



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.

No endorsement of AgEcon Search or its fundraising activities by the author(s) of the following work or their employer(s) is intended or implied.

Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León

UNAN-LEÓN.



Facultad de Ciencias y Tecnología.

Departamento de Biología “Edgar Munguía Álvarez”



Evaluación de la Concentración de Proteína y Metabolitos Libres en el Río Estero Real y su Relación con los Parámetros Fisicoquímicos, en el Periodo Noviembre 2013 - Abril 2014.

Requisito previo para optar al título de

Licenciado en Biología.

Autor:

Eduardo Javier Vanegas Padilla, Br

Tutor:

Ariel José Aguilar, Ph.D

Asesor:

Haroldo Argeñal Fonseca, MSc.

León, Nicaragua.

Febrero, 2015.



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 en el Rio Estero Real y su Relación con los Parámetros Fisicoquímicos, en el Periodo Noviembre 2013 - Abril 2014. Presentada por el Br. Eduardo Javier Vanegas Padilla para optar al grado de Licenciado 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 los 2 días del mes de febrero del 2015.

Dr. Ariel José Aguilar.



DEDICATORIA

Le dedico este trabajo de investigación a:

Mi Madre Yondra Xiomara Padilla Trujillo a Mi Padre Gustavo Hilario Vanegas Ardila, por su apoyo incondicional en todos los momentos, como también por sus consejos de ánimo brindados a lo largo de la vida. De igual manera les agradezco por todo su amor y esfuerzo otorgado a lo largo de todos los años de estudios y hacer que cada día siga siendo mejor.

A Mi Hermana Yondra Carolina Vanegas Padilla y a Mi Hermano Gustavo Isaac Vanegas Padilla, por el brindarme su amistad, cariño y su consejo para seguir adelante en la vida.

¡A mi Familia y Amigos!



FINANCIACIÓN.

La presente Tesis de Licenciatura 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 Ph.D 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 Ph.D 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 doy gracias a Dios por darme aliento de vida cada día y poder llegar a culminar esta etapa de nuestras vidas. Como también me gustaría que estas líneas sirvieran para expresar mi más profundo y sincero agradecimiento a las personas que hicieron posible la culminación de esta investigación brindando su ayuda, sus conocimientos, y su apoyo. Quiero agradecerles a todos ellos cuanto han hecho por mí, para que esta investigación saliese adelante.

Le doy muchas gracias a mi tutor el Ph.D Ariel José Aguilar por haberme dado la oportunidad de trabajar la tesis como parte del trabajo llevado a cabo en el Laboratorio de Fisiología Animal por su ayuda prestada y, su optimismo.

Como de igual forma al MSc. Haroldo Argeñal Fonseca por las orientaciones, el seguimiento y la supervisión, como también por los consejos y conocimientos brindado durante la elaboración de esta investigación en la parte estadística.

De igual forma a la MSc. Ana Reyes Zavala por el apoyo y el conocimiento como sus consejos brindado en los procesos de georreferenciación y elaboración de mapas.

Gracias también mis compañeros y al grupo de Docentes de la carrera de Biología, que me apoyaron y permitieron entrar en su vida durante estos últimos cinco años de convivir dentro y fuera del salón de clase.

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

¡A Todos Muchísimas Gracias!



ÍNDICE.

	Pág.
1. Introducción.....	1
2. Objetivos.....	3
2.1. Objetivo General.....	4
2.2. Objetivos Específicos.....	4
3. Marco Teórico.....	5
3.1. Ecosistema Acuático.....	6
3.1.1. Ecosistemas Lóticos.....	6
3.1.2. Ecosistemas Lenticos.	6
3.1.3. Ríos de Pie de Monte y de Planicie.....	7
3.2. Sistema Estuarino.....	7
3.3. Clasificación de los Ecosistemas Estuarinos.....	8
3.4. Cuenca Hidrográfica del Río Estero Real.....	9
3.4.1. Clima.....	10
3.4.2. Hidrología.....	10
3.5. Importancia del Estero Real.....	11
3.6. Parámetros Fisicoquímicos.....	11
3.6.1. Salinidad.....	11
3.6.2. Fluctuación de las concentraciones de salinidad en las aguas del Río Estero Real.....	12
3.6.3. Temperatura.....	13
3.6.4. pH.....	13
3.6.5. Oxígeno Disuelto.....	14
3.6.5.1 Fluctuación de las concentraciones de oxígeno disuelto en las aguas del Río Estero Real.....	14
3.6.6. Turbidez.....	15
3.7. Eutrofización.....	15
3.7.1. Efectos del Proceso de Eutrofización.....	15
3.8. Principales Modificaciones del Incremento de Nutrientes en el Ambiente Fisicoquímico del Agua y del Sedimento.....	17
3.9. Espectrofotometría.....	18
3.9.1. Espectroscopia de Absorción Atómica.....	19
3.9.2. Curva de Calibración.....	19
3.10. Limitaciones Propias de la Ley de Beer.....	20
3.11. Metabolitos y Proteínas.....	20
3.11.1. Aminoácidos.....	20
3.11.1.1. Clasificación de los Aminoácidos.....	21
3.12. Reacción de Ninhidrina.....	22
3.12.1. Fluctuación de la concentración de aminoácidos.....	22
3.13. Proteínas.....	23
3.13.1. Clasificación de las Proteínas.....	23
3.13.2. Estructura de las Proteínas.....	24
3.13.3. Determinación de Proteínas.....	25
3.14. Método del Ácido Bicinconínico.....	26



3.14.1. Fluctuación de la Concentración de Proteínas.....	26
3.15. Glucosa.....	27
3.15.1. Determinación de Glucosa.....	28
3.15.2. Fluctuación de la Concentración de Glucosa.....	28
3.16. Principales Microorganismos Descomponedores.....	29
3.16.1. Bacterias.....	29
3.16.2. Actinomicetos.....	30
3.16.3. Hongos.....	30
3.16.4. Microalgas.....	32
3.17. Mecanismos de Degradación de la Materia Orgánica.....	32
3.17.1. Degradación de Celulosa.....	34
3.17.2. Degradación de Xilano.....	36
3.17.3. Degradación de Quitina.....	36
3.17.4. Degradación de Lignina.....	37
4. Materiales y Métodos.....	38
4.1. Área de Estudio.....	39
4.2. Metodología Experimental para la Toma de Muestras.....	40
4.3. Determinaciones Analíticas.....	42
4.3.1. Cuantificación de Niveles de Metabolitos Libres en el Cuerpo de Agua..	42
4.3.2. Cuantificación de Glucosa.....	43
4.3.3. Cuantificación de Aminoácidos.....	44
4.3.4. Cuantificación de Niveles de Proteínas libres en el Cuerpo de Agua.....	45
4.3.5. Cuantificación de Niveles de Proteínas, Glucosa y Aminoácidos en Sedimento.....	46
4.4. Análisis Estadísticos.....	47
5. Resultados.....	48
5.1. Parámetros Fisicoquímicos.....	49
5.1.1. pH.....	50
5.1.2. Oxígeno.....	51
5.1.3. Salinidad.....	52
5.1.4. Temperatura.....	53
5.1.5. Turbidez.....	54
5.2. Metabolitos y Proteínas Libres en el Agua.....	55
5.2.1. Aminoácidos.....	56
5.2.2. Glucosa.....	56
5.2.3. Proteínas.....	57
5.3. Metabolitos y Proteínas Libres en el Sedimento.....	58
5.3.1. Aminoácidos.....	58
5.3.2. Glucosa.....	59
5.3.3. Proteínas.....	60
5.4. Matriz de Correlación entre parámetros Fisicoquímicos y Metabolitos en Agua.....	61
6. Discusión.....	62
6.1. Parámetros Fisicoquímicos.....	63
6.1.1. pH.....	63
6.1.2. Oxígeno Disuelto.....	63



6.1.3. Salinidad.....	64
6.1.4. Temperatura.....	65
6.1.5. Turbidez.....	65
6.2. Metabolismo Acuático.....	65
6.2.1. Evaluación de Concentraciones de Metabolitos y Proteínas libres en Agua.....	66
6.2.2. Evaluación de Concentraciones de Metabolitos y Proteínas libres en Sedimento.....	66
6.3. Relación de la concentración de proteínas, aminoácidos y glucosa con los parámetros fisicoquímicos en el cuerpo de agua.....	67
6.3.1. Correlación de Parámetros Fisicoquímicos y Metabolitos en el Cuerpo de Agua.....	67
7. Conclusiones.....	68
8. Recomendaciones.....	70
9. Bibliografía.....	72



LISTA DE FIGURAS.

	Pág.
Figura N° 1. Cuenca del Estero Real y Área Protegida.....	9
Figura N° 2. Concentración Salina (ppm) en el Periodo de Invierno.....	12
Figura N° 3. Esquema de las Causas de la Eutrofización.....	16
Figura N° 4. Esquema Proceso de Eutrofización.....	18
Figura N° 5. Curva de Calibración.....	19
Figura N° 6. Fórmula General de α aminoácidos.....	20
Figura N° 7. Aminoácidos Proteicos.....	21
Figura N° 8. Reacción de Ninhidrina con los Aminoácidos.....	22
Figura N° 9. Fluctuación de Concentraciones de Aminoácidos en el Agua y Sedimento en el Periodo de Mayo- Octubre 2013.....	23
Figura N° 10. Principio de la Reacción del Método del Ácido Bicinchonílico..	26
Figura N° 11. Fluctuación de las Concentraciones de Proteína en Agua y Sedimento en el Periodo de Mayo- Octubre 2013.....	26
Figura N° 12. Principio de la Reacción de Glucosa.....	28
Figura N° 13. Fluctuación de las Concentraciones de Glucosa en Agua y Sedimento en el Periodo de Mayo- Octubre 2013.....	29
Figura N° 14. Iniciación Proceso de Humificación.....	33
Figura N° 15. Sitios de Muestreo.....	39
Figura N° 16. Toma de Muestra de Agua y Sedimento.....	41
Figura N° 17. Procesamiento de Muestras Previo al Análisis de Glucosa y Aminoácidos.....	42
Figura N° 18. Pasos para el Análisis de Glucosa.....	43
Figura N° 19. Pasos para el Análisis de Aminoácidos.....	44
Figura N° 20. Pasos para el Análisis de Proteínas.....	45
Figura N° 31. Pasos para el Análisis de Proteínas, Glucosa y Aminoácidos en Muestras de Sedimento.....	46
Figura N° 32. Correlación Glucosa y salinidad en Agua.....	61



LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla N° 1. Valores promedios de concentración salina en el río Estero Real. Período 2000-2004.....	12
Tabla N° 2. Valores promedios de temperatura registrados en el río Estero Real. Período 2000-2004.....	13
Tabla N° 3. Valores promedios de oxígeno disuelto registrados en el río Estero Real. Período 2000-2004.....	14
Tabla N° 4. Valores de Oxígeno disuelto (mg/L) en el periodo de invierno.....	15
Tabla N° 5. Principales métodos para la cuantificación de proteínas sus rangos de sensibilidad y sus ventajas y desventajas.....	25
Tabla N° 6. Microorganismos Celulolíticos.....	35
Tabla N° 7. Coordenadas de los Sitios Muestreados en el Río Estero Real Chinandega, Nicaragua.....	40
Tabla N° 8. Valores promedio de los parámetros Fisicoquímicos en las aguas del río Estero Real, en el período noviembre 2013-abril 2014.....	49
Tabla N° 9. Promedio de los valores de pH en las aguas del río Estero Real, en el período noviembre 2013-abril 2014.....	50
Tabla N° 10. Promedio de los valores de Oxígeno Disuelto (mg/L) en las aguas del río Estero Real, en el período noviembre 2013-abril 2014.....	51
Tabla N° 11. Promedio de los valores de Salinidad (ppm) en las aguas del río Estero Real, en el período noviembre 2013-abril 2014.....	52
Tabla N° 12. Promedio de los valores de Temperatura (°C) en las aguas del río Estero Real, en el período noviembre 2013-abril 2014.....	53
Tabla N° 13. Promedio de los valores de Turbidez (Cm) en las aguas del río Estero Real, en el período noviembre 2013-abril 2014.....	54
Tabla N° 14. Valores promedio de la concentración de Aminoácidos (µM) en agua, en los diez sitios de muestreo, en el tiempo. Período noviembre 2013-abril 2014.....	55
Tabla N° 15. Valores promedio de la concentración de Glucosa (µM) en Agua, en los diez sitios de muestreo, en el tiempo. Período noviembre 2013-abril 2014.....	56
Tabla N° 16. Valores promedio de la concentración de Proteína (µg/ml) en agua, en los diez sitios de muestreo, en el tiempo. Período noviembre 2013-abril 2014.....	57
Tabla N° 17. Valores promedio de la concentración de Aminoácidos (µM) en sedimento, en los diez sitios de muestreo, en el tiempo. Período noviembre 2013-abril 2014.....	58
Tabla N° 18. Valores promedio de la concentración de Glucosa (µM) en sedimento, en los diez sitios de muestreo, en el tiempo. Período noviembre 2013-abril 2014.....	59
Tabla N° 19. Valores promedio de la concentración de Proteínas (µg/gr) en sedimento, en los diez sitios de muestreo, en el tiempo. Período noviembre 2013-abril 2014.....	60
Tabla N° 20. Correlación de Parámetros Fisicoquímicos con Proteínas y Metabolitos en Agua.....	61



ABREVIATURAS.

APHA: American Public Health Association

aa: Aminoácidos

ANOVA: Análisis de Varianza

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

cm³: Centímetros cúbicos

°C: Grados Celsius

G: Guanina

Km: Kilómetros

Lip: Lignina Peroxidasa

Mnp: Magnesio Peroxidasa

mL: mililitro

mg/mL: miligramo/ mililitro

M: Molaridad

min.: minutos

µM: micro molar

nm: nanómetros

N: Normalidad

OH: Grupo Hidroxilo

pH: Medida de acidez o alcalinidad de una disolución

(P): Puntos de Muestreo

PCA: ácido perclórico

R: Cadena Lateral

rpm: revoluciones por minuto



ABSTRACT

The aim of this study was to assess, in the period from November 2013 to April 2014, the health of the water body del Estero Real River by varying physicochemical parameters and their reflection in the dynamics of intermediary metabolism of the major compounds organic. The Estero Real River was divided into 10 sampling sites from the cooperative Herrera Membreño to AGRIMAR II (23 Km). Once a month readings were taken and physicochemical parameters of water and sediment samples were collected to assess concentrations of energy compounds. Therefore, we evaluated the dynamics of concentrations of essential energy compounds (proteins, amino acids and glucose) for the proper functioning of life of different organisms and their relation to changes in the physicochemical parameters in the period November 2013- April 2014. The highest pH values were found in the months of December and January (8.1 and 8.4, respectively); oxygen dissolved in water showed the highest level in February (7.9 mg / L) and lowest in December (1.9 mg / L): the maximum values of salinity and temperature was presented in the month of April with 38.7 ppm and 31.6 ° C, respectively. And the month in which the waters of the river Estero Real had higher turbidity is January (27.5 cm Secchi disk reading). In water, the behavior of the concentrations of amino acids and proteins have low ratio with respect to behavior of the salt concentration ($R = 0.23$ and $R = 0.29$, respectively), as opposed to what was observed with glucose ($R = 0.95$). In sediment, levels of energy and protein amino compounds have a tendency to decrease over time, not being the case for glucose. The salt concentration ratio regarding protein levels showed ($R = -0.71$), the concentration of amino acids ($R = 0.2$) and glucose concentration ($R = 0.31$). The results found on dissolved oxygen levels allow us to suggest that the body of water that forms the Estero Real River, over several months has serious stress problems affecting the conditions for animal welfare.



RESUMEN.

El objetivo de la presente investigación consistió en evaluar, en el periodo de noviembre 2013 a abril 2014, 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. El Río Estero Real se dividió en 10 sitios de muestreo, desde la cooperativa Herrera Membreño hasta AGRIMAR II (23 Km). Una vez al mes se tomaron lecturas de los parámetros fisicoquímicos y se recolectaron muestras de agua y sedimento para evaluar las concentraciones de los compuestos energéticos. Por tanto, se evalúo 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 las fluctuaciones con los parámetros fisicoquímicos en el periodo de Noviembre 2013- Abril 2014.

Los valores más altos de pH se encontraron en los meses de Diciembre y enero (8.1 y 8.4, respectivamente); el oxígeno disuelto en agua presentó el nivel más alto en febrero (7.9 mg/L) y el más bajo en diciembre (1.9 mg/L); los máximos valores de salinidad y de temperatura se presentaron en el mes de Abril con 38.7 ppm y 31.6 °C, respectivamente. Y el mes en que las aguas del río Estero Real presentaron mayor grado de turbidez es enero (27.5 cm de lectura de disco de Secchi). En el agua, el comportamiento de las concentraciones de aminoácidos y proteínas presentan baja relación con respecto al comportamiento de la concentración salina ($R= 0.23$ y $R= 0.29$ respectivamente), en oposición a lo observado con la glucosa ($R= 0.95$). En sedimento, los niveles de los compuestos energéticos aminoácidos y proteína presentan tendencia a disminuir en el tiempo, no siendo el caso para la glucosa. La relación de la concentración salina con respecto a los niveles de proteínas presenta ($R= -0.71$), la concentración de aminoácidos ($R=0.2$) y la concentración de glucosa ($R=0.31$). Los resultados encontrados sobre los niveles de oxígeno disuelto permiten sugerir que el cuerpo de agua, que conforma el Río Estero Real, en algunos meses presenta graves problemas de estrés que afectan las condiciones para el bienestar animal.



1. INTRODUCCIÓN.



El ecosistema “Delta del Estero Real”, Nicaragua, pertenece al gran sistema estuarino denominado “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 2000).

Actualmente, este importante ecosistema está siendo afectado por el vertido de aguas con alto contenido de nutrientes, sedimento y materia orgánica e inorgánica proveniente de los afluentes al Estero (UCA, 1999; Lezama 2000). Ante tal situación, la capacidad de recuperación del cuerpo de agua se ve afectada producto del estrés al que está sometido, reflejándose fundamentalmente en los altos valores de turbidez y baja concentraciones de oxígeno disuelto que prevalece en toda el área de estudio. Sin embargo, aunque en los meses de enero y febrero se observan concentraciones de oxígeno disuelto idóneas para el bienestar animal, el río Estero Real no puede caracterizarse en este momento como un ecosistema sano, debido a la poca capacidad de regeneración y su respuesta al estrés (Costanza, 1992). En consecuencia, en la mayoría de los meses estudiados, el Río Estero Real presenta condiciones de aerobicia y anaerobicia que resultan estresantes para todos los organismos que habitan ese ecosistema, pudiendo repercutir en la perdida de la biodiversidad. Así, este escenario indica que una de las posibles rutas de la degradación de la materia orgánica es 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 Río Estero Real cabe destacar que bajo situaciones de anaerobicia el producto final del metabolismo de las proteínas y glúcidos deriva en metabolitos tóxicos, tales como: amonio tóxico, sulfuro de hidrógeno y metano, que son gases perjudiciales para la salud animal y vegetal (Korhonen et al., 2012; Fenchel et al., 1998). Es más, en este cuerpo de agua existe un alto riesgo para la salud humana, debido a las condiciones favorables para el crecimiento de bacterias perjudiciales y de microalgas liberadoras de toxinas. Por tal razón, para evaluar las condiciones de salud del cuerpo de agua del Rio Estero Real, en el periodo de verano, el estudio se enfocó sobre el metabolismo acuático intermedio y su relación con los parámetros fisicoquímicos, 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.



2.1. Objetivo General.

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 de Noviembre 2013 a Abril 2014 en el cuerpo de agua.

2.2. Objetivos Específicos.

- ❖ 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 con la fluctuación de los parámetros fisicoquímicos. en el cuerpo de agua del río Estero Real.



3. MARCO TEORICO.



3.1. Ecosistema Acuático.

Los océanos y mares son los ecosistemas acuáticos más importantes a escala planetaria, principalmente en función de su formidable tamaño e influencia en el patrón climático global, y de su papel en la economía humana en relación con las actividades pesqueras de gran escala y otras. Paradójicamente son los ecosistemas menos conocidos, especialmente en lo que toca a la ecología del océano medio y del océano profundo. El rasgo más característico del ambiente marino es su salinidad (en promedio alrededor de 35 ppt 0/00; Kalle, 1971)

Probablemente las zonas marinas más importantes para el hombre son las aguas pelágicas intermedias, debido a que en ellas se desarrollan principalmente las actividades pesqueras marítimas. La mayor parte de los peces y otros organismos de gran importancia para el consumo humano son obtenidos de comunidades biológicas que habitan en extensiones más o menos superficiales de agua marina pero, hasta el momento y a pesar de distintos esfuerzos, no se conocen suficientemente ni la magnitud de las poblaciones de las especies que se pescan, ni sus relaciones con otras especies y comunidades, ni las fluctuaciones naturales, ni todos los movimientos, ni los determinantes de los procesos de productividad y estabilidad de los ecosistemas que sostienen las actividades acuáticas (Brill y Lutuvage, 2001).

3.1.1. Ecosistemas Lóticos.

La topografía de cada región, y la íntima relación entre la fuerza de gravedad de la Tierra y el flujo del agua, determinan la ubicación y límites de las llamadas cuencas hidrológicas superficiales, usualmente formadas por depresiones que, juntas, frecuentemente resultan en estructuras anidadas de mayores dimensiones (Allen y Hoekstra, 1992; Sánchez, 2003).

3.1.2. Ecosistemas Lénticos.

Las cuencas exorreicas son aquellas cuyo vertimiento ocurre hacia otras cuencas, usualmente hasta llegar a algún litoral marino. En contraste, las cuencas endorreicas son aquéllas cuyas laderas convergen en un punto central, sin verter a otras ni llegar al mar (Tricart, 1985). Un ejemplo claro de esta cuenca exorreicas esta localizada en la unión del río Villa Nueva y el río Estero Real en el occidente de Nicaragua.



3.1.3. Ríos de Pie de Monte y de Planicie.

El flujo de agua de los ríos en áreas con pendiente muy ligera es naturalmente más lento, lo que ocasiona frecuentemente cursos sinuosos que favorecen la formación de meandros (curvas exteriores que se aprecian en forma de “c” o “s”). Estos meandros, aunque tienen la tendencia a permanecer por tiempos considerables sufren paulatinamente la debilitación de su estructura, especialmente en las áreas donde la corriente se ve forzada a iniciar el giro. Debido a esta fuerza tangencial los meandros pueden llegar a quedar abandonados por el río, cuando la fuerza de la corriente logra romper el “cuello” del meandro y literalmente corta camino por allí, pendiente abajo (Leet y Judson, 1968). Así, la fisonomía de un río de planicie también puede sufrir modificaciones notables que, por su naturaleza, influyen a su vez sobre los procesos abióticos y bióticos que ocurren en la masa de agua y en las riberas.

3.2. Sistema Estuarino.

Un estuario se define como un cuerpo de agua costero semi cerrado 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 fisicoquímicos 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. Así mismo las distintas concentraciones de sales, contaminantes, oxígeno, plancton de nutrientes y sedimentos son en parte controlados por un patrón de movimiento que varían considerablemente en cortos períodos (Pritchard, 1955; Meade, 1972).



3.3. Clasificación de los Ecosistemas Estuarinos.

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)

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).

Estuario Parcialmente Mezclado

Este se origina cuando un río desemboca en el mar con un rango mareal moderado (régimen meso mareal). Siendo las corrientes mareas 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 mareas 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).

Estuario Totalmente Mezclado (Sin Estratificación)

Este es un tipo de estuario con rango mareal alto (régimen macro mareal) dado que las corrientes mareas 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).



3.4. Cuenca Hidrográfica del Río Estero Real.

El Río Estero Real está ubicado en el extremo Sureste del Golfo de Fonseca, correspondiente al Departamento de Chinandega, región nor-occidental de Nicaragua y pertenece al gran Sistema Estuarino denominado como Golfo de Fonseca. Es el río más largo del occidente de Nicaragua y recorre 137 km desde sus nacimientos cerca de El Sauce y Achuapa; también drena el 95% de las lluvias del occidente de Nicaragua (CIDEA-UCA, 2006). Los ríos que desembocan en el Estero Real son: Tecomapa, y el río Villanueva (CIDEA-UCA, 2006).

El área alrededor acoge a varias comunidades que subsisten de una combinación de pesca, extracción de productos manglares y agricultura artesanal. Puerto Morazán es la comunidad más grande del área.

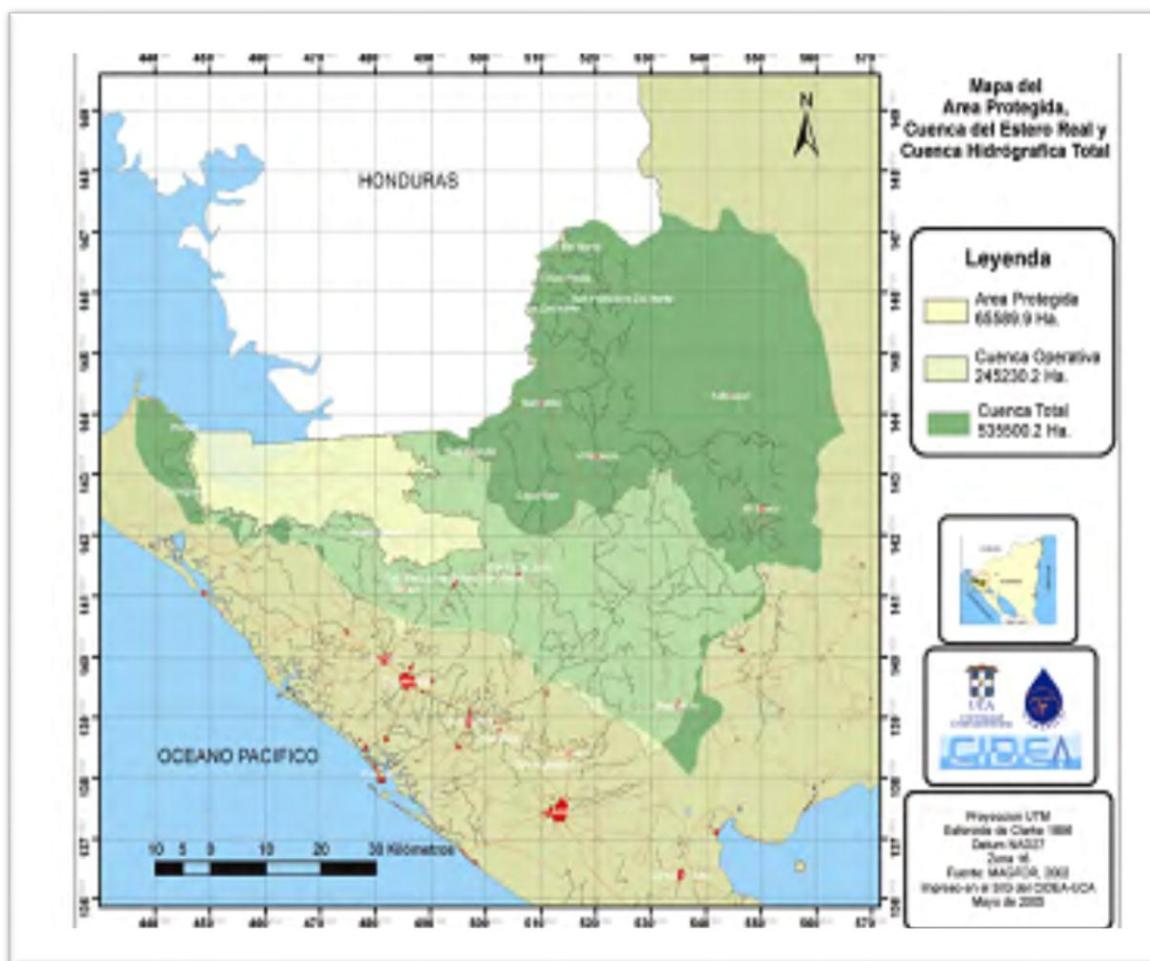


Figura N°1.Cuenca del Estero Real y Área Protegida.

Fuente: MAGFOR (2002)



3.4.1. 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 27°C 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).

3.4.2. 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 Tecumapa 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 m³ 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).



3.5. 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 transversales 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 rústicas, 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).

3.6. 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).

3.6.1. 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 N° 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)

3.6.2. Fluctuación de las concentraciones de salinidad en las aguas del Río Estero Real.

Investigaciones recientes, realizadas entre el sector de la Cooperativa Herrera Membreño y AGRIMAR II, en el periodo de mayo a octubre 2013 muestran que el río Estero Real presenta gradientes de concentración salina a medida que se avanza hacia aguas arriba y que la salinidad decrece a medida que avanza el periodo lluvioso (Osorio y Prado, 2014)

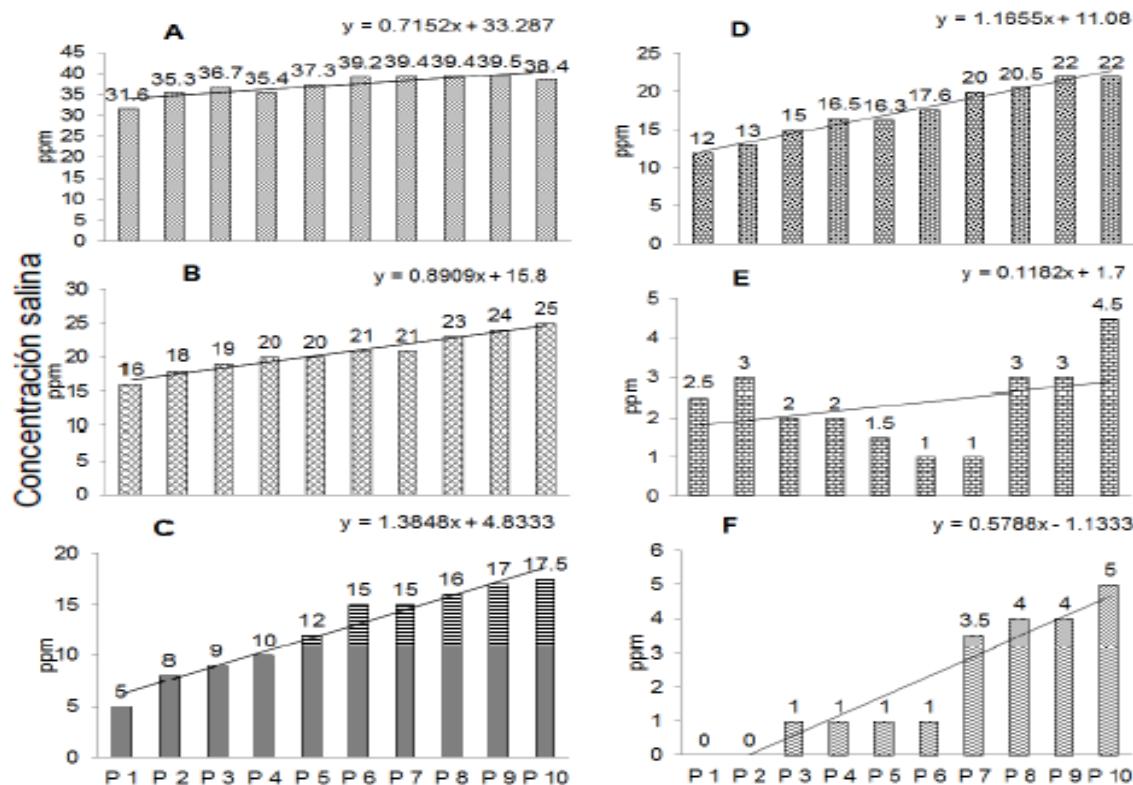


Figura N°2. Concentración salina (ppm) en el periodo de invierno. P1: Herrera Membreño, P2: San Martín, P3: Empalme, P4: Muelle Puerto Morazán, P5: Carlos Fonseca, P6: Plantel Langostino, P7: El Semillal, P8: Desagüe La Treinta, P9: AGRIMAR I, P10. A: Mayo, B: Junio, C: Julio, D: Agosto, E: Septiembre, F: Octubre.

Fuente: Osorio y Prado, (2014)



3.6.3. Temperatura.

La temperatura del agua se establece fundamentalmente por muchos factores dentro de los principales, 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 este 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 Río 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).

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

Año	Máximo (°C)	Mínimo (°C)
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)

3.6.4. pH.

El pH en los ecosistemas acuáticos nos indica cuán ácida o básica es el agua. El agua con un 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 CO₂, 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 CO₂ (Chapman, y V. Kimtsach, 1992).



3.6.5. 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 disuelto 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 N° 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)

3.6.5.1. Fluctuación de las concentraciones de oxígeno disuelto en las aguas del Rio Estero Real.

Investigaciones recientes, realizadas entre el sector de la Cooperativa Herrera Membreño y AGRIMAR II, en el periodo de mayo a octubre 2013 muestran que el río Estero Real presenta niveles bajos de oxígeno disuelto en todo el periodo lluvioso (Osorio y Prado, 2014)



Tabla N° 4. Valores de Oxígeno disuelto (mg/L) en el periodo de invierno. 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
P1	1.86	1.77	2.46	1.5	2.2	4.1
P2	1.9	1.84	1.63	1.5	1.5	2.7
P3	1.72	1.79	1.7	1.9	1.4	3.2
P4	1.95	1.81	1.8	1.7	1.3	3.2
P5	1.51	1.56	2.13	1.7	1.2	3
P6	1.78	1.74	1.8	2	1.9	2.8
P7	2.06	1.61	1.63	2.1	1.1	3.2
P8	1.48	1.68	1.63	2.4	1.4	3
P9	1.54	1.69	1.85	2.3	1.4	2.9
P10	1.53	1.66	2	2.2	1.7	3.4

3.6.6. 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).

3.7. Eutrofización.

La eutrofización es un fenómeno complejo que involucra factores climáticos, físicos y biológicos (Dolbeth et al., 2003; Howarth et al., 2000), ocasionando cambios en la diversidad y la abundancia de las especies (Agatz et al., 1999; Barrón et al., 2003; Dolbeth et al., 2003; Lang, 1997; Weithoff et al., 2000). Si bien las implicancias de este proceso son muy complejas (Kim et al., 2001) incluso a nivel de metabolismo (Macek et al., 2000) algunos factores indicadores simples (Schroll, 2002) pueden ser usados para una detección y evaluación rápida del proceso de eutrofización.

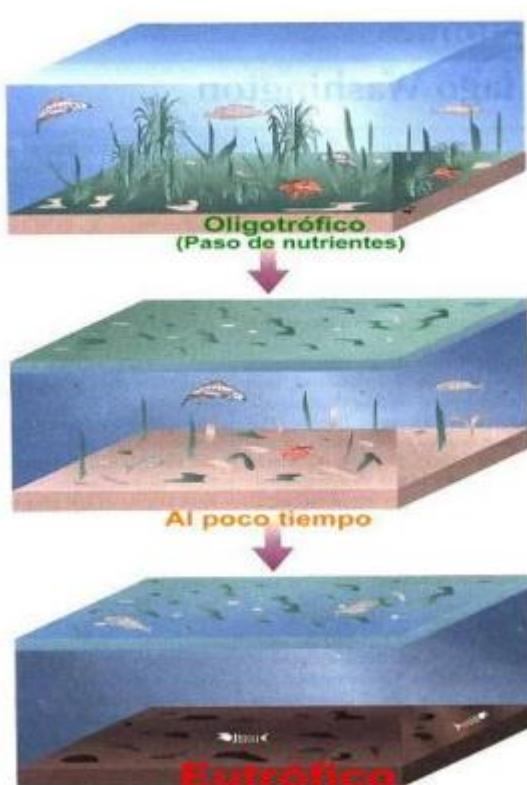
3.7.1. Efectos del Proceso de Eutrofización.

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 tóxicas 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 N°3. Esquema de las Causas de la Eutrofización

Fuentes: Nebel y Wright (1999)



3.8. 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 sulfídrico 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 CO₂ por los procesos fotosintéticos gasifica el agua, mientras que los procesos de descomposición acidifican el agua debido a la liberación de CO₂.

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).

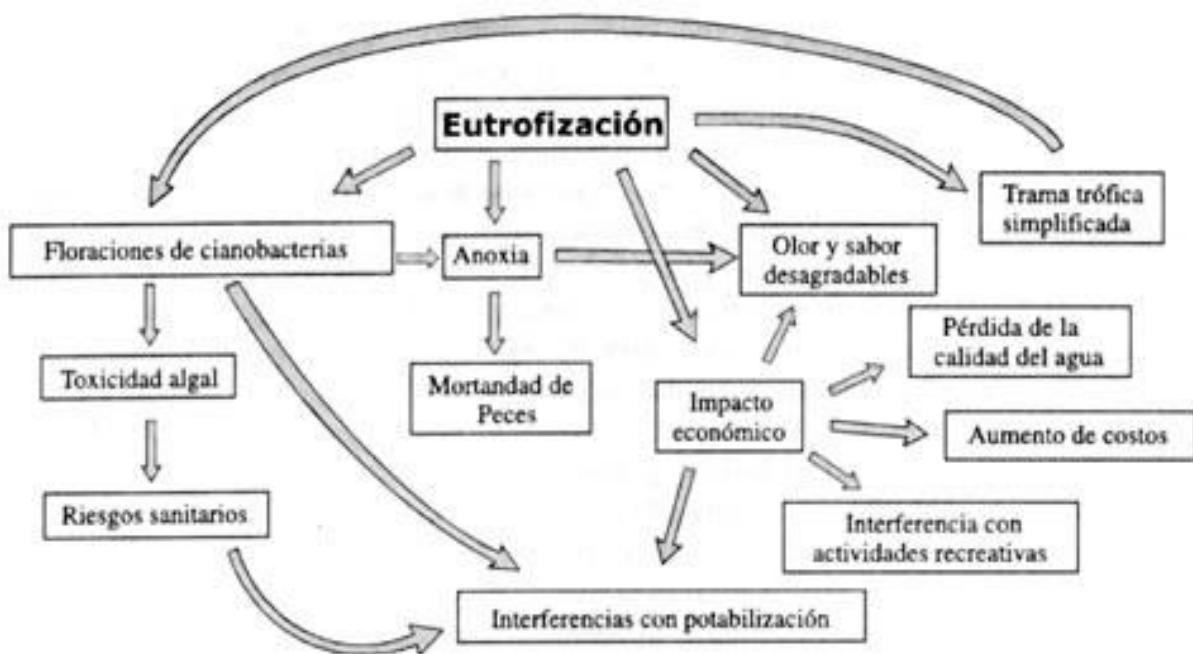


Figura N° 4: Esquema Proceso de Eutrofización.

Fuente: Gorga, et al, 2002.

3.9. Espectrofotometría.

Principio Físico. La espectrofotometría se basa en la teoría de Bohr, la cual postula que en el átomo, los electrones se desplazan en órbitas fijas. Un cambio de órbita de un electrón corresponde a la absorción o emisión de un cuantío de energía hf .

$$\Delta E = hf = f \frac{c}{\lambda}$$

La absorción ocurre durante la excitación de los electrones y la emisión cuando estos regresan a un estado estable. Las transiciones originan la aparición de líneas espectrales, estas líneas forman los espectros atómicos. Cada elemento químico tiene su espectro característico. En dependencia del tipo de transición que se haya producido pueden clasificarse en espectros de emisión o de absorción (Jiménez, 2005).



3.9.1. Espectroscopia de Absorción Atómica.

La espectroscopia de absorción atómica es una técnica de análisis instrumental, capaz de detectar y determinar cuantitativamente la mayoría de los elementos comprendidos en el sistema periódico (Dehahay, 1970). Esta técnica se basa en el hecho de que elementos gaseosos absorben las mismas radiaciones que son capaces de emitir. Si se hace pasar luz blanca a través del vapor de un elemento, el vapor absorbe las radiaciones que es capaz de emitir y entonces el espectro obtenido carece de las líneas de longitud de onda absorbidas. (Dehahay, 1970).

El mejor monocromador que se utiliza para realizar medidas de la absorción es una fuente luminosa fabricada interiormente del elemento que se precise medir la absorción. Se pueden identificar a simple vista los elementos que componen un vapor por las radiaciones que caen en el espectro visible.

3.9.2. Curva de Calibración.

Denominamos espectro de una sustancia a la representación de absorbancia (A) en función de longitud de onda (λ). Para hacer las determinaciones cuantitativas se elige, en general, la longitud de onda correspondiente a un máximo, pues el error de medición es mínimo y la sensibilidad máxima. Para verificar el cumplimiento de la ley de Beer, se debe realizar la curva de calibración; absorbancia (A) en función de concentración (C), para lo cual se preparan soluciones de la sustancia de concentraciones conocidas y se mide la absorbancia a la longitud de onda elegida.

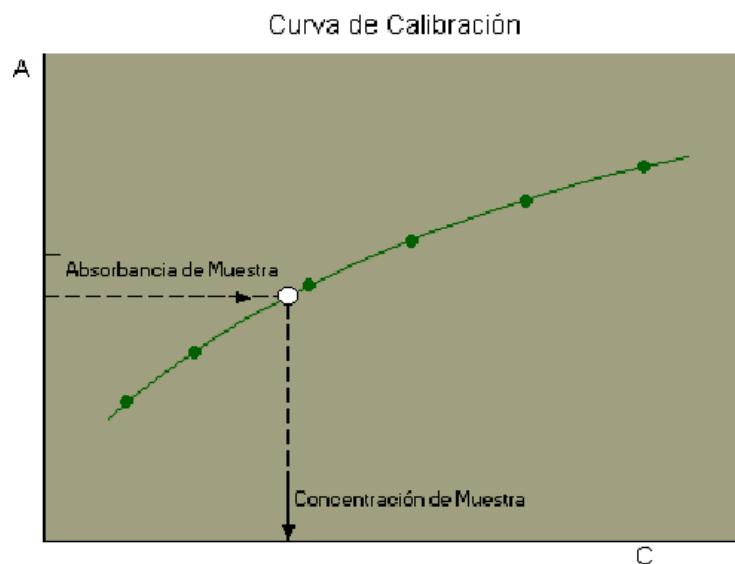


Figura N°5. Curva de Calibración.

Fuente: Guerrero (2013)



3.10. Limitaciones Propias de la Ley de Beer

La ley de Beer es exitosa en describir el comportamiento de absorción de soluciones diluidas solamente; a concentraciones altas (generalmente mayores que 0,01 M), la distancia promedio entre las especies responsables de la absorción está disminuida hasta el punto que cada una afecta la distribución de cargas de sus vecinas. Esta interacción, a su vez, puede alterar la habilidad de las especies para absorber en una longitud de onda de radiación. Debido a que la extensión de la interacción depende de la concentración, la ocurrencia de este fenómeno provoca desviaciones de la relación lineal entre absorbancia y concentración. (Díaz., et al, 2004)

Un efecto similar se encuentra a veces en soluciones que contienen altas concentraciones de otras especies, particularmente electrolitos. La proximidad de iones a la especie absorbente altera la absorbividad molar de la última por atracciones electrostáticas, este efecto se disminuye por dilución. Se encuentran algunas excepciones entre ciertos iones o moléculas orgánicas grandes, que presentan interacciones significativas a concentraciones debajo de 0,01 M. (Díaz, et al, 2004)

3.11. Metabolitos y Proteínas.

3.11.1. 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 N° 5). 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).

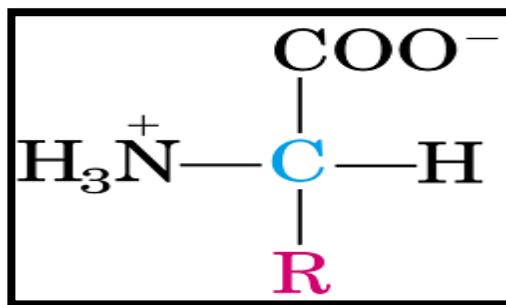


Figura N°6. Fórmula General de α aminoácidos.

Fuente: Garrett y Grisham (2009)



3.11.1.1 Clasificación de los Aminoácidos.

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

- ❖ Neutros
- ❖ Ácidos
- ❖ Básicos

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 N° 7) (Lehninger, 1979/2009).

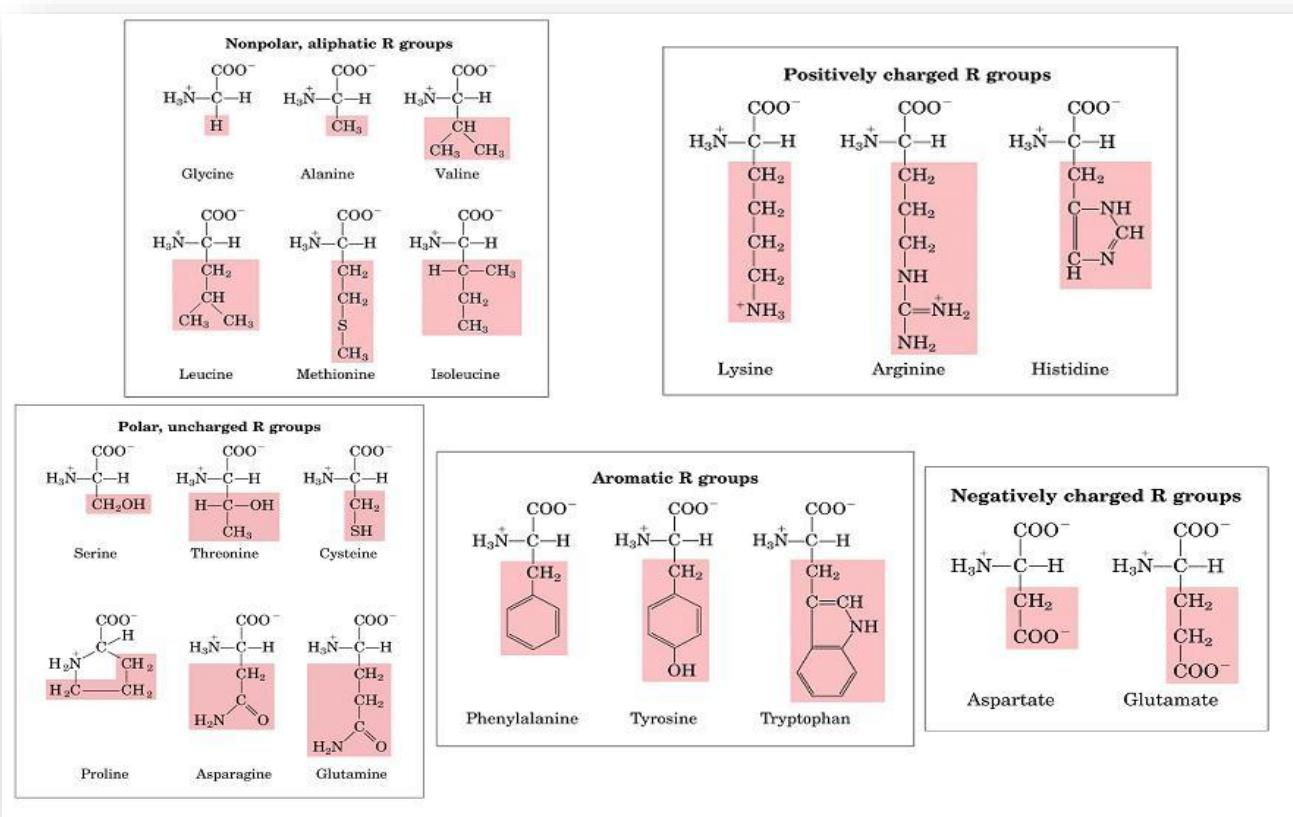


Figura N° 7. Aminoácidos Proteicos.

Fuente: Lehninger (2009)



3.12. Reacción de Ninhidrina.

La reacción de la Ninhidrina es utilizada profusa y prácticamente (Figura N° 8) 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, CO₂, 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).

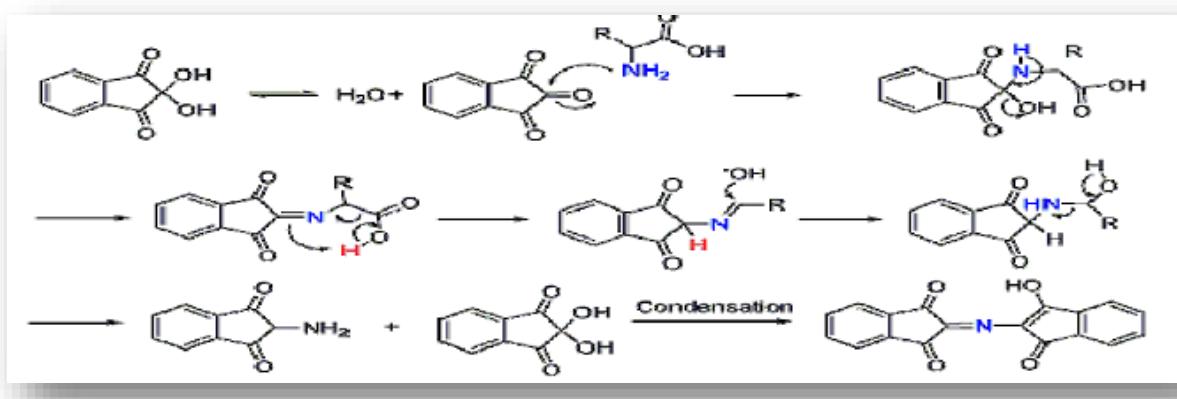


Figura N° 8. Reacción de Ninhidrina con los Aminoácidos

Fuente: Villanueva (s.f)

3.12.1 Fluctuación de la concentración de aminoácidos.

La concentración de aminoácidos tanto en el cuerpo de agua como en sedimento en las aguas del río Estero Real tiende a incrementar con la disminución de la concentración salina en el periodo lluvioso (Osorio y Prado, 2014) (ver figura N°. 9).

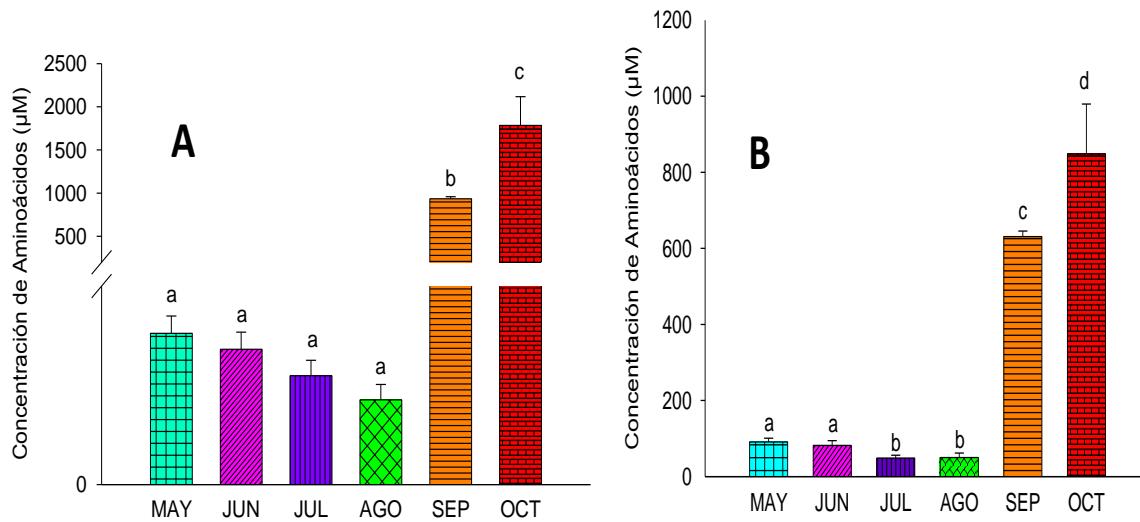


Figura N° 9. Fluctuación de las concentraciones de aminoácidos en agua (A) y sedimento (B), en el periodo de mayo- octubre 2013.

Fuente: Osorio y Prado, (2014.)

3.13. Proteínas.

Las Proteínas 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 hidrólisis todas las proteínas rinden α - aminoácidos como productos finales (Lehninger, 1979).

3.13.1. Clasificación de las Proteínas.

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

- ❖ **Proteínas simples:** Son aquellas que por hidrólisis producen solamente aminoácidos, sin ningún otro producto, orgánico e inorgánico, de hidrólisis.
- ❖ **Proteínas conjugadas:** Son aquellas que por hidrólisis 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:** En dos 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.

- **Proteínas 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.
- **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, et al., 1990).

3.13.2. 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).

3.13.3. Determinación de Proteínas.

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

La propiedad intrínseca de las proteínas para absorber luz en el UV.

Para la formación de derivados químicos.

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 N° 5 (Lowry et al., 1951; Bradford, 1976; Fujimoto et al., 1985).

Tabla N° 5. 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	Tiende poco sensibilidad
Lowry	25-100 a 500nm 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	



3.14. 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).

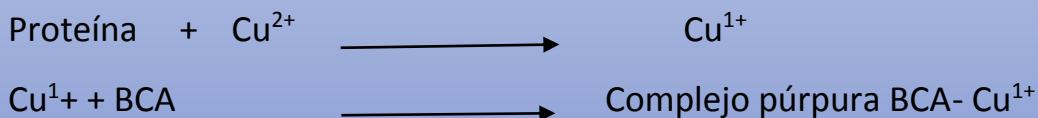


Figura N°10. Principio de la reacción del método del Ácido Bicinconínico

Fuente: Fujimoto et al., (1985)

3.14.1. Fluctuación de la Concentración de Proteínas

La concentración de proteínas en el cuerpo de agua del río Estero Real tiende a disminuir en paralelo a la disminución de la concentración salina (salinidad disminuye de mayo a octubre), mientras que en sedimento la relación entre estos dos parámetros es negativa (disminución de la concentración salina e incremento de la concentración de proteína) (Osorio y Prado, 2014). (Ver figura N° 11)

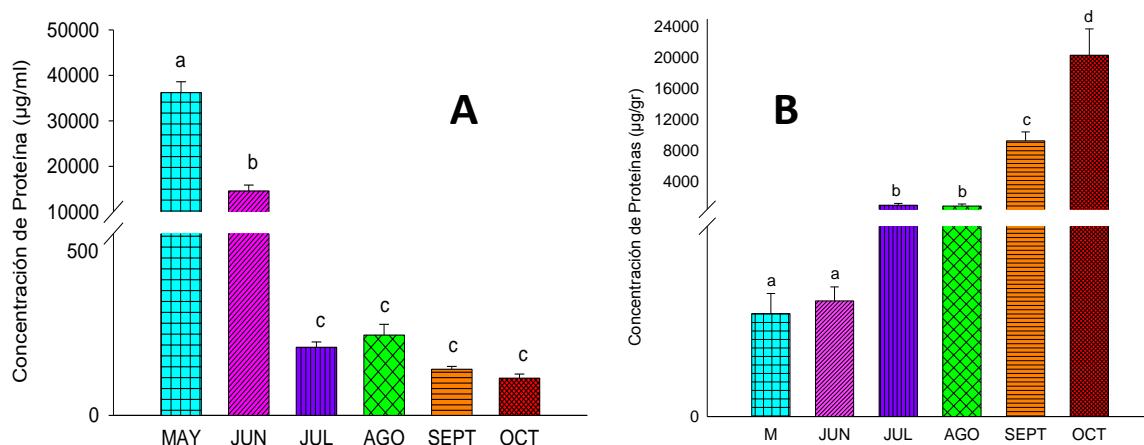


Figura N° 11. Fluctuación de las concentraciones de proteínas en agua (A) y sedimento (B), en el periodo de mayo- octubre 2013.

Fuente: Osorio y Prado ,2014.



3.15. 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 fructosa. 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.

- 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.
- 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.
- 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).

3.15.1. 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).

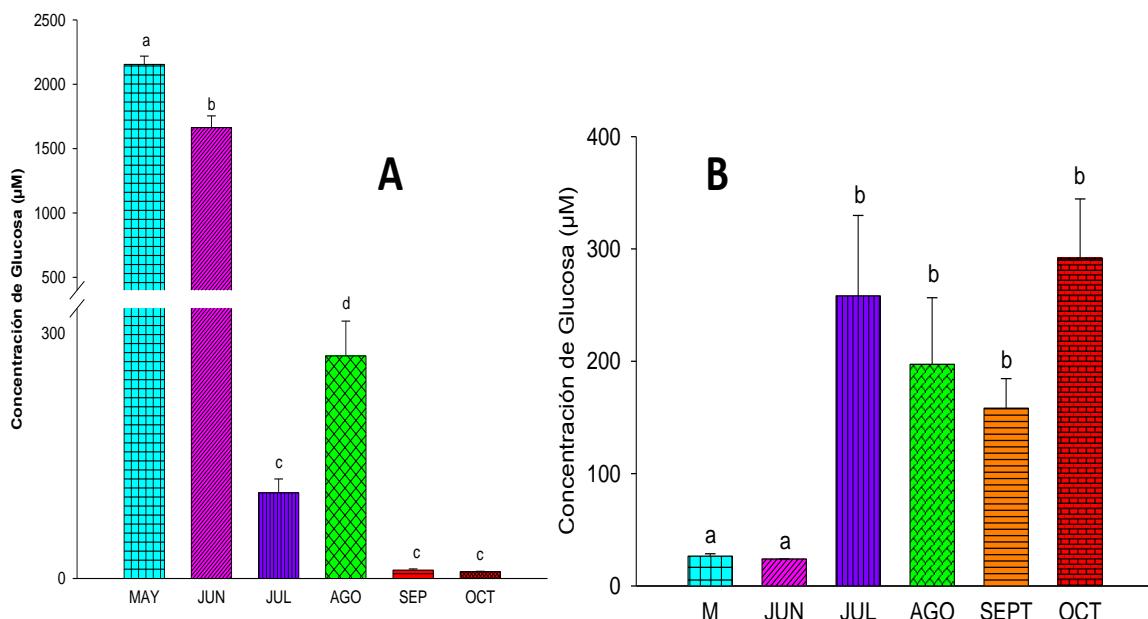


Figura N°12. Principio de la Reacción de Glucosa

Fuente: Teuscher y Richterich, (1971); Barham y Trinder, (1972)

3.15.2. Fluctuación de la Concentración de Glucosa

La concentración de glucosa en el cuerpo de agua del río Estero Real tiende a disminuir en paralelo a la disminución de la concentración salina (salinidad disminuye de mayo a octubre), mientras que en sedimento la relación entre estos dos parámetros es negativa (disminución de la concentración salina e incremento de la concentración de proteína) (Osorio y Prado, 2014). (Ver figura N° 13)





3.16. Principales Microorganismos Descomponedores.

3.16.1. 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*, 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, caprónico, propiónico, ácido 4-hidroxi-feniláctico y ácido-3-fenilacético reconocidos como antifúngicos (Lowe y Arendet, 2004; Ström, 2005; Yanagida et al., 2006)



3.16.2. *Actinomicetos*.

Los *actinomycetes* son bacterias filamentosas Gram positivas, son procariotes 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 ADN. 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 xilanases que actúan en la descomposición de materia orgánica (Jiménez, 2011).

3.16.3. *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 nutrientes 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 u 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 despolimerización 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 xilanases 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 peroxidases, lacasas y celulasas deshidrogenasa, que tienen gran importancia en el ciclo del carbono (Chaparro y Rosas, 2006). Los troncos de madera contienen azúcares 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).



3.16.4. 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 *Chlorococcum* 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 *Navicula* y *Nitzschia* se ha descubierto actividad agarolítica, proteolítica, y fosfatasa (Tanaka y Ohwada, 1987).

3.17. 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).

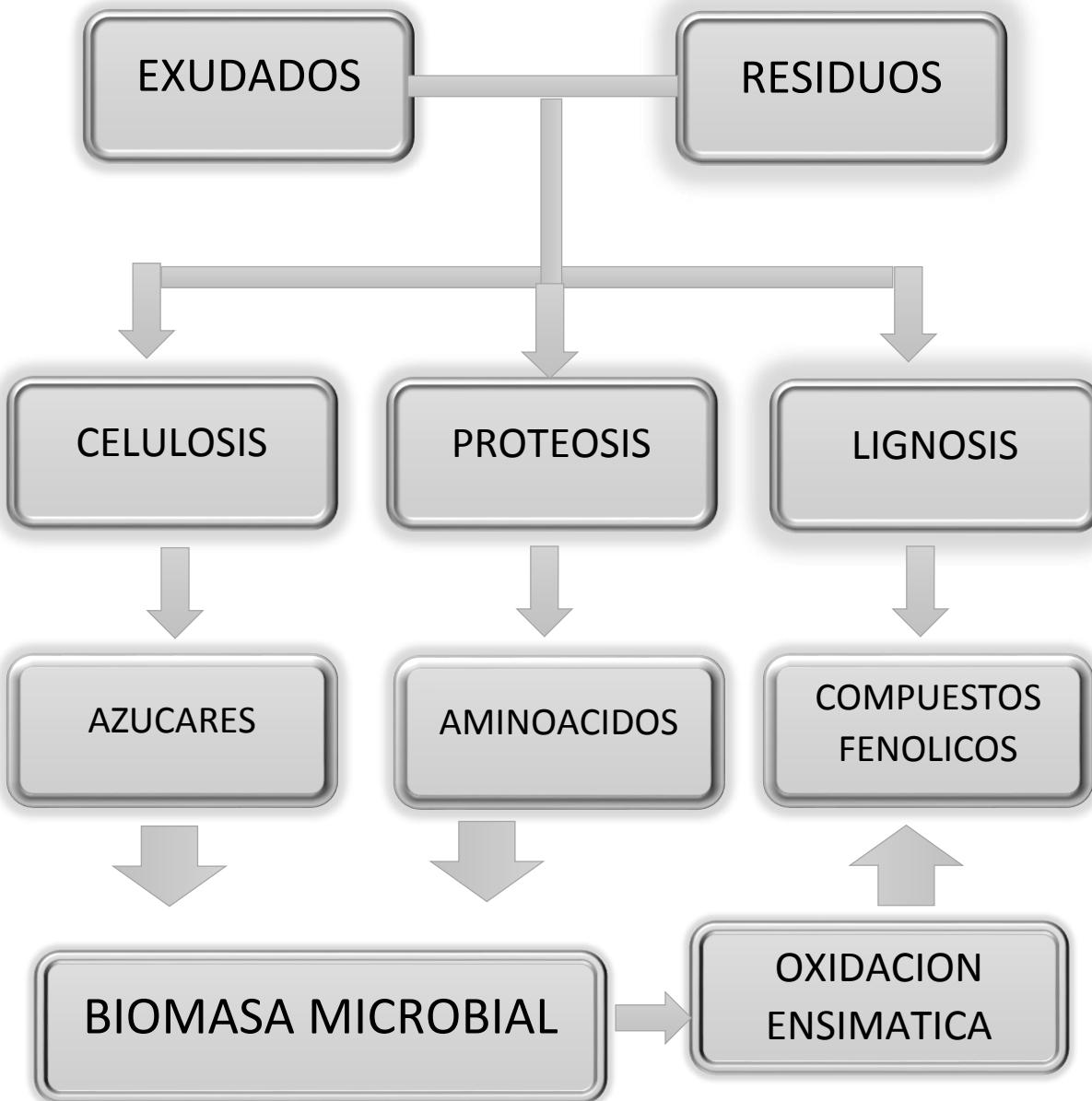


Figura N° 14. Iniciación Proceso de Humificación.



3.17.1. 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 celulosas o celulolíticas (Ferrer et al., 2011).

Dentro de las enzimas que participan en el proceso de degradación de materia orgánica, las celulosas 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 cellobiohidrolasa y (iii) la β -1,4 glucosidasa (Chaparro y Rosas, 2006; Zhang et al., 2006; 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 cellobiohidrolasa 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., 2006). 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 celulosas (Jiménez, 2011; Stutzerberger, 1972; Ceroni y Gutierrez, 1988; Barbosa y de Queiroz, 1996).



Tabla N° 6. Microorganismos Celulolíticos.

Grupos de Microorganismos Celulolíticos	Género
Actinomicetos	<i>Streptomyces drozdowiczii.</i>
	<i>Streptomyces cellulolyticus.</i>
	<i>Thermonospora curvata.</i>
	<i>Thermonospora chromogena.</i>
	<i>Thermonospora alba.</i>
	<i>Thermomobifidus fusca.</i>
Bacterias Aerobias	<i>Cellulomonas sp.</i>
	<i>Cytophaga sp.</i>
	<i>Microbispora bispora</i>
	<i>Pseudomonas sp.</i>
	<i>Thermomoospora sp.</i>
	<i>Thermobifidus sp.</i>
Bacterias Anaerobias	<i>Acetivibrio cellulolyticus.</i>
	<i>Butivibrio sp.</i>
	<i>Bacteroides cellulosolvens.</i>
	<i>Bacteroides succinogenes.</i>
	<i>Clostridium cellulovorans.</i>
	<i>Clostridium thermocellum.</i>
Hongos	<i>Ruminococcus albus.</i>
	<i>Ruminococcus flavefaciens.</i>
	<i>Aspergillus sp.</i>
	<i>Bulgaria sp.</i>
	<i>Chaetomium sp.</i>
	<i>Cladosporium sp.</i>
	<i>Fusarium solani</i>
	<i>Geotrichum sp.</i>
	<i>Mucor sp.</i>
	<i>Paecilomyces sp.</i>
	<i>Penicillium funiculosum</i>
	<i>Phanerochaetes chrysosporium</i>
	<i>Rhizoctonia sp.</i>
	<i>Trametes sp</i>
	<i>Trichoderma koningii</i>
	<i>Trichoderma reesei.</i>

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



3.17.2. 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 xilanosas 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-xilanasa que rompe los enlaces glicosídicos al azar; la arabinofuranosidasa hidroliza las cadenas laterales de arabinosa; la acetilxilanesterasa libera grupos acetatos; la glucuronidasa remueve las cadenas laterales de ácido glucurónico a partir de unidades de xilosa; las β -xilosidasas son enzimas activas sobre oligosacáridos cortos, llevando a cabo la hidrólisis de los enlaces β -1,4-aryl-xilopiranósido produciendo xilosa (Ponce y Pérez, 2002).

3.17.3. 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 quitinonas 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 quitinonas de tipo endo y exocelulares. Incluso, algunos microorganismos llegan a poseer una gran variedad de quitinonas 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).



3.17.4. 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 oxidadas y peroxidadas 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 peroxidadas (LiP y MnP) pasa a vainillina (Chaparro y Rosas, 2006).



4. MATERIALES Y MÉTODOS.



4.1. Área de Estudio.

El presente estudio se realizó en el Delta del río Estero Real, Departamento de Chinandega, Nicaragua. La zona de estudio comprendió una longitud de 23 Km lineales; dividido en 10 puntos de muestreo.

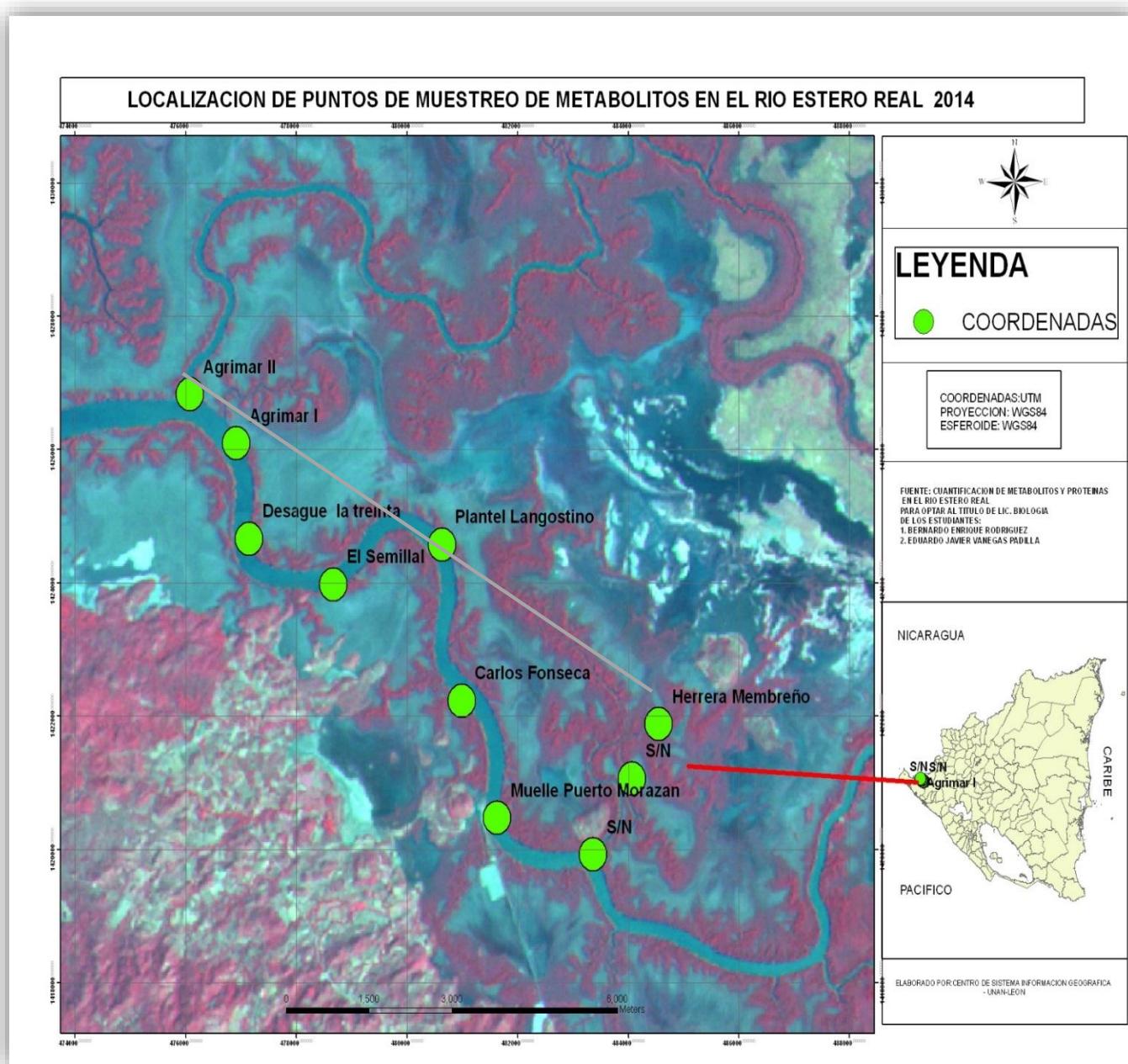


Figura N°15. Sitios de Muestreo

Fuente: Propia. (Corte de Imagen Landsat Satelital)



Tabla N° 7. Coordenadas de los Sitios Muestreados en el Rio Estero Real Chinandega, Nicaragua.

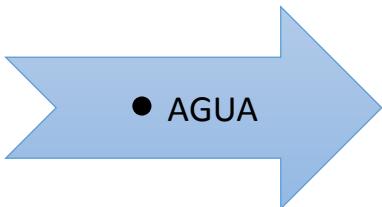
Punto	Nombre del Sitio de Muestreo.	Coordenada Geográfica.	
		Latitud	Longitud
P1	Herrera Membreño	12°51'730'' N	-87°08'539'' W
P2	San Martin	12°51'205'' N	-87°08'844'' W
P3	Empalme	12°50'632'' N	-87°09'235'' W
P4	Muelle Puerto Morazán	12°50'984'' N	-87°10'193'' W
P5	Carlos Fonseca	12°51'909'' N	-87°10'505'' W
P6	Plantel Langostino	12°56'147'' N	-87°10'695'' W
P7	El Semillal	12°52'868'' N	-87°11'740'' W
P8	Desagüe La Treinta	12°53'229'' N	-87°12'637'' W
P9	AGRIMAR I	12°53'993'' N	-87°12'774'' W
P10	AGRIMAR II	12°54'419'' N	-87°13'252'' W

4.2. Metodología Experimental para la Toma de Muestras.

Los muestreos se realizaron una vez al mes en el periodo de verano de Noviembre a Abril del año 2014, tomando como factor de día de muestreo la marea más alta del mes. Iniciando un recorrido desde la Cooperativa Herrera Membreño (P1) hasta AGRIMAR II (P10). Las horas en que se realizaron estos recorridos oscilaron entre las 10 a 11 de la mañana esto con dependencia de la marea que se presentaba en el calendario.

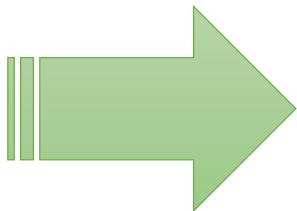
El procedimiento para la realización de la toma de datos fue el siguiente:

1. Los parámetros fisicoquímicos se midieron a una profundidad de 10 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 de Proteína, glucosa y aminoácidos se realizaron usando el procedimiento que se muestra en la figura N° 16

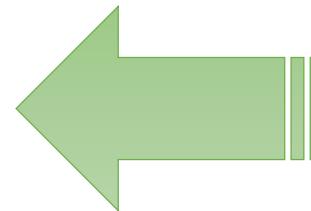


1. Las muestras de agua se obtuvieron en el centro del río, usando el método de columna de agua por medio de un tubo de PVC de 2 pulgadas y 1 metro altura.

2. El agua se depositaba en una cubeta con capacidad de 50L del volumen de agua obtenido se tomaron alícuotas de 1ml por triplicado para el análisis de cada parámetro.



Durante el tiempo de muestreo, todas las muestras se mantuvieron en hielo a una temperatura de 4 a 8°C y solo las alícuotas de agua para evaluación de glucosa y aminoácidos fueron desproteinizadas con PCA 0.6N, a continuación todas las muestras se congelaron a -30°C hasta su uso posterior.



Las muestras de sedimento se tomaron en uno de los extremos del río (bajo el agua, a 20 cm de profundidad), usando un recipiente previamente rotulado, con volumen de 50 cm³.

Figura N° 16. Toma de muestra 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:

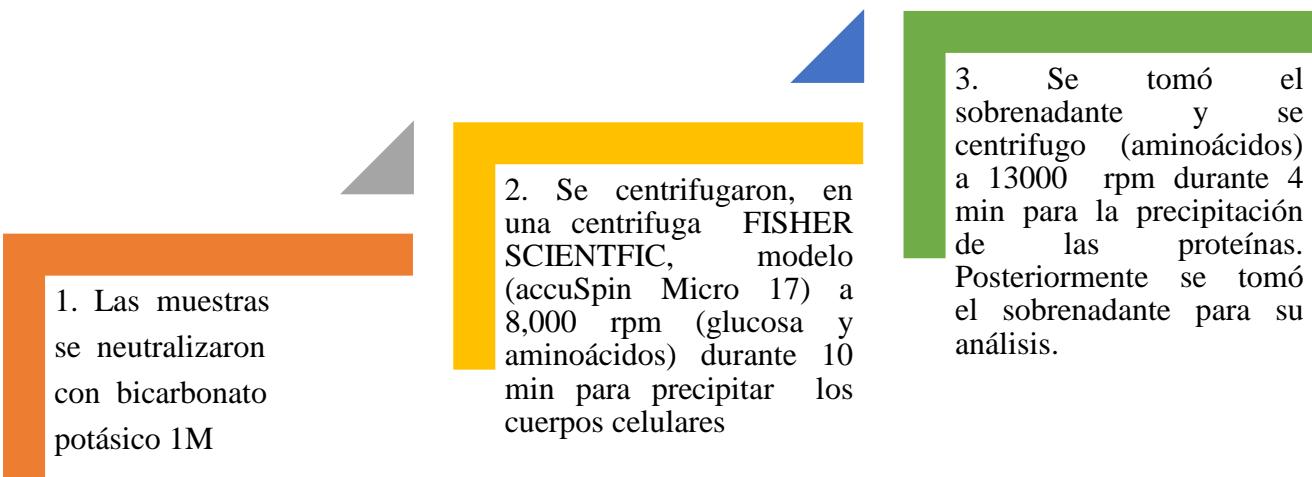


Figura N°17. Procesamiento de muestras previo al análisis de glucosa y aminoácidos.

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



4.3.2. Cuantificación de 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 micro placas.

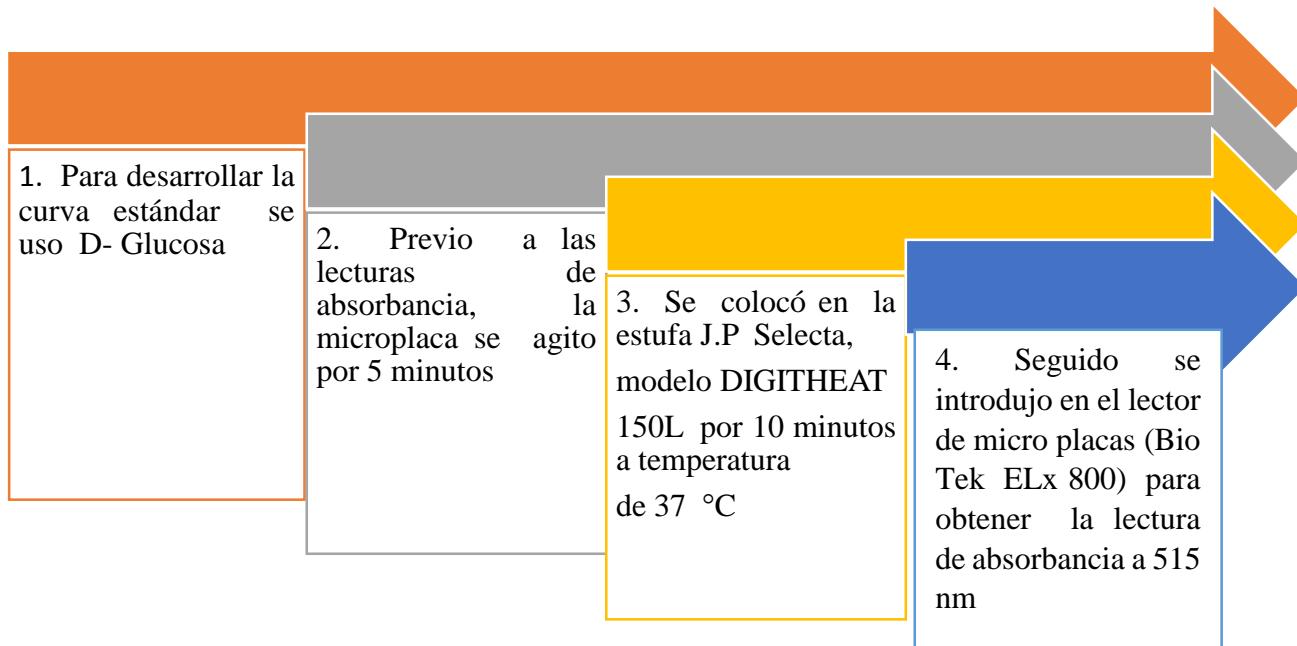


Figura N° 18. Pasos para el análisis de glucosa.



4.3.3. Cuantificación de 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).

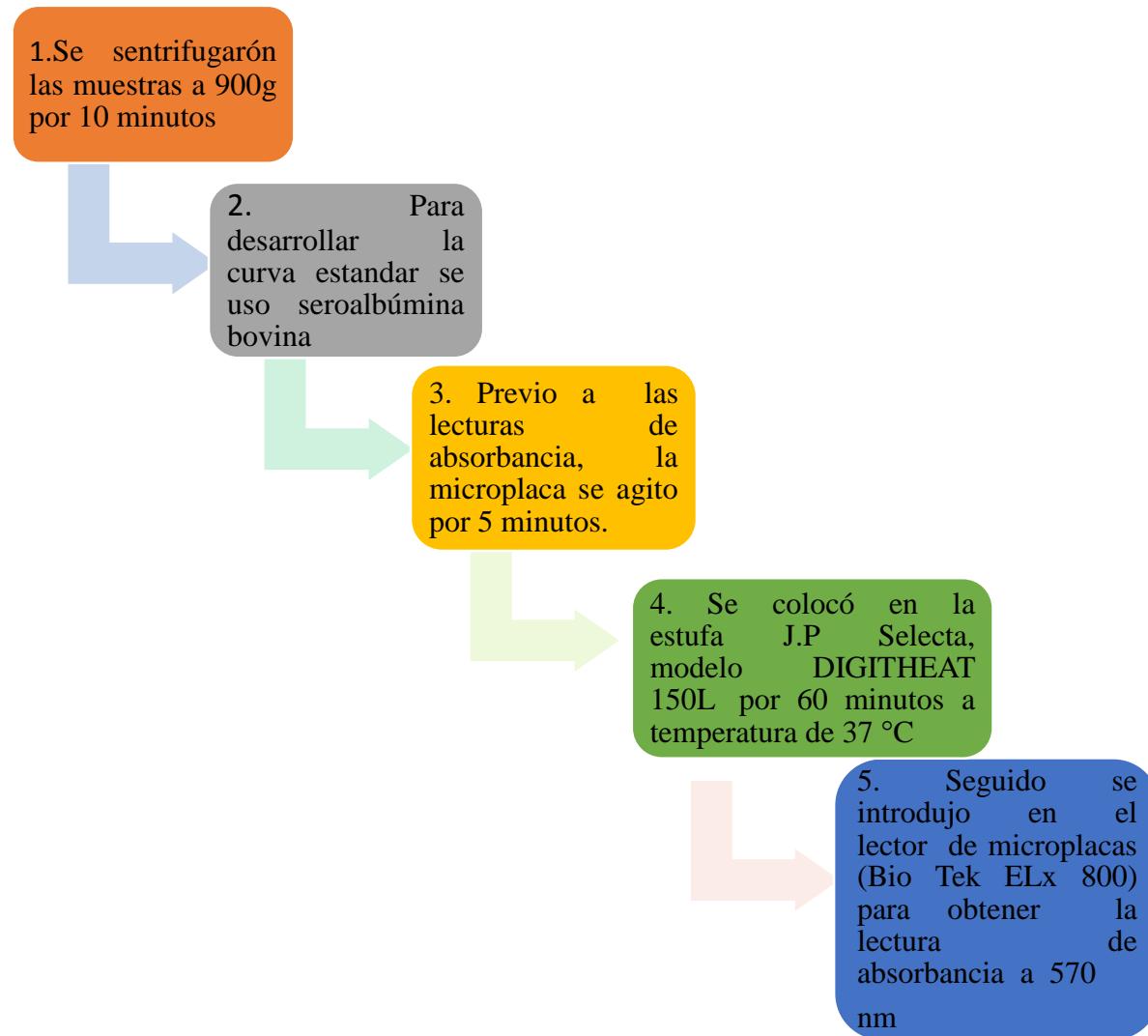


Figura N° 19. Pasos para el análisis de aminoácidos.



4.3.4. 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 Bicinconílico (Fujimoto et al., 1985).



Figura N°20. Pasos para el análisis de proteínas.



4.3.5. Cuantificación de Niveles de Proteínas, Glucosa y Aminoácidos en Sedimento.

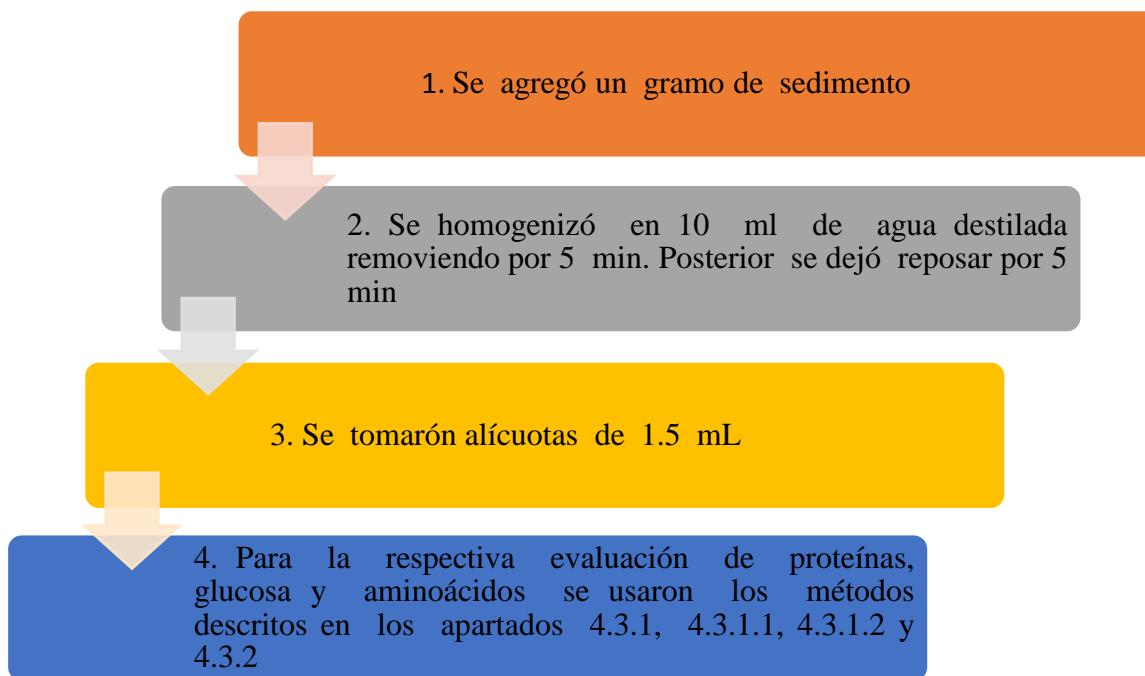


Figura N° 21. Pasos para el análisis de proteínas, glucosa y aminoácidos en muestras de sedimento.



4.4. Análisis Estadísticos.

Los datos se muestran como media de las lecturas en cada punto de muestreo de los parámetros fisicoquímicos (N=3) y como la media de las lecturas en el espectrofotómetro (N=3). Para determinar la relación entre la fluctuación de las concentraciones de metabolitos libres y proteínas se usó el coeficiente de correlación de Pearson, pensado para variables cuantitativas, por medio de la siguiente fórmula:

$$r_{xy} = \frac{\sum Z_x Z_y}{N}$$

R_{xy} = Coeficiente de correlación de Pearson entre las variables X y Y.

Z_x = Variancia de X

Z_y = Variancia Y

N= Número de item



5. RESULTADOS.



5.1. Parámetros Fisicoquímicos.

La tabla N° 8 muestra los valores promedios, obtenidos en los seis meses de muestreo, de pH, Oxígeno Disuelto (OD), Salinidad, Temperatura y Turbidez en el cuerpo de agua del río Estero Real. El valor más alto de pH se encontró en el mes de enero (8.4), el nivel más alto de OD se presentó en el mes de febrero con 7.9 mg/L, los valores más altos de salinidad y de temperatura se presentaron en el mes de Abril con 38.7 ppm y 31.6 °C, respectivamente y el mes en que las aguas presentaron mayor grado de turbidez fue enero.

Tabla N° 8. Valores promedio de los parámetros Fisicoquímicos en las aguas del río Estero Real, en el período noviembre 2013-abril 2014.

Parámetros Fisicoquímicos

MESES	pH	Oxígeno Disuelto mg/L	Salinidad ppm	Temperatura °C	Turbidez Cm
Noviembre	7.2	2.4	5.2	31.3	47
Diciembre	8.1	1.9	11.3	29.5	35
Enero	8.4	5.1	21.2	28.3	27.5
Febrero	6.8	7.9	22.4	29.9	45.5
Marzo	6.8	3.5	26.9	31.1	43
Abril	7.7	2.7	38.7	31.6	54.5



5.1.1. pH.

Los valores promedio de pH a lo largo del periodo de estudio fluctuaron en un rango de 6.8 a 8.5. Los meses que presentaron los menores valores de pH se corresponden a febrero y marzo donde, de manera general, ambos presentan promedio de 6.8, denotando que en este periodo el valor de pH de las aguas del río Estero Real presentan un ligero valor de acidez. Por otro lado, los meses de diciembre, enero y abril presentan valores normales de alcalinidad para un cuerpo de agua estuarino (8.1, 8.4 y 7.7, respectivamente). El mes de noviembre presentó un valor de pH cercano a la neutralidad (7.2) (Ver Tabla N° 9).

Tabla N° 9. Promedio de los valores de pH en las aguas del río Estero Real, en el periodo noviembre 2013-abril 2014.

Sitios de Muestreo	Promedios de pH.					
	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo	Abril
Herrera Membreño	7,1	8,2	8,4	6,8	6,8	7,6
San Martin	7,1	8,1	8,4	6,8	6,8	7,7
Empalme	7,2	8,1	8,4	6,8	6,8	7,7
Muelle Puerto Morazán	7,0	8,1	8,4	6,8	6,8	7,6
Carlos Fonseca	7,2	8,0	8,5	6,8	6,8	7,6
Plantel Langostino	7,3	8,0	8,4	6,8	6,8	7,6
El Semillal	7,2	8,0	8,4	6,8	6,8	7,7
Desagüe La Treinta	7,1	8,0	8,4	6,7	6,8	7,6
AGRIMAR I	7,2	8,0	8,4	6,8	6,8	7,7
AGRIMAR II	7,2	8,1	8,4	6,8	6,8	7,6
Promedio	7,2	8,1	8,4	6,8	6,8	7,7



5.1.2. Oxígeno.

Los valores promedios de Oxígeno Disuelto (OD) a lo largo del estudio presentaron valores promedios de 1.9 mg/L a 7.9 mg/L. El mes que presento menor nivel de OD fue diciembre con un promedio de 1.9 mg/L y las localidades que presentaron menores niveles de OD en ese mes fueron *San Martín, Muelle Puerto Morazán* con 1.6 mg/L respectivamente y *AGRIMAR I* con 1.5 mg/L. El mes con mayor nivel de OD en agua fue Febrero con un valor promedio de 7.9 mg/L y las localidades que presentaron los mayores niveles en este mes fueron *El Semillal* y *AGRIMAR II* con 8.4 mg/L y 8.5 mg/L respectivamente. (Ver Tabla N°10)

Tabla N° 10. Promedio de los valores de Oxígeno Disuelto (mg/L) en las aguas del río Estero Real, en el período noviembre 2013-abril 2014.

Sitios de Muestreo	Promedio de Oxígeno (mg/L)					
	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo	Abril
Herrera Membreño	1,1	2,0	6,2	7,1	3,5	3,8
San Martín	1,5	1,6	6,7	7,4	3,5	2,9
Empalme	2,0	1,8	7,0	8,1	3,5	3,0
Muelle Puerto Morazán	1,8	1,6	4,2	8,1	3,5	2,5
Carlos Fonseca	2,0	2,1	4,5	7,9	3,4	2,3
Plantel Langostino	3,5	2,3	4,4	8,0	3,3	2,8
El Semillal	3,6	1,9	4,3	8,4	3,5	2,7
Desagüe La Treinta	2,3	2,3	4,6	7,8	3,6	2,4
AGRIMAR I	3,5	1,5	4,4	8,1	3,5	2,7
AGRIMAR II	2,4	2,0	4,8	8,5	3,8	2,2
Promedio	2,4	1,9	5,1	7,9	3,5	2,7



5.1.3. Salinidad.

En la tabla N° 11 se presentan los valores promedios de Salinidad en agua durante el periodo de estudio. Los niveles promedios de salinidad fluctuaron entre 5.2 ppm a 38.7 ppm, siendo abril el mes con mayor nivel de salinidad (38.7 ppm) y la localidad que presentó la mayor concentración en ese mes fue *Desagüe de la Treinta* (39.9 ppm). El mes que presentó menor promedio de concentración de la salinidad fue noviembre con un valor de 5.3 ppm y los sitios que presentaron valores de cero fueron las localidades de *Herrera Membreño* y *El Empalme*. Estas dos localidades se ubican aguas arriba de Puerto Morazán y son las más alejadas a las aguas del Golfo de Fonseca dentro de nuestra área de estudio.

Tabla N° 11. Promedio de los valores de Salinidad (ppm) en las aguas del río Estero Real, en el periodo noviembre 2013-abril 2014.

Sistios de Muestreo.	Promedio de Salinidad (ppm).					
	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo	Abril
Herrera Membreño	0,0	5,0	15,0	16,8	16,0	35,7
San Martin	1,0	8,3	17,0	17,0	23,8	36,0
Empalme	0,0	6,7	18,6	20,5	24,8	37,8
Muelle Puerto Morazán	3,7	9,7	19,5	21,1	25,2	39,2
Carlos Fonseca	4,5	10,1	21,0	23,5	28,8	39,2
Plantel Langostino	6,0	11,8	20,5	24,3	30,0	39,5
El Semillal	7,0	13,1	24,6	24,8	30,2	39,8
Desagüe La Treinta	9,9	15,1	23,2	25,8	29,8	39,9
AGRIMAR I	9,8	16,0	25,7	25,0	30,2	39,8
AGRIMAR II	10,1	17,0	26,5	25,0	30,3	39,7
Promedio	5,2	11,3	21,2	22,4	26,9	38,7



5.1.4. Temperatura.

Los valores promedios de Temperatura obtenidos durante el periodo de estudio oscilaron entre los 28.3 °C a 31.6°C, registrándose los mayores grados de temperatura en los meses de noviembre, marzo y abril con valores promedios de 31.3°C, 31.1°C, y 31.6 °C respectivamente. En este último mes, la localidad *El Empalme* fue la que presento mayor grado de temperatura de todas las demás localidades muestreadas. De manera contraria el mes que presentó menor grado de temperatura fue enero con un valor promedio de 28.3°C. (Ver Tabla N° 12)

Tabla N° 12. Promedio de los valores de Temperatura (°C) en las aguas del río Estero Real, en el período noviembre 2013-abril 2014.

Sitios de Muestreo	Promedio de Temperatura (°C)					
	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo	Abril
Herrera Membreño	30,6	28,7	27,5	29,3	30,8	31,4
San Martín	31,1	29,3	28,4	29,7	31,0	31,6
Empalme	31,7	29,4	28,2	29,5	31,2	32,0
Muelle Puerto Morazán	31,0	29,5	28,4	29,8	31,2	31,5
Carlos Fonseca	30,7	29,0	28,5	29,6	30,5	31,6
Plantel Langostino	32,1	30,0	28,3	30,4	30,9	31,9
El Semillal	32,1	29,8	28,4	30,0	31,1	31,9
Desagüe La Treinta	31,1	30,1	28,5	30,0	31,2	31,5
AGRIMAR I	31,6	29,2	28,2	30,6	31,6	31,9
AGRIMAR II	31,2	29,6	28,5	30,3	31,4	31,2
Promedio	31,3	29,5	28,3	29,9	31,1	31,6



5.1.5. Turbidez.

En la tabla N° 13 se muestra los valores promedio de Turbidez (cm) durante el periodo de estudio. Los valores promedios fluctuaron entre los 27.5 cm a 54.5 cm de profundidad en el agua. El mes de enero fue el que presentó mayor nivel de turbidez con 27.5 cm de profundidad, y en esa fecha la localidad de *Herrera Membreño* fue quien presentó el mayor nivel de turbidez (10 cm de profundidad). Por otro lado, el mes con menor valor promedio de turbidez en el agua fue abril con un valor de 54.5 cm de profundidad, registrándose en este mes la localidad de AGRIMAR I con un valor promedio de 75 cm de profundidad siendo este el que muestra menor turbidez durante todo el periodo de estudio.

Tabla N° 13. Promedio de los valores de Turbidez (cm) en las aguas del río Estero Real, en el período noviembre 2013-abril 2014.

Sitios de Muestro	Promedio de Turbidez (cm)					
	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo	Abril
Herrera Membreño	25,0	25,0	10,0	20,0	20,0	35,0
San Martín	25,0	25,0	15,0	30,0	20,0	40,0
Empalme	30,0	30,0	20,0	30,0	35,0	55,0
Muelle Puerto Morazán	35,0	35,0	25,0	40,0	40,0	55,0
Carlos Fonseca	30,0	35,0	35,0	50,0	40,0	55,0
Plantel Langostino	57,0	40,0	30,0	50,0	45,0	65,0
El Semillal	63,0	40,0	30,0	60,0	45,0	70,0
Desagüe La Treinta	65,0	25,0	30,0	45,0	55,0	70,0
AGRIMAR I	70,0	45,0	30,0	65,0	60,0	75,0
AGRIMAR II	70,0	50,0	50,0	65,0	70,0	25,0
Promedio	47,0	35,0	27,5	45,5	43,0	54,5



5.2. Metabolitos y Proteínas Libres en el Agua.

5.2.1. Aminoácidos.

En la tabla N° 14 se muestran los valores promedios obtenidos de las concentraciones de aminoácidos (μM) en agua, durante los meses de estudio; encontrado que los meses con mayores concentraciones de aminoácidos fueron noviembre y enero con valores promedios de 112.6 (μM) y 110.1 (μM) en los respectivos meses. Y el mes con menores concentraciones de aminoácidos fue marzo con un valor promedio de 53.0 (μM). De igual forma se muestran que los sitios con menores niveles de aminoácidos fueron las localidades de *Carlos Fonseca* y *AGRIMAR I* donde se obtuvieron valores promedios durante el periodo de estudio de 73.8 (μM) y 75.2 (μM), respectivamente.

Tabla N° 14. Valores promedio de la concentración de Aminoácidos (μM) en agua, en los diez sitios de muestreo, en el tiempo. Período noviembre 2013-abril 2014.

Promedio de Aminoácidos Agua (μM)						
Sitios de Muestreo	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo	Abril
Herrera Membreño	89.5	125.1	104.3	114.8	72.8	68.3
San Martin	102.0	123.4	107.6	86.6	66.1	113.2
Empalme	123.3	113.7	116.5	98.5	86.0	86.7
Muelle Puerto Morazán	80.7	53.8	97.7	77.7	26.2	106.8
Carlos Fonseca	56.9	117.0	114.3	144.4	44.5	84.8
Plantel Langostino	202.3	185.0	117.6	88.1	22.9	140.7
El Semillal	137.1	79.7	108.8	107.4	42.0	82.1
Desagüe La Treinta	92.0	102.4	108.8	97.0	39.5	63.8
AGRIMAR I	77.0	73.2	86.6	55.5	71.1	87.6
AGRIMAR II	164.7	63.5	138.6	193.4	58.6	64.7
Promedio	112.6	103.7	110.1	106.3	53.0	89.9



5.2.2. Glucosa.

Los valores promedios obtenidos de las concentraciones de glucosa (μM) en agua durante el periodo de estudio fluctuaron entre los 11.1 μM a 376.3 μM . Los meses con mayores niveles de glucosa en agua son febrero, marzo y abril donde este último tuvo un promedio de 376.3 μM . y la localidad que presento la mayor concentración de glucosa, en ese mes, fue el *Plantel Langostino* con 421 μM . El mes que presento la menor concentración de glucosa en agua fue noviembre (11.1 μM) y la localidad que presento la menor concentración, en ese mes, fue *Muelle Puerto Morazán* con 5.3 μM . (Ver Tabla N°15)

Tabla N° 15. Valores promedio de la concentración de Glucosa (μM) en Agua, en los diez sitios de muestreo, en el tiempo. Período noviembre 2013-abril 2014.

Sitios de Muestreo	Promedio de Glucosa Agua (μM)					
	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo	Abrial
Herrera Membreño	9.7	6.6	86.7	176.0	183.3	365.4
San Martin	8.4	7.5	125.2	202.3	177.0	362.9
Empalme	7.5	4.8	186.6	202.6	192.6	353.3
Muelle Puerto Morazán	5.3	7.5	168.6	218.1	224.4	347.8
Carlos Fonseca	11.0	9.2	206.6	252.2	192.3	370.8
Plantel Langostino	6.6	17.6	245.6	245.1	267.0	421.0
El Semillal	12.4	59.4	243.2	259.6	285.8	407.2
Desagüe La Treinta	15.9	142.1	308.0	249.1	304.6	381.7
AGRIMAR I	12.8	119.2	251.9	213.8	238.8	378.3
AGRIMAR II	21.7	119.2	259.3	213.4	266.6	374.6
Promedio	11.1	49.3	208.2	223.2	233.2	376.3



5.2.3. Proteínas.

En la tabla N° 16 se muestran los valores promedios de las concentraciones de proteínas ($\mu\text{g}/\text{ml}$) en agua durante el periodo de estudio. Los niveles de proteínas fluctuaron entre los 65.4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ a 3132.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$. El sitio con mayor concentración de proteínas fue la localidad de *Muelle Puerto Morazán* con un nivel de 1435.3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ y el sitio con menor concentración de proteína fue *Herrera Membreño* con un nivel de 786.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$. De igual forma se pudo observar que el mes con mayor concentración de proteínas en agua fue el mes de febrero donde se obtuvo un promedio de 3132.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$. El mes con menor nivel de proteína fue noviembre con un promedio de 65.4 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

Tabla N° 16. Valores promedio de la concentración de Proteína ($\mu\text{g}/\text{ml}$) en agua, en los diez sitios de muestreo, en el tiempo. Período noviembre 2013-abril 2014.

Promedio de Proteínas ($\mu\text{g}/\text{ml}$) Agua						
Sitio de Muestreo	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo	Abril
Herrera Membreño	152.2	136.8	515.4	1321.4	2456.2	137.2
San Martin	99.7	93.4	595.6	3551.9	2835.9	122.1
Empalme	5.0	64.5	518.4	3827.9	3327.1	71.0
Muelle Puerto Morazán	37.8	27.5	1210.2	4064.9	3122.0	149.2
Carlos Fonseca	18.8	52.5	1447.7	3717.5	2998.0	119.1
Plantel Langostino	16.0	23.6	1545.7	3526.0	2737.2	185.3
El Semillal	18.8	69.4	1516.0	2681.8	3117.0	371.8
Desagüe La Treinta	91.0	103.1	1308.2	2922.1	3203.0	230.4
AGRIMAR I	106.3	107.9	1762.5	2750.0	3063.8	203.4
AGRIMAR II	108.5	100.7	1471.5	2961.0	3139.7	176.3
Promedio	65.4	77.9	1189.1	3132.5	3000.0	176.6



5.3. Metabolitos y Proteínas Libres en el Sedimento.

5.3.1. Aminoácidos.

Las concentraciones promedios de aminoácidos (μM) en sedimento durante el periodo de estudio oscilaron entre los valores de 269.9 μM y 637.4 μM . Los niveles promedios más altos se registraron en el mes de Noviembre con un valor de 637.3 μM , y las localidades con mayor concentración de aminoácidos en sedimento, en ese mes, fueron *Herrera Membreño* y *San Martín* con niveles de 1102.6 μM y 1215.8 μM , respectivamente. Los niveles promedios más bajos de aminoácidos en sedimento se registraron en el mes de Marzo con 269.9 μM y, de estos, la localidad con menor nivel de aminoácido fue *Muelle Puerto Morazán* 121.3 μM . (Ver Tabla N° 17)

Tabla N° 17. Valores promedio de la concentración de Aminoácidos (μM) en sedimento, en los diez sitios de muestreo, en el tiempo. Período noviembre 2013-abril 2014.

Promedio de Aminoácidos (μM) en Sedimento.						
Sitio de Muestreo	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo	Abril
Herrera Membreño	1102.6	764.6	656.5	524.9	312.3	674.2
San Martín	1215.8	473.0	579.1	480.4	412.0	610.0
Empalme	864.9	942.8	645.4	465.6	328.9	564.2
Muelle Puerto Morazán	763.0	68.0	811.2	406.3	121.3	564.2
Carlos Fonseca	468.7	181.4	612.3	406.3	378.7	536.8
Plantel Langostino	536.6	505.4	722.8	435.9	312.3	665.0
El Semillal	525.3	456.8	568.1	510.1	262.5	820.7
Desagüe La Treinta	321.5	797.0	568.1	495.3	262.5	362.7
AGRIMAR I	321.5	1121.0	402.3	673.2	146.2	665.0
AGRIMAR II	253.6	570.2	700.7	124.6	162.8	839.0
Promedio	637.4	588.0	626.7	452.3	269.9	630.2



5.3.2. Glucosa.

En la tabla N° 18 se muestran las concentraciones promedio de Glucosa (μM) en sedimento durante el periodo de estudio. El mes con mayor nivel de glucosa en sedimento fue abril con un valor promedio de 247.5 μM ; y el mes con menor nivel de glucosa fue diciembre con un valor promedio de 143.4 μM . También se muestra que en abril el sitio con mayor nivel de glucosa en sedimento fue la localidad de *AGRIMAR II* con un valor de 660.5 μM .

Tabla N° 18. Valores promedio de la concentración de Glucosa (μM) en sedimento, en los diez sitios de muestreo, en el tiempo. Período noviembre 2013-abril 2014

Promedio de Glucosa (μM) en Sedimento						
Sitio de Muestreo	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo	Abril
Herrera Membreño	141.8	61.6	121.8	159.7	173.0	158.9
San Martin	212.7	79.2	160.8	95.7	110.4	280.1
Empalme	151.2	228.7	165.7	163.1	169.1	217.4
Muelle Puerto Morazán	151.2	145.2	141.3	163.1	184.7	296.8
Carlos Fonseca	203.2	61.6	117.0	149.6	247.4	163.0
Plantel Langostino	189.0	224.3	165.7	126.0	165.2	133.8
El Semillal	118.1	96.8	151.1	179.9	231.7	225.8
Desagüe La Treinta	89.8	127.6	209.6	122.7	118.2	175.6
AGRIMAR I	89.8	180.4	209.6	196.8	313.9	163.0
AGRIMAR II	156.0	228.7	292.4	136.1	149.5	660.5
Promedio	150.3	143.4	173.5	149.3	186.3	247.5



5.3.3. *Proteínas.*

Las concentraciones promedios obtenidas de Proteínas ($\mu\text{g}/\text{gr}$) en sedimento durante el periodo de estudio se encontraron en los rangos de 112.5 $\mu\text{g}/\text{gr}$ a 5469.1 $\mu\text{g}/\text{gr}$. Habiendo sido el mes con menor concentración de proteína abril con 112.5 $\mu\text{g}/\text{gr}$. Las concentraciones más altas de proteínas en el sedimento se registraron en el mes de Noviembre con 5469.1 $\mu\text{g}/\text{gr}$, en donde las localidades de Herrera Membreño y San Martin presentaron concentraciones de 11837.7 $\mu\text{g}/\text{gr}$ y 8830 $\mu\text{g}/\text{gr}$ respectivamente. (Ver Tabla N°19)

Tabla N°19. Valores promedio de la concentración de Proteínas ($\mu\text{g}/\text{gr}$) en sedimento, en los diez sitios de muestreo, en el tiempo. Período noviembre 2013-abril 2014

Promedio de Proteínas ($\mu\text{g}/\text{gr}$) en Sedimento						
Sitio de Muestreo	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo	Abril
Herrera Membreño	11837.7	1151.3	760.1	2759.7	1903.8	228.6
San Martin	8830.0	3848.7	3669.8	844.2	359.5	0.0
Empalme	7146.8	8786.1	1264.8	876.6	865.8	0.0
Muelle Puerto Morazán	5767.1	4354.5	1591.4	1039.0	141.8	0.0
Carlos Fonseca	4442.6	5366.1	2244.7	2207.8	2106.3	129.4
Plantel Langostino	5132.5	5871.9	5391.9	1883.1	2308.9	0.0
El Semillal	2593.8	5775.5	3551.1	3214.3	2131.6	228.6
Desagüe La Treinta	1214.1	6955.7	4946.6	3441.6	1574.7	249.7
AGRIMAR I	2676.6	6233.1	2244.7	3181.8	1119.0	288.8
AGRIMAR II	5049.7	4089.6	4530.9	2110.4	840.5	0.0
Promedio	5469.1	5243.3	3019.6	2155.8	1335.2	112.5



5.4. Matriz de Correlación entre parámetros Fisicoquímicos y Metabolitos en Agua.

En la tabla N° 20 se muestran los valores de la correlación obtenida entre los parámetros fisicoquímicos y los metabolitos en las aguas del Rio Estero Real. Los resultados muestran que las concentraciones de glucosa presentan una alta correlación con respecto a la concentración salina ($R=0.95$; $P<0.001$); de igual manera la concentración de aminoácidos presenta una fluctuación con respecto a la salinidad pero con una pobre correlación ($R=0.23$; $P<0.02$). Por otro lado la concentración de proteína presenta el nivel de correlación más alta con respecto a la concentración de oxígeno disuelto, seguido del parámetro salinidad, en el cuerpo de agua

Tabla N° 20. Correlación de Parámetros Fisicoquímicos con Proteínas y Metabolitos en Agua.

	Aminoácidos.	Glucosa.	Proteínas.
<i>pH</i>	$R= -0.21$ $P<0.02$	$R= -0.07$ $P<0.46$	$R= -0.59$ $P<0.00$
	$R= 0.12$ $P<0.18$	$R= 0.26$ $P<0.001$	$R= \mathbf{0.67}$ $P<0.001$
<i>Oxígeno (OD)</i>	$R= 0.12$ $P<0.18$	$R= 0.26$ $P<0.001$	$R= \mathbf{0.67}$ $P<0.001$
	$R= \mathbf{0.23}$ $P<0.01$	$R= \mathbf{0.95}$ $P<0.01$	$R= 0.29$ $P<0.01$
<i>Salinidad</i>	$R= \mathbf{0.23}$ $P<0.01$	$R= \mathbf{0.95}$ $P<0.01$	$R= 0.29$ $P<0.01$
	$R= -0.14$ $P<0.13$	$R= 0.19$ $P<0.033$	$R= -0.08$ $P<0.41$
<i>Temperatura</i>	$R= 0.03$ $P<0.72$	$R= 0.30$ $P<0.001$	$R= 0.04$ $P<0.673$
<i>Turbidez</i>			

En la figura N° 32, se puede observar la alta correlación que existe entre el metabolito glucosa y el parámetro de salinidad determinándose que al haber altos niveles salinos hay una alta presencia de glucosa en el agua.

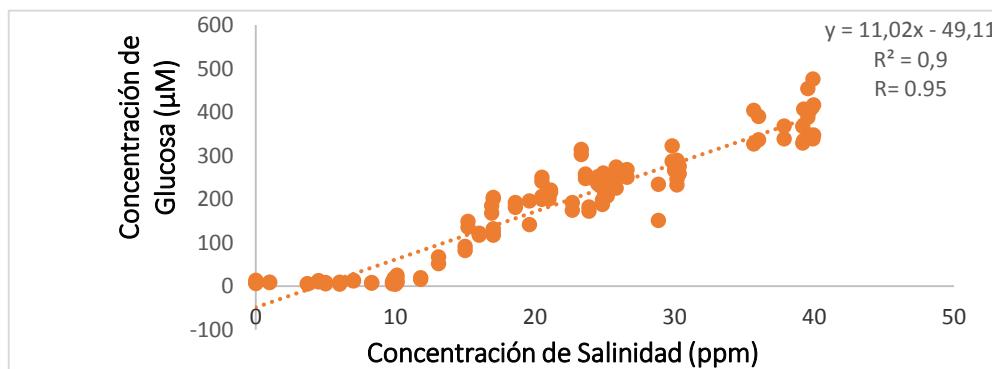


Figura N°32. Correlación Glucosa y Salinidad.



6. DISCUSIÓN.



6.1. Parámetros Fisicoquímicos.

6.1.1 pH

Nuestros resultados muestran que durante el periodo de estudio realizado en las aguas del río Estero Real, los valores de pH se mantuvieron en un rango de 6.8 a 8.4, los cuales se encuentran en el rango característico de los ecosistemas estuarinos (Arredondo y Ponce, 1998), debido a que se sabe que la mayoría de las aguas epicontinentales presentan valores de pH que fluctúan entre 6.5 y 9. Y que dentro de estos valores se considera debe encontrarse un ecosistema saludable (Arredondo y Ponce, 1998). Estudios recientes han mostrado que en todo el periodo lluvioso (mayo-octubre) los valores de pH se mantienen muy cerca de la neutralidad (pH 7) (Osorio y Prado, 2014), coincidiendo con lo encontrado en nuestra investigación en los meses de noviembre, febrero y marzo. Para el mes de noviembre (verano), este fenómeno podría deberse al gran volumen de agua dulce que llega al río producto de las escorrentías de la lluvia del final del mes de Octubre. Asimismo, nuestros resultados señalan que los meses de diciembre y enero presentan un incremento de los valores de pH, situación que pudiera deberse al vaciado de todas las pilas de cultivo de camarón producto del cierre de la actividad camaronera.

6.1.2. Oxígeno Disuelto (OD)

En toda nuestra área de estudio se observa un comportamiento cíclico de las concentraciones de OD en las aguas del Río Estero Real. Según Osorio y Prado (2014) de mayo a octubre la concentración de OD presenta una ligera tendencia creciente que alcanza su máximo valor (3.15 mg/L) en octubre, pero que no son idóneas para el bienestar animal. Asimismo, nuestros resultados siguen la misma tendencia creciente de las concentraciones de OD de noviembre a febrero (máximo valor en todo el año), e inicia un comportamiento decreciente hasta el mes de marzo. Bajo este contexto, tanto los resultados de Osorio y Prado (2014) como los nuestros concuerdan con estudios anteriores donde se reporta que las concentraciones de OD en el cuerpo de agua del Río Estero Real son mayores en el periodo seco que en el periodo lluvioso (CIDEA-UCA, 2006), alcanzando un pico máximo en el mes de febrero. (Ver tabla 10).

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, las descargas con alto contenido de materia orgánica deriva en bajas concentraciones de OD probablemente esto es producto de la elevada tasa de crecimiento microbiano que agota rápidamente el OD (Guzmán et al., 2011). Bajo ese contexto, los resultados observados sobre los niveles de OD sugieren que lo reportado por Osorio y Prado (2014) podría deberse al gran volumen de agua de lluvia que acarrean altas concentraciones de sedimento y materia orgánica a través de los efluentes del río.



En contraste a lo reportado por Osorio y Prado (2014), el incremento de los niveles de OD observado en nuestro periodo de estudio podría ser debido a la no entrada de agua de lluvia (principalmente en el periodo seco de enero a febrero) al cuerpo de agua del Río Estero Real, lo que favorece la disminución de los niveles de sedimentación y eutrofización, permitiendo mayor entrada de luz en la columna de agua y el equilibrio de la población fitoplanctonica que deriva en la mejoría de la concentración de OD. En ese sentido, si unimos el estudio de Osorio y Prado (2014) con el nuestro, podemos observar que en el periodo lluvioso las aguas del río Estero real presentan altos niveles de estrés; situación que cambia en el periodo seco donde los niveles de oxígeno presentan incremento. En consecuencia, estos resultados indican que el cuerpo de agua del río Estero Real presenta serios problemas de estrés en la mayoría de los meses del año y solo muestra indicios de mejoría de su capacidad de carga en los meses de enero y febrero.

6.1.3. Salinidad.

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 por todo el cuerpo de agua. Por tanto, uno de los factores a resaltar en los resultados del estudio es la lejanía que existe desde la localidad Herrera Membreño hasta las aguas del Golfo de Fonseca (31 km) que provoca el incremento paulatino de las concentraciones salinas en ese sector del cuerpo de agua, desde el mes de noviembre hasta abril (5.2 ppm a 38.7 ppm, respectivamente). Estudios anteriores realizados en el periodo lluvioso demuestran que los niveles de concentraciones salinas disminuyen proporcionalmente en los meses de mayo a octubre llegando a valores de 0 a 5 ppm (Osorio y Prado 2014) Asimismo, cabe destacar la diferencia de las concentraciones salinas entre sitios de muestreo, debido a que se observa una diferencia promedio de 11.5 ppm entre el primer y último punto de muestreo en los meses de estudio, a excepción del mes de abril donde la diferencia es de solo 4 ppm. Por tanto, estas diferencias de la concentración salina entre los puntos de muestreo y los meses de estudio se deben fundamentalmente a la característica del tiempo de recambio de las aguas del Río Estero Real, coincidiendo con lo reportado en estudios anteriores (Curie, 1994; CIDEA-UCA, 2006). Cabe destacar lo observado en el mes de noviembre, donde los puntos 1 y 3 presentan una concentración salina de cero, mientras que el punto 2 presenta concentración de 1 ppm. Esta situación podría deberse a las variaciones de salinidad que se producen tras las descargas de agua provenientes de las pilas de cultivo de camarón o a un probable error de lectura del equipo (tabla N°11).



6.1.4. Temperatura.

Los valores promedio de la temperatura superficial del agua se encontraron en un rango de 28.3 °C a 31.6°C. Se observa una tendencia decreciente de los valores de la temperatura en los meses de noviembre a enero, que luego incrementa hasta abril. Por tanto, los valores de temperatura en el mes de enero son razonables debido a la entrada del frente frio que prevalece en nuestra zona, en esas fechas. Bajo ese contexto, nuestros resultados presentan similitud con lo reportado por otros investigadores, en lo que respecta a las variaciones de temperatura en el tiempo (CIDEA-UCA, 2006).

6.1.5. Turbidez.

Los valores promedio de turbidez, en el periodo de estudio, presentaron fluctuaciones que van desde los 27.5 cm hasta los 54.5 cm de lectura de disco de Secchi, existiendo menor turbidez que lo reportados por Osorio y Prado (2014) en el periodo de invierno.

La causa de que los niveles turbidez sean mayores, en periodo de invierno, se debe a 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, lo que favorece la llegada de grandes cantidades de sedimento al río Estero Real (CRM, 2011). 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 de Puerto Morazán los niveles de turbidez son mayores que los observados en sector aguas abajo de Puerto Morazán (tabla N°13). En ese contexto, es razonable pensar que en verano el escaso volumen de agua que llega al Estero por medio de los afluentes es lo que mantiene al cuerpo de agua del río Estero Real con bajos valores de sedimentos y nutrientes, situación que propicia la entrada de luz en la columna de agua.

6.2. 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). 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). Los resultados obtenidos muestran que la dinámica fluctuante del metabolismo acuático intermedio en el cuerpo de agua, del río Estero Real, en invierno presenta un comportamiento diferente (Osorio y Prado, 2014) al observado en nuestro periodo de investigación (verano).



6.2.1. Evaluación de Concentraciones de Metabolitos y Proteínas libres en 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 presentan un comportamiento de las concentraciones de proteínas y metabolitos libres similar a lo reportado por Osorio y Prado (2014) debido a que las concentraciones de estos compuestos energéticos fluctúan en dependencia de las variaciones de la concentración salina y los niveles de oxígeno disuelto, en este cuerpo de agua. Asimismo, cabe señalar que el incremento de los niveles de proteínas encontrados en este periodo de estudio, pudiese deberse a la disminución de las concentraciones de algunas microalgas (datos no publicados por nuestro laboratorio) capaces de liberar exoenzimas, proteasas (Rodríguez, 2010). Asimismo nuestros resultados concuerdan con lo reportado por Osorio y Prado (2014) donde señalan que existe un comportamiento inverso entre las fluctuaciones de las concentraciones de proteínas y aminoácidos en el cuerpo de agua del río Estero Real.

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 bénicos (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 la degradación de celulosa y hemicelulosa proveniente del tejido de las hojas (Artigas, 2008). Por tal razón, aunque el estudio solamente implica evaluar los metabolitos intermedios libres podemos sugerir que la tendencia decreciente, en el tiempo, de la concentración de *Chlorella sp.*, *Chlamydomonas sp.*, *Oocystis sp.* y *Scenedesmus* y algunas *Cianofitas* encontradas en el periodo de verano en las aguas del río Estero Real por investigadores de nuestro laboratorio (datos aun no publicados), pueden ser la causa del comportamiento creciente de la concentración de proteínas y decreciente de la concentración de aminoácidos.

6.2.2. Evaluación de Concentraciones de Metabolitos y Proteínas libres en Sedimento.

Sabiendo que el cuerpo de agua del río Estero Real presenta la característica de verticalmente mezclado (CIDEA-UCA, 2006) y 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). Los resultados indican actividad metabólica de proteína con pendiente de crecimiento negativa, con respecto a la concentración salina del cuerpo de agua, concordando con lo reportado por Osorio y Prado (2014) ya que la concentración de proteína en sedimento presenta una correlación negativa con respecto a la salinidad presente en el cuerpo de agua.



Este escenario indica que las concentraciones de proteína en el sedimento tienden a fluctuar en dependencia de la concentración salina del cuerpo de agua; de mayo a octubre presenta tendencia creciente (Osorio y Prado, 2014) y de noviembre a abril presentan tendencia decreciente (ver tabla 19). A diferencia de lo observado en el comportamiento de la concentración de proteína, los niveles de glucosa no mostraron cambios relevantes en el tiempo.

6.3. Relación de la concentración de proteínas, aminoácidos y glucosa con los parámetros fisicoquímicos en el cuerpo de agua.

Nuestros resultados coinciden con lo reportado por otros investigadores (Osorio y Prado, 2014) donde las concentraciones de glucosa fluctúan en paralelo con la concentración salina del cuerpo de agua. Sin embargo, en nuestro estudio la relación de la concentración glucosa-salinidad presenta una correlación mayor a la reportada por Osorio y Prado (2014), no siendo así con la relación aminoácidos-salinidad y proteína-salinidad. Por otro lado, las concentraciones de proteínas presentan su máxima relación con la fluctuación de la concentración de oxígeno disuelto.

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* (Rodríguez, 2010) y que este género presenta una tendencia decreciente de sus concentraciones a medida que incrementa la salinidad del cuerpo de agua del Estero Real, podemos sugerir que existe una relación entre la concentración salina y las concentraciones de glucosa, proteína y aminoácidos, ligados al probable efecto de la dinámica poblacional de la concentración de microalgas (datos no publicados por nuestro laboratorio).

Ante tal situación, parece que en las aguas del río Estero Real hay una fluctuación de activación-inhibición de diversos microorganismos consumidores de metabolitos peptídicos o glúcidos que depende de las variaciones de la concentración salina y los niveles de oxígeno disuelto. Lo cual concuerda, en lo general, con lo presentado por otros investigadores (Brock y Madigan, 1991; Artigas, 2008).

6.3.1. Correlación de Parámetros Fisicoquímicos y Metabolitos en el Cuerpo de Agua.

Hemos demostrado, que la concentración salina ejerce un efecto sobre las fluctuaciones de proteínas y metabolitos libres. En el caso de las proteínas y la glucosa la variación de las concentraciones es proporcional a la variación de la concentración salina, mientras que los aminoácidos presentan un comportamiento inversamente proporcional. Asimismo, en el agua, la fluctuación de la concentración de proteína presenta una alta relación con la fluctuación de la concentración de oxígeno disuelto. Por el contrario, los parámetros de pH, temperatura y turbidez, presentan una ligera correlación con respecto a las fluctuaciones de los niveles de metabolitos y proteínas durante el periodo de estudio. (Ver tabla N° 20).



7. CONCLUSIONES



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, como se puede leer con más detalle a continuación.

- ❖ Las variables de pH y temperatura no muestran variaciones relevantes entre puntos de muestreo pero si entre meses de estudio.
- ❖ El cuerpo de agua del río Estero Real presentó fluctuaciones de los niveles de oxígeno disuelto a lo largo de todo el periodo de estudio y solo en los meses de enero y febrero da indicios de mantenimiento de la capacidad de carga. Por tanto, las condiciones que ofrece la presencia de oxígeno disuelto permiten considerar a este cuerpo de agua saludable para el bienestar animal, solo en esos meses.
- ❖ La concentración de la salinidad, a lo largo del área de estudio, presenta gradientes de concentración que incrementan a medida que nos acercamos a la boca del estero. Además, los datos señalan que la salinidad del cuerpo de agua incrementa de noviembre a abril.
- ❖ 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. Por tanto, se observan tendencias decreciente de los niveles de turbidez a medida que se avanza hacia la boca del Estero y a medida que se avanza de noviembre a abril. Sin embargo, mucho menor que en el periodo lluvioso.
- ❖ En el agua, el mes de noviembre presentó la menor concentración de glucosa y proteína en estado libre. A partir de ese mes, las aguas del Estero Real experimentan un incremento de las concentraciones, en ambos parámetros, que culmina hasta el final de nuestro periodo de investigación, encontrado cambios relevantes de las concentraciones entre puntos de manera irregular, en cada mes de muestreo. Por el contrario, la concentración de aminoácidos libres muestra una tendencia decreciente en el tiempo, siendo los meses de marzo y abril los que presentaron los menores valores.
- ❖ En el sedimento la concentración de proteína presentó una marcada tendencia a disminuir, la concentración de glucosa mostró una ligera tendencia a incrementar y la concentración de aminoácidos no presentó cambios relevantes en el tiempo.
- ❖ En agua, la glucosa presentó mayor relación positiva con respecto a la fluctuación de la concentración salina, mientras que las proteínas presentaron mayor relación positiva con respecto a la fluctuación de los niveles de oxígeno disuelto. Observándose escasa relación entre la concentración de aminoácidos con los demás parámetros.



8. RECOMENDACIONES.



- ❖ Realizar 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.
- ❖ Realizar planes de fortalecimiento en los sistemas de tratamiento de las pilas usadas para acuicultura.



9. BIBLIOGRAFÍA.



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.

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

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.

Agatz M., Asmus R.M. & Deventer B. (1999). *Structural changes in the benthic diatom community along a eutrophication gradient on a tidal flat*. Helgol Mar Res. 53: 92-101.

Allen, T.F.H. y T. W. Hoekstra. (1992). *Toward a Unified Ecology. Complexity in Ecological Systems Series*, Columbia University Press, Nueva York. 384pp

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

Arrendondo, J.L. y Ponce- Palafox., J.T (1998). *La calidad del agua en acuicultura: Ecología y Aplicaciones*. AGT. S.A. México D,F, 250PP

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.

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.

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



- Bresinsky, A. (1986). *Sinopsis del reino vegetal: hongos*. En: Strasburger, E. et al (Ed), Tratado de Botánica (7ta Ed). (pp. 635 - 689). Barcelona: Marín.
- Brill, R. W. y M. E. Lutcavage. 2001. *Understanding environmental influences on movements and depth distributions of tunas and billfishes can significantly improve population assessments*. American Fisheries Society Symposium 25:179-198.
- Brock, T y Madigan, M. (1991). *Microbiología (6ta Ed.)*. México: Editorial Hall Hispanoamericana S.A.
- 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.
- 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.
- 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.
- Chang, R. (2007). Química. México: *The McGraw-Hill Interamerican*.
- 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
- CIDEA-UCA. (2006). *Línea de base y referencia de Governance Puerto Morazán. Managua, Nicaragua*. Pág 54.
- Contreras, E. F. (2001). *Caracterización de lagunas costeras mexicanas a través de variables ecológicas seleccionadas*. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa. México.



- Coon, E. y Stumpf, P. (1990). *Bioquímica fundamental*. (3ra Ed). México: Limusa.
- 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. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá. Colombia.
- 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.
- 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.
- Cross, T. (1981). *Aquatic Actinomycetes: A critical survey of the occurrence, growth and role of Actinomycetes in aquatic habitats*. J. Appl. Bacteriol. 50: 397-423.
- 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
- 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)*
- Dávila, G., y Vásquez, R. (2006). *Enzimas lignolíticas fúngicas para fines ambientales*. Mensaje Bioquímico. 30:29-55.
- Day, J.H. (1980). What is an estuary? South African J. Scien. 7615-17.
- Deason, T.R. (1976). *The genera Spongiococcum and Neospongiococcum*. III. New species, biochemical characteristic and a summary key. Phycologia. 15:197-213.
- Dehahay, P. (1970). *Análisis Instrumental*. Instituto Cubano del Libro. La Habana
- Díaz, N. A., Ruiz, J. A. B., Reyes, E. F., Cejudo, A. G., Novo, J. J., Peinado, J. P., & Fiñana, I. T. 8. (2004) Espectrofometría: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas. *Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Medicina. Córdoba*.
- Dolbeth M., Pardal M.A., Lilleblo A.I., Azeiteiro U. & Marques J.C. (2003). *Short and long-term effects of eutrophication on the secondary production of an intertidal macrobenthic community*. Marine Biology. 10 (1007): 1133-1135



- 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.
- Fan, L.T. y Lee, Y. (1980). *Mechanism of the enzymatic hydrolysis of cellulose: effects of major structural features of cellulose in enzymatic hydrolysis*. Biotech. and Bioeng. 22: 177-199.
- FAO. (2010). *Implementando un enfoque ecosistémico a la pesca y la acuicultura (EEP/EEA) en el Estero Real Nicaragua*.
- 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 celulolíticos 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*. (4^a ed.) Cap 4. Recuperado de: http://www.brookcole.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 D. Conde, (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 hydroxyproline* (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
- Guerrero Segura, F. F. (2013). *Determinación de la intercambiabilidad terapéutica de cápsulas de Fluconazol comercializadas en el país en relación a su innovador Diflucan®*.
- 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 Acuáticas (CIPA) Managua-Nicaragua
- 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, N. L., Valencia, S. R., Branch, T. A., Agnew, D. J., Baum, J. K., Bianchi, P. L., ... & Williams, N. E. (2012). *Eco-label conveys reliable information on fish stock health to seafood consumers*. PloS one, 7(8), e43765.
- 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
- Howarth R., Swaney D.P., Butler T.J. & Marino R. (2000). *Climatic control on eutrophication of the Hudson River Estuary*. Ecosystems. 3: 210-215.
- 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 Herrais, L. (2005). *Espectroscopia de Absorción Atómica*. Publicaciones Analíticas, Madrid. España. 390p.

Jiménez, V. (2011). *Aislamiento, Selección e Identificación de Actinomicetos, Bacterias Fotosintéticas No Sulfuroosas 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

Kalle, K. (1971). *Salinity: general introduction*. Pp. 683-688 En: O. Kinne (ed.). *Marine Ecology*: Vol. 1 Environmental Factors, Part 2. Wiley, EE.UU.

Kim B., Park J.H., Hwang G., Jun M.S. & Choi K. (2001). *Eutrophication in reservoirs of South Korea*. Limnology. 2: 223-229.

Korhonen, L. K., Macias, V., Abdala, R., Figueroa, F. y Cabello, A. (2012). *Effect of sulfide concentration, pH, and anoxia on photosynthesis 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.

Lang C. (1997). *Oligochaetes, organic sedimentation, and trophic state: how to assess the biological recovery of sediments in lakes?* Aquat.sci... 59: 26-33.

Leet, L. D. y S. Judson. (1968). *Fundamentos de Geología Física*. Editorial Limusa-Wiley, México, D.F., 450 pp.

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/>

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, Martín (2000). *Ficha informativa de los humedales Ramsar: Deltas del Estero Real y Llanos de Apacunca*. Pp. 4-7, 11-16. Managua, Nicaragua

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.

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



- 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 Review*. J. Institute Brewing. 110(3):163-180.
- 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.
- Macek T., Macková M. & Kás J. (2000). *Exploitation of plants for the removal of organics in environmental remediation*. Biotechnology Advances. 18: 23-34
- 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 fluorimetric assay for the study of enzyme diversity in soils*. Soil Biol. Biochem. 33, 1633-1640.
- Meade, R. (1972). *Transport and deposition of sediments in estuaries*. Geology Soc. America. Inc. Memoir 133
- 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.
- Moore, S. (1968). *Amino Acid Analysis: Aqueous Dimethyl Sulfoxide As Solvent for the Ninhydrin Reaction*. J. Biol. Chem. 243(23): 4283-6281.
- 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., 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*. Environ. Health. 7(Suppl 2):S4 doi: 10.1186/1476-069X-7-S2-S4.
- Morrell, R. S. (1944). *Siegfried Ruhemann*. J. Chem. Soc. A: 46-48.



- Moss, B. (1996) *A land awash with nutrients the problem of eutrophication*. Chem. Industry. 407-411
- Moss, B., Madgwick, J. y Phillips G. L. (1996). *A guide to the restoration of nutrient enriched shallow lakes*. Broads Authority and Environment Agency (CE) Norwich.
- Mukherjee, G. y Sen, S. (2007). *Purification, characterization, and antifungal activity of chitinase from Streptomyces venezuelae P10*. Current Microbiology. 53: 265-269.
- Osorio, K. y Prado, M. (2014). *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. Periodo Mayo- Octubre 2013* Nicaragua.99 pág. Tesis. Disponible: <http://ageconsearch.umn.edu/handle/167228>
- Pertierra, A. y Tejión, J. M. (2006). *Fundamentos de Bioquímica Estructural* (2da Ed.). Madrid: Editorial TEBAR, S.L.
- Pham, P.L., Taillandier, P., Delmas, M. y Strehaino, P. (1998). *Production of xylanases by Bacillus polymyxa using lignocellulosic wastes*. Ind. Crops Products. 7, 195-203.
- Ponce T. y Pérez, O. (2002). *Celulasas y xilananas en la industria*. XXX Aniversario de Biotecnología y Bioingeniería. Avance y Perspectiva. 21: 273-277.
- 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.
- 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° 6: 7-20.
- Sala, O. E., Chapin, F. S., Armesto, J. J., Berlow, E., BloomPeld, 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.
- Sánchez (2003). Biología de la conservación a escala de ecosistemas: algunas bases para el seguimiento de unidades del paisaje. Pp. 195-236 En: Ó. Sánchez, E. Vega, E. Peters y O. Monroy Vilchis (eds.). *Conservación de ecosistemas templados de montaña en México*. Instituto Nacional de Ecología-Semarnat, U. S. Fish & Wildlife Service y Unidos para la Conservación, A. C., México, D. F., 315 pp.
- 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.
- Scheffer, M. (1998). *Ecology of shallow lakes*. Chapman and Hall. London
- Schroll H. (2002). *Indicators of the Long-term Eutrophication of a Danish lake (Karlsø), and Water Pollution Management*. The Journal of Transdisciplinary Environmental Studies. 1: 1-10.
- 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.
- 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.
- Strööm, 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). *Bioquímica*. (2da Ed). México: Interamericana.
- Tricart, J. 1985. Pro-Lagos. *Los lagos del Eje Neovolcánico de México*. Instituto de Geografía, UNAM, Université Louis Pasteur-Strasbourg I, Conacyt, Centre National de la Recherche Scientifique. México, D. F., 66 pp.
- 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.
- UCA (2006) Documento de Línea de base y referencia de Governance para Puerto Morazán. <http://www.crc.uri.edu/download/Attached-Message-Part-1.pdf>
- 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.
- 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.
- Weithoff G., Lorke A. & Walz N. (2000). *Effects of water-column mixing on bacteria, phytoplankton, and rotifers under different levels of herbivory in a shallow eutrophic lake*. *Oecologia*.125: 91-100.
- West, R. (1965). *Siegfried Ruhemann and the discovery of ninhydrin*. *J. Chem. Educ.* 42: 386-388.
- Wetzel, R. G. (2001). Limnology. *Lake and Rivers Ecosystems*. 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 beneficial microorganisms in sustainable aquaculture*. *Bio -Technol.* 100: 3780- 3786.