UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS
INSTITUTO DE ZOOLOGÍA TROPICAL
POSTGRADO EN ZOOLOGÍA

COMUNIDAD BACTERIANA ASOCIADA AL TEJIDO INTESTINAL DE PECES SILVESTRES DEL RÍO YARACUY

Tesis Doctoral presentada por el
Prof. Ángel Sánchez ante la Ilustre
Universidad Central de Venezuela
como requisito para optar al Título de
Doctor en Ciencias, Mención Zoología.

Tutores:
Dra. Nora Malaver
Dr. Antonio Machado

Caracas, Diciembre de 2017

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS
COMISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

Comisión de Estudios de Postgrado

VEREDICTO

Quienes suscriben, miembros del jurado designado por el Consejo de la Facultad de Ciencias y el Consejo de Estudios de Postgrado de la Universidad Central de Venezuela, para examinar la **TESIS DOCTORAL** presentada por el **Profesor Ángel Gregorio Sánchez Leonardi** C. I. V- **7230939**, bajo el título **"Comunidad bacteriana asociada al tejido intestinal de peces silvestres del río Yaracuy "**, a fin de cumplir con el requisito legal para optar al grado académico de **DOCTOR EN CIENCIAS**, Mención **ZOOLOGÍA**, dejan constancia de lo siguiente:

1.- Leído como fue dicho trabajo por cada uno de los miembros del jurado, se fijó el día 08 de diciembre de 2017, a las 9:00 a.m., para que el autor defendiera en forma pública, lo que hizo en la Sala Jesús María Pacheco, Facultad de Ciencias, UCV, mediante un resumen oral de su contenido, luego de lo cual respondió satisfactoriamente las preguntas que le fueron formuladas por el jurado, todo ello conforme con lo dispuesto en el Reglamento de Estudios de Postgrado vigente.

2.- Finalizada la defensa del trabajo, el jurado decidió **APROBARLO**, por considerar, sin hacerse solidario con las ideas expuestas por el autor, que se ajusta a lo dispuesto y exigido en el Reglamento de Estudios de Postgrado.

Para dar este veredicto, el jurado estimó que el trabajo examinado constituye una contribución de la microbiología ambiental asociado a la caracterización de la biota microbiana de peces silvestres de la cuenca media y baja del río Yaracuy.

En fe de lo cual se levanta la presente ACTA, a los 08 días del mes de diciembre del año 2017, conforme a lo dispuesto en el Reglamento de Estudios de Postgrado, actuó como Coordinadora del Jurado la tutora del trabajo, Dra. Nora Malaver.

Se hace constar que el Dr. Antonio Machado-Alison (UCV) también actuó como tutor de esta Tesis Doctoral.

Dra. Ana, Bonilla
IZET-UCV
Jurado designado por el Consejo de la Facultad
C.I. 5.073.256

Dra. Alejandra, Zamora
IZET-UCV
Jurado designado por el Consejo de la Facultad
C.I. 15.845.224

Dr. Héctor López
IZET-UCV
Jurado designado por el Consejo de Estudios de Postgrado
C.I. 2.965.911

Dra. Yolanda, Barrientos
UPEL-IPC
Jurado designado por el Consejo de Estudios de Postgrado
C.I. 3.788.142

REPÚBLICA BOLIVARIANA DE VENEZUELA
Facultad de Ciencias
P-G en Ciencias -Mención Zoología
UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA

Dra. Nora Malaver
Tutora
IZET-UCV
C.I. 3.728.249

REPÚBLICA BOLIVARIANA DE VENEZUELA
Facultad de Ciencias
P-G en Ciencias -Mención Zoología
UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA

DEDICATORIA

A mis padres Ángel Sánchez Arellano y Margarita Leonardi, que con sus enseñanzas y una buena dosis de disciplina, rectitud, paciencia, amor y comprensión, fortalecieron mi espíritu y me permitieron construir un sendero de vida.

A mi esposa Antonieta y a mi hija Ana, por su incondicional ayuda, apoyo y comprensión durante la ejecución de esta investigación y la elaboración de la Tesis. Además, por ser pilares en mi crecimiento personal y proyecto de vida y facilitar el logro de las metas individuales y familiares.

A mis hermanos Yahira, Isabel, Ysaura y Gustavo por compartir el camino de la vida.

A todas esas personas especiales que de alguna manera contribuyeron en el desarrollo de este transitar realizado con esfuerzo pero con la satisfacción de haber alcanzado la meta.

AGRADECIMIENTOS

A mis tutores Dra. Nora Malaver y Dr. Antonio Machado por su gran disposición, sabiduría, paciencia, espíritu crítico, asesoría y orientación que nunca faltó, a ellos mi respeto y admiración.

Al Doctorado en Ciencias por su formación, conocimientos y orientación.

Al IZET, por sus continuas contribuciones en la consolidación de este estudio.

Al Laboratorio de Ecología de Microorganismos, por aportar los reactivos, suministrar los instrumentos y poner a mi disposición el personal capacitado y referencias bibliográficas especializadas que contribuyeron con la culminación de este trabajo.

Al Museo de Biología de la UCV (MBUCV) y al Taxidermista Alberto Marcano por facilitar parte del material de campo y permitir la consulta de claves y la observación de muestras de referencia.

Al personal docente del Doctorado en Zoología y de manera muy especial a todos los profesores que de alguna manera me brindaron apoyo y colaboración. A ellos mi respeto y consideración de siempre.

A mis amigas, Lic. María del Pino Rodríguez, Lic. Joshimer Rodríguez y Lic. Milagros Salas, por sus contribuciones durante los trabajos de campo y el procesamiento microbiológico de las muestras en el laboratorio. Vale decir que sin su apoyo logístico este trabajo de investigación sería prácticamente imposible.

Al General Alfredo Iacobozzi por la gentileza de prestar a la Cátedra de Ecología de Microorganismos de la UCV, los vehículos rústicos 4x4 para la ejecución de los trabajos de campo de esta investigación.

Al Dr. Rivero Blanco, director científico de la Hacienda La Guáquira por el otorgamiento de los permisos que permitieron la toma de muestras biológicas en la zona y al Sr. Orlando Escalante, encargado de la estación biológica, por su orientación y apoyo práctico y efectivo en la recolección de muestras.

Al Dr. Edlin Guerra y al Lic. Víctor Hugo Aguilar por su paciencia y dedicación en el análisis estadístico de los datos a través de los Programas Primer V6. y PAST.

A todos muchas gracias .....

CONTENIDO pp.

Índice de Figuras 6
Índice de Tablas 7
Resumen 8
Astract 9

1. INTRODUCCIÓN 10
1.1 Antecedentes de estudios bacterianos 12
1.2 Generalidades biológicas de las bacterias 13
1.3 Biota bacteriana en cuerpos de agua natural..... 15
1.4 Biota bacteriana en tejido de peces..... 20
1.5 Importancia de la biota bacterianas en la digestión de los peces..... 22
1.6 Factores que afectan la biota bacteriana en agua y en organismos acuáticos... 30
2. Antecedentes en Venezuela de estudios en el río Yaracuy 36
3. Justificación 37
4. Hipótesis 39
5. Objetivos 39

6. MATERIALES Y MÉTODOS..... 40
6.1 Área de estudio 40
6.2 Materiales 42
6.3 Métodos 42
6.4 Procesamiento estadístico de las variables 48

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... 51
7.1 Coliformes fecales presentes en el río Yaracuy (Trabajo de Campo N°1)..... 51
7.2 Coliformes fecales presentes en el río Yaracuy (Trabajo de Campo N°2)..... 53
7.3 Variables fisicoquímicas del agua del río Yaracuy (Trabajo de Campo N°1).. 55
7.4 Variables fisicoquímicas del agua del río Yaracuy (Trabajo de Campo N°2).. 59
7.5 Abundancia y composición bacteriana en peces y agua del río Yaracuy..... 66
7.6 Abundancia y composición bacteriana en peces y agua del río Yaracuy..... 70
7.7 Permanova de Contraste Lineal (MDS) 84

8. CONCLUSIONES..... 87

9. BIBLIOGRAFÍA 88

10. APÉNDICES

1 Planilla de recolección de datos (variables fisicoquímicas)..... 101
2 Reacciones bioquímicas de las Enterobacterias 102
3 Lista y descripción de los materiales..... 103
4 Morfotipo y abundancia bacteriana en peces (Trabajo de campo N°1)..... 104
5 Morfotipo y abundancia bacteriana en peces (Trabajo de campo N°2)..... 122

11. CURRICULUM VITAE 130

LISTA DE FIGURAS

pp.

FIGURA .

1 Técnicas de vertido en placas 15

2 Tracto digestivo general de peces 27

3 Mapa del área de estudio..... 40

4 Climograma histórico del Estado Yaracuy..... 41

5 Estación N°1 (La Desembocadura) y N°2 (La Guáquira) 43

6 Diseño experimental para la toma de muestras de agua..... 44

7 Diseño experimental para la toma de muestras de peces..... 46

8 Significado del códico empleado en la identificación de peces..... 47

9 Cápsulas con cultivo de coliformes en caldo coliblue de muestras de agua (a) Desembocadura (11/12/2012) y (b) La Guáquira (12/12/2012) 51

10 Abundancia de coliformes totales y fecales (Diciembre/2012)..... 53

11 Cápsulas con cultivo de coliformes en caldo coliblue de muestras de agua (a) Desembocadura (16/07/2013) y (b) La Guáquira (17/07/2013) del Río 53

12 Abundancia de Coliformes Totales y Fecales (Julio/2013)..... 53

13 Biplot de variables fisicoquímicas del agua (Diciembre 2012) Salida: PAST..... 56

14 Biplot de variables fisicoquímicas del agua (Julio 2012) Salida: PAST..... 60

15 Biplot de variables fisicoquímicas (Diciembre 2012 y Julio 2013) Salida: PAST. 62

16 Biplot de abundancia bacteriana en tejido (Diciembre 2012) Salida: PAST 67

17 Biplot de abundancia bacteriana en tejido (Julio 2013) Salida: PAST 71

18 Abundancia bacteriana relativa promedio en agua..... 73

19 Abundancia bacteriana relativa promedio en sustrato..... 75

20 MDS de Prueba pareada entre sustratos de cada combinación Sitio-Momento..... 84

21 Shade Plot de todas las variables medidas en la investigación resaltando Similitud y Disimilitud entre sustratos de cada combinación Sitio-Momento 86

LISTA DE TABLAS

pp.

TABLA

1 Parámetros físico-químicos del agua del río Yaracuy (Diciembre 2013) 55

2 Autovalores de variables fisicoquímicas del agua del río Yaracuy en el primer trabajo de campo (Diciembre 2012). Salida: PAST..... 57

3 Parámetros físico-químicos del agua del río Yaracuy (Julio 2013) 59

4 Autovalores de variables fisicoquímicas del agua del río Yaracuy en el segundo trabajo de campo (Julio 2013). Salida: PAST..... 60

5 Autovalores de variables fisicoquímicas del agua del río Yaracuy en ambos trabajos de campo (Diciembre 2012 y Julio 2013) . Salida: PAST..... 62

6 Matriz de abundancia bacteriana expresada en UFC/100ml x 10^{11} presente en intestino de peces silvestres y en agua, en la estación Desembocadura del río Yaracuy (11/12/2012)..... 66

7 Matriz de abundancia bacteriana expresada en UFC/100ml x 10^{11} presente en intestino de peces silvestres en la estación La Guáquira del río Yaracuy (12/12/2012)..... 66

8 Autovalores de variables biológicas del tejido intestinal de peces y del agua del río Yaracuy (Diciembre 2012) . Salida: PAST..... 67

9 Matriz de abundancia bacteriana expresada en UFC/100ml x 10^{11} presente en intestino de peces silvestres, en la estación Desembocadura del río Yaracuy (16/07/2013)..... 70

10 Matriz de Abundancia bacteriana expresada en UFC/100ml x 10^{11} presente en intestino de peces silvestres, en la estación La Guáquira del río Yaracuy (17/07/2013)..... 70

11 Autovalores de variables biológicas del tejido intestinal de peces y del agua del río Yaracuy (Julio 2013). Salida: PAST..... 71

12 Lista de especies bacterianas ubicadas taxonómicamente por Familia, Género o Especie y abundancia relativa bacteriana por sustrato (Tejido y Agua)..... 74

13 Lista de especies y número de ejemplares de peces colectados por estación de muestreo en el río Yaracuy ubicados taxonómicamente por Orden, Familia y Especie..... 82

RESUMEN

El crecimiento poblacional e incremento de la actividad turística, industrial y agrícola a los márgenes del río Yaracuy, Estado Yaracuy, Venezuela; pudieran afectar directamente la calidad del agua y la biota bacteriana que normalmente se asocia al tejido intestinal de peces, ya que las aguas servidas cargadas de materia orgánica y bacterias patógenas son vertidas directamente al cuerpo de agua. El propósito de esta investigación fue caracterizar la comunidad bacteriana asociada al agua y al tejido intestinal de peces de la cuenca media y baja del río Yaracuy. Se utilizaron muestras de agua y peces de la parte alta del río (Estación Guáquira), donde se supone, la contaminación, aún no está presente y muestras de agua y de peces de la desembocadura del río (Estación Desembocadura), donde existe una perturbación por aguas servidas. El agua fue colectada, por triplicado, en las dos (2) estaciones de muestreo, en envases estériles de 500 ml y se analizaron inicialmente empleando el método de filtración por membrana (APHA,1995). Los peces fueron capturados, utilizando red de arrastre y se procesaron seis (6) especies en cada campaña de muestreo por estación, tres (3) ejemplares por especie. Se les extrajeron los intestinos y se preparó un macerado por individuo, en solución salina 0,85 % y se activó en Caldo Tripticasa de Soya para ser sometido a pruebas bioquímicas tradicionales en el laboratorio (APHA,1995). El resultado indicó que la microbiota bacteriana, está constituida por 97% de bacilos Gram negativos de la Familia Enterobacteriaceae y las especies con mayor presencia fueron: *Citrobacter* sp. (27% en tejido intestinal de peces y 29% en agua), *Serratia marcescens* (26% en tejido y 18% en agua) y *Proteus* sp. (12% en tejido y 10% en agua). Al aplicar el Índice de Similaridad Bray-Curtis, se determinó que existe una correlación lineal entre la composición y abundancia bacteriana del agua del río en cada estación de muestreo con la composición y abundancia bacteriana de los intestinos de los peces silvestres estudiados en la cuenca del río Yaracuy.

Palabras Clave: biota bacteriana en peces, calidad del agua, río Yaracuy.

ABSTRACT

The population growth and increased tourism, industrial and agricultural activity to margins of Yaracuy river, Yaracuy State, Venezuela; could be directly affect water quality and bacterial biota normally associated with the intestinal tissue of fish as wastewater loaded with organic matter and pathogenic bacteria are discharged directly into the water body. The purpose of this research was to characterize the bacterial community associated with water and intestinal tissue of fish from the middle and lower basins of the Yaracuy River. Water and fish samples were used from the upper river (Guáquira Station), where it is assumed, pollution, is not yet present and samples of water and fish from the river mouth (Mouth Station), where there is a disturbance by wastewater. The water was collected in triplicate on two (2) sampling stations in sterile containers of 500 ml and analyzed initially using the method membrane filtration (APHA, 1995). The fish were caught using trawl and six (6) species in each sampling campaign season, three (3) replicates per species were processed. Intestines were removed and prepared by individual macerated in 0.85% saline solution and activated in Trypticase Soy Broth to be subjected to traditional biochemical tests in the laboratory (APHA, 1995). The result indicated that the bacterial microbiota is made up of 97% of Gram negative bacteria of the Enterobacteriaceae family and species with greater presence were: *Citrobacter* sp. (27% in intestinal tissue of fish and 29% in water), *Serratia marcescens* (26% in tissue and 18% water) and *Proteus* sp. (12% in tissue and 10% water). In applying the similarity index Bray-Curtis, it was determined that there is a linear correlation between the composition and bacterial abundance of river water at each sampling station with the bacterial composition and abundance of wild fish intestines studied by Yaracuy river basin.

Keywords: bacterial biota in fish, water quality, Yaracuy river

1. INTRODUCCIÓN

Hay muchas evidencias que permiten concluir que la civilización humana nació a la orilla de un río y muchos elementos que además señalan que por miles de años esta relación fue relativamente beneficiosa, sin embargo, en los últimos 50 años, los seres humanos, hemos alterado los ecosistemas tan rápida y extensivamente como en ningún otro periodo de la historia (Milenium Ecosystem Assessment (MA, 2005). Los ríos, han representado el ecosistema de agua dulce más empleado, por las civilizaciones humanas a través del tiempo para el logro de su supervivencia (Convention on Biological Diversity (CBD, 2005).

Los principales ríos del mundo se encuentran en una situación tan precaria, que los ecosistemas asociados a ellos están muriendo. La protección insuficiente y la mala planificación en la explotación de los cuerpos de agua dulce deja al descubierto la posibilidad inminente de una crisis global por la escases del vital líquido (Word Wide Fund for Nature (WWF, 2006). El acelerado crecimiento de la población y el desarrollo económico e industrial, ha permitido una transformación sin precedentes de los ecosistemas de agua dulce y este fenómeno ha generado una pérdida importante de la biodiversidad. En la actualidad, el 41% de la población mundial aun vive en los márgenes de un río cuyas aguas están sometidas a algún tipo de perturbación o estrés de origen antrópico (CBD, 2005). La amenaza sobre los ecosistemas de agua dulce es inmensa. Más del 20% de las especies asociadas a estos ecosistemas se han extinguido y en las últimas décadas, otro porcentaje importante, ha sido ubicado en las listas de especies amenazadas o en peligro de extinción (CBD, 2005; MA, 2005; UNESCO, 2005; ONU, 2015a).

En Venezuela, la contaminación del agua dulce, particularmente en los ríos, está influenciada por elementos muy diversos que dependen fundamentalmente de su ubicación geográfica. En zonas urbanas, la contaminación se produce principalmente por la basura, vertidos de aguas servidas y desechos industriales, mientras que en zonas rurales, se debe fundamentalmente al uso de productos químicos provenientes de la actividad agropecuaria: plaguicidas, fungicidas, herbicidas y fertilizantes. La población de Venezuela se ha concentrado casi exclusivamente en sus costas y a lo largo de los principales cursos de agua (Camemolla *et al*. 1990).

El Estado Venezolano, consciente de los graves problemas ambientales que tiene lugar en sus cuencas hidrográficas, como consecuencia de la contaminación y otras actividades humanas, ha dirigido desde hace cinco décadas, programas de conservación de suelos y manejo de cuencas. A partir de la década de los 70, se comienza a observar en el país un marcado interés, tanto del Estado como de la sociedad civil, por lograr un desarrollo sustentable y una eficaz protección de los ecosistemas naturales (Montesinos, 1993).

Como la mayoría de los ríos del mundo que cruzan centros poblados, el río Yaracuy, objeto de la presente investigación, se ha visto afectado por las diferentes actividades antropogénicas que se llevan a cabo en sus cercanías: actividades turístico-recreacionales, desarrollos urbanos e industriales, complejos agropecuarios y grandes extensiones de territorio empleados para la agricultura. Es ineludible considerar la posibilidad de degradación del ambiente acuático y de todos los elementos de flora y fauna asociados a dicho ambiente. En los márgenes del río Yaracuy se desarrollan importantes centros poblados entre los que destaca, la capital del estado Yaracuy, San Felipe.

En el río Yaracuy, la actividad humana se extiende prácticamente en todas las planicies, pero también en las vertientes de la sierra de Aroa y el macizo de Nirgua. El efecto del gran aporte de sedimentos desde las cuencas altas a colmatado y convertido en intermitentes varios cauces, como el del río Urachiche. La presencia de represas, de residuos y efluentes urbanos provenientes de la capital, así como de los pueblos cercanos, industrias y sistemas agropecuarios han sido devastadores para el cauce principal del río. Este hidrosistema ya está contaminado fuertemente desde su cuenca media. Las cabeceras de varios afluentes están sometidas a una tasa muy elevada de pérdida de suelo y muchas presentan obstrucciones que impiden un flujo regular de sus aguas, lo cual repercute sobre las distintas formas de vida y el ecosistema en su totalidad (Rodríguez y Taphorn, 2007).

En consecuencia, el propósito de esta investigación fue contribuir al conocimiento de las comunidades bacterianas asociadas al tejido intestinal de peces silvestres de la cuenca del río Yaracuy, en condiciones de poca perturbación antropogénica, zona media del río (Hacienda La Guáquira) y en condiciones perturbadas (La desembocadura), población Boca Yaracuy.

1.1 Antecedentes de los Estudios Bacterianos

Después de la Segunda Guerra mundial, sobre todo en la década de 1960, la explosión sin precedentes del crecimiento económico, tecnológico y demográfico causó alarma debido al deterioro ambiental y al agotamiento rápido de los recursos naturales no renovables. Esta situación permitió que en el mundo científico surgiera un nuevo enfoque, una visión global sobre la calidad ambiental que reconocía, entre muchos aspectos, el aporte de los microorganismos bacterianos en el mantenimiento del equilibrio ecológico (Atlas y Bartha, 2002).

En 1970, finalmente se acepta la importancia del papel que juegan los microorganismos en la naturaleza y se reconoce formalmente el nacimiento de una nueva disciplina bautizada como "ecología microbiana". Poco después, en el año 1972 en Suecia, se realiza el primer Simposio Internacional sobre Métodos Modernos en Ecología Microbiana lo cual representó un hito para el desarrollo de esta disciplina. A éste, le siguieron simposios regulares sobre ecología microbiana y la publicación anual de Advances in Microbial Ecology a partir de 1977 (Ryan y Ray, 2010). Fue Robert Koch, en 1881, quien desarrolla las técnicas de cultivos bacterianos en medios sólidos, lo que representó un aporte decisivo al progreso de la microbiología y cuyos procedimientos persisten en la actualidad prácticamente sin modificar (Jawetz *et al.* 2011; Geo *et al*. 2011).

En la actualidad, los estudios bacteriológicos han permitido conocer la existencia de bacterias asociadas a ecosistemas determinados, a organismos particulares como animales, plantas e incluso a la especie humana. Los resultados de estas asociaciones hospedador-huésped pueden ser muy diversos y suelen ir desde el comensalismo, pasando por la simbiosis hasta el antagonismo y en este último caso, dando lugar a las enfermedades infecciosas que son muy numerosas y se presentan con gran frecuencia (Jawetz *et al.* 2011). Además, han surgido aplicaciones importantes de las bacterias, como la biorremediación, empleando la plasticidad del metabolismo microbiano en la eliminación de contaminantes o para mejorar la fertilidad del suelo y para proteger las cosechas contra plagas. Las últimas décadas del siglo XX quedaron marcadas por un gran interés, en los aspectos básicos y aplicados de la ecología microbiana (Ryan y Ray, 2010).

1.2 Generalidades Biológicas de las Bacterias

Las bacterias, han colonizado prácticamente todos los ambientes del planeta Tierra y a través del tiempo, han hecho sentir su influencia, positiva o negativa, en los seres humanos, en el ambiente y sobre el resto de los seres vivos. Sin embargo, es importante resaltar que sin ellas, la vida sobre el planeta, tal y como la conocemos, no sería posible (Ryan y Ray, 2010).

Las bacterias son definidas como microorganismos procariotas, unicelulares, microscópicos, carentes de membrana nuclear, mitocondrias, aparato de Golgi y retículo endoplasmático. Se reproducen asexualmente por división binaria. Presentan una pared celular compleja, y existen dos formas básicas: las bacterias de pared celular con una gruesa capa de peptidoglucano (grampositivas) y las bacterias con una delgada capa de peptidoglucano y con membrana externa (gramnegativas) (Murray *et al*, 2006). Existe un amplio grupo de vida libre e independiente, que se hallan en el suelo, en el aire y en los cuerpos de aguas naturales. La mayoría interviene en los procesos de transformación de la materia orgánica en mineral; algunas se encuentran en las raíces de las plantas y tienen una acción decisiva en el crecimiento de los vegetales; otras desarrollan procesos de fermentación sobre una gran variedad de sustratos naturales y artificiales, dando lugar a productos de interés industrial (Jawetz *et al.* 2011).

Woese y colaboradores, entre 1981 y 1990, fueron los primeros en realizar estudios moleculares comparativos para analizar la sistemática filogenética de los organismos unicelulares. A partir de estos estudios, se establecieron relaciones entre diversos microorganismos y se presentan en dendrogramas de carácter universal. Apoyándose en las secuencias de ARN ribosomal, descubrieron que el reino *Prokaryotae* incluía dos grupos filogenéticos distintos: *Archaea*, que comtemplaba grupos bacterianos que se desarrollan en nichos ecológicos con condiciones de vida extremas y que incluían microorganismos que producen metano (metanógenos o metanogénicos) y ciertos metabolizadores de azufre que pueden crecer en ambientes muy ácidos y calientes (termófilos extremos) y otros que viven en ambientes salinos (bacterias halotolerantes o halófilas) y *Bacteria*, que son las formas más habituales y que se encuentran en casi cualquier nicho ecológico (Montoya, 2008).

Las bacterias se clasifican en grupos atendiendo a las características fenotípicas y a los resultados que ofrecen las pruebas bioquímicas y genotípicas. Según Murray *et al.* (2006), las morfologías microscópicas y macroscópicas de las bacterias fueron las primeras características utilizadas para identificarlas y aún constituyen unos elementos fundamentales en la mayoría de los algoritmos de identificación utilizados actualmente. Por ejemplo, las bacterias se pueden clasificar según su capacidad de retención de la tintura de Gram (bacterias grampositivas y gramnegativas) y por la forma de cada célula (cocos, bacilos, espirilos). Además, por el aspecto macroscópico de las colonias (según la pigmentación, el tamaño, la forma y el olor de las colonias). Los métodos más frecuentes en la identificación bacteriana consisten en determinar la presencia o la ausencia de marcadores bioquímicos específicos (capacidad de fermentación de hidratos de carbono específicos o la utilización de diferentes compuestos como fuente de carbono; presencia de proteasas, lipasas o nucleasas específicas; o presencia de enzimas específicas). El empleo de ciertas pruebas bioquímicas permite identificar con un alto grado de precisión la mayoría de las especies o cepas significativas.

La importancia que ha adquirido el estudio microbiano ha permitido el desarrollo de técnicas cada vez más avanzadas para explorar la diversidad microbiana y conocer con mucha mayor profundidad la biología de las bacterias. Estas herramientas han aportado luz sobre la complicada manera en que este enorme grupo de seres vivos se organiza, desde el nivel ecológico hasta el molecular. Este progreso en los métodos que facilitan conocer la diversidad bacteriana cultivable y no cultivable y la observación *in situ* de sus comunidades, ha abierto nuevos horizontes en la ecología microbiana (Silva *et al*., 2005). La esencia de la microbiología la integran, por lo tanto, dos clases de operaciones: el aislamiento o separación de la especie bacteriana de las poblaciones mixtas que existen en la naturaleza; y el cultivo, que es la siembra y reproducción de poblaciones microbianas bajo condiciones de laboratorio (Jawetz *et al.* 2011).

Para poder realizar los recuentos microbianos de un cultivo, se deben efectuar las diluciones decimales seriadas, que de acuerdo con Pascual y Calderón (2000), tienen por objeto medir una porción representativa de la muestra original y la cifra obtenida se multiplica por nueve (9). El resultado representará el volumen en mililitros de diluyente que es necesario añadir para obtener la primera dilución 1:10. De esta forma se obtiene la serie de diluciones (10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, etc) (Figura 1).

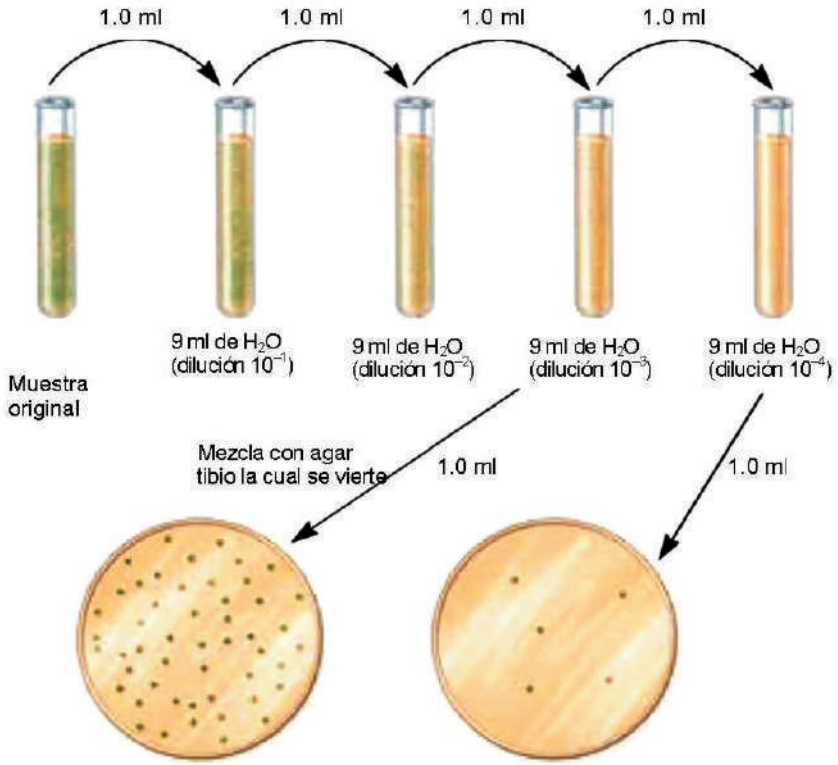


Figura 1. **Técnica de vertido en placa**. Tomado de Willey *et al*. (2008). Microbiology, 7th edition, McGraw-Hill).

1.3 Biota Bacteriana en cuerpos de Agua Natural

Los cuerpos de aguas naturales suelen clasificarse bajo un esquema de utilidad ecológica en oligotróficos o eutróficos, en función de la productividad y de la concentración de nutrientes. Los ecosistemas acuáticos oligotróficos poseen una baja concentración de nutrientes, generalmente presentan una gran profundidad y la productividad primaria es muy baja (Willey *et al*. 2009). Por el contrario, los ecosistemas eutróficos tienen una elevada concentración de nutrientes, generalmente son poco profundos, más cálidos y su productividad primaria es mayor. En las aguas eutróficas, la concentración de oxígeno presenta fluctuaciones marcadas debido a la intensa descomposición aeróbica de nutrientes orgánicos durante la noche. Las aguas eutróficas suelen presentar períodos de escasez de oxígeno que muchas especies de peces frecuentemente no toleran (Yayanos, 1995; Atlas y Bartha, 2002).

Es bien conocido que, la contaminación con fósforo y nitrógeno, contribuye significativamente con el problema de la eutrofización de la superficie del agua en lagos y ríos (Fisher y Reddy, 2001). También se conoce que buena parte del fósforo y nitrógeno que está ocasionando la formación de cuerpos de agua eutróficos provienen de la actividad agrícola que se realiza a los márgenes de ríos y lagos (Withers y Lord, 2002). Los efectos de este fenómeno han sido frecuentemente reportados, dentro de los que destacan: la mortandad de peces, la proliferación de algas y de plantas flotantes y el mal olor de las aguas; sin embargo, el mecanismos que gobierna este proceso de eutrofización es pobremente comprendido, particularmente en lo que respecta a la participación de los microorganismos como elementos clave en el funcionamiento del sistema agua-sedimento (Meyer y Koster, 2000).

De acuerdo con Zhang *et al*. (2017), se requiere explorar detalladamente las complejas interrelaciones que ocurren en los procesos bacterianos en el sistema agua-sedimento para comprender mejor el fenómeno de la eutrofización. La materia orgánica en un ecosistema acuático suele ser un factor limitante en algunos casos o favorecedor en otros, para el crecimiento de microorganismos. Los sustratos específicos a menudo estimulan el desarrollo de poblaciones con actividad catabólica determinada. Algunos microorganismos necesitan niveles relativamente elevados de materia orgánica, en tanto que otros sólo crecen a concentraciones bajas.

La mayoría de los ecosistemas naturales no tienen concentraciones elevadas de materia orgánica disponible. Es más, en muchos ecosistemas, como en el marino, los microorganismos viven en concentraciones muy bajas de nutrientes. Probablemente la mayoría de bacterias de vida libre estén sometidas a períodos de carencia. En ecología microbiana, la superación de estos periodos representa un hecho trascendental, constituye un mecanismo de preparación y puesta a prueba de las especies y permite la expresión del genoma tanto en los momentos de carencia, como cuando las condiciones ambientales vuelven a ser favorables (Jawetz *et al*. 2011). La distribución natural y proliferación de las bacterias copiotrofas (que viven en ambientes ricos), es un factor indicador de abundancia de nutrientes que favorece la supervivencia y a su vez, estimula la competencia. En cambio, las bacterias oligotrofas (que viven en ambientes pobres), poseen propiedades fisiológicas y anatómicas que les permiten usar eficazmente sus limitados recursos nutritivos (Atlas y Bartha, 2002).

Según Ryan y Ray (2010), las bacterias oligotrofas, para optimizar la absorción de nutrientes, presentan frecuentemente una forma esférica diminuta o de bacilo muy delgado, además, suelen desarrollar apéndices que aumentan la superficie de absorción. Sin embargo, las adaptaciones exitosas en condiciones de pobreza de nutrientes, resultan contraproducentes cuando las condiciones ambientales se invierten.

No solamente la materia orgánica es determinante en la vida de los organismos microbianos, también los compuestos inorgánicos pueden comportarse como nutrientes o como sustancias tóxicas (Jawetz *et al*. 2011). Generalmente, es necesario considerar la forma química de un compuesto inorgánico para incluirlo en la categoría de nutriente o inhibidor microbiano. Entre los compuestos inorgánicos de importancia para la ecología microbiana se encuentran los gases: oxígeno, dióxido de carbono, monóxido de carbono, hidrógeno, nitrógeno, óxido nitroso y el sulfuro de hidrógeno. También se deben considerar el azufre en forma elemental; los cationes de amonio, hierro ferroso, hierro férrico, magnesio, calcio, sodio, potasio, cobalto, cobre, manganeso, vanadio, níquel, zinc, mercurio, cadmio y plomo; y los aniones fosfato, carbonato, bicarbonato, borato, sulfuro, sulfato, nitrito, nitrato, cloruro, clorato, bromuro, fluoruro, silicato, molibdato y arseniato (Atlas y Bartha, 2002). Entre los iones inorgánicos, los metales pesados merecen especial atención debido a que cuando se presentan en grandes cantidades suelen funcionar como nutrientes y se comportan como potentes inhibidores para los microorganismos a concentraciones relativamente bajas (Ryan y Ray, 2010).

De acuerdo con Jawetz *et al*. (2011), las bacterias que obtienen energía a partir de compuestos inorgánicos usan típicamente la forma más oxidada del carbono, el CO_2, como principal fuente de carbono. La conversión del CO_2 en constituyentes orgánicos es un proceso de reducción que requiere un aporte neto de energía. Por tanto, en estos procesos fisiológicos, una parte considerable de la energía, derivada de la oxidación de compuestos inorgánicos, debe gastarse en la reducción del CO_2 hasta el nivel de materia orgánica. Todos las demás bacterias obtienen el carbono a partir de nutrientes orgánicos que siguen las rutas del metabolismo que proporciona energía y posteriormente es excretado de la célula de nuevo al sustrato como CO_2 o como una mezcla de CO_2 y productos orgánicos. Así pues, los sustratos orgánicos tienen usualmente un doble papel nutritivo: sirven de fuente de carbono y de fuente de energía.

Al estudiar los microorganismos en ecosistemas de agua dulce, se hace una conveniente distinción, de acuerdo a las propiedades físicas, que consiste en separar a los ambientes de aguas tranquilas, como lagos y estanques (hábitats lénticos) de los ambientes de aguas corrientes, como los ríos, (hábitats lóticos). En condiciones de calma, los microorganismos forman una película en la superficie del agua (El neuston) favorable a los fotoautótrofos, debido a que estos productores primarios tienen acceso ilimitado al dióxido de carbono atmosférico y a la radiación solar. Esta película genera la acumulación de algunos nutrientes minerales y de algunos metales que favorecen también la proliferación de productores secundarios que utilizan compuestos orgánicos. Estos compuestos se almacenan debido a la tensión superficial generada por la película y a la elevada concentración de oxígeno atmosférico. Se ha determinado que, numéricamente, la microcapa superficial concentra de diez a cien veces más microorganismos que la columna de agua subyacente (Atlas y Bartha, 2002).

La microbiota autóctona característica de la microcapa o película superficial de aguas tranquilas comprende bacterias Gram positivas, Gram negativas, pigmentadas, sin pigmentos, móviles e inmóviles, bacilos y cocos, con formas pedunculadas y sin pedúnculo. Las cianobacterias son integrantes comunes del plancton y bentos, y por lo tanto, forman parte del grupo de microorganismos que realizan la producción primaria de los sistemas acuáticos (Jawetz *et al*. 2011). Llevan a cabo fotosíntesis y fijación de nitrógeno, son capaces de sobrevivir en situaciones desfavorables para otros microorganismos llegando a constituir grandes poblaciones (Rosas *et al*. 2004). Las bacterias quimiotrofas, también suelen formar parte de la película superficial, desempeñando un papel importante en los procesos de degradación de materia orgánica como protagonistas en los ciclos del nitrógeno, del azufre y del hierro en los lagos, rios y mares (Atlas y Bartha, 2002).

Por otro lado, en el ambiente marino, las condiciones son muy uniformes y se pueden identificar zonas cuyas características fisicoquímicas particulares son determinantes en el desarrollo de microorganismos específicos. La zona litoral, está sujeta a períodos alternos de inundación (cuando sube la marea) y sequedad (cuando baja la marea). Los microorganismos son relativamente abundantes, en la zona litoral, en los afloramientos y los estuarios; pero, su número desciende en la región pelágica (Miravet *et al*. 2001; Rosas *et al*. 2004; Jawetz *et al*. 2011).

El hábitat marino pelágico es un ambiente excepcional para muchas formas de vida porque carece por completo de plantas superiores; en consecuencia, toda la producción primaria está a cargo de bacterias y de algas microscópicas. El reciclado de nutrientes es muy lento y por lo general, los organismos que mueren en esta zona, descienden rápidamente a la zona béntica, quedando fuera del alcance de los microorganismos de la zona pelágica. Estos cadáveres arrastran consigo nutrientes esenciales, principalmente nitrógeno y fósforo, que se liberan en la oscuridad perenne de la profundidad oceánica (Yu *et al*. 1991; Rosas *et al*. 2004; Jawetz *et al*. 2011).

En su mayor parte, las bacterias marinas son Gran negativas y móviles. Por lo general son aerobias o anaerobias facultativas; se han encontrado relativamente pocas aerobias estrictas. También, en términos relativos, es alta la proporción de bacterias proteolíticas en comparación con los hábitats de agua dulce o del suelo. A menudo, *Pseudomonas* y *Vibrio* han resultado ser los géneros dominantes en los ambientes marinos (Pier y Ramphal, 2010). Las bacterias del género *Vibrio* se caracterizan por ser miembros autóctonos de la biota de los mares y estuarios, constituyendo desde 0,1 al 60% del total de las bacterias heterotróficas. Muchas especies de este género son patógenas para el ser humano como *V. cholerae* (Graü *et al*. 2004; Fontánez, 2005). También están involucradas en afecciones de organismos marinos y se asocian al deterioro de las aguas (Rosas *et al*. 2004).

Al parecer *V. cholerae* puede establecerse en aguas costeras y de estuarios, condicionando a todos los organismos marinos que sirven como alimento al ser humano como vehículos primarios de transmisión del cólera (Seas y Gotuzzo, 2010). La bacteria *E. coli* tiene un tiempo de supervivencia en agua marina de aproximadamente 0,8 días, mientras que los enterococos, alcanzan los 2,4 días (Rozen, 2001). También, *E. coli* se degrada más rápidamente con el incremento en la intensidad de la luz solar que los enterococococos (Noble *et al.* 2003).

Los ríos y ambientes marinos que están sujetos a procesos continuos de contaminación por aguas servidas, reciben constantemente una carga bacteriana ajena a su microbiota habitual y muchas de estas bacterias suelen adaptarse bien a la vida en estos ambientes. El grupo de bacterias coliformes, normalmente asociado a procesos de contaminación, se ha utilizado frecuentemente, a nivel mundial, como indicadores de calidad del agua de mares, ríos y lagos (Austin y Austin, 2007).

1.4 Biota Bacteriana en Tejido de Peces

La microbiota intestinal de los peces está compuesta por un conjunto de bacterias aeróbicas, anaeróbicas facultativas y anaeróbicas estrictas que desempeñan una función determinante en la digestión y el control de enfermedades. La microbiota intestinal puede variar por cambios en diversos factores como la calidad del agua, la dieta y la edad (Bacanu, 2013). Los ambientes acuáticos naturales contienen habitualmente altas concentraciones de organismos patógenos, por lo tanto, los peces viven en íntimo contacto con elevadas cantidades de bacterias, virus y parásitos. La penetración y fijación bacteriana en diferentes tejidos y órganos de peces, tales como; tubo digestivo, branquias, músculos, riñones e hígado; han sido reportados en ambientes acuáticos contaminados (Tort, 2004). A pesar de ello, en condiciones normales, los peces mantienen un buen estado de salud defendiéndose de bacterias y otros invasores potenciales mediante una compleja red de mecanismos de defensa (Bacanu, 2013).

La concentración bacteriana en los diferentes órganos y tejidos de los peces se incrementa en la medida que aumenta la cantidad de bacterias en el agua. También se conoce que la composición de la biota intestinal de los peces está relacionada directamente con el grado de contaminación bacteriana de los alimentos que ellos ingieren (Austin y Austin, 2007; Hernández *et al*. 2009)). Además, la concentración bacteriana en los diferentes tejidos y órganos de los peces varía considerablemente de una especie a otra y hay evidencias que otros factores, como la temperatura y el pH, también favorecen la supervivencia bacteriana e incluso estimulan su multiplicación (Guzmán *et al*. 2004; Marín *et al.* 2009).

Los peces tienen diferentes mecanismos para protegerse. El primer mecanismo lo constituye el tegumento, el cual está recubierto por una capa gruesa de moco con sustancias antibióticas que dificultan el ataque y crecimiento de microorganismos. Como segundo mecanismo de defensa, la piel, las branquias y el sistema digestivo cuentan con los linfocitos, granulocitos y los macrófagos, los cuales atacan a los invasores microbianos. También, los órganos linfoides eliminan varios tipos de antígenos. En peces, el sistema inmune no específico o innato, es el que parece jugar el papel más importante en el control de la propagación de los agentes infecciosos (Douglas *et al.* 2003b; Tort, 2004).

En su conjunto, la respuesta inmune innata frente a patógenos esta iniciada, conducida y coordinada por receptores celulares capaces de reconocer patrones moleculares asociados a patógenos (Janeway y Medzhitov, 2002). El sistema inmune innato incluye tanto elementos de respuesta inespecíficos (barreras físicas, citoquinas y sistema de complemento e interferón principalmente) como específicos de antígeno (células T y B, moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad) (Plouffe *et al.* 2005).

Cuando los microorganismos patógenos sobreviven en los tejidos y órganos de los peces, pueden acumularse. Debido a la gran movilidad de los peces, éstos pudieran ser objeto de contaminación en su paso previo por aguas cargadas de contaminantes y trasladarse a otros lugares no contaminados con su carga de agentes patógenos acumulados su cuerpo (Guzmán *et al*. 2004).

Los peces que viven en aguas contaminadas suelen ser atacados por diferentes tipos de microorganismos patógenos. Estos microorganismos pueden romper finalmente las barreras inmunológicas del pez, afectando los diferentes órganos y favoreciendo la aparición de enfermedades e incluso generar su muerte (Jha, 2008). Los peces enfermos por contaminación, representan un riesgo para el resto de la biota presente en el cuerpo de agua y para la salud humana cuando son consumidos e incluso si son simplemente manipulados (Pulkkinen *et a*l. 2010).

Escherichia coli no es un habitante normal de la flora bacteriana de los peces (Abbott, 2007). Sin embargo, su presencia, pudiera revelar las condiciones microbiológicas del agua (Farmer *et al*. 2007; Donnenberg, 2009). *Clostridium botulinum* se encuentra presente en casi todas las especies de peces. Sin embargo, se encuentra corrientemente en muy pequeña proporción en los peces marinos pero, se ha observado que se encuentra en gran cantidad en las truchas cultivadas. Los propios peces suelen morir de botulismo cuando consumen otros peces muertos por la misma causa. Las epidemias de botulismo reportadas en salmones jóvenes están asociadas al canibalismo (Eklund *et al*. 1982b).

Clostridium perfrigens se ha aislado frecuentemente en peces pero, probablemente procedente de la polución fecal humana y animal. En ocasiones, se han aislado de peces (Palumbo *et al*. 1985a). En general, se han aislado en peces contaminados de polución fecal: *Yersinia, E. coli, Shigella* spp. (ICMSF, 1998).

Tanto en los peces pelágicos como de fondo se han aislado especies mesófilas de *Vibrio* (Abbott *et al.* 2007; Seas y Gotuzzo , 2010; Neill y Carpenter, 2010). Entre las especies de *Vibrio* potencialmente patógenas presentes naturalmente en los peces se encuentra el *Vibrio parahaemolyticus* como uno de los más frecuentes y el *Vibrio cholerae* que es una especie marina endógena y que ha sido asilada en brotes de cólera (Neill y Carpenter. 2010). Las especies mesófilas de *Vibrio* son las que con mayor frecuencia se aíslan de las aguas costeras de salinidad reducida. Por ejemplo, *V. vulnificus* se encuentra corrientemente en los peces de estuario, especialmente en los que se alimentan en el fondo, pero es menos frecuente en los peces capturados fuera de la costa (De Paola *et al*. 1994).

Los estudios sobre bacterias patógenas en peces se han concentrado, por razones eminentemente comerciales, en los peces de cultivo, (acuicultura), donde los brotes infecciosos son más evidentes, surgen bruscamente y su progreso es rápido, causando una gran mortalidad. Desafortunadamente, el origen de las infecciones bacterianas en los peces silvestres de cuerpos de aguas naturales es con frecuencia, inapropiadamente comprendido. Más aún, al parecer es poco lo que puede hacerse por ahora en su solución, excepto probablemente, por el control de la contaminación de ríos y mares, asumiendo que cuando la calidad del ambiente se deteriora, esto influye directamente en los ciclos infecciosos; en contraste, un gran esfuerzo se ha hecho para el control de las enfermedades de los peces cultivados (Austin y Austin., 2007). La protección de las poblaciones de peces cultivados frente a las enfermedades causadas por bacterias, es uno de los retos más importantes que tiene aún por resolver la industria de la acuicultura mundial (Falcó, 2008).

1.5 Importancia de la microbiota bacteriana en la digestión de los peces

Es difícil encontrar trabajos previos sobre la función de la microbiota digestiva y su aporte en el proceso de degradación de los alimentos en el tracto gastrointestinal de los peces. Aun así, los escasos estudios realizados en este tema ayudan a dilucidar la importancia que las exoenzimas digestivas aportadas por la microbiota residente del tracto digestivo tienen en el proceso de asimilación de nutrientes en los peces (Wittwer, 2012).

Es conocido que para los vertebrados, incluyendo a los seres humanos, los microorganismos habitantes del tracto digestivo intervienen considerablemente en el proceso de digestión y que el balance o desbalance de los mismos, repercute sobre el estado de salud del hospedador (Jawetz *et al*. 2011).

En los peces, la microflora intestinal no existe como una entidad absoluta sino que resulta de una interacción constante entre el ambiente exterior e interior del pez, de tal forma que los peces hospederos y los microorganismos comparten un mismo ecosistema y estos últimos tienen la opción de vivir en asociación o bien de manera independiente. Tanto los peces en ambientes naturales como los que se desarrollan en sistemas de cultivo, aun cuando estos últimos viven bajo condiciones controladas para promover su crecimiento y desarrollo, el sistema gastrointestinal se encuentran frecuentemente afectado por microorganismos que pueden comportarse como benignos o patógenos (Verschuerer *et al.* 2000; Al- Harbi y Uddin, 2005).

Estudios realizados en peces indican que la microbiota digestiva varía según cambios adaptativos y según variaciones de la composición bioquímica de la dieta. Al respecto se ha determinado experimentalmente que la microbiota entérica sintetiza proteasas extracelulares capaces de tener una participación simbiótica en la digestión e hidrólisis de proteínas (Sukanta, 2010). La microbiota gastrointestinal influye de manera directa sobre la nutrición y la salud de los animales en general y de los peces, en particular. Por esta razón, al alterarla, se afecta el estatus fisiológico de los organismos incluyendo la inmunidad y el crecimiento general (Al- Harbi y Uddin, 2005).

En el intestino de los peces, la microbiota endosimbiótica opera bajo vías fermentativas, reduciendo glucosa (y otros monómeros) a productos llamados ácidos grasos de cadena corta (ejemplo, acetato) que son absorbidos por el animal anfitrión y son usados para generar ATP (Karasov y Martínez del Rio, 2007). La presencia de bacterias endosimbióticas en el tracto intestinal puede jugar un papel transcendental en la nutrición del pez. En especies de xilófagos (animales que se alimentan de madera) como el pez gato, se observó que las bacterias simbióticas del tracto intestinal proveían enzimas xylasas con alta actividad, lo que le permitía al pez asimilar nutrientes provenientes de la madera con alto contenido de lignina, tarea que por si sólo el pez no podía realizar (Donovan y Bittong., 2009).

Estudios en rohu y murrell (peces teleósteos de agua dulce) determinaron que la

El tracto gastrointestinal de peces dulceacuícolas y marinos, se caracteriza por ser un nicho ecológico favorable para el desarrollo de una gran cantidad de microorganismos ya que la población de bacterias benéficas y patógenas observada en el intestino de estos organismos es normalmente más abundante comparada con la que se encuentra en el ambiente que los rodea. Sin embargo, los microorganismos del ambiente y sus variaciones estacionales, influyen de manera determinante en los géneros y las especies que se pueden encontrar en la microflora de los peces (Ringo *et al*. 2016).

El desarrollo de la microflora y la barrera gastrointestinal es un proceso gradual que comienza después del nacimiento. En los animales terrestres, la biota microbiana materna es la fuente inicial de colonización bacteriana, mientras que en los animales acuáticos, esta acción está determinada por su contacto con el ambiente circundante, e influida por la ingesta de alimento, la secreción de hormonas y la absorción de nutrientes, así como la aparición de proteínas y enzimas digestivas. Inicialmente, cepas anaerobias facultativas dominan en el intestino, posteriormente la variabilidad bacteriana depende del tipo de dieta, la edad, la ubicación geográfica y el estado general del organismo (Isolauri *et al*. 2001).

En este sentido, la microflora intestinal de los peces se considera como autóctona o nativa cuando los microorganismos son capaces de colonizar y permanecer en la superficie epitelial del intestino del hospedero, o en su defecto, alóctona o transitoria si los microorganismos presentes en el medio circundante no logran permanecer dentro del intestino. Actualmente se acepta que los peces tienen una microflora intestinal específica que se vuelve estable al llegar a la etapa adulta. En los peces de agua dulce los grupos dominantes presentes en el tracto gastrointestinal pertenecen a los géneros *Aeromonas, Pleisomonas, Enterobacteriaceae y Pseudomonas,* mientras que en los peces marinos la microflora intestinal está dominada por los géneros *Vibrio y Pseudomonas* (Ringo *et al*. 2016).

Durante toda la vida del animal, esta flora intestinal presenta funciones metabólicas, tróficas y protectoras. La función metabólica tiene como finalidad ayudar en los procesos de digestión y absorción de nutrientes para proporcionar energía al organismo, mientras que la función trófica fomenta el crecimiento y la diferenciación celular, además de estimular el sistema inmune del organismo. Su función protectora se desarrolla desde el nacimiento, ya que actúa como la primera línea de defensa contra

microorganismos patógenos exógenos u oportunistas, creando el efecto barrera. Además, la mucosa intestinal provee al huésped de protección en contra de la constante presencia de antígenos provenientes del alimento y de microorganismos presentes en el ambiente circundante (Isolauri *et al*. 2001).

Investigaciones han demostrado que la microbiota gastrointestinal de peces homeotermos (sangre caliente), posee numerosas e importantes funciones en la digestión y desarrollo de la mucosa gástrica, angiogénesis y en el desarrollo de una barrera protectora contra las enfermedades (Verschuere *et al*. 2000).

Estudios realizados en peces indican que la microbiota digestiva varía según cambios ambientales y según variaciones de la composición bioquímica de la dieta. Al respecto se ha determinado experimentalmente que la microbiota entérica sintetiza proteasas extracelulares capaces de tener una participación simbiotica en la digestión e hidrólisis de proteínas. La presencia de bacterias endosimbióticas en el intestino de un pez puede jugar un papel transcendental en su nutrición. En especies de xilófagos (peces que se alimentan de madera) como el pez gato, se observó que las bacterias simbióticas del tracto intestinal proveían enzimas xylasas, permitiendo al pez asimilar nutrientes provenientes de la madera con alto contenido de lignina, tarea que por sí sola, el pez no podría realizar ya que su intestino no produce la enzima (Donovan y Bittong., 2009).

Muchas enterobacterias viven en simbiosis dentro del tracto intestinal de los peces, sin embargo, las bacterias patógenas se pueden introducir en los estanques de acuicultura y en los ambientes naturales mediante el estiércol de animales de corral (aves inclusive) o proveniente de los desechos humanos vertidos en aguas residuales (Navarrete *et al*. 2009). También se puede encontrar un número significativo de enterobacterias en peces que frecuentemente provienen de sistemas alimentados con aguas residuales, cargadas de materia orgánica y fecal, por consiguiente, estos peces normalmente representan un riesgo para la salud ambiental y humana (Guzmán *et al*. 2004).

El intestino en peces es típicamente microaerofílico y la microbiota endosimbiótica opera bajo vías fermentativas, reduciendo glucosa (y otros monómeros) a productos llamados ácidos grasos de cadena corta (ejemplo, acetato) que son absorbidos por el animal anfitrión y son usados para generar ATP (Karasov y Martínez del Rio, 2007).

Estudios en peces "rohu" y "murrell" (peces teleósteos de agua dulce) determinaron que la actividad proteolítica de las bacterias presentes en el intestino era mayor que la actividad de estas enzimas en el tejido intestinal, lo cual indicaba que la presencia de estas bacterias mejoraba la asimilación de alimentos (Kar y Ghosh, 2008). Estudios metabólicos señalan que el aumento en enzimas proteolíticas como tripsina y quimiotripsina, inducen una mejor asimilación de proteínas por parte del pez, produciendo además un aumento en el crecimiento, estimulando el sistema inmune y el sistema endocrino (Rungruangsak-Torrissen *et al*. 2009).

Sklan *et al*. (2004) realizaron una investigación relacionada con la estructura y funcionamiento del intestino de la tilapia (*Oreochromis niloticus* y *O. aureus*). Ellos observaron que este pez, en su condición de omnívoro, presentaba un tracto gastrointestinal diferente al que se observa en peces carnívoros o herbívoros. Su intestino era similar al de los mamíferos, tanto en estructura como en funcionamiento, y que debido a esta condición se encontraba más desarrollado en la región proximal, donde se realizan la mayoría de las actividades enzimáticas y de absorción. Sin embargo, al comparar la morfología intestinal con la de los humanos, se observó que este organismo presentaba una capacidad de absorción menos desarrollada, pero, con una mayor capacidad de secreción de mucosidades.

Un informe mostró que la microbiota en peces puede regular la expresión de 212 genes en el tracto digestivo del pez "cebra", algunos de ellos relacionados con estimulación de la proliferación epitelial y la promoción del metabolismo de nutrientes y la respuesta inmune innata (Rawls *et al.* 2004). Con todos estos argumentos es válido considerar a la microbiología del tracto intestinal como una variable significativa que puede afectar la capacidad digestiva del pez para metabolizar sustratos específicos del alimento. Adicionalmente se ha observado que las diferentes poblaciones bacterianas que forman parte de la microbiota intestinal, representan diferentes grupos metabólicos los cuales pueden dar cuenta de la capacidad digestiva del pez (Ringo *et al*. 2016).

La morfología del tracto gastrointestinal de los peces varía según las especies, hábitat, edad y dietas. Sin embargo, en general, es esencialmente un tubo muscular cilíndrico lineal, cubierto en su interior por una membrana mucosa que exhibe variación en sus estructuras, lo que le otorga las diferencias funcionales (Ringo *et al*. 2016).

Según Ringo *et al.* (2016), el tracto digestivo puede dividirse principalmente en tres importantes segmentos o tramos (en la mayoría de los peces) estos son: estómago, ciegos pilóricos, e intestino (Figura 2). El primer tramo, el estómago, posee un revestimiento celular distintivo formado por células que secretan ácido al lumen, este ácido es generalmente secretado en conjunto con algunas enzimas digestivas como la pepsina.

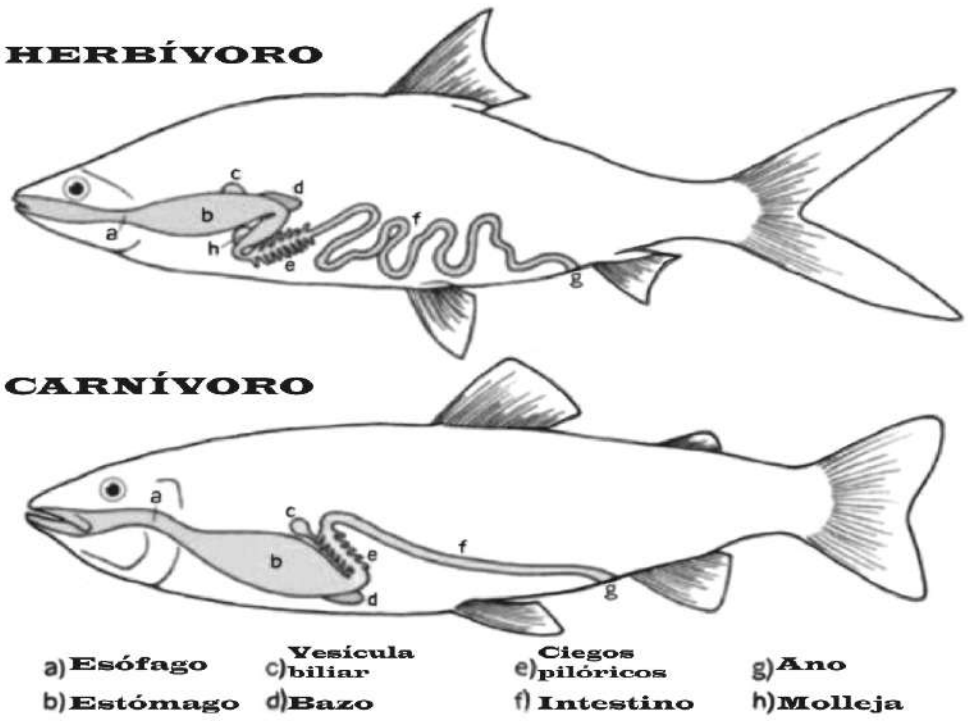


Figura 2. **Tracto digestivo general de los peces.** Tomado de: Salinas, (2011).

El pH de este órgano varía entre 3 y 4.5. Los ciegos pilóricos se extienden desde donde termina el estómago hasta donde comienza el intestino, su función es incrementar la superficie de absorción digestiva y presenta un pH de 7 (Ringo *et al*., 2016). El último segmento del tracto digestivo, el intestino, posee un pH de 7.4 y se caracteriza por ser un órgano complejo y multifuncional. En adición a su función, el intestino también cumple con el balance de electrolitos, regulación endocrina del metabolismo e inmunidad (Zhang *et al*. 2017)..

Estudios señalan que el intestino se divide a su vez en dos zonas: una zona proximal que limita con los ciegos pilóricos, donde se centra la hidrólisis de macromoléculas mediadas por enzimas líticas y la absorción de nutrientes de bajo peso molecular y una zona distal en la cual se señala como función principal la endocitosis de macromoléculas y proteínas intactas en teleósteos (Zhang *et al*. 2017).. En muchos casos, el estómago de los peces presenta una evidente correlación entre la forma del mismo y el tipo de alimento preferentemente consumido. En este sentido, algunos peces muestran una modificación parcial del estómago pilórico en molleja (tanto para masticación, como para procesos digestivos secretorios), como sucede en mugílidos (Mugilidae) y lachas (*Brevoortia* y *Dorosoma*), que presentan esta modificación estomacal como una adaptación a los hábitos alimentarios micrófagos (Moyle y Cech, 2000).

En los peces de hábitos preferentemente carnívoros, como lenguados y algunos esciaénidos depredadores, el intestino es corto (menos del 100% de la longitud total del pez). Esta particularidad se relaciona con el hecho de que resulta menos complejo digerir alimentos de origen animal, que aquellos constituidos por tejido vegetal (Elliott y Bellwood, 2003).

En los peces carnívoros ictiófagos, existe un estómago verdadero, el cual es típicamente alargado para albergar convenientemente las presas en su interior, como en los peje-lagartos (Lepisosteus), barracudas (Sphy-raena), algunos esciaénidos (Sciaenidae), pejes sapos (Batrachoididae) y los lenguados (Paralichthyidae) (Moyle y Cech, 2000; Elliott y Bellwood, 2003).

El estómago en peces carnívoros tiene como característica principal de su interior, un ambiente de pH bajo (ácido) y en sus jugos digestivos resalta la presencia principalmente de pepsina. En otros peces carnívoros se observa la pérdida del estómago, como es el caso del género *Scomberosox* y como sucede también en ciertos peces consumidores de pequeños crustáceos (Syngnathidae). Considerando lo anterior, el criterio primario a tomar en cuenta en estos peces sin estómago, no es el que sean carnívoros, sino es la presencia de órganos accesorios adaptados para la degradación de los alimentos a través de procesos de trituración y molienda de la presa, ya sea en forma de dientes o de bolsa musculosa constrictora (la molleja) (Castillo-Rivera y Zárate, 2002).

El número de ciegos pilóricos en una especie de pez, parece guardar relación tanto con el tipo de alimento ingerido (planta o animal), como con el tamaño del alimento. Las especies filtradoras micrófagas, como las del género Brevoortia, cuya dieta se basa principalmente en plancton, tienden a tener un número muy grande de ciegos pilóricos (más de 100), mientras que los depredadores carnívoros que consumen presas grandes, tienden a tener un número reducido de ellos, como es el caso de los esciaénidos (con número promedio entre 3 y 7) y lenguados (entre 3 y 4), llegando al extremo de la carencia de tales estructuras en depredadores como el peje-sapo (Batrachoididae) (Castillo-Rivera and Zárate, 2002).

El intestino se divide a su vez en dos zonas: una zona proximal que limita con los ciegos pilóricos, donde se centra la hidrólisis de macromoléculas mediadas por enzimas líticas y la absorción de nutrientes de bajo peso molecular y una zona distal en la cual se señala como función principal la endocitosis de macromoléculas y proteínas en teleósteos (Salinas, 2011). El intestino se encarga de la absorción de nutrientes, a través de sus paredes por vía de difusión o por vía de procesos mediados por proteínas transportadoras. El intestino también tiene muchas variaciones morfológicas y presenta adaptaciones al consumo de tipos particulares de alimento (Castillo-Rivera y Zárate, 2002).

En peces consumidores de plantas, el tejido epitelial del esófago se transforma directamente en el intestino. En otros peces que ramonean, como los peces loro (Scaridae)y que se alimentan de coral, también se puede encontrar la misma condición, mientras que en las especies omnívoras, el estómago tiene forma de saco y su función es almacenar temporalmente los alimentos permitiendo su degradación lenta y progresiva, tal y como también en el aparato digestivo humano (Ringo *et al*. 2016).

Algunos peces poseen ciegos pilóricos, los cuales son bolsas ciegas de tejido con capacidad secretoria localizadas cerca de la región pilórica, en la conjunción del estómago con el intestino. En los peces herbívoros y micrófagos, el intestino tiende a ser muy largo con varios dobleces, como lo presentan los clupeidos del género *Brevoortia*, con longitudes intestinales entre el 300 % y 400 % de la longitud total del pez, con el objeto de procesar y degradar los complejos elementos componentes del tejido vegetal, fundamentalmente, los carbohidratos complejos como la celulosa (Castillo-Rivera y Zárate, 2002).

1.6 Factores que Afectan la Biota Bacteriana en Agua y en Organismos Acuáticos.

La Temperatura es fundamental para la abundancia de los organismos bacterianos en el agua. Este es un factor ambiental importante, dentro de los que influyen en la composición de la microflora en los organismos acuáticos. Los peces y crustáceos de aguas frías (< 10-15°C) generalmente dan recuentos de 10^2-10^4 UFC/cm^2 en piel y en superficie branquial, mientras que los de aguas cálidas alcanzan las 10^3-10^6 UFC/cm^2. Las gambas tropicales presentan recuentos mayores (10^5-10^6 UFC/g) que las especies de aguas frías (10^2-10^4 UFC/g) (ICMSF, 1998).

Las poblaciones bacterianas típicas de los peces de aguas templadas (< 10°C) son fundamentalmente las bacterias psicrófílas. Mientras que los peces y otros organismos pelágicos, es decir, que viven en la superficie de los océanos tropicales presentan niveles más altos de bacterias mesófilas (> 20 °C). Cuando la temperatura superficial del agua aumenta por la prolongación de la estación cálida, las especies de peces pelágicos (por ej., caballa y arenque) pueden ver aumentada su carga bacteriana superficial mesófila (Jawetz *et al*, 2011).

Las bacterias de los peces de aguas templadas son predominantemente Gram negativas, mientras que en los peces de ambientes tropicales, aguas cálidas, predominan las bacterias Gram positivas y constituyen el 50-60% de su microbiota (ICMSF, 1998). En general, los peces capturados en países tropicales tienen normalmente recuentos bacterianos mucho más altos que aquellos capturadas en aguas templadas y la microbiota de los peces de aguas templadas es relativamente constante (Navarrete *et al*. 2009).

El *Vibrio* mesófilo se multiplica rápidamente a temperaturas de 20-40 °C. Esto se refleja en el gran número de microorganismos aislados en peces cuando la temperatura del agua alcanza los 30 °C (IOM, 1991). La especie *Vibrio parahaemolyticus* está muy difundida en aguas cuya temperatura supera los 15 °C. Al hacer el recuento de *Vibrio* en organismos acuáticos no sólo se debe tomar en cuenta la temperatura, sino también aquellos elementos que modifican la temperatura, como son: la hora del día, la profundidad a la que se toma la muestra y el oleaje (Abbott *et al*, 2007; Seas y Gotuzzo , 2010; Neill y Carpenter. 2010; Jawetz *et al*, 2011).

El pH, es un parámetro crítico en el crecimiento bacteriano ya que cada tipo de microorganismo tiene un intervalo de pH en el que puede vivir adecuadamente, fuera de este intervalo muere. El pH intracelular es ligeramente superior al del medio que rodea las células ya que, en muchos casos, la obtención de energía metabólica depende de la existencia de una diferencia en la concentración de protones a ambos lados de la membrana citoplasmática. El pH interno en la mayoría de los microorganismo se única dentro del intervalo de 6 a 8 (Jawetz *et al*, 2011).

Generalmente, los microorganismos no pueden tolerar valores extremos de pH. En condiciones muy alcalinas o ácidas, se hidrolizan algunos componentes microbianos o se desnaturalizan algunas enzimas. Sin embargo, hay bacterias acidófilas y alcalófilas que toleran, o incluso necesitan, condiciones extremas de pH para su crecimiento (Atlas y Bartha, 2002).

El desarrollo de una población bacteriana puede ser severamente afectado, positiva o negativamente, por los cambios químicos que se presentan en el ambiente, incluso por el crecimiento y metabolismo de los propios microorganismos. Por ejemplo, en un ambiente con alta concentración de glucosa, se estimulan los procesos de fermentación y los ácidos orgánicos que se producen como consecuencia de este proceso pueden reducir el pH ambiental y generar la inhibición del crecimiento poblacional. Por el contrario, la descomposición microbiana o la utilización de los compuestos nitrogenados de un ambiente, tiende a hacer a éste más alcalino. La descomposición de las proteínas y aminoácidos puede también tornar el ambiente en alcalino como resultado de la producción de amoníaco (Jawetz *et al*, 2011).

De acuerdo con Atlas y Bartha (2002), los valores extremos de pH desnaturalizan la mayoría de las proteínas de forma irreversible e influyen también en la disociación y en la solubilidad de muchas moléculas que, de manera indirecta, ejercen alguna influencia sobre los microorganismos. El pH determina, en parte, la solubilidad del CO_2, afectando la velocidad de fotosíntesis; la disponibilidad de los nutrientes necesarios, como amonio y fosfato, que limitan el crecimiento microbiano en muchos ecosistemas y la movilidad de los metales pesados como el cobre, que son tóxicos para las bacterias.

Una característica común de los microorganismos que toleran, o incluso necesitan, un pH extremo para su crecimiento es que su citoplasma se mantiene próximo a valores neutros. La pared y la membrana celular de dichos organismos requieren adaptarse para

mantener la integridad a esos valores extremos de pH. Un pH citoplasmático neutro garantiza la síntesis quimiosmótica de ATP. Sin embargo, las adaptaciones estructurales y bioquímicas exactas siguen sin ser suficientemente conocidas hasta ahora (Atlas y Bartha, 2002).

Algunas bacterias acidotolerantes y acidófilas crean su propio ambiente de bajo pH produciendo ácidos (Ingledew, 1990). Por el contrario, otro grupo de bacterias toleran pH alcalino hasta 9, pero, su pH óptimo está cercano al valor neutro. Entre auténticas alcalófilas se encuentran algunas cepas de Bacillus como *B. alcalophilus* y *B. pasteurii* (Kroll, 1990). La bacteria *Clostridium paradoxum* tolera un pH máximo de10 y su pH óptimo se encuentra cercano a 9,3 (Cook *et al*. 1996). Un pH elevado, en un ecosistema acuático, propicia un aumento de CO_2 en las formas de HCO_3^- y CO_3^{-2}, lo que trae como consecuencia, una proliferación de los microorganismos de producción primaria o fotoautótotrofos (Atlas y Bartha, 2002).

Las bacterias del género *Vibrio*, crecen normalmente en ambientes de pH alcalino ,6-10), a pH menores de 6 su crecimiento se inhibe (Abbott, 2007; Seas y Gotuzzo , 2010; Neill y Carpenter. 2010). Cuando el pH cae por debajo de 6, se han observado disminuciones en los recuentos de *Aeromona hydrophila* en ostras. Sin embargo, no sería sensato, basándose en una evidencia débil, suponer que un descenso del pH destruye los agentes bacterianos patógenos (Jha, 2008).

Las bacterias acidófilas, crecen en un pH óptimo alrededor de 2. En el otro extremo, crecen las bacterias alcalófilas y algunas poblaciones de arqueas se desarrollan considerablemente a pH superiores a 8,5. Por otro lado, el pH también es un factor determinante en la toxicidad que pudieran ejercer ciertos metales pesados sobre los microorganismos. Se tiene por regla que un pH bajo (ácido), contribuye a la movilización de los metales pesados y en consecuencia, a un aumento en su toxicidad; mientras que a un pH alto (básico), favorece la precipitación y reduce la toxicidad (Atlas y Bartha, 2002).

La Salinidad, con frecuencia, genera opiniones incorrectas en relación a que la microflora de los peces y de los mariscos marinos es predominantemente halófila; más específicamente, halófilos obligados. Pero, en realidad, la mayoría de los microorganismos son predominantemente halotolerantes, es decir, capaces de crecer en un amplio intervalo de concentraciones de cloruro sódico de 2 al 3 % (ICMSF, 1998).

Las concentraciones elevadas de sal transforman al ambiente acuático marino en hipertónico lo que trae como consecuencia la alteración de la presión osmótica y posterior deshidratación de los microorganismos no halotolerantes. Además, una elevada concentración salina suele desnaturalizar las proteínas; es decir, se altera su estructura terciaria, que es esencial para la actividad enzimática (Atlas y Bartha, 2002).

Los microbiólogos marinos definen a las bacterias marinas como aquellas que necesitan, para su crecimiento, un 3 % de NaCl. Las verdaderas bacterias marinas parece que requieren el sodio para todos los sistemas de transporte de membrana, mientras que, por lo que se sabe hasta ahora, el transporte dependiente de sodio, en las bacterias no marinas, sólo ocurre en el caso de metabolitos específicos y no esenciales (Farmer *et al*. 2007; Donnenberg, 2009).

Las microorganismos halotolerantes y halófilos suelen desarrollar mecanismos que les permiten excluir, de sus células, las altas y relativamente tóxicas concentraciones de iones de sodio que, por lo general, predominan en sus ambientes, Así, por ejemplo, *Halobacterium*, halófila estricta, consigue su equilibrio osmótico mediante concentraciones elevadas de cloruro potásico (Jawetz *et al*,.2011).

Muy pocos microorganismos pueden crecer en aguas de extrema salinidad y la biota de estos ambientes, como los lagos salados, suele restringirse a unas pocas especies de algas y bacterias halófilas. Los peces de agua salada muestran los mismos tipos de bacterias que los de agua dulce, salvo por *Vibrio*, que predomina en especies marinas y *Aeromonas*, en especies dulceacuícolas. Estos géneros se alternan en los peces anádromos. Los géneros *Psychrobacter*, *Acinetobacter*, *Corynebacterium* y *Micrococcus* predominan en los crustáceos y en una menor proporción se observa el género *Pseudomonas*. La microflora de los moluscos es muy similar a la de los peces pero, el género predominante es *Vibrio* sp., sobre todo en las ostras (Steinberg y Burd, 2010).

En los moluscos se encuentran en números significativos *Bacillus* y *Micrococcus*. Puesto que los moluscos viven generalmente en ambientes costeros, su microflora refleja las influencias terrestres, formando parte de la misma Enterobacteriaceae y Streptococcaceae. Algunas gambas extraídas de aguas poco salinas han presentado *Listeria monocytogenus* (Abbott, 2007; Seas y Gotuzzo, 2010; Neill y Carpenter, 2010; Jawetz *et al.* 2011).

El oxígeno se presenta en diversas formas en la naturaleza y con distintos grados de toxicidad sobre los microorganismos. Los microorganismos han desarrollado diversas enzimas que los protegen contra las formas tóxicas del oxígeno. La acción directa del O_2 no es letal para algunos anaerobios estrictos, pero impide su desarrollo, lo cual se atribuye a la producción y falta de eliminación eficaz de los aniones peróxido. Los aniones peróxido, como el peróxido de hidrógeno, también son tóxicos para los microorganismos (Jha, 2008).

El efecto del oxígeno, en la multiplicación de las bacterias es variable, pues en algunos casos, su presencia inhibe su crecimiento. En ocasiones, algunos grupos bacterianos pueden ser tolerantes a su presencia o bien precisar pequeñas cantidades de aire, mientras que en otro extremo se ubican aquellas bacterias que sólo pueden desarrollarse en presencia de aire (Hidalgo, 2003).

En consecuencia, las bacterias suelen clasificarse según sus requerimientos de oxígeno en: aerobias estrictas, aerobias facultativas, microaerofílicas y anaerobias. Las aerobias estrictas, requieren oxígeno como aceptor final de electrones en la cadena respiratoria y por lo tanto, no crecen en su ausencia. Las aerobias facultativas pueden crecer tanto en presencia como en ausencia de oxígeno, en este último caso, utilizan compuestos, entre ellos nitrato y azufre como aceptores finales de electrones. Las microaerofílicas, requieren una baja tensión de oxígeno y no toleran la concentración atmosférica de éste y aunque lo utilizan como aceptor final de electrones, no poseen la totalidad de los mecanismos de detoxificación para eliminar los derivados perjudiciales del oxígeno, o bien, algunas enzimas son activas solo cuando sus grupos sulfidrilos están casi completamente reducidos. Las bacterias anaerobias, no requieren del oxígeno para su metabolismo; además, presentan un grado de adversidad a este, que puede variar desde las muy suceptibles, las denominadas anaerobias estrictas, hasta las anaerobias aerotolerantes, que son menos suceptibles al oxígeno (Rodríguez, 2005).

Todas las bacterias contienen algunas enzimas capaces de reaccionar con oxígeno; la cantidad y variedad de esas enzimas determinan las relaciones fisiológicas del organismo con el oxígeno. Las oxidaciones de flavoproteínas conducen inevitablemente a la formación de un compuesto tóxico, el peróxido de hidrógeno, como producto principal. Estas oxidaciones, producen además pequeñas cantidades de un radical libre mucho más tóxico, el superóxido. En las aerobias y anaerobias

aerotolerantes, la enzima superóxidodismutasa, impide la acumulación potencialmente letal de superóxido, al catalizar su conversión en oxígeno y peróxido de hidrógeno. Además, casi todos estos organismos disponen de la enzima catalasa, que descompone el también tóxico, peróxido de hidrógeno, en oxígeno y agua (Jawetz *et al.* 2011).

Las bacterias que crecen sobre la piel y las branquias de los peces, son predominantemente aeróbias, pero, algunas bacterias aeróbias facultativas, especialmente *Vibrio*, también se han aislado en gran número en los peces pelágicos. Las bacterias anaeróbicas obligadas son poco frecuentes en la superficie del pez, pero, se presentan en gran número dentro del intestino (Abbott, 2007; Seas y Gotuzzo , 2010; Neill y Carpenter. 2010).

La contaminación es definida como la presencia o incorporación al ambiente de sustancias tóxicas o de cualquier agente químico, físico o biológico perjudicial para los seres vivos o para los ecosistemas. En consecuencia, la carga bacteriana de los organismos acuáticos también se modifica dependiendo de la contaminación, pero, ésta constituye un problema especial en el caso de los moluscos sésiles, como las ostras, los mejillones y almejas que se alimentan filtrando grandes volúmenes de agua. Se ha determinado, en moluscos que viven en aguas muy contaminadas, que el recuento bacteriano puede ser mayor 10^6 UFC/g, mientras que los que viven en aguas libres de contaminación el recuento no sobrepasa 10^3 UFC/g (ICMSF, 1998).

En el pasado, la fiebre tifoidea se produjo en Europa y Norteamérica como consecuencia del consumo de ostras crudas. Otras enfermedades vinculadas a las bacterias de los efluentes como la salmonelosis y la shigelosis no son tan comunes en algunos países industrializados debido al empleo de mejores métodos de eliminación y tratamiento de los efluentes y a una supervisión eficaz de la contaminación fecal humana de las zonas de cultivo de mariscos y peces. No obstante, incluso en países con buenos programas sanitarios, todavía ocurren casos de brotes infecciosos, a menudo por consumo de moluscos y crustáceos contaminados capturados ilegalmente en áreas prohibidas. Con frecuencia existe una relación directa entre la presencia de microorganismos indicadores de contaminación en el agua y de los patógenos específicos en los mariscos y peces (Eslava, 2008; Marín, 2009). Recientemente se ha implicado a *Campylobacter jejuni* en brotes de gastroenteritis debidos al consumo de marisco (Jawetz *et al.* 2011).

2. Antecedentes de Estudios en el río Yaracuy

Fernández-Yépez (1972), realizó un análisis ictiológico del complejo hidrográfico del río Yaracuy bajo la dirección de obras hidráulicas del Ministerio de Obras Públicas.

Parra (1974), en un estudio sanitario integral preliminar del río Yaracuy, bajo la tutela del Ministerio de Sanidad y Asistencia Social, determinó las cargas de contaminación y los factores hidrológicos y de autopurificación para el río. Se efectuaron análisis separados de la contaminación orgánica, inorgánica y microbiana y se establecieron criterios sobre descargas de desechos líquidos en el río.

Mora, Gómez y Milla (2003), desarrollaron un proyecto para la conservación y manejo de las cuencas altas de río Yaracuy, con la finalidad de controlar los procesos acelerados de degradación ambiental.

Barreto *et al*. (2004), examinaron las variaciones espaciales y temporales de algunos parámetros fisicoquímicos y componentes químicos en las aguas superficiales de una zona próximo-costera del estado Falcón, incluye el Golfo Triste y áreas adyacentes a este, específicamente el área comprendida entre las desembocaduras de los ríos Yaracuy y Tocuyo. Las mediciones realizadas en campo incluyeron: pH, Eh, temperatura, salinidad y conductividad; mientras que los análisis de laboratorio trataron sobre la cuantificación de los sólidos suspendidos totales.

Herrera y Suárez (2005), emplearon indicadores bacterianos como herramientas para medir la calidad ambiental del agua y de tejido de bivalvos en la desembocadura del río Yaracuy, encontrando que, después de temporadas vacacionales, los niveles bacterianos sobrepasan los límites permitidos en las normativas internas venezolanas para uso recreacional de las aguas según el Decreto 883 de la Gaceta Oficial N°890 (1996)

Rodríguez y Taphorn (2007), realizaron una contribución al conocimiento sobre la fauna íctica de la zona y aportaron muchos otros datos biogeográficos del área y las aguas. Aportan una guía de los peces del río Aroa y Yaracuy, para contribuir a su conservación a través de la Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado (UCLA) y por Iniciativa de Especies Amenazadas (IEA-PROVITA).

Sánchez *et al*. (2009), al realizar un análisis de la calidad del agua en la desembocadura del río Yaracuy, observaron un valor máximo de Coliformes Totales de

131 UFC/100ml y de 4 UFC/100ml para Coliformes Fecales. Según el Decreto 883 de la Gaceta Oficial Venezolana N°890 (1996), el valor máximo de Coliformes Totales para aguas de contacto humano (Tipo 4) debe ser de 1000 UFC/100ml y de 200 UFC/100ml para Coliformes Fecales. Se concluyó que para el momento de ejecución de la investigación, las aguas de la desembocadura del río Yaracuy estaban ajustadas a la normativa. En una caracterización bacteriana preliminar del tejido de peces que se realizó en ejemplares de Lisa (*Mugil curema*) se encontraron los siguientes géneros: *Vibrio*, *Citrobacter*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Providencia*, *Salmonella* y *Serratia*.

3. Justificación

A medida que la población mundial humana aumenta exponencialmente, las probabilidades de contaminación de los cuerpos de agua naturales es una realidad inminente y en el peor de los casos, tangible. La contaminación de origen antrópico de lagos, ríos y mares causa alteraciones en la composición del agua, la biota y el ambiente y el alcance de tal perturbación se desconoce y es objeto de múltiples estudios en la actualidad.

Muchos ríos, lagos y mares que sirven como fuente de agua potable, están siendo utilizados como sumideros para aguas servidas, desechos domésticos, agrícolas e industriales de las grandes ciudades. Estos recursos acuíferos tienen cierta capacidad amortiguadora que les permite tolerar determinadas cantidades de desechos y ser capaces de regenerarse y restablecer su equilibrio ecológico. Sin embargo, esta capacidad tiene un límite y el margen de asimilación de aguas servidas se está agotando. Cuando se supera este límite, las consecuencias suelen manifestarse en una destrucción paulatina de todo el ecosistema. Uno de los mayores desequilibrios observados en la microbiota acuática es ocasionado por la contaminación fecal de las aguas superficiales. Según Ávila y Estupiñan (2009), esta alteración de las aguas naturales que normalmente sirven como fuente de abastecimiento, es uno de los problemas más preocupantes en los países en vías de desarrollo.

Determinar las poblaciones bacterianas y reconocer algunos indicadores microbiológicos de contaminación presentes en el agua y su concentración proporciona herramientas indispensables para conocer la calidad de la misma y para la toma de decisiones en relación al control de vertidos, tratamiento de aguas y conservación de ecosistemas, evitando así el riesgo de contaminación de las personas y el ambiente (Ávila y Estupiñan, 2009). Los indicadores microbiológicos son organismos empleados mundialmente para determinar la calidad del agua debido a que su comportamiento es similar al de microorganismos patógenos (Silva *et al*. 2004; Ríos *et al*. 2017). Su presencia determina la existencia de patógenos, con la ventaja de ser más fácilmente identificables, reducen costos y aportan información en el monitoreo de la calidad del agua (OMS, 2011; Robert, 2014; Ríos *et al.* 2017).

Además de conocer la calidad del agua, es importante determinar las interrelaciones entre el agua y la microbiota gastrointestinal de animales acuáticos, particularmente de peces, debido a que este conocimiento aportaría numerosos e importantes elementos en relación a la digestión, angiogénesis y sistema inmunológico (Schiffrin y Blum, 2002). Adicionalmente, las poblaciones bacterianas que forman parte de la microbiota intestinal en peces, representan diferentes grupos metabólicos los cuales pueden dar cuenta del estado de salud del pez (Ringo *et al*. 2016). A pesar de su importancia, la estructura microbiana gastrointestinal y su función en la salud de los peces no se encuentra bien documentada. Existen muchos aspectos que se desconocen referentes a la comunidad microbiana intestinal de peces en condiciones de cultivo y en condiciones naturales. Comprender estos aspectos de la ecología microbiana podría ser una herramienta de utilidad como una estrategia para prevenir la infección por patógenos.

En Venezuela, como en muchos países del mundo, los estudios realizados para establecer interrelaciones de composición y abundancia bacteriana entre el agua y los tejidos de peces que viven en ella, normalmente se circunscriben a aquellos peces con valor comercial, mientras que los estudios microbiológicos en peces silvestres son muy escasos. La justificación de este estudio se centra no solamente en el carácter pionero de contribuir al conocimiento de la microbiota de ambientes acuáticos naturales en Venezuela, sino además, en el hecho de incluir la influencia que representa un elemento exógeno pero cada vez más frecuente, como las aguas servidas, sobre la microbiota del agua y el tejido de los peces.

4. Hipótesis

1. La composición y abundancia bacteriana del agua del río Yaracuy debe influir directamente en la caracterización de la comunidad bacteriana presente en el tejido intestinal de los peces de la cuenca.

2. La presencia de un elemento exógeno representado por las aguas servidas de la desembocadura debe modificar la abundancia y la composición bacteriana presente en el agua y en el tejido de los peces de la cuenca del río Yaracuy.

5. Objetivo General

Caracterizar la comunidad bacteriana asociada al agua y al tejido intestinal de peces de la cuenca media y baja del río Yaracuy.

Del Objetivo General se desprenden los siguientes **objetivos específicos**:

a. Establecer la influencia de parámetros físico-químicos del agua del río Yaracuy sobre la comunidad bacteriana del agua y del tejido intestinal de los peces.

b. Determinar Coliformes Fecales y Totales *in situ* como indicadores de contaminación de origen antrópico y su influencia en la estructura bacteriana (abundancia y composición) en agua y tejido de peces.

c. Determinar la composición y abundancia bacteriana en el agua y en el tejido intestinal de los peces a través de pruebas bioquímicas estandarizadas.

d. Comparar el comportamiento de la composición y abundancia bacteriana del agua del río con el tejido intestinal de peces entre las estaciones de muestreo.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Área de Estudio

El área de estudio, el río Yaracuy, tiene su origen en el cerro La Copa, a 1800 m.s.n.m., en el estado Yaracuy, con una extensión de 90 Km aproximadamente, desemboca en el límite entre el estado Carabobo, Falcón y Yaracuy, en un área conocida como Golfo Triste. El río Yaracuy atraviesa las poblaciones de Tamanavare, La Guáquira, San José, San Javier, La Esperanza, La Hoya y Boca Yaracuy. Afecta un área de 2280 Km^2 y una población de 518.902 habitantes (Rodríguez y Taphorn, 2007) (Figura 3). Las zonas de vida predominantes en la cuenca son las del bosque seco tropical en las tierras bajas y la del bosque húmedo tropical en la sierra del cerro La Copa (Ewel y Madriz, 1968). La flora regional pertenece a la provincia fitogeográfica del Caribe meridional, siendo muy variable debido a los componentes orográficos y climáticos locales y una alta intervención humana (Huber, 1997).

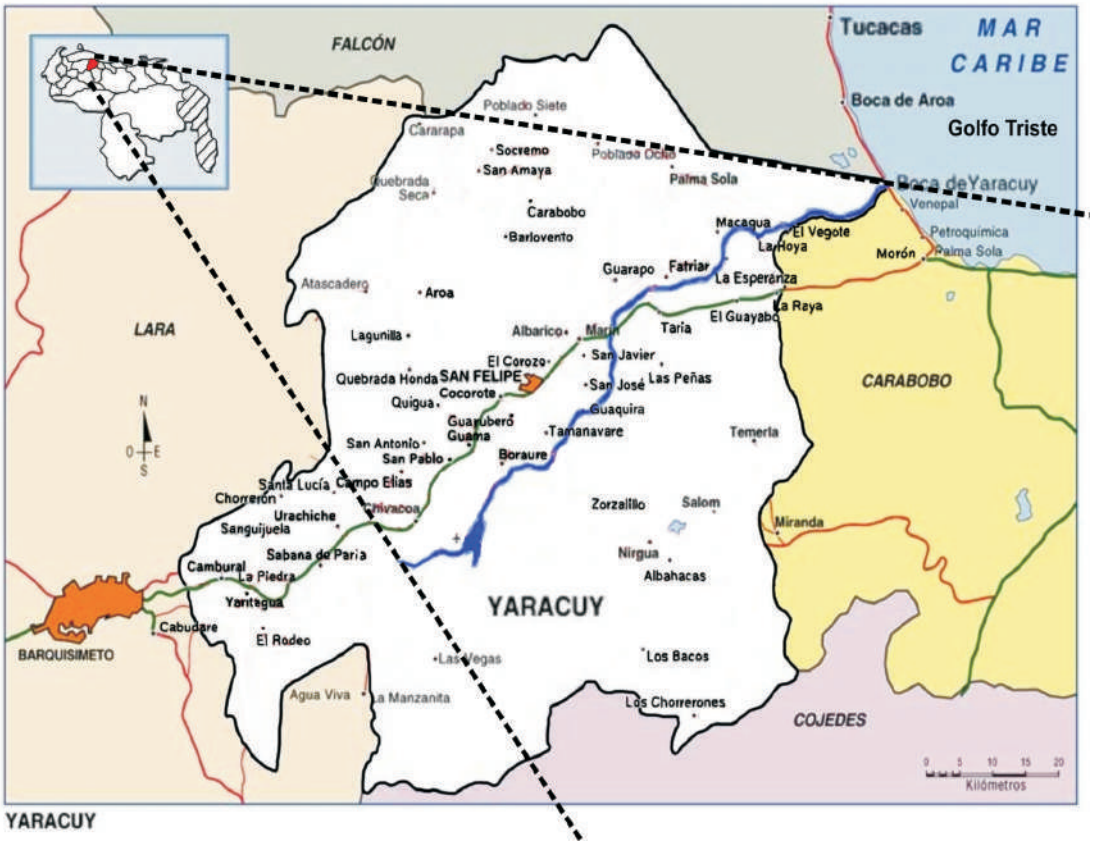


***Figura 3*. Mapa del Área de Estudio**, tomado de:
http://www.a-venezuela.com. mapas.map.html.estados.yaracuy

El clima es macrotérmico y estacional, con precipitaciones en el intervalo de 800 a 1500 mm y con una distribución bimodal, comprendiendo un período en mayo-agosto y otro al final del año (Lentino y Bruni, 1994). En las tierras bajas cerca de la desembocadura, la temperatura media anual es algo superior a los 26 °C (COPLANARH, 1975). Valores medios mensuales de los últimos 10 años (2006-2016), registran una temperatura media anual de 25.7 ° C y determinaciones del régimen anual de lluvias en las cercanías de San Felipe, registradas por la Estación Meteorológica Central Matilde, establecen un promedio anual de precipitaciones de 1413 mm . Se define como "estación seca" el periodo comprendido de diciembre a marzo, abril es una transición de sequía a lluvia y la "estación lluviosa" corresponde al intervalo de mayo a noviembre. Diciembre se comporta como mes de transición de lluvia a sequía (MARN, 2016) (Figura 4).

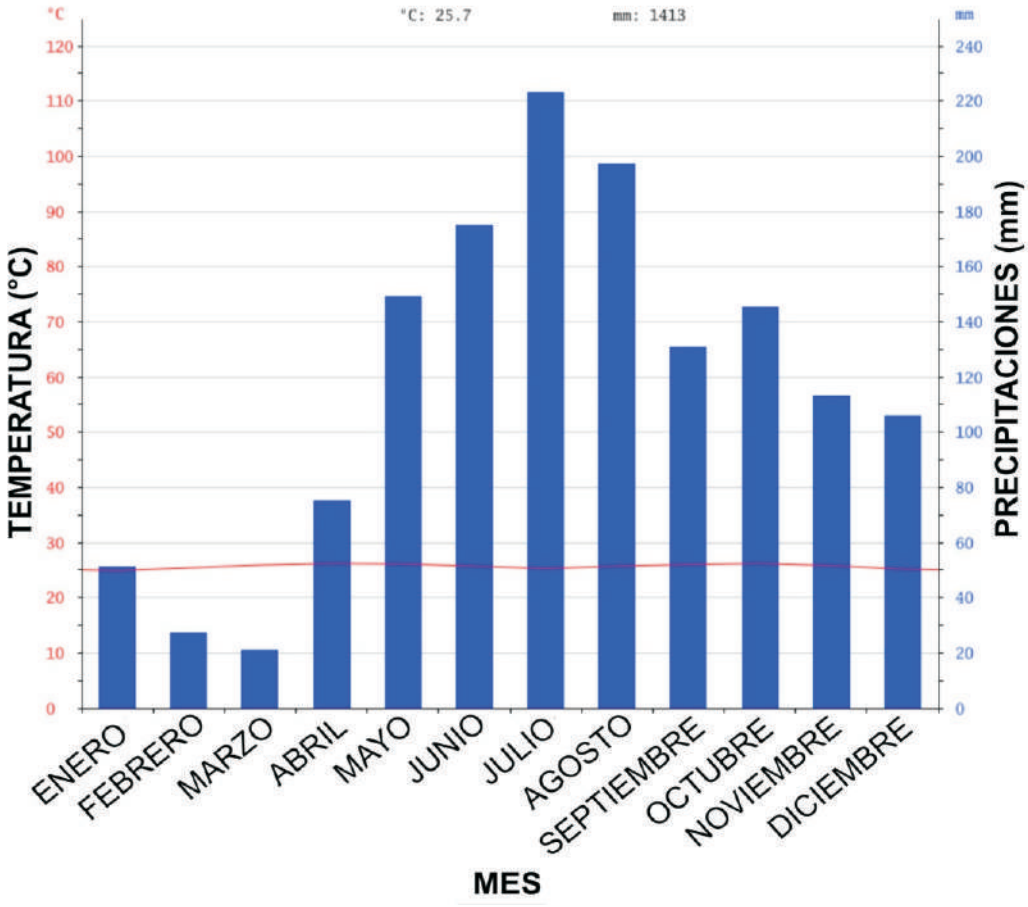


***Figura 4*. Climograma Histórico del Estado Yaracuy.**
Datos tomados de la Dirección de Meteorología del MARN 2016.
https://es.climate-data.org/americadelsur/venezuela/yaracuy/san felipe

6.2 Materiales

Los equipos y materiales necesarios para la toma de los datos y procesamiento de las muestras biológicas, fueron proveídos parcialmente por el Laboratorio de Ecología de Microorganismos y por el Museo de Biología (MBUCV), ambos pertenecientes al CEAP y al CMBUCV respectivamente del Instituto de Ecología y Zoología Tropical de la Facultad de Ciencias de la Universidad Central de Venezuela. El resto de los materiales fueron proveídos por el autor. Los trabajos de campo fueron parcialmente financiados por la Coordinación del Doctorado en Zoología a través de aportes monetarios para cubrir parte de los viáticos.

6.3 Métodos

Para la toma de muestras, se realizaron dos (2) campañas durante un año, procurando coincidir con períodos vacacionales (Diciembre de 2012 y Julio de 2013) ya que éstos normalmente dejan una alta carga contaminante sobre los cuerpos de agua. Para la medición de los parámetros físico-químicos del agua del río Yaracuy, la recolección de las muestras de agua y de peces, se establecieron dos (2) estaciones de muestreo, distribuidos de la siguiente manera:

La estación N°1, la desembocadura del río Yaracuy, Coordenadas (N 10°34´52.07´´ W 68°14´44.3´´), se ubicó en la población Boca Yaracuy entre el estado Carabobo, Falcón y Yaracuy, en un área conocida como Golfo Triste. Se accedió a ella a través de la autopista Morón-Coro (Figura 5). Funciona como balneario para los turistas y donde existe una alta actividad antropogénica. La estación N°2, la hacienda La Guáquira, Coordenadas (N 10°17´39.6´´ W 68°39´34.8´´), se ubicó a 63 km de la estación N°1, en la parte media del río, en población La Guáquira del Estado Yaracuy. Se accedió a ella a través de la autopista Rafael Caldera y se empleó el mismo acceso de la ciudad de San Felipe, Capital del Estado (Figura 5).

Para la medición de parámetros fisicoquímicos del agua, se empleó un instrumento multiparámetro, marca Horiba, de seis variables: pH, conductividad, turbidez, oxígeno disuelto, temperatura y salinidad. Para la posición en cada punto donde se tomaron las muestras de agua y de peces, se empleó un GPS marca Garmín, modelo 60CSX.

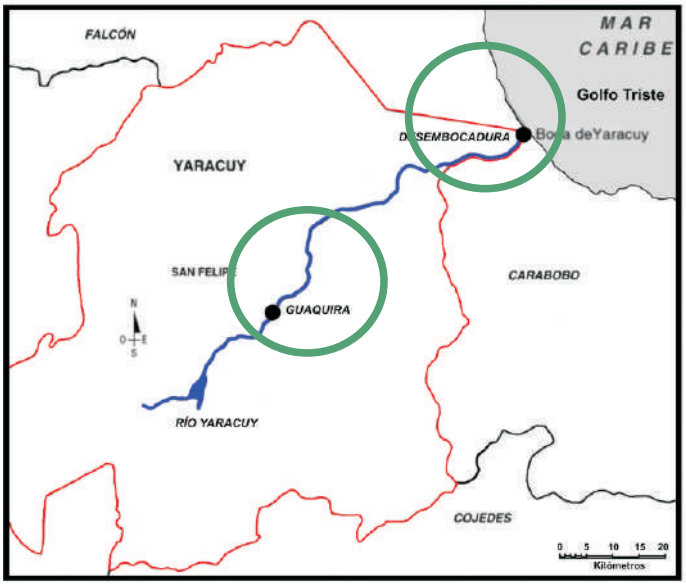


***Figura 5*. Estación N°1 (La Desembocadura) y N°2 (La Guáquira).**

Las muestras de agua del río Yaracuy fueron obtenidas de acuerdo a lo establecido en el diseño experimental de esta investigación (Figura 6):

FACTOR A (Lugar, con 2 niveles fijos): Se establecieron dos (2) estaciones fijas. Estación N° 1, la desembocadura del río (con perturbación) y Estación N° 2, zona media del río, La Guáquira (sin perturbación).

FACTOR B (Momento, con 2 niveles fijos): Se colectó en dos meses fijos. Diciembre de 2012 y Julio de 2013 procurando coincidir con épocas vacacionales.

FACTOR C (Muestras de agua, con 3 niveles, aleatorio, total de 12 muestras de agua): Se tomó el agua en tres puntos de cada estación de manera aleatoria, en el medio del río, aproximadamente en la misma zona donde se colectaron los peces, a cinco (5) metros de la orilla, en las dos (2) estaciones preestablecidas. Se emplearon frascos estériles de 500 ml, se introdujeron cerrados en el río hasta la profundidad de 30 cm y se llenaron completamente, sin permitir la formación de burbujas de aire y se cerraron dentro del agua. Se transportaron en cava con hielo para su procesamiento inicial en el laboratorio de campo que se intaló en la Estación N°2 "La Guáquira".

Para analizar las muestras de agua, se utilizó inicialmente el método de filtración por membrana (APHA, 1995), con la intención de estimar *in situ* la presencia de coliformes totales y fecales y posteriormente, en el laboratorio de Ecología de Microorganismos de la UCV, se realizó un análisis bacteriano del agua más detallado, de amplio espectro.

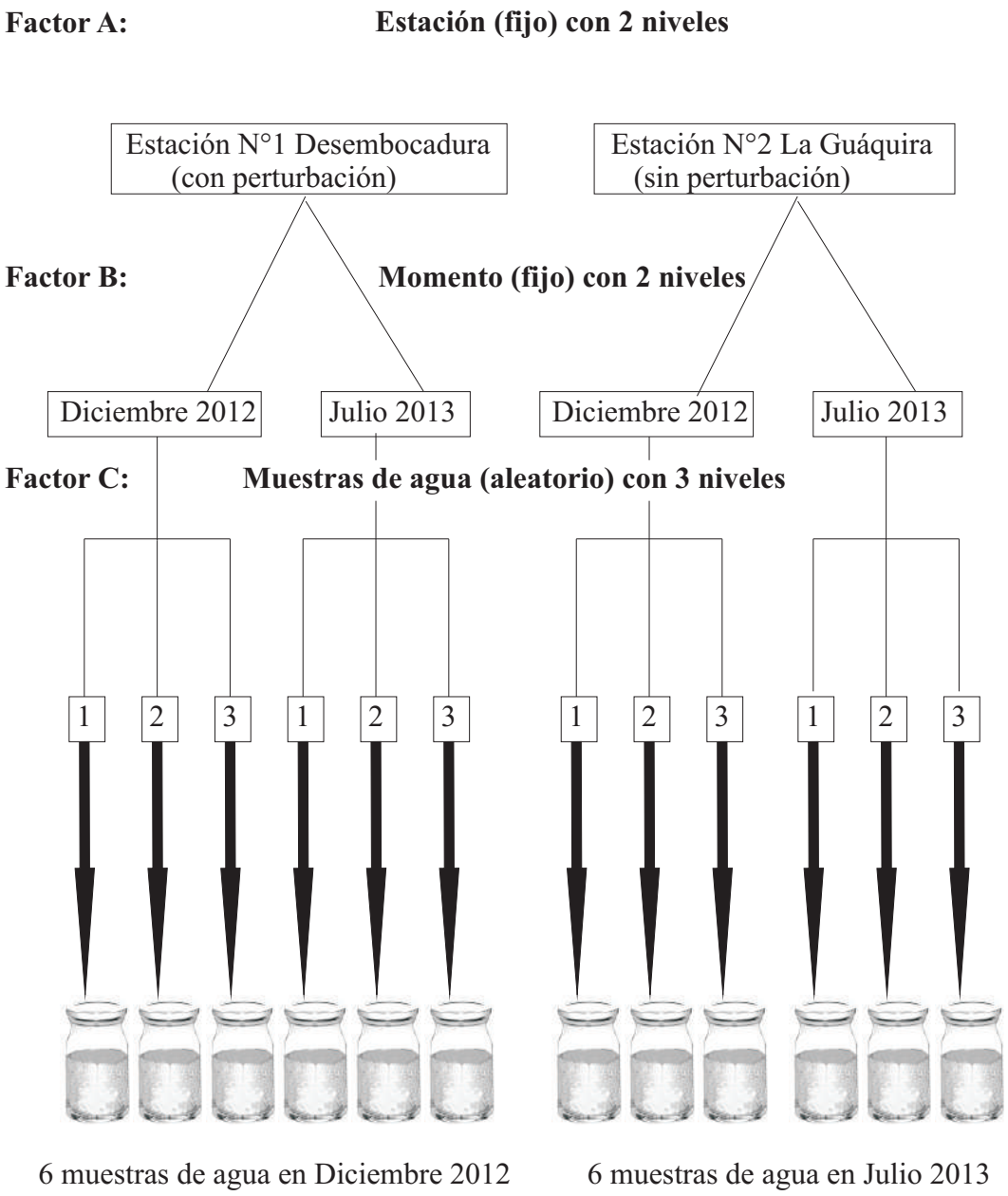


***Figura 6*. Diseño experimental para la toma de muestras de agua.**

Las muestras de peces del río Yaracuy fueron obtenidos de acuerdo a lo establecido en el diseño experimental de esta investigación (Figura 7):

FACTOR A (Lugar, con 2 niveles fijos): Se establecieron dos (2) estaciones fijas. Estación N° 1, la desembocadura del río (con perturbación) y Estación N° 2, zona media del río, La Guáquira (sin perturbación).

FACTOR B (Momento, con 2 niveles fijos): Se colectó en dos meses fijos. Diciembre de 2012 y Julio de 2013 procurando coincidir con épocas vacacionales.

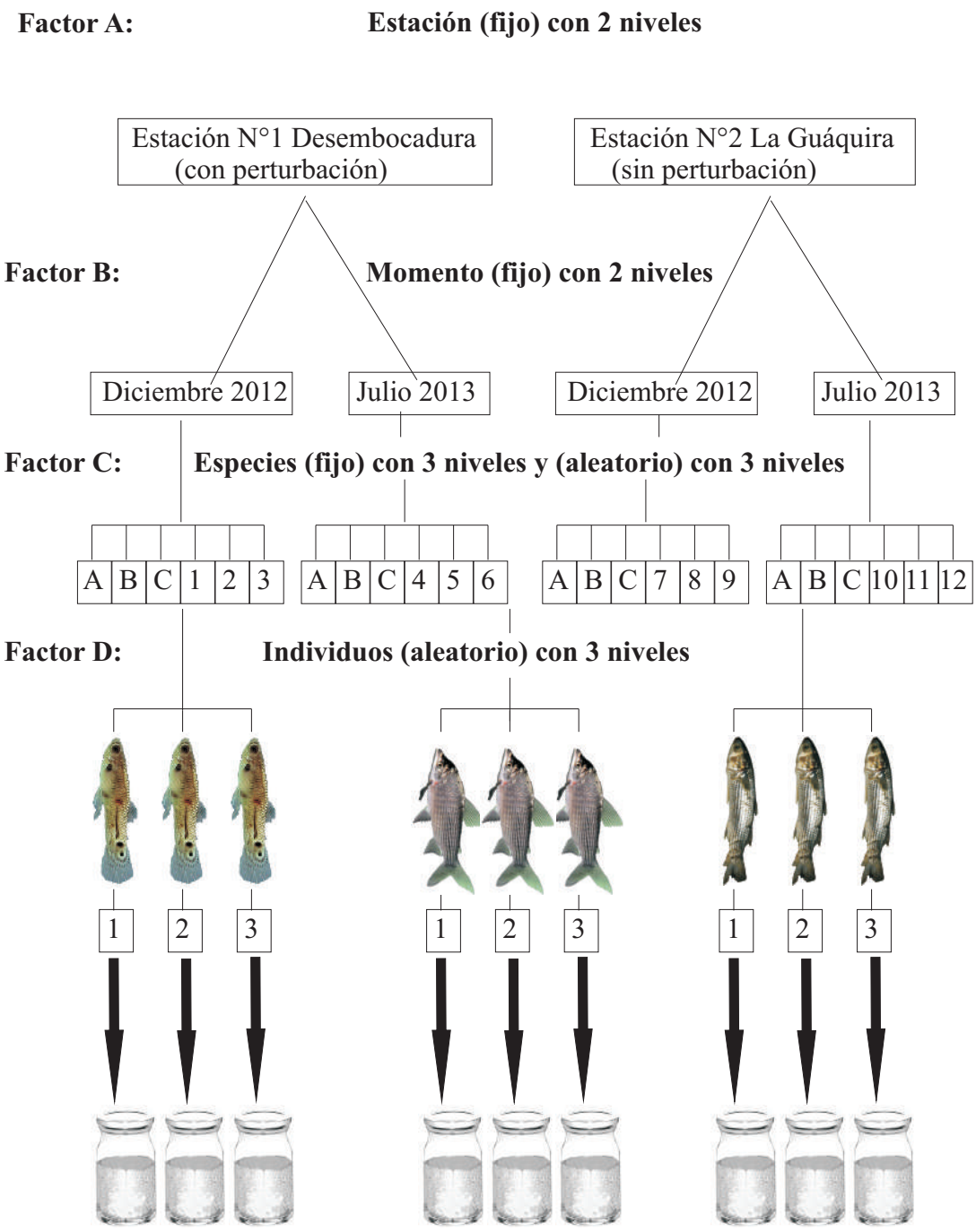
FACTOR C (Especies, con 3 niveles fijos y 3 aleatorios. Total 36 ejemplares): Se pescó con red de arrastre.

FACTOR D (Individuos, con 3 niveles aleatorios): Los individuos se seleccionaron al azar dentro de las especies presentes en el momento de la pesca.

Los peces fueron colectados por el autor, con ayuda de pescadores locales y se pescaron en el medio del río, aproximadamente en el mismo lugar donde se colectó el agua, a cinco (5) metros de la orilla, en las dos (2) estaciones preestablecidas. Se emplearon envases plásticos (tobos), donde se introdujeron los peces con agua del mismo río. Se empleó como arte de pesca, la red de arrastre, conocida localmente como "chinchorro" . La red era pequeña, de nylon, de 2.5 m de largo y 1,5 de ancho con 5 mm de abertura entre nudos. La modalidad de la pesca fue la de barrido, en 3 zonas diferentes del área estudiada. La pesca se realizó con la participación de dos (2) ejecutantes, uno en cada extremo de la red. Se pescaron aproximadamente diez y ocho (18) ejemplares por estación en cada mes de muestreo (Diciembre 2012 y Julio 2013), para un total de 36 peces. Los peces fueron colocados y transportados en condiciones de enfriamiento (con hielo) para su procesamiento en el laboratorio.

Antes de proceder a realizar la disección de los peces, éstos fueron fotografiados e identificados con un código que contenía parte del nombre local asignado a la especie y un número que representaba el orden de procesamiento (Figura 8).

Los ejemplares se procesaron siguiendo la metodología indicada por Austin y Austin (2007), que consiste en retirar, en condiciones asépticas, muestras de intestino o el intestino en su totalidad. Se realizó inicialmente una incisión longitudinal en la zona ventral del pez, desde la abertura anal hasta el extremo intestinal pilórico. Una vez expuesto el intestino, con ayuda de una pinza, se procedió a cortarlo por los extremos, desde el esfínter pilórico hasta la cloaca.



Las muestras de intestino se fijarán y activarán en Caldo ATS

36 Muestras de tejido en Diciembre 2012 36 Muestras de tejido en Julio 2013

Total de Muestras de Tejido: 72

***Figura 7*. Diseño experimental para la toma de muestras de peces.**

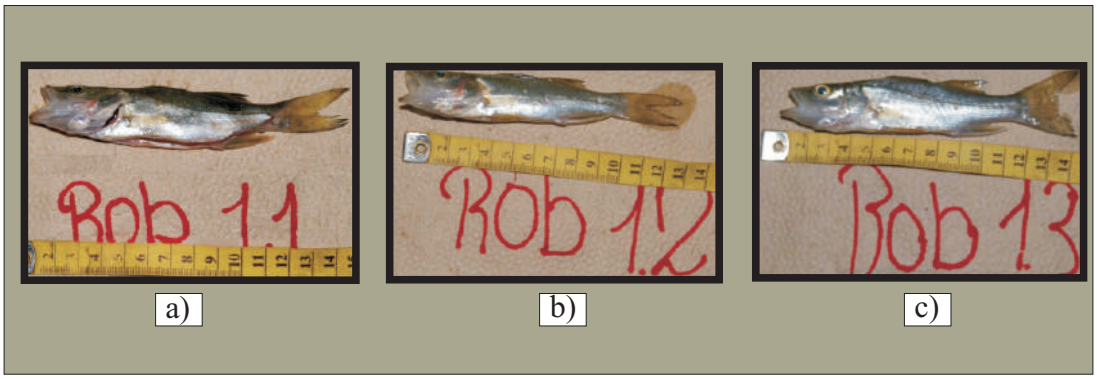


***Figura 8*. Significado del códico empleado en la identificación de peces:** a) ROB 1.1 se traduce como: Ejemplar de Róbalo (Rob), estación N°1 y primer ejemplar en procesar. b) Róbalo (Rob), estación N°1 y se procesó segundo. c) Rob, estación N°1 y se procesó tercero.

Al retirar el intestino, se colocó en un envase estéril desechable, con solución salina al 8%, donde fue macerado y homogeneizado por varios minutos. El tubo intestinal se extrajo a los tres (3) ejemplares de peces de cada especie, por separado.

Una vez que el intestino sustraído fue macerado y homogeneizado, se tomó una pipeta estéril y se extrajo de cada macerado el volumen correspondiente a 1 ml y se colocó en un frasco que contenía 99 ml de solución de caldo TS. Esta acción se realizó con la finalidad de producir las diluciones seriadas. A partir de cada dilución, se sembró por duplicado 0,l ml en agar tripticasa soya (ATS), utilizando para ello una varilla de vidrio doblada esterilizada. Adicionalmente se sembró las muestras en agar (EMB) y en agar (TCBS). Las placas fueron incubadas a 30 °C durante 2 días (APHA, 1998).

Los peces colectados fueron contados, separados, registrados por localidad (estaciones de muestreo) y colocados inicialmente en formol al 5 % para su fijación y posteriormente en frascos con alcohol etílico al 70 % para su preservación definitiva. Los ejemplares de peces fueron identificados hasta nivel de especie. Para la determinación taxonómica de las especies se dispuso de la bibliografía taxonómica pertinente: se emplearon las claves, listas y descripciones de Eigenmann (1890), Fernández-Yépez (1972), Mago (1978), Román (1980), Machado-Allison (1990), Vari (1991), Cervigón (1991, 1993,1994 1996), Lasso *et al*. (2004), Rodríguez y Taphorn (2007). Se empleó además, la colección ictiológica depositada en el museo (MBUCV) como referencia.

Tomando en consideración los resultados de la tinción de Gram y de acuerdo a las características de las colonias, los aislados fueron identificados mediante pruebas bioquímicas convencionales descritas para bacilos Gram negativos fermentadores y no fermentadores (Koneman *et al*., 2002).

Las pruebas bioquímicas representan serie de análisis preestablecidos que permitieron identificar y ubicar taxonómicamente a las bacterias. Consistieron en distintos test químicos aplicados a medios biológicos, en los cuales, una vez conocida su reacción, permite identificar los distintos microorganismos presentes (Ryan y Ray, 2004).

Se aplicaron las siguientes pruebas bioquímicas en el reconocimiento bacteriano según Mac Faddin (2003): KLIGLER (fermentación de lactosa y glucosa, producción de gas y ácido sulfídrico), SIM (producción de Indol, ácido sulfídrico y motilidad), ROJO DE METILO (vía de los ácidos mixtos para degradar la glucosa), VOGES PROSKAUER (vía del 2,3-butanodiol para degradar la glucosa), HIDRÓLISIS DE ÚREA (síntesis de la enzima ureasa con producción de amoníaco y carbonato de amonio), FENILALANINA (desaminación de la fenilalanina en ácido fenilpirúvico), SIMMOS-CITRATO (utilización del citrato como única fuente de carbono y las sales de amonio como única fuente de nitrógeno), GELATINA (licuefacción o pérdida del gel de sus características solidificantes).

6.4 Procesamiento estadístico de las variables

Para establecer las posibles vinculaciones existentes entre las variables fisicoquímicas del agua, medidas en escalas distintas, y las variables microbiológicas de abundancia bacteriana en tejido y agua del río Yaracuy, se empleó un Análisis de Ordenación o Análisis de Componentes Principales (PCA) con el propósito de representarlas en un sistema que permitiera compararlas y establecer una relación clara entre ellas, perdiendo la menor cantidad de información posible. Una vez determinadas las correlaciones presentes en las variables, se procedió a aplicar un análisis de ordenación entre éstas y las variables microbiológicas. El PCA es una técnica estadística de síntesis de la información (reducción en número de variables) (Johnson,1996).

La técnica estadística de ordenación, permitió la transformación de las variables originales en variables correlacionadas, llamadas componentes principales. La medida de la cantidad de información resumida, en cada componente principal, es la varianza y por esta razón, los componentes principales, fueron colocados en orden decreciente de su varianza. Así, el componente de mayor información, se colocó primero y el de menor información, de último (Hair *et al*, 1999).

Para establecer el tamaño de la muestra (n), se empleó el Teorema Central del Límite el cual establece que la suma de "n" variables aleatorias independientes de varianza finita e idéntica distribución tiende a la distribución normal cuando "n" es suficientemente grande. Según este Teorema, una muestra que posee 30 o más datos se considerará grande (Behar y Grima. 2004). Para este estudio se emplearon 65 elementos muestrales de sustrato (agua y tejido).

En este estudio se empleó como medida estadística de comparación para los datos obtenidos en los dos trabajos de campo y para las dos estaciones de muestreo, un Análisis de Varianza por Permutaciones (acrónimo en inglés PERMANOVA) ($p < 0,05$) para determinar efectos significativos de correlación entre las variables. La corrida de la prueba se ejecutó en PRIMER versión 2007 basado en el Índice de Similitud de Bray y Curtis (1957).

En ecología y biología cuantitativa, los nombres de J. Roger Bray y John T. Curtis (1957) son frecuentemente mencionados debido a que produjeron una fundamentación estadística ampliamente utilizada para cuantificar la similitud o disimilitud de composición entre poblaciones de dos sitios diferentes, basado en conteos en cada sitio. Según la definición de Bray y Curtis, el índice general es:

$$BC_{ij} = 1 - \frac{2\,C_{ij}}{S_i + S_j}$$

C_{ij} = Sumatoria de los valores de abundacia menores, sólo para aquellas especies en común entre ambos sitios.

S_i = número total de individuos en la estación ***i.***

S_j = número total de individuos en la estación ***j***.

El índice se reduce a 1-2C/2 = 1-C, donde la abundancia en cada sitio se expresa como un porcentaje. El Índice Bray-Curtis está directamente relacionada con el Índice Cuantitativo de Sorensen $\boldsymbol{QS_{ig}}$ índice de similitud entre los mismos sitios:

$$\boldsymbol{Bc_{ij} = 1 - Qs_{ig}}$$

El índice de Bray-Curtis o Cuantitativo de Sorensen**:** es igual a **1** en casos de similaridad completa e igual a **0** si las estaciones son disimilares. Sus expresiones matemáticas de similitud y disimilitud son respectivamente:

$$S_{jk} = 2 \Sigma \min (X_{ij}, X_{ik}) / \Sigma (X_{ij} + X_{ik}) \quad \text{Similitud}$$

$$D_{jk} = \Sigma \, |X_{ij} - X_{ik}| / \Sigma (X_{ij} + X_{ik}) \quad \text{Disimilitud}$$

La disimilitud de Bray-Curtis está acotada entre 0 y 1, donde 0 significa que los dos sitios tienen la misma composición (es decir que comparten todas las especies), y 1 significa que los dos sitios no comparten ninguna especie. En los sitios con ***BC*** intermedio (por ejemplo, BC = 0,5) este índice se diferencia de otros índices de uso común. La disimilitud de Bray-Curtis es a menudo erróneamente llamada “distancia”, sin embargo, lo apropiado es llamarla disimilitud para evitar confusiones (Yoshioka, 2008).

Este índice concede un importante peso a los altos valores ya que en su expresión el numerador incluye la diferencia entre los atributos. Sin embargo, dado que la sumatoria de las diferencias no se eleva al cuadrado y posteriormente se divide entre la sumatoria de las sumas individuales, el índice de Bray-Curtis es una opción menos sesgada con respecto a la distancia euclidiana (Somerfield, 2008). En otras palabras, a diferencia de otros índices de comparación, en donde todas las especies tienen la misma importancia, el índice Bray-Curtis puede considerar y resaltar aquellas especies que son más abundantes y raras en una población. Bray y Curtis, modificaron el índice de Sorensen para producir uno que otorgara un mayor valor de importancia a cada una de las especies que componen una comunidad (Yoshioka, 2008).

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En nuestro país existe escasa información acerca de las comunidades microbianas presentes en los tejidos de peces silvestres. Este trabajo de investigación contribuyó con el conocimiento en relación a la abundancia y la caracterización de las bacterias presentes en los intestinos de peces y del agua de la cuenca del río Yaracuy. La investigación basa sus resultados en los datos provenientes de dos (2) trabajos de campo: Diciembre de 2012 y Julio de 2013. En ambos trabajos de campo se emplearon dos estaciones de muestreo: la primera ubicada en la desembocadura del río (Estación Desembocadura) y la segunda, en la parte alta, específicamente, en la estación biológica de la Hacienda La Guáquira (Estación La Guáquira).

7.1 Coliformes Fecales presentes en el río Yaracuy (Trabajo de Campo N°1)

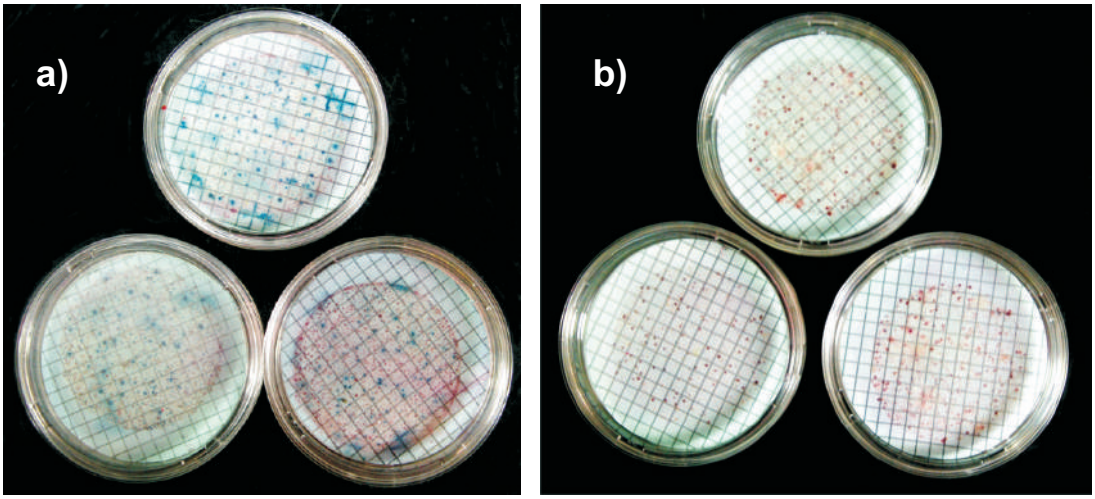


Figura 9. **Cápsulas con cultivo de Coliformes en Caldo Coliblue de la muestras de agua del Río Yaracuy (11/12/2012). a) Estación Desembocadura y b) Estación La Guáquira.**

La medición de Coliformes Fecales y Totales *in situ* suministró información sobre contaminación por aguas servidas. La abundancia de colonias bacterianas azules en las muestras de agua de la desembocadura son indicativas de una fuerte contaminación por aguas servidas (Figura 9a). Por el contrario, la ausencia de colonias de coloración azul en las placas presentadas en el Figura 9b, de las muestras de agua de la Estación La Guáquira, refleja la inexistencia de Coliformes Fecales.

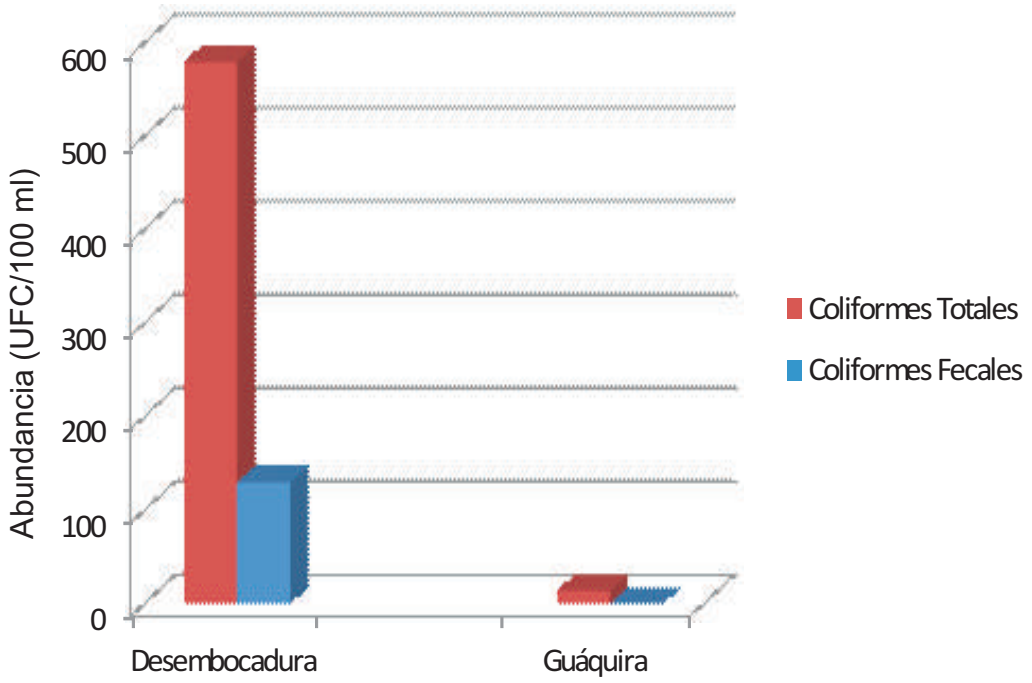


Figura 10. **Abundancia de Coliformes Totales y Fecales en las estaciones de Muestreo.**

En este estudio, se determinó un número elevado de Coliformes Fecales (130 UFC/100ml) y Coliformes Totales (580 UFC/100 ml) en la desembocadura del río Yaracuy como consecuencia de las aguas servidas que se depositan en sus aguas provenientes de la población Boca Yaracuy (Figura 10).

Según el Decreto 883 de la Gaceta Oficial Venezolana N° 890 (1996), el valor máximo de coliformes totales en aguas de contacto humano (balneario) y con fines de pesca recreativa o comercial (Tipo 4), como es el caso del río Yaracuy, debe ser de 1000 UFC/100ml para Coliformes Totales y de 200 UFC/100ml para Coliformes Fecales. Esto indica que para el momento en que se realizó este estudio, los valores microbiológicos de coliformes se aproximaban al límite establecido de valores máximos. Además, se debe considerar que las épocas vacacionales en las cuales se realizó este estudio no son las de mayor impacto sobre el ambiente debido a que no representan las mayores movilizaciones de turistas hacia la zona. En consecuencia, se presume que en las temporadas de mayor afluencia turística tales como Semana Santa y Carnavales, los niveles de Coliformes superen los permitidos por la normativa.

7.2 Coliformes Fecales presentes en el río Yaracuy (Trabajo de Campo N°2)

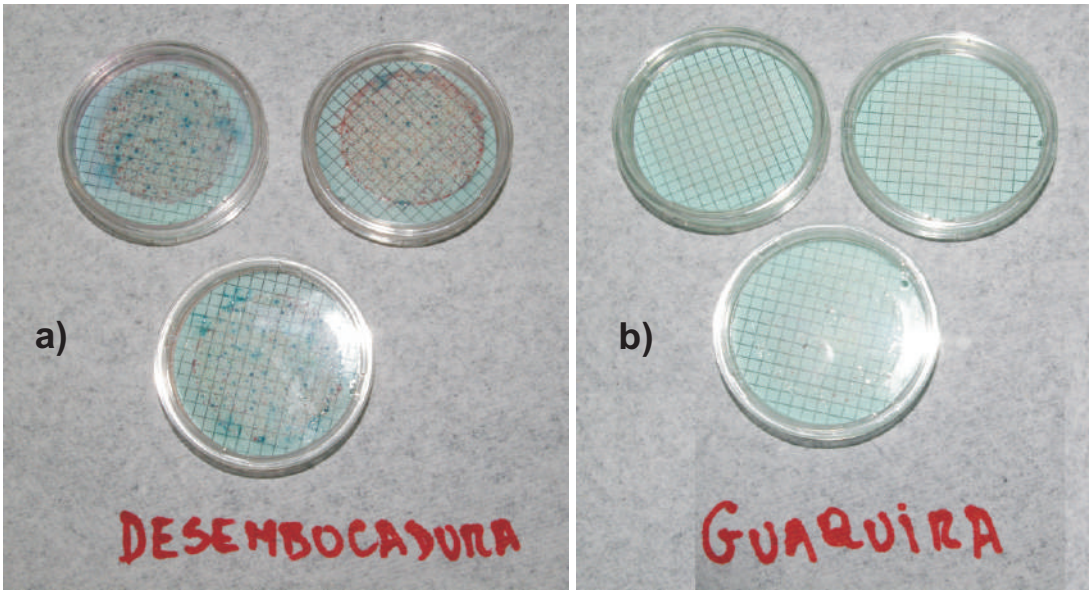


Figura 11. **Cápsulas con cultivo de Coliformes en Caldo Coliblue de la muestras de agua del Río Yaracuy (16/07/2013). a) Estación Desembocadura y b) Estación La Guáquira.**

En julio de 2013, en el segundo muestreo de la cuenca del río Yaracuy, la ausencia de colonias de coloración azul y rojo en las placas presentadas en el Figura 11b, de las muestras de agua de la Estación La Guáquira fue notoria, indicativo de casi inexistencia de Coliformes Fecales y Totales.

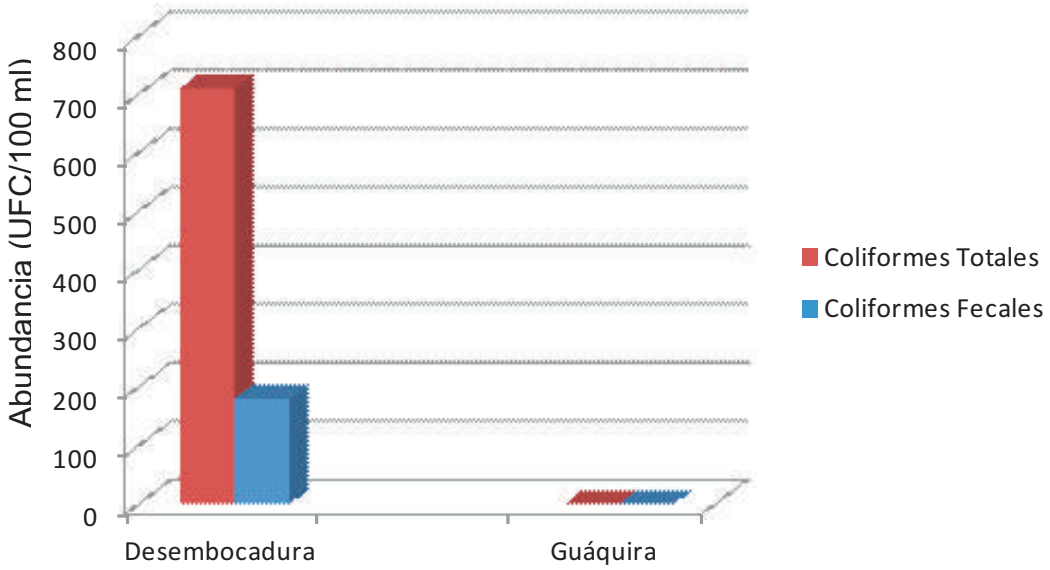


Figura 12. **Abundancia de Coliformes Totales y Fecales en las estaciones de muestreo (16/07/2013).**

En la desembocadura, por el contrario, se determinó un número elevado de Coliformes Fecales (180 UFC/100ml) y Coliformes Totales (710 UFC/100 ml) (Figura 12). Mucho más próximos al límite establecido de valores máximos permitidos en el Decreto 883 que los observados en el primer muestreo. En este sentido, se debe hacer referencia a un estudio previo de Herrera y Suárez (2005), en el cual se midió la calidad microbiológica del agua cercana a la desembocadura del río Yaracuy, después de la temporada vacacional de Semana Santa y encontraron que los niveles de coliformes totales eran de 1600 UFC/100m1 y fecales de 900 UFC/100m1 sobrepasando considerablemente los valores máximos permitidos por las normativas internas venezolanas para aguas de uso recreacional (Tipo 4).

Los coliformes fecales y *Escherichia coli* en particular, han sido usados como indicadores de contaminación fecal a nivel mundial, debido a su relación directa con enfermedades entéricas bacterianas (Abbott, 2007). Mendoza y Hernández (1999) encontraron una alta incidencia de *E. coli* en tejidos de tilapias de una laguna de cultivo en la región central de Venezuela y según Nataro *et al*. (2007) una importante incidencia de *E. coli* en tejido de peces frecuentemente se debe a que tanto los estanques de acuicultura como los ambientes naturales suelen contaminarse con estiércol animal (aves inclusive) o por desechos humanos.

En el presente estudio, *E. coli* aparece en un 2% del tejido intestinal de los peces de la desembocadura del río Yaracuy y 3% en agua. Las especies de peces que reflejaron mayor abundancia de *E. coli* en tejido intestinal fueron *Hoplias malabaricus* ($1{,}6 \times 10^{11}$ UFC/100ml) y *Centropomus undecimalis* ($1{,}5 \times 10^{11}$ UFC/100ml). A pesar de que *E.coli* no es un habitante normal de la biota bacteriana de los peces (Hejkel *et al*. 1983), su presencia revela alteraciones en las condiciones microbiológicas del agua (Abbott, 2007; Nataro *et al*. 2007). En consecuencia, se debe inferir que la presencia de *E. coli* en el agua y en el tejido intestinal de los peces de la desembocadura del río Yaracuy está relacionada directamente con contaminación fecal de origen antrópico.

Pal y Dasgupta (1992), demostraron que la concentración bacteriana en los diferentes órganos y tejidos de los peces se incrementa en la medida que aumenta la cantidad de bacterias en el agua. En este estudio se aprecia una correlación lineal entre la abundancia o cantidad de bacterias en el agua y la abundancia bacteriana en el tejido intestinal de los peces.

7.3 Variables Fisicoquímicas del Agua del río Yaracuy (Trabajo de Campo N°1)

La presencia de componentes bacterianos en el agua de los ríos y en los tejidos de peces no puede ser analizada sin tomar en consideración muchos elementos que modifican y que tienen una influencia importante en esta composición. Las evidencias indican que factores fisicoquímicos del agua, como el oxígeno disuelto (OD), la temperatura, el pH, la salinidad, la contaminación y la dieta pueden afectar la supervivencia bacteriana e incluso estimular su multiplicación (Guzmán *et al*, 2004).

Es por esta razón, que inicialmente se midieron las variables fisicoquímicas del agua del río Yaracuy, lo cual permitió establecer su influencia sobre la abundancia y composición bacteriana del agua y del tejido intestinal de los peces de la cuenca en las dos estaciones de muestreo y en dos épocas distintas del año. En cada estación se midieron variables fisicoquímicas, tales como: temperatura, pH, oxígeno disuelto, salinidad, conductividad, transparencia y profundidad.

Tabla 1. Parámetros físico-químicos del agua del río Yaracuy (Diciembre 2012).

Estación	Muestra	Coord.	Temp. (°C)	pH	OD (mg/l)	Turb.	Sal. (g/l)	Cond. (uS/cm)	Trans. (cm)	Prof. (cm)
N°1 **Desembocadura** 11/12/2012 13:30 pm	1	N 10°34´52.07´´ W 68°14´44.3´´	28,9	6,41	0,90	0,1	2	745	130d 130a	133
	2	N 10°35´00.1´´ W 68°14´31.3´´	28,6	6,63	1,16	0,1	2	768	130d 130a	138
	3	N 10°35´01.5´´ W 68°14´31.8´´	28,1	6,46	1,19	0,1	1	762	130d 130a	145
N°2 **La Guáquira** 12/12/2012 7:30 am	1	N 10°17´39.6´´ W 68°39´34.8´´	24,4	7,77	6,28	0	0	216	30d 30a	32
	2	N 10°17´42.7´´ W 68°39´36.9´´	24,2	7,80	6,22	0	0	245	40d 40a	40
	3	N 10°17´49.3´´ W 68°39´38.1´´	24,5	7,69	6,26	0	0	216	35d 35a	35

Nota: Temp. = temperatura; OD = oxígeno disuelto; Turb. = turbidez; Sal. = salinidad; Cond. = conductividad; Trans. = Transparencia; Prof.= profundidad del río.

Según los datos de la tabla 1, la temperatura fluctuó entre 28,1 y 28,9 °C para una temperatura media de 28,5 °C en la estación Desembocadura (DESB) mientras que en la estación La Guáquira (GUA), la temperatura varió de 24,2 a 24,5°C, para una temp. media de 24,4 °C . El pH presentó valores entre 6,41 y 6,63 (aguas levemente ácidas) para DESB y de 7,69 a 7,8 (levemente alcalinas) para GUA. Las variables de DESB se corresponden con características fisicoquímicas propias de una columna de agua medida en ambientes salobres (Herrera y Suárez, 2005), mientras que las variables fisicoquímicas de la estación la GUA corresponden con las medidas una columna de agua en un río de un bosque húmedo tropical (Ewel y Madriz, 1968). Los salinidad nos señala, a DESB, como un ambiente con características salobre, mientras que la inexistencia de salinidad en la GUA la define como un ambiente dulceacuícola.

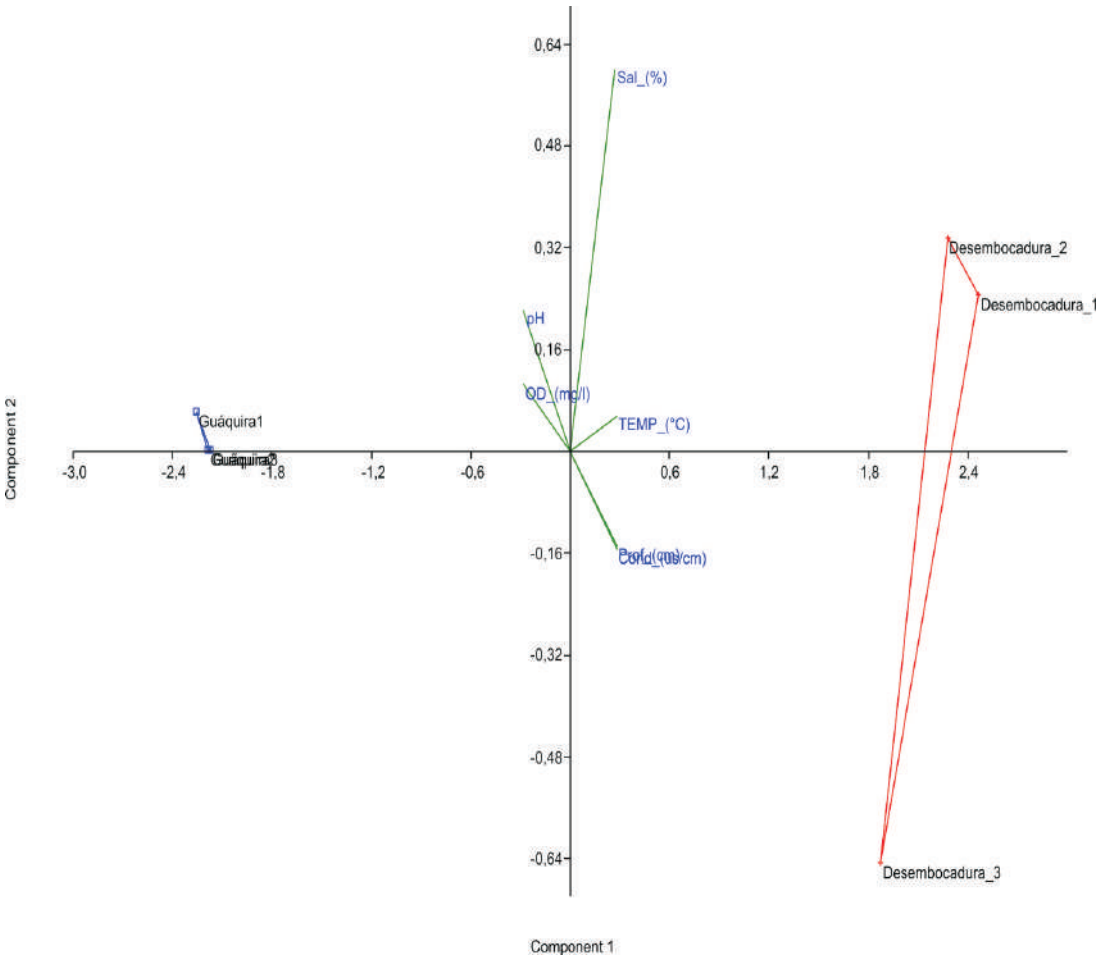
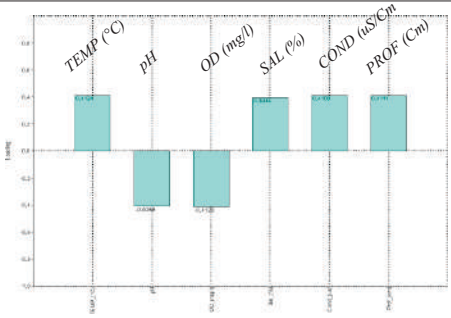


Figura 13. **Biplot de variables fisicoquímicas del agua del río Yaracuy (Diciembre 2012)** . Salida: PAST.

Tabla 2: Autovaloresy Autovectores de variables fisicoquímicas del agua (Diciembre 2012). Salida: PAST.

Autovalores			
PC	Eigenvalue	% variance	% Acumulado
1	5,86478	97,746	97,746
2	0,118922	1,982	99,728
3	0,014576	0,24293	99,97093
4	0,00163078	0,02718	99,99811
5	8,68	0,0014474	99,9995574



La figura 13 muestra el biplot de ACP, con la representación de los dos primeros ejes. Al analizar los autovalores (cantidad de información que recogen los ejes), el primer eje representa el 97,74 % de la información y de acuerdo con los autovalores (Tabla 2), las variables contribuyen con un peso similar, indicando que con la información contenida en el primer eje, todas las variables están bien representadas. El segundo componente principal nos muestra una asimetría como consecuencia de que una de la variables, la salinidad, que aparece aportando 0.87, seguida del pH con un aporte de 0.32 y del lado negativo, se presenta la conductividad y la profundidad como variables inversas pero, con muy poca magnitud.

La estación DESB se caracterizó por presentar abundante presencia de plantas acuáticas flotantes "Bora" (*Eichornia* sp.) y por tener valores altos de temperatura (28,5 °C), por encima del promedio y valores bajos de pH y OD. DESB 3 presenta la mayor conductividad y profundidad. DESB 1 y 2 predomina la salinidad. Según Del Giogio *et al*. (1991), los valores de pH levemente ácidos en las aguas de una desembocadura suelen deberse al aumento de la descomposición como consecuencia de las descargas de materia orgánica por aguas servidas. La desembocadura del río Yaracuy recibe constantemente las descargas de aguas servidas directamente de la población Boca Yaracuy e indirectamente de otras poblaciones asentadas en los márgenes del río en la parte media y alta. La contaminación por aguas servidas ejerce una fuerte influencia sobre el comportamiento de las variables fisicoquímicas y biológicas como se refleja en este estudio y en muchos otros (ICMSF, 1998).

Los valores de pH y temperatura en la estación GUA 1 presentaron la mayor magnitud de pH, salinidad y OD y la menor conductividad y profundidad. La temperatura crece hacia el lado positivo de primer componente principal en

consecuencia es menor que GUA 2 y GUA 3.

Por otra parte, la salinidad, se presentó asociada al lado posistivo del primer componente principal, como factor importante por su magnitud y cercano a DESB 1 y 2 debido a que son las réplicas de agua tomadas más próximas al mar, mientras que DESB 3, de menor salinidad, es la réplica más alejada del mar. La estación GUA, como ambiente dulceacuícola, no registró salinidad. La salinidad en DESB (2 g/l), contribuyó con la condición de hipoxia presente en aguas de la zona, debido a que existe una relación inversamente proporcional entre la salinidad del agua y el OD (EPA, 2001; WHO, 2006).

El OD presentó un valor promedio de 1,08 mg/l en la DESB, ubicándose por debajo de 5 mg/l que es el valor mínimo considerado para el desarrollo normal de las distintas formas de vida aeróbicas acuáticas (EPA, 2001). Este valor ínfimo de OD explica la escasa presencia de peces en el agua de DESB lo cual representó una dificultad para la captura de los mismos. Bajos niveles de OD están normalmente asociados con niveles importante de materia orgánica presente en el agua lo cual genera las condiciones favorables para el desarrollo de descomponedores que se caracterizan por una alta demanda biológica de oxígeno (Pizarro y Alemanni, 2005).

Otros elementos de carácter cualitativo observados en la DESB asociados a la actividad de organismos descomponedores fue el mal olor en algunas zonas del río y el cambio en la coloración del agua de un marrón claro (próximo al mar) hasta un marrón muy oscuro o negro en las acumulaciones de plantas flotantes "Bora".

La conductividad aparece asociada al lado negativo del segundo componente principal, mostrándose contraria al pH y OD. Presentó sus valores máximos en la DESB, con un promedio de 758 uS/cm. En la estación GUA la variable presentó una media de 235 uS/cm. Se considera que el intervalo de conductividad apropiado para la vida debe ubicarse entre los 50 y 1500 uS/cm (APHA, 1998). En consecuencia, ambas estaciones se encontraban dentro los intervalos ambientalmente apropiados. Sin embargo, es importante resaltar que esta variable normalmente eleva sus valores por la influencia ejercida por la salinidad; además, también se conoce que las descargas de aguas residuales cargadas de materia orgánica y de productos agrícolas pueden modificar las concentraciones de iones en solución elevando artificialmente la magnitud de la variable (EPA, 2001).

7.4 Variables Fisicoquímicas del Agua del río Yaracuy (Trabajo de Campo N°2)

Tabla 3: Parámetros físico-químicos del agua del río Yaracuy (Julio 2013).

Estación	Muestra	Coord.	Temp. (°C)	pH	OD (mg/l)	Turb.	Sal. (g/l)	Cond. (uS/cm)	Trans. (cm)	Prof. (cm)
N°1	1	N 10°34´54.05´´ W 68°14´40.1´´	30,9	6,51	0,07	0,1	2	548	5d 5a	130
Desembocadura 16/07/2013 10:30 am	2	N 10°35´4.1´´ W 68°14´51.9´´	29,7	6,23	0,03	0,1	2	547	8d 5a	130
	3	N 10°35´3.5´´ W 68°14´30.5´´	29,8	6,14	0,05	0,1	4	546	8d 5a	130
N°2	1	N 10°17´40.2´´ W 68°39´33.4´´	25,1	6,42	6,23	0	0	183	30d 30a	30
La Guáquira 17/07/2013 7:30 am	2	N 10°17´65.7´´ W 68°39´59.1´´	25,5	6,68	6,30	0	0	184	40d 40a	40
	3	N 10°17´43.6´´ W 68°39´35.5´´	25,3	6,47	6,32	0	0	182	35d 35a	35

Nota: Temp. = temperatura; OD = oxígeno disuelto; Turb. = turbidez; Sal. = salinidad; Cond. = conductividad; Trans. = Transparencia; Prof.= profundidad.

En julio de 2013, se realiza el segundo muestreo y se miden nuevamente las variables fisicoquímicas del agua (Tabla 3). La medición se ejecuta durante el periodo de "estación lluviosa" correspondiente al intervalo de mayo a noviembre (MARN, 2016) (Figura 4). Las lluvias son un factor que indudablemente afecta los valores medidos en este segundo muestreo.

En la figura 14, se muestra el biplot de ACP, con la representación de los dos primeros ejes. Al analizar los autovalores (Tabla 4), el primer eje recoge el 87,62 % de la información. La temperatura, la profundidad, la conductividad, y la salinidad aparecen con mayor magnitud y asociados al eje positivo del primer componente principal. Estos valores están vinculados a la estación DESB. Como variables asociadas al eje negativo del primer componente principal aparecen el pH y el OD. En consecuencia, estas variables tienen mayor magnitud hacia la estación GUA.

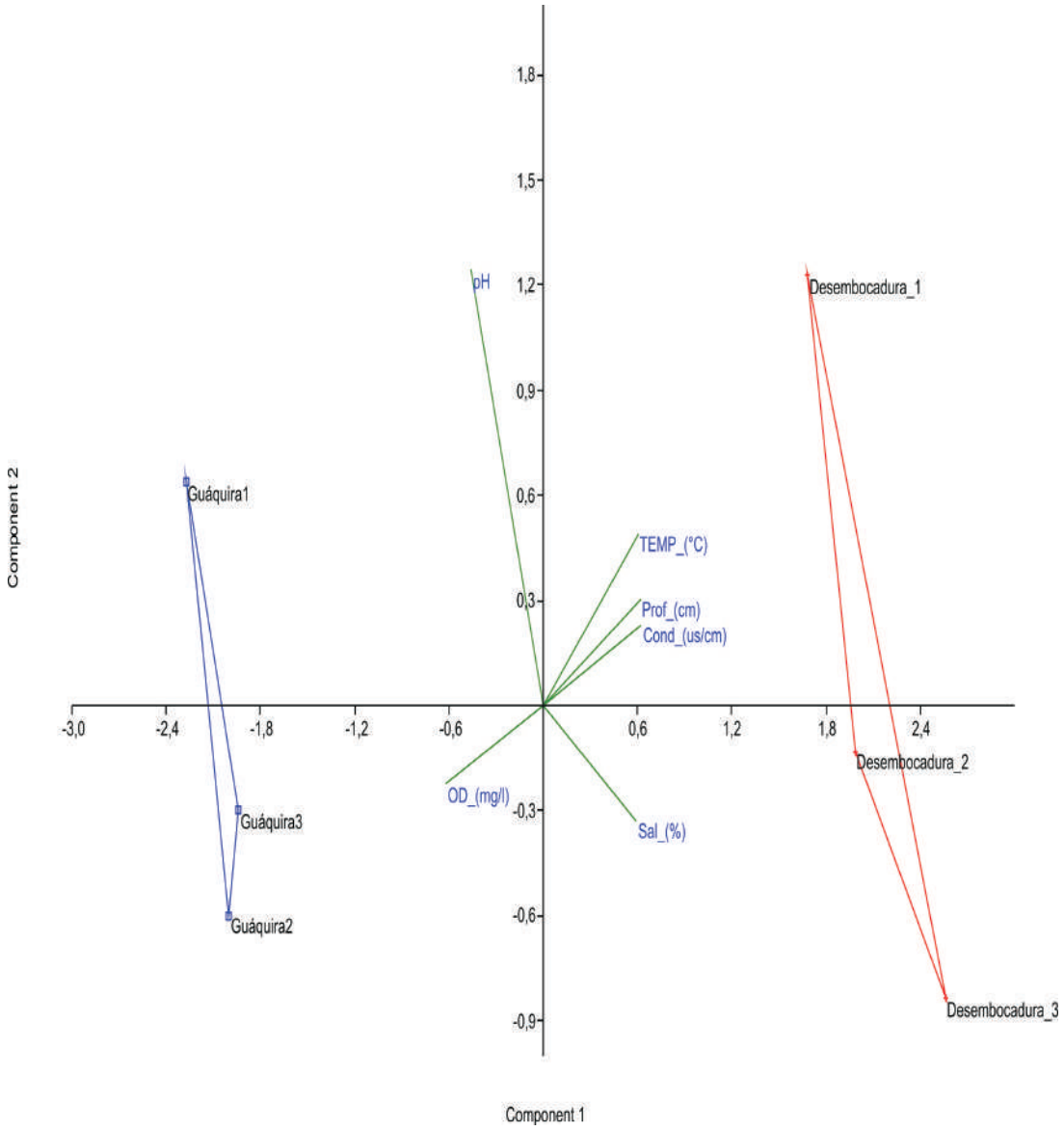
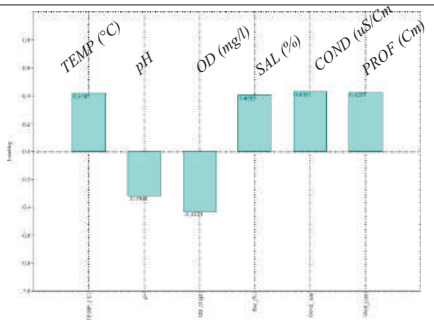


Figura 14. **Biplot de variables fisicoquímicas del agua del río Yaracuy (Julio 2013).** Salida: PAST.

Tabla 4: Autovalores y Autovectores de variables fisicoquímicas del agua (Julio 2013). Salida: PAST.

Autovalores			
PC	Eigenvalue	%variance	%Acumulado
1	5,25702	87,617	87,617
2	0,617215	10,287	97,904
3	0,113735	1,8956	99,799
4	0,00997985	0,16633	99,96533
5	0,00205077	0,034179	99,999509



Como se aprecia en el biplot de la figura 14, los valores fisicoquímicos son más heterogéneos en la estación DESB que en la estación GUA. La temperatura fluctuó entre 29,7 y 30,9 °C en la estación DESB, mientras que en la estación GUA, la temperatura varió de 25,1 a 25,5°C. En ambas estaciones la temperatura se presentó más elevada en comparación al primer muestreo. El pH presentó valores entre 6,14 y 6,51 para la DESB (ligeramente ácido) y de 6,23 a 6,32 para la GUA (también ligeramente ácido).

El OD presentó un valor promedio de 0,15 mg/l en la DESB, siendo un valor mucho menor a la medición del primer muestro de 1,08 mg/l y muy por debajo de 5 mg/l que es el valor mínimo considerado para el desarrollo normal de las distintas formas de vida aeróbicas acuáticas (EPA, 2001; WHO, 2006).

La conductividad para la DESB presentó una magnitud inferior (547 uS/cm) en relación a la medición hecha en el primer muestreo (758 uS/cm). En GUA la conductividad también resultó inferior (183 uS/cm) en relación al primer muestreo (235 uS/cm). Esta disminución en los valores de conductividad en ambas estaciones posiblemente se deba a que las mediciones se realizaron en la "estación lluviosa" y esta condición altera la concentración de iones disueltos en solución y de los cuales depende la magnitud de la conductividad.

Por otra parte, la salinidad, se presentó asociada al lado positivo del primer componente principal, con importante magnitud y cercana a DESB 2 y 3 (3 g/l). La salinidad en DESB contribuyó con la condición de hipoxia presente en aguas de la zona, debido a que existe una relación inversa entre la salinidad del agua y el OD (EPA, 2001; WHO, 2006). Además, las descargas de aguas residuales portadoras de materia orgánica y de productos agrícolas suelen modificar las concentraciones de sales disueltas elevando artificialmente la magnitud de la variable (EPA, 2001). La estación GUA, como ambiente dulceacuícola, no registró salinidad.

En relación a la profundidad, en ambas estaciones, las muestras de agua fueron tomadas de forma estandarizada a 30 cm de la superficie, sin embargo, en cada punto donde se realizó la réplica la profundidad del río era variable y son los valores de profundidad que se reflejan en la tabla 3. Entonces tenemos que la estación DESB presentó una media para la profundidad del río de 1,30 cm mientras que la estación GUA refleja un promedio de profundidad de 35 cm.

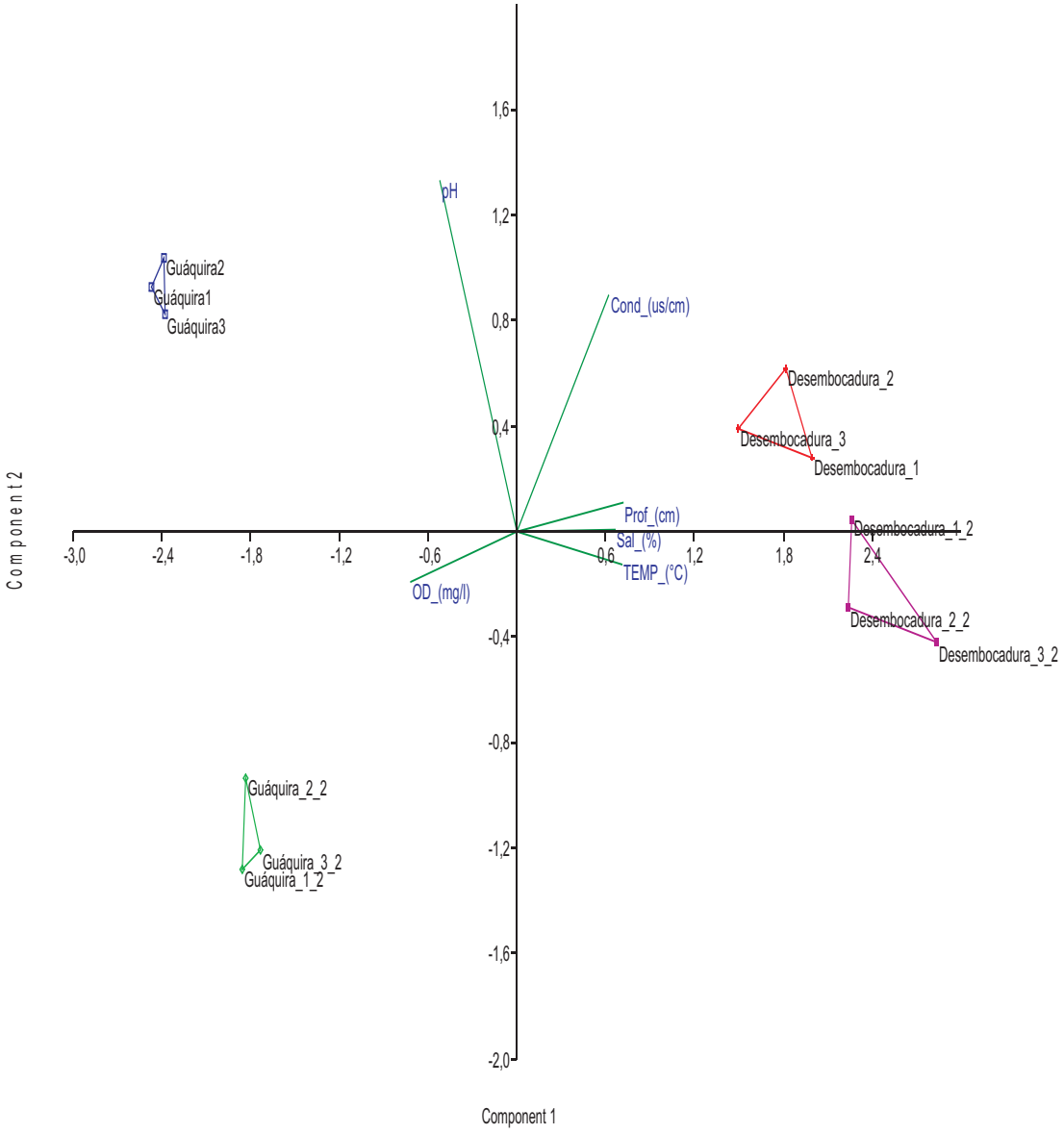
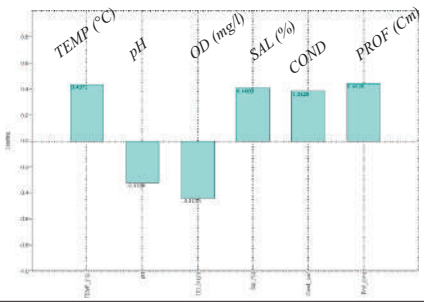


Figura 15. **Biplot de variables fisicoquímicas del agua del río Yaracuy en ambos trabajos de campo (Diciembre 2012 y Julio 2013) .** Salida: PAST.

Tabla 5: Autovalores y Autovectores de variables fisicoquímicas del agua (Diciembre 2012 y Julio 2013). Salida: PAST.

Autovalores			
PC	Eigenvalue	% variance	% Acumulado
1	5,00254	83,376	83,376
2	0,679244	11,321	94,697
3	0,218035	3,6339	98,3309
4	0,0879198	1,4653	99,7962
5	0,00835702	0,13928	99,93548
6	0,00390259	0,065043	100,000523



En la comparación (Sitio-Momento) en la figura 15, en el gráfico biplot de todas las variables fisicoquímicas medidas en las 2 estaciones y 2 temporadas, el primer eje representa el 83,376 % de la información. Se observó que en la estación DESB, las variables conductividad, profundidad, temperatura y la salinidad presentaron valores más altos y aparecen asociadas eje positivo del segundo componente principal y los valores fueron más homogéneos en las réplicas de muestra que en la primera salida de campo.

En el trabajo de campo 1, en la estación GUA, la variable predominante fue el pH (Diciembre 2012), no siendo así en el trabajo de campo 2, (Julio 2013). La conductividad es mucho mayor en la estación DESB, condición frecuentemente asociada a un ambiente de agua salobre por su alto contenido de sales disueltas.

En la estación DESB predominan las variables: profundidad, temperatura y salinidad. La estación GUA presentó valores de pH muy distintos en los diferentes momentos. Para la primera muestra los valores fueron ligeramente alcalinos mientras que en el segundo muestreo los valores fueron ligeramente ácidos. En la DESB los valores de pH se presentaron ligeramente ácidos en ambos muestreos. En DESB, la materia orgánica presente producto de la contaminación antrópica influye sobre la concentración de iones en solución inclinando los valores de pH hacia la acidez.

La concentración de OD en el agua, estación DESB, aparece vinculado al eje negativo del componente principal y destacó por presentar un intervalo de valores entre 0,05 mg/l y 1,08 mg/l muy por debajo de los 5 mg/l requeridos para el desarrollo de la vida aeróbica (EPA, 2001; WHO, 2006) y también por debajo de los 4 mg/l establecido como límite mínimo en el decreto 883, artículo 4, para aguas Tipo 1, (Gaceta Oficial, 1996). Los bajos valores o las marcadas fluctuaciones en el OD del agua de la desembocadura del río Yaracuy, permitieron calificarla como aguas eutróficas. Estas aguas se caracterizan por presentar períodos de escasez de oxígeno que muchas especies de peces y otros organismos, frecuentemente no toleran (Atlas y Bartha, 2002).

Es bien conocido que, la contaminación con fósforo y nitrógeno, que provienen frecuentemente de la actividad agrícola, están asociados con el problema de la eutrofización de la superficie del agua en lagos y ríos (Fisher y Reddy, 2001). Los efectos de este fenómeno han sido reportados y destacan entre ellos: la mortandad de

peces y la proliferación de algas y de plantas flotantes (Meyer y Koster, 2000). Las aguas de la desembocadura del río Yaracuy contemplaron todas las características descritas para aguas eutróficas presentadas previamente. En este sentido, un elemento resaltante de de la presencia del fenómeno de la eutrofización en la estación DESB fua la abundante y permanente presencia de plantas acuáticas flotantes "Bora" (*Eichornia* sp.) tanto en el primer muestreo de Diciembre 2012 durante la "estación seca" como en el segundo muestreo de Julio 2013 en la" estación lluviosa".

En relación a la salinidad, los valores se diferenciaron significativamente entre las localidades. La desembocadura del río Yaracuy, por ser un sistema estuarino, presentó fluctuaciones marcadas en la salinidad, dicha variación dependió de factores como la interacción e intercambios permanentes entre el mar y el río y de las aguas servidas provenientes de la población Boca Yaracuy. La salinidad de las aguas superficiales estuarinas está sometida a variaciones que dependen del drenaje de las aguas, el intercambio con las zonas terrestres, cambios atmosféricos, de las precipitaciones, de la evaporación, de influencia directa del océano, el equilibrio de los sedimentos y la actividad humana (Wetzel, 1983). Es importante destacar que las aguas marinas se caracterizan por presentar una cantidad de iones en solución mucho mayor que el agua dulce, en consecuencia, cuando se produce un intercambio en sistemas estuarinos, aumentan los iones en solución y por ende se elevan los valores de salinidad y conductividad (Malaver *et al*. 2012). En zonas de agua dulce, como la estación de muestro La Guáquira, donde no ocurre un intercambio directo con con aguas marinas, no se registraron los valores para la salinidad.

La temperatura del agua influye sobre todas las comunidades microbianas acuáticas, debido a que la actividad de estos organismos depende de un óptimo de temperatura, que influye en la variación de las reacciones enzimáticas que regulan y controlan su metabolismo. Cuando un ambiente acuático presenta intervalos de temperatura entre 20-40 °C, se refleja inmediatamente en el gran número de microorganismos aislados en organismos acuáticos mientras que en mediciones hechas en peces colectados en aguas frías, menos de 10 °C, la ausencia de microorganismos es casi total (IOM, 1991).

En este estudio, la temperatura presentó variaciones espaciales y temporales. Al respecto, Reid y Wood (1976) plantean que las oscilaciones de la temperatura guardan una estrecha relación con la profundidad a la cual fue medida, la hora de registro y el

flujo de la corriente. Las estaciones de sequía y lluviosidad, también se relacionan con la variaciones de temperatura (Malaver *et al*. 2012).

En este sentido, los intervalos de temperatura media registrados en la primera estación de muestreo DESB oscilaron entre los 28, 5 °C (1° trabajo de campo) y 30 °C (2° trabajo de campo), mientras que los intervalos de temperatura media para la segunda estación de muestreo GUA oscilaron entre los 24, 4 °C (1° trabajo de campo) y 25, 3 °C (2° trabajo de campo), en consecuencia, la temperatura para ambas estaciones se ubicaba dentro de los valores óptimos para el desarrollo microbiológico y el efecto se observó claramente en los altos valores de abundancia bacterina en agua y en tejido intestinal de los peces de la cuenca del río Yaracuy expresado en el orden de 10^{11} UFC/100 ml. Estos resultados coinciden con las afirmaciones de Guzmán *et al*. (2004) y Marín *et al.* (2009), cuando señalan que la concentración bacteriana en los diferentes tejidos y órganos de los peces varía considerablemente de una especie a otra y su variación suele estar influenciada por factores como la temperatura y el pH, que en condiciones óptimas, favorecen la supervivencia bacteriana y estimulan su multiplicación. En consecuencia, los parámetros OD, temperatura, pH y salinidad fueron determinantes para la composición y abundancia bacteriana medidos en el agua del río Yaracuy y en el tejido intestinal de los peces silvestres de la cuenca, en las dos estaciones de muestro y en las dos épocas de medición.

Además, se debe tomar en consideración que factores exógenos como la contaminación por aguas servidas en la estación DESB proveniente de la población Boca Yaracuy y la afluencia de turistas en la misma zona de muestreo como consecuencia de los asuetos vacacionales de diciembre y julio, coincidentes con esta investigación, también fueron tomados en consideración en relación a su influencia sobre las mediciones hechas. En este sentido, EPA (2001) señala que las aguas residuales cargadas de materia orgánica y de productos agrícolas tienen una influencia considerable sobre los valores de parámetros fisicoquímicos del agua como salinidad, conductividad, pH y OD; debido a que modifican las concentraciones de iones en solución alterando artificialmente las variables medidas, aunado al aporte colateral de patógenos bacterianos que también se introducen con el fenómeno de las aguas servidas.

7.5 Abundancia y Composición Bacteriana (Trabajo de Campo N°1)

Tabla 6: Matriz de Abundancia bacteriana expresada en UFC/100ml x 10^{11} presente en intestino de peces silvestres, en la Estación Desembocadura del río Yaracuy (11/12/2012).

Bacterias	Especies de Peces														
	ROB 1.1	ROB 1.2	ROB 1.3	AGU 1.1	AGU 1.2	AGU 1.3	SP 1.1	SP 1.2	SP 1.3	GUA 1.1	GUA 1.2	GUA 1.3	AG 1.1	AG 1.2	AG 1.3
Citrobacter sp.	8,8	5,1	3,6	8,9	1,6	35	0,7	3,4	3	3,9	7,9	11	14	6	4,5
S. marcescens	4,6	0,7	0,3	7,1	18,5	13	0,3	0,7	2,7	19,2	12	9	5,1	7,3	0,9
Proteus sp.	1,2	2,8	3,6	2,5	2,8	2,4	0,4	2	2,6	0,9	1,3	0,9	1,5	1,8	3,2
E. aerogenes	0,4	1,2	1	0,6	0,4	0,4	0,2	0,6	0,4	0,5	1,2	0,7	1,3	1,1	1,5
Escherichia coli	1,7	1,4	1,3	1,4	1,5	1,1	0,3	1,1	0,5	1,8	1,6	1,5	3,4	1,7	1,2
Shigella sp.	0,3	0,5	0,4	0,6	0,3	0,4	0,2	0,5	0,4	0,6	0,3	0,4	0,6	0,8	0,8
Klebsiella sp.	0,3	0,3	0,5	0,5	0,6	0,5	0,2	0,6	0,3	0,5	0,8	0,5	0,9	1	2
Salmonella sp.	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,4	0,1	1,1
Pseudomonas sp.	0,7	0,5	0,3	0,2	1,1	1	0	0,3	0,8	0,2	0,4	0,2	0,5	0,3	0,8
Vibrio cholerae	1,6	0,6	1,9	0,2	0	0,3	0,5	1,3	0,8	2,3	2,4	2,2	1,2	1,5	1,1
V. parahaemolyticus	1,8	0,7	3,6	0,9	2,2	0,8	0,7	1,2	1,5	2,4	1,4	3,2	3,1	2,8	2,2
V. alginolyticus	0	0,8	0	0,9	0,6	0,5	1	0,8	0,3	1,1	0,9	1,4	1,9	2,1	1,2

Nota: ROB = Róbalo (*Centropomus undecimalis*); AGU = Aguja (*Syngnathus acus*); SP = San Pedro (*Caquetaia kraussii*), GUA = Guabina (*Hoplias malabaricus*); AG =Agua del río

Nota: Los datos presentados en esta matriz fueron procesados estadísticamente a continuación a través del sistema PRIMER V6.

Tabla 7: Matriz de Abundancia bacteriana expresada en UFC/100ml x 10^{11} presente en intestino de peces silvestres en la Estación La Guáquira del río Yaracuy (12/12/2012).

Bacterias	Especies de Peces															
	SAR 1.1	SAR 1.2	SAR 1.3	AGU_2 1.1	AGU_2 1.2	AGU_2 1.3	COR 1.1	COR 1.2	COR 1.3	VIE 1.1	VIE 1.2	VIE 1.3	UÑ 1.1	UÑ 1.2	AG 1.1	AG 1.2	AG 1.3
Citrobacter sp.	2,8	4	10,5	0	0	0	8	7,1	11.2	2,5	2,7	2,9	2,6	2,9	2,9	7	3,3
S. marcescens	19	2,1	8,1	0	0	0	18,9	13,8	2,2	3,6	3,8	1,8	2,1	0,4	0,9	6,4	1,1
Proteus sp.	0	0	0	1,4	1	2,1	2,2	1,3	0,8	1,1	0,6	0,5	1,6	1,8	4,2	3,9	3,2
E. aerogenes	1	1,3	0,8	0,4	1,1	0,6	0,8	0,5	1,1	0,9	0,7	1,1	1,4	1,2	0,9	0,7	0,8
Escherichia coli	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Shigella sp.	0	0	0	1,1	1,4	1,6	0,4	0,2	0,3	0,4	0,4	0,3	0,5	0,6	0,3	0,3	0,2
Klebsiella sp.	3	3	2	0	0	0	2,5	3	4,7	0,3	3,5	1,5	2,7	3	0,5	0,1	0,4
Salmonella sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pseudomonas sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Vibrio cholerae	1,1	1,6	1,8	1,2	1,6	2,3	1,8	1,3	1	2	1,5	1,7	3,2	1,7	1,5	1,5	1,1
V. parahaemolyti.	0,5	1,7	0,6	3	4,4	2,6	2,2	0,8	0,7	2,2	2,6	1,6	1,9	0,5	2,6	2,6	0,6
V. alginolyticus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Nota: SAR = Sardina (*Astyanax metae*); AGU_2 = Aguja 2 (*Farlowela martini*); COR = Corroncho (*Chaetostoma yurubiense*), VIE = Viejita (*Andinoacara pulcher*); UÑ = Uñoa (*Ancistrus gymnorhynchus*); AG = agua del río.

Nota: Los datos presentados en esta matriz fueron procesados estadísticamente a continuación a través del sistema PRIMER V6.

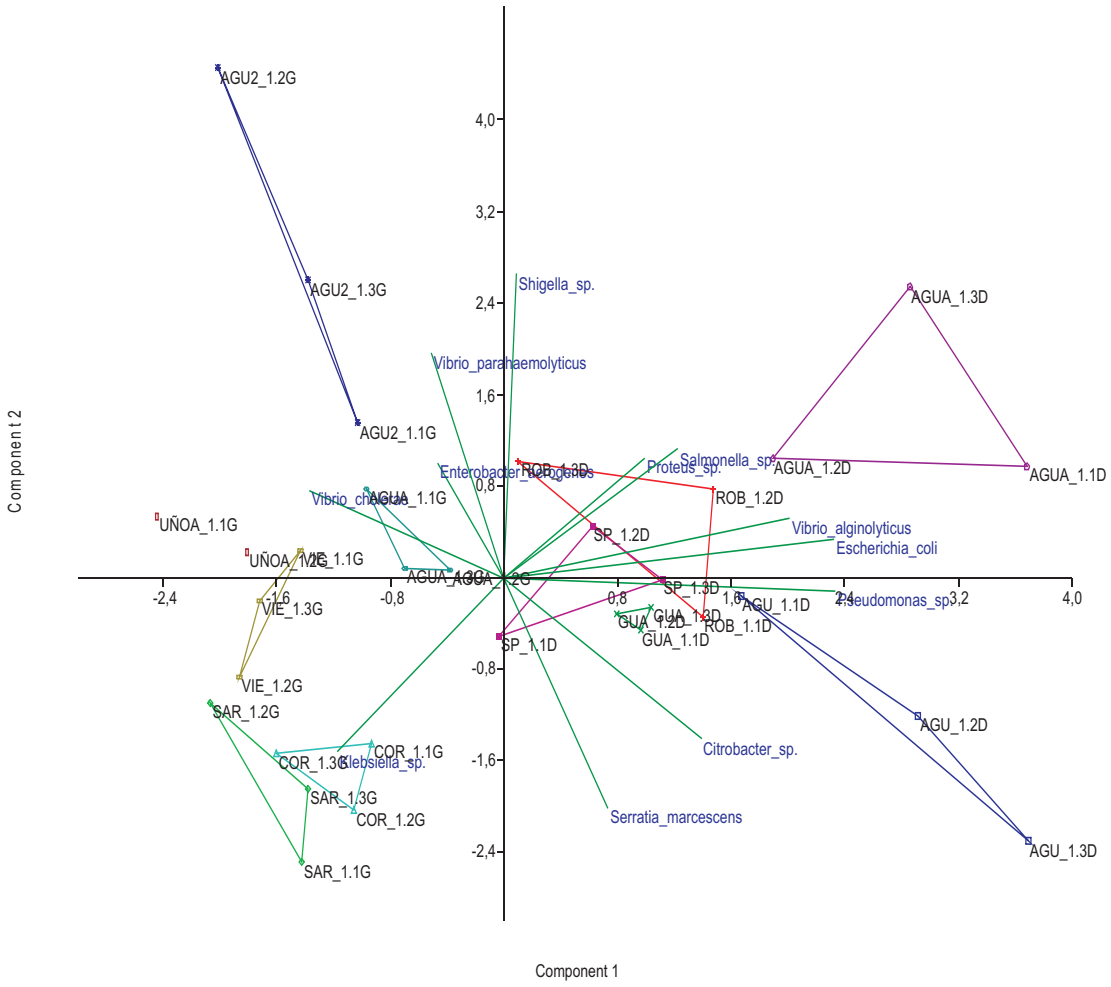
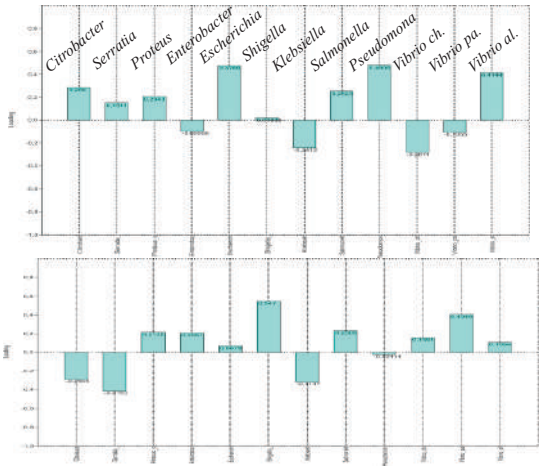


Figura 16. **Biplot de abundancia y composición bacteriana en tejido intestinal de peces (Diciembre 2012) .** Salida: PAST.

Tabla 8: Autovalores y Autovectores (eje 1 y 2) de abundancia y composición bacteriana en tejido intestinal de peces (Diciembre 2012) . Salida: PAST.

Autovalores			
PC	Eigenvalue	% variance	% Acumulado
1	3,15426	26,286	26,286
2	2,18118	18,177	44,463
3	1,74666	14,556	59,019
4	1,20272	10,023	69,042
5	0,910307	7,5859	76,6279
6	0,763072	6,3589	82,9868
7	0,609476	5,079	88,0658
8	0,495864	4,1322	92,198
9	0,398709	3,3226	95,5206
10	0,28421	2,3684	97,889
11	0,141893	1,1824	99,0714
12	0,111643	0,93036	100,00176



Se realizó un análisis de componentes principales para las variables biológicas constituidas por la abundancia y composición bacteriana presente en las muestras de tejido intestinal de las especie de peces de la cuenca, obtenidos en las dos estaciones de muestreo (Estación DESB y Estación GUA) del río Yaracuy.

El eje 1 del componente principal representa un 26% de la variación total, el eje 2 recoge un 18% y el eje 3 representa el 14% (Tabla 8). Del análisis del biplot se desprende que en asociación al eje positivo del primer componente principal aparecen con mayor abundancia las bacterias *Citrobacter*, *Serratia marcescens*, *Proteus*, *Escherichia coli*, *Vibro alginolyticus*, *Shigella, Pseudomonas y Salmonella* vinculadas directamente a las especies de peces Róbalo (*Centropomus undecimalis*), Aguja (*Syngnathus acus*), Guabina (*Hoplias malabaricus*), San Pedro (*Caquetaia kraussii*) y al agua de la estación DESB (Figura 16).

Por otro lado, en asociación con el eje positivo del segundo componente principal destacan por su abundancia *Enterobacter aerogenes*, *Proteus*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Shigella* vinculadas directamente a las especies de peces Sardina (*Astyanax fasciatus*), Aguja$_2$ (*Farlowella martini*), Corroncho (*Chaetostoma yurubiense*), Viejita (*Andinoacara pulcher*), Uñoa (*Ancistrus gymnorhynchus*) y al agua de la estación GUA (Figura 16).

En la estación DESB destaca la abundacia de las especies bacterinas *Citrobacter*, *Serratia marcescens*, *Proteus*, *Escherichia coli* presentes en el agua y en el contenido intestinal de todas las especies de peces. *E. coli* es un indicador estandard y universal de contaminación por aguas servidas cargadas con materia fecal (APHA, 1995). En consecuencia, la presencia de *E. coli* en el agua de la DESB y en el contenido intestinal de las distintas especies de peces refleja contaminación fecal de origen antrópico. Además, como *E. coli* no es un habitante normal de la flora bacteriana de los peces (Hejkel, 1983). su presencia, frecuentemente revela alteraciones en las condiciones microbiológicas del agua (Abbott, 2007; Nataro *et al*. 2007).

Según Navarrete (2009) una importante incidencia de *E. coli* en tejido peces en ambientes naturales normalmente se debe a desechos humanos, sin embargo, no se debe descartar la posibilidad de contaminación por estiércol animal (aves inclusive). En el caso particular de la estación DESB, la contaminación fecal de origen antrópico se origina por dos vía diferentes, una proviene permanentemente de las aguas servidas que

la población Boca Yaracuy descarga en las aguas del río y la otra, es temporal e intermitente, debido a que depende de la llegada de turistas a la zona por los asuetos vacacionales. La contaminación de las aguas de la estación DESB por estiércol de origen animal, tampoco fue descartada, debido a que en la zona se aprecian algunos desarrollos pecuarios. En la estación GUA se detectó un porcentaje muy reducido de *E. coli.* posiblemente de origen humano, debido a que estas aguas se emplean eventualmente como recreativas (balneario).

La especie *Serratia marcescens* se registró en agua y en tejido intestinal de todos los peces observados en ambas estaciones de muestreo y en los dos momentos. Esta bacteria es considerada oportunista y ha sido aislada sólo de peces aparentemente sanos. Se presume, por tanto, que este tipo de microorganismo pudiera ser un componente natural del microbiota intestinal de peces (Baya *et al*. 1992c)

Las especies bacterianas *Citrobacter y Proteus* presentes de manera importante en el agua y el contenido intestinal de peces de ambas estaciones, son microorganismos que frecuentemente se les asocia con ambientes cargados de materia orgánica, con aguas que están sufriendo procesos de eutrofización (Murchelano y Brown, 1970). La estación DESB particularmente, reúne muchas características que permiten calificar sus aguas como eutróficas dentro de las que destacan: el OD es muy bajo (1 mg/l), presencia abundante de plantas flotantes, fuerte olor a materia orgánica en descomposición y escasa presencia de peces.

Las bacterias *Shigella, Pseudomonas y Salmonella* están presente de manera importante en la estación DESB. El registro de patógenos entéricos clásicos tanto en el agua como en los organismos acuáticos presentes en ella es un indicador reconocido de contaminación con estiércol o con aguas servidas (Rozen y Belkin, 2001; Germini *et al*. 2009). Las bacterias *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus yEnterobacter aerogenes*, aparecen asociadas al eje positivo del segundo componente principal con presencia importante en la estación GUA. Las especies de *Vibrio* están muy difundidas en aguas cuya temperatura supera los 15 °C (Abbott *et al.* 2007; Seas y Gotuzzo , 2010; Neill y Carpenter. 2010). Sin embargo, requieren una concentración particular de cloruro sódico de 2 al 3 % (ICMSF, 1998). En la estación GUA, no se registró salinidad en el agua (0 g/l), en consecuencia, la presencia de *Vibrio* en el contenido intestinal de los peces pudiera atribuirse a contaminación previa (De Paola *et al*. 1994). *Enterobacter aerogenes* es una bacteria ubicua en el ambiente, se encuentra de forma natural en suelo, agua y excrementos humanos y animales (Koneman *et al*., 2002).

7.6 Abundancia y Composición Bacteriana (Trabajo de Campo N°2)

Tabla 9: Matriz de Abundancia bacteriana expresada en UFC/100ml x 10^{11} presente en intestino de peces de la cuenca en la Estación Desembocadura del río Yaracuy (16/07/2013).

Bacterias	Especies de Peces														
	ROB 1.1	ROB 1.2	ROB 1.3	AGU 1.1	AGU 1.2	AGU 1.3	SP 1.1	SP 1.2	SP 1.3	GUA 1.1	GUA 1.2	GUA 1.3	AG 1.1	AG 1.2	AG 1.3
Citrobacter sp.	81,5	3,6	4,2	2,3	1,4	2,1	14	1,6	3,2	0,8	0,7	1,9	1,7	1,3	1,2
S. marcenscens	0,2	2	1,8	2,9	0,9	1,4	16,	1,5	0,3	2,7	1,1	0,9	2,5	0,9	0,6
Proteus sp.	3,3	3,1	6,4	1,1	1,9	3,7	2	1,8	3,9	1,8	2,6	5,8	1,5	0,9	0,6
E. aerogenes	0,6	0,4	0,4	0,5	0,4	0,5	7,5	0,9	0,5	0,3	1	0,3	1,4	1	0,6
Escherichia coli	0,9	0,5	1,3	1,4	2	0,7	0,9	1,6	0,5	3,2	1,3	1,4	1,5	1,8	0,5
Shigella sp.	0,8	0,3	7,6	19	1	1,6	0,4	1,1	3,4	1,5	1,9	2,1	0,5	1,5	2,4
Klebsiella sp.	0,3	0,2	0,6	0,4	0,2	0,1	4	0,1	0,5	0,3	0,1	0,4	0,2	0,1	0,1
Salmonella sp.	0	0,2	0,3	0	0	0	0,3	0	0	0	0,3	0,2	0,4	0,3	0,4
Pseudomonas sp.	0,3	1	0,9	0,7	0,8	1,1	0	1	0,7	1,1	1,1	0,8	2,1	0,5	0,3
Vibrio cholerae	1,6	1,6	1,9	1,2	1,6	4,3	1,2	1,3	5	3,7	5,3	7	5,8	0,1	7,9
V. parahaemolyticus	1	1,7	3,6	3	4,4	2,6	1,8	0,8	1,1	1,2	2,7	6	3,5	0,9	3,4
V. alginolyticus	1,6	1,4	1,8	4,2	3,1	1,7	2,2	1,7	3,2	1,9	2,2	2,6	2,6	1,8	2,1

Nota: ROB = Róbalo (*Centropomus undecimalis*); AGU = Aguja (*Syngnathus acus*); SP = San Pedro (*Caquetaia kraussii*), GUA = Guabina (*Hoplias malabaricus*); AGUA = agua del río.

Nota: Los datos presentados en esta matriz fueron procesados estadísticamente a continuación a través del sistema PRIMER V6.

Tabla 10: Matriz de Abundancia bacteriana expresada en UFC/100ml x 10^{11} presente en intestino de peces silvestres en la Estación La Guáquira del río Yaracuy (17/07/2013).

Bacterias	Especies de Peces																	
	SAR 1.1	SAR 1.2	SAR 1.3	VIE 2.1	VIE 2.2	VIE 2.3	X 2.1	X 2.2	X 2.3	GUA 2.1	GUA 2.2	GUA 2.3	BA 2.1	BA 2.2	BA 2.3	AG 2.1	AG 2.2	AG 2.3
Citrobacter sp.	41	8	10,8	12,5	61,8	8,9	1,5	1,8	2,1	22,3	3,3	4,1	41	8	10,8	51,2	43,2	37,3
S. marcescens	32,8	21	9,1	24,3	51,4	14,7	2	0,8	2,4	1,2	3,1	0,9	32,8	21	9,1	34,3	31,1	29,2
Proteus sp.	0	0	0	0	0	0	3,8	2,2	6,8	0,6	1,2	1,5	0	0	0	0	0	0
E. aerogenes	0,4	0,7	0,6	1,3	1,2	1,1	0,8	0,3	0,6	2,1	0,9	0,5	0,8	1	1,1	2,1	0,9	0,3
Escherichia coli	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Shigella sp.	0,8	0,3	0,1	0,2	0,3	0,1	0,6	0,2	0	0,9	0	0	0,3	0,3	0,1	0	0,6	0,3
Klebsiella sp.	0,3	0,5	0,1	1,2	0,4	1,3	1	0,2	0,6	0	1,2	0	1,4	0,2	0,6	0	0,8	0,7
Salmonella sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pseudomonas sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Vibrio cholerae	2,9	2,8	1,4	2,9	1,8	0,8	1,4	2,2	3,1	0,9	0,6	3,7	3,6	1,4	2,7	4,5	2,3	3,1
V. parahaemolyticus	17,2	2,3	1,1	0,8	2,6	1,3	1,8	13	1,8	1,5	2,2	1,5	1	1,3	1,4	1,1	0,7	0,9
V. alginolyticus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Nota: SAR = Sardina (*Astyanax metae*); VIE = Viejita (*Andinoacara pulcher*);
X = Voladorita (*Parodon apolinari*), GUA = Guabina (*Hoplias malabaricus*); BA = Bagre (*Ancistrus gymnorhynchus*);

Nota: Los datos presentados en esta matriz fueron procesados estadísticamente a continuación a través del sistema PRIMER V6.

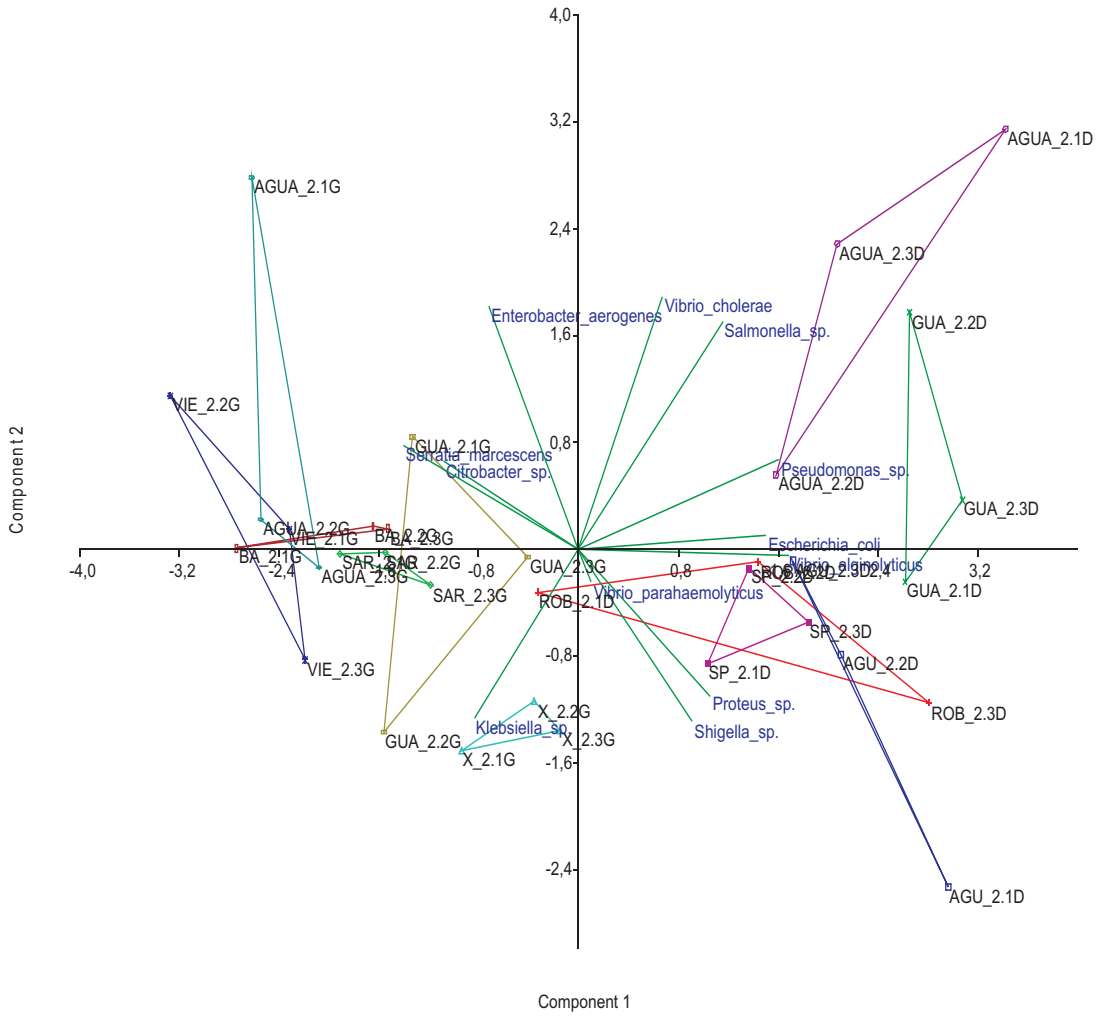
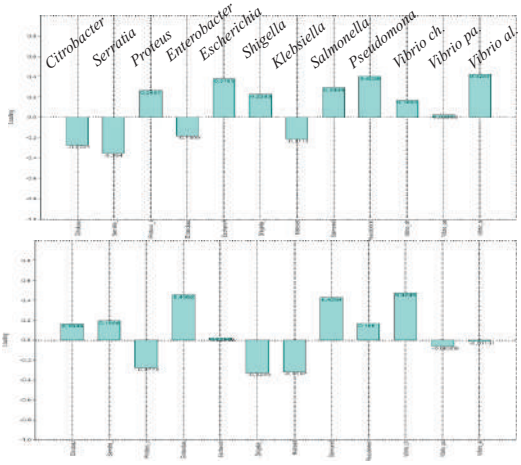


Figura 17. **Biplot de abundancia y composición bacteriana en tejido intestinal de peces (Julio 2013) .** Salida: PAST.

Tabla 11: Autovalores y Autovectores (eje 1 y 2) de abundancia y composición bacteriana en tejido intestinal de peces (Julio 2013) . Salida: PAST.

Autovalores			
PC	Eigenvalue	% variance	% Acumulado
1	4,32645	36,054	36,054
2	1,44464	12,039	48,093
3	1,32332	11,028	59,121
4	1,14119	9,5099	68,6309
5	0,934209	7,7851	76,416
6	0,761921	6,3493	82,7653
7	0,630509	5,2542	88,0195
8	0,535619	4,4635	92,483
9	0,397327	3,3111	95,7941
10	0,262561	2,188	97,9821
11	0,16505	1,3754	99,3575
12	0,0772098	0,64342	100,00092



En julio de 2013, un segundo muestreo en la cuenca del río Yaracuy, presentó características fisonómicas cambiantes en la ictiofauna, debido a la presencia de la estación lluviosa, cuyo intervalo está comprendido entre mayo a noviembre (MARN, 2016). La influencia de lluvias torrenciales produciendo aumentos súbitos tanto en los niveles de agua como en la velocidad de la corriente produjo una condición que diezmó la población de peces "chupa piedra" o "corronchos" muy abundantes en el primer muestreo. La presencia-ausencia de especies en la toma de muestras tiende a generar distorsiones en los cálculos. Para evitar tales distorsiones, en este estudio se trabajó con una matriz de correlación para construir el biplot del análisis de componentes principales de las variables biológicas y de este modo evitar las alteraciones de presencia-ausencia de especies y además, eliminar las diferencias de escala.

El primer eje de los componentes principales acumuló un 36,05% de varianza, seguido de un segundo eje con 12,03% y un tercer eje con 11,02% (Tabla 11). En el primer eje destacaron, dentro de la mcribiota bacteriana, *Proteus*, *Escherichia coli*, *Shigella, Salmonella, Pseudomonas, Vibro cholerae y Vibro alginolyticus*, vinculadas directamente a las especies de peces Róbalo (*Centropomus undecimalis*), Aguja (*Syngnathus acus*), Guabina (*Hoplias malabaricus*), San Pedro (*Caquetaia kraussii*) y al agua de la estación DESB (Figura 17).

Del lado contrario, se registró en el segundo eje del componente principal: *Serratia marcescens, Citrobacter, Enterobacter aerogenes y Vibrio cholerae* vinculadas directamente a las especies de peces tales como Sardina (*Astyanax fasciatus*), Viejita (*Andinoacara pulcher*), Voladora (*Parodon apolinari*), Guabina (*Hoplias malabaricus)* y Bagre (*Cetopsorhamdia* sp.) y al agua de la estación GUA.

En la estación DESB nuevamente destacan las bacterias *Proteus*, *Escherichia coli*, *Shigella, Salmonella y Pseudomonas* patógenos entéricos considerados microoganismos indicadores clásicos de contaminación con estiércol o con aguas servidas (Rozen y Belkin, 2001; Germini *et al*. 2009). La presencia de *Vibro cholerae y Vibro alginolyticus*, tiene una vinculación directa con el aumento de la salinidad en la zonas costera (Fontánez, 2005). En la estación GUA destacan *Serratia marcescens, Citrobacter, Enterobacter aerogenes* son bacterias más ubicuas en la naturaleza y pueden encontrarse de forma natural en casi cualquier ambiente (Koneman *et al*. 2002; Abbott, 2007; Nataro *et al*. 2007).

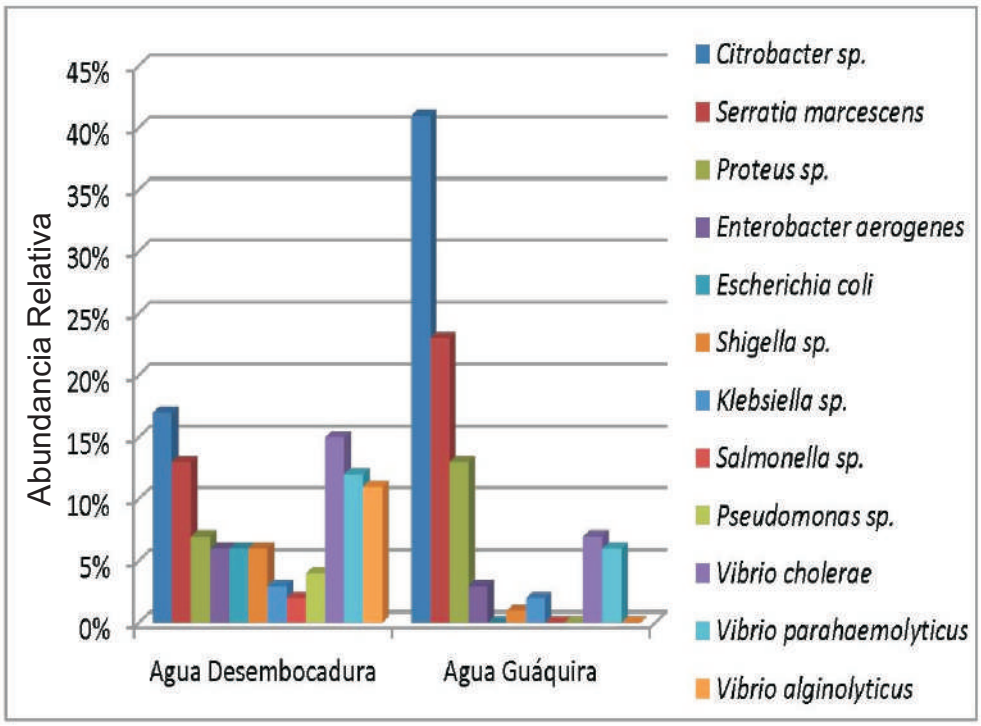


***Figura 18.*. Abundancia bacteriana relativa promedio en Agua de la Estación Desembocadura comparada con la Estación La Guáquira del río Yaracuy.**

Las bacterias del género *Citrobacter* sp. se presentaron como dominantes en el medio acuático, seguido por la especie *Serratia marcescens*. El género *Citrobacter* resalta por su mayoritaria presencia con 29% de promedio en agua del río Yaracuy. 41 % en estación GUA y 17 % en estación DESB (Figura 18).

La especie *Serratia marcescens* se registró en este con una presencia importante de 18% en agua. Esta especie bacteriana anaerobia facultativa es considerada oportunista y se presenta en el agua y en el tejido intestinal de todos los peces observados en ambas estaciones de muestreo. Según Baya *et al*. (1992c), estos microorganismos han sido aislados sólo de peces aparentemente sanos y que carecían de signos manifiestos de enfermedad. Se presume, por tanto, que este tipo de microbiota bacteriana pudiera ser un componente natural del microbioma que acompaña a estos seres vivos.

El género *Klebsiella* fue regitrado en esta investigación, con una presencia modesta de 3% en agua. Según Koneman *et al*. (2002), este género bacteriano está ampliamente distribuido en la naturaleza y en el tracto gastrointestinal de humanos y de muchos animales. Particularmente, la especie *Klebsiella pneumoniae,* puede ser frecuentemente aislada en especímenes de diversas especies de organismos y sólo en condiciones extremas, pudiera causar una forma clásica de neumonía primaria.

Tabla 12: Lista de especies bacterianas ubicados taxonómicamente por Familia, Género o Especie y Abundancia Relativa bacteriana por sustrato (Tejido y Agua).

ESPECIES (Ubicación Taxonómica)	Abundancia Relativa (%)	
	Tejido	Agua
ENTEROBACTERIACEAE		
Citrobacter sp. (Werkman and Gillen, 1932).	27	29
Serratia marcescens (Bizio, 1819).	26	18
Proteus sp. (Hauser 1885).	12	10
Klebsiella sp. (Trevisan, 1885).	5	3
Enterobacter aerogenes (Kruse, 1896).	4	5
Shigella sp. (Shiga,1898).	3	4
Escherichia coli (Escherich, 1885).	2	3
Salmonella sp. (Smith, 1885).	0	1
VIBRIONACEAE		
Vibrio cholerae (Pacini, 1854).	9	11
Vibrio parahaemolyticus (Oliver y Kaper, 1997)	11	9
Vibrio alginolyticus (Sakazaki 1968).	2	6
PSEUDOMONACEAE		
Pseudomonas (Migula, 1894).	1	2

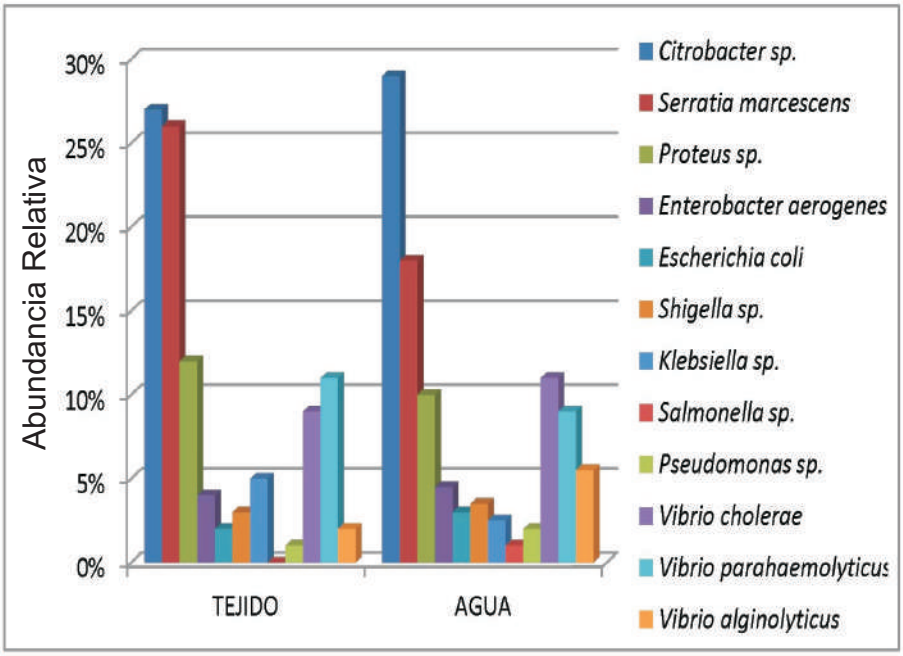


Figura 19. **Abundancia bacteriana relativa promedio en sustrato.** Tejido de Peces de la cuenca en comparación con el Agua del río Yaracuy.

Se determinó a través de pruebas bioquímicas, la composición y la abundancia bacteriana en agua y tejido de peces en las dos estaciones de muestreo. En relación a los aislamientos bacterianos realizados en el tejido intestinal de peces y agua del rio Yaracuy en dos épocas del año (Diciembre de 2012 y Julio de 2013), en las dos estaciones de muestreo (Estación Desembocadura y Estación La Guáquira), se obtuvieron 378 cepas en el primer trabajo de campo y 395 cepas en el segundo trabajo de campo para un total de 773 cepas.

Las 773 cepas bacterianas provinieron del intestino de 53 ejemplares de peces (24 ejemplares en la estación desembocadura y 29 ejemplares en la estación La Guáquira) y de 12 muestras de agua del río Yaracuy. Todas las muestras fueron sometidas al análisis microbiológico.

La identificación fenotípica de las cepas bacterianas aisladas por medio del sistema de pruebas bioquímicas tradicionales proporcionó información a nivel de género y especie (Tabla 10). La microbiota bacteriana estaba constituida por 97% de bacilos Gram negativos fermentadores. Predominaron los bacilos pertenecientes a la Familia Enterobacteriaceae y la microbiota con mayor presencia fue: *Citrobacter* sp. (27% en tejido intestinal de peces y 29% en agua del río Yaracuy); *Serratia marcescens* (26%

tejido, 18% agua), *Proteus* sp. (12% tejido, 10% agua). *Klebsiella* sp. (5% tejido, 3% agua), *Enterobacter aerogenes* (4% tejido, 5% agua), *Shigella* sp. (3% tejido, 4% agua) *E. coli* (2% tejido y 3% agua) y *Salmonella* sp. (1% agua). Además, se encontraron miembros de la Familia Vibrionaceae como *Vibrio parahaemolyticus* (11% tejido y 9% agua); *V. cholerae* (9% tejido, 11% agua); *V. algynolyticus* (2% tejido, 6% agua) y finalmente se determinó algunos miembros de la Familia Pseudomonaceae como *Pseudomonas* sp. (1% tejido, 2% agua) (Figura 19).

Después de la aplicación de las pruebas bioquímicas para el reconocimiento e identificación de Enterobacterias, se determinó que la composición bacteriana intestinal en peces y en agua encontrada en el presente estudio, coincide con un estudio piloto previo realizado en 3 ejemplares del pez Lisa (*Mugil curema*) y en el agua de la desembocadura del río Yaracuy por Sánchez *et al*. (2009) y resultó similar a la microbiota encontrada por Sivakami *et al*. (1996) al identificar la población bacteriana presente en agua de lagunas y en tejido intestinal de peces Carpa bajo cultivo. La microbiota intestinal de Carpas estuvo constituida por: *E. coli*, *Enterobacter cloacae*, *E. aerogenes, Proteus rettgerirettgeri*, *P. mirabilis*, *Salmonella* sp., *Pseudomonas aeruginosa y Klebsiella* sp.

En otro estudio hecho por Leal *et al*. (2009), en Venezuela, para la determinación de la enteropatogenicidad de cepas bacterianas aisladas en peces, específicamente en tilapias, truchas arco iris y cachamas, provenientes de granjas y del medio silvestre, se aislaron las siguientes especies bacterianas: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas fluorescens*, *Plesiomonas shigelloides, Aeromonas hydrophila* y *Vibrio cholerae.*

Estos resultados coinciden con la afirmación de Farmer *et al*. (2007) y Donnenberg, (2009), en la cual señala que en peces de agua dulce las bacterias dominantes en el tracto gastrointestinal son las Enterobacterias y otros grupos como *Aeromonas, Pleisomonas y Pseudomonas,* mientras que en los peces marinos la microflora intestinal está dominada por los géneros *Vibrio y Pseudomonas* .

Muchas Enterobacterias viven en simbiosis dentro del tracto intestinal de los peces, sin embargo, bacterias patógenas del grupo coliformes fecales se pueden introducir a través de contaminación por aguas servidas (Navarrte, 2009).

Sakata (1989), indica que la microbiota de los animales acuáticos está constituida por relativamente pocas especies bacterianas, y ésta se encuentra influida fuertemente por el agua circundante, además, coincide en señalar que los géneros predominantes en el tracto gastrointestinal de los animales dulceacuícolas son representantes de las Enterobacteriaceae. Efectivamente, los resultados de esta investigación indican que a pesar de la cantidad de cepas detectadas (773), el número de especies bacterianas tanto en agua como en el tejido intestinal de los peces estudiados no superó las 13 especies y en su mayoría pertenecieron al grupo de las Enterobacterias.

En aguas eutróficas, cargadas de materia orgánica, se han reportado frecuentemente miembros de los géneros bacterianos: *Proteus* y *Citrobacter* pertenecientes al grupo de las Enterobacterias y que han sido detectados en lugares que presentan contaminación antropogénica (Farmer *et al*. 2007; Donnenberg, 2009). En este estudio particularmente, la presencia de ambos géneros ha sido preponderante tanto en el agua del río Yaracuy como en el tejido intestinal de los peces. El género *Citrobacter* resalta por su mayoritaria presencia (27% en tejido intestinal de peces y 29% en agua del río Yaracuy) mientras que *Proteus* también se manifiesta con una presencia importante (12% en tejido, 10% en agua).

Muchas bacterias desarrollan una enorme capacidad para la absorción de sustratos y de partículas detríticas que absorben de la superficie del aguas contaminadas y crecen bien en condiciones muy localizadas y de extrema escasez (Farmer *et al*. 2007; Donnenberg, 2009) y cuando los cuerpos de aguas naturales son contaminados con estiércol o con aguas servidas, es frecuente observar una alta incidencia de patógenos entéricos clásicos que puede crecer en condiciones extremas, tales como *Salmonella* y *Shigella*, tanto en el agua como en los organismos acuáticos presentes en ella (Gaertner *et al*. 2008; Olgunoglu., 2012; Bibi *et al*. 2015).

En este estudio se reportó una baja incidencia de ambos géneros, donde *Shigella se* presentó en un 3% tejido de intestinal y 4% en agua, mientras que *Salmonella* sólo apareció en 1% del agua del río. En los peces que proceden frecuentemente de estuarios en los cuales desembocan desechos (efluentes), no es raro encontrar en ellos un cierto número de estos de patógenos entéricos clásicos (Dupont, 2009; Pegues y Miller, 2010; Bibi *et al.* 2015).

Las especies de *Vibrio* están muy difundidas en aguas cuya temperatura supera los 15 °C (Jawetz *et al*, 2011). En este estudio, *V. parahaemolyticus* se presentó con mayor porcentaje en el tejido de los peces silvestres (11% tejido y 9% agua); mientras que *V. cholerae* estuvo presente en mayor proporción en el agua del río Yaracuy (9% tejido, 11% agua). Ambas especies bacterianas se registraron consistentemente en el tejido intestinal de los peces del río Yaracuy en las dos estaciones de muestreo y en dos épocas distintas. Finalmente, *V. algynolyticus* se presentó en menor proporción (2% tejido, 6% agua). Muchos casos de infección por *V. cholerae* probablemente tienen su origen en un aumento de la temperatura del agua, ya que esta especie es un habitante común en medios acuáticos con temperaturas de 26 °C o mayores (Austin y Austin, 2007).

La mayoría de los microorganismos son predominantemente halotolerantes, es decir, capaces de crecer en un amplio intervalo de concentraciones de cloruro sódico de 2 al 3 % (ICMSF, 1998). Específicamente en zonas costeras, se observa un aumento en las especies bacterianas de *Vibrio* y este fenómeno guarda una relación directa con el aumento de la salinidad, muchas veces originada por la excesiva evaporación y la poca precipitación que ocurre en las zonas tropicales durante el verano (Fontanez, 2005; Abbott *et al*, 2007; Seas y Gotuzzo , 2010; Neill y Carpenter. 2010). Esto ha permitido en los últimos años, asociar la aparición de *Vibrio* en aguas marinas, como posible indicador microbiológico de los efectos del cambio climático en algunas zonas costeras (Malaver *et al*. 2014a).

Particularmente, en este estudio, *V. parahaemolyticus* se presentó con 12% en el agua de la Desembocadura y 6% en agua de la Guáquira, mientras que *V. cholerae*, 15% en agua de la Desembocadura y 7% en agua de la Guáquira. La diferencia porcentual en las especie de *Vibrio* de la Desembocadura en relación con La Guáquira pueden ser una consecuencia directa de las diferencias en la salinidad de las localidades estudiadas. La especie *V. alginolyticus* se presenta en 11% en agua de la Desembocadura mientras de en La Guáquira no fue registrada.

Navas (2006) coincide al indicar que, en las aguas costeras venezolanas, es frecuente la presencia de especies como *Vibrio parahaemolyticus, V. cholerae, V. algynolyticus.* Los resultados de esta investigación indican una presencia importante de especies del género, tanto en el agua de río Yaracuy como en el tejido intestinal de los peces de la cuenca que habitan en él.

Estos resultados coinciden con De Paola *et al*. (1994), Navas (2006), Jawetz *et al.* (2011); quienes señalan que las especies mesófilas de *Vibrio* son las que con mayor frecuencia se aíslan de las aguas costeras de salinidad reducida y se encuentran corrientemente en los peces de estuario, especialmente en los que se alimentan en el fondo. En este sentido, la especie de pez con la mayor abundancia bacteriana intestinal de *Vibrio* fue Guabina (*Hoplias malabaricus*) tanto en la desembocadura del río como en la estación La Guáquira, muy probablemente por su tendencia a alimentarse en el fondo.

Según De Paola *et al*. (1994), debido a la gran movilidad de los peces, éstos pudieran ser objeto de contaminación en su paso previo por aguas cargadas de contaminantes y trasladarse a otros lugares no contaminados con su carga de agentes patógenos acumulados su cuerpo. Tomando como base la afirmación previa y por los resultados de esta investigación se presume que la presencia de especies de *Vibrio* en la población de peces silvestres de La Guáquira pudiera ser atribuido a que muchos de estos ellos, en sus etapas iniciales de vida, crecieron en el estuario de la desembocadura del río Yaracuy, se contaminaron y almacenaron en sus tejidos estas especies bacterianas y luego migraron a zonas altas del río para continuar con su etapa adulta.

Aun cuando las distintas investigaciones reporten un bajo número de aislados del género *Vibrio* en ambientes silvestres, éstos no dejan de ser significativos, considerando la importancia de este género con relación a la salud del ambiente en general y particularmente del *V. cholerae* para la salud pública (Abbott, 2007; Seas y Gotuzzo , 2010; Neill y Carpenter. 2010). Tanto en los peces pelágicos como de fondo se han aislado especies mesófilas de *Vibrio* (Toranzo, 2005). Entre las especies de *Vibrio* potencialmente patógenas presentes naturalmente en los peces se encuentra el *Vibrio parahaemolyticus* como uno de los más frecuentes y el *Vibrio cholerae* que es una especie marina endógena y que ha sido aislada en brotes de cólera (Abbott *et al*, 2007; Seas y Gotuzzo , 2010; Neill y Carpenter. 2010).

Las *Pseudomonas* han sido identificadas en algunas ocasiones como componente de la microbiota de animales acuáticos, aunque en estos casos, se argumenta que esto puede ser debido a que los peces han atravesado por condiciones desfavorables, tales como situaciones de escases de alimentos, bajas temperaturas o algún estrés fisiológico, previas a la toma de muestras (Sakata, 1989).

Las cepas de *Pseudomonas* forman parte de la bacterioflora normal de tilapias bajo cultivo. También se sabe que estos peces son propensos a contraer infecciones sistémicas producidas por *Pseudomonas* patógenas, debido fundamentalmente a la baja calidad del agua y al hacinamiento al que son sometidos con el fin de obtener un mayor rendimiento (Austin y Austin, 2007).

En Venezuela no existen estudios que reporten la presencia de *Pseudomonas* en tilapias silvestres o cultivadas, y sólo se puede hacer mención al trabajo realizado por Conroy, (1998) en el Lago de Valencia, en el cual se reporta la presencia de *Pseudonomas* sp. aisladas de ejemplares silvestres de *Oreochromis mossambicus*, los cuales presentaron exoftalmía y lesiones dérmicas.

En este estudio se reporta un pequeño porcentaje de *Pseudomonas* sp. en aguas de la desembocadura del río Yaracuy (1% en tejido y 2% en agua). La única especie de pez que presentó *Pseudomonas* en su intestino fue Róbalo (*Centropomus undecimalis*). Se presume esta presencia como consecuencia de contaminación por aguas servidas.

Se ha demostrado que los nutrientes y la materia orgánica aportados por los ríos a los sistemas costeros son aprovechados por la comunidad bacteriana, particularmente por el grupo de bacterias reductoras del azufre y del nitrógeno como *Pseudomonas* (Austin y Austin, 2007).

Enterobacter aerogenes es una bacteria ubicua en el ambiente, se encuentra de forma natural en suelo, agua, vegetales, excrementos humanos y animales. *E. aerogenes* puede comportarse eventualmente como patógeno oportunista en aquellos peces inmunodeprimidos (Koneman *et al*. 2002). En este estudio se reporta, con una presencia de 4% en tejido intestinal, tanto en los peces de la desembocadura del río como en la zona media, La Guáquira y 5% agua del río. Se presume que es un habitante natural de la microbiota intestinal de los peces debido a que mantiene una abundancia relativamente estable en todas las condiciones estudiadas.

El género *Klebsiella* fue regitrado en esta investigación, con una incidencia modesta, sin embargo, su presencia fue consistente en casi todas los registros en contenido intestinal de las especies de peces. Según Koneman *et al*. (2002), este género bacteriano está ampliamente distribuido en la naturaleza y en el tracto gastrointestinal de humanos y de muchos animales, forma parte frecuentemente del suelo, del aire y de los vegetales.

Daskalov *et al*., (1998) aislaron miembros de la especie *Klebsiella pneumoniae* en un cultivo virtualmente puro, de muestras tomadas de las colas y aletas en descomposición de 12 truchas arcoiris que, aparte de esta sintomatología, estaban aparentemente sanas, las cuales provinieron de una granja piscícola dulceacuícola en Escocia. Estos autores confirmaron, con experiencias en el laboratorio, que: a) este microorganismo puede ocasionar podredumbre de las aletas, previa abrasión de éstas, y b) tiene la capacidad de producir mortalidad en las truchas, luego de la administración por la vía intramuscular e intraperitoneal.

En un estudio de Herrera y Suárez (2005), en la playa de Tucacas, Venezuela, se determinó que los niveles de bacterias sulfato-reductoras, nitrato-reductoras y heterótrofas totales, en los tres muestreos, reflejaban normalidad. Sin embargo, encontraron que los valores de coliformes totales y fecales, en el muestreo posterior a las temporadas vacacionales de Carnaval y Semana Santa, no se ajustaban a la normativa interna, Decreto N° 883 (Aguas tipo 4) para uso recreacional.

En otro estudio de Calzavara (2007), en el Parque Nacional "Archipielago Los Roques", Venezuela, se determinó que las actividades humanas que se desarrollan en la zona, influyen sobre la abundancia de los indicadores microbiológicos traduciéndose en una elevación en el número de coliformes totales, fecales y enterococos. Los valores son tan elevados que violan la normativa interna, Decreto N° 883 para uso recreacional. El 96,8 % de las cepas aisladas pertenecían al género *Pseudomonas*, mientras que el 3,2 % restante resultaron pertenecer a la Familia Enterobacteriaceae, destacando los géneros *Escherichia* y *Serratia*.

Tabla 13: Lista de especies y número de ejemplares de peces colectados por estación de muestreo en el río Yaracuy ubicados taxonómicamente por Orden, Familia y Especie.

ESPECIES (Ubicación Taxonómica)	Nombre Local		Ejemp/Estaciones DESD	GUA
CHARADIFORMES				
Characidae				
Astyanax fasciatus (Cuvier, 1819).	Sardina		0	6
Erythrinidae				
Hoplias malabaricus (Bloch, 1794).	Guabina		6	3
Parodontidae				
Parodon apolinari (Myers, 1930).	Voladora		0	3
PERCIFORMES				
Centropomidae				
Centropomus undecimalis (Bloch, 1782).	Róbalo		6	0
Cichlidae				
Andinoacara pulcher (Musciliva, Schindler & Staeck, 2009).	Viejita		0	6
Caquetaia kraussii (Steindachner, 1878).	San Pedro		6	0
SILURIFORMES				
Loricaridae				
Ancistrus gymnorhynchus (Kner,1854).	Uñoa		0	2
Chaetostoma yurubiense (Ceas y Page,1996).	Corroncho		0	3
Farlowela martini (Fernández-Yépez, 1972).	Aguja (2)		0	3
Heptapteridae				
Cetopsorhamdia sp. (Schubart & Gomes, 1996).	Bagre		0	3
SYNGNATHIFORMES				
Syngnathidae				
Syngnathus acus (Linnaeus, 1758).	Aguja (1)		6	0

La composición de la ictiofauna estuvo representada de la siguiente forma: se colectaron un total 53 especímenes de peces que fueron asignados a 12 especies, 8 familias y 4 órdenes (Tabla 13). Del total de especies, 3 pertenecían al orden Characiformes, 3 Perciformes, 4 Siluriformes y 1 Syngnathiformes. Los ejemplares de peces fueron identificados hasta nivel de especie, 24 ejemplares en la estación desembocadura y 29 ejemplares en la estación La Guáquira. En la estación de muestreo N°1, La Desembocadura, se identificaron 4 especies: *Centropomus undecimalis, Syngnathus acus, Caquetaia kraussii* y *Hoplias malabaricus* y en la estación de muestreo N°2, La Guáquira, se identificaron 8 especies: *Astyanax fasciatus, Farlowela martini, Chaetostoma yurubiense, Andinoacara pulcher, Ancistrus gymnorhynchus, Parodon apolinari, Hoplias malabaricus* y *Cetopsorhamdia* sp.

La abundancia y composición bacteriana varió de una especie a otra de pez e incluso de un individuo a otro dentro de una misma especie, tal y como lo describen otras investigaciones Buras (1993) y Kasing *et al.* (1999). Sin embargo, el análisis estadístico de esta investigación, refleja que tal variación, en la mayoría de los casos, no fue significativa.

Muchos estudios en peces indican que la microbiota intestinal puede variar según el tipo contaminación y según los cambios de composición bioquímica de la dieta (Lubyanskene *et al*. 1989). Al respecto se ha determinado experimentalmente que la microbiota entérica de peces sintetiza proteasas extracelulares capaces de tener una participación simbiótica en la digestión e hidrólisis de proteínas en el intestino. En la digestión enzimática de peces herbívoros, la degradación de algas es lograda por la fermentación microbiana; las enzimas producidas por los microorganismos que habitan el aparato gastrointestinal pueden digerir los polisacáridos que normalmente no pueden ser degradados y los convierten en moléculas orgánicas que los peces pueden absorber y utilizar (Lubyanskene *et al*. 1989; Ringo *et al*. 2016).. En consecuencia, un porcentaje importante de las bacterias que integran la microbiota intestinal de los peces mantienen generalmente relaciones de simbiosis y sólo un porcentaje menor se presenta en condiciones de parasitismo o en el peor de los casos, de patogenicidad.

7.7 Permanova de contraste Lineal (MDS)

El análisis de varianza multivariado basado en permutaciones (PERMANOVA) emplea el Índice de Similitud Bray-Curtis para calcular la probabilidad de cada fuente de variación a través de la ejecución de 9999 permutaciones empleando el programa PRIMER V6. Se tomaron en cuenta cuatro factores: a) Sitio, b) Momento, c) Interacción Sitio-Momento y d) Sustratos de cada Sitio-Momento (intestino de especies de peces y el agua del río x 3 réplicas). Se aplicó un contraste lineal para cada combinación entre los sustratos y en cada sitio-momento, lo cual implicó comparar el agua del río contra el resto de los sustratos del mismo sitio-momento.

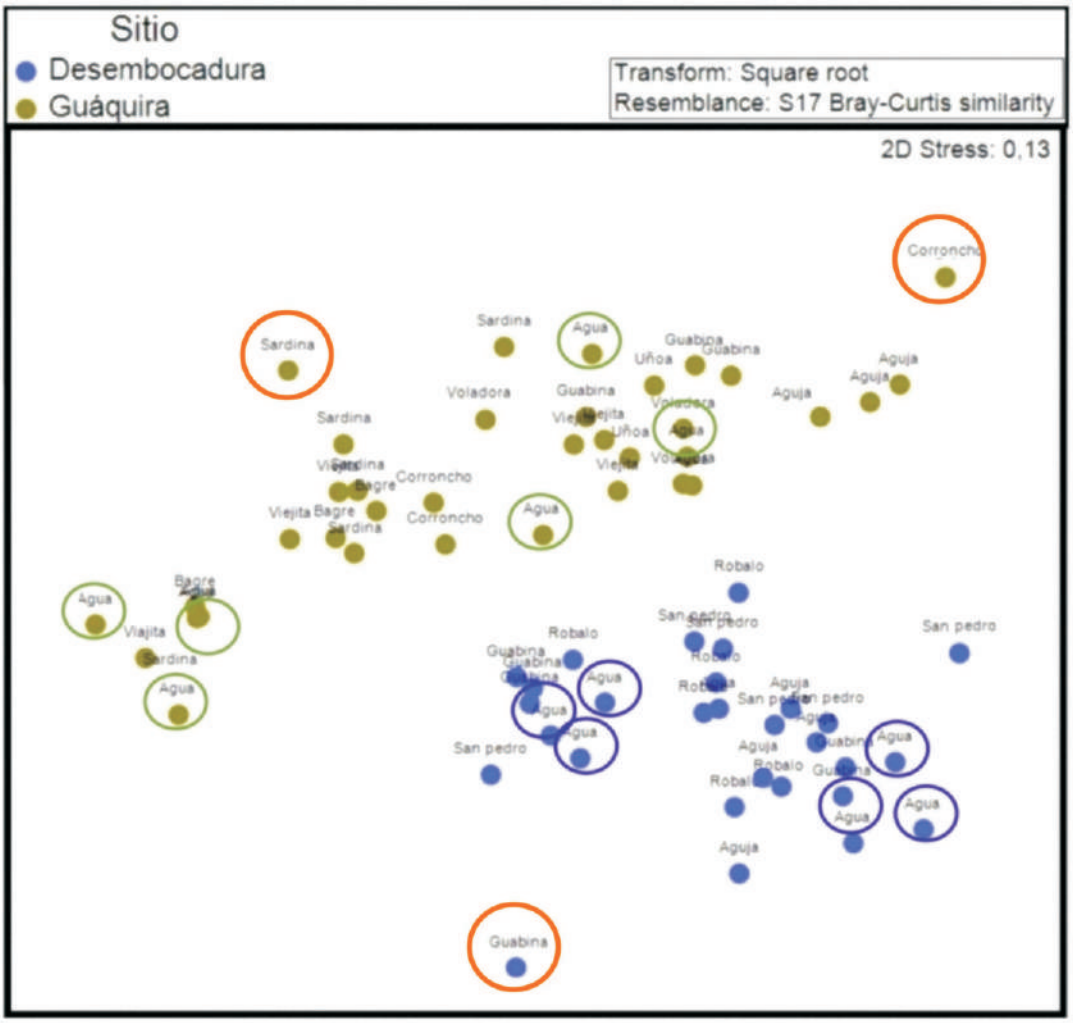


Figura 20. **MDS de prueba pareada entre sustratos de cada combinación Sitio-Momento.** Salida PRIMER V6.

El MDS está basado en la comparación de los datos de Sitio-Momento, en relación a la abundancia bacteriana presente en los distintos sustratos estudiados. Se contrasta el sustrato agua contra contenido de tejido intestinal de pees de la cuenca del río e incluso se compara los tejidos de peces entre sí (Figura 20). El MDS es un modelo de escalamiento que parte de la idea de que las distancias son una función de las proximidades. En otras palabras, las variables cuya relación es más cercana aparecen en el gráfico MDS muy próximas entre ellas y las distancias son de tipo lineal (Yoshioka, 2008).

El contraste lineal o prueba pareada de proximidad indicó que en algunos casos excepcionales, existen correlaciones en las cuales, algunas combinaciones Sitio-Momento entre el agua y el sustrato (contenido intestinal de pez), presentaron disimilitud y se resaltaron con un círculo en color rojo (Figura 20).

En la estación DESB (Diciembre 2012) se observó diferencia significativa entre el agua del río y un ejemplar de la especie *Hoplias malabaricus* (Guabina).

En la Estación GUA (Diciembre 2012), se observó disimilitud entre agua y un ejemplar de la especie *Astyanax fasciatus* (Sardina) y en (Julio 2013), entre el agua y un ejemplar de la especie *Chaetostoma yurubiense* (Corroncho).

El análisis de varianza multivariado por permutaciones (PERMANOVA) indicó que la correlación lineal es significativa en cada Sitio-Momento. Es decir, que existe una correlación directa entre la abundancia y composición bacteriana del agua de cada estación de muestro con la composición y abundancia bacteriana del tejido intestinal de los peces silvestres de la misma estación y de la misma época del año. En otras palabras, la estructura bacteriana del intestino de los peces de la Estación DESB se encuentra en relación directa con la estructura bacteriana del agua de DESB, incluso la alteración de la estructura bacteriana producto de las aguas servidas presentes en DESB y determinada por la presencia de indicadores de contaminación como *E. coli*, también se observó en la estructura bacteriana de los peces de DESB. Por otro lado, en la estación GUA, la relación entre la estructura bacteriana del agua del río con la estructura bacteriana presenta en los peces de dicha estación también fue directa y los indicadores clásicos de contaminación por aguas servidas no fueron registrados o cuando se alcanzaron a registrar, su presencia no fue significativa.

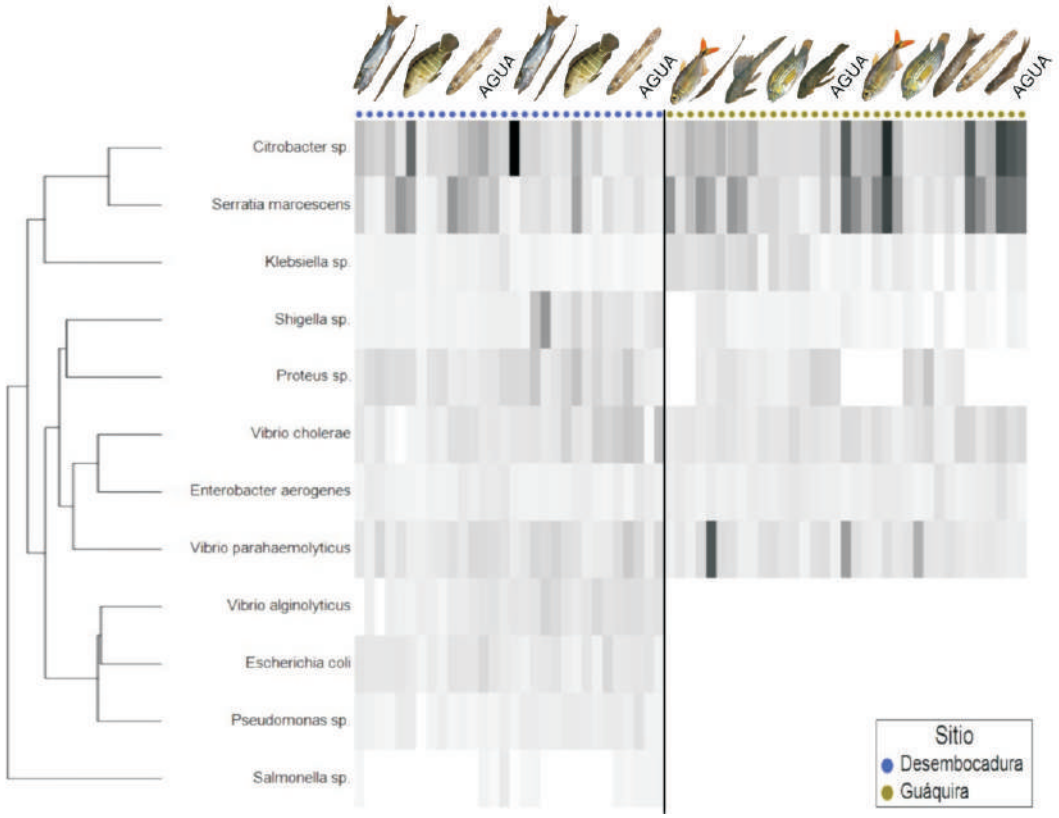


Figura 21. **Shade Plot de todas las variables medidaes en la investigación resaltando la Similitud y la Disimilitud entre sustratos de cada combinación Sitio-Momento.**

El Shade Plot (Figura 21), es un análisis de clúster basado en el índice de similaridad Bray-Curtis que permitió observar a través de un dendrograma el comportamiento de los grupos bacterianos predominantes por sustrato (agua y tejido intestinal de peces) y por estaciones de muestro (sitio) y en cada Momento (Épocas del Año).

Destacan por su abundancia o por su consistente presencia el grupo constituido por *Citrobacter*, *Serratia marcescens* y *Klebsiella.*y por su presencia importante en todas las muestras de agua y tejido de peces para las dos estaciones de muestreo y para las dos épocas del año. Estas especies bacterianas, algunas veces oportunistas pero, consistentes en su presencia en el intestino de todos los peces nos permite presumir que este tipo de microbiota bacteriana pudiera ser un componente natural del microbioma que acompaña a estos seres vivos. Además, según Baya *et al.* (1992c), estos microorganismos han sido aislados sólo de peces aparentemente sanos y que carecían de signos manifiestos de enfermedad.

8. CONCLUSIONES

1) La comunidad bacteriana asociada al agua y al tejido intestinal de los peces del rio Yaracuy estuvo constituida en un 97% por bacilos Gram negativos de la Familia Enterobacteriaceae, predominando *Citrobacter* sp. (27% en tejido intestinal de peces y 29% en agua), *Serratia marcescens* (26% en tejido y 18% en agua) y *Proteus* sp. (12% en tejido y 10% en agua).

2) La presencia consistente de miembros de la Familia Vibrionaceae permite inferir que este grupo bacteriano también es huésped habitual del agua y del intestino de los peces del rio Yaracuy.

3) El OD de la estación DESB destaca por sus valores mínimos, inferiores a 5 mg/l requeridos para la vida aeróbica, favoreciendo el desarrollo de bacterias anaeróbicas facultativas y estrictas. La Temperatura (25.3 °C) y Salinidad (0 g/l) en GUA fue desfavorable para miembros del género *Vibrio,* sobre todo para la especie *Vibrio alginolyticus*. El resto de las variables presentaron intervalos óptimos para el desarrollo bacteriano.

4) El elevado número de Coliformes Fecales (180 UFC/100ml) y Totales (710 UFC/100 ml) en la desembocadura, próximos al límite máximo establecido en el Decreto 883, permite afirmar que el agua del río Yaracuy, durante las épocas vacacionales del muestreo, no estaban aptas como balneario y los peces silvestres de la cuenca no eran aptos para el consumo humano.

5) Se infiere que las aguas servidas, la actividad turística y los procesos de eutrofización como factores exógenos en la desembocadura del río Yaracuy modificaron la estructura bacteriana del tejido intestinal de los peces debido a la presencia inusual de coliformes entéricas patógenas como *E. coli, Pseudomonas y Salmonella*.

6) Existe una correlación lineal entre la abundancia y composición bacteriana del agua con el contenido intestinal de los peces del río Yaracuy.

9. BIBLIOGRAFÍA

Abbott, S. 2007. *Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas*, and other Enterobacteriaceae. In: Manual of Clinical Microbiology, 9th ed. Murray PR et al (editors). ASM Press.

Abbott, S; Janda, J; Johnson; J. and Farmer, J. 2007. *Vibrio*. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed. Murray, P. *et al* (editors). ASM Press.

Al-Harbi, A. and Uddin, N. 2005. Bacterial diversity of tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in brackish water in Saudi Arabia. *Aquaculture*. 250: 566-572.

APHA. American Public Health Association. 1995. Standard Methods for the examitation of water and wastewater. 19 ed. Tomo III. Washinton DC. EEUU.

APHA. American Public Health Association. 1998. Standards Methods for the Examination of water and wastewater. 21 ed. Washington, DC.

Atlas, R. y Bartha, R. 2002. *Ecología Microbiana y Microbiología Ambiental*. Parson Educación, S.A.4ª ed. Madrid, España.

Austin, B. and Austin, A. 2007. *Bacterial Fish Pathogens, Diseases of Farmed and Wild Fish.* 4ª Edition. Praxis Publishing Ltd, Chichester, UK, Germany.

Ávila, S y Estupiñán, S. 2009. *Calidad sanitaria del agua de la ciénaga Mata de Palma en el Departamento del Cesar, Colombia*. Nova – Publicación Científica en Ciencias Biomédicas. 7: 85-91.

Bacanu, G. 2013. Differences in the gut microbiota between wild and domestic *Acipenser ruthenus* evaluated by Denaturing Gradient Gel Electrophoresis. *Romanian Biotechnological Letters*. University of Bucharest. 18 (2): 8069-8076.

Barreto, E., Meléndez, W., Yanez, C. y Barreto, M. 2004. *Estudio Hidrogeoquímico de las aguas superficiales de la zona costera comprendida entre las bocas de los ríos Yaracuy y Tocuyo*, Estado Falcón. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Ciencias, Caracas, Venezuela. IX Congreso Geológico Venezolano.

Baya, A., Toranzo, A., Lupiani, B., Santos, Y. y Hetrick, F. (1992c). *Serratia marcescens*: A potential pathogen for fish. *Journal of Fish Diseases*. 15: 15-26

Behar, R y Grima, P. 2004. 55 respuestas a dudas típicas de Estadística. Madrid: Ediciones Díaz de Santos, S.A. pp. 187-189.

Bibi, S. Qaisrani, A. Ahmad, M. Akhtar, B. Khan and Ali, Z. 2015. Occurrence of *Salmonella* in freshwater fishes: a review. The Journal of Animal & Plant Sciences. 25(2): 303-310.

Bray, J. and J. Curtis. 1957. An ordination of upland forest communities of southern Wiscousin. *Ecological Monographs*. 27: 325-349.

Breed, R., Murray, E. and Smith, N. 1957. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 7th ed., The Williams and Wilkins Co., Baltimore.

Buras, N. 1993. Microbial safety of produce from wastewater-fed aquaculture. En: Pullin RVC, Rosenthal H, MacLean JL, eds. Environment and aquaculture in developing countries. Proceedings of the 31st ICLARM Conference. Manila, International Centre for Living and Aquatic Resources, :285-295

Calzavara, L. 2007. *Diagnóstico de la calidad sanitaria del agua en la costa de Gran Roque, Archipielago Los Roques, Venezuela*. Tesis de Grado. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.

Carnemolla, S; Cusimano, R; Di Natale, R. y Giunta, G. 1990. La Cuenca Hidrográfica del Río Tuy (Norte de Venezuela): *Introducción a la geología del sistema montañoso del Caribe y análisis del riesgo ambiental en la subcuenca del río Guare*. Quaderni IILA, Serie Scienza 2. Instituto Italo-Latino Americano, Roma.

Castillo-Rivera, M. and M. R. Zárate. 2002. *Morphological differences and food resource partitioning among fish sciaenid species in an estuary of Mexico*. 49th Meeting of Southwestern Association of Naturalists. Cuernavaca, Morelos, April, 25-27. 3-4 pp.

CBD. Convention on Biological Diversity. 2005. Inland Waters Biodiversity Introduction. Secretariat of the Convention on Biological Diversity, Montreal. http://www.biodiv.org/programmes/areas/water/default.asp

Cervigón, F. 1991. Los Peces Marinos de Venezuela. Vol. I, 2da Ed. Fundación Científica Los Roques (Ed.), Caracas, Venezuela 425 pp.

Cervigón, F. 1993. Los peces Marinos de Venezuela. Vol. II, 2da. Ed. Fundación Científica Los Roques (Ed.), Caracas, Venezuela 497 pp.

Cervigón, F. 1994. Los Peces Marinos de Venezuela. Vol. III, 2da. Ed. Editorial Ex Libris, Caracas, Venezuela 295 pp.

Cervigón, F. 1996. *Los Peces Marinos de Venezuela*. Vol. IV, 2da. Ed. Edit. Ex Libris, Caracas, Venezuela 254 pp.

Conroy, D. A. 1998. Las principales enfermedades infecto-contagiosas de las tilapias asociadas con virus, bacterias y hongos. 1er. Simposio Centroamericano sobre Cultivo de Tilapia. PRADEPESCA/INCOPESCA. Convenio ALA/90/09 Unión Europea-OLDEPESCA. San José de Costa Rica. 15 al 17 de noviembre.

Cook, G., Russell, J., Reichert, A. and J. Wiegal. 1996. The intracellular pH of *Clostridium paradoxum*, an anaerobic, alcaliphilic, and thermophilic bacterium. *Applied and Environmental Microbiology*. 62: 4576-4579.

COPLANARH. 1975. Comisión del Plan Nacional de Aprovechamiento de los Recursos Hidráulicos. *Inventario nacional de tierras*. Regiones: costa noroccidental, centro occidental y central. , volumen I, Ministerio de Agricultura y Cría, Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Venezuela. 493 pp.

Daniel, l., Merrifield, Burnard, D., bradley, G., Devies, S. J., Remi, T., Baker, M. 2009. Microbial community of diversity associated with the intestinal mucosa of farmed rainbow trout (*Oncoryhnchus mykiss* Walbaum). *Aquaculture Research*. University of Bucharest. 40: 1064-1072.

Daskalov, H., M. Stobie y A. Austin. 1998. *Klebsiella pneumoniae*: A pathogen of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). Bull Eur. Ass. Fish Pathol. 18: 26-28.

De Curtis, M; Franceschi, O., y De Castro, N. 2000. Determinación de la calidad microbiológica de alimentos servidos en comedores de empresas privadas. ALAN. 50(2): 177-182

Del Giogio, PA; Al Vinocur; RJ Lombardo and HG Tell. 1991. Progressive changes in the structure and dinamics of the phytoplankton community along a pollution gradient in a lowland river- a multivarite approach. Hidrobiologia. 224: 129-154.

De Paola, A., Capers, G. and Alexander, D. 1994. Densities of *Vibrio vulnificus* in the intestines of fish from the US Gulf Coast. *Applied and Environmental Microbiology*. 60: 984-988.

Donnenberg, M. 2009. *Enterobacteriaceae*. In: Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 7th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Churchill Livingstone Elsevier,

Donovan, P. G. and Bittong, R. A. 2009. Digestive enzyme activities and gastrointestinal fermentation in wood-eating catfishes. *Comp. Physiol. B*., 179:1025–1042.

Douglas, S; Patrzykat, A; Pytyck, J. and Gallant, J. 2003b. Identification, structure and differential expression of novel pleurocidins clustered on the genome of the winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus* (Walbaum). *Eur J Biochem* 270**:** 3720-3730.

Dupont, H. 2009. *Shigella* species (bacillary dysentery). In: Mandell, Douglasand Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 7th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Churchill Livingstone Elsevier,

Eklund, M., Peterson, M., Poysky, F., Peck, L. y Conrad, J. 1982b. Botulism injuvenile Coho salmon (Oncorynchus kisutch) in the United States. Aquaculture. 27: 1-11.

Elliott, J. P. and D. R. Bellwood. 2003. Alimentary tract morphology and diet in three coral reef fish families. *Journal of Fish Biology*, 63(6):1598-1609.

Ellis, A. 2001. Innate host defense mechanisms of fish against viruses and bacteria. *Dev Comp Immuno.*125(8-9): 827-839.

EPA-Environmental Protection Agency. 2001. *Parameters of Water Quality*. Interpretation and Standards. Washington, D.C.

Eslava, P. 2008. *Una aproximación sistémica a las enfermedades de peces dulceacuícolas de Colombia*, XIV jornada de Acuicultura-Instituto de Acuicultura Universidad de los LLanos (IALL).14:16-33.

Ewel, J. y Madriz, A. 1968. *Zonas de Vida de Venezuela: memoria explicativa sobre el mapa ecológico*. Ministerio de Agricultura y Cría, Caracas. 265 pp.

Falcó, J. 2008. *Caracterización de la actividad antiviral y capacidad inmuno-moduladora de las defensinas en peces utilizando el modelo VHSV/trucha arco iris*. Tesis Doctoral. Instituto de Biol. Mol. y Celular de la Universidad Miguel Hernández.

Farmer, J; Boatwright, K; Janda, J. 2007. *Enterobacteriaceae*: Introduction and Identifi cation. In: Manual of Clinical Microbiology, 9th ed. Murray PR et al (editors). ASM Press.

Fernández-Yépez, A. 1972. Análisis Ictiológico del Complejo Hidrográfico Río Yaracuy. Dirección de Obras Hidráulicas. Ministerio de Obras Públicas. p 67.

Fisher, M. and Reddy K R. 2001. Phosphorus flux from wetland soils aected by long-term term nutrient loading. *J Environ Qual*. 30: 261–271.

Fontánez, Y. 2005. Determinación del perfil microbiológico de la almeja (*Lucina pectinata* Gmelin, 1791), del ostión de mangle (*Crassostrea rhizophorae* Guilding, 1828) y las aguas de extracción de bivalvos en la zona suroeste de Puerto Rico. Tesis Maestría en Ciencias y Tecnología de Alimentos. Universidad de Puerto Rico, Mayagüez. Puerto Rico.

Gaceta Oficial. 1996. Normas para la clasificación y el control de la calidad de los cuerpos de agua y vertidos o efluentes líquidos. Decreto 833. Gaceta Oficial de la República de Venezuela Nº890. 50-62.

Gaertner, J. Wheeler, S. Obafemi, J. Valdez, M. Forstner, T. Bonner, and D. Hahn. 2008. Detection of *Salmonella* from fish in a natural river system. J. Aqua. Anim. Health. 20(3): 150-157.

Geo, B; Karen, C; Janet, B; Stephen, M; Timothy, M. 2011. Jawetz, Melnick & Adelberg´s Medical Microbiology. 25a. edición. McGraw-Hill Interamericana Editores, S.A. México.

Germini, A., A. Masola, P. Carnevali, and R. Marchelli. 2009. Simultaneous detection of *Escherichia coli* O175: H7, *Salmonella* spp., and *Listeria monocytogenes* by multiplex PCR. Food Contr. 20(8): 733-738.

Graü De Marín C., La Barbera, A. Zerpa, S. Silva y O. Gallardo. 2004. Aislamiento de*Vibrio* spp. y evaluación de la condición sanitaria de los moluscos bivalvos *Arca zebra* y *Perna perna* procedentes de la costa nororiental del estado Sucre, Venezuela. Rev. Cien. Fac. Cien. Vet. LUZ, 14: 513-521.

Guzmán, M., Bistoni, M., Tamagnini, L. and González, R. 2004. Recovery of *Escherichia coli* in fresh water fish, *Jenynsia multidentata* and *Bryconamericus iheringi*. Water Research. 38; 2368-2374.

Hair, J. F., Anderson R.E., Tatham, R. L. and Black, W. C. 1999. Análisis Multivariante. Prentice Hall, Madrid.

Hejkel, T., Gerba, C., Henderson, S., Freeze, M. (1983). Bacteriological, virological and chemical evaluation of a wastewater aquaculture system. *Water Research*.17:1749-1755

Hernández E, Figueroa J, Iregui C. 2009. Streptococcosis on a red tilapia, Oreochromis sp., farm: a case study. J Fish Dis.;32:247–252.

Herrera, A., y Suaréz, P. 2005. Indicadores bacterianos como herramientas para medir la calidad ambiental del agua costera. Caracas, Venezuela. *Asociación Interciencia*. 30:171-176.

Hidalgo, j. 2003. *Tratado de Enología*. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España.

Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, and S.T. Williams. 1994. Bergey's Manual TM of determinative bacteriology, 9th ed. Williams & Wilkins, Baltimore.

Huber, O. 1997. *Ambientes fisiográficos y vegetales de Venezuela*. En: E. La Marca (Ed.),Vertebrados actuales y fósiles de Venezuela. Museo de Ciencia y Tecnología de Mérida, Venezuela. pp. 279-298.

ICMSF. International Commision on Microbiological Specifications for Foods. 1998. *Microoorganismos de los Alimentos. Ecología Microbiana de los Productos Alimentarios*. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España. 3: 121-175.

Ingledew, W. 1990. Acidophiles. En C. Edwards (ed.) Microbiology of Extreme Environment. McGraw-Hill, New York. pp. 33-54.

IOM. Institute of Medicine. 1991. *Seafood Safety*. Nat. Acad. of Sciences, USA.

Isolauri, E., Sütas, Y., Kankaanpa, P., Arvilommi, H. and Salminen, S. 2001. Probiotics: Effects on immunity. *American Journal of Clinical Nutrition* 73:444-450.

Janeway, C. and Medzhitov, R. 2002. Innate immune recognition. *Annual Review of Immunology.* 20: 197-216.

Jawetz, Melnick y Adelberg. 2011. Microbiología Médica. McGraw-Hill, Interamericana Editores, S.A .México, D.F.

Jha, P; Barat, S; Nayak, C. 2008. Fish Production, Water Quality and Bacteriological Parameters of Koi Carp Ponds Under Live-food and Manure Based Management Regimes, Zoological Research.29:165-173.

Johnson, R. R. 1996. "*Elementary statistics*". Belmont, etc. : Duxbury, cop.

Kar, N. and Ghosh, K. 2008. Enzyme Producing Bacteria in the Gastrointestinal Tracts of Labeo rohita (Hamilton) and Channa punctatus (Bloch). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 8: 115-120.

Karasov, W. H. and Martínez del Rio, C. 2007. *Physiological ecology: how animals process energy, nutrients, and toxins*. Princeton University. Press, Princeton.

Kasing, A., Yusof, A., Jugang, K. 1999. Distribution of bacteria in tropical freshwaterfish and ponds. International *J. of Environmental Health Research*.9;285-292.

Koneman, E.; Allen, S.; Janda, W.; Schreckenberger, P. y Washington, W. 2002. *Diagnóstico microbiológico*. Quinta edición. Editorial Médica Panaméricana.

Kroll, R. 1990. Alkalophiles. En C. Edwards (ed.) Microbiology of Extreme Environment. McGraw-Hill, New York. pp. 55-92.

Lasso, C., Lew, D., Taphorn, D., Donascimiento, Lasso-Alcalá, O., Provenzano, F. y Machado-Allison, A. 2004. Biodiversidad ictiológica continental de Venezuela. Memoria de Funda la Salle de Ciencias Naturales. 159-160: 105-195.

Leal, Y., Reyes, M., Álvarez, J., Obregón, J. y Viña, X. 2009. Enteropatogenicidad de bacterias aisladas de peces, del agua y plancton de su entorno en Venezuela. *Revista Científica*, FCV-LUZ / Vol. XIX, 5: 446 - 454.

Lentino, M. y Bruni, A. 1994. Humedales costeros de Venezuela: situación ambiental. *Sociedad Conservacionista Audubon de Venezuela*, Caracas. 188 pp.

Lubyanskene, V., Virbitskas, Y. and Yankyavichyus, K. 1989. The Obligate Symbiosis of the Microfloras of the Digestive Tract and the Body. Vilnius: Mokslas.

MA- Millennium Ecosystem Assessment . 2005. *Ecosystems and Human Well-being*: Current State and Trends, Volume 1.Chapter 7. Freshwater. Frank Rijsberman, Robert Costanza, Pedro Jacobi. eds. World Resources Institute: Washington DC. http://www.millenniumassessment.org/proxy/Document.276.aspx.

Mac Faddin, J. 2003. *Pruebas Bioquímicas para la Identificación de Bacterias de Importancia Clínica*. Tercera Edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires.

Machado-Allison, A. 1990. Ecología de los peces de áreas inundables de los llanos de Venezuela. *Interciencia*. 15(6): 411-423.

Mago, F. 1978. Los Peces de Agua Dulce de Venezuela. Cua. de LAGOVEN, Caracas.

Malaver, N., Rodríguez, M. y Montero, R. 2012. Escenarios potenciales de afectación del cambio climático sobre el comportamiento biótico y abiótico del ecosistema lagunar PNLT. Estrategias que contribuyan al desarrollo sostenible del sistema lagunar, en beneficio de la comunidad de Tacarigua de la Laguna. Informe Técnico del Proyecto PNUD: VEN/ SGP/ OP4/ Y3/ RAF/ 15. Anexo Calidad del Agua.

Malaver, N., Rodríguez, M. y Aguilar, V., H. 2014a. Un Diagnóstico de la Calidad Microbiológica del Agua de la Laguna de Tacarigua, Estado Miranda, Venezuela. *Acta Biol. Venez*. 34(2):203-226.

Malaver, N., Rodríguez, M. Montero, R., Aguilar, V., H. y Salas, M. 2014b. Cambios espaciales y temporales en las características fisicoquímicas y microbiológicas del agua de la laguna de Tacarigua, Estado Miranda, Venezuela. *Acta Biol. Venez*. 34(1):117-151.

Marín C, Fonseca C, Arias S, Villegas I,. García A, Ishihara H. 2009. Carga bacteriana de los peces *Cynoscion squamipinnis* (Perciformes:Scianidae) y *Lutjanus gutattus* (Perciformes: Lutjanidae) en la cadena de comercialización, Costa Rica. Rev Biol Trop. 57:1-2

MARN. 2016. Datos mensuales y anuales de climatología de la Estación Central Matilde, Edo. Yaracuy, 2006-2016. Dirección de Hidrología y Meteorología. Sistema Nacional de Información Hidrológica y Meteorológica.

Mendoza, C. y P. Hernández. 1999. Incidencia de *Plesiomonas shigelloides* en tetrahíbridos de tilapia (*Orechromis* sp.). *Arch. Latin. Nutr.* 49:67-71.

MERCK: Manual de medios de cultivo, 1997. RFA. .

Meyer, L. and Koster, M. 2000. Eutrophication of Marine Waters: Effects on Benthic Microbial Communities. *Marine Pollution Bulletin.* 41 (1-6): 255-263.

Miravet, M; Lugioyo, M y Joseph, N. 2001. Diversidad de bacterias marinas heterótrofas en la plataforma occidental cubana. Instituto de Oceanología. Cuba.

.

Montesinos, M. 1993. El enfoque por problemas de los programas de conservación y manejo de cuencas hidrográficas caso: la experiencia venezolana. En *Seminario-Taller Interamericano: Manejo Integrado de Cuencas Hidrográficas*. 173-183. Mérida: OEA/DDRMA/CIDIAT.

Montoya, Y. 2008. Variaciones nictemerales de algunas variables climáticas, físicas y químicas en una laguna somera en Guatapé. (Antioquia), *Colombia Actual. Biol*., 30 (88): 83-96.

Mora, O., Gómez, H. y Milla, M. 2003. Evaluación del proceso de conservación y manejo de la cuenca alta del río Yaracuy. II análisis económico. *Biagro.* 15(3): 165-171.

Moyle, P. B. and J. J. Cech. 2000. *Fishes. An introduction to Ichthyology*. 4th Ed. Prentice Hall. New Jersey. USA. 612 pp.

Murchelano, R. and Brown, F. (1970). Heterotrophic bacteria in Long Island Sound. *Mar.Biol*.,7(11):1-6

Murray, P., Rosenthal, K. y Pfaller, M. 2006. *Microbiología Médica*. MMVI *Elsevier*, Madrid, España, S,A. 5ta Ed. p. 976.

Nataro, J; Bopp, C; Fields, PI; Kaper, J; Strockbine, N. 2007. *Escherichia, Shigella*, and *Salmonella*. In: Manual of Clinical Microbiology, 9th ed. Murray PR et al (editors). ASM Press.

Navarrete, F., Magne, P., Mardones, M., Riveros, R., Opazo, A., Suau, P., Pochart, J., Romero. 2009. Molecular analysis of intestinal microbiota of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). FEMS Microbiology Ecology Volume 71, Issue 1, pages 148–156.

Navas, C. 2006. Caracterización y aspectos ecológicos de *Vibrio* spp. asociados a *Litopenaeus schinitti* (Decapoda, Penaeidae) en tres zonas con distintos niveles de perturbación antropogénica en la laguna de Tacarigua, Edo. Miranda. Tesis de Grado.

Neill, M. and Carpenter, C. 2010. Other pathogenic vibrios. In: Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 7th ed. Mandell GL, *et al* (editors). Elsevier.

Noble, R., Moore, D., Leecaster M., McGee, C. and Weisberg, S. 2003. Comparison of total coliform, fecal coliform, and enterococcus bacterial indicator response for ocean recreational water quality testing. *Water Research*. 37: 1637.

Olgunoglu, I. 2012. *Salmonella* in Fish and Fishery Products. Mahmoud BSM. Salmonella-A Dangerous Foodborne Pathogen: InTech.

OMS-Organización Mundial de la Salud. 2011. Guidelines for Drinking-water Quality [Internet]. Geneva. 564 p. Disponible en: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44584/1/9789241548151_eng.pdf

ONU- Organización de las Naciones Unidas. 2015a. Wastewater Management: A UN-Water Analytical Brief. ONU-Agua. www.unwater.org/fileadmin/user_upload/unwater_new/docs/UN-Water_Analytical_Brief_Wastewater_Management.pdf

Pal, D., Dasgupta, C. 1991. Interaction of some city sewage bacteria with an Indian Major Carp, Cirrhinus mrigala. J. of Aquatic Animal Health. 3;124-129.

Palumbo, S., Maximo, F., Williams, A., Buchaman, R. y Thayer, D. 1985a. Stach ampicillin agar for the quantitative detection of Aeromonas hydrophila in foods. *Applied and Environmental Microbiology*. 50:1027-1030.

Parra, G. 1974. *Estudio sanitario integral del río Yaracuy*. Ministerio de Sanidad y Asistencia Social. Dirección de Malariol. y Saneamiento Ambiental. Caracas. 341p.

Pascual, M. y Calderón, V. 2000. *Microbiología Alimentaria-Metodología analítica para alimentos y bebidas*. 2da. Ed. Editorial Díaz de Santos, S.A. España. pp. 441.

Pegues, D. and Miller, S. 2010. *Salmonella* species, including *Salmonella typhi*.In: Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 7th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Elsevier.

Pier, G. and Ramphal, R. 2010. *Pseudomonas aeruginosa*. In: Mandell, Douglasand Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 7th ed. Mandell GL, et al (editors). Elsevier.

Pizarro, H. y Alemanni, M. 2005. Variables fisicoquímicas del agua y su influencia en la biomasa del perifiton en un tramo inferior del Río Luján (Provincia de Buenos Aires). Departamento de Ecología, Genética y Evolución. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. CONICET. Argentina.

Plouffe, D; Hanington, P; Walsh, J; Wilson, E. and Belosevic, M. 2005. Comparison of select innate immune mechanisms of fish and mammals. *Xenotransplantation.* 12(4)**:** 266-277.

Pulkkinen, K; Suomalainen, L; Read. A; Ebert, D; Rintamäki, P; Valtonen, E. 2010. Intensive fish farming and the evolution of pathogen virulence: the case of columnaris disease in Finland.Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences. 277:593-600.

Rawls, J., Samuel, B. and Gordon, J. 2004. *Gnotobiotic zebra* fish reveal evolutionarily conserved responses to the gut microbiota. *Proc. Natl. Acad. Sci*. USA, 101, 4596–4601.

Reid, D. y B. Wood. 1976. Ecology of inland waters and estuaries. 2da Ed. Litton educational Publishing, INCNew York. USA. 196 pp.

Ringo, E., Zhou, Z., Vecino, J., Wadsworth, S., Romero, J., Krogdahl, A., Olsen, R., Dimitroglou, A., Foey, A., Davies, S., Owen, M., Lauzo, H., Martinsen, L., De Schryver, P., Bossier, P., Sperstad, S. and Merrifield, D. 2016. Effect of dietary components on the gut microbiota of aquatic animals. *Aquac. Nutrition*., 22: 219–282.

Ríos-Tobón, S; Agudelo-Cadavid, R; Gutiérrez-Builes, L. 2017. Patógenos e indicadores microbiológicos de calidad del agua para consumo humano. *Rev. Fac. Nac*. Salud Pública; 35(2): 236-247.

Robert-Pullés, M. 2014. Microorganismos indicadores de la calidad del agua potable en Cuba. Revista CENIC. Ciencias Biológicas. 45(1): 25-36. Disponible en: http://www.redalyc.org/pdf/1812/181230079005.pdf

Rodríguez, E. 2005. *Bacteriología General: Principios y Prácticas de Laboratorio*. Editorial Universidad de Costa Rica.

Rodríguez, D., Coronel, J., Taphorn, D. and Amaro, A. 2006. *Los Peces del río Tocuyo, Vertiente del Caribe, Venezuela: un Análisis Preliminar para su conservación*. Memoria de la Fundación La Salle de Ciencias Naturales, 165: 45-72.

Rodríguez, D. y Taphorn, D. 2007. *Los Peces de Aroa y Yaracuy, una guía para su Conservación*. Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado (UCLA) E Iniciativa de Especies Amenazadas (IEA-PROVITA). Barquisimeto, Venezuela.

Rogers, R., Cuffe, R., Cossins, Y., Murray, D. and Bourke, A. 1980. The Queensland cholera incident of 1977. II. The epidemiological investigation. *Bulletin of WHO*. 58: 665.

Román, B. 1980. *Peces Marinos de Venezuela*. Soc. de Cie. Nat. La Salle,Vzla.

Rosas, I., Graviolo, A. y Ezcurra, E. 2004. *Microbiología Ambiental*. Sociedad de Medio Ambiente y Recursos naturales, Instituto Nacional de Ecología, Univ. Nacional Autónoma de México, Programa Universitario de Medio Ambiente. México. 134 pp.

Rozen, Y., and S. Belkin. 2001. Survival of enteric bacteria in seawater. FEMS Micro. Rev. 25(5): 513-529.

Rungruangsak-Torrissen, K., Sunde, J., Berg, A.E., Nordgarden, U., Fjelldal, P.G. and Opedal, F. 2009. Digestive efficiency, free amino acid pools and quality of growth performance in Atlantic Salmón (*Salmo salar* L.) affected by light regimes and vaccine types. *Fish. Physiol. Biochem*., 35:255–272.

Ryan, K. and C, Ray. 2010. *Sherris medical microbiology*. McGraw Hill Medical New York.

Sakata, T. 1989. Microflora of healthy animals, In: Austin B. y Austin D.A. ed. Methods for the Microbiological Examination of Fish and Shellfish Chichester, England, U.K. Ellis Horwood Ltd. pp. 141-163.

Salinas, D. 2011. *El Sistema Digestivo de Peces Teleósteos*. Tesis de Grado. Universidad Nacional Autónoma de México.

Sánchez, A., Malaver, N., Rodríguez, M. y Burelli, L. 2009. Caracterización de la comunidad bacteriana asociada al tejido de Lisa (*Mugil curema*) colectada en la desembocadura del río Yaracuy, Edo. Falcón. Instituto de Zoología y Ecología Tropical, Laboratorio de Microbiología Ambiental, Universidad Central de Venezuela, Caracas. Cartel presentado en VIII Congreso Venezolano de Ecología, Santa Ana de Coro, 2 al 6 de Noviembre de 2009.

Schiffrin, E. and Blum, S. 2002. Interactions between the microbiota and the intestinal mucosa. *Eur. J. Clin. Nutr*., 56:60–64.

Seas C, Gotuzzo E. 2010. *Vibrio cholerae*. In: Mandell, Douglas and Bennett's *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Mandell GL, *et al* (editors). Elsevier.

Silva, C., Vinuesa, P., Eguiarte, L., Souza, V., and Martinez-Romero, E. 2005. Evolutionary genetics y biogeographic structure of *Rhizobium gallicum* sensulato, a widely distributed bacterial symbiont of diverse legumes. *Mol. Ecol*. 14:4033-4050.

Silva J, Ramírez L, Alfieri A, Rivas G, Sánchez M. 2004. Determinación de microorganismos indicadores de calidad sanitaria. Coliformes totales, coliformes fecales y aerobios mesófilos en agua potable envasada y distribuida en San Diego, estado Carabobo, Venezuela. *Rev la Soc Venez Microbiol*. 24 (1–2):46–9. Disponible en: http://www.scielo.org.ve/scielo.phpfiscript=sci_arttext&pid=S1315-25562004000100008&lng=es&nrm=iso&tlng=es.

Sklan, D., Prag, T. and Lupatsch, I. 2004. Structure and function of the small intestine of the tilapia *Oreochromis niloticus* y *Oreochromis aureus* (Teleostei, Cichlidae). *Aquaculture Research*. 35: 350-357.

Somerfield, P. 2008. Identification of Bray-Curtis similarity index: comment on Yoshioka (2008). *Mar Ecol Prog Ser* 372:303–306.

Steinberg, J. and Burd, E. 2010. Other gram-negative and gram-variable bacilli.In: Mandell, *Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Mandell GL, et al (editors). Elsevier.

Sukanta, N. 2010. Role of gastrointestinal microbiota in fish. Aquaculture Research, 41: 1553-1573.

Toranzo, A., Magariños, B. and J, Romalde. 2005. A review of the main bacterial fish diseases in mariculture systems. Aqua. 246(1): 37-61.

Tort, L; Balasch, J. and MacKenzie, S. 2004. Fish health challenge after stress. Indicators of immunocompetence. *Contributions to Science,* 2(4): 443-454.

UNESCO. United Nations Educational Scientific and Cultural Organization. 2005. Romania/Ukraine: Danube Delta. MAB Biosphere Reserve Directory.

Vari, R. 1991. Systematics of the Neotropical characiform genus Steindachnerina Fowler (Pisces: Ostariophysi), *Smithsonian Contributions to Zoology*, 507: 1-118.

WHO. World Health Organization. 2006. Guidelines for drinking-water quality [electronic resource]: incorporating first addendum. Vol. 1, Recommendations. 3rd ed.

Wetzel, R. 1983. Limnology. 2da Edición.Saunders College Publishing. USA. 296 pp.

Whitman, R.L. y Nevers, M.B. 2003. Foreshore sand as a source of *Escherichia coli* in nearshore water of a Lake Michigan beach. Applied Environmental of Microbiology. 69 (9): 5555–5562

Willey, J; Sherwood, L; Woolverton, C; Prescott; Harley and Klein's. 2008. *Microbiology*. 7th edition, McGraw-Hill.

Willey, J; Sherwood, L; Woolverton, C. 2009. Prescott's principles of microbiology. McGraw-Hill, Haigher Education.1st ed. New York. USA.

Withers P, and Lord E. 2002. Agricultural nutrient inputs to rivers and groundwater in the UK: policy, environmental management and research needs. Sci Total Environ, 282-283: 9–24.

Wittwer, G. 2012. Caracterización Bacteriana de Intestino de Salmón del Atlántico Adulto. Tesis de Grado. Valdivia, Chile.

Woese, C; Kandler, O. and Wheelis, M. 1990. Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria and Eucarya. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 87 (12): 4576–4579. .

WWF. Word Wide Fund for Nature. 2006. Free flowing rivers: economic luxury or ecological necessityfi Global Freshwater Programme. WWF International, Switzerland

Wootton, R. J. 1990. Ecology of Teleost Fishes. Chapman & Hall. London. Great Britain. 404 pp

www.a-venezuela.com.mapas.map.html.estados.yaracuy

Yayanos, A. 1995. Microbiology to 10,500 meters in the deep sea. Annual Review of Microbiology. 49:777-806.

Yoshioka, P. 2008. Identification of the Bray-Curtis similarity index. *Mar Ecol Prog Ser* 368:309–310. http://doi.org/10.3354/meps07728.

Yu, C., Lee, A., Bassler, B. y Roseman, S. 1991. Chitin utilization by marine bacteria. A physiological function for bacterial adhesion to immobilized carbohydrates. *Journal of Biological Chemistry*. 266: 242-247.

Zhang, Z; Li, D; Refaey, M. and Xu, W. 2017. High Spatial and Temporal Variations of Microbial Community along the Southern Catfish Gastrointestinal Tract; Insights into Dynamic Food Digestion. *Frontier in Microbiology*. 8 (1531): 1-13.

Apéndice 1

PLANILLA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Variables fisicoquímicas del agua del río Yaracuy

Estación	Muestra	Coord.	Temp. (°C)	pH	OD (mg/l)	Turb.	Sal. (g/l)	Cond. (us/cm)	Trans. (cm)	Prof. (cm)
N°1 **Desembocadura**	1									
	2									
	3									
N°2 **La Guáquira**	1									
	2									
	3									
N°1 **Desembocadura**	1									
	2									
	3									
N°2 **La Guáquira**	1									
	2									
	3									

Nota: Temp. = temperatura; OD = oxígeno disuelto; Turb. = turbidez; Sal. = salinidad; Cond. = conductividad; Trans. = Transparencia; Prof.= profundidad.

Apéndice 2

Reacciones Bioquímicas de las Enterobacterias

REACCIONES BIOQUÍMICAS DE LAS ENTEROBACTERIAS

	MEDIOS DE CULTIVO	*Escherichia*	*Edwardsiella*	*Citrobacter*	*Salmonella*	*Shigella*				*Klebsiella*			*Enterobacter*		*Serratia*		*Proteus*				*Yersinia*		
		coli	*tarda*	*freundii*	*intermedius*		*dysenteriae*	*flexneri*	*boydii*	*sonnei*	*pneumoniae*	*oxytoca*	*rhinoscleromatis*	*cloacae*	*aerogenes*	*marcescens*	*vulgaris*	*mirabilis*	*morganii*	*zeigeri*	*inconstans*	*pestis*	*pseudo-tuberculosis*	*enterocolitica*
	CATALASA	+	+	+	+	+	d	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	B-Galactosidasa	+	-	+	+	D					+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	d
	GAS	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	d	-	+	+	+	- (+)	+/-	+	-/+	-	-	-	-
	MUCATO	+	-	+	+	D	-	-	-	-	+	d	-	d	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	MOTILIDAD	+/-	+	+	+	+/-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	- a	- a
	ADONITOL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	+	+	-/+	+	d	-	-	-	+	-/+	-	+	-
	ARABINOSA	+	-	+	+	+					+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+
ÁCIDO A PARTIR DE CARBOHIDRATOS	DULCITOL	d	-	d	d	D	d	-	d	-	d	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ESCULINA	d	-	d	d	-										-	d	-	-	+	-	+	+	-
	INOSITOL	-	-	-	-	d	-	-	-	-	+	+	+	d	+	d	-	-	-	-	+	-/+	-	-
	LACTOSA	+	-	d		D	-	-	-	(+)	+	(+)	-	+/(+)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	MALTOSA	+	+	+	+	+					+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
	MANITOL	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+
	SALICINA	d	-	d	d	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	d	d	-	d	-	d	+	-
	SORBITOL	+	-	+	+	+					+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	d	-	+
	SUCROSA	d	-	d	d	-	-	-	-	(+)	+	+	+	+	+	+	+	(+)	-	d	+/(+)	-	-	+
	TREALOSA	+	-	+	+	+					+	+	+	+	+	+	(+)	+	d	-	-/d	+	+	+
	XILOSA	d	-	+	+	+	-	d	d	+	+	+	+	+	+	-	d	+	-	d	-	d	+	d
FUENTES DE CARBONO	CITRATO	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	d	-	+	+	+	d	d	-	+	+	-	-	-
	GLUCONATO		-		-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+								
	MALONATO	-	-	-	-/+	D	-	-	-	+	+	-	+	+/-	+	-	-	-	-	-	-		-	-
	Rojo de Metilo	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	Voges-Proskauer	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
REACCIONES PROTEÍNICAS	ARGININA	d	-	d	d	+	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	GELATINA	-	-	-	-	D	-	-	-	-	-	-	-	(-)	(+)	+	+	+	+	-	-	-	-	-
	H_2S	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-
	INDOL	+	+	-	+	-	d	d	d	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	d
	LISINA	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	d	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	ORNITINA	d	+	d	d	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+
	UREA	-	-	(+)	(+)	-	-	-	-	-	+	d	-	+/-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+
	Fenilalanina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-

+: Más del 90 % positivos.
-: Más del 90 % negativos.
(): Reacción lenta.

d: Diferentes reacciones en distintas cepas de una especie (11 a 89 % positivos).
D: Diferentes reacciones en distintas especies de un género.
a: Movil a 25 °C.

NOTA: Se utilizó la nomenclatura del Bergey´s Manual of Determinative Bacteriology (1957).

Laboratorios Merck S.A. / RIF J-00007634-0 / Apartado 2020, Caracas 1010-A, Calle Hans Neumann, Edificio Corimon, Nivel 3, Urb. Los Cortijos de Lourdes / 0212-2351379 / **Laboratorios Farmacéuticos.**

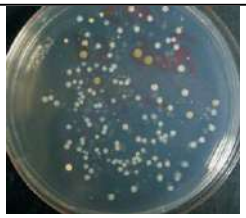
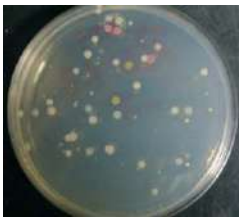
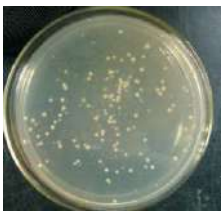
Apéndice 3

Lista y descripción de los materiales.

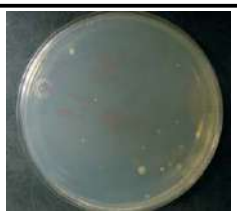
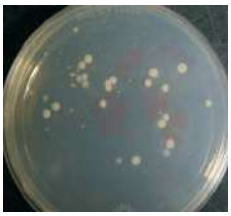
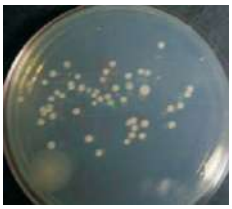
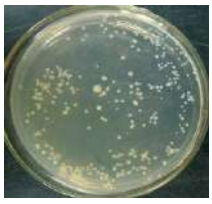
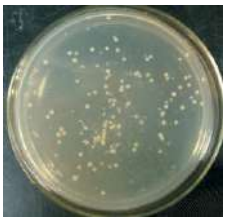
N°	Cantidad	Material	Capacidad	Características
1	50	frascos	250 ml	solución salina (99 ml c/u)
2	12	frascos	250 ml	caldo ATS
3	250	placas	--	agar TS
4	250	placas	--	agar TCBS
5	250	placas	--	agar EMB
6	120	tubos de ensayo	--	agar TS
7	10	pipetas	1 ml	vidro
8	10	pipetas	10 ml	vidrio
9	1	micropipeta	1 ml	plástica
10	1	bombona de gas	--	--
11	2	rastrillos	--	vidrio
12	2	mecheros	--	–
13	1	disco de Secchi	2 m	metálico
14	1	filtro de agua	--	marca MILIPORE
15	1	inyectadora	300 cm^3	para fiitrado
16	1	caja con filtros	100	marca MILIPORE
17	2	potes	250 ml	antiséptico GERDEZ
18	10	copas	100 ml	para filtrado
19	36	cápsulas	--	para medio COLIBLUE

Apéndice 4 Morfotipo y Abundancia bacteriana en Peces (Trabajo de campo N°1)

Morfotipo, UFC y Abundancia bacteriana en tejido intestinal de Róbalo (*Centropomus undecimalis*) y Aguja (*Syngnathus acus*) en la Estación Desembocadura del río Yaracuy (Medio ATS).

Ejemplar	Cepa	Placa	Morfotipo	UFC	Abundancia (UFC/ml) x 10^9	Especie Bacteriana *
ROB 1.1	1		crema (1mm)	88	8,8	*Citrobacter* sp.
	2		crema (2mm)	46	4.6	*Serratia marcescens*
	3		crema (4mm)	12	1.2	*Proteus* sp.
	4		amarilla (1mm)	4	0,4	*Enterobacter aerogenes*
	5		marrón (6mm)	17	1,7	*Escherichia coli*
	6		marrón (4mm)	3	0,3	*Shigella* sp.
	7		roja (1mm)	3	0,3	*Klebsiella* sp.
	8		blanca (4mm)	7	0,7	*Pseudomonas* sp.
ROB 1.2	9		crema (1mm)	51	5,1	*Citrobacter* sp.
	10		crema (2mm)	7	0,7	*Serratia marcescens*
	11		crema (4mm)	28	2,8	*Proteus* sp.
	12		amarilla (1mm)	1	0,1	*Enterobacter aerogenes*
	13		marrón (6mm)	17	1,7	*Escherichia coli*
	14		marrón (4mm)	5	0,5	*Shigella* sp.
	15		roja (1mm)	3	0,3	*Klebsiella* sp.
	16		blanca (4mm)	16	1,6	*Pseudomonas* sp.
ROB 1.3	17		crema (1mm)	36	3,6	*Citrobacter* sp.
	18		crema (2mm)	3	0,3	*Serratia marcescens*
	19		crema (4mm)	36	3,6	*Proteus* sp.
	20		amarilla (1mm)	1	0,1	*Enterobacter aerogenes*
	21		marrón (6mm)	13	1,3	*Escherichia coli*
	22		marrón (4mm)	4	0,4	*Shigella* sp.
	23		roja (1mm)	5	0,5	*Klebsiella* sp.
	24		blanca (4mm)	24	2,4	*Pseudomonas* sp.
AGU 1.1	25		crema (1mm)	89	8,9	*Citrobacter* sp.
	26		crema (2mm)	71	7,1	*Serratia marcescens*
	27		crema (4mm)	25	2.5	*Proteus* sp.
	28		amarilla (1mm)	6	0,6	*Enterobacter aerogenes*
	29		marrón (6mm)	14	1,4	*Escherichia coli*
	30		marrón (4mm)	6	0,6	*Shigella* sp.
	31		roja (1mm)	5	0,5	*Klebsiella* sp.
	32		blanca (4mm)	2	0,2	*Pseudomonas* sp.
AGU 1.2	33		crema (1mm)	16	1,6	*Citrobacter* sp.
	34		crema (2mm)	185	18,5	*Serratia marcescens*
	35		crema (4mm)	28	2,8	*Proteus* sp.
	36		amarilla (1mm)	4	0,4	*Enterobacter aerogenes*
	37		marrón (6mm)	15	1,5	*Escherichia coli*
	38		marrón (4mm)	3	0,3	*Shigella* sp.
	39		roja (1mm)	6	0,6	*Klebsiella* sp.
	40		blanca (4mm)	11	1,1	*Pseudomonas* sp.
AGU 1.3	41		crema (1mm)	350	35	*Citrobacter* sp.
	42		crema (2mm)	130	13	*Serratia marcescens*
	43		crema (4mm)	24	2,4	*Proteus* sp.
	44		amarilla (1mm)	4	0,4	*Enterobacter aerogenes*
	45		marrón (6mm)	11	1,1	*Escherichia coli*
	46		marrón (4mm)	4	0,4	*Shigella* sp.
	47		roja (1mm)	5	0,5	*Klebsiella* sp.
	48		blanca (4mm)	10	1	*Pseudomonas* sp.

Morfotipo, UFC y Abundancia bacteriana en tejido intestinal de San Pedro (*Caquetaia kraussii*) y Guabina (*Hoplias malabaricus*) en la Estación Desembocadura del río Yaracuy (Medio ATS).

Ejemplar	Cepa	Placa	Morfotipo	UFC	Abundancia (UFC/ml) x 10^9	Especie Bacteriana *
SP 1.1	49		crema (1mm)	7	0,7	*Citrobacter* sp.
	50		crema (2mm)	3	0,3	*Serratia marcescens*
	51		crema (4mm)	4	0,4	*Proteus* sp.
	52		amarilla (1mm)	2	0,2	*Enterobacter aerogenes*
	53		marrón (6mm)	3	0,3	*Escherichia coli*
	54		marrón (4mm)	2	0,2	*Shigella* sp.
	55		roja (1mm)	2	0,2	*Klebsiella* sp.
SP 1.2	56		crema (1mm)	34	3,4	*Citrobacter* sp.
	57		crema (2mm)	7	0,7	*Serratia marcescens*
	58		crema (4mm)	20	2	*Proteus* sp.
	59		amarilla (1mm)	6	0,6	*Enterobacter aerogenes*
	60		marrón (6mm)	11	1,1	*Escherichia coli*
	61		marrón (4mm)	5	0,5	*Shigella* sp.
	62		roja (1mm)	6	0,6	*Klebsiella* sp.
	63		blanca (4mm)	3	0,3	*Pseudomonas* sp.
SP 1.3	64		crema (1mm)	30	3	*Citrobacter* sp.
	65		crema (2mm)	27	2,7	*Serratia marcescens*
	66		crema (4mm)	26	2,6	*Proteus* sp.
	67		amarilla (1mm)	4	0,4	*Enterobacter aerogenes*
	68		marrón (6mm)	5	0,5	*Escherichia coli*
	69		marrón (4mm)	4	0,4	*Shigella* sp.
	70		roja (1mm)	3	0,3	*Klebsiella* sp.
	71		blanca (4mm)	8	0,8	*Pseudomonas* sp.
GUA 1.1	72		crema (1mm)	7	0,7	*Citrobacter* sp.
	73		crema (2mm)	3	0,3	*Serratia marcescens*
	74		crema (4mm)	4	0,4	*Proteus* sp.
	75		amarilla (1mm)	2	0,2	*Enterobacter aerogenes*
	76		marrón (6mm)	3	0,3	*Escherichia coli*
	77		marrón (4mm)	2	0,2	*Shigella* sp.
	78		roja (1mm)	2	0,2	*Klebsiella* sp.
GUA 1.2	79		crema (1mm)	34	3,4	*Citrobacter* sp.
	80		crema (2mm)	7	0,7	*Serratia marcescens*
	81		crema (4mm)	20	2	*Proteus* sp.
	82		amarilla (1mm)	6	0,6	*Enterobacter aerogenes*
	83		marrón (6mm)	11	1,1	*Escherichia coli*
	84		marrón (4mm)	5	0,5	*Shigella* sp.
	85		roja (1mm)	6	0,6	*Klebsiella* sp.
	86		blanca (4mm)	3	0,3	*Pseudomonas* sp.
GUA 1.3	87		crema (1mm)	30	3	*Citrobacter* sp.
	88		crema (2mm)	27	2,7	*Serratia marcescens*
	89		crema (4mm)	26	2,6	*Proteus* sp.
	90		amarilla (1mm)	4	0,4	*Enterobacter aerogenes*
	91		marrón (6mm)	5	0,5	*Escherichia coli*
	92		marrón (4mm)	4	0,4	*Shigella* sp.
	93		roja (1mm)	3	0,3	*Klebsiella* sp.
	94		blanca (4mm)	8	0,8	*Pseudomonas* sp.

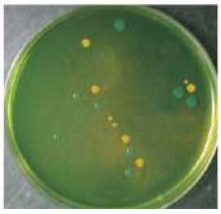
Morfotipo, UFC y Abundancia bacteriana en el Agua de la Estación Desembocadura del río Yaracuy (Medio ATS).

Ejemplar	Cepa	Placa	Morfotipo	UFC	Abundancia (UFC/ml) x 10^9	Especie Bacteriana *
AGUA 1.1	95		crema (1mm)	140	14	*Citrobacter* sp.
	96		crema (2mm)	51	5,1	*Serratia marcescens*
	97		crema (4mm)	15	1,5	*Proteus* sp.
	98		amarilla (1mm)	13	1,3	*Enterobacter aerogenes*
	99		marrón (6mm)	34	3,4	*Escherichia coli*
	100		marrón (4mm)	6	0,6	*Shigella* sp.
	101		roja (1mm)	9	0,9	*Klebsiella* sp.
	102		blanca (4mm)	5	0,5	*Pseudomonas* sp.
AGUA 1.2	103		crema (1mm)	6	0.6	*Citrobacter* sp.
	104		crema (2mm)	73	7,3	*Serratia marcescens*
	105		crema (4mm)	18	1,8	*Proteus* sp.
	106		amarilla (1mm)	11	1,1	*Enterobacter aerogenes*
	107		marrón (6mm)	17	1,7	*Escherichia coli*
	108		marrón (4mm)	8	0,8	*Shigella* sp.
	109		roja (1mm)	10	1	*Klebsiella* sp.
	110		blanca (4mm)	3	0,3	*Pseudomonas* sp.
AGUA 1.3	111		crema (1mm)	45	4,5	*Citrobacter* sp.
	112		crema (2mm)	9	0,9	*Serratia marcescens*
	113		crema (4mm)	32	3,2	*Proteus* sp.
	114		amarilla (1mm)	15	1,5	*Enterobacter aerogenes*
	115		marrón (6mm)	12	1,2	*Escherichia coli*
	116		marrón (4mm)	8	0,8	*Shigella* sp.
	117		roja (1mm)	2	0,2	*Klebsiella* sp.
	118		blanca (4mm)	8	0,8	*Pseudomonas* sp.

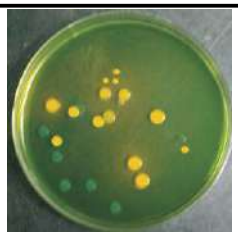
Nota: El agar tripticasa de soya es un medio de cultivo bacteriano de amplio espectro.

Nota: * La especie bacterina o el género se determina después de aplicar a las distintas cepas las Pruebas Bioquímicas.

Morfotipo, UFC y Abundancia bacteriana en tejido intestinal de Róbalo (*Centropomus undecimalis*) y Aguja (*Syngnathus acus*) en la Estación Desembocadura (Medio TCBS).

Ejemplar	Cepa	Placa	Morfotipo	UFC	Abundancia (UFC/ml) x 10^9	Especie Bacteriana *
ROB 1.1	119		amarillo(4mm)	16	1,6	*Vibrio cholerae*
	120		verde(4mm)	18	1,8	*V. parahaemolyticus*
ROB 1.2	121		amarillo(4mm	6	0,6	*Vibrio cholerae*
	122		verde(4mm)	7	0,7	*V. parahaemolyticus*
	123		amarillo(6mm)	8	0,8	*V. alginolyticus*
ROB 1.3	124		amarillo(4mm)	19	1,9	*Vibrio cholerae*
	125		verde(4mm)	36	3,6	*V. parahaemolyticus*
AGU 1.1	126		amarillo(4mm)	2	0,2	*Vibrio cholerae*
	127		verde(4mm)	9	0,9	*V. parahaemolyticus*
	128		amarillo(6mm)	9	0,9	*V. alginolyticus*
AGU 1.2	129		amarillo(6mm)	6	0,6	*Vibrio cholerae*
	130		verde(4mm)	22	2,2	*V. parahaemolyticus*
AGU 1.3	131		amarillo(4mm)	3	0,3	*Vibrio cholerae*
	132		verde(4mm)	8	0,8	*V. parahaemolyticus*
	133		amarillo(6mm)	5	0,5	*V. alginolyticus*

Morfotipo, UFC y Abundancia bacteriana en tejido intestinal de San Pedro (*Caquetaia kraussii*) y Guabina (*Hoplias malabaricus*) en la Estación Desembocadura (Medio TCBS).

Ejemplar	Cepa	Placa	Morfotipo	UFC	Abundancia (UFC/ml) x 10^9	Especie Bacteriana *
SP 1.1	134		amarillo(4mm)	5	0,5	*Vibrio cholerae*
	135		verde(4mm)	7	0,7	*V. parahaemolyticus*
	136		amarillo(6mm)	10	1	*V. alginolyticus*
SP 1.2	137		amarillo(4mm)	13	1,3	*Vibrio cholerae*
	138		verde(4mm)	12	1,2	*V. parahaemolyticus*
	139		amarillo(6mm)	8	0,8	*V. alginolyticus*
SP 1.3	140		amarillo(4mm)	8	0,8	*Vibrio cholerae*
	141		verde(4mm)	15	1,5	*V. parahaemolyticus*
	142		amarillo(6mm)	3	0,3	*V. alginolyticus*
GUA 1.1	143		amarillo(4mm)	23	2,3	*Vibrio cholerae*
	144		verde(4mm)	24	2,4	*V. parahaemolyticus*
	145		amarillo(6mm)	11	1,1	*V. alginolyticus*
GUA 1.2	146		amarillo(4mm)	24	2,4	*Vibrio cholerae*
	147		verde(4mm)	14	1,4	*V. parahaemolyticus*
	148		amarillo(6mm)	9	0,9	*V. alginolyticus*
GUA 1.3	149		amarillo(4mm)	22	2,2	*Vibrio cholerae*
	150		verde(4mm)	32	3,2	*V. parahaemolyticus*
	151		amarillo(6mm)	14	1,4	*V. alginolyticus*

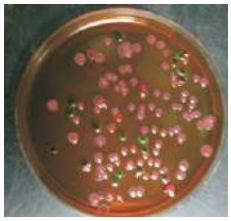
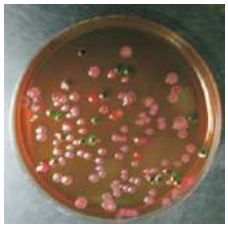
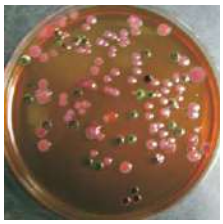
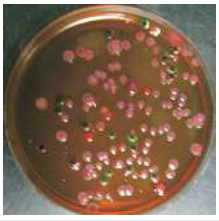
Nota: El agar TCBS es un medio de cultivo específico que permite diferenciar las especies del género *Vibrio* a través del morfotipo.

Morfotipo, UFC y Abundancia bacteriana en Agua en la Estación Desembocadura del río Yaracuy (Medio TCBS).

Ejemplar	Cepa	Placa	Morfotipo	UFC	Abundancia (UFC/ml) x 10^9	Especie Bacteriana *
AGUA 1.1	152		amarillo(4mm)	12	1,2	*Vibrio cholerae*
	153		verde(4mm)	31	3,1	*V. parahaemolyticus*
	154		amarillo(6mm)	19	1,9	*V. alginolyticus*
AGUA 1.2	155		amarillo(4mm)	15	1,5	*Vibrio cholerae*
	156		verde(4mm)	28	2,8	*V. parahaemolyticus*
	157		amarillo(6mm)	21	2,1	*V. alginolyticus*
AGUA 1.3	158		amarillo(4mm)	11	1,1	*Vibrio cholerae*
	159		verde(4mm)	22	2,2	*V. parahaemolyticus*
	160		amarillo(6mm)	12	1,2	*V. alginolyticus*

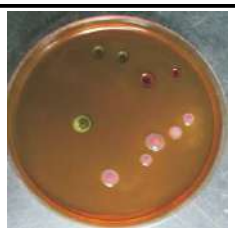
Nota: El agar TCBS es un medio de cultivo específico que permite diferenciar las especies del género *Vibrio* a través del morfotipo.

Morfotipo, UFC y Abundancia bacteriana en tejido intestinal de Róbalo (*Centropomus undecimalis*) y Aguja (*Syngnathus acus*) en la Estación Desembocadura (Medio EMB).

Ejemplar	Cepa	Placa	Morfotipo	UFC	Abundancia (UFC/ml) x 10^9	Especie Bacteriana *
ROB 1.1	161		verde metálico	17	1,7	*Escherichia coli*
	162		violeta	4	0,4	*Enterobacter aerogenes*
	163		rosado	101	10,1	*Serratia marcescens*
	164		gris claro	2	0,2	*Salmonella* sp.
	165		incolora	7	0,7	*Pseudomonas* sp.
ROB 1.2	166		verde metálico	14	1,4	*Escherichia coli*
	167		violeta	12	1,2	*Enterobacter aerogenes*
	168		rosado	110	11	*Serratia marcescens*
	169		incolora	5	0,5	*Pseudomonas* sp.
ROB 1.3	170		verde metálico	13	1,3	*Escherichia coli*
	171		violeta	10	1	*Enterobacter aerogenes*
	172		rosado	98	9,8	*Serratia marcescens*
	173		incolora	3	0,3	*Pseudomonas* sp.
AGU 1.1	174		verde metálico	14	1,4	*Escherichia coli*
	175		violeta	6	0,6	*Enterobacter aerogenes*
	176		rosado	81	8,1	*Serratia marcescens*
	177		incolora	2	0,2	*Pseudomonas* sp.
AGU 1.2	178		verde metálico	15	1,5	*Escherichia coli*
	179		violeta	4	0,4	*Enterobacter aerogenes*
	180		rosado	107	10,7	*Serratia marcescens*
	181		incolora	11	1,1	*Pseudomonas* sp.
AGU 1.3	182		verde metálico	11	1,1	*Escherichia coli*
	183		violeta	4	0,4	*Enterobacter aerogenes*
	184		rosado	112	11,2	*Serratia marcescens*
	185		incolora	10	1	*Pseudomonas* sp.

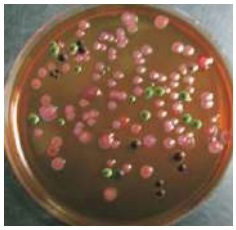
Nota: El agar EMB es un medio de cultivo específico el cual permite diferenciar las especies de Enterobacterias a través del morfotipo.

Morfotipo, UFC y Abundancia bacteriana en tejido intestinal de San Pedro (*Caquetaia kraussii*) y Guabina (*Hoplias malabaricus*) en la Estación Desembocadura (Medio EMB).

Ejemplar	Cepa	Placa	Morfotipo	UFC	Abundancia (UFC/ml) x 10^9	Especie Bacteriana *
SP 1.1	186		verde metálico	3	0,3	*Escherichia coli*
	187		violeta	2	0,2	*Enterobacter aerogenes*
	188		rosado	5	0,5	*Serratia marcescens*
SP 1.2	189		verde metálico	11	1,1	*Escherichia coli*
	190		violeta	6	0,6	*Enterobacter aerogenes*
	191		rosado	5	0,5	*Serratia marcescens*
	192		incolora	3	0,3	*Pseudomonas* sp.
SP 1.3	193		verde metálico	5	0,5	*Escherichia coli*
	194		violeta	4	0,4	*Enterobacter aerogenes*
	195		rosado	54	5,4	*Serratia marcescens*
	196		incolora	8	0,8	*Pseudomonas* sp.
GUA 1.1	197		verde metálico	18	1,8	*Escherichia coli*
	198		violeta	5	0,5	*Enterobacter aerogenes*
	199		rosado	85	8,5	*Serratia marcescens*
	200		incolora	2	0,2	*Pseudomonas* sp.
GUA 1.2	201		verde metálico	16	1,6	*Escherichia coli*
	202		violeta	12	1,2	*Enterobacter aerogenes*
	203		rosado	104	10,4	*Serratia marcescens*
	204		incolora	4	0,4	*Pseudomonas* sp.
GUA 1.3	205		verde metálico	15	1,5	*Escherichia coli*
	206		violeta	7	0,7	*Enterobacter aerogenes*
	207		rosado	86	8,6	*Serratia marcescens*
	208		incolora	2	0,2	*Pseudomonas* sp.

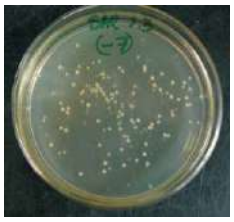
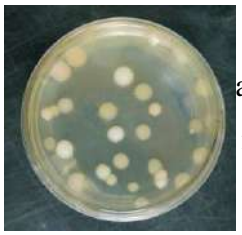
Nota: El agar EMB es un medio de cultivo específico el cual permite diferenciar las especies de Enterobacterias a través del morfotipo.

Morfotipo, UFC y Abundancia bacteriana en Agua en la Estación Desembocadura del río Yaracuy (Medio EMB).

Ejemplar	Cepa	Placa	Morfotipo	UFC	Abundancia (UFC/ml) x 10^9	Especie Bacteriana *
AGUA 1.1	209		verde metálico	34	3,4	*Escherichia coli*
	210		violeta	13	1,3	*Enterobacter aerogenes*
	211		rosado	21	2,1	*Serratia marcescens*
	212		gris claro	4	0,4	*Salmonella* sp.
	213		incolora	5	0,5	*Pseudomonas* sp.
AGUA 1.2	214		verde metálico	17	1,7	*Escherichia coli*
	215		violeta	11	1,1	*Enterobacter aerogenes*
	216		rosado	33	3,3	*Serratia marcescens*
	217		gris claro	1	0,1	*Salmonella* sp.
	218		incolora	3	0,3	*Pseudomonas* sp.
AGUA 1.3	219		verde metálico	12	1,2	*Escherichia coli*
	220		violeta	15	1,5	*Enterobacter aerogenes*
	221		rosado	9	0,9	*Serratia marcescens*
	222		gris claro	11	1,1	*Salmonella* sp.
	223		incolora	8	0,8	*Pseudomonas* sp.

Nota: El agar EMB es un medio de cultivo específico el cual permite diferenciar las especies de Enterobacterias a través del morfotipo.

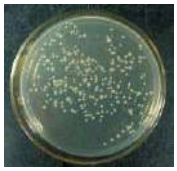
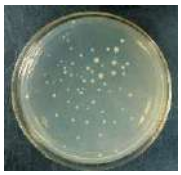
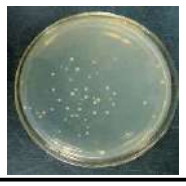
Morfotipo, UFC y Abundancia bacteriana en tejido intestinal de Sardina (*Astyanax fasciatus*) y Aguja$_2$ (*Farlowela martini*) en la Estación La Guáquira del río Yaracuy (Medio ATS).

Ejemplar	Cepa	Placa	Morfotipo	UFC	Abundancia (UFC/ml) x 10^o	Especie Bacteriana *
SAR 1.1	224		crema (1mm)	28	2,8	*Citrobacter* sp.
	225		crema (2mm)	190	19	*Serratia marcescens*
	226		amarilla (1mm)	10	1	*Enterobacter aerogenes*
	227		roja(1mm)	30	3	*Klebsiella* sp.
SAR 1.2	228		crema (1mm)	40	4	*Citrobacter* sp.
	229		crema (2mm)	21	2,1	*Serratia marcescens*
	230		amarilla (1mm)	13	1,3	*Enterobacter aerogenes*
	231		roja(1mm)	30	3	*Klebsiella* sp.
SAR 1.3	232		crema (1mm)	105	10,5	*Citrobacter* sp.
	233		crema (2mm)	81	8,1	*Serratia marcescens*
	234		amarilla (1mm)	8	0,8	*Enterobacter aerogenes*
	235		roja(1mm)	20	2	*Klebsiella* sp.
AGU$_2$ 1.1	236		crema (4mm)	14	1,4	*Proteus* sp.
	237		amarilla (1mm)	4	0,4	*Enterobacter aerogenes*
	238		marrón (4mm)	11	1,1	*Shigella* sp.
AGU$_2$ 1.2	239		crema (4mm)	10	1	*Proteus* sp.
	240		amarilla (1mm)	11	1,1	*Enterobacter aerogene*
	241		marrón (4mm)	14	1,4	*Shigella* sp.s
AGU$_2$ 1.3	242		crema (4mm)	21	2,1	*Proteus* sp.
	243		amarilla (1mm)	6	0,6	*Enterobacter aerogene*
	244		marrón (4mm)	16	1,6	*Shigella* sp.s

Nota: El agar tripticasa de soya es un medio de cultivo bacteriano de amplio espectro.

Nota: * La especie bacterina o el género se determina después de aplicar a las distintas cepas las Pruebas Bioquímicas.

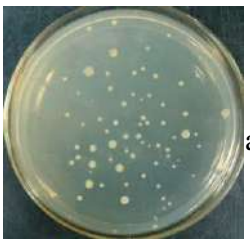
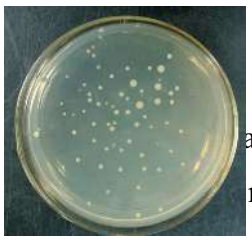
Morfotipo, UFC y Abundancia bacteriana en tejido intestinal de Corroncho (*Chaetostoma yurubiense*) y Viejita (*Andinoacara pulcher*) en la Estación La Guáquira del río Yaracuy (Medio ATS).

Ejemplar	Cepa	Placa	Morfotipo	UFC	Abundancia (UFC/ml) x 10^9	Especie Bacteriana *
COR 1.1	245		crema (1mm)	80	8	*Citrobacter* sp.
	246		crema(2mm)	189	18,9	*Serratia marcescens*
	247		crema (4mm)	22	2,2	*Proteus* sp.
	248		amarilla (1mm)	8	0,8	*Enterobacter aerogenes*
	249		marrón (4mm)	4	0,4	*Shigella* sp.
	250		roja(1mm)	25	2,5	*Klebsiella* sp.
COR 1.2	251		crema (1mm)	71	7,1	*Citrobacter* sp.
	252		crema(2mm)	138	13,8	*Serratia marcescens*
	253		crema (4mm)	13	1,3	*Proteus* sp.
	254		amarilla (1mm)	5	0,5	*Enterobacter aerogenes*
	255		marrón (4mm)	2	0,2	*Shigella* sp.
	256		roja(1mm)	30	3	*Klebsiella* sp.
COR 1.3	257		crema (1mm)	112	11,2	*Citrobacter* sp.
	258		crema(2mm)	22	2,2	*Serratia marcescens*
	259		crema (4mm)	8	0,8	*Proteus* sp.
	260		amarilla (1mm)	11	1,1	*Enterobacter aerogenes*
	261		marrón (4mm)	3	0,3	*Shigella* sp.
	262		roja(1mm)	47	4,7	*Klebsiella* sp.
VIE 1.1	263		crema (1mm)	25	2,5	*Citrobacter* sp.
	264		crema(2mm)	36	3,6	*Serratia marcescens*
	265		crema (4mm)	11	1,1	*Proteus* sp.
	266		amarilla (1mm)	9	0,9	*Enterobacter aerogenes*
	267		marrón (4mm)	4	0,4	*Shigella* sp.
	268		roja(1mm)	3	0,3	*Klebsiella* sp.
VIE 1.2	269		crema (1mm)	27	2,7	*Citrobacter* sp.
	170		crema(2mm)	38	3,8	*Serratia marcescens*
	271		crema (4mm)	6	0,6	*Proteus* sp.
	272		amarilla (1mm)	7	0,7	*Enterobacter aerogenes*
	273		marrón (4mm)	4	0,4	*Shigella* sp.
	274		roja(1mm)	35	3,5	*Klebsiella* sp.
VIE 1.3	275		crema (1mm)	29	2,9	*Citrobacter* sp.
	276		crema(2mm)	18	1,8	*Serratia marcescens*
	277		crema (4mm)	5	0,5	*Proteus* sp.
	278		amarilla (1mm)	11	1,1	*Enterobacter aerogenes*
	279		marrón (4mm)	3	0,3	*Shigella* sp.
	280		roja(1mm)	15	1,5	*Klebsiella* sp.

Nota: El agar tripticasa de soya es un medio de cultivo bacteriano de amplio espectro.

Nota: * La especie bacterina o el género se determina después de aplicar a las distintas cepas las Pruebas Bioquímicas.

Morfotipo, UFC y Abundancia bacteriana en tejido intestinal de Uñoa (*Ancistrus gymnorhynchus*) y Agua en la Estación La Guáquira del río Yaracuy (Medio ATS).

Ejemplar	Cepa	Placa	Morfotipo	UFC	Abundancia (UFC/ml) x 10^9	Especie Bacteriana *
UÑOA 1.1	281		crema (1mm)	26	2,6	*Citrobacter* sp.
	282		crema (2mm)	21	2,1	*Serratia marcescens*
	283		crema (2mm)	16	1,6	*Proteus* sp.
	284		amarilla (1mm)	14	1,4	*Enterobacter aerogenes*
	285		marrón (4mm)	5	0,5	*Shigella* sp.
	286		roja(1mm)	27	2,7	*Klebsiella* sp.
UÑOA 1.2	287		crema (1mm)	29	2,9	*Citrobacter* sp.
	288		crema (2mm)	4	0,4	*Serratia marcescens*
	289		crema (2mm)	18	1,8	*Proteus* sp.
	290		amarilla (1mm)	12	1,2	*Enterobacter aerogenes*
	291		marrón (4mm)	6	0,6	*Shigella* sp.
	292		roja(1mm)	30	3	*Klebsiella* sp.
AGUA 1.1	293		crema (1mm)	29	2,9	*Citrobacter* sp.
	294		crema(2mm)	9	0,9	*Serratia marcescens*
	295		crema (2mm)	42	4,2	*Proteus* sp.
	296		amarilla (1mm)	9	0,9	*Enterobacter aerogenes*
	297		marrón (4mm)	3	0,3	*Shigella* sp.
	298		roja(1mm)	5	0,5	*Klebsiella* sp.
AGUA 1.2	299		crema (1mm)	70	7	*Citrobacter* sp.
	300		crema(2mm)	64	6,4	*Serratia marcescens*
	301		crema (2mm)	39	3,9	*Proteus* sp.
	302		amarilla (1mm)	7	0,7	*Enterobacter aerogenes*
	303		marrón (4mm)	3	0,3	*Shigella* sp.
	304		roja(1mm)	1	0,1	*Klebsiella* sp.
AGUA 1.3	305		crema (1mm)	33	3,3	*Citrobacter* sp.
	306		crema(2mm)	11	1,1	*Serratia marcescens*
	307		crema (2mm)	32	3,2	*Proteus* sp.
	308		amarilla (1mm)	5	0,5	*Enterobacter aerogenes*
	309		marrón (4mm)	2	0,2	*Shigella* sp.
	310		roja(1mm)	4	0,4	*Klebsiella* sp.

Nota: El agar tripticasa de soya es un medio de cultivo bacteriano de amplio espectro.

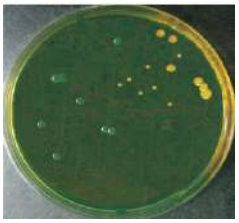
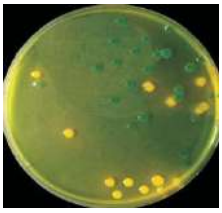
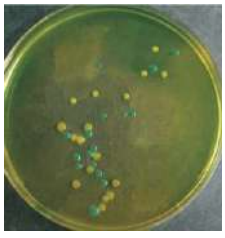
Nota: * La especie bacterina o el género se determina después de aplicar a las distintas cepas las Pruebas Bioquímicas.

Morfotipo, UFC y Abundancia bacteriana en tejido intestinal de Sardina (*Astyanax fasciatus*) y Aguja$_2$ (*Farlowela martini*) en la Estación La Guáquira del río Yaracuy (Medio TCBS).

Ejemplar	Cepa	Placa	Morfotipo	UFC	Abundancia (UFC/ml) x 10^9	Especie Bacteriana *
SAR 1.1	311		amarillo(4mm)	11	1,1	*Vibrio cholerae*
	312		verde(4mm)	6	0,6	*V. parahaemolyticus*
SAR 1.2	313		amarillo(4mm)	16	1,6	*Vibrio cholerae*
	314		verde(4mm)	17	1,7	*V. parahaemolyticus*
SAR 1.3	315		amarillo(4mm)	18	1,8	*Vibrio cholerae*
	316		verde(4mm)	6	0,6	*V. parahaemolyticus*
AGU$_2$ 1.1	317		amarillo(4mm)	12	1,2	*Vibrio cholerae*
	318		verde(4mm)	30	3	*V. parahaemolyticus*
AGU$_2$ 1.2	319		amarillo(4mm)	16	1,6	*Vibrio cholerae*
	320		verde(4mm)	44	4,4	*V. parahaemolyticus*
AGU$_2$ 1.3	321		amarillo(4mm)	23	2,3	*Vibrio cholerae*
	322		verde(4mm)	26	2,6	*V. parahaemolyticus*

Nota: El agar TCBS es un medio de cultivo específico que permite diferenciar las especies del género *Vibrio* a través del morfotipo.

Morfotipo, UFC y Abundancia bacteriana en tejido intestinal de Corroncho (*Chaetostoma yurubiense*) y Viejita (*Andinoacara pulcher*) en Estación La Guáquira del río Yaracuy (Medio TCBS).

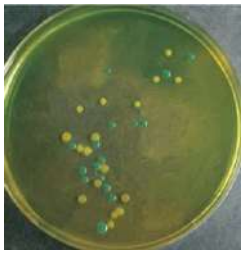
Ejemplar	Cepa	Placa	Morfotipo	UFC	Abundancia (UFC/ml) x 10^9	Especie Bacteriana *
COR 1.1	323		amarillo(4mm)	18	1,8	*Vibrio cholerae*
	324		verde(4mm)	33	3,3	*V. parahaemolyticus*
COR 1.2	325		amarillo(4mm)	13	1,3	*Vibrio cholerae*
	326		verde(4mm)	8	0,8	*V. parahaemolyticus*
COR 1.3	327		amarillo(4mm)	10	1	*Vibrio cholerae*
	328		verde(4mm)	7	0,7	*V. parahaemolyticus*
VIE 1.1	329		amarillo(4mm)	20	2	*Vibrio cholerae*
	330		verde(4mm)	22	2,2	*V. parahaemolyticus*
VIE 1.2	331		amarillo(4mm)	15	1,5	*Vibrio cholerae*
	332		verde(4mm)	26	2,6	*V. parahaemolyticus*
VIE 1.3	333		amarillo(4mm)	17	1,7	*Vibrio cholerae*
	334		verde(4mm)	16	1,6	*V. parahaemolyticus*

Nota: El agar TCBS es un medio de cultivo específico que permite diferenciar las especies del género *Vibrio* a través del morfotipo.

Morfotipo, UFC y Abundancia bacteriana en tejido intestinal de Uñoa (*Ancistrus gymnorhynchus*) y Agua en Estación La Guáquira del río Yaracuy (Medio TCBS).

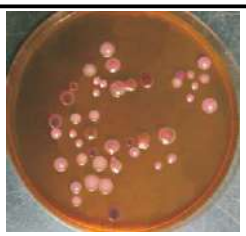
Ejemplar	Cepa	Placa	Morfotipo	UFC	Abundancia (UFC/ml) x 10^9	Especie Bacteriana *
UÑOA 1.1	335		amarillo(4mm)	10	1	*Vibrio cholerae*
	336		verde(4mm)	32	3,2	*V. parahaemolyticus*
UÑOA 1.2	337		amarillo(4mm)	7	0,7	*Vibrio cholerae*
	338		verde(4mm)	17	1,7	*V. parahaemolyticus*

Morfotipo, UFC y Abundancia bacteriana en tejido intestinal de Róbalo (*Centropomus undecimalis*) en la Estación La Guáquira del río Yaracuy (Medio TCBS).

Ejemplar	Cepa	Placa	Morfotipo	UFC	Abundancia (UFC/ml) x 10^9	Especie Bacteriana *
AGUA 1.1	339		amarillo(1mm)	20	2	*Vibrio cholerae*
	340		verde(1mm)	22	2,2	*V. parahaemolyticus*
AGUA 1.2	341		amarillo(4mm)	15	1,5	*Vibrio cholerae*
	342		verde(4mm)	26	2,6	*V. parahaemolyticus*
AGUA 1.3	343		amarillo(4mm)	11	1,1	*Vibrio cholerae*
	344		verde(4mm)	6	0,6	*V. parahaemolyticus*

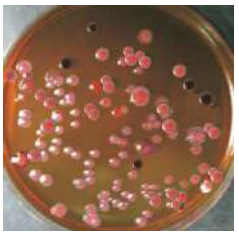
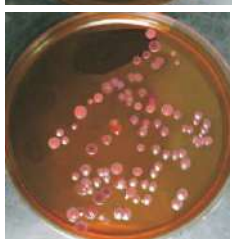
Nota: El agar TCBS es un medio de cultivo específico el cual permite diferenciar las especies del género *Vibrio*.

Morfotipo, UFC y Abundancia bacteriana en tejido intestinal de Sardina (*Astyanax fasciatus*) y Aguja$_2$ (*Farlowela martini*) en la Estación La Guáquira del río Yaracuy (Medio EMB).

Ejemplar	Cepa	Placa	Morfotipo	UFC	Abundancia (UFC/ml) x 10^9	Especie Bacteriana *
SAR 1.1	345		violeta (4mm)	10	1	*Enterobacter aerogenes*
	346		rosado (4mm)	20	2	*Serratia marcescens*
SAR 1.2	347		violeta (4mm)	13	1,3	*Enterobacter aerogenes*
	348		rosado (4mm)	21	2,1	*Serratia marcescens*
SAR 1.3	349		violeta (4mm)	8	0,8	*Enterobacter aerogenes*
	350		rosado (4mm)	12	1,2	*Serratia marcescens*
AGU$_2$ 1.1	351		violeta (4mm)	4	0,4	*Enterobacter aerogenes*
	352		rosado (4mm)	11	1,1	*Serratia marcescens*
AGU$_2$ 1.2	353		violeta (4mm)	11	1,1	*Enterobacter aerogenes*
	354		rosado (4mm)	13	1,3	*Serratia marcescens*
AGU$_2$ 1.3	355		violeta (4mm)	6	0,6	*Enterobacter aerogenes*
	356		rosado (4mm)	14	1,4	*Serratia marcescens*

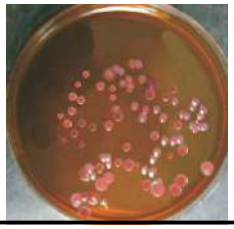
Nota: El agar EMB es un medio de cultivo específico que permite diferenciar algunas especies de Enterobacterias a través del morfotipo.

Morfotipo, UFC y Abundancia bacteriana en tejido intestinal de Corroncho (*Chaetostoma yurubiense*) y Viejita (*Andinoacara pulcher*) en Estación La Guáquira del río Yaracuy (Medio EMB).

Ejemplar	Cepa	Placa	Morfotipo	UFC	Abundancia (UFC/ml) x 10^9	Especie Bacteriana *
COR 1.1	357		violeta(4mm)	8	0,8	*Enterobacter aerogenes*
	358		rosado (4mm)	41	4,1	*Serratia marcescens*
COR 1.2	359		violeta(4mm)	5	0,5	*Enterobacter aerogenes*
	360		rosado (4mm)	12	1,2	*Serratia marcescens*
COR 1.3	361		violeta(4mm)	11	1,1	*Enterobacter aerogenes*
	362		rosado (4mm)	49	4,9	*Serratia marcescens*
VIE 1.1	363		violeta(4mm)	9	0,9	*Enterobacter aerogenes*
	364		rosado (4mm)	63	6,3	*Serratia marcescens*
VIE 1.2	365		violeta(4mm)	67	6,7	*Enterobacter aerogenes*
	366		rosado (4mm)	4	0,4	*Serratia marcescens*
VIE 1.3	367		violeta(4mm)	75	7,5	*Enterobacter aerogenes*
	368		rosado (4mm)	3	0,3	*Serratia marcescens*

Nota: El agar EMB es un medio de cultivo específico que permite diferenciar algunas especies de Enterobacterias a través del morfotipo.

Morfotipo, UFC y Abundancia bacteriana en tejido intestinal de Uñoa (*Ancistrus gymnorhynchus*) y Agua en Estación La Guáquira del río Yaracuy (Medio EMB).

Ejemplar	Cepa	Placa	Morfotipo	UFC	Abundancia (UFC/ml) x 10^9	Especie Bacteriana *
UÑOA 1.1	369		violeta(4mm)	5	0,5	*Enterobacter aerogenes*
	370		rosado (4mm)	14	1,4	*Serratia marcescens*
UÑOA 1.2	371		violeta(4mm)	12	1,2	*Enterobacter aerogenes*
	372		rosado (4mm)	73	7,3	*Serratia marcescens*

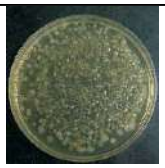
Morfotipo, UFC y Abundancia bacteriana en Agua de la Estación La Guáquira del río Yaracuy (Medio EMB).

Ejemplar	Cepa	Placa	Morfotipo	UFC	Abundancia (UFC/ml) x 10^9	Especie Bacteriana *
AGUA 1.1	373		violeta(4mm)	9	0,9	*Enterobacter aerogenes*
	374		rosado (4mm)	35	3,5	*Serratia marcescens*
AGUA 1.2	375		violeta(4mm)	75	7,5	*Enterobacter aerogenes*
	376		rosado (4mm)	3	0,3	*Serratia marcescens*
AGUA 1.3	377		violeta(4mm)	15	1,5	*Enterobacter aerogenes*
	378		rosado (4mm)	2	0,2	*Serratia marcescens*

Nota: El agar EMB es un medio de cultivo específico que permite diferenciar algunas especies de Enterobacterias a través del morfotipo.

Apéndice 5 Morfotipo y Abundancia bacteriana en Peces (Trabajo de campo N°2)

Morfotipo, UFC y Abundancia bacteriana en tejido intestinal de Sardina (*Astyanax fasciatus*) y Viejita (*Andinoacara pulcher*) en la Estación La Guáquira del río Yaracuy (Medio ATS).

Ejemplar	Cepa	Placa	Morfotipo	UFC	Abundancia (UFC/ml) x 10^9	Especie Bacteriana *
SAR 2.1	235		crema (1mm)	410	41	*Citrobacter* sp.
	236		crema(2mm)	328	32,8	*Serratia marcescens*
	237		amarilla (1mm)	4	0,4	*Enterobacter aerogenes*
	238		marrón (4mm)	8	0,8	*Shigella* sp.
	239		roja (1mm)	3	0,3	*Klebsiella* sp.
SAR 2.2	240		crema (1mm)	80	8	*Citrobacter* sp.
	241		crema(2mm)	210	21	*Serratia marcescens*
	242		amarilla (1mm)	7	0,7	*Enterobacter aerogenes*
	243		marrón (4mm)	3	0,3	*Shigella* sp.
	244		roja (1mm)	5	0,5	*Klebsiella* sp.
SAR 2.3	245		crema (1mm)	108	10,8	*Citrobacter* sp.
	246		crema(2mm)	91	9,1	*Serratia marcescens*
	247		amarilla (1mm)	6	0,6	*Enterobacter aerogenes*
	248		marrón (4mm)	1	0,1	*Shigella* sp.
	249		roja (1mm)	1		*Klebsiella* sp.
VIE 2.1	250		crema (1mm)	125	12,5	*Citrobacter* sp.
	251		crema(2mm)	243	24,3	*Serratia marcescens*
	252		amarilla (1mm)	13	1,3	*Enterobacter aerogenes*
	253		marrón (4mm)	2	0,2	*Shigella* sp.
	254		roja (1mm)	12	1,2	*Klebsiella* sp.
VIE 2.2	255		crema (1mm)	618	61,8	*Citrobacter* sp.
	256		crema(2mm)	514	51,4	*Serratia marcescens*
	257		amarilla (1mm)	13	1,3	*Enterobacter aerogenes*
	258		marrón (4mm)	3	0,3	*Shigella* sp.
	259		roja (1mm)	4	0,4	*Klebsiella* sp.
VIE 2.3	260		crema (1mm)	89	8,9	*Citrobacter* sp.
	261		crema(2mm)	147	14,7	*Serratia marcescens*
	262		amarilla (1mm)	11	1,1	*Enterobacter aerogenes*
	263		marrón (4mm)	1	0,1	*Shigella* sp.
	264		roja (1mm)	13	1,3	*Klebsiella* sp.

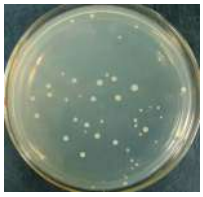
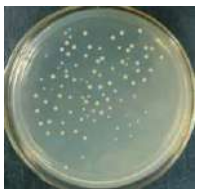
Nota: El agar tripticasa de soya es un medio de cultivo bacteriano de amplio espectro, en consecuencia, los caracteres morfológicos que se aprecian en las colonias bacterianas no ofrecen suficiente información como para determinar directamente el género o la especie. Para determinarlo se requiere la ejecución de pruebas bioquímicas tradicionales.

Morfotipo, UFC y Abundancia bacteriana en tejido intestinal de Voladora (*Parodon apolinari*) y Guabina (*Hoplias malabaricus*) en la Estación La Guáquira del río Yaracuy (Medio ATS).

Ejemplar	Cepa	Placa	Morfotipo	UFC	Abundancia (UFC/ml) x 10^9	Especie Bacteriana *
X 2.1	265		crema (1mm)	15	1,5	*Citrobacter* sp.
	266		crema (2mm)	20	2	*Serratia marcescens*
	267		crema (4mm)	38	3,8	*Proteus* sp.
	268		amarilla (1mm)	8	0,8	*Enterobacter aerogenes*
	269		marrón (4mm)	6	0,6	*Shigella* sp.
	270		roja (1mm)	10	1	*Klebsiella* sp.
X 2.2	271		crema (1mm)	18	1,8	*Citrobacter* sp.
	272		crema (2mm)	8	0,8	*Serratia marcescens*
	273		crema (4mm)	22	2,2	*Proteus* sp.
	274		amarilla (1mm)	3	0,3	*Enterobacter aerogenes*
	275		marrón (4mm)	2	0,2	*Shigella* sp.
	276		roja (1mm)	2	0,2	*Klebsiella* sp.
X 2.3	277		crema (1mm)	21	2,1	*Citrobacter* sp.
	278		crema (2mm)	24	2,4	*Serratia marcescens*
	279		crema (4mm)	68	6,8	*Proteus* sp.
	280		amarilla (1mm)	5	0,5	*Enterobacter aerogenes*
	281		roja (1mm)	6	0,6	*Klebsiella* sp.
GUA 2.1	282		crema (1mm)	15	1,5	*Citrobacter* sp.
	283		crema (2mm)	20	2	*Serratia marcescens*
	284		crema (4mm)	38	3,8	*Proteus* sp.
	285		amarilla (1mm)	8	0,8	*Enterobacter aerogenes*
	286		marrón (4mm)	6	0,6	*Shigella* sp.
GUA 2.2	287		crema (1mm)	23	2,3	*Citrobacter* sp.
	288		crema (2mm)	12	1,2	*Serratia marcescens*
	289		crema (4mm)	6	0,6	*Proteus* sp.
	290		amarilla (1mm)	21	2,1	*Enterobacter aerogenes*
	291		marrón (4mm)	9	0,9	*Shigella* sp.
GUA 2.3	292		crema (1mm)	41	4,1	*Citrobacter* sp.
	293		crema (2mm)	9	0,9	*Serratia marcescens*
	294		crema (4mm)	15	1,5	*Proteus* sp.
	295		amarilla (1mm)	5	0,5	*Enterobacter aerogenes*

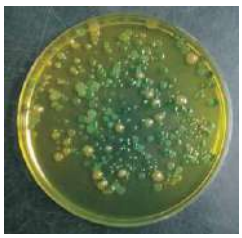
Nota: El agar tripticasa de soya es un medio de cultivo bacteriano de amplio espectro, en consecuencia, los caracteres morfológicos que se aprecian en las colonias bacterianas no ofrecen suficiente información como para determinar directamente el género o la especie. Para determinarlo se requiere la ejecución de pruebas bioquímicas tradicionales.

Morfotipo, UFC y Abundancia bacteriana en tejido intestinal de Bagre (*Cetopsorhamdia* sp.) y Agua en la Estación La Guáquira del río Yaracuy (Medio ATS).

Ejemplar	Cepa	Placa	Morfotipo	UFC	Abundancia (UFC/ml) x 10^9	Especie Bacteriana *
BA 2.1	296		crema (1mm)	410	41	*Citrobacter* sp.
	297		crema (2mm)	328	32,8	*Serratia marcescens*
	298		crema (4mm)	8	0,8	*Proteus* sp.
	299		amarilla (1mm)	3	0,3	*Enterobacter aerogenes*
	300		marrón (4mm)	14	1,4	*Shigella* sp.
BA 2.2	301		crema (1mm)	80	8	*Citrobacter* sp.
	302		crema (2mm)	210	21	*Serratia marcescens*
	303		crema (4mm)	10	1	*Proteus* sp.
	304		amarilla (1mm)	3	0,3	*Enterobacter aerogenes*
	305		marrón (4mm)	2	0,2	*Shigella* sp.
BA 2.3	306		crema (1mm)	108	10,8	*Citrobacter* sp.
	307		crema (2mm)	91	9,1	*Serratia marcescens*
	308		crema (4mm)	11	1,1	*Proteus* sp.
	309		amarilla (1mm)	1	0,1	*Enterobacter aerogenes*
	310		marrón (4mm)	6	0,6	*Shigella* sp.
AGUA 2.1	311		crema (1mm)	512	51,2	*Citrobacter* sp.
	312		crema (2mm)	343	34,3	*Serratia marcescens*
	313		amarilla (1mm)	21	2,1	*Enterobacter aerogenes*
AGUA 2.2	314		crema (1mm)	432	43,2	*Citrobacter* sp.
	315		crema (2mm)	311	31,1	*Serratia marcescens*
	316		crema (4mm)	9	0,9	*Proteus* sp.
	317		amarilla (1mm)	6	0,6	*Enterobacter aerogenes*
	318		marrón (4mm)	8	0,8	*Shigella* sp.
AGUA 2.3	319		crema (1mm)	373	37,3	*Citrobacter* sp.
	320		crema (2mm)	292	29,2	*Serratia marcescens*
	321		crema (4mm)	3	0,3	*Proteus* sp.
	322		amarilla (1mm)	3	0,3	*Enterobacter aerogenes*
	323		marrón (4mm)	7	0,7	*Shigella* sp.

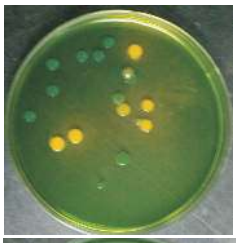
Nota: El agar tripticasa de soya es un medio de cultivo bacteriano de amplio espectro, en consecuencia, los caracteres morfológicos que se aprecian en las colonias bacterianas no ofrecen suficiente información como para determinar directamente el género o la especie. Para determinarlo se requiere la ejecución de pruebas bioquímicas tradicionales.

Morfotipo, UFC y Abundancia bacteriana en tejido intestinal de Sardina (*Astyanax fasciatus*) y Viejita (*Andinoacara pulcher*) en la Estación La Guáquira del río Yaracuy (Medio TCBS).

Ejemplar	Cepa	Placa	Morfotipo	UFC	Abundancia (UFC/ml) x 10^9	Especie Bacteriana *
SAR 2.1	324		amarillo(4mm)	29	2,9	*Vibrio cholerae*
	325		verde(4mm)	172	17,2	*V. parahaemolyticus*
SAR 2.2	326		amarillo(4mm)	28	2,8	*Vibrio cholerae*
	327		verde(4mm)	23	2,3	*V. parahaemolyticus*
SAR 2.3	328		amarillo(4mm)	14	1,4	*Vibrio cholerae*
	329		verde(4mm)	11	1,1	*V. parahaemolyticus*
VIE 2.1	330		amarillo(4mm)	29	2,9	*Vibrio cholerae*
	331		verde(4mm)	8	0,8	*V. parahaemolyticus*
VIE 2.2	332		amarillo(6mm)	18	1,8	*Vibrio cholerae*
	333		verde(4mm)	26	2,6	*V. parahaemolyticus*
VIE 2.3	334		amarillo(4mm)	8	0,8	*Vibrio cholerae*
	335		verde(4mm)	13	1,3	*V. parahaemolyticus*

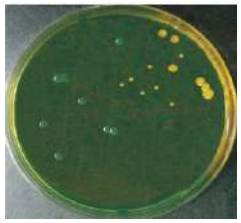
Nota: El agar TCBS es un medio de cultivo específico que permite diferenciar las especies del género *Vibrio* a través del morfotipo.

Morfotipo, UFC y Abundancia bacteriana en tejido intestinal de Voladora (*Parodon apolinari*) y Guabina (*Hoplias malabaricus*) en la Estación La Guáquira del río Yaracuy (Medio TCBS).

Ejemplar	Cepa	Placa	Morfotipo	UFC	Abundancia (UFC/ml) x 10^9	Especie Bacteriana *
X 2.1	336		amarillo(4mm)	14	1,4	*Vibrio cholerae*
	337		verde(4mm)	18	1,8	*V. parahaemolyticus*
X 2.2	338		amarillo(4mm)	22	2,2	*Vibrio cholerae*
	339		verde(4mm)	130	13	*V. parahaemolyticus*
X 2.3	340		amarillo(4mm)	21	2,1	*Vibrio cholerae*
	341		verde(4mm)	18	1,8	*V. parahaemolyticus*
GUA 2.1	242		amarillo(4mm)	9	0,9	*Vibrio cholerae*
	343		verde(4mm)	15	1,5	*V. parahaemolyticus*
GUA 2.2	344		amarillo(6mm)	6	0,6	*Vibrio cholerae*
	345		verde(4mm)	22	2,2	*V. parahaemolyticus*
GUA 2.3	346		amarillo(4mm)	37	3,7	*Vibrio cholerae*
	347		verde(4mm)	15	1,5	*V. parahaemolyticus*

Nota: El agar TCBS es un medio de cultivo específico que permite diferenciar las especies del género *Vibrio*.

Morfotipo, UFC y Abundancia bacteriana en tejido intestinal de Bagre (*Cetopsorhamdia* sp.) en la Estación La Guáquira del río Yaracuy (Medio TCBS).

Ejemplar	Cepa	Placa	Morfotipo	UFC	Abundancia (UFC/ml) x 10^9	Especie Bacteriana *
BA 2.1	348		amarillo(4mm)	36	3,6	*Vibrio cholerae*
	349		verde(4mm)	10	1	*V. parahaemolyticus*
BA 2.2	350		amarillo(4mm)	14	1,4	*Vibrio cholerae*
	351		verde(4mm)	13	1,3	*V. parahaemolyticus*
BA 2.3	352		amarillo(4mm)	27	2,7	*Vibrio cholerae*
	353		verde(4mm)	14	1,4	*V. parahaemolyticus*

Cuadro 70

Morfotipo, UFC y Abundancia bacteriana en Agua de la Estación La Guáquira del río Yaracuy (Medio TCBS).

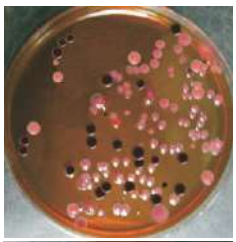
Ejemplar	Cepa	Placa	Morfotipo	UFC	Abundancia (UFC/ml) x 10^9	Especie Bacteriana *
AGUA 2.1	354		amarillo(1mm)	45	4,5	*Vibrio cholerae*
	355		verde(1mm)	11	1,1	*V. parahaemolyticus*
AGUA 2.2	356		amarillo(4mm)	23	2,3	*Vibrio cholerae*
	357		verde(4mm)	7	0,7	*V. parahaemolyticus*
AGUA 2.3	358		amarillo(4mm)	31	3,1	*Vibrio cholerae*
	359		verde(4mm)	9	0,9	*V. parahaemolyticus*

Morfotipo, UFC y Abundancia bacteriana en tejido intestinal de Sardina (*Astyanax fasciatus*) y Viejita (*Andinoacara pulcher*) en la Estación La Guáquira del río Yaracuy (Medio EMB).

Ejemplar	Cepa	Placa	Morfotipo	UFC	Abundancia (UFC/ml) x 10^9	Especie Bacteriana *
SAR 2.1	360		violeta (4mm)	5	0,5	*Enterobacter aerogenes*
	361		rosado (4mm)	6	0,6	*Serratia marcescens*
SAR 2.2	362		violeta (4mm)	16	1,6	*Enterobacter aerogenes*
	363		rosado (4mm)	170	17	*Serratia marcescens*
SAR 2.3	364		violeta (4mm)	8	0,8	*Enterobacter aerogenes*
	365		rosado (4mm)	15	1,6	*Serratia marcescens*
VIE 2.1	366		violeta (4mm)	9	0,9	*Enterobacter aerogenes*
	367		rosado (4mm)	30	3	*Serratia marcescens*
VIE2.2	368		violeta (4mm)	4	0,4	*Enterobacter aerogenes*
	369		rosado (4mm)	44	4,4	*Serratia marcescens*
VIE 2.3	370		violeta (4mm)	3	0,3	*Enterobacter aerogenes*
	371		rosado (4mm)	56	5,6	*Serratia marcescens*

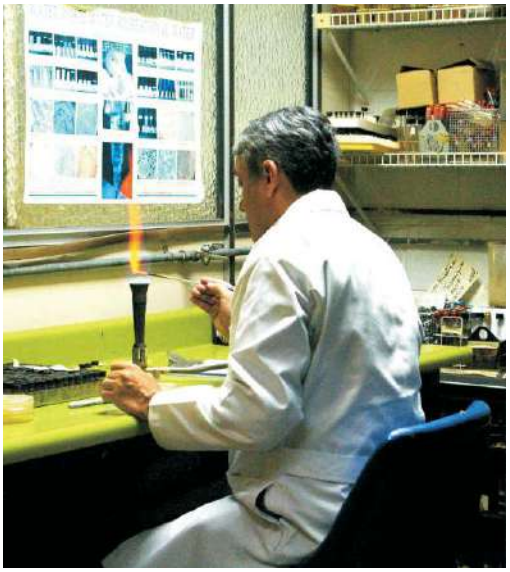
Nota: El agar EMB es un medio de cultivo específico que permite diferenciar algunas especies de Enterobacterias a través del morfotipo.

Morfotipo, UFC y Abundancia bacteriana en tejido intestinal de Voladora (*Parodon apolinari*) y Guabina (*Hoplias malabaricus*) en la Estación La Guáquira del río Yaracuy (Medio EMB).

Ejemplar	Cepa	Placa	Morfotipo	UFC	Abundancia (UFC/ml) x 10^9	Especie Bacteriana *
X 2.1	372		violeta (4mm)	7	0,7	*Enterobacter aerogenes*
	373		rosado (4mm)	36	3,6	*Serratia marcescens*
X 2.2	374		violeta (4mm)	2	0,2	*Enterobacter aerogenes*
	375		rosado (4mm)	17	1,7	*Serratia marcescens*
X 2.3	376		violeta (4mm)	8	0,8	*Enterobacter aerogenes*
	377		rosado (4mm)	16	1,6	*Serratia marcescens*
GUA 2.1	378		violeta (4mm)	12	1,2	*Enterobacter aerogenes*
	379		rosado (4mm)	30	3	*Serratia marcescens*
GUA.2	380		violeta (4mm)	15	1,5	*Enterobacter aerogenes*
	381		rosado (4mm)	44	4,4	*Serratia marcescens*
GUA 2.3	382		violeta (4mm)	3	0,3	*Enterobacter aerogenes*
	383		rosado (4mm)	26	2,6	*Serratia marcescens*

Nota: El agar EMB es un medio de cultivo específico que permite diferenciar algunas especies de Enterobacterias a través del morfotipo.

CURRICULUM VITAE



Ángel Gregorio Sánchez Leonardi, Cédula de Identidad: V-7230939, Nació en Barquisimeto, Edo. Lara, el 5 de junio de 1963. Profesor de Educación Física, Mención Ciencias Aplicadas al Deporte (UPEL-1991). Profesor en Ciencias Naturales, Mención Biología. (UPEL-1999). Entrenador de Natación en Club de Natación Liceo "San José" de Los Teques (1985-1987). Submarinista 2 estrellas (1992). Operador de Estaciones (1988-1990) y Operador de Trenes (1990-2002) en la C.A. Metro de Caracas. Guía Interprete del Jardín Botánico de Caracas (2002-2004), Coautor del Libro: Guía Ilustrada de los Hongos Liquenizados de Venezuela (2007). Profesor Liceo Ávila Biología (8° y 9° grados) y Ciencias de la Tierra (5°año) (2004-2005), Profesor Contratado Biología Animal (UPEL-2009), Profesor UEI Maestro Félix Adam Física y Química (5° año) y Biología (8° y 9° grados) (2011-2012), Profesor tiempo completo de Biología (1°, 2°, 3°, 4° y 5° año) y Educación para la Salud (2° año) en Colegio Santo Domingo de Guzmán (2013-2016). Profesor Contratado para Prácticas Profesionales en Biología (UPEL-2015), Becario-Asistente en el Instituto de Zoología Tropical-UCV en el Laboratorio de Invertebrados como curador del Museo de Biología, Sección Carcinología (Crustáceos) y Sección Malacología (Moluscos) (2014-2015).

EMAIL: angelsanchez939@hotmail.com

https://www.facebook.com/angelsanchez939