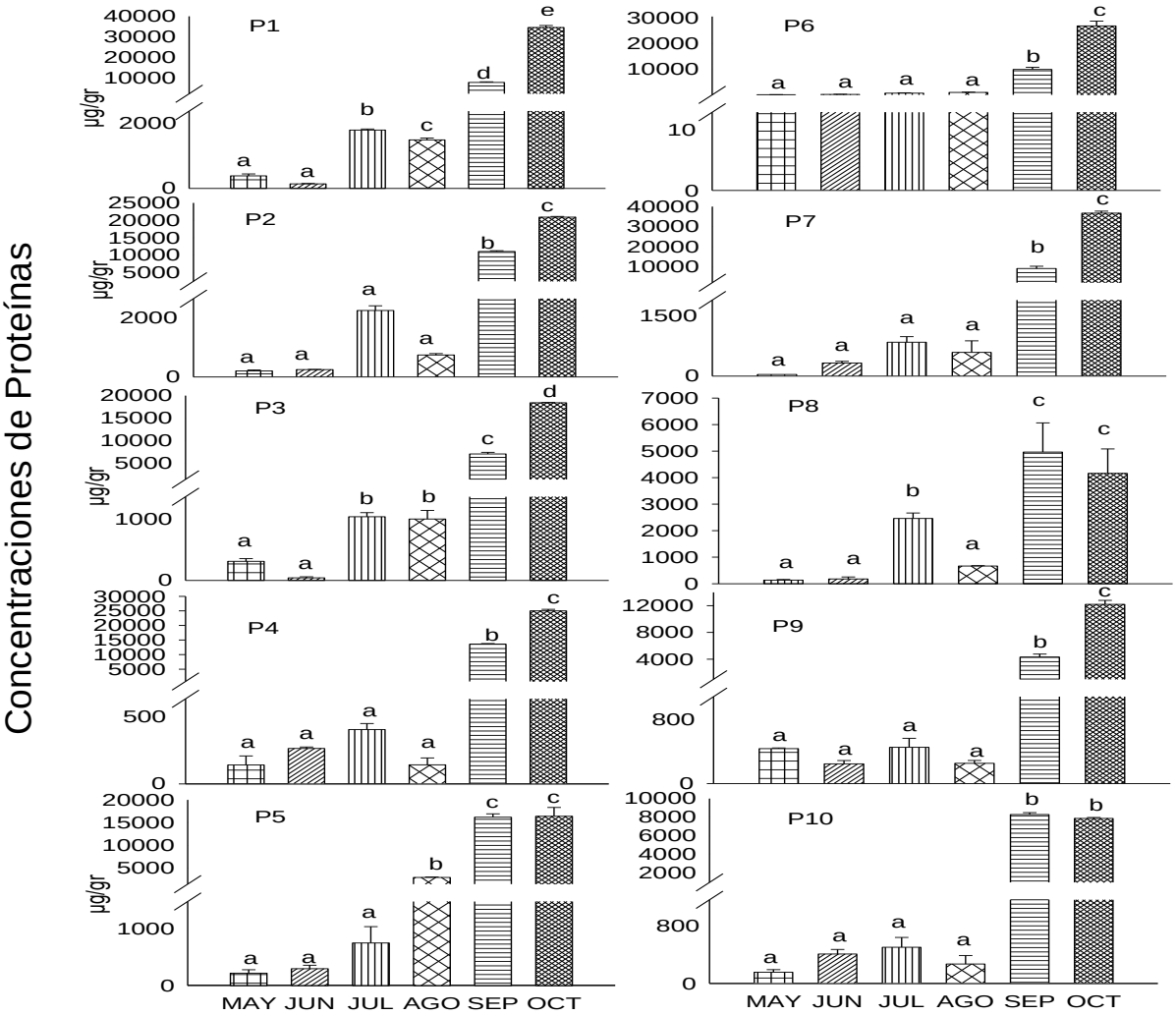


Figura 32. Valores promedio de la concentración de proteína (µg/gr) en sedimento, por punto de muestreo. P1: Herrera Membreño, P2: San Martín, P3: Empalme, P4: Muelle Puerto Morazán, P5: Carlos Fonseca, P6: Plantel Langostino, P7: El Semillal, P8: Desagüe La Treinta, P9: AGRIMAR I, P10: AGRIMAR II. MAY: Mayo, JUN: Junio, JUL: Julio, AGO: Agosto, SEP: Septiembre, OCT: Octubre. Cada valor se corresponde a la media ± EEM, N=3. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P<0.05$) entre grupos.

Los valores promedios de la concentración de proteína libres en el sedimento (figura 33) presentan una tendencia creciente (b=365.18) a medida que avanzamos en el tiempo; siendo los meses de septiembre y octubre los que presentan las mayores concentraciones de proteína. Igualmente se observa que los dos primeros meses de estudio (mayo y junio) son los que presentan las más bajas concentraciones de proteína con respecto a los cuatro siguientes meses.

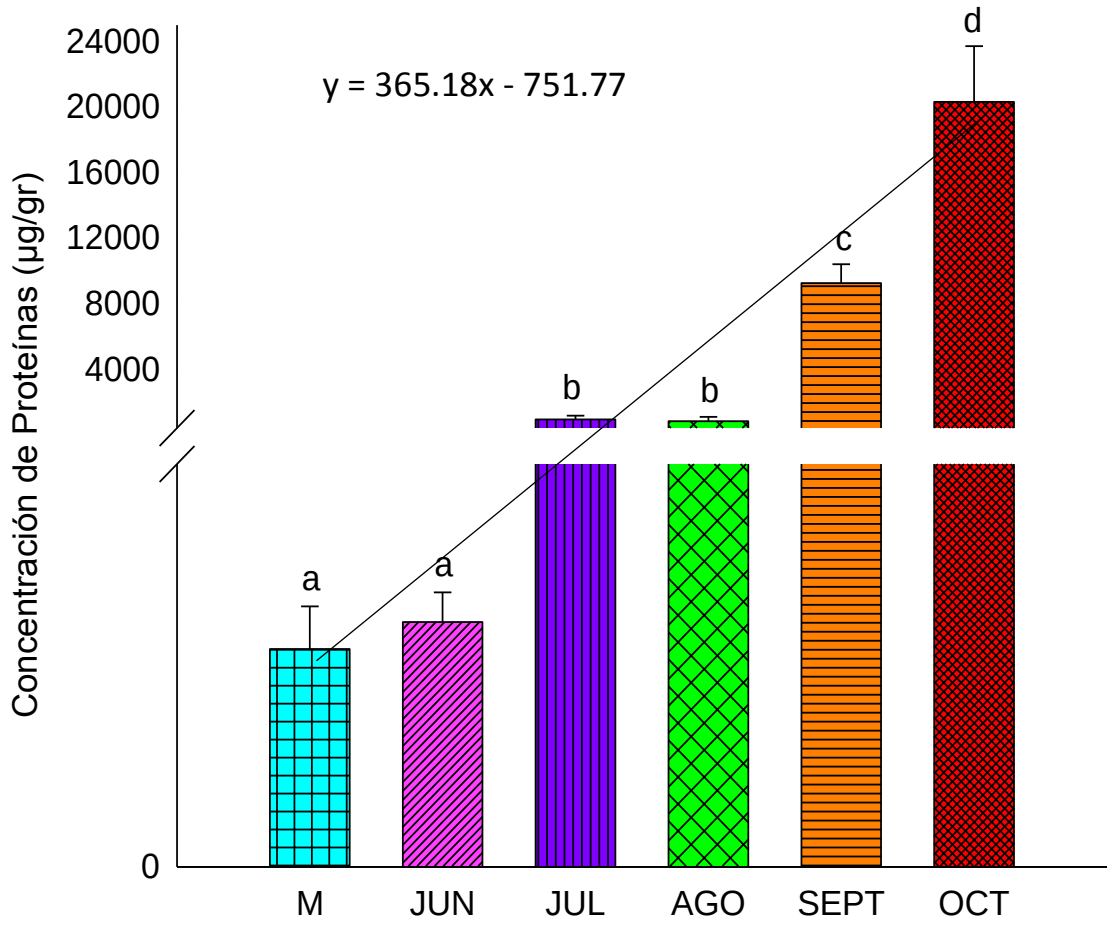


Figura 33. Valores promedio de la Concentración de proteína (µg/gr) en sedimento en el tiempo. MAY: Mayo, JUN: Junio, JUL: Julio, AGO: Agosto, SEP: Septiembre, OCT: Octubre. Cada valor se corresponde a la media ± EEM, N=10. Letras diferentes indican diferencias significativas (P<0.05) entre grupos.

5.2.2.2. Aminoácidos

La figura 34. Muestra que los valores de las concentraciones de aminoácidos libres en el sedimento, de manera general, no presentan ninguna diferencia en los meses muestreados; si se puede observar que los meses de septiembre y octubre presentan concentraciones de aminoácidos superiores a los meses anteriores.

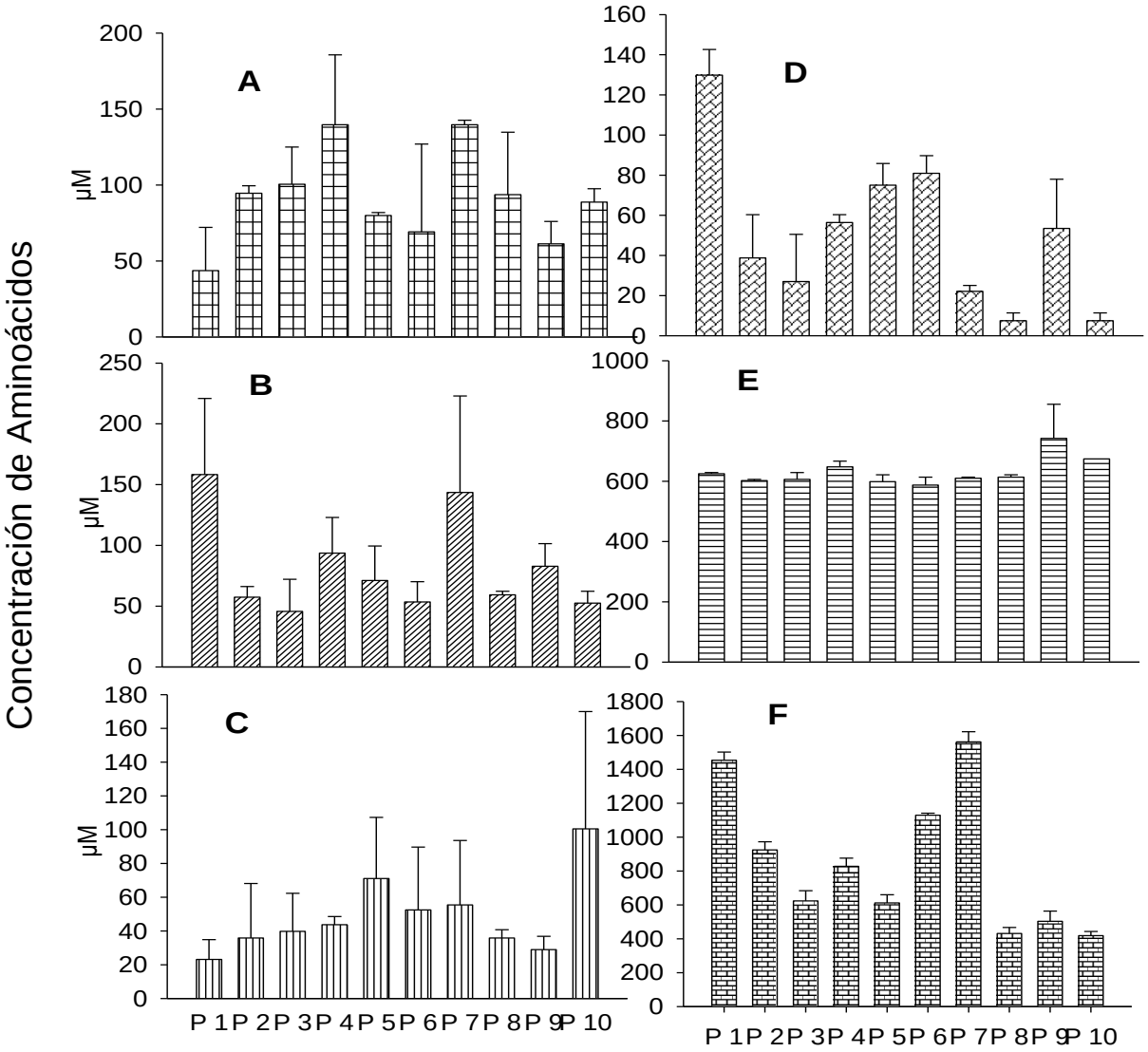


Figura 34. Concentración de aminoácidos (µM) en sedimento, en cada mes de muestreo. A: Mayo, B: Junio, C: Julio, D: Agosto, E: Septiembre, F: Octubre. P1: Herrera Membreño, P2: San Martín, P3: Empalme, P4: Muelle Puerto Morazán, P5: Carlos Fonseca, P6: Plantel Langostino, P7: El Semillal, P8: Desagüe La Treinta, P9: AGRIMAR I, P10: AGRIMAR II. Cada valor se corresponde a la media ± EEM, N=3.

En la figura 35. Se muestra que las concentraciones de aminoácidos en el sedimento tienden a incrementar a medida que avanzamos en el período lluvioso (mayo-octubre). De manera general, los meses de septiembre y octubre difieren significativamente de los demás meses estudiados, en todos los puntos de muestreo.

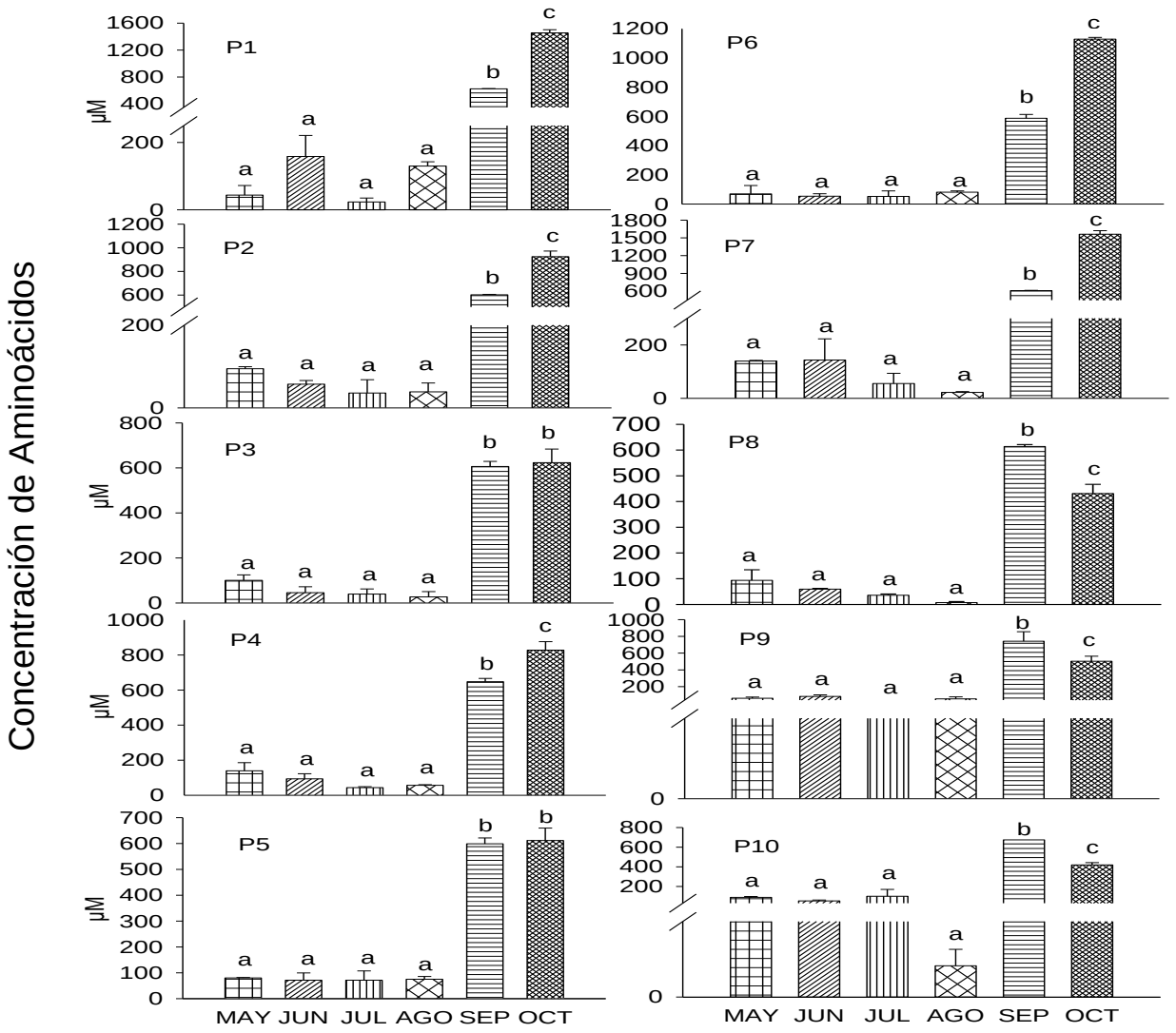


Figura 35. Valores promedio de la concentración de aminoácidos (µM) en sedimento, en cada punto de muestreo. P1: Herrera Membreño, P2: San Martín, P3: Empalme, P4: Muelle Puerto Morazán, P5: Carlos Fonseca, P6: Plantel Langostino, P7: El Semillal, P8: Desagüe La Treinta, P9: AGRIMAR I, P10: AGRIMAR II. MAY: Mayo, JUN: Junio, JUL: Julio, AGO: Agosto, SEP: Septiembre, OCT: Octubre. Cada valor se corresponde a la media ± EEM, N=3. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P<0.05$) entre grupos.

Los valores promedio de la concentración de aminoácidos libres en el sedimento (figura 36) presentan una tendencia creciente (b=15.524) a medida que avanzamos en el tiempo, siendo los meses de septiembre y octubre los que presentan las mayores concentraciones de aminoácidos libres con respecto a los meses anteriores

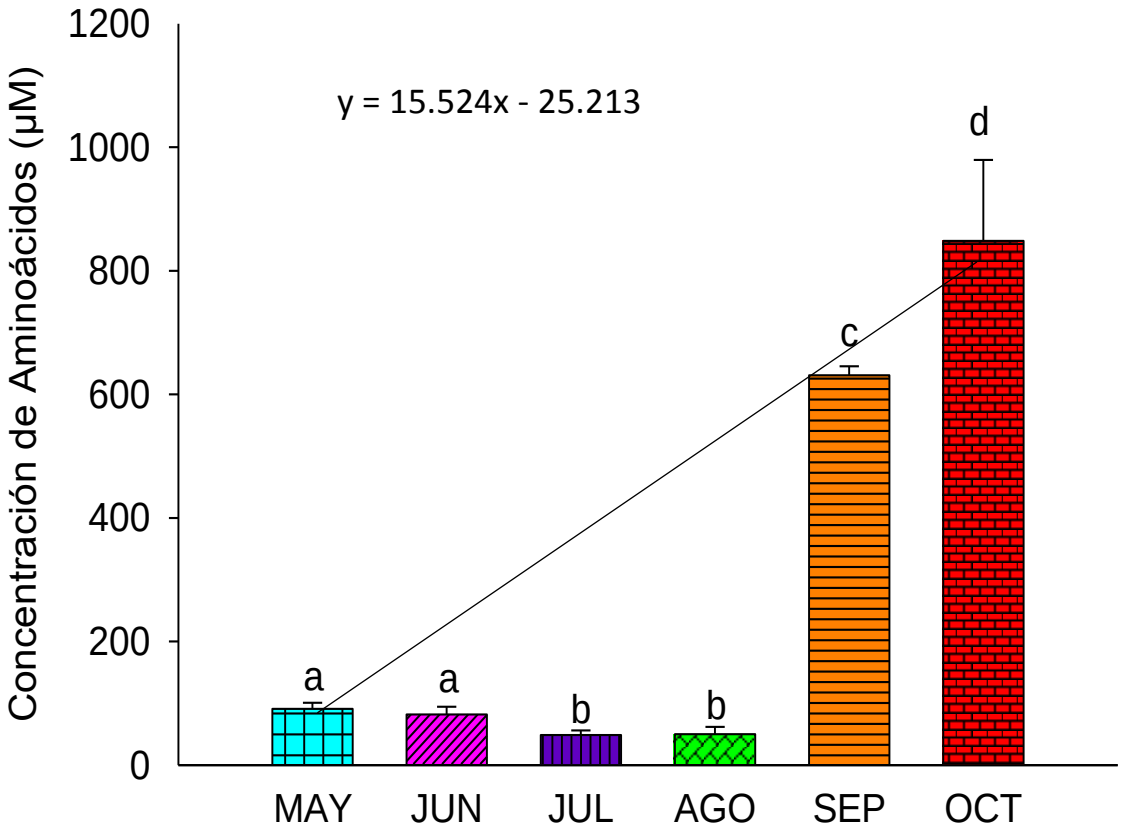


Figura 36. Valores promedio de la concentración de aminoácidos (µM) en sedimento, en el tiempo. MAY: Mayo, JUN: Junio, JUL: Julio, AGO: Agosto, SEP: Septiembre, OCT: Octubre. Cada valor se corresponde a la media ± EEM, N=10. Letras diferentes indican diferencias significativas (P<0.05) entre grupos.

5.2.2.3. Glucosa

La figura 37. Muestra que los valores de la concentración de glucosa en sedimento, de manera general, presentan comportamientos similares en todos los puntos de muestreo en la mayoría de los meses estudiados. Destacando que los meses de mayo y junio son los que presentan las concentraciones de glucosa más bajas, con respecto a los meses siguientes

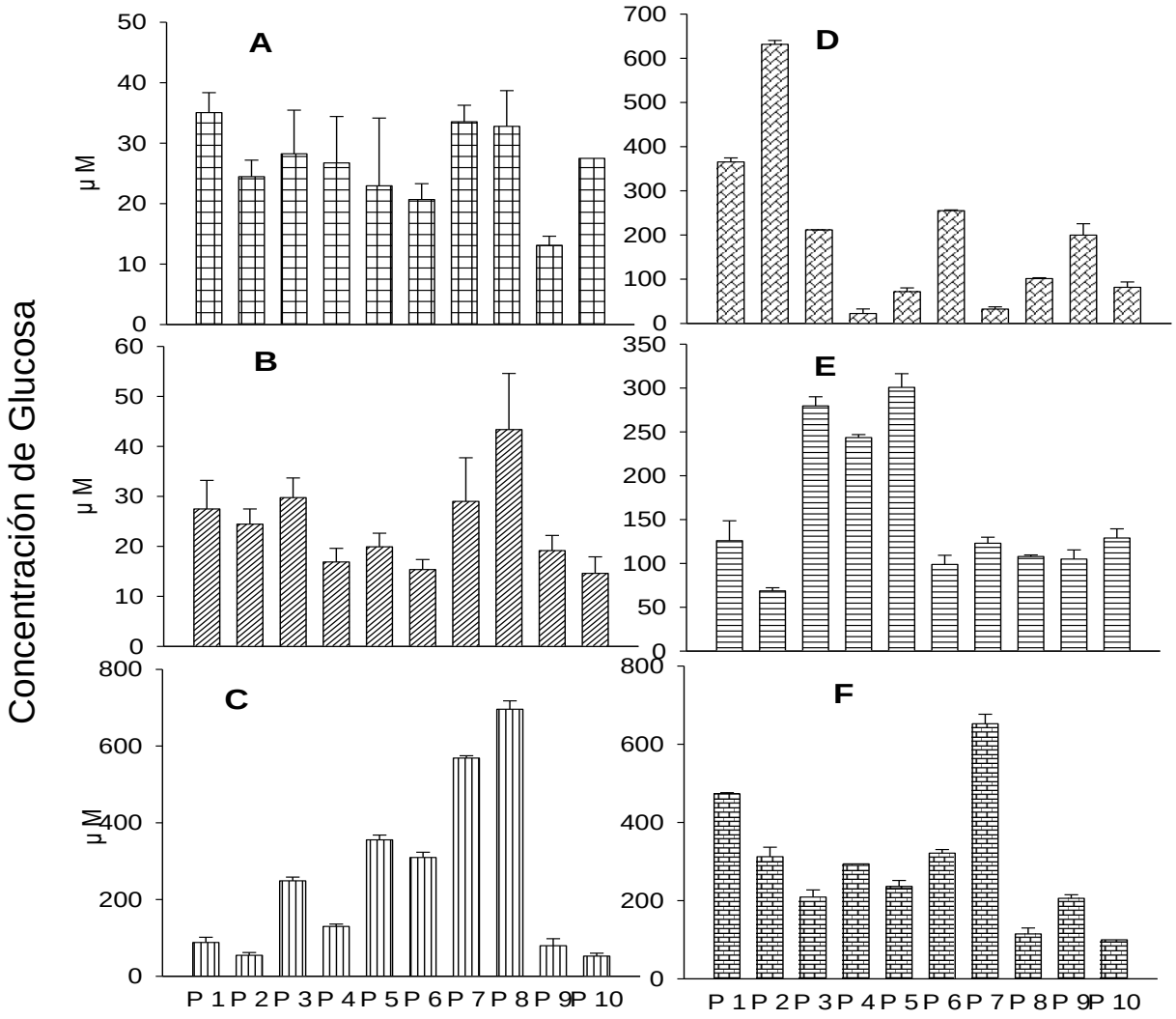


Figura 37. Concentración de glucosa (µM) en sedimento, en cada mes de muestreo. A: Mayo, B: Junio, C: Julio, D: Agosto, E: Septiembre, F: Octubre. P1: Herrera Membreño, P2: San Martín, P3: Empalme, P4: Muelle Puerto Morazán, P5: Carlos Fonseca, P6: Plantel Langostino, P7: El Semillal, P8: Desagüe La Treinta, P9: AGRIMAR I, P10: AGRIMAR II. Cada valor se corresponde a la media ± EEM, N=3.

En la figura 38. Se muestra de manera general que los meses de mayo y junio difieren significativamente de los meses de julio, agosto, septiembre y octubre. Así mismo se nota una tendencia a incrementar los niveles de glucosa en sedimento a medida que avanzamos en el tiempo, en todos los puntos de muestreo.

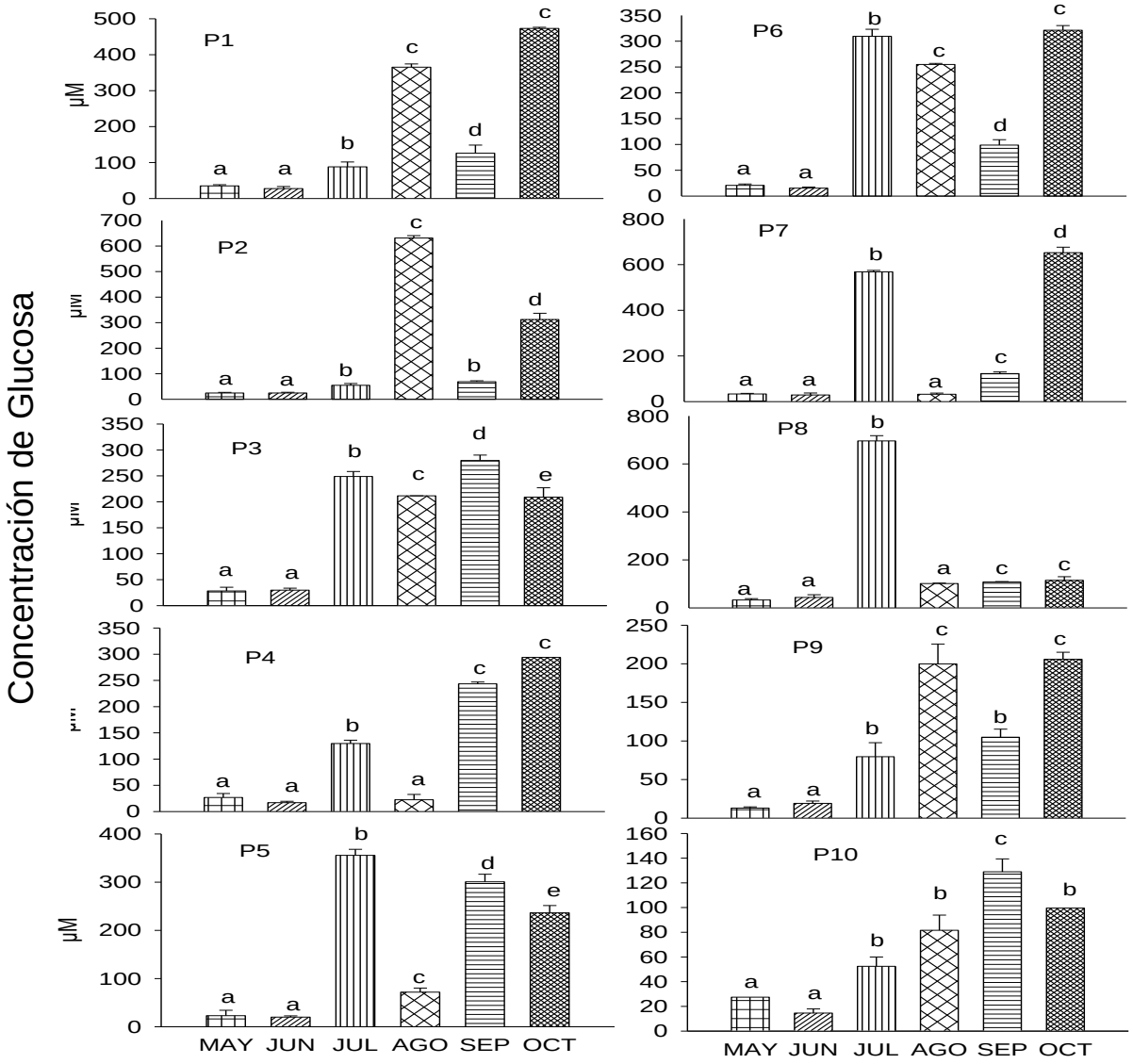


Figura 38. Valores promedio de la concentración de glucosa (µM) en sedimento, por punto de muestreo. P1: Herrera Membreño, P2: San Martín, P3: Empalme, P4: Muelle Puerto Morazán, P5: Carlos Fonseca, P6: Plantel Langostino, P7: El Semillal, P8: Desague La Treinta, P9: AGRIMAR I, P10: AGRIMAR II. MAY: Mayo, JUN: Junio, JUL: Julio, AGO: Agosto, SEP: Septiembre, OCT: Octubre. Cada valor se corresponde a la media ± EEM, N=3. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P<0.05$) entre grupos.

En la figura 39. Se muestra que las concentraciones de glucosa en el tiempo presentan pendiente de crecimiento positiva (b=4.8858). Los promedios de las concentraciones de glucosa de los meses de mayo y junio son menores a los promedios de las concentraciones de glucosa de los meses de julio, agosto, Septiembre y Octubre.

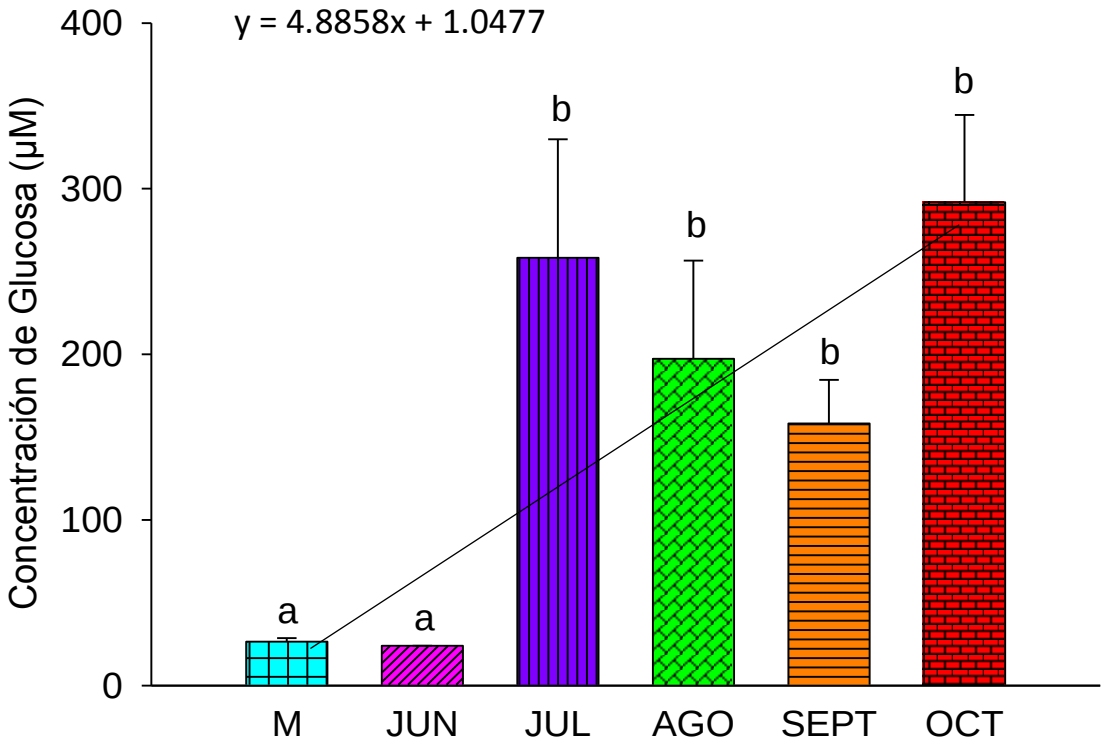


Figura 39. Valores promedio de la concentración de glucosa (µM) en sedimento, en el tiempo. MAY: Mayo, JUN: Junio, JUL: Julio, AGO: Agosto, SEP: Septiembre, OCT: Octubre. Cada valor se corresponde a la media ± EEM, N=10. Letras diferentes indican diferencias significativas (P<0.05) entre grupos.

5.3. Relación de la concentración de metabolitos (glucosa y aminoácidos) y proteína con los parámetros (salinidad y temperatura).

5.3.1. Análisis en el cuerpo de agua.

5.3.1.1. Relación de la concentración de proteína libre con la concentración salina y temperatura.

La figura 40. Muestra el resultado del análisis de regresión lineal entre la concentración de proteínas libre con respecto a la concentración salina y temperatura en el cuerpo de agua, donde se obtuvo un valor de R =0.86; P<0.001 para la relación Proteína-Salinidad y R=0.257; P<0.001 para la relación Proteína-Temperatura. Siendo los meses de mayo y junio los que presentan los mayores promedios de las concentraciones de proteínas en correspondencia con las mayores concentraciones promedios de salinidad, entre rangos de temperatura de 31 a 32 ^{0}C. Los meses de septiembre y octubre presentan las menores concentraciones promedios de proteínas y salinidad, con rango de temperatura entre 30 a 30.5 ^{0}C.

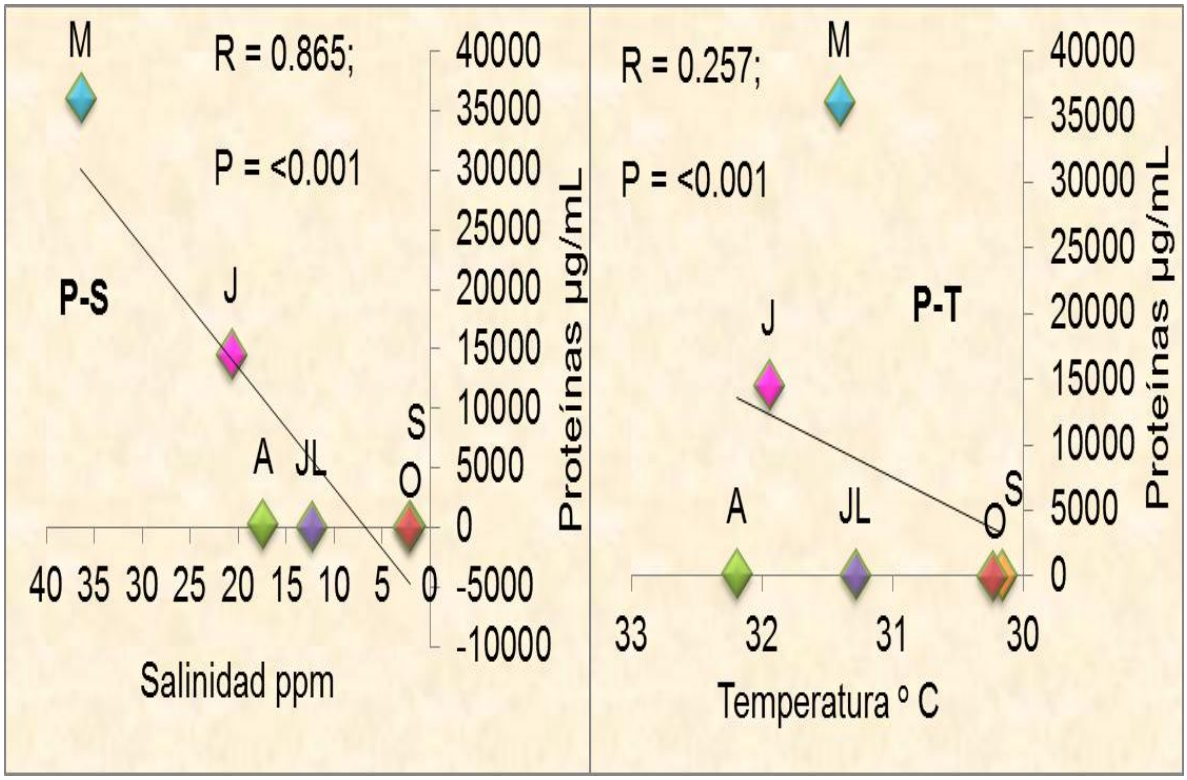


Figura 40. Relación entre el promedio de la concentración de proteína libre (µg/mL) con respecto a los promedios de la concentración salina (ppm) y el valor de la temperatura (^{0}C), en el cuerpo de agua. Relación Proteína-Salinidad (P-S), relación Proteína-Temperatura (P-T). M: Mayo, J: Junio, JL Julio, A: Agosto, S: Septiembre, O: Octubre. (P<0.001) entre grupos.

5.3.1.2. Relación de la concentración de aminoácidos libres con la concentración salina y temperatura.

En la figura 41. Se observa que la relación entre las concentraciones promedios de aminoácidos libres en agua y la salinidad presentan un valor de R=0.595; P<0.001 y que las concentraciones promedios de aminoácidos libres en agua y. temperatura tienen una relación de R=0.619; P<0.001. Así mismo, se nota que los meses de mayo, junio, julio y agosto presentan concentraciones de aminoácidos bajas entre rangos de salinidad de 13 a 38 ppm y de temperatura de 31 a 32.5 ^{0}C. Por otro lado, los meses de septiembre y octubre presentan concentraciones de aminoácidos más altas (µM) entre rangos de salinidad de 0 a 3 ppm y de temperatura de 30 a 30.3 ^{0}C.

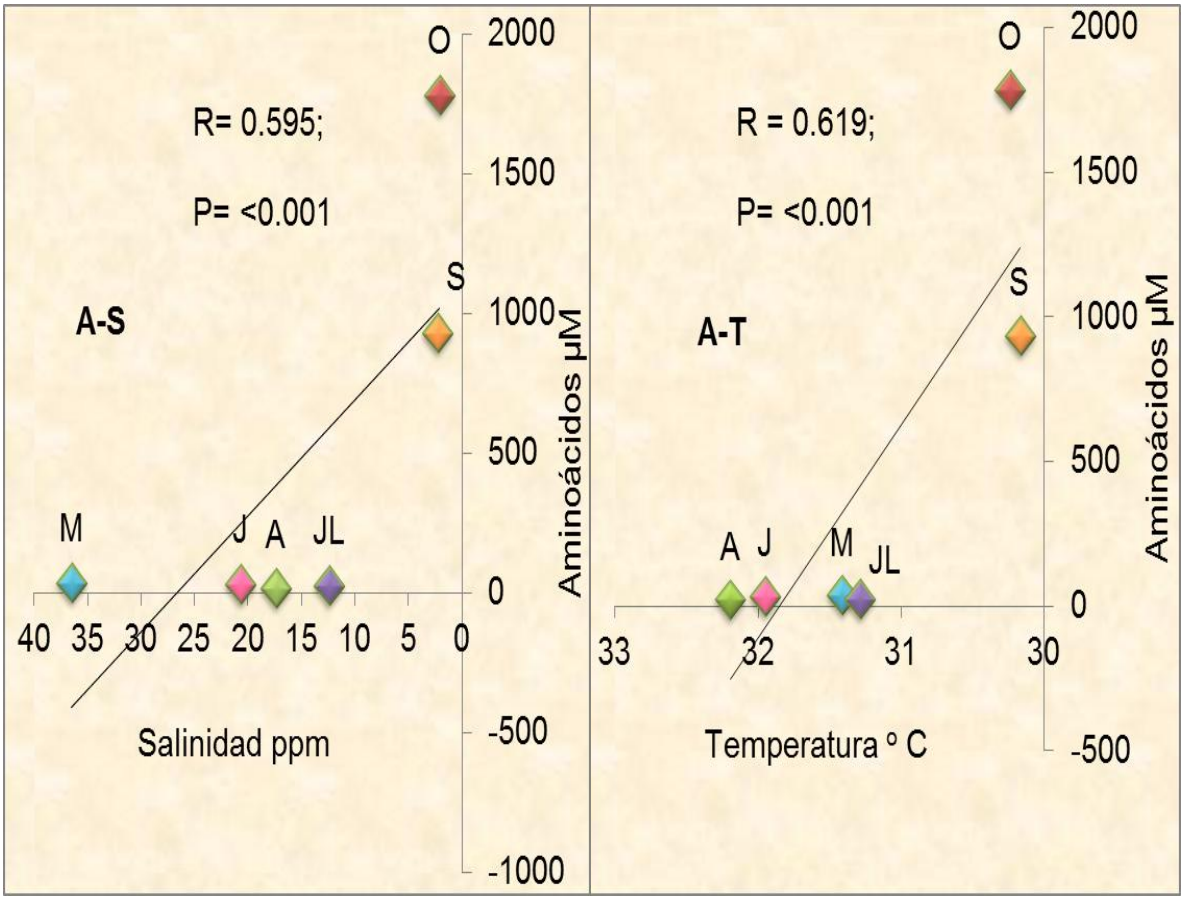


Figura 41. Relación entre el promedio de la concentración de aminoácidos libres (µM) con respecto a los promedios de la concentración salina (ppm) y el valor de la temperatura (^{0}C), en el cuerpo de agua. Relación Aminoácidos-Salinidad (A-S), relación Aminoácidos-Temperatura (A-T). M: Mayo, J: Junio, JL Julio, A: Agosto, S: Septiembre, O: Octubre. (P<0.001) entre grupos.

5.3.1.3. Relación de la concentración de glucosa libre con la concentración salina y temperatura.

La relación entre la concentración de glucosa libre en el cuerpo de agua con respecto a la salinidad presenta un valor de R=0.857; P<0.001 y con respecto a la temperatura presenta un valor de R=0.446; P<0.001. Destacando que los meses de mayo y junio presentan las mayores concentraciones de glucosa entre rangos de salinidad de 20 a 40 ppm y entre rangos de temperatura de 31 a 32 ^{0}C. Por otro lado, a menores rangos de salinidad (0 a 5ppm) y temperatura (30 a 30.5 ^{0}C) los meses de septiembre y octubre presentan las menores concentraciones de glucosa (figura 42).

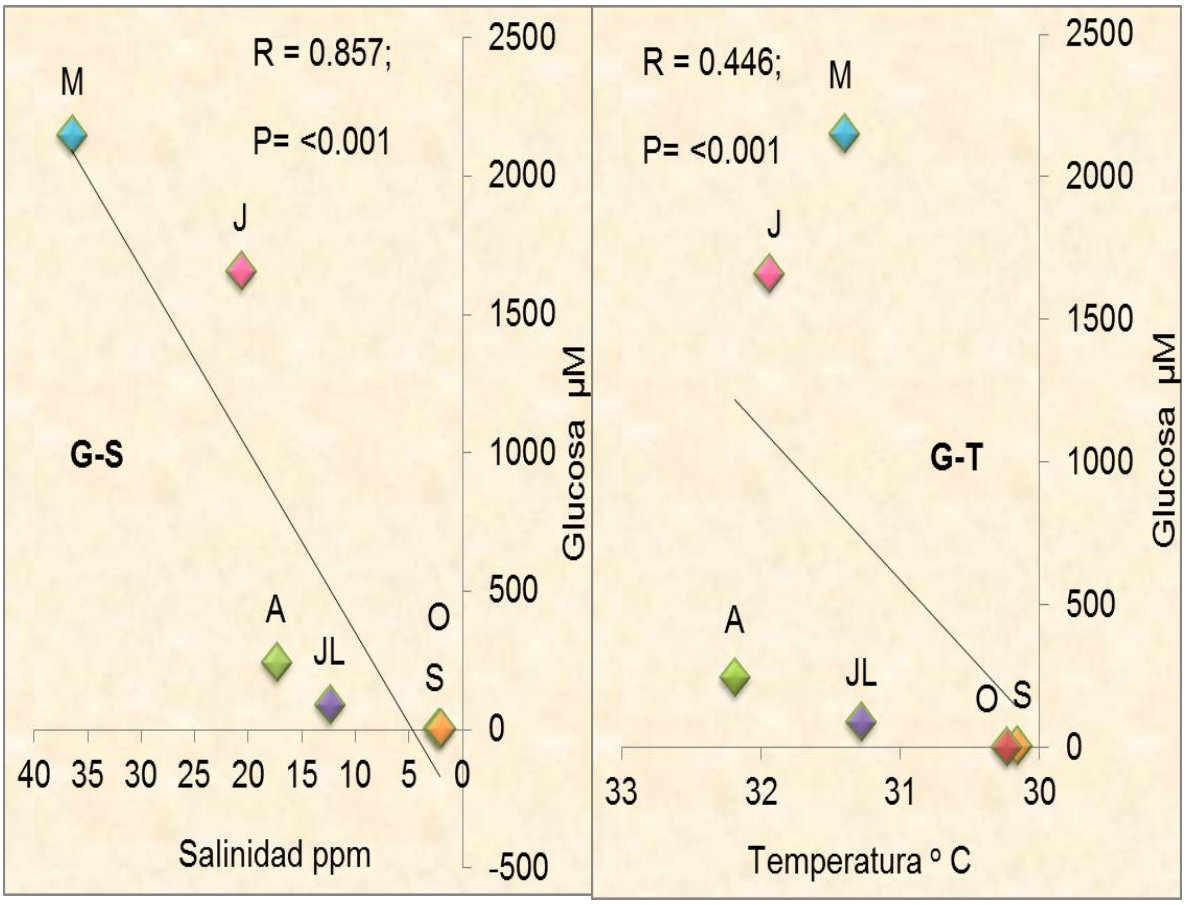


Figura 42. Relación entre el promedio de la concentración de glucosa libre (µM) con respecto a los promedios de la concentración salina (ppm) y el valor de la temperatura (^{0}C), en el cuerpo de agua. Relación Glucosa-Salinidad (G-S), relación Glucosa-Temperatura (G-T). M: Mayo, J: Junio, JL Julio, A: Agosto, S: Septiembre, O: Octubre. (P<0.001) entre grupos.

5.3.2. Análisis en sedimento.

5.3.2.1. Relación de la concentración de proteína con la concentración salina.

La figura 43. Muestra que la relación entre el comportamiento de la concentración de proteína libre y la salinidad, en el sedimento, presenta un valor de R=0.626; P<0.001. Los meses de mayo, junio, julio y agosto obtuvieron los menores promedios de concentraciones de proteínas entre rangos de salinidad de 12 a 36 ppm, a diferencia del comportamiento mostrado en los meses de septiembre y octubre donde se presentan concentraciones de proteína mayores entre rangos de salinidad (0 a 5 ppm).

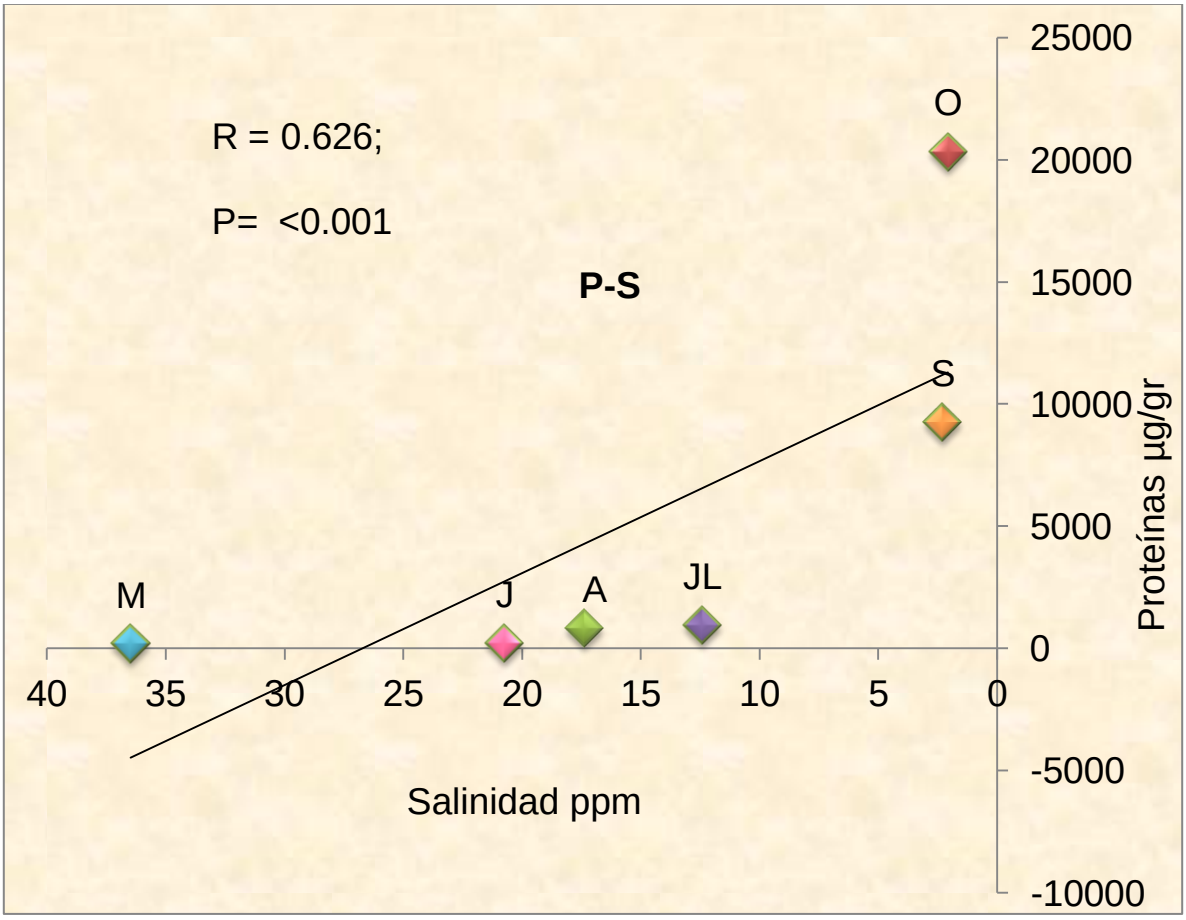


Figura 43. Relación entre el promedio de la concentración de proteína libre (µg/gr) con respecto a la concentración salina (ppm), en el sedimento. Relación Proteína-Salinidad (P-S). M: Mayo, J: Junio, JL Julio, A: Agosto, S: Septiembre, O: Octubre. (P<0.001) entre grupos.

5.3.2.2. Relación de la concentración de aminoácidos libres con la concentración salina.

La figura 44. Muestra que la relación entre el comportamiento de la concentración de aminoácidos libres y la salinidad, en el sedimento, presenta un valor de R=0.652; P<0.001. Los meses de mayo, junio, julio y agosto obtuvieron los menores promedios de concentraciones de proteínas entre rangos de salinidad de 12 a 36 ppm, a diferencia del comportamiento mostrado en los meses de septiembre y octubre donde se presentan concentraciones de proteína mayores entre rangos de salinidad (0 a 5 ppm).

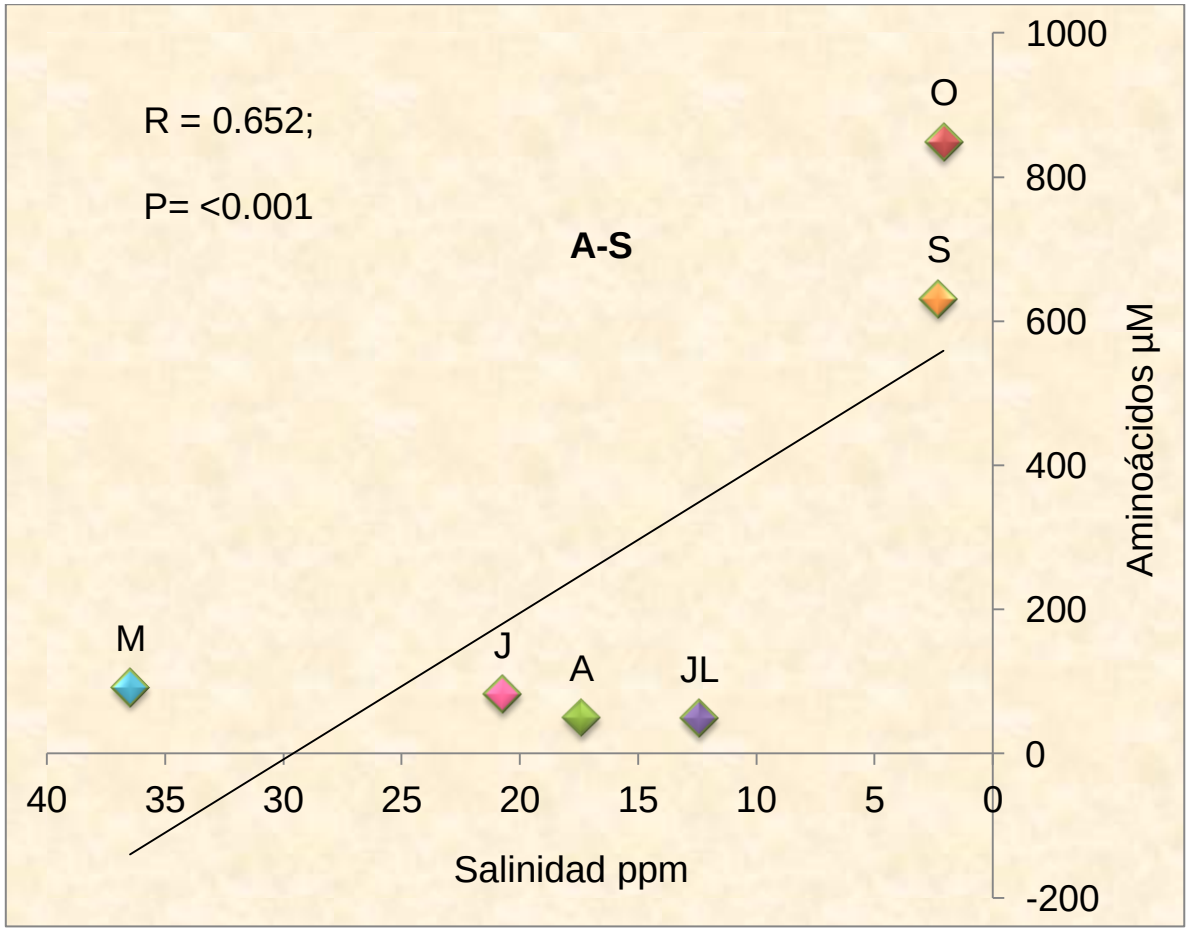


Figura 44 Relación entre el promedio de la concentración de aminoácidos libres (µM) con respecto a la concentración salina (ppm), en el sedimento. Relación Aminoácidos-Salinidad (A-S). M: Mayo, J: Junio, JL Julio, A: Agosto, S: Septiembre, O: Octubre. (P<0.001) entre grupos.

5.3.2.3. Relación de la concentración de glucosa con la concentración salina.

Al realizar el análisis de regresión lineal de las concentraciones promedios de glucosa libre en el sedimento Vrs. salinidad se obtuvo un valor de R=0.459. En la (figura 45) se observa que los meses de Mayo y Junio presentan las menores concentraciones promedios de glucosa (µM) a rangos de salinidad de 20 a 40 ppm y Septiembre y Octubre presentan las mayores concentraciones de glucosa (µM) entre los rangos de salinidad de 0 a 5 ppm

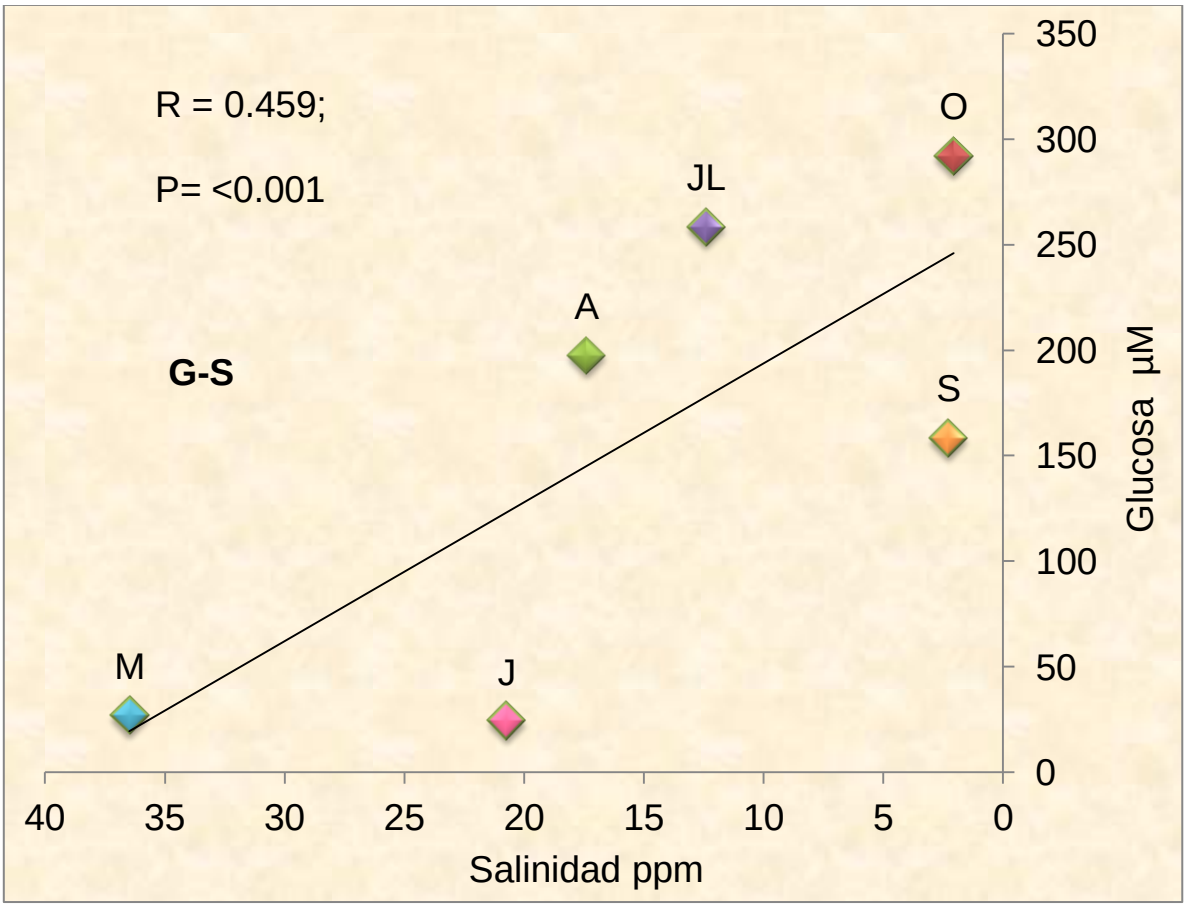


Figura 45. Relación entre el promedio de la concentración de glucosa libre (µM) con respecto a la concentración salina (ppm), en el sedimento. Relación glucosa-Salinidad (G-S). M: Mayo, J: Junio, JL Julio, A: Agosto, S: Septiembre, O: Octubre. (P<0.001) entre grupos.

6. DISCUSIÓN

Caracterización preliminar del estado de salud del cuerpo de agua del río Estero Real

Desde los años 90_s La cuenca del Río Estero Real ha sido usada como área exclusiva para el desarrollo acuícola debido a las condiciones favorables para la camaronicultura (CIDEA-UCA, 2006), considerándose uno de los humedales más importantes en el área de seguridad alimentaria y nutricional (FAO, 2010). Por tanto, el río Estero Real desempeña un papel fundamental en la economía del país, en él se desarrolla el 98% de la industria de camarón de Nicaragua (FAO, 2010) debido a la existencia de aproximadamente 39,500 ha. aptas para el cultivo (Saborío, 2002). No obstante, el Estero Real es receptor de la sedimentación proveniente de áreas agrícolas en las partes alta y media de la cuenca, de descargas de materia orgánica e inorgánica provenientes de los afluentes al Estero y del vertido de desechos de las actividades acuícolas, (UCA, 1999; Lezama, 2000) que deterioran la calidad del agua para el cultivo de organismos marinos y salud pública. Sumado a esto podemos mencionar el efecto silencioso del cambio climático sobre la salud de los ecosistemas, que afecta de manera general a todos los cuerpos de agua (Moore et al., 2008).

Se sabe que un ecosistema sano se caracteriza por permanecer estable y sostenible, manteniendo su organización y autonomía a través del tiempo y su capacidad de resistencia al estrés" (Constanza, 1992). Bajo ese contexto, en los últimos años, el interés por la salud de los ecosistemas acuáticos ha ido incrementando, girando en torno a evaluaciones que implican la integración de los valores humanos en los procesos biofísicos (Rapport et al., 1998). Tradicionalmente, los parámetros fisicoquímicos y biológicos se han utilizado para evaluar la salud de los cuerpos de agua. Recientemente, los indicadores funcionales de los procesos del ecosistema (tasas metabólicas, descomposición de la materia orgánica y los procesos de los nutrientes) han recibido mayor atención y ahora se consideran fundamentales para determinar la salud de los ecosistemas de lagos, ríos y arroyos (Bunn et al, 1999; Bunn y Davies, 2000; Gessner y Chauvet, 2002; Young et al, 2004 y Udy et al, 2006). En el metabolismo de los ecosistemas, la composición de la producción primaria bruta y la respiración proporcionan una medida de la cantidad de carbono orgánico producido y consumido dentro del sistema, respectivamente. Ambos tipos suelen mostrar patrones estacionales como consecuencia de su dependencia de los factores ambientales (luz, temperatura y nutrientes) y son muy sensibles a los factores estresantes inducidos por el hombre, razón que los hace buenos indicadores de la salud del cuerpo de agua (Gessner y Chauvet, 2002 y Young et al., 2004). En ese sentido, la búsqueda de alternativas que conlleven a obtener mejores rendimientos productivos y la diversificación de especies de cultivo, obliga a realizar estudios continuos que permitan focalizar la dinámica de los parámetros fisicoquímicos y el metabolismo acuático de las principales moléculas energéticas, en las aguas del río Estero Real.

Parámetros fisicoquímicos

Niveles de oxígeno disuelto y su relación con la turbidez.

Al evaluar los valores de concentración de oxígeno disuelto (OD), cada mes, los resultados no presentan diferencias significativas entre los diez puntos de muestreo. Estudios anteriores realizados en el periodo 2000-2004 manifiestan que la distribución del OD muestra un comportamiento similar al gradiente salino, disminuyendo gradualmente desde la boca del estero principal al interior (CIDEA-UCA, 2006). Sin embargo, tomando en cuenta que nuestros datos reflejan valores de OD correspondientes al periodo lluvioso y que Puerto Morazán ocupa el centro de los 23 Km de recorrido en la zona de estudio, cabe destacar que nuestros resultados coinciden con los valores promedios de OD reportados en el sector de Puerto Morazán (CIDEA-UCA, 2006; Lezama, 2000).

Así mismo, el promedio de la concentración de OD en toda la zona de estudio, tras el análisis de regresión, refleja que del mes de mayo hasta octubre se observa una leve pendiente positiva sobre el comportamiento de los niveles de OD en el tiempo, siendo el mes de octubre el que presenta incremento significativo con respecto a los meses anteriores. Sin embargo, los niveles de OD encontrados son menores a los definidos para niveles óptimos de bienestar animal, siendo normal para este tipo de estero donde al haber un alto nivel de sedimentación la reducción del proceso de fotosíntesis y la respiración bacteriana probablemente sean las responsables del deterioro de la salud en este cuerpo de agua (Curie, 1994).

Estudios recientes muestran que los niveles de OD disminuyen en sectores donde los vertidos de aguas residuales llegan a los ríos sin tratamiento previo. Por tanto, el alto contenido de materia orgánica descargada deriva en bajas concentraciones de OD producto de la elevada tasa de crecimiento microbiano que agota rápidamente el OD (Guzmán, 2012). Así mismo, producto de la degradación de los bosques, la conversión de áreas boscosas para la agricultura y la fragilidad de los suelos que son usados sin prácticas de conservación, favorecen la llegada de grandes cantidades de sedimentos. Se sabe que las cargas de sedimento son altas en los cursos de agua arriba de Puerto Morazán donde se han reportado niveles de hasta 11 veces más en peso de sedimento con respecto a los niveles de la boca del Estero principal (Curie, 1994), lo cual concuerda con nuestros resultados ya que en el sector aguas arriba los niveles de turbidez son mayores que los observados en sector aguas abajo de Puerto Morazán. Bajo ese contexto, sabiendo que en el sector de aguas arriba de Puerto Morazán es una zona en la que se desarrolla gran parte de la actividad acuícola (CIDEA-UCA, 2006) y que el bosque de manglar y los suelos presentan altos índices de deterioro (MARENA, 2006), podemos hipotetizar que los bajos niveles de OD encontrados en nuestra área de estudio pudieran deberse fundamentalmente a dos factores: al vertido de aguas con alto contenido de nutrientes proveniente de actividades acuícolas y aguas usadas a nivel doméstico (aguas servidas y negras) (Saborío, 2002) y a la entrada de grandes cantidades de sedimento por medio de los efluentes

(Curie, 1994), revelado, de manera general, este último factor con los bajos valores de lecturas obtenidos con el disco de Secchi.

Comportamiento de la concentración salina

En cuanto a las dinámicas de las corrientes, estudios anteriores reportan que el río Estero Real presenta un tiempo de recambio de sus aguas muy lento, que va desde 30 a 45 días desde el sector de Puerto Morazán hasta el Golfo de Fonseca y más de 90 días desde aguas más arriba (CIDEA-UCA, 2006; Curie, 1994). Este fenómeno, no permite que la combinación de las aguas dulces y salinas del mar se homogenicen de manera general por todo el cuerpo de agua, siendo probablemente esta la razón que en nuestro estudio observemos un comportamiento creciente de los niveles salinos desde el punto 1 hasta el punto 10 en todos los meses muestreados. La concentración salina en el mes de mayo presenta un rango de 31.6-38.4, respectivamente; lo cual indica que las corrientes de agua proveniente de los afluentes y la lluvia que cae sobre el río ejercen efecto decreciente de la concentración de sales en el cuerpo de agua y que producto de la cercanía o lejanía al mar la combinación de las aguas marinas no se efectúa paralelamente en cada punto (CIDEA-UCA, 2006; Curie, 1994). A partir del mes de junio es más notoria la disminución de la salinidad en el cuerpo de agua, siendo los meses de septiembre y octubre los que reflejan los menores niveles de concentración salina, concordando con lo reportado por CIDEA-UCA (2006). Así mismo, el comportamiento decreciente de la salinidad en el mes de octubre donde se alcanzan valores de cero en los dos primeros puntos y valores de 1 en los cuatro puntos siguientes coincide con estudios realizados en el periodo del año 2001-2004 donde se reportan valores de concentración salina menores de 1 para el sector de Puerto Morazán (CIDEA-UCA, 2006).

De manera general, nuestros resultados coinciden con lo reportado en estudios anteriores, donde en el periodo lluvioso las aguas del río Estero Real presentan comportamiento decreciente de la concentración salina y que los meses de septiembre y octubre son los meses que presentan los valores más bajos (CIDEA, 2006; Curie, 1994). Lo cual demostramos al realizar el modelo de regresión lineal, donde la correlación entre los valores de la concentración salina con respecto al promedio de la concentración salina de los 23 Km de recorrido, en cada mes, presenta pendiente negativa.

Evaluación del comportamiento del pH

Se sabe que la mayoría de las aguas epiconticontinentales presentan valores de pH que fluctúan entre 6.5 y 9 y que dentro de este intervalo de valores se considera debe encontrarse un ecosistema saludable, siendo algunos factores ambientales los responsables de la modulación de los valores de pH de un cuerpo de agua a otro (Arredondo y Ponce, 1998). Estudios anteriores han demostrado que el pH del agua es fundamental para la buena salud de las diversas formas de vida en los ecosistemas acuáticos debido a que en dependencia del valor del pH fluctúan las concentraciones de diversos

metabolitos producidos por la biota bacteriana. La reducción del sulfato por bacterias anaeróbicas genera sulfuro como producto final, que se disocia y mantiene un equilibrio químico entre S_2–, HS– y H_2S, controlados principalmente por el pH. Las concentraciones de sulfuro son fitotóxicas y están determinas por el pH del agua de mar, donde la mayoría se encuentra como H_2S (pK1 = 6.9) y HS (pK2 = 11.9). Esto indica que la relación de H_2S y HS es de aproximadamente 50% a pH 7; sin embargo, a pH 6 los niveles de sulfuro se incrementan a aproximadamente 90%, mientras que a pH 8 se reduce a aproximadamente 10% (Korhonen et al., 2012).

Nuestros resultados muestran un valor promedio de pH 7, similares a los encontrados por Córdova et al. (2009) en el Estero Limache, Chile; donde los afluentes descargan grandes volúmenes de aguas con alto contenido de nutrientes, factor que mantiene una mala calidad de agua, similar a la que presenta el río Estero Real. Durante el recorrido matutino, previo a la salida del sol, en la zona aguas arriba de Puerto Morazán percibimos un olor a huevo podrido el cual consideramos puede ser debido a la presencia de gases de H_2S producidos por bacterias anaeróbicas. Este argumento se fundamenta en los bajos valores de OD que encontramos en esa zona tras 5 horas de luz (hora de muestreo 11 am) y que antes de la salida del sol debieron estar muy cercanos al cero. Por tanto, este fenómeno podría estar generando severos daños a la biodiversidad de especies que habitan ese ecosistema acuático. Y aunque en este periodo de la investigación no evaluamos los valores de pH al final del tiempo de oscuridad, podemos hipotetizar que la alta concentración de CO_2, producto de la respiración nocturna, disminuye el valor del pH en las aguas del Estero (Boyd, 1982), facilitando la producción de sulfuro tóxico. Además, se sabe que concentraciones de sulfuro entre 1 y 10 µM en células eucariotas inhiben el citocromo c oxidasa (Fenchel y Finlay 1995) y que concentraciones en el sedimento menores que 5000 µM limitan el crecimiento de las macrófitas en los humedales (Koch y Mendelssohn, 1989; Koch et al., 1990; Erskine y Koch 2000) .

Bajo esas condiciones, los resultados observados sobre los niveles de oxígeno disuelto permiten hipotetizar que, en la zona de estudio, las aguas del Estero Real presentan metabolismo anaeróbico por la noche y aeróbico-aeróbico facultativo en el día, que no favorecen las condiciones de bienestar animal debido al nivel de estrés al que están sometidos. En ese sentido, no solamente el zooplancton presente en el cuerpo de agua puede ser afectado, sino que también la actividad fotosintética del fitoplancton, de manera similar a lo reportado por Korhonen (2012) donde muestra que el sulfuro afecta la capacidad fotosintética de *Zostera marina.* Por otro lado, se sabe que bajos valores de pH provocan efectos fisiológicos que repercuten sobre la regulación de la ingesta de alimento en los peces, provocando pobre tasa de crecimiento o en casos extremos la muerte (Domínguez et al., 2004)

Evaluación de la temperatura

Nuestros resultados muestran que en promedio la temperatura superficial del agua es de 31.2 ^{0}C, lo cual coincide con lo reportado por CIDEA-UCA (2006) sobre estudio realizado en el año 2000, en el río Estero Real. Sin embargo, es imprescindible destacar que los resultados mostrados por CIDEA-UCA (2006) sobre estudios realizados en los años 2001, 2002, 2003 y 2004, sobre la temperatura promedio en las aguas del río Estero Real, presentan valores mayores de 1.5 ^{0}C en el año 2003 y de 2 ^{0}C en el año 2004, que los presentados en nuestra investigación. Esta situación pudiera deberse a la temporalidad en las tomas de muestras de cada grupo de investigación o a variaciones de la temperatura por efectos del cambio climático (Gutiérrez et al., 2012). Por tanto, bajo estas condiciones con nuestros resultados sobre la temperatura no podemos realizar deducciones más profundas, solo podemos mencionar a que grado se encontró la temperatura superficial del cuerpo de agua entre las 11 am y 12 m.

Metabolismo acuático

El interés de estudiar el impacto del cambio climático global y el efecto de la actividad humana sobre la estructura y función de los ecosistemas acuáticos ha venido creciendo en los últimos años (Gutiérrez et al., 2009; 2012). La gravedad de estos impactos puede depender tanto de su intensidad o frecuencia debido a que los organismos a menudo exhiben diferentes tolerancias a los factores de estrés o diferentes capacidades de recolonización (Gutiérrez et al., 2012). Nuestros resultados muestran, por primera vez en Nicaragua, la dinámica fluctuante del metabolismo intermedio en el cuerpo de agua, evaluando los niveles de metabolitos (aminoácidos y glucosa) y proteínas en estado libre, en las aguas y sedimento del río Estero Real, en el periodo (mayo-octubre).

Evaluación de niveles de metabolitos y proteínas en el cuerpo de agua

Se sabe que el proceso de degradación de la materia orgánica puede ser llevado a cabo de diferentes maneras y por diferentes especies de microorganismos (Erijman, 2011). De tal forma que los resultados sobre los niveles de metabolitos y proteínas, presentes en estado libre en las aguas del Estero Real, puede ser producto de la actividad de cualquier miembro de la población microbiana (Rodríguez, 2010; Erijman, 2011).

Nuestros resultados muestran que las concentraciones de proteínas y glucosa, en estado libre, presentan una tendencia decreciente en paralelo al comportamiento de la concentración salina, por ende disminuyen a medida que avanza el periodo lluvioso. Rodríguez (2010) encontró que algunas clorofitas como *Chlorella sp., Chlamydomonas sp., Oocystis sp. y Scenedesmus sp*. y algunas cianofitas tienen capacidad de liberar exoenzimas tales como amilasa, lipasa, proteasa, fosfatasa, celulasa y ureasa; razón que permite hipotetizar que en el cuerpo de agua del Estero Real las Clorófitas podrían estar ejerciendo

algún efecto sobre la degradación de las proteínas, en sinergia con la presencia bacteriana, actividad metabólica que incrementa a medida que disminuye la concentración salina. Estudios recientes han comparado la biomasa microbiana (hongos, bacterias y microalgas) y la actividad de enzimas extracelulares usadas para la descomposición de la materia orgánica entre diferentes sustratos bénticos (hojas y ramas de árboles), encontrando alta actividad peptidasa en momentos de alta concentración de biomasa algal y que la biomasa de hongos y bacterias incrementa con la degradación de celulosa y hemicelulosa proveniente del tejido de las hojas (Artigas, 2008). Por tal razón, aunque nuestro estudio solamente implica evaluar los metabolitos libres podemos hipotetizar que la alta concentración de *Chlorella sp., Chlamydomonas sp., Oocystis sp. y Scenedesmus* y algunas cianofitas encontradas en las aguas del río Estero Real por investigadores de nuestro laboratorio (datos aun no publicados), en ese mismo periodo, y algunas bacterias pueden estar ejerciendo un efecto de pendiente negativa sobre la concentración de proteínas en el tiempo. Además, debido al aumento de la población bacteriana en el periodo lluvioso (Saborío, 2002) es posible que también exista mayor demanda de glucosa libre en los meses de septiembre y octubre. Bajo ese contexto, el incremento en la concentración de aminoácidos libres observado en el tiempo puede ser debido al posible incremento del metabolismo degradativo de las proteínas.

Evaluación de niveles de metabolitos y proteínas en sedimento

Considerando las propiedades microbiológicas de bacterias y hongos degradadores de proteína, quitina, celulosa y pectina (Félix et al., 2010) y actinomicetos (Cruz et al., 2009) es de esperarse encontrar concentraciones de metabolitos libres y proteínas en el sedimento. El papel de estos microorganismos sobre los procesos de degradación de la materia (Erijman, 2011) es de fundamental importancia para el aporte de metabolitos energéticos necesarios para el funcionamiento celular de todos los microorganismos que componen la biota acuática (Bunn et al., 2000). Nuestros resultados indican actividad metabólica de materia orgánica en el sedimento, encontrando pendiente de crecimiento positiva, con respecto al tiempo, es decir que a medida que nos acercamos a los meses más lluviosos (octubre y noviembre) las concentraciones de proteínas y metabolitos libres incrementan. No obstante, los valores de concentración de los metabolitos y proteínas en el sedimento son más bajos que los valores encontrados en el cuerpo de agua.

<u>Relación de los niveles de proteína y metabolitos (aminoácidos y glucosa) con las concentraciones salinas y los valores de temperatura.</u>

Tras el análisis de regresión de pasos hacia atrás, nuestros resultados muestran que los parámetros salinidad y temperatura presentan relación lineal con las concentraciones de proteínas, aminoácidos y glucosa en el cuerpo de agua y que solo la salinidad es el parámetro que se relaciona en sedimento. No obstante, la salinidad presenta mayor relación que la temperatura en el cuerpo

de agua y la relación de la salinidad en el cuerpo de agua es mayor a la relación que se presenta en sedimento.

Relación de la concentración de proteínas, aminoácidos y glucosa con la concentración salina y los valores de temperatura, en el cuerpo de agua.

Nuestros resultados muestran que existe una estrecha relación entre las concentraciones de proteínas y glucosa con respecto a la concentración de la salinidad, debido a que ambos compuestos energéticos disminuyen sus concentraciones en paralelo con la disminución de la concentración salina, en el cuerpo de agua. Cabe destacar que las menores concentraciones de proteína y glucosa se encontraron en salinidades menores a 3 ppm y valores de temperatura de 30.17 y 30.24 para los meses de Septiembre y Octubre respectivamente. Por tanto, en base a lo encontrado en estudios recientes donde señalan que *Chlorella sp*. tiene capacidad para producir enzimas extracelulares (amilasa y proteasa) en concentraciones mayores que el resto de las Clorófitas (Rodriguez, 2010) y que este género fue el más abundante en el mes de septiembre, podemos hipotetizar que la disminución de las concentraciones de proteína en los meses de septiembre y octubre pudiera deberse al efecto de las microalgas y que la disminución de la concentración de glucosa podría deberse a la demanda de este metabolito por bacterias, debido a que en los meses de septiembre y octubre, por lo general, hay mayor presencia bacteriana en las aguas del Estero Real (Saborío et al., 2002).

Resulta interesante analizar que a partir de concentraciones salinas de 17.4 ppm tanto las concentraciones de proteína como glucosa tienden a disminuir significativamente hasta llegar a valores casi indetectables cuando los valores de salinidad se aproximan a cero. Así mismo, sabiendo que la disminución de la salinidad es debido al volumen de agua dulce proveniente de la lluvia y que en el periodo lluvioso algunos investigadores han señalado que hay mayor crecimiento de la biomasa bacteriana y fúngica (Artigas, 2008) podemos hipotetizar que, en este periodo, existe mayor consumo de glucosa libre que podría estar disminuyendo su concentración y mayor degradación de proteína producto de la liberación de peptidasas, en el cuerpo de agua. No obstante, la relación de la temperatura con las concentraciones de estos metabolitos energéticos solo muestra igual comportamiento al observado en la relación con la salinidad cuando su valor está entre 30.24 y 30.17 ^{0}C.

La concentración de aminoácidos libres muestra similar comportamiento en la relación con la salinidad y temperatura, denotando incremento de las concentraciones a medida que disminuyen la salinidad y temperatura en los meses de estudio. No obstante, teniendo en cuenta que las concentraciones de proteína en el cuerpo de agua presentan un comportamiento a disminuir a partir de salinidades inferiores a 17.4 ppm, es de esperarse encontrar un comportamiento de incremento de las concentraciones de aminoácidos libres. Sin embargo no resulta así, ya que la concentración de aminoácidos muestra incrementos solo a salinidades de 2.05 y 2.35 ppm y temperatura entre 30.24 y 30.17 ^{0}C. Por lo tanto, estos resultados permiten hipotetizar a) que en el río

Estero Real a concentraciones salinas entre 20.7 y 36.5 ppm hay presencia de microorganismos que demandan mayor cantidad de aminoácidos que glucosa, b) que en salinidades entre 12.45 y 17.4 ppm siempre existe demanda de aminoácidos pero también se incrementa la demanda de glucosa, c) que en el periodo de máxima caída de lluvia (septiembre y octubre) donde las salinidades alcanzan valores de 2.05 y 2.35 ppm hay una disminución de la concentración de glucosa, probablemente debido al incremento de microorganismos (Artigas, 2008) consumidores de este metabolito energético, e incremento de la concentración de aminoácidos, en el cuerpo de agua.

Ante tal situación parece que en las aguas del rio Estero Real hay una fluctuación de activación-inhibición de diversos microorganismos consumidores de metabolitos pepiticos o glúcidos que depende en primer lugar de las variaciones de la concentración salina y en segundo lugar de variación de la temperatura. Lo cual concuerda, en lo general, con lo presentado en estudios anteriores (Brock y Madigan, 1991; Artigas, 2008).

Relación de la concentración de proteínas, aminoácidos y glucosa con la concentración salina en sedimento.

De manera general, los datos reflejan que las concentraciones de todos los compuestos energéticos estudiados en sedimento presentan concentraciones entre 3 y 4 veces menores a las encontradas en el cuerpo de agua. Asimismo, todos los compuestos energéticos presentan pendiente de crecimiento positiva a medida que disminuye la salinidad y la diferencia entre lo observado en el cuerpo de agua es que en sedimento la relación es aproximadamente 2 veces menor. Estudios recientes señalan incremento de las concentraciones de la biomasa de hongos y bacterias en diferentes sustratos (hojas, ramas y arena) pertenecientes a cuencas hidrográficas en época de mayor precipitación pluvial (Artigas, 2008). Y teniendo en cuenta que nuestras muestras fueron tomadas de las orillas del río Estero Real en marea alta y que cuando baja la marea ese sector de la cuenca queda desprovisto de agua, podemos mencionar que la muestra de sustrato obtenido de la orilla del rio Estero Real presenta similares condiciones a las muestras obtenidas por Artigas, (2008). Bajo ese contexto, el incremento de la concentración de metabolitos libres (glucosa y aminoácidos) y proteínas encontrados a medida que disminuye la concentración salina en el cuerpo de agua (periodo lluvioso) pudiera deberse a un probable incremento de la biomasa bacteriana y fúngica, que pudieran estar ejerciendo su papel sobre la degradación de la materia, de manera similar a lo encontrado en otros estudios (Artigas, 2008).

Hemos demostrado, que ante diversas concentraciones salinas existen fluctuaciones de los niveles de metabolitos libres y proteínas, tanto en el cuerpo de agua como en el sedimento, lo cual resulta en el descenso de las concentraciones de proteínas y glucosa y el incremento de las concentraciones de aminoácidos en el cuerpo de agua y el incremento de las concentraciones de proteínas, aminoácidos y glucosa en el sedimento. Dado que nuestros resultados concuerdan con estudios anteriores (Félix et al., 2010; Erijman,

2011; Bunn et al., 2000; Cruz et al., 2009; Rodríguez, 2010; Saborío, 2002) podemos sugerir que las microalgas juegan un papel fundamental en la degradación de proteínas, lo cual se confirma con la diferencia de los valores de aminoácidos observados entre el cuerpo de agua y sedimento. Por otro lado, debido a que en nuestro estudio no evaluamos las concentraciones de bacterias, hongos y actinomicetos no podemos decir que microorganismo es el que actúa ante una u otra condición ambiental. Por tanto, para monitorear de mejor manera la salud de este importante cuerpo de agua es necesario realizar estudios que abarquen, además de lo realizado en nuestra investigación, trabajos microbiológicos.

7. CONCLUSIONES

7. CONCLUSIONES

1. El río estero real presenta un alto nivel de turbidez, tal y como ponen de manifiesto los resultados obtenidos de la lectura del disco de Secchi. Además, se pone de manifiesto que el sector aguas arriba de Puerto Morazán presenta mayor nivel de turbidez que el sector aguas abajo. Predominando una tendencia decreciente de los niveles de turbidez a medida que se avanza hacia la boca del Estero.

2. La concentración de oxígeno disuelto manifiesta el alto grado de estrés al que está sometido el rio Estero Real, indicando que no presenta condiciones óptimas para el desarrollo del metabolismo acuático aerobio y bienestar animal. Sin embargo, aunque al final del periodo de estudio se nota una débil tendencia creciente de la concentración de oxígeno disuelto, estos valores no permiten considerar saludable a este cuerpo de agua.

3. La concentración de la salinidad, a lo largo de nuestra área de estudio, presenta gradientes de concentración que incrementan a medida que nos acercamos a la boca del estero. Además, los datos señalan que en todo el periodo lluvioso, de mayo a octubre, las aguas del río Estero Real experimentan cambios decrecientes de la concentración salina, hasta llegar a valores de cero en los sectores de la Cooperativa Herrera Membreño y San Martin.

4. Los factores temperatura y pH no muestran variaciones relevantes entre puntos de muestreo ni entre meses de estudio, indicando que la temperatura fluctúa en dependencia de las variaciones del cambio climático y que el pH es producto de la concentración de CO_2, debido a la característica anaeróbica que presentan las aguas del río Estero Real en el periodo de mayo a octubre.

5. En el agua, el mes de mayo presenta la mayor concentración de glucosa y proteína en estado libre. A partir de ese mes, las aguas del Estero Real experimentan un descenso de las concentraciones en ambos parámetros que culmina hasta el final de nuestro periodo de investigación, sin encontrar cambios relevantes de las concentraciones entre puntos, en cada mes de muestreo. Por el contrario, la concentración de aminoácidos libres muestra una tendencia creciente en el tiempo, siendo el mes de octubre quien presenta el mayor valor.

6. En sedimento, los tres parámetros (proteína, aminoácidos y glucosa) presentan tendencia a incrementar en el tiempo, siendo los meses de septiembre y octubre los que presentan las mayores concentraciones.

7. En agua la salinidad es el parámetro que presenta mayor relación con respecto a las fluctuaciones de las concentraciones de proteínas, aminoácidos y glucosa. Así mismo se observó escasa relación de la temperatura sobre las concentraciones de estos metabolitos energéticos.

8. En sedimento solamente el parámetro salinidad es el que presento relación con las concentraciones de proteínas, aminoácidos y glucosa. Sin embargo esta relación es inferior a la observada en el cuerpo de agua.

En resumen, los resultados presentados en esta tesis proporcionan evidencias sobre el nivel de estrés al que está sometido el cuerpo de agua del río Estero Real, mediante la evaluación de la dinámica del metabolismo acuático intermedio de las proteínas, aminoácidos y glúcidos y su relación con los parámetros fisicoquímicos.

8. RECOMENDACIONES

8. RECOMENDACIONES

- Reforzar el presente trabajo investigativo con la realización de monitoreo mensuales de los parámetros físico-químicos y de metabolitos y proteínas como indicadores de la salud del cuerpo de agua del río Estero Real, Nicaragua.

- Proponer un estudio a mayor profundidad basado específicamente en el aislamiento de las especies de hongos, bacterias y actinomicetos encargados de los procesos de la degradación de la materia en el cuerpo de agua.

- Implementar un sistema de tratamiento de aguas servidas y negras para los sectores aledaños al río Estero Real e igualmente fortalecer los sistemas de tratamiento de las pilas usadas para acuicultura..

9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Abderhalden, E. y Schmidt, H. (1913). Some observations and experiments with triketohydrindenhydrate (Ruhemann) (in German). *Z. Physiol. Chem.* 85: 143-147.

Abarca, F. J. y Herzig, M. (2002). 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, Convencion Ramsar, U.S. State Department, Ducks Unlimited of Mexico-A.C., Pronatura. Noreste, Canadian Wildlife Service y Society of Wetlands Scientists. Phoenix, Arizona.

Ackefors, H. y Enell, M. (1992). Pollution loads derived from aquaculture: land-based and waterbased systems.Department of Fishery Biology, Institute for Marine Science, Christian-Albrechts- University of Kiel, Alemania. 3-4.

American Public Health Association, APHA. (1995). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation, Nueva York.

Archibald, P.A y Bold, H.C. (1970). Phycological studies. XI. The Genus *Chlorococcum* Meneghini. University of Texas Publication. 7015: 115.

Artijas, J. (2008). The role of fungi and bacteria on the organic matter decomposition process in streams: interaction and relevance in biofilms. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias. Universidad de Girona. Girona.

Artigas,J. (2008). The role of fungi and bacteria on the organic matter descompposition process in stream: Interaction and relevance in biofilm. Tesis Doctoral. Institut D´Ecología Aquatica. Universitat de Girona. España.

Atlas, R. M. y Bartha, R. (2002). Ecología microbiana y Microbiología ambiental. (4ta ed) Madrid: Pearson Education. S. A.

Barbosa, E. y De Queiroz, M.A. (1996). Cellulolitic fungi isolated from processed oats. *Rev. De Microbiol.* São Paulo. 27 (1):7-9.

Barham, D., y Trinder, P., (1972). An improved color reagent for the determination of blood glucose by the oxidase system. *Analytic. Biochem.* 97(151), 5-142.

Bradford, M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantites of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytic. Biochem*. 72:248-254.

Bresinsky, A. (1986).Sinopsis del reino vegetal: hongos. En: Strasburger, E. et al (Ed), Tratado de Botánica (7ta Ed). (pp. 635 - 689). Barcelona: Marín.

Bricker, S.B., Clement, C.G., Pirhalla, D.E., Orlando, S.P. y Farrow, D.R.G. (1999). National Estuarine Eutrophication Assessment: Effects of Nutrient Enrichment in the Nation's Estuaries. National Oceanic and Atmospheric Administration (NOAA). National Ocean Service, Special Projects Office and the National Centers for Coastal Ocean Science. Silver Spring, MD: 71 pp.

Brock, T y Madigan, M. (1991). Microbiología (6ta Ed.). México: Editorial Hall Hispanoamericana S.A.

Bidlingmeyer, B., Cohen, S y Tarvin, T. (1984). Rapid analysis of amino acids using pre-column derivatization. *J. Chromatography*. 336: 93-104.

Bunn, S. E., Davies, P. M. y Mosisch, T. D. (1999). Ecosystem measures of river health and their response to riparian and catchment degradation. *Freshwat. Biol*. 41: 333–345.

Bunn, S. E. y Davies, P. M. (2000). Biological processes in running waters and their implications for the assessment of ecological integrity. *Hidrobiología.* 422: 61–70.

Castillo, D. (2004). Aislamiento de hongos degradadores de colorantes empleados en la industria textil. Proyecto previo a la obtención del título de Maestro en Tecnología Avanzada. Centro de Investigaciones de Biotecnología Aplicada. Tepetitla de Lardizabal Tlaxcala. México.

Ceroni, A. y Gutiérrez, M. (1988). Producción de celulasas por hongos: estudios cinéticos en hongos silvestres. Boletín Lima. 55:13-20.

CIDEA-UCA. (2006). Línea de base y referencia de Governance Puerto Morazán. Managua, Nicaragua. 54 pág.

Coon, E. y Stumpf, P. (1990). Bioquimica fundamental. (3ra Ed). México: Limusa.

Contreras, E. F. (2001). Caracterización de lagunas costeras mexicanas a través de variables ecológicas seleccionadas. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa. México.

Contreras E. F. (2002). Los humedales costeros mexicanos. Capítulo 4. En: F. J. Abarca y M. Herzig (eds.). *Manual para el manejo y la conservación de los humedales de México*. (3ra Ed). 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, Convencion 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.

Costanza, R. (1992). Toward and operational definition of ecosystem health. En Costanza, R., Norton, B.G. y Haskell, B. D. (eds), *Ecosystem Health*: New Goals for Environmental Management. Island Press, Washington, D.C.: 239–256.

Córdoba, K. (2009). Resistencia Natural de *Guadua angustifolia* Kunth. Al ataque de los hongos lignolíticos como alternativa hacia nuevas posibilidades de uso. Proyecto previo a la obtención del título de Maestra en Ciencias Biológicas. Pontíficia Universidad Javeriana. Bogotá. Colombia.

Córdoba, S., Gaete, H., Aránguiz, F. y Figueroa, R. (2009). Evaluación de la calidad de las aguas del estero Limanche (Chile Central), mediante bioindicadores y bioensayos*. Lat. Am. J. Aquat. Res.* 37(2): 199-209.

Cross, T. (1981). Aquatic Actinomycetes: A critical survey of the ocurrence, growth and role of Actinomycetes in aquatic habitats. *J. Appl. Bacteriol.* 50: 397-423.

Cuenta Reto del Milenio CRM Nicaragua, (2011). Estrategia y Plan de acción de Cuencas Hidrográficas de Occidente. Nicaragua, 1-77.

Curie, D. (1994). Ordenamiento de la Camaronicultura Estero Real, Nicaragua. Programa Regional de Apoyo al Desarrollo de la Pesca en el Istmo Centroamericano (PRADEPESCA)

.

Chang, R. (2007). Química. México: The McGraw-Hill Interamericana.

Chaparro, D y Rosas, D. (2006). Aislamiento y evaluación de la actividad enzimática de hongos descomponedores de la madera en la reserva natural La montaña del ocaso, Quimbaya-Quindío. Proyecto previo a la obtención del título de Microbiólogo Industrial. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá. Colombia.

Chapman, D. (1992). Water quality assessments. United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization, World Health Organization, United Nations Environment Programme*. E y FN Spon*, Londres.

Chapman, D. y Kimtsach, V. (1992). Selection of water quality variables. D. Chapman (ed.). Water quality assessments. United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization, World Health Organization, United Nations Environment Programme. *E y FN Spon*, Londres. 59-126.

Cruz, N., Castellanos, D. y Arguello, H. (2009). Degradación de celulosa y xilano por microorganismos aislados de dos tipos de compost de residuos agrícolas en la Sabana de Bogotá. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*. 3(2):237-249.

Dávila, G., y Vásquez, R. (2006). Enzimas lignolíticas fúngicas para fines ambientales. *Mensaje Bioquímico*. 30:29-55.

Day, J. H. (1950). The ecology of south African estuaries. Part 1 of a review of estuaries in general. *Transaction of the Royal society of South Africa*. 333:53-91.

Day, J.H. (1980). What is an estuary? *South African J.l Scien*. 76:15-17.

Deason, T.R. (1976). The genera *Spongiococcum* and *Neospongiococcum.* III. New species, biochemical characteristic and a summary key. *Phycologia*. 15:197-213.

Domínguez, M., Takemura, A., Tsuchiya, M. y Nakamura, S. (2004). Impact of diferent enviromental factor son the circulating immunoglobulin levels in the Nile tipalpia, *Oreochromis niloticus. Aquaculture.* 241: 491-500.

Erijman, L., Figuerola, E., Guerrero, L. y Ayarza, J. (2011). Impacto de los recientes avances en el análisis de comunidades microbianas sobre el control del proceso de tratamiento de efluentes. *Revista Argentina de Microbiología.* 43: 127-135.

Erskine, J.M. y Koch, M. (2000). Sulfide effects on Thalassia testudinum carbon balance and adenylate energy charge. *Aquat. Bot.* 67:275–285.

FAO. (2010). Implementando un enfoque ecosistémico a la pesca y la acuicultura (EEP/EEA) en el Estero Real Nicaragua.

Fan, L.T. y Lee, Y. (1980). Mechanism of the enzymatic hydrolysis of cellulose: effects of major structural features of cellulose in enzymatic hydrolisis. *Biotech. and Bioeng.* 22: 177-199.

Félix, J., Serrato, R., Armenta, A., Rodríguez, G., Martínez, R., Azpiroz, H y Olalde, V. (2010). Microbiological properties of mature composts produced with different organic matter. *Ra Ximhai* 6 (1): 105-113

.

Fenchel, T., King, G.M y Blackburn, T. (1998). Bacterial Biogeochemistry: the Ecophysiology of Mineral Cycling. *Academic Press.* San Diego. CA. 307.

Ferrer, Y., León, M., Michelena, G., Dustet, J., Duque, A., Ibañez, M. y Tortoló, K. (2011). Selección de hongos aislados de bagazo de caña con actividad celulasa sobre celulosa cristalina para posibles aplicaciones industriales. *Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar* ICIDCA Cuba. 45(1): 3-12.

Forbes, B.A., Saham, D.F. y Weissfeld, A.S. (Eds.). (2002). Bailey y Scott´s. Diagnostic Microbiology. (11th.ed). St. Louis, Missouri. Mosby.

Friedman, M. (2004)**.** Applications of the Ninhydrin Reaction for Analysis of Amino Acids, Peptides, and Proteins to Agricultural and Biomedical Sciences*. J. Agricultur. Food Chem.* 52: 385-406 385.

Fujimoto E.K, Goeke N.M, Olson B.J. y Klenk D.C (1985). Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Analytic. Biochem*. 150: 76-85.

Gaitan, D. y Pérez, L. (2007). Aislamiento y evaluación de microorganismos celuloliticos a partir de residuos vegetales frescos y en compost generados en un cultivo de crisantemo. Trabajo de grado para optar al título de Microbiología Industrial. Pontifícia Universidad Javeriana. Bogotá. Colombia.

Garret y Grisham. (2009). Biochemistry. (4ª ed.) Cap 4.
Recuperado de:
http://www.broskcole.com/cgi_wadsworth/course_products_wp.pl?fin=M20b&product_isbn_issn=0030223180

Gessner, M. O. y Chauvet, E. (2002). A case for using litter breakdown to assess functional stream integrity. *Ecological Applications*. 12: 498–510.

González, A., Robles, L., Nuñez, A., Strip, J. y Crawford, D. (2009). Molecular and cultural analysis of seasonal actinomycetes in soils from Artemisia tridentata habitat. *Internat. J. Experimen. Botany.* 78:83-90.

Gorga, J., Paradiso, M., De Leon, L., Bignoli, E., Mandia, M. y Conde, D. (2002). Problemática de la calidad del agua en el sistema de grandes embalses del Rio Negro. *Revista CIER XI* (39): 51-68.

Grassmann, W. y Von Arnim, K. (1934). On the reaction of ninhydrin and isatin with proline and hyroxyproline (in German). *Analytical Biochemistry*. 6: 288-303.

Grigorevski, A., Nacimiento, R., Bond, E. y Coelho, R. (2005). Streptomyces drozdowiczii cellulase production using agro-industrial by-product and its potential use in the detergent and textile industries. *Enzim. Microbial Technology*. 37: 272-277.

Gutiérrez, M. F. y Contreras, E. F. (2006). Caracterización estacional de las condiciones fisicoquímicas y de productividad primaria Fitoplanctónica de dos lagunas tropicales del estado de Chiapas, México. *Hidrobiológica*. 16(2): 137-146.

Gutiérrez, G. R. y Sánchez, B. R. (2007). Diagnóstico de la actividad pesquera artesanal en el Estero real. Instituto Nicaragüense de la Pesca y Acuicultura (INPESCA).Centro de Investigaciones Pesqueras y Acuícolas (CIPA) Managua-Nicaragua.

Gutiérrez, V., Pinzón Á., Casas, J., y Martínez, M. (2008). Determinación de la actividad celulolítica del suelo proveniente de cultivos de Stevia rebaudiana Bertoni. *Agronomía Colombiana*. 26(3):497-504.

Guzmán, G., Thalasso, F., Ramírez, E., Rodríguez, S., Guerrero, A y Avelar, F. (2011). Evaluación espacio-temporal de la calidad del agua del río san pedro en el estado de aguas calientes, México. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 27(2): 89-102.

Harding, V. J. y Warenford, F. H. S. (1916). The ninhydrin reaction with aminoacids and ammonium salts. *J. Biol. Chem.* 25: 319-335.

Hutchinson, G. E. (1975). A treatise on Limnology. Volume III. Limnological Botany*. John Wiley and Sons.* New York.

Jensen, P. y Fenical, W. (1994). Strategies for the discovery of secondary metabolites from marine bacteria: Ecological perspectives. *Annu Rev Microbiol*. 48: 559-84.

Jiménez, V. (2011). Aislamiento, Selección e Identificación de Actinomicetos, Bacterias Fotosintéticas No Sulfurosas y Bacterias Ácido Lácticas con Potencial Biofertilizante, a Partir de Suelos Asociados al Cultivo de Plátano en la Costa Atlántica Colombiana. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Instituto de Biotecnología Bogotá, Colombia.

Koch, M. y Mendelssohn, I. (1989). Sulfide as a soil phytotoxin: Differential responses in two marsh species. *J. Ecol.* 77:565–578.

Koch, M. S., Mendelssohn, I. y McKee, K. (1990). Mechanism for the hydrogen sulfide-induced growth limitation in wetland macrophytes. *Limnol. Oceanogr.* 35: 399–408.

Korhonen, L. K., Macias, V., Abdala, R., Figueroa, F. y Cabello, A. (2012). Effect of sulfide concentration, pH, and anoxia on photosyntesis and respiration of *Zostera marina. Ciencias Marinas*. 38(4): 625-633.

Kulkarni, N., Shendye, A. y Rao M. (1999). Molecular and biotechnological aspect of xylanases. *FEMS Microbiol. Rev.* 23: 411-456.

Leiva, S., Yáñez, M., Zaror, L., Rodríguez, H. y García, H**.** (2004). Antimicrobial activity of actinomycetes isolated from aquatic environments in Southern Chile. *Rev Méd Chile.* 132: 151-159.

Lezama, M. (2000). Ficha informativa de los humedales Ramsar: Deltas del Estero Real y Llanos de Apacunca. Managua, Nicaragua, 4-16.

Lezhava, A., Mizukami, T., Kajitani, T., Kameoka, D., Redenbach, M. y Shinkawa, H. (1995). Physical Map of the Linear Chromosome of Streptomyces griseus. *J. Bacteriol.* 177(22):6492-6498.

Lehninger, A. (1979). Curso breve de bioquímica. Barcelona: Ediciones Omega, S.A.

Lehninger, A. (2009). Principles of Biochemistry. (5ta Ed). Freeman.
Recuperado de: http://www.whfreeman.com/Lehninger/

Li, X. (1997). *Streptomyces cellulolyticus* sp. nov., a New cellulolytic Member of the Genus Streptomyces. *Inter. J. sistemtic. bacteriol*. 47: 443-445.

Lowry, O., Rosebrough, N., Farr, A. y Randall, R. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193:265-275.

Lynd, L. R., Weimer, P. J., Zyl, W. H. y Pretorius, I. S. (2002). Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. *Microb. Mol. Biol. Rev*. 66: 506-577.

Lowe, D. y Arendet, E. (2004). The Use and Effects of Lactic Acid Bacteria in Malting and Brewing with Their Relationships to Antifungal Activity Mycotoxins and Gushing: A Rev. *J. Institute Brewing*. 110(3):163-180.

MacFadyen, D. A. (1950a). On the mechanism of the reaction of ninhydrin with R-amino acids. I. Absorption spectra of ninhydrin and certain derivatives. *J. Biol. Chem*. 150: 1-12.

MacFadyen, D. A. y Fowler, N. (1950b). On the mechanism of the reaction of ninhydrin with R-amino acids. II. A spectrophotometric study of hydrindantin reactions. *J. Biol. Chem*. 150: 13-22.

MARENA (2006). Plan de manejo del área protegida reserva natural delta del estero real. Dirección General de Áreas Protegidas.

Marx, M. C., Wood, M y Jarvis, S. C. (2001). A microplate fluorimeteric assay for the study of enzyme diversity in soils. *Soil Biol. Biochem*. 33, 1633-1640.

Méndez, L. J. (2008). Estructura y fisiología de los hongos patógenos. En: López, R., Méndez L.J., Hernández, F. (Ed.). Actualidades en Micología Médica (4ta Ed) México: UNAM.

Meade, R. (1972). Transport and deposition of sediments in estuaries. *Geology Soc. America.* Inc. Memoir 133.

Moss, B., Madgwick, J. y Phillips G. L. (1996). A guide to the restoration of nutrient enriche shallow lakes. Broads Authority and Environment Agency (CE) Norwich.

Moss, B. (1996) A land awash with nutrients the problem of eutrophication. *Chem. Industry.* 407-411.

Moore, S. y Stein, W. H. (1948). Photometric ninhydrin method for use in the chromatography of amino acids. *J. Biol. Chem*. 176: 367-388.

Moore, S. y Stein, W. H. (1954). A modified ninhydrin reagent for the photometric determination of amino acids and related compound. *J. Biol. Chem*. 211: 907-913.

Moore, S., Spackman, L. H., y Stein, W. H. (1958). *Analytic. Biochem*. SO. 1185.

Moore, S. (1968). Amino Acid Analysis: Aqueous Dimethyl Sulfoxide As Solvent for the Ninhydrin Reaction. *J. Biol. Chem.* 243(23): 4283-6281.

Moore, S., Trainer, V., Mantua, N., Parker, M., Laws, E., Backer, L y Fleming, L. (2008). Impacts of climate variability and future climate change on harmful algal blooms and human health. *Envirol. Health*. 7(Suppl 2):S4 doi: 10. 1186/1476-069X-7-S2-S4.

Mondini, C., Farnasier, F y Sinicco, T. (2004). Enzymatic activity as a parameter for the characterization of the composting process. *Soil Biol. Biochem.* 36: 1587-1594.

Morrell, R. S. (1944). Siegfried Ruhemann. *J. Chem. Soc*. A: 46-48.

Mukherjee, G. y Sen, S. (2007). Purification, characterization, and antifungal activity of chitinase from *Streptomyces venezuelae* P10. *Current Microbiology.* 53: 265-269.

National Eutrophication Monitoring Programme. (2002).Department of Water Affairs and Forestry. First. Manual Final Draft. South African National Water Quality Monitoring Programmes. First Edition.

Nebel, B. J. y Wright, R. T. (1999). Ciencias Ambientales: Ecología y Desarrollo Sostenible. 6th ed. México: Pearson-Prentice Hall.698.

Paul, E. A. y Clark, F. E. (1996). Soil microbiology and biochemistry. (2a Ed). Academic Press, San Diego, CA.

Pham, P.L., Taillandier, P., Delmas, M. y Strehaiano, P. (1998). Production of xylanases by *Bacillus polymyxa* using lignocellulosic wastes. *Ind. Crops Products*. 7, 195-203.

Pertierra, A. y Tejión, J. M. (2006). Fundamentos de Bioquímica Estructural (2da Ed.). Madrid: Editorial TEBAR, S.L.

Pritchard, D. W. (1955). Estuarine circulation patterns. *Proceedings American Society of Civil Engineers*. 81.

Pritchard, D. W. (1967). What is an Estuary: Physical View point. Chesapeake Bay Institute. The Johns Hopkins University, Baltimore Maryland. *American Assoc. Advant.Science*. 83: 3-5.

Ponce T. y Pérez, O. (2002). Celulasas y xilanasas en la industria. XXX Aniversario de Biotecnología y Bioingeniería. *Avance y Perspectiva*. 21: 273-277.

Rabalais, N. N., Turner R. E. y Wiseman W. J. (2002). Gulf of Mexico hypoxia, aka The Dead Zone.

Ramírez, P. y Coha, J. (2003). Degradación enzimática de celulosa por actinomicetos termófilos: aislamiento, caracterización y determinación de la actividad celulolítica. *Revista Peruana de Biología*. 10(1):67-77.

Ramos, A. M. y Forchiassin, F. (1996). Producción de endoglucanasa en cuatro especies del género *Saccolobus*. *Rev. Argentina de Microbiología.* 28: 55-62.

Rapport, D. J., Costanza, R. y McMichael, A. (1998). Assessing ecosystem health. *Trends in Ecology & Evolution*. 13, 397–402.

Rayner, A, y Boddy, L. (1998). Fungal Decomposition of Wood Its Biology and Ecology. *John Wiley and Sons* Ltd. Inglaterra. 587 p.

Rodríguez, S. (2010). Evaluación de microalgas y de bacterias asociadas productoras de exoenzimas para tratamiento de aguas residuales de una extractora de aceite de palma. Tesis doctoral. Universidad del Zulia. Maracaibo. Venezuela.

Roldan, G. (1992). Fundamentos de limnología neotropical. Editorial Universidad de Antioquia. 529.

Ruhemann, S. (1910a). Cyclic di- and tri-ketones. *Trans. Chem. Soc.*, 97: 1438-1449.

Ruhemann, S. (1910b). Triketohydrindene hydrate. *Trans. Chem. Soc.*, 97: 2025-2031.

Ruhemann, S. (1911a). Triketohydrindene hydrate. IV. Hydrindantin and its analogues. *Trans. Chem. Soc.*, 99:1306-1310.

Ruhemann, S. (1911b). Triketohydrindene. Part V. The analogues of uramil and purpuric acid. *Trans. Chem. Soc.* 99: 1486- 1492.

Saborío, A., Almanza, M., Sandoval, E, y Obregón, A. (2002). Calidad de agua en efluentes y afluentes de catorce granjas camaroneras. *Encuentro.* N^0 6: 7-20.

Sala, O. E., Chapin, F. S., Armesto, J. J., Berlow, E., BloomÞeld, J., Dirzo, R., Huber-Sanwald, E., Huenneke, L. F., Jackson, R. B., Kinzig, A., Leemans, R., Lodge, D. M., Mooney, H. A., Oesterheld, M., Poff, N. L., Sykes, M. T., Walker, B. H., Walker, M. y Wall, D. H. (2000). Global Biodiversity Scenarios for the Year 2100, *Science*. 287:1770-1774.

Samac, D. y Kinkel, L. (2001). Suppression of the root-lesion nematode (Pratylenchus penetrans) in alfalfa (Medicago sativa) by Streptomyces spp. *Plant and Soil*. 235:35-44.

Santamarina, M. P., García, F.y Roselo, J. (1997). Biología y Botánica Tomo II. España: Servicio de Publicaciones.

Sastoque, E. (2005). Aislamiento y selección de microorganismos productores de quitinasas a partir de residuos de concha de camarón con potencial biocontrolador. Tesis de pregrado en Microbiología industrial, agrícola y veterinaria. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá. 24(2): 81-87.

Schlatter, D., Fubuh, A., Xiao, K., Hernandez, D., Hobbie, S. y Kinkel, l. (2009). Resource Amendments Influence Density and Competitive Phenotypes of Streptomyces in Soil. *Microbial Ecol.* 57: 413-420.

Scheffer, M. (1998). Ecology of shallow lakes. Chapman and Hall. London.

Selvam, K., Swaminathen, F. y Keon, C. (2003). Decolourization of azodyes and a dye industry by a white rot fungus *Thelephora* sp. *Bioresource Technology*. 8: 115-119.

Semedo, L., Gómez, C., Lindares, A., Duarte, G., Nascimiento, R., Rosado, A., Pinherio, M., Margis, R., Silva, K., Aliviano, C., Manfio, G., Soares, M., Lindares, L. y Cohelo, R. (2004). *Streptomyces drozdowiczii* sp. nov., a novel cellulolytic streptomycete from soil in Brazil. *J. Systemic Evol. Microbiol*. 54: 1323-1328.

Solans, M. y Vobis, G. (2003). Actinomycetes saprofíticos asociados a la rizósfera y rizoplano de Discaria trinervis. *Ecología Austral*. 13: 97-107.

Solís, G. G., Atondo, A. I., Nubes, O. G., Castillo, A. J. M. y Meraz, A. F. (2011). Físico-química del agua superficial y sedimento en el río santa cruz, sonora, México. Universidad de Sonora, México. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*. Biotecnia. volume XIII N°1:3-9.

Sousa, C., Fermino, A., y Garrido, M. (2008). Characterization of Streptomyces with potential to promote plant growth and biocontrol. *Scentia Agricola.* 65(1):50- 55.

Spackman, D. H., Stein, W. H., y Moore, S. (1958). Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids. *Analytical Biochemistry*. 30(7): 1190-1206.

Ström, K. (2005). Fungal Inhibitory lactic Acid Bacteria. Tesis Doctoral en Agriculturel Sciences. Faculty of Natural Resources and Agricultural Sciences. Swedish University. Uppsala.

Stutzerberger, F. J. (1972). Cellulolytic activity of Thermomonospora curvata: Nutritional requirements for cellulase production. *Appl Microbiol.* 24 (1): 77-82.

Tanaka, N y Ohwada, K. (1987). Decomposition of Agar, Protein, and Organic Phosphate by Marine Epiphytic Diatoms. University of Tokyo, Nakao, Tokio. 54 (4): 725-727.

Teuscher A. y Richterich P. (1971). *Schweiz Med Wschr.* 101(10): 345-390.

Toporek, M. (1977). Bioquimica. (2da Ed). México: Interamericana.

Troll, W. y Cannan, R. K. (1953). A modified photometric ninhydrin method for the analysis of amino and imino acids. *J. Biol. Chem*.200: 803-811.

Udy, J. W., Fellows, C. S., Bartkow, M. E., Bunn, S. E., Clapcott, J. E. y Harch, B. D. (2006). Measures of nutrient processes as indicators of stream ecosystem health. *Hydrobiologia* 572: 89–102.

Valkanov, A. (1968). *Das Neuton. Limnología* (Berlín). 6: 381-403.

Van Slyke, D. D. y Hamilton, P. B. (1943). The synthesis and properties of ninhydrin ureide. *J. Biol. Chem*. 150: 471-476.

Villanueva, H. (s.f). Análisis espectrofotométrico de Aminoácidos y proteínas. Departamento de ciencias y tecnología. Universidad Interamericana de Puerto Rico. Recuperado: http://agu.inter.edu/halices/Analisis_Espectrofotometrico_aminoacidos_proteinas.pdf

Visser, R., Holzapfel, W., Bezuidenhout, J., y Kotzé, J., (1986). Antagonism of Lactic Acid Bacteria Against Phytopathogenic Bacteria*. Appl. Enviro. Microbiol*. 52(3): 552-555.

West, R. (1965). Siegfried Ruhemann and the discovery of ninhydrin. *J. Chem. Educ*. 42: 386-388.

Wetzel, R. G. (2001). Limnology. Lake and Rivers Ecosytems. Third edition. Academic Press, San Diego, USA.

Yanagida, F., Chen, Y. y Shinohara, T. (2006). Searching for bacteriocin producing lactic acid bacteria in soil. *J. General Appl. Microbiol.* 52: 21-28.

Yemm, E. W. y Coocking, E. C. (1955). The Determination of Amino-acids with Ninhydrin. Departmen of Botany, University Of Bristol.

Yoon, H., Kim, H., Lim, Y., Kim, H., y Shin, D. (2000). Thermostable chitosanase from Bacillus sp. strain CK4: cloning and expression of the gene and characterization of the enzyme. *Appl. Environ. Microbiol*. 66(9): 3727-3734.

Young, R. G., Townsend, C. R. y Matthaei, C. D. (2004). Functional indicators of river ecosystem health an interim guide for use in New Zealand. Cawthron Institute, New Zealand: 1–54.

Zhang, Y., Himmel, M., y Mielenz, J. (2006). Outlook for cellulose improvement: screening and selection strategies. *Biotech Advan*. 24: 452-481.

Zhou, Q., Li, K., Jun, X., y Bo, L., (2009). Role and functions of benefical microorganisms in sustainable aquaculture. *Bio -Technol.* 100: 3780- 3786.