



**UNIVERSIDAD CENTRAL DE  
VENEZUELA  
FACULTAD DE CIENCIAS  
ESCUELA DE BIOLOGÍA**

**ZOOPLANCTON EN SEIS CUERPOS DE AGUA  
DE LA REGIÓN CENTRO-NORTE DE  
VENEZUELA Y CARACTERIZACIÓN  
MOLECULAR DE LA ESPECIE MÁS COMÚN**

**TRABAJO ESPECIAL DE GRADO**

Presentado ante la Ilustre Universidad Central de Venezuela, por la bachiller Esther Nataly Baptista Baptista como requisito parcial para optar al título de Licenciado en Biología

Tutores:

DRA. GUILLERMINA ALONSO.

DR. ERNESTO GONZÁLEZ.

CARACAS, VENEZUELA  
MAYO-2010

## RESUMEN

Durante el estudio de las comunidades zooplanctónicas de los ecosistemas acuáticos, se pueden presentar dificultades en la identificación de especies, muchas de las cuales son discriminadas con base en caracteres morfológicos y morfométricos, algunos muy sutiles. Estas comunidades pueden ser indicadoras de la calidad del agua y de su estado trófico, por lo que resulta de gran interés su estudio e identificación. Como una contribución al conocimiento de los cuerpos de agua de nuestro país, se estimaron variables fisicoquímicas y la biomasa del fitoplancton y se determinó la composición y la abundancia del zooplancton en los siguientes cuerpos de agua: Embalses Guanapito y Tierra Blanca (Edo. Guárico), Lago del Círculo Militar y Embalse La Mariposa (Distrito Capital), Embalse La Perea (Edo. Miranda) y Lago de Valencia (Edos. Carabobo y Aragua). Además, se estandarizó el método para aislar ADN de zooplancton y mediante la técnica de PCR se amplificaron 3 regiones del genoma del cladóceros *Diaphanosoma birgei* Korineck, 1981. Las regiones amplificadas forman parte de los genes que codifican para el gen 12S ARN ribosomal del ADN mitocondrial (12S ARNr), el gen de la subunidad I de la citocromo oxidasa C mitocondrial (mtCOI) y el espaciador ribosomal interno transcrito 2 (ITS2). La recolección del zooplancton se realizó a través de un muestreo puntual en cada sistema mediante barridos verticales en el estrato oxigenado con una red de cierre (luz de malla= 77  $\mu$ m). Las muestras se preservaron en formaldehído al 4% de concentración final y en etanol 99,8% y vivas. La biomasa del fitoplancton se estimó mediante la determinación de la concentración de clorofila-a. La mayoría de los cuerpos de agua estuvieron estratificados térmicamente durante los muestreos, con temperaturas superficiales superiores a los 26,5 °C. En el Lago de Valencia y los embalses La Perea y Tierra Blanca se registraron condiciones de hipoxia en los estratos profundos, posiblemente debido a las altas tasas de descomposición de materia orgánica. En general, los valores de pH registrados fueron alcalinos. En cuanto a las características bióticas, el menor valor de la biomasa fitoplanctónica se registró en el embalse Guanapito (0  $\mu$ g/L) y el mayor en el Lago del Círculo Militar (21,2  $\mu$ g/L). Los embalses Guanapito y La Mariposa presentaron las menores abundancias medias de zooplancton (8 y 16 ind./L, respectivamente). En el Lago de Valencia, por el contrario, se registró la mayor abundancia media (131 ind./L), seguido por: embalse Tierra Blanca (81 ind./L), Lago del Círculo Militar (59 ind./L) y embalse La Perea (30 ind./L). Los copépodos resultaron ser el grupo dominante, seguidos de los rotíferos y de los cladóceros. Las abundancias del zooplancton en algunos de los cuerpos de agua estudiados parecieron corresponderse con la biomasa del fitoplancton, la cual representaría la oferta de alimento para los animales planctónicos. El género de Cladocera más común presente en los seis cuerpos de agua bajo estudio fue *Diaphanosoma*, por lo que cuyos representantes fueron empleados en los análisis genéticos. En estos, los resultados indicaron que la preservación con etanol fue la más efectiva para la extracción del ADN, con posterior hidratación. Se evaluó la eficiencia de la técnica de extracción empleando tres métodos distintos, de los cuales resultó más eficaz el uso de un estuche comercial, con algunas modificaciones. Los cebadores empleados en las reacciones de amplificación no parecieron ser específicos para los genes 12S ARNr, ITS2 y mtCOI codificados por organismos de este género. La inclusión de caracteres taxonómicos moleculares es una herramienta útil para la identificación exacta y confiable de los individuos, y dado que en Venezuela no se han realizado estudios de biología molecular con microcrustáceos, la estandarización llevada a cabo en el presente trabajo es pionera en esta área.

## AGRADECIMIENTOS

Por más “gracias” que diga, nunca será suficiente para agradecerles por su apoyo, ayuda y orientación, por todo lo que hicieron por mí. A ustedes:

Mis padres Lucy y Félix, hermanos Eduardo y Yulci y familiares.

Mis tutores, Prof. Guillermina Alonso y Ernesto González, que sin importar la hora o el día siempre estuvieron conmigo.

Mis jurados Prof. Evelyn Zoppi y Juan Carlos Navarro, con la intención de sobre todo enseñarme.

Prof. Jorge Pérez, por su apoyo en la realización de los muestreos y María B. Raymúndez, ambos mostrándome que siempre había una salida.

Grupos de estudiantes y preparadores del Laboratorio de Ecología I y II (2008-2009).

Adriana C., Carlos R., Yusibeska R., Giovanni A., Amarys A., Marilin Ch., Indira, Beatriz A., por ser mis guías, mis tutores, mi apoyo y mis amigos en el sótano.

Rony L., Kinski, S., Joxmer, S., y Ana C., los ecólogos.

Centro de Microscopía Electrónica, Prof. Pedro Rodríguez y José, por facilitarme el nitrógeno líquido para mis múltiples extracciones y por su apoyo.

Loriana Quintero, y las muchachas del Laboratorio de Biología de Vectores por dejar sus cosas a un lado y ayudarme con mis extracciones, además de sus buenas ideas.

Dra. María José Pardo por su gran apoyo en la identificación de los rotíferos y consejos.

Dra. Kathryn Rodriguez-Clark y José Ferrer por su comprensión y apoyo respecto a todas las complicaciones de mi tesis. Igualmente a Mónica, Pío, Mariella, Helios, que siempre tenían una palabra de aliento.

Dr. Manuel Gutiérrez y otros investigadores, que sin importar que fuera una pequeña bióloga me brindaron asesoramiento vía Internet y facilitaron material.

A mis compañeras de helados y de lágrimas (Prima, Elea).

Mis verdaderos amigos...A.A.G.P., Rod. y Jesús.

¡Gracias!

## LISTA DE ABREVIATURAS

**ADN:** Ácido Desoxirribonucleico.

**ADNmt:** Ácido Desoxirribonucleico mitocondrial.

**ARN:** Ácido Ribonucleico.

**ARNr:** Ácido Ribonucleico Ribosomal.

**BLAST:** Basic Local Alignment Search Tool.

**CeSAAN:** Centro de Secuenciación y Análisis de Ácidos Nucleicos.

**EDTA:** Ácido Etilen Diamino Tetra Acético.

**IVIC:** Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas.

**ITS:** Espaciador ribosomal interno transcrito.

**mg:** Miligramos.

**MiliQ:** Agua grado miliQ.

**min:** Minutos.

**mL:** Mililitros.

**mtCOI:** Gen de la subunidad I de la citocromo oxidasa C mitocondrial.

**pb:** Pares de bases.

**PCR:** Reacción en cadena de la Polimerasa. (*Polymerase Chain Reaction*)

**s:** Segundos.

**TBE:** Búfer Tris-Ácido Bórico-EDTA.

**µg:** Microgramos.

**µL:** Microlitros.

# CONTENIDO

	<b>Página</b>
Resumen .....	II
Agradecimientos .....	III
Lista de abreviaturas .....	IV
Introducción .....	1
Antecedentes .....	8
Justificación .....	14
Hipótesis .....	16
Objetivos .....	17
Áreas de Estudio .....	18
Materiales y Métodos.....	25
Resultados .....	36
Discusión .....	88
Conclusiones .....	112
Bibliografía .....	114
Anexos.....	127

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Página</b>
<i>Figura 1.</i> Región Centro-Norte de Venezuela, mostrando la ubicación relativa de los 6 cuerpos de agua en los que se tomaron las muestras. ....	18
<i>Figura 2.</i> Imagen satelital del Embalse La Pereza. ....	19
<i>Figura 3.</i> Imagen satelital del Embalse Guanapito. ....	20
<i>Figura 4.</i> Imagen satelital del Lago del Círculo Militar. ....	21
<i>Figura 5.</i> Imagen satelital del Lago de Valencia. ....	21
<i>Figura 6.</i> Imagen satelital del Embalse Tierra Blanca. ....	23
<i>Figura 7.</i> Imagen satelital del Embalse La Mariposa. ....	23
<i>Figura 8.</i> Protocolo de extracción de ADN de “Bioneer” . ....	31
<i>Figura 9.</i> Variación de la temperatura del agua con la profundidad, en los 6 ambientes estudiados.....	37
<i>Figura 10.</i> Variación de la temperatura del agua, embalse La Pereza. ....	40
<i>Figura 11.</i> Variación de la temperatura del agua, embalse Guanapito. ....	40
<i>Figura 12.</i> Variación de la temperatura del agua, Lago del Círculo Militar.....	40
<i>Figura 13.</i> Variación de la temperatura del agua, Lago de Valencia.....	41
<i>Figura 14.</i> Variación de la temperatura del agua, embalse Tierra Blanca. ....	41
<i>Figura 15.</i> Variación de la temperatura del agua, embalse La Mariposa. ....	41
<i>Figura 16.</i> Variación de la conductividad a medida que aumenta la profundidad, en los embalses Tierra Blanca, La Pereza, Guanapito y La Mariposa y en el Lago del Círculo Militar. ....	42
<i>Figura 17.</i> Variación de la conductividad del agua, embalse La Pereza.....	44
<i>Figura 18.</i> Variación de la conductividad del agua, embalse Guanapito.....	44

<i>Figura 19.</i> Variación de la conductividad del agua, Lago del Círculo Militar.....	44
<i>Figura 20.</i> Variación de la conductividad del agua, Lago de Valencia.....	45
<i>Figura 21.</i> Variación de la conductividad del agua, embalse Tierra Blanca.....	45
<i>Figura 22.</i> Variación de la conductividad del agua, embalse La Mariposa.....	45
<i>Figura 23.</i> Variación de la concentración de oxígeno disuelto en la columna de agua a medida que aumenta la profundidad, en los seis ambientes estudiados.....	46
<i>Figura 24.</i> Variación de la concentración de oxígeno, embalse La Pereza.....	48
<i>Figura 25.</i> Variación de la concentración de oxígeno, embalse Guanapito.....	49
<i>Figura 26.</i> Variación de la concentración de oxígeno, Lago del Círculo Militar.....	49
<i>Figura 27.</i> Variación de la concentración de oxígeno, Lago de Valencia.....	49
<i>Figura 28.</i> Variación de la concentración de oxígeno, embalse Tierra Blanca.....	50
<i>Figura 29.</i> Variación de la concentración de oxígeno, embalse La Mariposa.....	50
<i>Figura 30.</i> Variación del pH del agua con la profundidad en los seis ambientes bajo estudio.....	51
<i>Figura 31.</i> Variación del pH del agua, embalse La Pereza.....	52
<i>Figura 32.</i> Variación del pH del agua, embalse Guanapito.....	52
<i>Figura 33.</i> Variación del pH del agua, Lago del Círculo Militar.....	53
<i>Figura 34.</i> Variación del pH del agua, Lago de Valencia.....	53
<i>Figura 35.</i> Variación del pH del agua, embalse Tierra Blanca.....	53
<i>Figura 36.</i> Variación del pH del agua, embalse La Mariposa.....	54
<i>Figura 37.</i> Biomasa del fitoplancton en el embalse La Pereza.....	56
<i>Figura 38.</i> Biomasa del fitoplancton del Lago del Círculo Militar.....	56
<i>Figura 39.</i> Biomasa del fitoplancton del Lago de Valencia.....	56
<i>Figura 40.</i> Biomasa del fitoplancton del embalse Tierra Blanca.....	56

<i>Figura 41.</i> Biomasa del fitoplancton del embalse La Mariposa.....	56
<i>Figura 42.</i> Porcentaje que cada grupo del zooplancton aporta al total en los cuerpos de agua bajo estudio. ....	58
<i>Figura 43.</i> Porcentaje que cada grupo de zooplancton en el embalse La Pereza, aportó al total. ....	63
<i>Figura 44.</i> Porcentaje que cada grupo de zooplancton en el embalse Guanapito, aportó al total. ....	63
<i>Figura 45.</i> Porcentaje que cada grupo de zooplancton en el Lago del Círculo Militar, aportó al total.....	63
<i>Figura 46.</i> Porcentaje que cada grupo de zooplancton en el Lago de Valencia, aportó al total. ....	63
<i>Figura 47.</i> Porcentaje que cada grupo de zooplancton en el embalse Tierra Blanca, aportó al total. ....	63
<i>Figura 48.</i> Porcentaje que cada grupo de zooplancton en el embalse La Mariposa, aportó al total.....	63
<i>Figura 49.</i> Proporción de los copépodos Calanoida en los distintos estadios en el embalse La Pereza. ....	69
<i>Figura 50.</i> Proporción de los copépodos Cyclopoida en los distintos estadios en el embalse La Pereza. ....	69
<i>Figura 51.</i> Proporción de los copépodos Calanoida en los distintos estadios en el embalse Guanapito. ....	69
<i>Figura 52.</i> Proporción de los copépodos Cyclopoida en los distintos estadios en el embalse Guanapito. ....	69
<i>Figura 53.</i> Proporción de los copépodos Calanoida en los distintos estadios en el Lago del Círculo Militar. ....	69



<i>Figura 54.</i> Proporción de los copépodos Cyclopoida en los distintos estadios en el Lago del Círculo Militar. ....	69
<i>Figura 55.</i> Proporción de los copépodos Calanoida en los distintos estadios en el Lago de Valencia.....	70
<i>Figura 56.</i> Proporción de los copépodos Cyclopoida en los distintos estadios en el Lago de Valencia. ....	70
<i>Figura 57.</i> Proporción de los copépodos Cyclopoida en los distintos estadios en el embalse Tierra Blanca. ....	70
<i>Figura 58.</i> Proporción de los copépodos Cyclopoida en los distintos estadios en el embalse La Mariposa. ....	70
<i>Figura 59.</i> Media de la abundancia total de <i>Diaphanosoma spinulosum</i> en los cuerpos de agua estudiados. ....	71
<i>Figura 60.</i> Biplot del análisis de componentes principales.....	74
<i>Figura 61.</i> Dendograma que representa la similitud entre los diferentes cuerpos de agua muestreados. ....	77
<i>Figura 62.</i> Registro fotográfico de la corrida electroforética de PCR realizada con los cebadores del gen mtCOI. ....	79
<i>Figura 63.</i> Registro fotográfico de la corrida electroforética de PCR realizada con los cebadores de la región ITS2. ....	81
<i>Figura 64.</i> Registro fotográfico de la corrida electroforética de PCR (2 <sup>da</sup> ronda) realizada con los cebadores del gen 12S.....	82
<i>Figura 65.</i> Sitios de hibridación de los iniciadores COI-1 y COI-2 en el gen mtCOI de <i>Diaphanosoma brachyurum</i> . ....	84

*Figura 66.* Sitios de hibridación de los iniciadores  
ITS10 e ITS4 en la secuencia parcial del gen 18S  
ARNr; las secuencias completas de: ITS1, gen  
5.8S ARNr, ITS2; y la secuencia parcial del  
gen 28S ARNr de *Bosmina freyi*. ..... 85

*Figura 67.* Sitios de hibridación de los iniciadores  
12S-cladoc1 y 12S-cladoc2 en el gen 12S  
ARNr del ADNmt de *Sida crystallina*. ..... 86

*Figura 68.* Registro fotográfico de la corrida electroforética  
de la purificación de la PCR realizada con los  
cebadores de la región ITS2, enviada a secuenciar ..... 87

# ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Página</b>
<i>Tabla 1.</i> Clasificación taxonómica de crustáceos zooplanctónicos. ....	2
<i>Tabla 2.</i> Características morfométricas de los cuerpos de agua estudiados. ....	19
<i>Tabla 3.</i> Fechas y estaciones climáticas en las que fueron realizados los muestreos en los cuerpos de agua. ....	25
<i>Tabla 4.</i> Intervalos de profundidad en los que se tomaron las muestras de zooplancton en cada cuerpo de agua. ....	27
<i>Tabla 5.</i> Iniciadores empleados en las reacciones de PCR para amplificar los genes ITS2, mtCOI y 12S ARNr y sus características. ....	32
<i>Tabla 6.</i> Condiciones para la amplificación por PCR de la región ITS2. ....	33
<i>Tabla 7.</i> Condiciones para la amplificación por PCR del gen 12S ARNr. ....	34
<i>Tabla 8.</i> Condiciones para la amplificación por PCR del gen mtCOI. ....	34
<i>Tabla 9.</i> Características de los cuerpos de agua estudiados para el día del muestreo. ....	36
<i>Tabla 10.</i> Media de la concentración de clorofila-a para la zona eufótica en los seis ambientes estudiados. ....	54

<i>Tabla 11.</i> Valores medios y totales de abundancia de los distintos grupos del zooplancton identificados. ....	57
<i>Tabla 12.</i> Medias de las abundancias totales de los copépodos Calanoida y Cyclopoida en sus distintos estadios. ....	64
<i>Tabla 13.</i> Especies identificadas en los seis ambientes estudiados. ....	72
<i>Tabla 14.</i> Autovalores y porcentaje de la varianza explicada por el primer y segundo componente principal. ....	73
<i>Tabla 15.</i> Ponderaciones de las variables originales con cada componente principal. ....	75
<i>Tabla 16.</i> Determinación con el biofotómetro de la concentración y pureza del material genético aislado . ....	78

## INTRODUCCIÓN

Los lagos y otras masas de agua epicontinentales albergan una amplia variedad de formas de vida, tanto en las aguas abiertas como en los sedimentos (Infante, 1988). Muchas de estas especies son sensoras de propiedades del ambiente y la coexistencia de ellas en un lugar determinado permite la caracterización de dicho punto (Margalef, 1983).

En las aguas abiertas de los sistemas acuáticos, el plancton es la comunidad dominante (Margalef, 1983). Representa el conjunto de organismos que viven suspendidos en el agua, algunos inmóviles y otros con movimientos propios, pero con capacidad natatoria limitada, siendo todos incapaces de vencer las corrientes (Infante, 1988; Matsumura-Tundisi, 1997).

Según su naturaleza se distinguen 3 categorías de plancton: bacterioplancton, fitoplancton y zooplancton (Infante, 1988). Los organismos animales del plancton constituyen una comunidad zooplanctónica que comprende organismos de tamaños que varían desde 40  $\mu\text{m}$  a 2,5 cm o hasta más (Matsumura-Tundisi, 1997).

El zooplancton constituye un eslabón clave en la trama trófica de los sistemas acuáticos y conjuntamente con el zoobentos y los peces, sustentan la producción secundaria en los lagos (Infante, 1988; González y col., 2002). El zooplancton de agua dulce está dominado principalmente por los rotíferos y dos grupos de crustáceos, los cladóceros y los copépodos (Villalobos, 2006). Dependiendo del sistema considerado, ocasionalmente se incluyen como

zooplancton a otros grupos menores como Protozoa, Ostracoda, Turbellaria y larvas de Diptera (*Chaoborus*) (Matsumura- Tundisi, 1997).

Los rotíferos constituyen un grupo de metazoos microscópicos (50 a 2000 µm) de tamaño considerablemente menor a los cladóceros y copépodos, pero todos caracterizados por tener movimiento (Villalobos, 2006). Su cuerpo está cubierto por una cutícula que puede ser delgada y flexible o estar provista de placas rígidas. Poseen un sistema vibrátil diversamente conformado y de función locomotora y filtradora en la parte anterior del cuerpo, además de una faringe modificada y esclerotizada, denominada mástax. Tienen un tiempo generacional entre 1 y 7 días (Margalef, 1983).

La tabla 1 presenta la clasificación taxonómica de los cladóceros y de los copépodos, tomada de Martin y Davis (2001).

Tabla 1. Clasificación taxonómica de crustáceos zooplanctónicos.

	<b>Clase</b>	<b>Subclase</b>	<b>Orden</b>	<b>Suborden</b>	<b>Familia</b>
<b>Phylum</b> Arthropoda	Maxillopoda	Copepoda	Calanoida	-	Calanidae
					Centropagidae
					Diaptomidae
					Buproridae
					Cyclopoida
<b>Subphylum</b> Crustacea	Branchiopoda	Phyllopoda	Diplostraca	Cladocera	Cyclopidae
					Cyclopinidae
					Harpacticoida
					Harpacticidae
					Canthocamptidae
					Daphniidae
					Sididae
					Bosminidae

Los copépodos, por su parte, han invadido con igual éxito los mares y las aguas continentales, distribuyéndose en los más variados ambientes: litoral, bentónico y pelágico y suelen constituir una fracción significativa de la biomasa total del plancton. Su cuerpo, alargado y relativamente cilíndrico, está cubierto por

anillos quitinosos rígidos, que encajan uno dentro del otro. En uno de los sitios de unión, la articulación permite movimientos más amplios que en el resto del cuerpo, dividiéndolo en dos partes: el *metasoma* o *prosoma*, que es la parte anterior a la articulación y el *urosoma*, de la articulación hacia atrás (Gutiérrez y Subramhanya, 1999). En el extremo posterior presentan una estructura birramosa que se denomina *furca*, en la cual se insertan sedas plumosas. En la región cefálica se encuentran apéndices como antenas con funciones sensoriales y mandíbulas, maxilas, asociadas al proceso de alimentación (Roldán y Ramírez, 2008).

En los dos órdenes de copépodos comunes en la región limnética de los cuerpos de agua, Calanoida y Cyclopoida, se conserva el patrón morfológico antes descrito con ciertas modificaciones que responden a sus hábitos de vida y, en general, miden entre 500 y 3000  $\mu\text{m}$ . Los Calanoida son fundamentalmente filtradores, siendo las algas verdes y las diatomeas importantes en su dieta (Infante, 1988). Morfológicamente, sus primeras antenas son muy largas y alcanzan hasta la parte posterior del cuerpo y las hembras, si lo presentan, el saco es central y con huevos relativamente grandes. Los machos tienen la antena derecha acodada para abrazar a la hembra al momento de la reproducción (Roldán y Ramírez, 2008).

Los Cyclopoida, se alimentan de partículas vegetales y animales que capturan y llevan a la boca con ayuda de las piezas bucales (Infante, 1988). Sus primeras antenas son más cortas que las de los Calanoida y las hembras presentan dos ovisacos, uno a cada lado, con huevos pequeños. El macho tiene ambas antenas acodadas (Roldán y Ramírez, 2008).

El tiempo de desarrollo de los copépodos varía según la especie y las condiciones ambientales, sobre todo la temperatura y el alimento disponible. En todo caso, su tasa de renovación es más lenta que la de los cladóceros (Infante, 1988).

Los cladóceros se caracterizan principalmente por una placa quitinosa única que encierra la cabeza. Las regiones torácica y abdominal están encerradas igualmente en una concha plegada en dos valvas. En realidad es una sola pieza cuticular que conforma el cuerpo, el cual no está claramente segmentado. Su tamaño varía entre 200 y 3000  $\mu\text{m}$ . En la cabeza tienen un ojo compuesto y además, un ocelo situado en posición posterior o ventral al ojo compuesto. También van insertas antenas, siendo el segundo par el principal órgano locomotor. Son en su mayoría filtradores no selectivos, pero también hay depredadores (Gutiérrez y Subramhanya, 1999). El género *Diaphanosoma* es el más diversificado en los embalses de Venezuela (López y col., 2001).

Todos estos organismos, copépodos, cladóceros y rotíferos, se distribuyen en el medio acuático aprovechando las condiciones que les ofrece el medio abiótico, definiendo por tanto la estructura de la comunidad (Ramírez y Díaz, 1992). Sin embargo, los factores físicoquímicos del medio van a afectar la composición y distribución de los organismos en el cuerpo de agua.

La temperatura regula la velocidad de los procesos bioquímicos y fisiológicos. Se ha reportado que las tasas de desarrollo de los huevos y los tiempos generacionales, pueden llegar a ser más cortos con procesos fisiológicos más rápidos, como producto del aumento en la temperatura (Lampert y Sommer, 1997). La luz, sobre todo, dirige las marcadas migraciones verticales de estos



pequeños animales a largas distancias en la columna de agua a lo largo del día. Las corrientes de Langmuir y otros movimientos del cuerpo de agua en sí, debido a la incidencia del viento sobre éste, influyen sobre la distribución horizontal de los organismos suspendidos en la superficie del agua (Wetzel, 2001).

En su mayoría, los individuos del zooplancton dependen del fitoplancton para su alimentación. Sin embargo, algunas especies se alimentan de detritos, rotíferos, algas y bacterias, entre otros (Gutiérrez y Subarnhanya, 1999).

Entre las interacciones bióticas, es importante destacar que la composición del zooplancton será en gran medida el resultado de la competencia y la depredación, aunque también se puede ver afectado por el parasitismo (Roldán y Ramírez, 2008).

La depredación de los peces sobre el zooplancton puede no ser selectiva y, además, éste puede ser devorado por una gran variedad de invertebrados como rotíferos, arácnidos, odonatos y especies depredadoras de cladóceros (*Leptodora*), copépodos (*Mesocyclops longisetus*), entre otros (Roldán y Ramírez, 2008).

Las poblaciones de las especies del zooplancton en el ambiente muestran cambios morfológicos, fisiológicos y de comportamiento como estrategias que disminuyen la presión de depredación de invertebrados y vertebrados, causando confusión al momento de identificarlas (Rietzler y col., 2008).

Como herramientas auxiliares para una buena identificación taxonómica, se hacen estudios de citogenética, patrones de pérdida de cromatina y otro método molecular basado en Reacciones en Cadena de la Polimerasa (PCR) (Silva, 2003).

Para establecer la PCR especie-específica y aplicarla a taxonomía molecular, el primer paso es obtener la secuencia de ADN de la región de interés seleccionada (Luque y Herráez, 2000).

El ADN mitocondrial de la mayoría de los animales multicelulares, consiste en una molécula cerrada y circular de ADN que contiene de 36 a 37 genes para: ARN ribosomal (genes 16S y 12S), ARN de transferencia y otros genes que codifican subunidades de los complejos enzimáticos del sistema de fosforilación oxidativa: citocromo c-oxidasa (COI, II y III), complejo NADH deshidrogenasa, ATP sintetasa, entre otros (Hwang y Kim, 1999).

Es conocido que el ADN mitocondrial evoluciona mucho más rápido que el genoma nuclear, en consecuencia, la mayoría de los genes mitocondriales han sido usados para examinar relaciones filogenéticas en relativamente niveles categóricos bajos, tales como géneros, especies o poblaciones (Hwang y Kim, 1999). Entre otras ventajas de su uso se encuentran: a) No han sido documentados sistemas de reparación enzimática para el ADN mitocondrial; b) El material de las mitocondrias no es recombinante y es heredado vía materna, permitiendo realizar análisis sin las complicaciones de la segregación alélica (Hanner y Fugate, 1997); c) Hay un alto número de copias de ADNmt por mitocondrias; d) Hay regiones bien conservadas que permiten diseñar cebadores universales. Así, el gen 12S del ARNr es una región altamente conservada, que ha sido empleada para estudios filogenéticos de niveles como Phylum hasta Orden (Hwang y Kim, 1999).

De los genes codificantes de citocromo oxidasa, el gen mtCOI (gen de la subunidad I de la citocromo oxidasa C mitocondrial) es el más conservado, por lo

que también ha sido empleado para distinguir especies cercanas utilizando métodos de PCR. Se ha reportado que el material genético de ciertos individuos y entre ellos de los copépodos, exhibe una considerable variabilidad en la secuencia de bases en este gen codificante (mtCOI), propiedad que ha sido útil para estudios a niveles bajos de especies y poblaciones, y por tanto considerada un marcador especie-específico (Vestheim y col., 2005; Guðmundsdóttir, 2008).

El ADN ribosomal nuclear, el cual codifica los ARNr, también ha sido empleado en análisis filogenéticos. El ADN ribosomal nuclear eucariótico está organizado con un alto número de copias de unidades repetidas una tras otra, que consisten en genes codificantes para la subunidad pequeña nuclear, la subunidad grande y la 5.8S de ADN ribosomal. Esta última está integrada en los dos espaciadores internos transcritos (ITS1 e ITS2), los cuales evolucionan mucho más rápido que las regiones codificantes de ARNr nuclear, ya que las sustituciones ocurren en regiones espaciadoras que no muestran efectos letales sobre los organismos. Estos han sido empleados para distinguir entre especies estrechamente relacionadas y géneros. El ITS no presenta una estructura interna repetitiva, haciendo esta región más accesible a un análisis directo de la secuencia de ADN (Hwang y Kim, 1999).

En el presente estudio, se determinó la abundancia y la composición del zooplancton en los seis cuerpos de agua en Venezuela y el cladóceros perteneciente al género más común encontrado fue utilizado como organismo modelo para estandarizar las técnicas para posteriores caracterizaciones moleculares.

## ANTECEDENTES

El conocimiento sobre el zooplancton de los embalses venezolanos se inició con el trabajo de Kiefer, producto del material recolectado por F. Gessner en el embalse La Mariposa (Distrito Capital) durante la Expedición Limnológica Alemana a Venezuela (Kiefer, 1956). Posteriormente, Herbst describió dos nuevas especies del género *Diaphanosoma* en muestras procedentes del embalse Lagartijo (Estado Miranda), e Infante publicó un informe sobre la composición y variaciones estacionales del zooplancton de este mismo embalse (Herbst, 1968, 1976 *citados en*: Infante, 1976; López y col., 2001).

En 1975, la literatura sobre el zooplancton del Lago de Valencia se reducía tan sólo a 3 trabajos (Infante, 1980 a). El primero de ellos lo realizó Pearse (1921), quien publicó una lista de las especies de los crustáceos, aunque registró poca información sobre el zooplancton. Más tarde, Gessner (1956) publicó los resultados de la Expedición Limnológica Alemana a Venezuela, dando a conocer listas que incluían cladóceros, copépodos y rotíferos del Lago de Valencia y de otros cuerpos de agua en Venezuela. Posteriormente, Gessner (1968) publicó un trabajo con datos cuantitativos sobre fitoplancton y zooplancton del Lago de Valencia. Infante y colaboradores (1979 a) e Infante (1980 b, c) publicaron una lista completa de los copépodos, cladóceros y rotíferos del Lago de Valencia, incluyendo una descripción detallada de cada especie ilustrando las partes importantes para la identificación de cada una de ellas.

Desde entonces, los datos disponibles sobre los embalses del país han aumentado paulatinamente. Sin embargo, de alrededor de un centenar de embalses que existen en Venezuela, sólo se cuenta con algún tipo de información

en 20 de ellos, aunque ésta no ha sido organizada ni analizada con miras a establecer los patrones generales (por ejemplo de abundancia, distribución, composición de especies, entre otros) que exhibe el zooplancton en los embalses de nuestro país (López y col., 2001).

En lo referente a los estudios limnológicos de los cuerpos de agua venezolanos incluidos en este trabajo, se ha reportado: *a.* la caracterización fisicoquímica de las aguas del embalse Guanapito (Cressa y Senior, 1990); *b.* el estudio de la flora y fauna, así como de las características físicas y químicas de los embalses de Camatagua, Guanapito y Lagartijo, para conocer sus potencialidades para un aprovechamiento racional (Infante y col., 1992); *c.* la caracterización limnológica de los embalses La Pereza, Quebrada Seca, La Mariposa y Lagartijo y la preservación del zooplancton como controlador de microalgas, mediante técnicas de biomanipulación (Ortiz y col., 1999); *d.* el estudio de la variación en la abundancia y biomasa del zooplancton en el embalse Tierra Blanca (Edo. Guárico) (Gavidia, 2003); *e.* en este mismo embalse y en Agua Fría, la caracterización limnológica y la identificación de las especies de fitoplancton y zooplancton presentes (González, 2004 a).

No obstante, al estudiar las comunidades zooplanctónicas en los embalses y lagos, se presentan dificultades en la identificación de especies, muchas de las cuales son discriminadas con base en caracteres morfológicos y morfométricos algunos sutiles. Se ha propuesto, entonces, que se deben incluir caracteres taxonómicos moleculares como una herramienta útil para los ecólogos y los oceanógrafos, como parte de una rutina de identificación exacta y confiable para los microcrustáceos (Bucklin y col., 2003).

En respuesta a esto, se han realizado varios estudios de biología molecular en copépodos, cladóceros y otros organismos, demostrando que las secuencias del mtCOI pueden servir como diagnóstico a los niveles de especies y poblaciones en un gran número de individuos (Hill y col., 2001; Vestheim y col., 2005). Entre esos estudios, Burton y Lee (1994) examinaron las relaciones entre poblaciones del copépodo *Tigriopus californicus* usando el gen mtCOI y el gen que codifica la histona H1. Concluyeron que existe una divergencia entre las poblaciones de la costa central y del sur de California (EE.UU.), concordando los resultados entre las secuencias mitocondriales y el gen que codifica la histona H1.

Elías-Gutiérrez y colaboradores (2008), probaron la utilidad de los códigos de barra del ADN, basados en la secuencia del gen mtCOI para identificar especies de microcrustáceos de agua dulce de México y Guatemala. Algunas identificaciones de géneros con base en rasgos morfológicos coincidieron con los análisis genéticos, pero otras no, sugiriendo la necesidad de una revisión. El segmento del gen empleado mostró poca variabilidad entre las especies.

Bucklin y colaboradores (1992, 1995), usaron secuencias de nucleótidos del fragmento del gen 16S ARNr mitocondrial para inferir relaciones interespecíficas de tres especies de *Calanus* y una especie de *Metridia* en un estudio y de seis especies de *Calanus*, tres de *Metridias* y una especie de *Nanocalanus* en otro.

Taylor y colaboradores (1996), usaron el análisis de la secuencia de nucleótidos de un segmento del gen del 12S ADNr mitocondrial para identificar y comparar linajes con significancia filogenética para el cladóceros *Daphnia longispina*. Con base en sus resultados, sugirieron que este grupo de cladóceros

contiene cuatro grupos de especies y que distintas formas de especiación probablemente han ocurrido en *Daphnia*.

Tjensvoll y colaboradores (2005), realizaron la caracterización genética del ADN mitocondrial de *Lepeophtheirus salmonis* (Crustacea; Copepoda), el cual presenta algunas variaciones en su organización comparado con otras especies de crustáceos de los que ya ha sido caracterizado su ADN mitocondrial. Tjensvoll y colaboradores (2006), evaluaron la variación en la secuencia de 4 genes mitocondriales: ATPasa subunidad 6 (A6), Citocromo oxidasa b subunidad I (COI), Citocromo *b* (Cyt *b*) y 16S ARNr, de copépodos de la misma especie, reportando que estas secuencias muestran altos niveles de polimorfismo, pero permitieron confirmar el restringido flujo de genes entre las poblaciones que habitan el Océano Pacífico y el Atlántico Norte.

La variación en el ADN mitocondrial de poblaciones de *Daphnia obtusa* (cladóceros), aisladas de Norteamérica, también fue evaluada empleando la variación en la secuencia del gen mtCOI. Este estudio proporcionó una nueva evidencia que sugiere que las poblaciones de Norteamérica de *Daphnia "obtusa"* consisten en dos especies distintas (Penton y col., 2004). Omilian y Lynch (2009), evaluaron el patrón de variación intraespecífico de ADN, utilizando el genoma nuclear de *Daphnia*, mediante seis loci proteína-codificantes. Por la dificultad en la diferenciación taxonómica basada en los caracteres morfológicos, verificaron la identidad taxonómica de todos los individuos con datos de la secuencia del gen 12S ADN ribosomal. Reportaron que la variación intraespecífica para especies del género *Daphnia*, es ligeramente inferior a estimaciones previas hechas en otros invertebrados. Además, mediante estudios de divergencia en genética de

poblaciones, concluyeron que *Daphnia pulex* y *Daphnia pulicaria* han sufrido diferenciación genética como resultado de distintas presiones ecológicas.

Para resolver problemas filogenéticos en los niveles jerárquicos bajos de categoría, como géneros y especies, se han empleado, debido a su alta variabilidad, los espaciadores intergénicos localizados en el gen que codifica al ARN ribosomal, y de ellos el más usado es el ITS2.

Silva (2003) empleó por primera vez en Brasil, técnicas de citogenética y de extracción y secuenciación de ADN de microcrustáceos, utilizando el espaciador ITS2 para especies de Cyclopoida, reportando que, para estos individuos, esta es una región sensible para la diferenciación entre especies y no entre géneros.

Para probar el endemismo continental y la diversidad críptica establecida previamente por estudios morfológicos dentro del complejo *Chydorus*, especies de cladóceros bentónicos, fueron usados como marcadores moleculares tanto la variación en la secuencia en el ITS2 nuclear como en el mtCOI. Las filogenias nucleares y mitocondriales fueron concordantes en los resultados, revelando 3 linajes, dos de los cuales correspondieron con los análisis morfológicos (Belyaeva y Taylor, 2009).

Actualmente, con los avances en la biología molecular, están disponibles nuevas técnicas y herramientas para estudios filogenéticos y taxonómicos, no sólo con crustáceos sino también con lepidópteros, ácaros, rotíferos, parásitos, entre otros (Starkweather, 1993; Blair y col., 1997; Cruickshank, 2002; Hebert y col., 2003).



En Venezuela, cabe destacar los trabajos realizados empleando técnicas moleculares para estudios de filogenia y genética de insectos, como mosquitos (Arrivillaga y col., 2002; Navarro y Weaver, 2004; Navarro y col., 2009), aves (Pérez-Emán, 2005; Hernández, 2006) y aquellos proyectos que están siendo desarrollados en el Centro de Ecología del IVIC, empleando sistemática molecular y bases genéticas para el monitoreo de la biodiversidad neotropical y la conservación de especies amenazadas (Rodríguez-Clark, comunicación personal). No obstante, aún no se han hecho estudios de biología molecular con microcrustáceos, por lo que la estandarización llevada a cabo en el presente trabajo es pionera en esta área.

## **JUSTIFICACIÓN**

El zooplancton constituye un eslabón clave en la trama trófica de los sistemas acuáticos, ya que permite la transferencia de energía desde los productores primarios (fitoplancton) hasta los consumidores secundarios. Así, el zooplancton es presa para vertebrados e invertebrados y constituye un alimento esencial para, por ejemplo los peces, durante las primeras fases de su vida. El zooplancton, conjuntamente con el zoobentos y los peces, sustentan la producción secundaria en los lagos (Infante, 1988; Fabián y Cruz-Pizarro, 1997; González y col., 2002).

La diversidad de los organismos planctónicos está relacionada con las variaciones de las propiedades de los sistemas acuáticos, tales como: origen del lago y los aspectos geofísicos de la cuenca hidrográfica en la cual se encuentran, el estado trófico del lago y los impactos antrópicos. Las alteraciones en la diversidad y la composición de las especies zooplanctónicas pueden ocurrir en los sistemas lénticos, dependiendo de la entrada de materiales arrastrados por los afluentes. Las especies de zooplancton responden rápidamente a las diferentes condiciones ambientales de las masas de agua, tales como temperatura, concentración de nutrientes, conductividad, pH. Estas variables determinan en conjunto las condiciones en las cuales se desarrollan los organismos. Por tanto, el zooplancton es un excelente indicador de las condiciones físicas y químicas de las masas de agua y de su deterioro, constituyendo una herramienta importante en el análisis del funcionamiento de estos ecosistemas y en el establecimiento de pautas de manejos y usos (González y col., 2002). Así, los cambios en la diversidad y la composición de la comunidad, están directamente relacionados con

los factores de estrés (alta concentración de sustancias tóxicas, acidez, entre otros) (Matsumura-Tundisi, 1997).

Se han desarrollado técnicas de biomanipulación para controlar los procesos de eutrofización, en los que el zooplancton juega un papel importante. Se ha considerado la eliminación selectiva de los depredadores del zooplancton, aumentando así la abundancia de éste, causando la disminución del crecimiento del fitoplancton, obteniéndose un mejoramiento en la calidad del agua (Conde-Porcuna y col., 2004). Además, por ejemplo, los cladóceros tienen gran capacidad para eliminar algas, bacterias y partículas en suspensión y para clarificar el agua, siempre y cuando las algas dispongan de pocos nutrientes (Meneses, 1997).

Otra aplicación de los estudios que permiten manejar adecuadamente el zooplancton, es la capacidad depredadora de los copépodos sobre las larvas de *Aedes aegypti*, encontrándose que estos son depredadores naturales efectivos y pueden ser usados como control biológico del dengue, ya que además son de mantenimiento simple y no requieren de inversiones económicas importantes (Schaper y col., 1998).

Con base en todo esto, mundialmente se ha destacado la importancia de una correcta definición taxonómica de estos individuos, para analizar sus relaciones con el ambiente acuático en el que se encuentran. En nuestro país no se ha realizado ningún estudio de caracterización molecular aplicada a la investigación del zooplancton, por lo que en nuestro proyecto se planteó este objetivo.

## HIPÓTESIS

Las características que exhiben los sistemas acuáticos son el resultado de la interacción de múltiples variables, como: transparencia del agua, pH, conductividad, concentración de oxígeno, temperatura, profundidad del cuerpo de agua y hasta los impactos antrópicos, los cuales juegan un papel importante sobre ellos. Así, la carga de nutrientes influencia la productividad fitoplanctónica y ésta a su vez afecta las comunidades del zooplancton, por representar la oferta de alimento disponible para el plancton animal.

Ante esto, en respuesta a las diferentes características y condiciones fisicoquímicas presentes en los 6 cuerpos de agua a estudiar en la región centro-norte de Venezuela, la abundancia y composición de las comunidades zooplanctónicas será distinta. De esta manera, se esperarían encontrar condiciones relativamente similares entre el embalse Tierra Blanca, el embalse Guanapito y el Lago del Círculo Militar y entre el Lago de Valencia, el embalse La Pereza y el embalse La Mariposa. Estas consideraciones estarían basadas en los estados tróficos reportados para estos cuerpos de agua.

En cuanto a las comunidades del zooplancton, se esperaría la dominancia de los grupos filtradores (copéodos Calanoida y cladóceros) en aquellos cuerpos de agua con condiciones mesotróficas y oligo-mesotróficas (embalse Guanapito, embalse Tierra Blanca y Lago del Círculo Militar), mientras que en aquellos eutróficos a hipereutróficos (Lago de Valencia, embalse La Mariposa y embalse La Pereza) deberían ser abundantes los copéodos Cyclopoida, los rotíferos y/o los protozoarios.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General:**

Determinar la composición y la abundancia del zooplancton en seis cuerpos de agua de la región centro-norte de Venezuela y caracterizar molecularmente la especie de microcrustáceo zooplanctónico más común.

### **Objetivos Específicos:**

- Determinar la composición y la abundancia total del zooplancton en los seis cuerpos de agua a estudiar.
- Estimar la biomasa del fitoplancton y las variables fisicoquímicas y su relación con el zooplancton en los seis ambientes.
- Estandarizar la técnica para aislar ADN de zooplancton.
- Caracterizar molecularmente la especie de microcrustáceo zooplanctónico más común, encontrada en los seis cuerpos de agua.

## ÁREAS DE ESTUDIO

Las mediciones de las variables fisicoquímicas y la recolección de las muestras para la estimación de la concentración de clorofila-a y de la abundancia del zooplancton, se realizaron muestreándose una sola vez los siguientes cuerpos de agua, cuyas ubicaciones espaciales se muestran en la figura 1:

- Embalse Guanapito (Edo. Guárico).
- Embalse La Mariposa (Distrito Capital).
- Embalse Tierra Blanca (Edo. Guárico).
- Lago del Círculo Militar (Distrito Capital).
- Lago de Valencia (Edos. Carabobo y Aragua).
- Embalse La Pereza (Edo. Miranda).



Figura 1. Región Centro-Norte de Venezuela, mostrando la ubicación relativa de los 6 cuerpos de agua en los que se tomaron las muestras.  
Fuente: Google Earth.

### Características de los cuerpos de agua estudiados.

La tabla 2 presenta las características morfométricas y de carga de nutrientes de los cuerpos de agua estudiados.

Tabla 2. Características morfométricas de los cuerpos de agua estudiados.

Características/ Cuerpos de agua	Embalse La Mariposa <sup>1</sup>	Lago de Valencia <sup>2</sup>	Embalse La Pereza <sup>3</sup>	Embalse Guanapito <sup>4</sup>	Embalse Tierra Blanca <sup>5</sup>	Lago del Círculo Militar <sup>6</sup>
Ubicación geográfica	10° 24' 41"N; 66° 33' 53" O	10° 10' N – 67° 45' O	10° 26' 41" N - 66° 44' 09" O	66° 23' – 66° 25' O y 9° 53' – 9° 55' N	9° 58' N – 67° 25' O	10° 27' 49" N - 66° 54' 08" O
Área (m <sup>2</sup> )	540 000	350 000 000	562 500	33 000 000	400 000	31
Volumen de almacenamiento (m <sup>3</sup> )	7 000 000	6 300 000 000	8 000 000	49 000	5 000 000	-
Profundidad media (m)	13	18	14	17	12,5	(Máx: 3,8)
Altitud (m.s.n.m.)	980	404	1 062	420	500	882
Carga de nutrientes	Hipereutrófico	Eutrófico	Eutrófico	Mesotrófico	Oligo- mesotrófico	Oligo- mesotrófico

Fuentes: 1. Ortaz y col. (1999). 2. Infante (1980 a). 3. González y col. (2003) 4. [www.covenpre.org.ve/presas/guanapito.htm](http://www.covenpre.org.ve/presas/guanapito.htm); 5. Cressa y Senior (1990). 6. MARNR (1998). 6. Gordon y col. (2008).

### 1.1 Embalse La Pereza

Se encuentra ubicado en Filas de Mariches, municipio Sucre, en el estado Miranda (figura 2). Su principal función es el suministro de agua potable a las poblaciones cercanas al área metropolitana de Caracas. Recibe agua de la quebrada La Pereza y, principalmente, de la proveniente de otros embalses del sistema Tuy (González y col., 2003).



Figura 2. Imagen satelital del Embalse La Pereza.  
Fuente: Google Earth

Sus alrededores están muy intervenidos, con una alta erosión en las laderas contiguas. Así mismo, descargan al embalse aguas de desecho de origen doméstico e industrial, además de la presencia de granjas porcinas en áreas aledañas y de ganado vacuno. Todos estos productos de desecho son vertidos al embalse o arrastradas a él por escorrentía (González y col., 2003).

### 1.2 Embalse Guanapito

El embalse Guanapito está situado al Noroeste del estado Guárico. Debido a que el almacenamiento de agua se encuentra en una garganta montañosa, el embalse tiene forma dendrítica distinguiéndose 3 brazos (figura 3).



Figura 3. Imagen satelital del Embalse Guanapito.  
Fuente: Google Earth

El Río Orituco es su afluente principal y las quebradas El Banco y La Culebra constituyen los aportes secundarios que se hacen presentes sólo durante la época de lluvia. Las cabeceras del Río Orituco se encuentran situadas en el Parque Nacional Guatopo, lo cual le imprime cierta protección a la cuenca de drenaje. El área por debajo del parque está intensamente cultivada (horticultura y fruticultura) tanto en zonas de gran pendiente como en las zonas planas adyacentes a las márgenes del río. Además se practica ganadería extensiva. Por ello, el río transporta una alta carga de sedimentos y fertilizantes hacia el embalse (Cressa y Senior, 1990). En 1971 se le sembraron peces (Infante y col., 1992).

Es empleado para el abastecimiento de agua potable e irrigación de los cultivos de Altagracia de Orituco.

### 1.3 Lago del Círculo Militar

Se encuentra ubicado dentro del Círculo Militar de Caracas, en Los Próceres, Distrito Capital (figura 4).



Su función es netamente ornamental y recreativa. Por su poca profundidad es considerado un lago somero. Una característica resaltante es que el fondo se encuentra cubierto por *Chara* sp. y por *Elodea* sp. Fue clasificado como oligo-mesotrófico (Gordon y col., 2008).

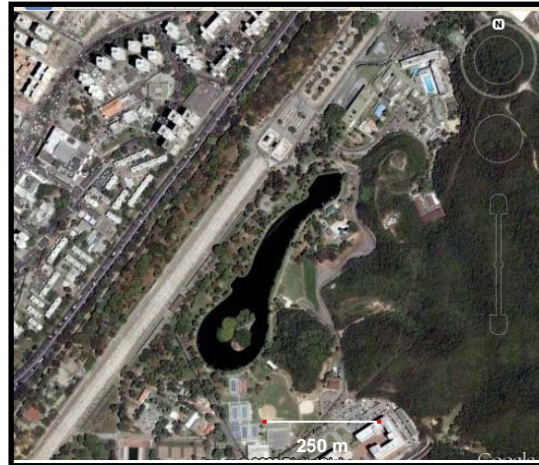


Figura 4. Imagen satelital del Lago del Círculo Militar.  
Fuente: Google Earth

#### 1.4 Lago de Valencia

Está ubicado en una depresión entre la Cordillera de la Costa y la Serranía del Interior, en los Valles de Aragua, en la región centro-norte de Venezuela (figura 5) (Infante, 1990). El lago de Valencia puede considerarse como uno de los lagos tropicales mejor estudiados.



Figura 5. Imagen satelital del Lago de Valencia.  
Fuente: <http://www.zonu.com/>

Como resultado del incremento numérico de la población humana en la zona y el consecuente aumento en las actividades agrícolas e industriales, el lago de Valencia ha sufrido cambios importantes en sus propiedades fisicoquímicas y biológicas. Debido a fluctuaciones en el nivel de las aguas, la morfometría del lago cambia interanualmente, además de estacionalmente. Las manifestaciones más conspicuas de esos cambios son el rápido desecamiento y el aumento de nutrientes en el lago. En los últimos 250 años, el nivel de sus aguas ha disminuido más de 20 m. Ante esto, se desvió el río Cabriales, receptor de las aguas servidas

de la ciudad de Valencia, hacia el lago. Esta medida que se pretendió justificar como necesaria para evitar la entrada de aguas servidas al embalse Pao-Cachinche, trasladó el problema del embalse al lago. Un nuevo problema se enfrenta y es el del aumento del nivel del agua que ha producido cuantiosas pérdidas en la agricultura y la desaparición de urbanizaciones, construidas en lo que era terreno seco. Desde entonces, el lago de Valencia se encuentra altamente contaminado, producto de las descargas de desechos domésticos, agrícolas e industriales, conformando el cuadro de un sistema altamente intervenido (Infante, 1990).

Sus tributarios más importantes son los ríos Güey, que aporta aguas residuales de la ciudad de Maracay, Caño Central, que drena las aguas servidas de Valencia, y Güigüe, aportando las aguas de la población con el mismo nombre (Infante, 1990).

Este lago sólo tiene un período anual de mezcla, por lo que el resto del año permanece estratificado, acumulándose sustancias tóxicas. Así, al mezclarse se producen grandes mortandades de peces y de zooplancton (Infante, 1990).

### *1.5 Embalse Tierra Blanca*

El embalse Tierra Blanca se encuentra ubicado en el estado Guárico, entre las poblaciones de Villa de Cura (Edo. Aragua) y San Juan de Los Morros (Edo. Guárico), a unos 12 km al nor-oeste de esta ciudad. Su afluente principal es la quebrada Corozal (figura 6) (MARNR, 1998).

Este embalse fue construido con el propósito de abastecer de agua potable

a la ciudad de San Juan de Los Morros y a las poblaciones aledañas. También es muy visitado especialmente los días sábados y domingos y días festivos, como lugar de recreación masiva de habitantes de ciudades como Maracay, Cagua y La Victoria (Piscícola Orinoco, 1991). El embalse



Figura 6. Imagen satelital del Embalse Tierra Blanca.  
Fuente: Google Earth

Tierra Blanca está rodeado de montañas bajas (800 m de altitud), las cuales limitan la acción del viento sobre su superficie. Presenta un cinturón de algas. La planta *Elodea densa* es común en zonas poco profundas (hasta 6 m) (Piscícola Orinoco, 1991). En relación con la fauna íctica, desde 1986 han sido introducidas 12 especies de peces (Manduca, 1988).

#### 1.6 Embalse La Mariposa

El embalse La Mariposa está ubicado a 8 km de la ciudad de Caracas, en el Distrito Capital (figura 7). Este embalse represa al río El Valle y la quebrada Los Indios con la finalidad de abastecer de agua potable a la ciudad de Caracas; sin embargo, la mayor proporción de agua que recibe proviene del bombeo desde otros embalses, como los de Camatagua y Lagartijo (González y Ortaz, 1998).



Figura 7. Imagen satelital del Embalse La Mariposa.  
Fuente: Google Earth

Desde hace algunos años este reservorio ha venido sufriendo un progresivo deterioro de la calidad de sus aguas por el aporte continuo de nutrientes, además de la intervención de su cuenca, lo que ha generado una serie de impactos negativos tanto en la operación de la planta de tratamiento, como para los consumidores. El embalse recibe descargas de aguas servidas provenientes de caseríos y granjas porcinas que operan en la cuenca, por lo que ha sido clasificado como hipereutrófico (Ortiz y col., 1999).

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los muestreos fueron realizados en las zonas más profundas de los cuerpos de agua, por ejemplo en los embalses cercano al dique. Las fechas en las que se realizaron tales muestreos y la estación climática correspondiente, se muestran en la tabla 3.

Tabla 3. Fechas y estaciones climáticas en las que fueron realizados los muestreos en los cuerpos de agua.

Cuerpo de agua	Fecha de muestreo	Estación	Referencia
Embalse La Pereza	25/10/2008	Sequía	Ginez y col. (1983).
Embalse Guanapito	28/03/2009	Sequía	Ginez y Olivo (1984).
Lago del Círculo Militar	14/05/2009	Lluvias	Ginez y col. (1983).*
Lago de Valencia	11/06/2009	Lluvias	Infante (1980 a).
Embalse Tierra Blanca	17/09/2009	Lluvias	Ginez y col. (1983).
Embalse La Mariposa	13/11/2009	Sequía	Ginez y col. (1983).

\* Se tomaron como referencia las estaciones climáticas del embalse La Mariposa, por encontrarse ambos cuerpos de agua en el Distrito Capital.

### 1. Variables determinadas en cada cuerpo de agua.

Se estudiaron las siguientes variables:

#### 1.1 *Transparencia del agua.*

Determinada con el disco de Secchi de 20 cm de diámetro.

#### 1.2 Perfiles verticales de *temperatura* (0,1 °C) y *conductividad* (1 µS/cm).

Se utilizó una sonda multiparamétrica YSI modelo 3000-TLC. Las estimaciones se realizaron desde la superficie hasta el fondo metro a metro.

#### 1.3 Perfil vertical de *oxígeno disuelto* (0,01 mg/L).

Se empleó una sonda multiparamétrica YSI modelo 54 A. Las estimaciones se realizaron desde la superficie hasta el fondo metro a metro.

#### **1.4 Perfil de pH.**

Se midió con un potenciómetro portátil Oakton Testr 1 (0,1 unidades). Las estimaciones se realizaron a diferentes intervalos de profundidad dependiendo del cuerpo de agua bajo estudio.

#### **1.5 Biomasa del fitoplancton.**

Se estimó mediante la concentración de clorofila-a. Las muestras se tomaron en la zona eufótica con una botella de captación del tipo “van Dorn”, se almacenaron en envases de polietileno de 2 litros de capacidad, manteniéndose en frío y oscuridad hasta su posterior análisis en el laboratorio (ver protocolo en Anexo I).

## **2. Toma de las muestras de zooplancton.**

La recolección del zooplancton se realizó con una red de cierre (luz de malla= 77  $\mu$ m) mediante barridos verticales metro a metro por encima del estrato oxigenado de los cuerpos de agua, según la profundidad máxima de éstos. Las muestras se preservaron en formaldehído al 4% de concentración final y en etanol 99,8% para los estudios moleculares. Sólo para estos últimos las muestras se tomaron realizando un barrido de 5-0 m en la columna de agua.

La tabla 4 presenta los intervalos de profundidad en los que se tomaron las muestras, en cada ambiente.

Tabla 4. Intervalos de profundidad en los que se tomaron las muestras de zooplancton en cada cuerpo de agua.

<b>Cuerpo de agua</b>	<b>Intervalos de profundidad (m)</b>
Embalse La Pereza	2-0, 4-2, 6-4, 8-6, 10-8, 12-10
Embalse Guanapito	2-0, 4-2, 6-4, 8-6, 10-8, 12-10
Lago del Círculo Militar	1-0, 2-1, 3-2
Lago de Valencia	2-0, 4-2, 6-4, 8-6, 10-8
Embalse Tierra Blanca	2-0, 4-2, 6-4, 8-6, 10-8
Embalse La Mariposa	2-0, 4-2

### **3. Abundancia e identificación del zooplancton.**

Se contaron por duplicado submuestras concentradas (60 mL), en cámaras de Sedgwick-Rafter (1 mL) (Wetzel y Likens, 2000). Posteriormente, se observaron y seleccionaron los microcrustáceos empleando un microscopio estereoscópico, diferenciándolos en una primera etapa en grupos: Calanoida, Cyclopoida, Cladocera y Rotifera, con base en sus características morfológicas más conspicuas descritas en la introducción de este trabajo. En una segunda etapa con ayuda de claves taxonómicas, se identificaron a los individuos a nivel de especie, siempre que fuera posible.

Para la identificación de los Calanoida fueron utilizados los machos adultos y para la identificación de los Cyclopoida las hembras adultas, preferiblemente ovadas. Las piezas de importancia taxonómica (ver Anexo II), como el 5<sup>to</sup> par de patas, que es reducido (ver Anexo III), las antenas y la furca, fueron despegadas del cuerpo del animal con ayuda de agujas y colocadas en láminas y observadas al microscopio óptico. Otras piezas importantes en los Cyclopoida son el esclerito intercoxal o placa de unión (ver Anexo III) que une entre sí los apéndices torácicos y el receptáculo seminal. Los individuos fueron identificados con ayuda de claves e ilustraciones (Infante y col., 1979 a; Fernando, 2002; Silva, 2003).

La identificación de las especies de cladóceros se basó en caracteres como la forma del cuerpo y la cabeza, el tamaño del ojo, las antenas y anténulas (su forma, si están fijas o libres), el postabdomen (con/sin espinas), el margen de la valva (ver Anexo IV). Se emplearon claves como El Moor-Loureiro (1997) e Infante (1980 b).

La identificación de los rotíferos pertenecientes a la clase Bdelloidea, se logró al observar el mástax de los mismos, ya que casi sin excepción, una identificación más exacta es sólo posible con animales vivos. Los individuos de la clase Monogononta fueron reconocidos con base en la forma del cuerpo, en la presencia o ausencia del pie, de los dedos del pie, de espinas, de las uñas, de la lórica, de apéndices (ver Anexo V). Las claves taxonómicas empleadas, fueron: Infante (1980 a, c), Fernando (2002).

#### **4. Análisis de datos.**

El análisis de componentes principales (ACP), permite reducir la dimensionalidad de los datos y describir las relaciones entre esas variables. La técnica puede ser resumida como un método de transformación de las variables originales en nuevas variables artificiales sintéticas (llamadas componentes principales), sin perder mucha información (Afifi y Clark, 1984).

Las variables estimadas en los seis cuerpos de agua se analizaron mediante un estudio de *componentes principales*, representado gráficamente a través de un biplot. Se emplearon las medias de dichas variables: profundidad, transparencia, temperatura, conductividad, oxígeno, pH, biomasa del fitoplancton y



la abundancia media de los grupos del zooplancton registrados. El estudio se desarrolló partiendo de la matriz de correlación.

Se aplicó, además, un *análisis de agrupamiento* (cluster). En éste, partiendo de los elementos muestrales individualmente considerados, se van creando grupos de elementos parecidos entre sí, hasta llegar a la formación de un único grupo constituido por todos los elementos de la muestra. Este procedimiento se representó gráficamente mediante un dendograma o árbol jerárquico. El criterio utilizado para la tabulación aglomerativa fue el Ligamiento Promedio Aritmético No Ponderado (UPGMA) y el índice de similitud de Chord que se calcula como la distancia euclídea entre los vectores normalizados. Terdalkar y Pai (2001) indican que es adecuado el uso de este índice para analizar la estructura de la comunidad y los datos del zooplancton.

Ambos análisis fueron realizados empleando el paquete estadístico Past de acceso libre.

## **5. Estandarización de la metodología de extracción de ADN.**

Se aplicaron 3 metodologías de extracción reportadas en la literatura empleando desde uno hasta 55 individuos. Se evaluó la eficiencia de éstas mediante electroforesis en gel de agarosa.

### **Método 1**

Se realizó según el protocolo aplicado por Vestheim y colaboradores (2005).

*Procedimiento:* Remover un individuo de su medio de preservación y hervir por 10 minutos en tubos de microcentrifuga conteniendo 50  $\mu$ L de agua miliQ.

Remover el agua y triturar a los individuos con ayuda de una varilla de vidrio, presionando contra las paredes del tubo de microcentrífuga. Resuspender en 50  $\mu$ L de agua miliQ y conservar a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta realizar PCR.

## **Método 2**

Se realizó según el Método de Towner (1991). Protocolo aplicado además por Braga y colaboradores (1999). Los organismos preservados en etanol se hidrataron en agua miliQ toda la noche a temperatura ambiente antes del procedimiento de extracción de ADN.

*Procedimiento:* Colocar un individuo en un tubo de centrifuga con nitrógeno líquido e inmediatamente triturar. Resuspender el organismo pulverizado en 1 mL de búfer de extracción (NaCl 0,14 M, KCl 5 mM, SDS 1%). Adicionar 1 vol de 25:24 fenol/cloroformo. Enfriar en hielo por 5 minutos. Centrifugar por 5 minutos a 16 000 x g. Colectar la capa acuosa superior y precipitarla con 0,1 vol de acetato de sodio 3 M (pH 6,8) y 2 vol de etanol (95%) y colocar las muestras a  $-20^{\circ}\text{C}$  por 15 minutos.

Después de esperado el tiempo, centrifugar por 10 minutos a 16 000 x g. Descartar el sobrenadante y lavar el sedimento de ADN resultante con etanol 70% y secar y resuspender en 50  $\mu$ L de agua miliQ. Conservar a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su uso posterior.

## **Método 3**

Se realizó según modificaciones hechas al protocolo del estuche “AccuPrep Stool DNA Extraction kit” (Bioneer), el cual se describe en la figura 8.

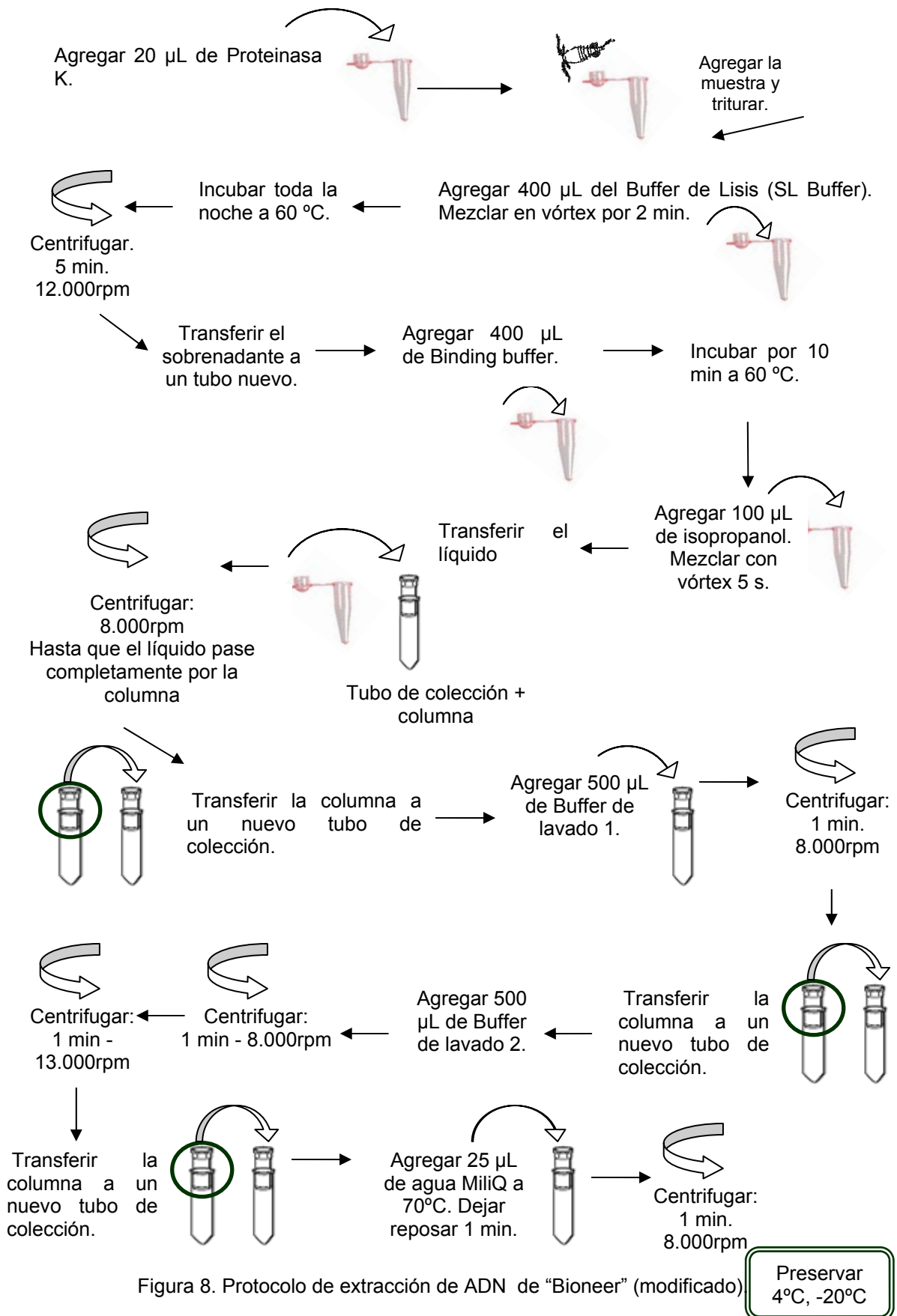


Figura 8. Protocolo de extracción de ADN de "Bioneer" (modificado)

## 6. Densitometría

La concentración y pureza del material genético aislado se determinó con el biofotómetro (Eppendorff) a 260 y 280 nm.

## 7. PCR

Se emplearon 3 pares de cebadores con el material genético de *Diaphanosoma birgei* (cladóceros). La información de estos se presenta en la tabla 5.

Tabla 5. Iniciadores empleados en las reacciones de PCR para amplificar los genes ITS2, mtCOI y 12S ARNr y sus características.

Genes	Iniciadores	Secuencias	Tm (°C)	Tamaño del amplificado	Referencia
ITS2	ITS10	5'-TAC GGG CCT ATC ACC CTC TAC G-3'	64	500 pb	Silva (2003)
	ITS4	5'-GCA TCG ATG AAG AAC GCA GC-3'			
mtCOI	COI-1	5'-GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G-3'	58	709 pb	Vestheim y col. (2005)
	COI-2	5'-TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA-3'	64		
12S ARNr del ADN mitocondrial	12S-cladoc1	5'-ATG CAC TTT CCA GTA CAT CTA C-3'	54	605 pb	Taylor y col. (1996)
	12S-cladoc 2	5'-AAA TCG TGC CAG CCG TCG C-3'	69		

En todas las reacciones, el volumen final para la PCR fue de 25  $\mu$ L, colocando en un tubo *ependorf* las siguientes soluciones, en el orden presentado, para una sola muestra:

- 16,55  $\mu$ L de agua miliQ.
- 2,5  $\mu$ L de búfer para una concentración final de 1 X.
- 0,75  $\mu$ L de MgCl<sub>2</sub> para una concentración final de 1,5 mM.
- 0,5  $\mu$ L de dNTP's para una concentración final de 200  $\mu$ M.
- 1,25  $\mu$ L de cada iniciador para una concentración final de 0,5  $\mu$ M.

- ◆ 0,2 µL de Taq polimerasa para una concentración final de 1 U/µL.
- ◆ 2 µL de la muestra de ADN, obtenida por el método de purificación de ADN (sección 5).

Esta mezcla se realizó de la siguiente manera:

Para comenzar la reacción, se calculó la cantidad adecuada de cada solución para el número total de reacciones a realizar, contando además de la cantidad de muestras, el control negativo (agua miliQ), más una reacción adicional para garantizar la cantidad de la mezcla a todas las muestras. Luego, se distribuyeron 23 µL de la mezcla anterior, en la cantidad de tubos *ependorf* para las reacciones de PCR previamente identificadas. Por último, se añadió la muestra de ADN correspondiente a cada tubo. Los tubos *ependorf* se colocaron en el termociclador (Applied Biosystems) con las condiciones de temperatura y tiempo adecuadas para la amplificación de las secuencias de los genes ITS2, 12S ARNr y mtCOI; como se indican en las tablas 6, 7 y 8.

Las condiciones del termociclador para amplificar la secuencia del gen ITS2, utilizando los iniciadores nombrados, se presentan en la tabla 6.

Tabla 6. Condiciones para la amplificación por PCR de la región ITS2.

<b>Condición</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Tiempo</b>	<b>Ciclos</b>
<b>Calentamiento</b>	95	1 min.	1
<b>Desnaturalización</b>	95	30 s.	
<b>Hibridación con los iniciadores</b>	50	1 min.	50
<b>Extensión de los cebadores</b>	72	1 min.	
<b>Extensión final</b>	72	7 min.	1
<b>Preservación</b>	4	∞	

Las condiciones del termociclador para amplificar la secuencia del gen 12S ARNr, se muestran en la tabla 7:

Tabla 7. Condiciones para la amplificación por PCR del gen 12S ARNr.

Condición	Temperatura (°C)	Tiempo	Ciclos
Calentamiento	94	1 min.	1
Desnaturalización	94	1 min.	
Hibridación con los iniciadores	50	2 min.	10
Extensión de los cebadores	72	1 min.	
Desnaturalización	92	1 min.	
Hibridación con los iniciadores	50	2 min.	30
Extensión de los cebadores	72	1 min.	
Extensión final	72	5 min.	1
Preservación	4	∞	

Las condiciones del termociclador para amplificar la secuencia del gen mtCOI, se muestran en la tabla 8:

Tabla 8. Condiciones para la amplificación por PCR del gen mtCOI.

Condición	Temperatura (°C)	Tiempo	Ciclos
Calentamiento	95	5 min.	1
Desnaturalización	95	1 min.	
Hibridación con los iniciadores	49	1 min.	35
Extensión de los cebadores	72	1 min.	
Extensión final	72	7 min.	1
Preservación	4	∞	

Una vez que las muestras fueron amplificadas, se preservaron a -20 °C para su análisis posterior.

## 8. Electroforesis en geles de agarosa. Tinciones y registro.

Al final de cada metodología de extracción desarrollada y PCR y con tal producto, se realizó una corrida electroforética en un gel de agarosa al 0,8 % y 1,5 % respectivamente, en búfer TBE 1X (Stock 10X, Tris Base 0,89 M, ácido bórico 0,89 M, EDTA 0,02 M).

Se mezcló dicho producto con el búfer de carga 6X (azul de bromofenol 0,25%, xylene cyanol 0,25% y glicerol 30%). Además de las muestras, el gel de agarosa contuvo en uno de sus bolsillos un marcador de peso molecular (Gene Ruler 1 kb ó 100 pb, DNA *Ladder*) (Lab Aid).

Las electroforesis se realizaron a un voltaje de 100 V. Posteriormente, se trató el gel con una solución de bromuro de etidio (0,5 µg/mL) durante 15 min y se eliminó el exceso del mismo colocando el gel en agua destilada durante 5 min más. Por último, se observó el ADN empleando el equipo Gel Doc 1000 (Bio Rad), que permitió el registro de las imágenes en un sistema de digitalización de imágenes Gel Doc 1000 (BIORAD) por medio del software Multi-Analyst/PC versión 1.1 (BIORAD).

## **9. Purificación de los productos de PCR.**

Los productos de PCR del gen ITS2 fueron purificados desde el gel de agarosa usando el estuche comercial Axygen (Biosciences). El ADN doble cadena purificado se resuspendió en agua miliQ.

## **10. Secuenciación**

La secuencia del amplificado se realizó en el CeSAAN (Centro de Secuenciación y Análisis de Ácidos Nucleicos), ubicado en el Centro de Microbiología del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), utilizando un secuenciador de ácidos nucleicos Perkin-Elmer modelo ABI PRISM™ 377, usando protocolos estándares de secuenciación.

La secuencia de los iniciadores empleados fue comparada con la base de datos depositadas en el banco de genes (GenBank, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>) utilizando el software BLAST (Basic Local Alignment Search Tool).

# RESULTADOS

## 1. Variables fisicoquímicas.

La tabla 9 muestra las características de todos los cuerpos de agua estudiados para el día en el que se realizó el muestreo, a manera de resumen.

Es de hacer notar que en el embalse La Mariposa, para el día del muestreo, el nivel de agua fue bastante bajo y hubo una alta carga de sedimentos en suspensión. Una considerable área superficial del embalse estuvo cubierta por el jacinto de agua o bora, *Eichhornia crassipes*. Así mismo, en él se registró el menor valor de transparencia. Por el contrario, en el Lago del Círculo Militar se registró el mayor valor de transparencia del agua.

Tabla 9. Características de los cuerpos de agua estudiados para el día del muestreo.

Característica	Embalse La Pereza	Embalse Guanapito	Lago Círculo Militar	Lago de Valencia	Embalse Tierra Blanca	Embalse La Mariposa
Superficie del agua	Muy quieta	Muy agitada	Quieta	Muy agitada	Quieta	Agitada
Aspecto del agua	Verde oliva turbio	Verde claro	Verde claro	Verde turbio	Verde oliva turbio	Marrón pardo
Transparencia del agua	0,7 m	2,3 m	<b>2,9 m*</b>	2,0 m	0,9 m	<b>0,15 m*</b>
Nubosidad	7/8 Nublado	6/8 Parcialmente nublado	7/8 Nublado	7/8 Nublado	5/8 Parcialmente nublado	5/8 Parcialmente nublado
Prof. Máx.	26,5 m	25,0 m	3,8 m	41,0 m	13,5 m	6,0 m

\* Se destaca el valor mayor y el menor de la transparencia del agua registrada.

### 1.1 Temperatura

Los perfiles de la temperatura del agua en los ambientes estudiados, se presentan en la figura 9. El patrón general registrado fue la disminución de la temperatura del agua a medida que aumentó la profundidad del ambiente bajo estudio. Por tanto, la temperatura fue máxima en la superficie. El valor mayor



registrado fue en el embalse La Mariposa (28,4 °C) y el menor en el embalse Tierra Blanca (23,2 °C).

En los lagos del Círculo Militar y de Valencia, se registraron estratificaciones térmicas menos marcadas que en los demás cuerpos de agua (embalses: La Pereza, Guanapito, La Mariposa y Tierra Blanca).

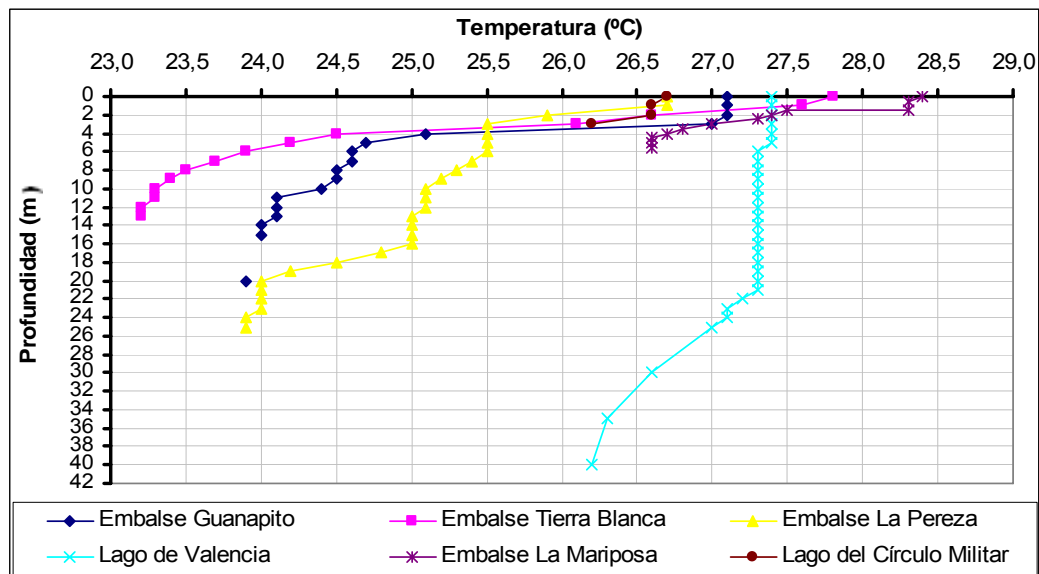


Figura 9. Variación de la temperatura del agua a medida que aumenta la profundidad, en los 6 ambientes estudiados.

El perfil de la temperatura del agua con la profundidad en el embalse La Pereza se muestra en la figura 10. El embalse se encontró estratificado térmicamente durante el muestreo con una diferencia de 2,8 °C entre la superficie y los 25 m. Se pudieron identificar el epilimnion (0 – 6 m), metalimnion (7 – 20 m) y el hipolimnion (21- 25 m).

La temperatura del agua alcanzó un valor máximo de 26,7 °C hasta el primer metro de profundidad, luego del cual disminuyó gradualmente con variaciones menores a 1 °C por metro hasta alcanzar 23,9 °C a los 25 m.

La figura 11 presenta el perfil de la temperatura del agua con la profundidad en el embalse Guanapito. El embalse estuvo estratificado térmicamente durante el muestreo, con una diferencia de 3,2 °C entre la superficie y los 20 m. La temperatura máxima del agua se alcanzó en los estratos superficiales y fue cercana a 27 °C en los primeros 3 m de profundidad (epilimnion), desde donde descendió a menos de 25 °C a los 5 m. A partir de 5 m se observó un estrato con variaciones de temperatura entre 24,7 °C y 24,4 °C (metalimnion). Desde los 3 m hasta los 11 m se observaron dos termoclinas. Aproximadamente a partir de los 11 m se diferenció el hipolimnion con temperaturas cercanas a 24 °C.

La figura 12 muestra la variación de la temperatura con la profundidad en el Lago del Círculo Militar. Aunque se notó la disminución de la temperatura a medida que aumentó la profundidad, hubo poca variación en la columna de agua, de apenas 0,5 °C. A 0 m de profundidad, la temperatura alcanzó el mayor valor (26,7 °C) y a 3 m el menor (26,2 °C).

El perfil de temperatura del agua del Lago de Valencia se muestra en la figura 13. Se registró poca variación en los primeros 25 m de profundidad; entre la superficie y los 25 m ésta apenas fue de 0,1 °C. A partir de allí, la temperatura disminuyó 0,4 °C; la diferencia entre la superficie y el fondo fue de 1,2 °C. Los valores máximos de temperatura se registraron en los primeros 5 m (27,4 °C) y el mínimo fue a los 40 m (26,2 °C).

En la figura 14 se presenta la variación de la temperatura del agua respecto a la profundidad en el embalse Tierra Blanca. Éste se encontró estratificado térmicamente, con la mayor temperatura en la superficie (27,8 °C) y la menor a 12 y 13 m (23,2 °C). La diferencia de temperatura registrada entre la superficie y los 13 m fue 4,6 °C.

El perfil de la temperatura del agua del embalse La Mariposa se muestra en la figura 15. El embalse se encontró estratificado térmicamente, con una diferencia de 1,8 °C entre la superficie y el fondo. Se pudieron identificar el epilimnion (0 – 1,5 m), el metalimnion (1,5 – 4,5 m) y el hipolimnion (4,5 – 5,5 m). La temperatura del agua alcanzó un valor máximo de 28,4 °C a 0 m desde donde disminuyó gradualmente hasta 26,6 °C (4,5 - 5,5 m).

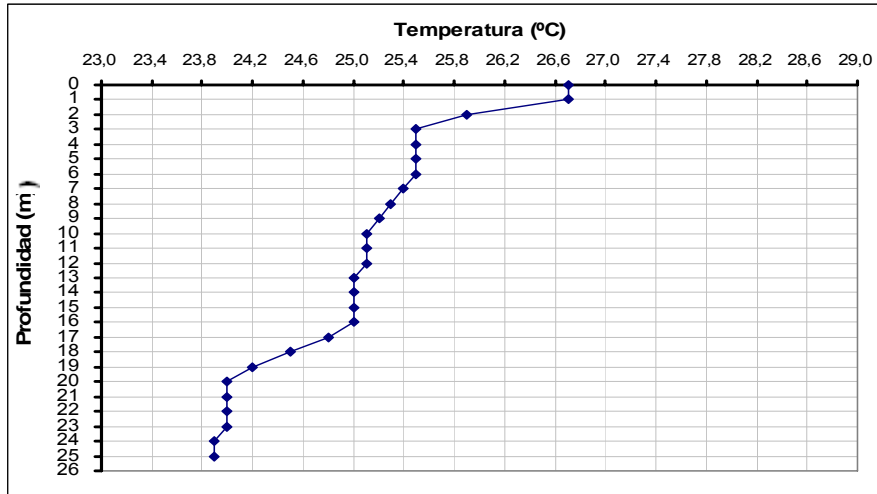


Figura 10. Variación de la temperatura en la columna de agua, embalse La Perea.

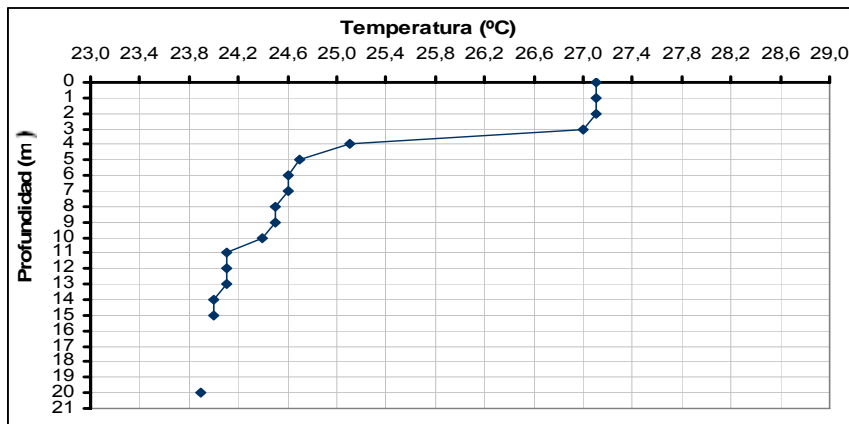


Figura 11. Variación de la temperatura en la columna de agua, embalse Guanapito.

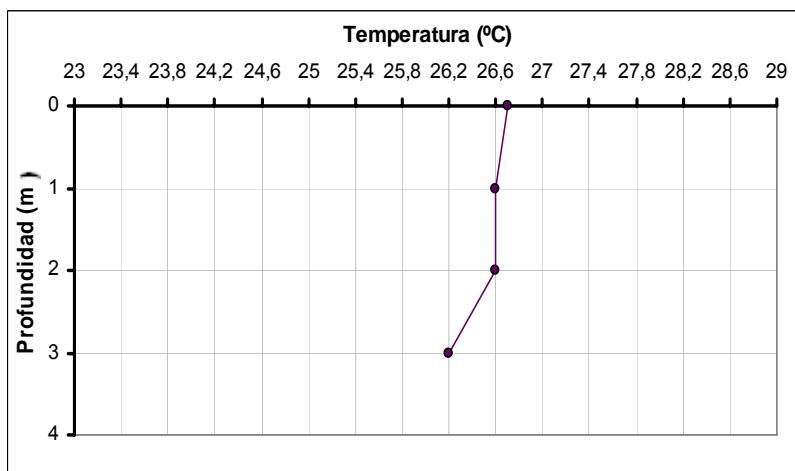


Figura 12. Variación de la temperatura en la columna de agua, Lago del Círculo Militar.

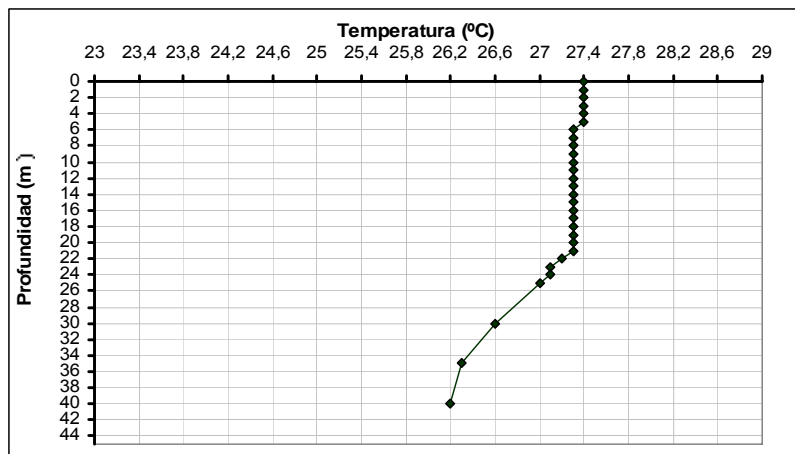


Figura 13. Variación de la temperatura en la columna de agua, Lago de Valencia.

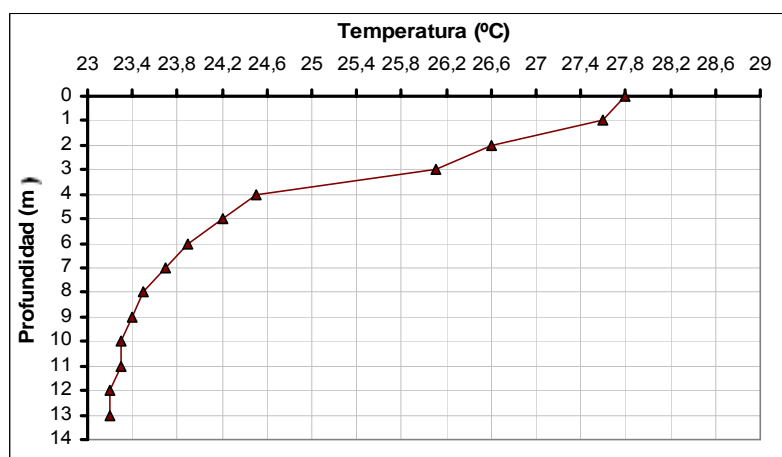


Figura 14. Variación de la temperatura en la columna de agua, embalse Tierra Blanca.

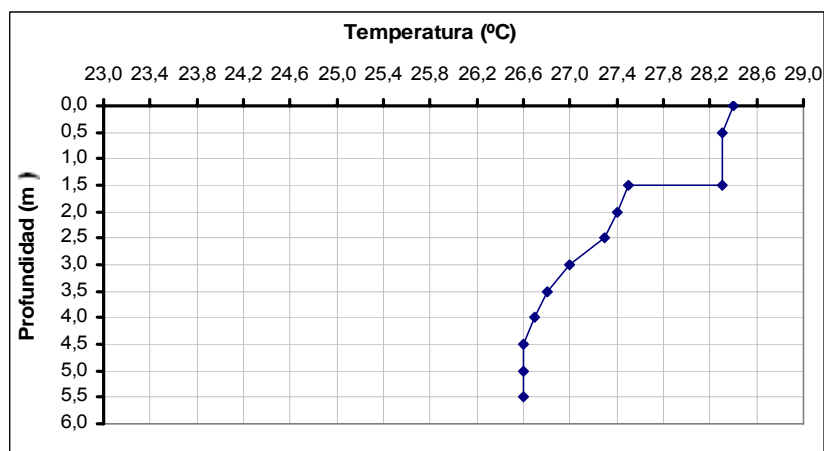


Figura 15. Variación de la temperatura en la columna de agua, embalse La Mariposa.

## 1.2 Conductividad

El cambio de la conductividad a lo largo de la columna de agua en cinco de los seis cuerpos estudiados, se muestra en la figura 16. La conductividad del Lago de Valencia se excluyó de esta figura por ser demasiado elevada en comparación con el resto de los cuerpos de agua. El patrón general fue variable. En los embalses Guanapito y Tierra Blanca no se registraron grandes variaciones de la conductividad al aumentar la profundidad. En estos se registraron los menores valores. Pero, en el embalse La Pereza y en el Lago del Círculo Militar, sí se registró una tendencia a aumentar con la profundidad.

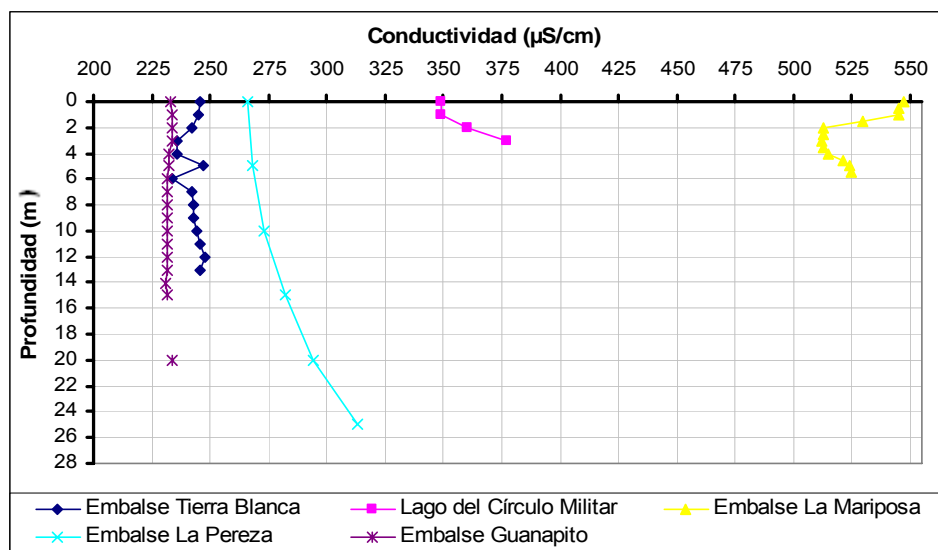


Figura 16. Variación de la conductividad a medida que aumenta la profundidad, en los embalses Tierra Blanca, La Pereza, Guanapito y La Mariposa y en el Lago del Círculo Militar.

El perfil de conductividad a lo largo de la columna de agua en el embalse La Pereza se muestra en la figura 17. La conductividad aumentó gradualmente desde la superficie (266  $\mu\text{S/cm}$ ) hasta el fondo (25 m) (313  $\mu\text{S/cm}$ ).

El perfil de conductividad en el embalse Guanapito se muestra en la figura 18. La conductividad del agua alcanzó el valor máximo a 20 m de profundidad (234  $\mu\text{S/cm}$ ). El valor menor alcanzado fue a los 14 m con 231  $\mu\text{S/cm}$ .

La figura 19 presenta el patrón de conductividad a lo largo de la columna de agua en el Lago del Círculo Militar. La conductividad aumentó con la profundidad. Los menores valores fueron registrados a 0 y 1 m (349  $\mu\text{S/cm}$ ) y el mayor a 3 m (377  $\mu\text{S/cm}$ ).

La variación en la conductividad en el Lago de Valencia se presenta en la figura 20. La tendencia general fue de aumentar con la profundidad, con ligeras fluctuaciones desde la superficie (1900  $\mu\text{S/cm}$ ) hasta el fondo (1909  $\mu\text{S/cm}$ ). El valor mayor registrado fue de 1911  $\mu\text{S/cm}$  a 25 m.

La figura 21 presenta el perfil de conductividad del agua con la profundidad en el embalse Tierra Blanca. Se registraron fluctuaciones a lo largo de la columna de agua, con el valor mayor de 248  $\mu\text{S/cm}$  registrado a 12 m y el menor de 234  $\mu\text{S/cm}$  a 6 m. A partir de esta profundidad, la conductividad aumentó hasta 12 m, pero luego disminuyó a los 13 m. Estas fluctuaciones confirmarían la presencia de corrientes de densidad.

La variación de la conductividad en el embalse La Mariposa se muestra en la figura 22. El valor mayor registrado fue en la superficie (547  $\mu\text{S/cm}$ ), mientras que el valor menor fue a los 3 m (512  $\mu\text{S/cm}$ ); a medida que aumentó la profundidad se notó un aumento en la conductividad hasta alcanzar los 525  $\mu\text{S/cm}$  a 5,5 m.

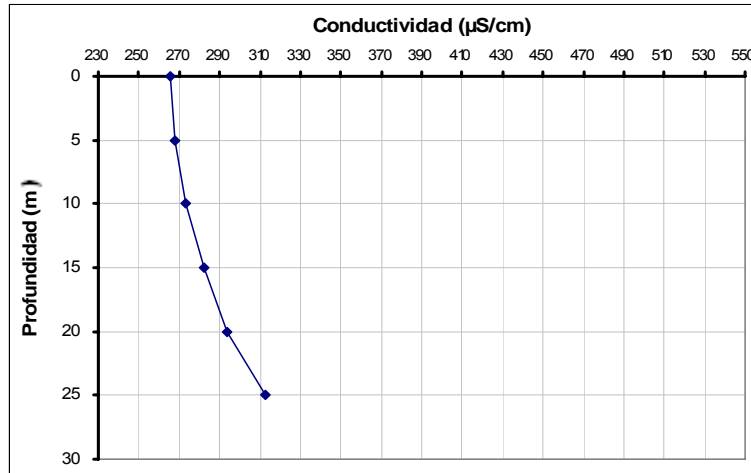


Figura 17. Variación de la conductividad del agua con la profundidad, embalse La Perea.

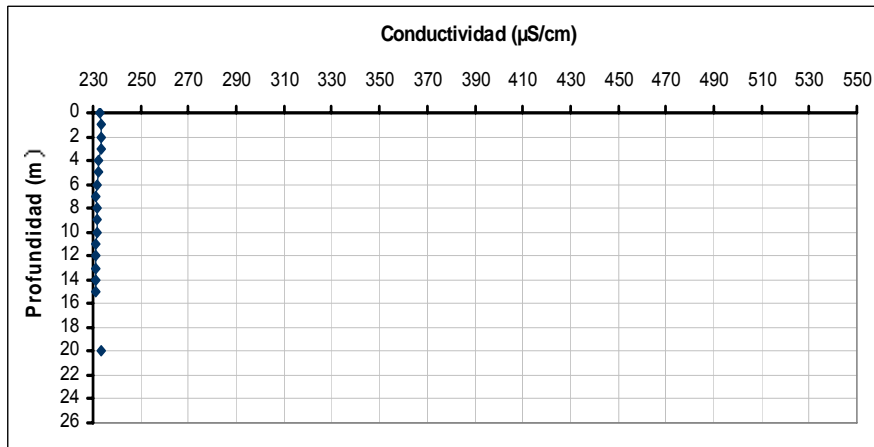


Figura 18. Variación de la conductividad del agua con la profundidad, embalse Guanapito.

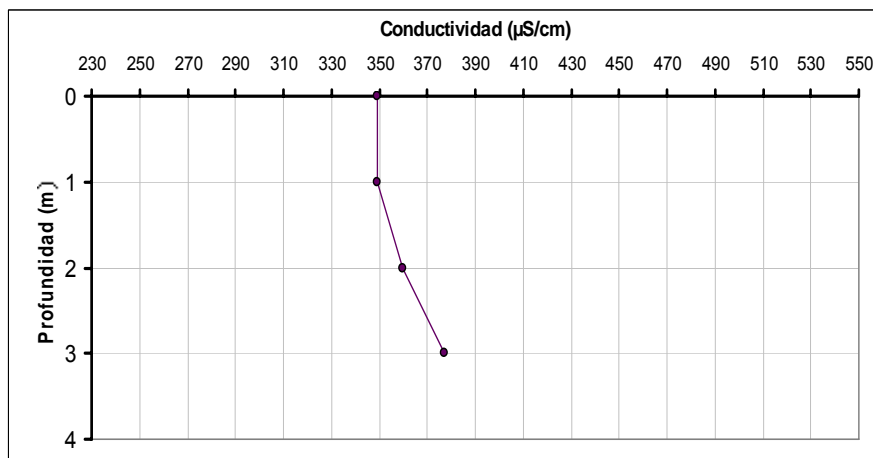


Figura 19. Variación de la conductividad del agua con la profundidad, Lago del Círculo Militar.



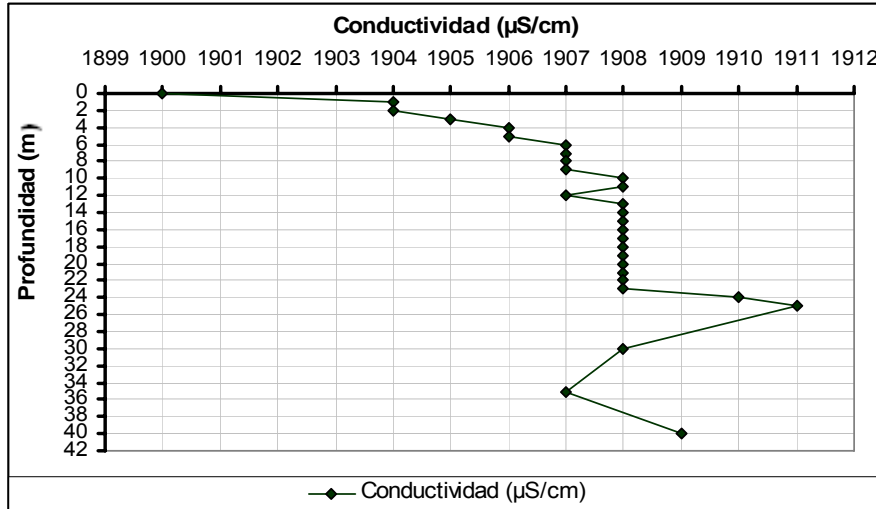


Figura 20. Variación de la conductividad del agua con la profundidad, Lago de Valencia. La escala es diferente a la presentada para los otros cuerpos de agua.

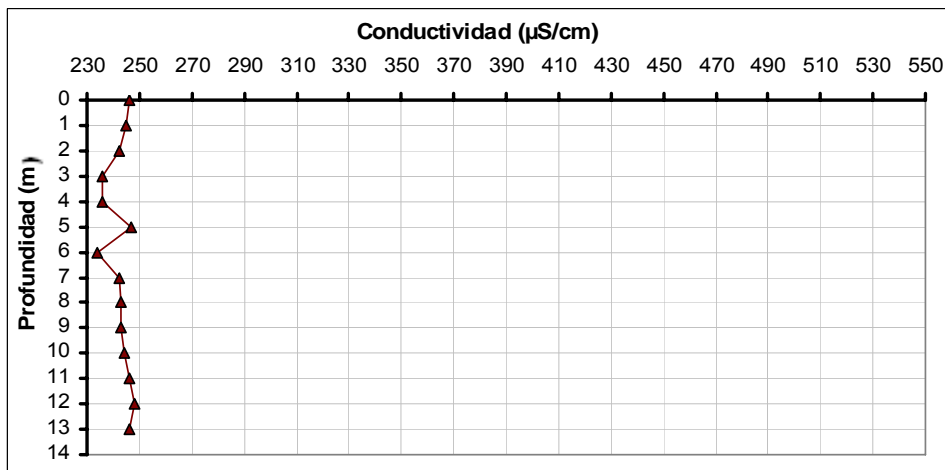


Figura 21. Variación de la conductividad del agua con la profundidad, embalse Tierra Blanca.

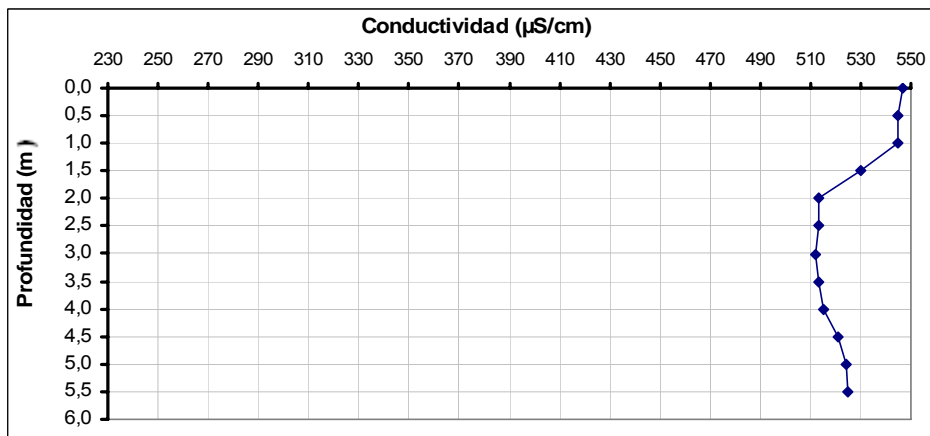


Figura 22. Variación de la conductividad del agua con la profundidad, embalse La Mariposa.

### 1.3 Oxígeno disuelto

El perfil de oxígeno disuelto en la columna de agua en los seis ambientes estudiados, se muestra en la figura 23. La tendencia general registrada fue la disminución de la concentración de oxígeno a medida que aumentó la profundidad. Los valores menores fueron alcanzados en el embalse La Perea y el Lago de Valencia. Las concentraciones máximas se observaron en algunos ambientes entre los 0 y 3 m. Es de hacer notar que en los embalses Guanapito y La Mariposa y en el Lago del Círculo Militar no se registraron condiciones de hipoxia/anoxia y fue en este último donde se obtuvieron los valores mayores.

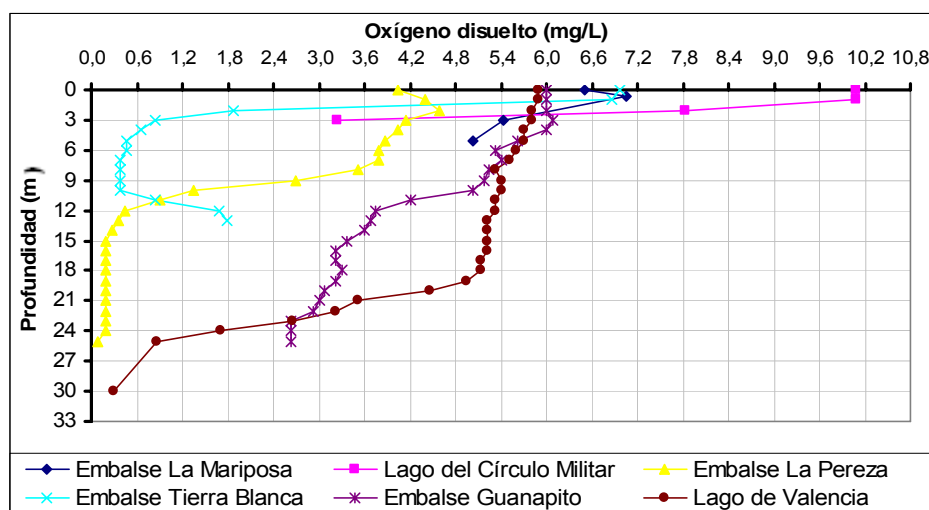


Figura 23. Variación de la concentración de oxígeno disuelto en la columna de agua a medida que aumenta la profundidad, en los seis ambientes estudiados.

El perfil de oxígeno disuelto en la columna de agua en el embalse La Perea, se muestra en la figura 24. A 2 m de profundidad se alcanzó la concentración máxima de oxígeno disuelto en el agua (4,59 mg/L). Luego, ésta disminuyó gradualmente hasta una profundidad de 8 m (3,51 mg/L), a partir de donde decayó abruptamente hasta valores de 0,18 mg/L. Además, es importante

destacar que a partir de 20 m se percibió olor a sulfuro de hidrógeno, por lo que se registraron condiciones de anoxia en los estratos profundos.

En la figura 25 se presenta la concentración de oxígeno en la columna de agua en el embalse Guanapito. Se observó que ésta fue máxima en la superficie (6 mg/L) con pocas variaciones en los primeros 4 m y luego descendió gradualmente a mayor profundidad, alcanzando los 2,6 mg/L de 23 a 25 m.

Con respecto al Lago del Círculo Militar, el perfil de la concentración de oxígeno disuelto en el agua se puede observar en la figura 26. La concentración de oxígeno fue mayor a 0 y 1 m (10,08 mg/L) y posteriormente descendió gradualmente hasta alcanzar los 3,24 mg/L a 3 m.

El perfil de oxígeno disuelto en el Lago de Valencia se muestra en la figura 27. Se observó una disminución de la concentración de oxígeno a medida que aumentó la profundidad. El valor máximo se registró a 0 y 1 m (5,89 mg/L) y éste descendió gradualmente hasta 0,29 mg/L a 30 m (condiciones de hipoxia).

En la figura 28 se presenta la concentración de oxígeno disuelto en la columna de agua hasta 13 m de profundidad, en el embalse Tierra Blanca. A 0 m de profundidad se registró la mayor concentración de oxígeno (6,96 mg/L). A partir de 1 m ésta descendió abruptamente hasta los 10 m, donde se registró la menor concentración de oxígeno (0,38 mg/L); a partir de los 10 m de profundidad la

concentración de oxígeno aumentó hasta 1,79 mg/L a 13 m. Es de hacer notar que a partir de 8 m se percibió olor a sulfuro de hidrógeno, por lo que hubo condiciones de anoxia. El aumento de la concentración de oxígeno en los estratos profundos indicaría la presencia de corrientes de densidad en este embalse.

El perfil de oxígeno disuelto en el agua en el embalse La Mariposa se presenta en la figura 29. La máxima concentración de oxígeno disuelto se registró a 0,6 m de profundidad (7 mg/L), y ésta descendió hasta alcanzar la mínima concentración a 5 m de profundidad (5 mg/L).

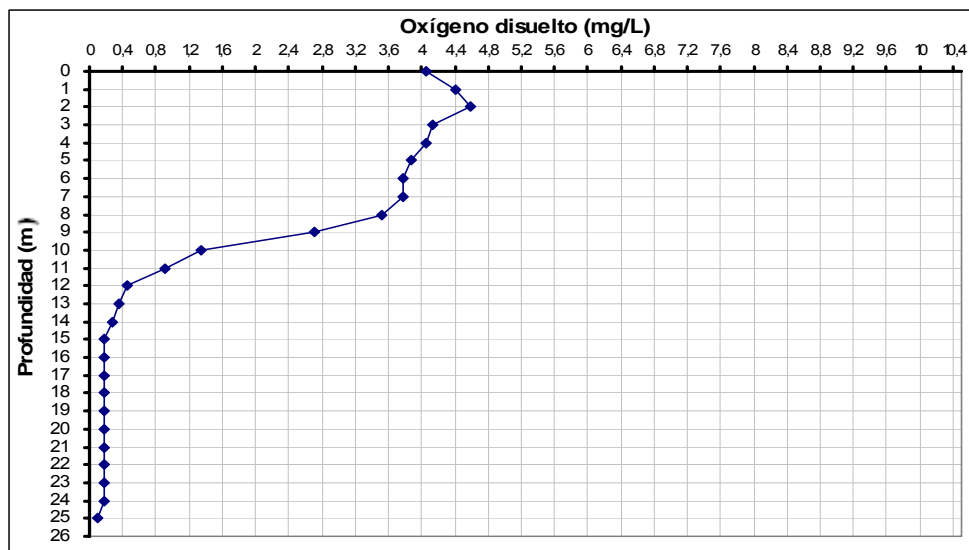


Figura 24. Variación de la concentración de oxígeno disuelto en la columna de agua, embalse La Pereza.

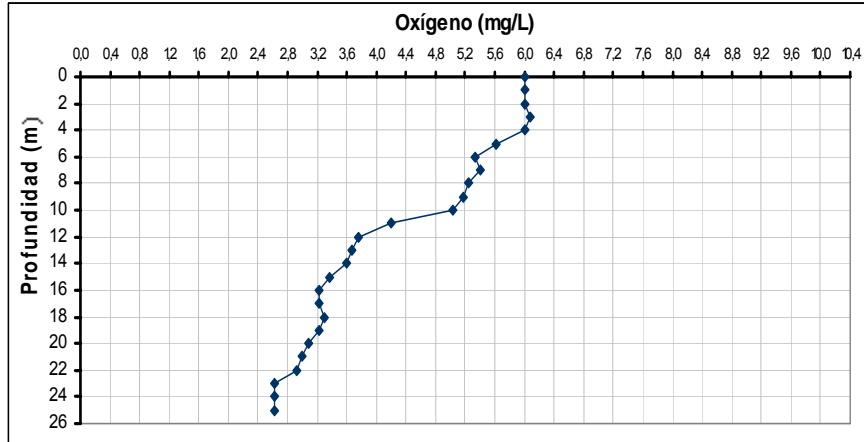


Figura 25. Variación de la concentración de oxígeno disuelto en la columna de agua, embalse Guanapito.

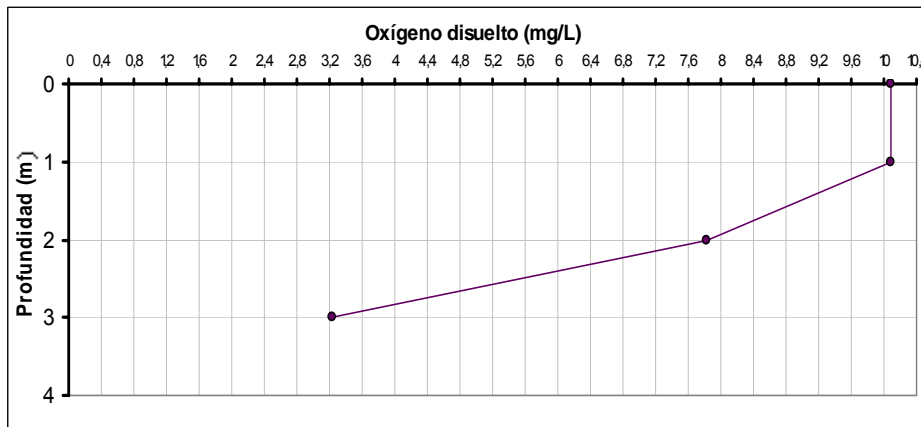


Figura 26. Variación de la concentración de oxígeno disuelto en la columna de agua, Lago del Círculo Militar.

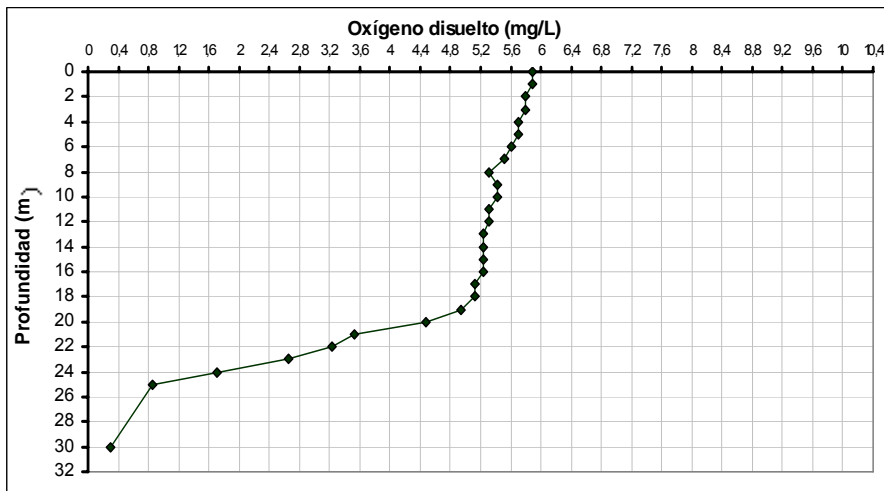


Figura 27. Variación de la concentración de oxígeno disuelto en la columna de agua, Lago de Valencia.

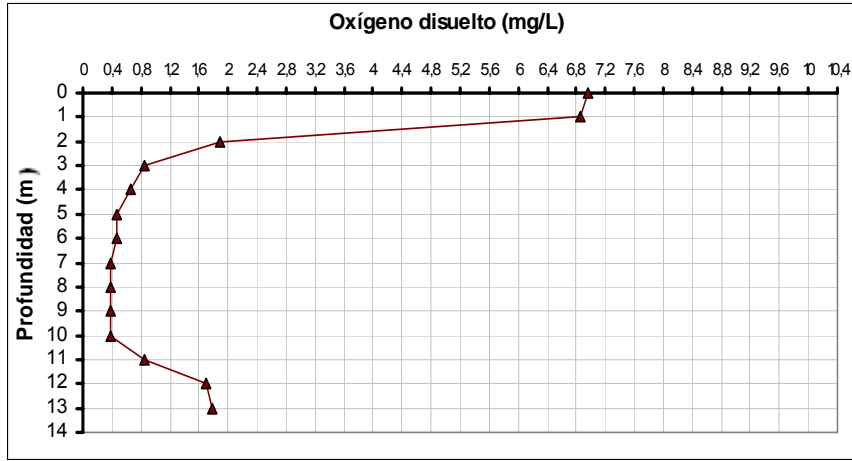


Figura 28. Variación de la concentración de oxígeno disuelto en la columna de agua, embalse Tierra Blanca.

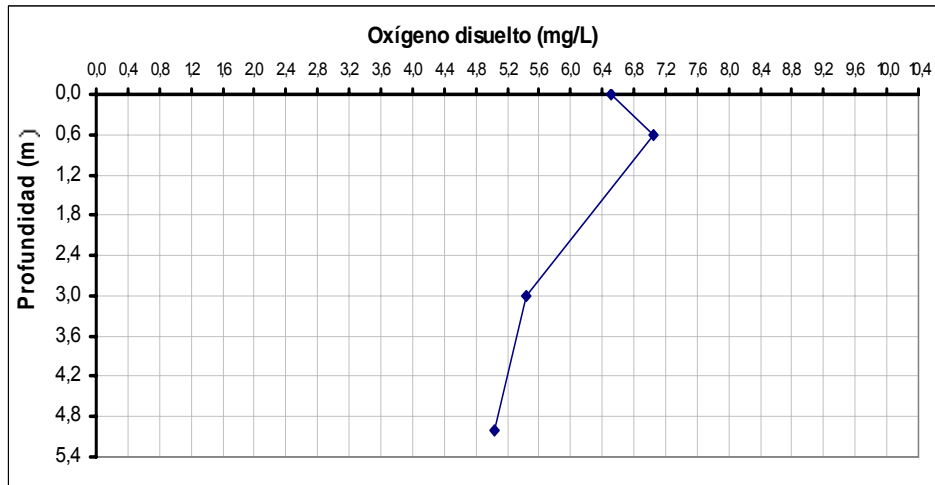


Figura 29. Variación de la concentración de oxígeno disuelto en la columna de agua, embalse La Mariposa.

### 1.4 pH

La variación del pH del agua con la profundidad en los seis cuerpos bajo estudio se muestra en la figura 30. Se puede identificar que el patrón general es la disminución del pH a medida que aumentó la profundidad. En el embalse Guanapito se registró el cambio más notorio y el menor en el embalse La Mariposa.

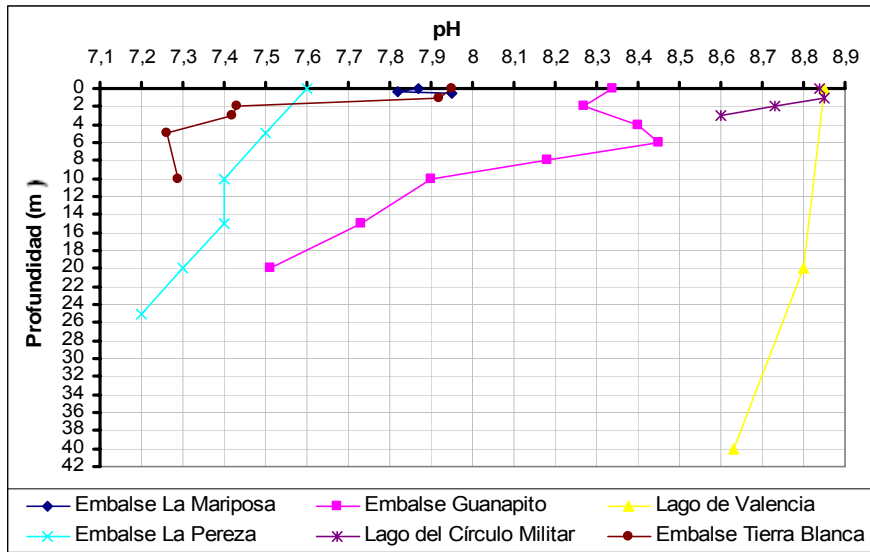


Figura 30. Variación del pH del agua con la profundidad en los seis ambientes bajo estudio.

La variación del pH del agua con la profundidad en el embalse La Pereza se muestra en la figura 31. El pH del agua fue en la superficie de 7,60 y a 25 m de profundidad de 7,20.

El perfil de pH con la profundidad en el embalse Guanapito, se presenta en la figura 32. El mayor valor de pH se registró a 6 m (8,45) y luego disminuyó gradualmente hasta 7,50 a 20 m.

La variación del pH del agua respecto a la profundidad en el Lago del Círculo Militar se muestra en la figura 33. El valor mayor de pH se registró a 1 m de profundidad (8,85) mientras que 8,60 fue el valor menor registrado (3 m).

Los valores de pH a lo largo de la columna de agua en el Lago de Valencia se muestran en la figura 34. Se registró poca variación de pH desde la superficie (8,85) hasta el fondo (8,63).

La figura 35 muestra el perfil de pH del agua con la profundidad en el embalse Tierra Blanca. El valor mayor registrado de pH, que correspondió al de la superficie, fue de 7,95 y el menor fue de 7,26 a 5 m. A 10 m el pH fue de 7,29.

El perfil de pH del embalse La Mariposa se muestra en la figura 36. Se notaron pocas variaciones entre la superficie y 0,6 m, registrándose a esta última profundidad el valor mayor (7,95). El valor mínimo se registró a 0,3 m (7,82).

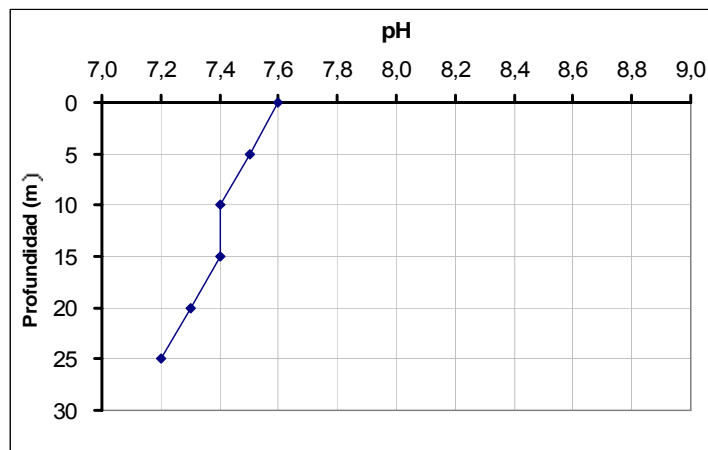


Figura 31. Variación del pH en la columna de agua, embalse La Perezta.

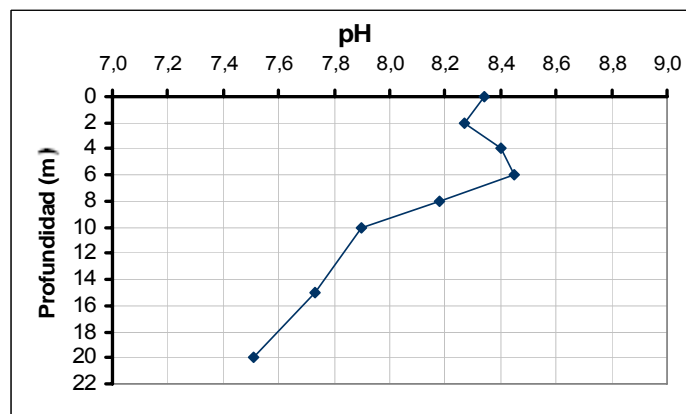


Figura 32. Variación del pH en la columna de agua, embalse Guanapito.



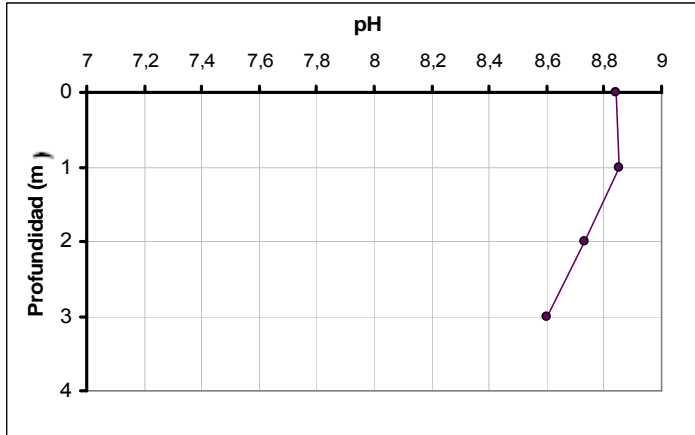


Figura 33. Variación del pH en la columna de agua, Lago del Círculo Militar.

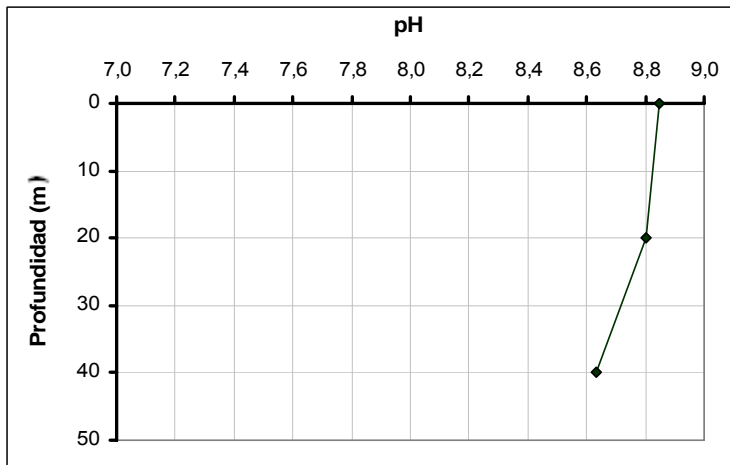


Figura 34. Variación del pH en la columna de agua, Lago de Valencia.

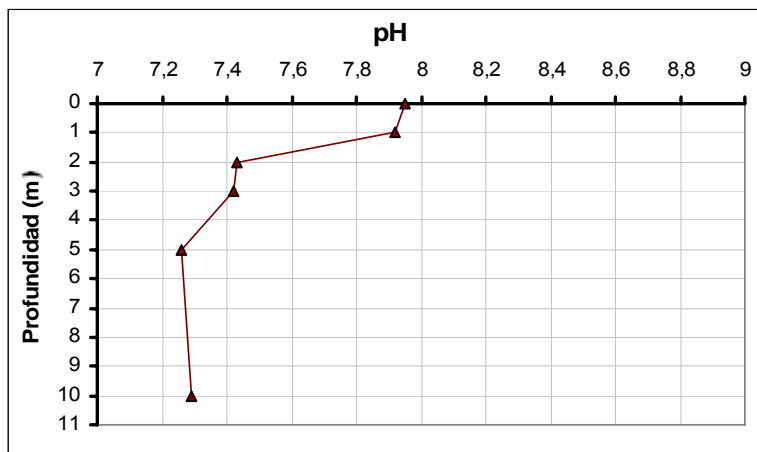


Figura 35. Variación del pH en la columna de agua, embalse Tierra Blanca.

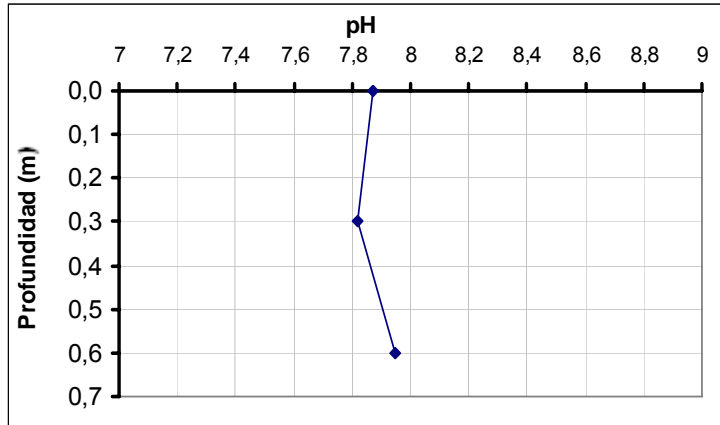


Figura 36. Variación del pH en la columna de agua, embalse La Mariposa.

## 2. Biomasa del fitoplancton.

En la tabla 10 se resumen las medias y las desviaciones estándar de la concentración de clorofila-a para la columna de agua en los seis ambientes estudiados. Se observa que en el Lago del Círculo Militar se registró la mayor biomasa de fitoplancton y en el embalse Guanapito la menor.

Tabla 10. Media de la concentración de clorofila-a para la zona eufótica en los seis ambientes estudiados ( $\mu\text{g/L}$ ).

Cuerpos de agua	E. La Perea	E. Guanapito	Lago Círculo Militar	Lago de Valencia	E. Tierra Blanca	E. La Mariposa
<b>Clorofila-a</b>	15,1 $\pm$ 3,57	0	21,17 $\pm$ 15,47	14,65 $\pm$ 1,22	7,85 $\pm$ 2,09	2,37 $\pm$ 2,51

E.: embalse. Se reportan los valores medios  $\pm$  la desviación estándar.

La figura 37 muestra la biomasa de fitoplancton presente en el embalse La Perea para el día del muestreo, estimada mediante la concentración de clorofila-a. El valor mayor se registró a 3 m de profundidad (20,13  $\mu\text{g/L}$ ), y la menor concentración de clorofila-a (11,84  $\mu\text{g/L}$ ) se registró a 2 m de profundidad.

La biomasa del fitoplancton en el embalse Guanapito a la profundidad de 0 m, estuvo por debajo del método de detección del procedimiento aplicado. Para los efectos del estudio, por lo tanto, se considerará como 0  $\mu\text{g/L}$ .

La biomasa del fitoplancton presente en el Lago del Círculo Militar para el estudio realizado y determinada como la concentración de clorofila-a, se puede observar en la figura 38. La concentración de clorofila-a fue mínima a 1 m de profundidad (6,81  $\mu\text{g/L}$ ) y fue máxima a 3 m (39  $\mu\text{g/L}$ ).

La figura 39 muestra la biomasa de fitoplancton en el Lago de Valencia para el día del muestreo. A 0 y 2 m la concentración de clorofila-a fue de 13,6  $\mu\text{g/L}$ , alcanzando a 4 m la mayor concentración (16  $\mu\text{g/L}$ ), desde donde disminuyó nuevamente.

El perfil de biomasa del fitoplancton con respecto a la profundidad en el embalse Tierra Blanca, estimada mediante la concentración de clorofila-a, se puede observar en la figura 40. La biomasa del fitoplancton fue mínima a 1 m de profundidad (5,62  $\mu\text{g/L}$ ), a partir de donde aumentó paulatinamente hasta alcanzar su valor máximo a los 3 m (10,66  $\mu\text{g/L}$ ). En la superficie fue de 7,4  $\mu\text{g/L}$ .

La figura 41 muestra la biomasa de fitoplancton presente en el embalse La Mariposa para el día del muestreo. La tendencia observada fue de disminuir la concentración de clorofila-a a medida que aumentó la profundidad. El mayor valor se registró a 0 m (4,14  $\mu\text{g/L}$ ) y el menor a 0,3 m (0,59  $\mu\text{g/L}$ ).

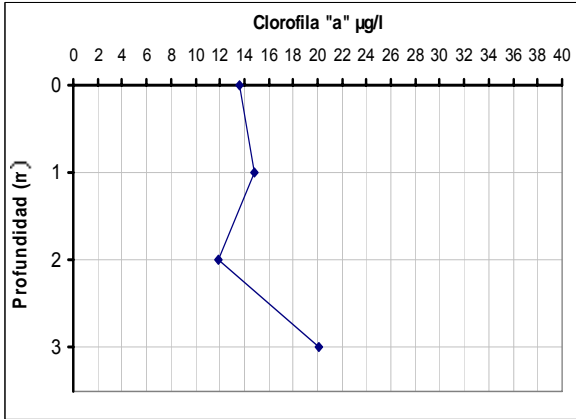


Figura 37. Biomasa del fitoplancton en el embalse La Perezza, (concentración de clorofila-a).

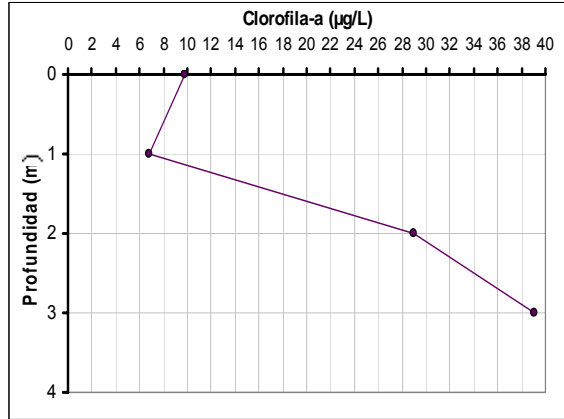


Figura 38. Biomasa del fitoplancton en el Lago del Círculo Militar, (concentración de clorofila-a).

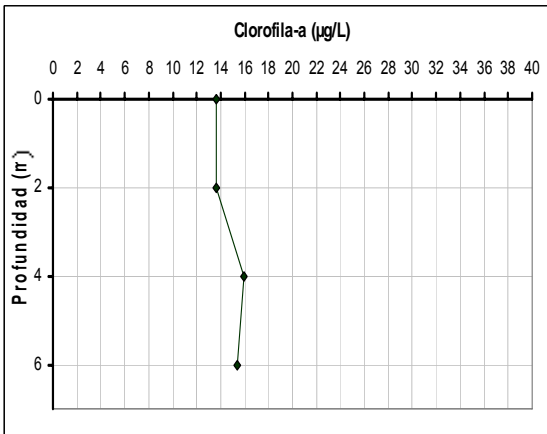


Figura 39. Biomasa del fitoplancton del Lago de Valencia (concentración de clorofila-a).

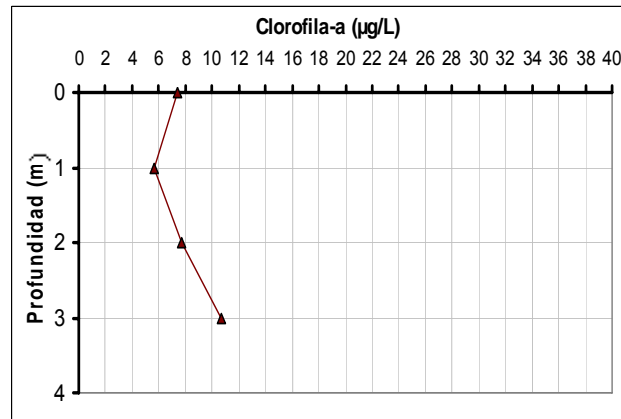


Figura 40. Biomasa del fitoplancton del embalse Tierra Blanca, (concentración de clorofila-a).

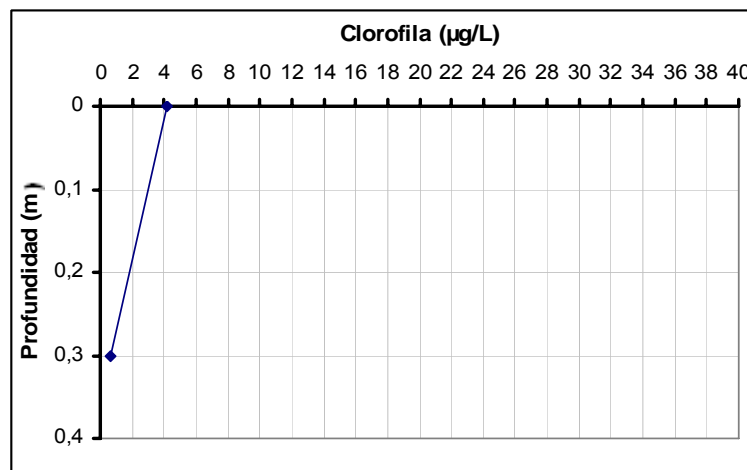


Figura 41. Biomasa del fitoplancton del embalse La Mariposa, (concentración de clorofila-a).

### 3. Zooplancton.

#### 3.1. Abundancia de los grupos registrados.

En la tabla 11 se presentan las abundancias medias de los distintos grupos del zooplancton en los 6 cuerpos de agua bajo estudio y en la figura 42 el porcentaje que cada grupo aportó al total en cada cuerpo de agua.

Los embalses Guanapito y La Mariposa representaron los menores valores de abundancia de zooplancton, seguidos por el embalse La Pereza, el Lago del Círculo Militar, el embalse Tierra Blanca y finalmente, en el Lago de Valencia, se registraron las mayores abundancias medias.

Tabla 11. Valores medios y totales de la abundancia en la columna de agua de los distintos grupos del zooplancton identificados en los seis ambientes estudiados.

Cuerpos de agua	E. La Pereza	E. Guanapito	Lago del Círculo Militar	Lago de Valencia	E. Tierra Blanca	E. La Mariposa
Abundancia						
Media.						
Grupos del zooplancton (ind./L)						
<b>Abundancia media total (ind./L)</b>	<b>30,0</b>	<b>8,0</b>	<b>58,8</b>	<b>131,4</b>	<b>80,6</b>	<b>16,2</b>

E.: embalse. Se destacan los grupos con mayor abundancia media y la abundancia media total para cada cuerpo de agua. Se reportan los valores medios  $\pm$  la desviación estándar.

Los copépodos fueron el grupo dominante, ya que estuvieron presentes en todos los cuerpos de agua representando como mínimo un 20% del zooplancton (embalse Tierra Blanca), hasta 73,58% (embalse La Pereza). No obstante, su mayor abundancia media fue en el Lago de Valencia (70 ind./L).

Los rotíferos, también estuvieron presentes en todos los cuerpos de agua, representando desde menos del 10% (Lago de Valencia) hasta 57,30% (Lago del Círculo Militar) del zooplancton total. Su mayor abundancia media se registró en el embalse Tierra Blanca (35 ind./L).

En cuanto a los cladóceros, estos estuvieron presentes en bajas proporciones relativas, siendo la menor de ellas la correspondiente al Lago del Círculo Militar. La mayor abundancia media de los individuos de este grupo, se registró en el Lago de Valencia (10 ind./L). En el embalse La Mariposa, los cladóceros representaron 26,47% del zooplancton total.

No se registraron protozoarios ni en el embalse Tierra Blanca ni en el embalse La Mariposa. Su mayor abundancia media fue en el Lago de Valencia (44 ind./L), donde ocuparon el segundo mayor porcentaje del zooplancton total (33,72%).

Por su parte, se registraron ostrácodos en el Lago del Círculo Militar, y en los embalses La Mariposa y Tierra Blanca. En este último representaron un alto porcentaje (28,44%) del zooplancton total respecto a los otros dos cuerpos de agua en los que fueron registrados (Lago del Círculo Militar y embalse La Mariposa).

Los individuos del grupo de los dípteros sólo fueron registrados en el Lago del Círculo Militar y en el embalse Tierra Blanca, pero en bajas proporciones en ambos (menos de 1%).

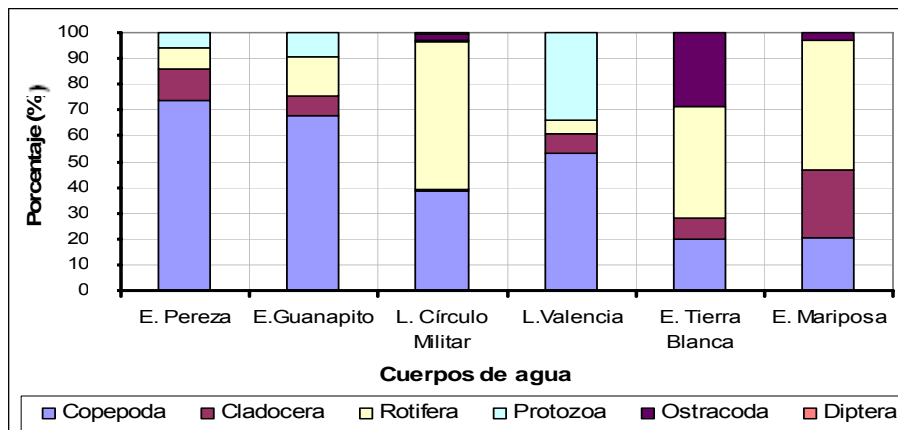


Figura 42. Porcentaje que cada grupo del zooplancton aportó al total en los cuerpos de agua bajo estudio.

La distribución de los grupos del zooplancton en cada cuerpo de agua se describe a continuación:

La figura 43 muestra el porcentaje que representa cada grupo del total de zooplancton en el embalse La Pereza. Los copépodos estuvieron presentes en mayor proporción en todos los intervalos de profundidad, siendo el grupo dominante. Dentro de estos, los copépodos Calanoida fueron los más abundantes.

En lo que respecta a los cladóceros, estos estuvieron presentes en bajas proporciones, excepto en el estrato de 10-8 m, donde se registró un aumento en su abundancia. Los rotíferos, aunque estuvieron presentes en todos los estratos, no superaron el 10% del total. Los protozoarios también estuvieron presentes en bajas proporciones. El valor medio de abundancia para la columna de agua fue de 30 ind./L  $\pm$  27,09. En proporciones, los copépodos representaron 73,58%, los cladóceros 12,54%, los rotíferos 8,18% y los protozoarios 5,70%.

La figura 44 presenta el porcentaje que cada grupo de zooplancton aportó al total en el embalse Guanapito. Los copépodos fueron dominantes y estuvieron presentes en todos los intervalos de profundidad. Dentro de estos, los Calanoida fueron los más abundantes. No obstante, su máxima abundancia fue de 10 individuos/L de 10-8 m de profundidad. En general, la abundancia del zooplancton en este embalse, fue baja.

Los cladóceros solamente se registraron en el estrato de 10-8 m, representando un poco más del 20% del zooplancton total en ese estrato.

Los rotíferos estuvieron presentes en casi todos los intervalos de profundidad, menos en el de 12-10 m. Su mayor abundancia fue registrada en el estrato de 10-8 m (3 individuos/L).

Sólo se encontraron protozoarios en los 3 primeros estratos. Su abundancia máxima fue de 3 individuos/L en el estrato de 4-2 m.

La abundancia media para la columna de agua fue de 8 ind./L  $\pm$  4,99. En proporciones, los copépodos representaron 67,58%, los rotíferos 15,11%, los protozoarios 9,59% y los cladóceros 7,72%.

La figura 45 muestra las proporciones de los grupos del zooplancton en los distintos estratos de la columna de agua en el Lago del Círculo Militar. Sólo de 1-0 m los copépodos presentaron la mayor abundancia de organismos del zooplancton (53 individuos/L). Dentro de estos, los Cyclopoida fueron los predominantes.

Por su parte, los rotíferos fueron el grupo con mayor abundancia de 2-1 m y de 3-2 m (19 y 32 individuos/L, respectivamente). No obstante, los copépodos también estuvieron presentes en los demás intervalos, pero con abundancias menores.

El resto de los grupos, Cladocera, Ostracoda, Protozoa y Diptera, aunque fueron encontrados en algunos intervalos de profundidad, representaron como máximo el 1% del total de la abundancia del zooplancton.

La abundancia media para la columna de agua fue de 59 ind./L  $\pm$  45,66. En proporciones, los rotíferos representaron 57,3%, los copépodos 38,38%, los



ostrácodos 2,16%, los protozoarios 1,08%, y los cladóceros 0,54% al igual que los dípteros.

La figura 46 muestra el porcentaje que representa cada grupo del total de zooplancton en el Lago de Valencia. Los copépodos fueron el grupo con mayor abundancia en la mayoría de los estratos, llegando a representar hasta el 60% de la comunidad zooplanctónica. Le siguieron en abundancia los protozoarios, los cladóceros y luego los rotíferos. Los copépodos Cyclopoida fueron los más abundantes.

La abundancia de los rotíferos fue relativamente baja en todos los estratos. De la misma forma, los cladóceros no superaron el 10% del zooplancton total. Respecto a su abundancia, la mayor fue de 18 individuos/L en el estrato de 2-0 m.

La abundancia media para la columna de agua fue de 131 ind./L  $\pm$  75,37. En proporciones, los copépodos representaron 53,20%, los protozoarios 33,72%, los cladóceros 7,56% y los rotíferos 5,52%.

En la figura 47 se refleja el porcentaje que cada grupo de zooplancton aportó al total en el embalse Tierra Blanca.

En dicho cuerpo de agua, el grupo dominante fue el de los rotíferos. Estos estuvieron presentes en todos los intervalos de profundidad. Su máxima abundancia se registró de 2-0 m con 100 individuos/L. El segundo grupo con mayor abundancia y presente en todos los intervalos de profundidad fue el de los ostrácodos, registrándose su máxima abundancia de 2-0 m (43 individuos/L).

Los copépodos, aunque estuvieron presentes en todos los estratos, representaron porcentajes bajos del zooplancton total. El máximo fue 30% de 2-0

m. Lo mismo sucedió para los cladóceros, pero este grupo no superó el 11%. El valor medio de abundancia para la columna de agua fue de 81 ind./L  $\pm$  93,28 . En proporciones, los rotíferos representaron 43,36%, los ostrácodos 28,44%, los copépodos 20,14%, los cladóceros 7,82% y los dípteros 0,24%.

La figura 48 muestra el porcentaje que representa cada grupo del total de zooplancton en el embalse La Mariposa. De 2-0 m los cladóceros fueron el grupo abundante (6 individuos/L), conformando un 75% del zooplancton presente en este estrato. Su abundancia disminuyó prácticamente a la mitad a mayor profundidad (4-2 m) y los copépodos Cyclopoida aumentaron sus densidades (7 individuos/L). Los cladóceros y los copépodos Cyclopoida representaron el 38% del zooplancton de 4-2 m. El 58% estuvo representado por los rotíferos y el 4% restante por los ostrácodos.

El valor medio de abundancia para la columna de agua fue de 16 ind./L  $\pm$  12,15. En proporciones, los rotíferos representaron 50%, los cladóceros 26,47%, los copépodos 20,59% y los ostrácodos 2,94%.

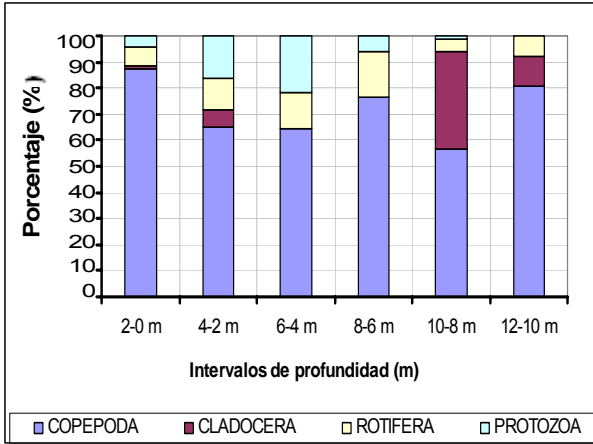


Figura 43. Porcentaje que cada grupo de zooplancton en el embalse La Perezza aporta al total.

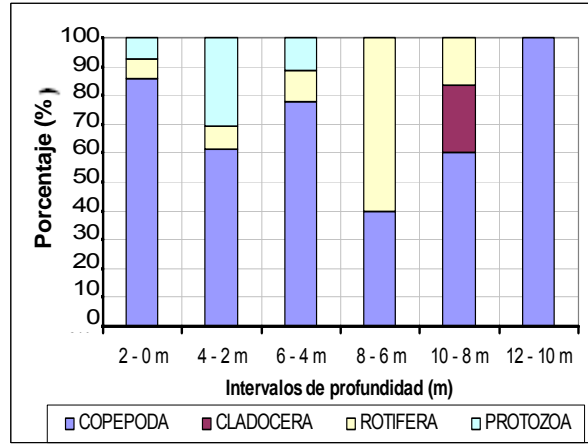


Figura 44. Porcentaje que cada grupo de zooplancton en el embalse Guanapito aporta al total.

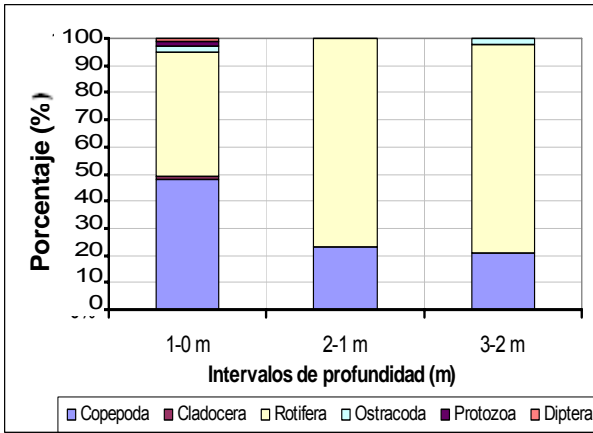


Figura 45. Porcentaje que cada grupo de zooplancton en el Lago del Círculo Militar, aporta al total.

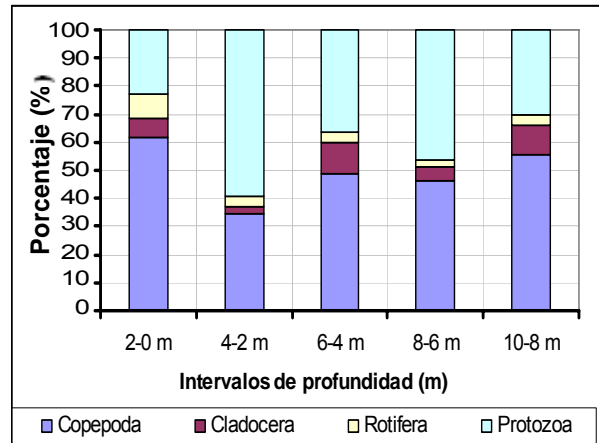


Figura 46. Porcentaje que cada grupo de zooplancton en el Lago de Valencia aporta al total.

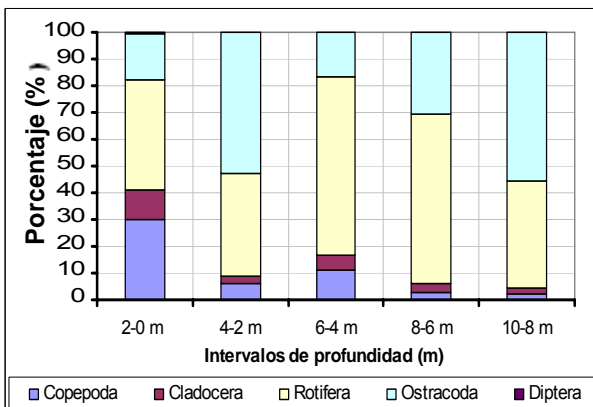


Figura 47. Porcentaje que cada grupo de zooplancton en el embalse Tierra Blanca aporta al total.

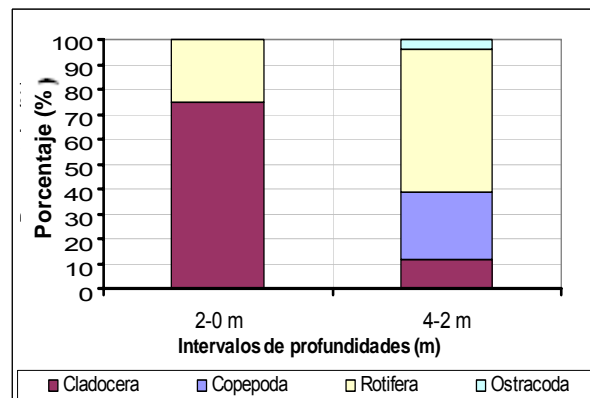


Figura 48. Porcentaje que cada grupo de zooplancton en el embalse La Mariposa aporta al total.

### 3.2. Abundancia de los copépodos por estadio.

En la tabla 12 se presentan las medias de las abundancias totales de los copépodos Calanoida y Cyclopoida en sus distintos estadios, en los 6 cuerpos de agua bajo estudio.

No se registraron copépodos Calanoida en los embalses Tierra Blanca ni La Mariposa. Tampoco fueron registrados copépodos Cyclopoida adultos en el Lago del Círculo Militar ni en el embalse La Mariposa. Se resalta en la tabla 12 el estadio más abundante en la columna de agua del grupo de copépodo respectivo, en cada ambiente estudiado. No obstante, los nauplios de Calanoida y de Cyclopoida fueron dominantes en la mayoría de los cuerpos de agua.

Tabla 12. Medias de las abundancias totales en la columna de agua de los copépodos Calanoida y Cyclopoida en sus distintos estadios, registrados en los seis ambientes estudiados.

Grupos	Estadios	E. La Pereza	E. Guanapito	Lago Círculo Militar	Lago de Valencia	E. Tierra Blanca	E. La Mariposa
<b>Calanoida</b>	Adulto	7,0 ± 10,5	0,5 ± 0,8	1,0 ± 1,7	1,9 ± 2,4	-	-
	Copepodito	0,9 ± 0,6	0,7 ± 1,0	2,6 ± 2,9	3,1 ± 2,3	-	-
	Nauplio	3,0 ± 1,2	2,3 ± 2,4	5,4 ± 6,1	9,0 ± 8,6	-	-
<b>Cyclopoida</b>	Adulto	1,4 ± 2,1	0,4 ± 0,6	-	2,1 ± 1,4	1,7 ± 2,3	-
	Copepodito	5,2 ± 6,0	0,4 ± 0,4	1,3 ± 1,5	10,5 ± 7,6	4,6 ± 9,7	1,9 ± 2,7
	Nauplio	4,5 ± 4,9	1,2 ± 0,7	12,4 ± 14,9	43,4 ± 36,6	9,9 ± 20,1	1,4 ± 2,0

E.: embalse. Se destacan las mayores abundancias medias de los estadios para cada cuerpo de agua. Se reportan los valores medios ± la desviación estándar.

En las figuras 49 y 50 se presentan las proporciones de los distintos estadios de los copépodos Calanoida y Cyclopoida, respectivamente, en el embalse La Pereza.

La abundancia de los Calanoida en todos sus estadios fue máxima de 2-0 m. Los adultos fueron los dominantes y representaron la mayor densidad (28

ind./L) y proporción (80%) de 2-0 m. En los intervalos de 4-2 m y de 10-8 m su abundancia superó el 50% del total de individuos de este grupo, pero en los demás estratos en que su densidad fue baja, la de los nauplios superó el 50%.

La abundancia máxima de los copepoditos fue de 2 ind./L de 2-0 m. Estos no se encontraron en el intervalo de 12-10 m, presentando en general las menores abundancias en la columna de agua .

En cuanto a los Cyclopoida, la abundancia máxima de los copepoditos y nauplios se registró de 2-0 m y fue de 17 y 14 ind./L, respectivamente. Los copepoditos estuvieron presentes en todos los intervalos de profundidad, exceptuando de 6-4 m, donde los nauplios representaron el 100% de la abundancia. No obstante, los copepoditos fueron los dominantes en la columna de agua, mientras que la menor densidad fue la de los adultos que no superaron el 35% del total. Estos no se registraron a 2-0 m ni a 6-4 m.

Las proporciones de los diferentes estadios de los copépodos Calanoida y Cyclopoida en el embalse Guanapito se presentan en las figuras 51 y 52, respectivamente.

Los nauplios de Calanoida fueron dominantes en la columna de agua y su mayor abundancia fue de 10-8 m (6 ind./L). Los adultos representaron las menores densidades y sólo estuvieron presentes en dos estratos de la columna de agua (2-0 m y 10-8 m) sin superar el 25% del total. De 6-4 m la abundancia de los copepoditos fue máxima (2 ind./L), superando la de los nauplios que, a esta profundidad, fue mínima (no más de 25%). Es de hacer notar que en los estratos 8-6 m y 12-10 no se registraron copépodos Calanoida.

Los nauplios de Cyclopoida también fueron dominantes en la columna de agua. Su mayor abundancia fue de 2 ind./L de 2-0 m de profundidad. En los dos primeros intervalos de profundidad, representaron el 100% de los Cyclopoida (2-0 m y 4-2 m) y desde 6-4 m hasta 10-8 m alcanzaron el 50%.

Los adultos sólo se registraron en los dos últimos intervalos de profundidad muestreados (10-8 m y 12-10 m), representando más del 50% de los Cyclopoida totales y estos y los copepoditos presentaron abundancias medias casi iguales. Los copepoditos sólo estuvieron presentes en tres estratos y no superaron el 50% de los Cyclopoida.

Las proporciones de los estadios de los copépodos en el Lago del Círculo Militar se muestran en las figuras 53 (Calanoida) y 54 (Cyclopoida).

La mayor abundancia de los Calanoida se registró en el estrato de 1-0 m. Es de hacer notar que los adultos sólo estuvieron presentes en este intervalo y con la menor abundancia.

Por su parte, los nauplios fueron dominantes en la columna de agua. Su mayor abundancia fue de 12 ind./L de 1-0 m. De 2-1 m representaron el 100% de los Calanoida y de 3-2 m el 50%. A esta profundidad, el otro 50% estuvo representado por los copepoditos. No obstante, su mayor abundancia fue de 6 ind./L en el intervalo de 1-0 m.

No se registraron Cyclopoida adultos. Los nauplios fueron dominantes, estando presentes en todos los intervalos de profundidad muestreados en la columna de agua. Su mayor abundancia se registró de 1-0 m (30 ind./L).

Los copepoditos sólo se registraron de 1-0 m, donde alcanzaron su mayor abundancia (3 ind./L), y de 2-1 m, pero no superaron el 25% del total.

En las figuras 55 y 56 se presenta la proporción de copépodos (Calanoida y Cyclopoida) en los estadios adulto, copepodito y nauplio, en el Lago de Valencia.

Los nauplios de Calanoida fueron dominantes en la columna de agua. Su mayor abundancia se registró de 2-0 m (24 ind./L) y la menor de 4-2 m (3 ind./L) donde igualmente representaron más del 70% del total.

Los copepoditos, al igual que los nauplios, estuvieron presentes en todos los intervalos de profundidad, pero su abundancia no superó el 30% del total de los individuos de este grupo. Su mayor abundancia (7 ind./L) y la de los adultos (6 ind./L), fue registrada en el estrato de 10-8 m. Cabe destacar que no se registraron adultos Calanoida en los dos primeros estratos muestreados de la columna de agua (2-0 m y de 4-2 m). En el estrato de 4-2 m se registraron las menores abundancias de los copepoditos y nauplios.

Los nauplios de Cyclopoida fueron dominantes en la columna de agua. Su mayor abundancia (107 ind./L) y la de los copepoditos (22 ind./L) fue registrada en el estrato de 2-0 m. Ambos estadios estuvieron presentes en todos los intervalos de profundidad, pero sólo los nauplios superaron el 65% de los Cyclopoida totales en todos los estratos. Los copepoditos sólo alcanzaron un poco más del 20%.

Los adultos presentaron las menores densidades. Sus mayores abundancias se detectaron en el estrato de 8-6 m (4 ind./L). Es de hacer notar que en el intervalo de 4-2 m se registraron las menores abundancias en los tres estadios, adultos 0 ind./L, copepoditos 4 ind./L y nauplios 18 ind./L.

Las proporciones de los diferentes estadios de los copépodos Cyclopoida en el embalse Tierra Blanca se muestran en la figura 57.

La abundancia de los Cyclopoida en todos sus estadios fue máxima de 2-0 m: los adultos 6 ind./L, los copepoditos 22 ind./L y los nauplios 46 ind./L. Estos últimos fueron dominantes en la columna de agua, a pesar de que no fueron registrados en el intervalo de 10-8 m, donde los adultos representaron el 100% del total. Sin embargo, en el estrato de 8-6 m, el 100% estuvo constituido por los nauplios.

Los copepoditos, aunque sólo se registraron en los dos primeros estratos de la columna de agua muestreados (2-0 m y 4-2 m) y no superaron el 30% del total de los individuos de este grupo, fueron la segunda abundancia media más alta. Los mínimos valores de abundancia los representaron los adultos, ya que aunque fueron registrados en todos los estratos, menos en el de 8-6 m, presentaron bajas densidades.

La proporción de los estadios de los copépodos Cyclopoida en el embalse La Mariposa se puede observar en la figura 58. Es importante destacar que de 2-0 m de profundidad no se registraron copépodos Cyclopoida en ninguno de sus estadios y de 4-2 m no se registraron adultos. De esta forma, con base en el estudio realizado, sólo se observaron copepoditos y nauplios, ambos estadios con bajas densidades. Sin embargo, los copepoditos fueron dominantes en la columna de agua (4 ind./L de abundancia total) y constituyeron más del 50% del total.



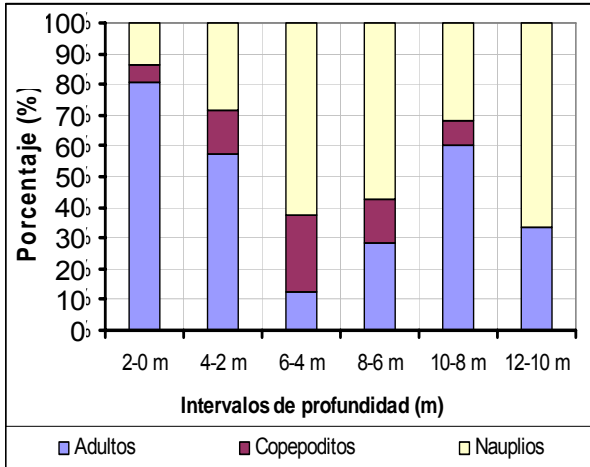


Figura 49. Proporción de los copépodos Calanoida en los distintos estadios en el embalse La Perea.

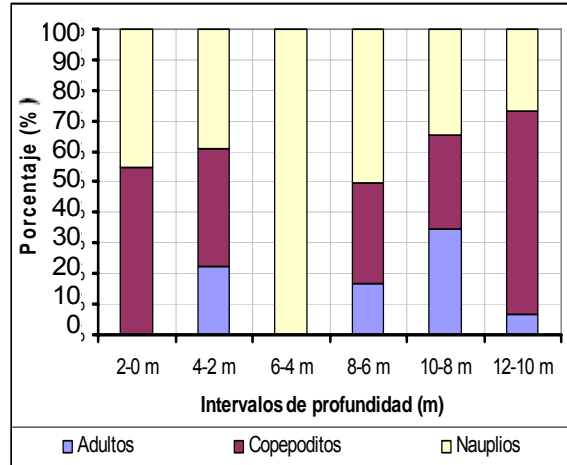


Figura 50. Proporción de los copépodos Cyclopoida en los distintos estadios en el embalse La Perea.

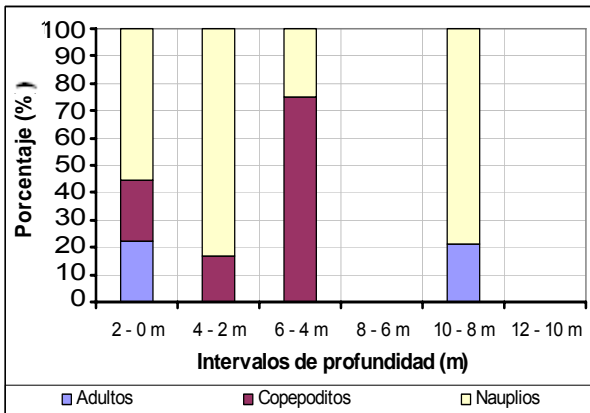


Figura 51. Proporción de los copépodos Calanoida en los distintos estadios en el embalse Guanapito.

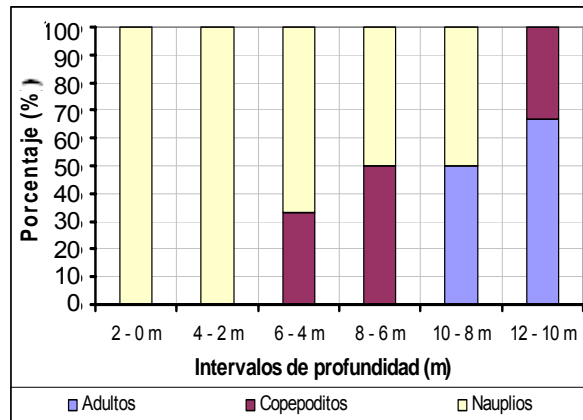


Figura 52. Proporción de los copépodos Cyclopoida en los distintos estadios en el embalse Guanapito.

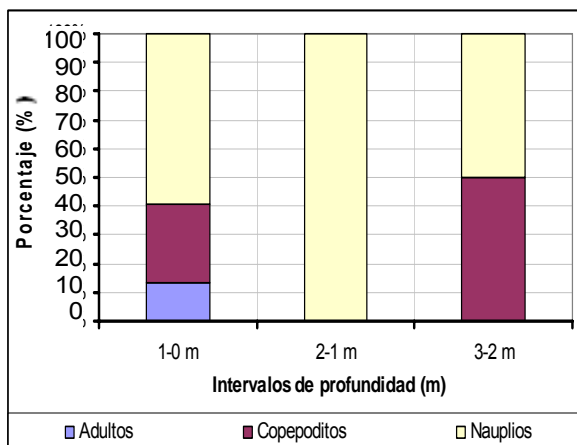


Figura 53. Proporción de los copépodos Calanoida en los distintos estadios en el Lago del Círculo Militar.

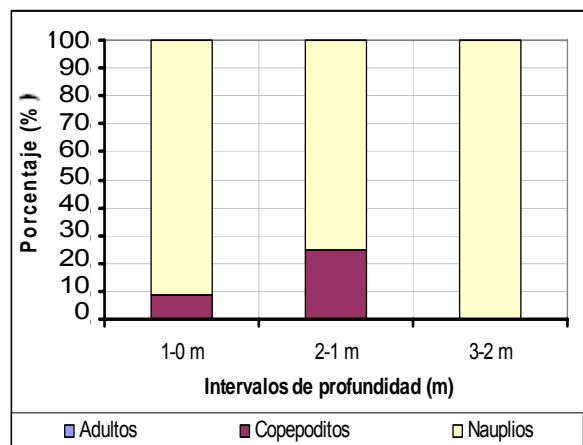


Figura 54. Proporción de los copépodos Cyclopoida en los distintos estadios en el Lago del Círculo Militar.

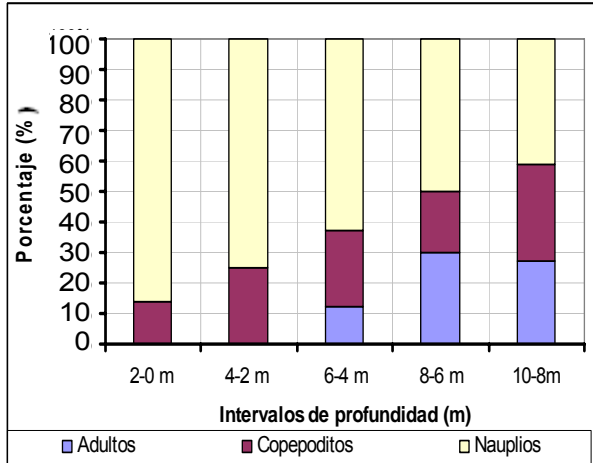


Figura 55. Proporción de los copépodos Calanoida en los distintos estadios en el Lago de Valencia.

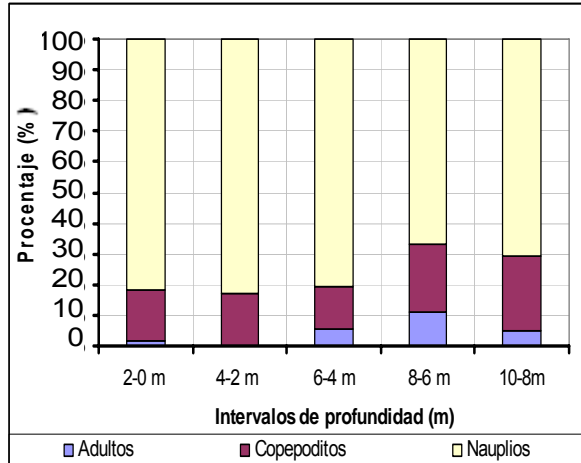


Figura 56. Proporción de los copépodos Cyclopoida en los distintos estadios en el Lago de Valencia.

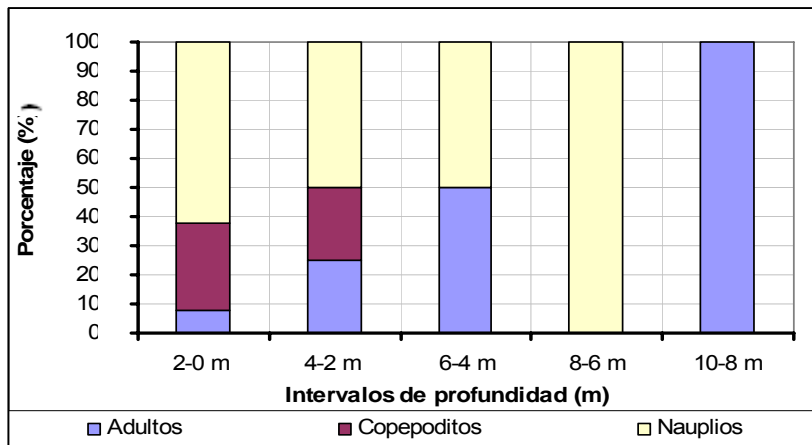


Figura 57. Proporción de los copépodos Cyclopoida en los distintos estadios en el embalse Tierra Blanca.

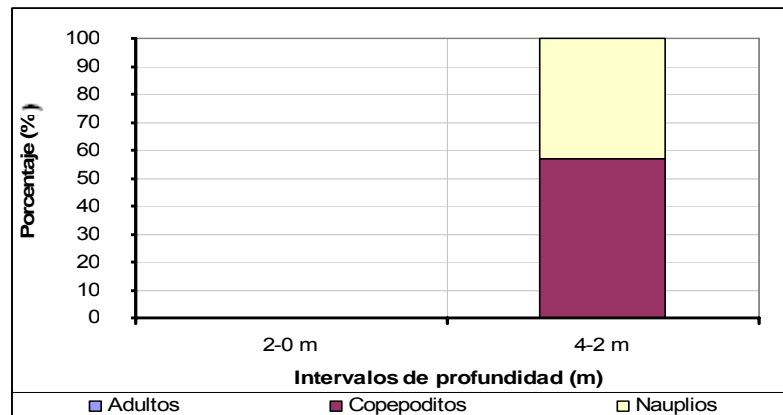


Figura 58. Proporción de los copépodos Cyclopoida en los distintos estadios en el embalse La Mariposa.

### 3.3. Composición zooplanctónica.

Los taxones de los grupos del zooplancton identificados en los seis cuerpos de agua estudiados se presentan en la tabla 13. Se identificaron en total 10 taxones en el embalse La Pereza, 7 en el embalse Guanapito, 13 en el Lago del Círculo Militar, 16 en el Lago de Valencia, 16 en el embalse Tierra Blanca y 12 en el embalse La Mariposa.

Dentro del grupo de los cladóceros, el género más común registrado en los seis ambientes estudiados fue *Diaphanosoma*. En la figura 59 se observan las medias de la abundancia de las especies de este género, registradas en todos los cuerpos de agua, exceptuando en el embalse Guanapito, donde no fueron detectadas en la localidad de muestreo, pero sí en otras localidades del embalse (González, comunicación personal).

En el Lago de Valencia se registró el mayor número de organismos del género *Diaphanosoma*, seguido por los embalses Tierra Blanca y La Pereza, el embalse La Mariposa y finalmente en el Lago del Círculo Militar. Debido a su alta frecuencia de aparición en los ambientes, con individuos de éste género se realizaron los análisis genéticos (*Diaphanosoma birgei*).

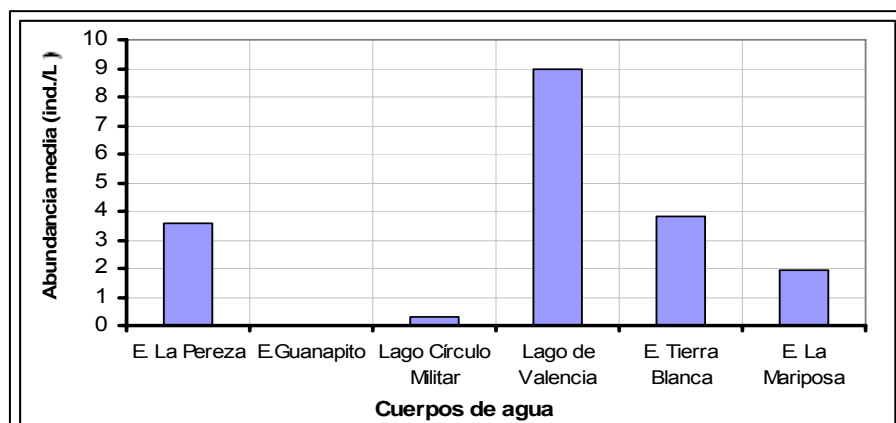


Figura 59. Media de la abundancia total de *Diaphanosoma* sp. en los cuerpos de agua estudiados.

Tabla 13. Taxones identificados en los seis ambientes estudiados.

Grupo del zooplancton	Taxones /Cuerpos de agua	La Perea	Guanapito	Lago Círculo Militar	Lago de Valencia	Tierra Blanca	La Mariposa
<b>Copepoda</b>							
<b>Calanoida</b>	1. <i>Notodiaptomus cearensis</i>	X					
	2. <i>Notodiaptomus deveyorus</i>		X				
	3. <i>Notodiaptomus henseni</i>				X		
	4. <i>Arctodiaptomus</i> (A.)			X			
<b>Copepoda</b>							
<b>Cyclopoida</b>	5. <i>Mesocyclops brasilianus</i>				X		
	6. <i>Mesocyclops</i> sp.			X			X
	7. <i>Thermocyclops decipiens</i>	X	X	X	X?*	X	
	8. <i>Thermocyclops</i> sp.						X
<b>Cladocera</b>	9. <i>Ceriodaphnia cornuta</i>	X	X		X	X	
	10. <i>Diaphanosoma birgei</i>			X	X		
	11. <i>Diaphanosoma spinulosum</i>	X	X			X	X
	12. <i>Iliocryptus</i> sp.					X	
	13. <i>Moina micrura</i>				X	X	X
	14. <i>Moina minuta</i>	X					
<b>Rotifera</b>	15. <i>Asplanchna sieboldi</i>				X		
	16. <i>Asplanchna</i> sp.					X	
	17. <i>Brachionus angularis</i>					X	
	18. <i>Brachionus calyciflorus</i>				X		
	19. <i>Brachionus falcatus</i>	X				X	X
	20. <i>Brachionus havanaensis</i>				X		X
	21. <i>Euchlanis dilatata</i>				X		
	22. <i>Filinia longiseta</i>				X		
	23. <i>Filinia</i> sp.						X
	24. <i>Hexarthra intermedia</i>			X			
	25. <i>Hexarthra</i> sp.					X	
	26. <i>Keratella americana</i>		X	X	X	X	
	27. <i>Keratella cochlearis</i>	X					X
	28. <i>Keratella procurva</i>			X	X	X	X
	29. <i>Keratella tropica</i>	X					
	30. <i>Keratella valga</i>						X
	31. <i>Lecane</i> sp.			X			
	32. <i>Macrochaetus</i> sp.					X	
	33. <i>Platyias patulus</i>			X			
	34. <i>Polyarthra remata</i>	X	X	X			
	35. <i>Polyarthra vulgaris</i>					X	
	36. <i>Trichocerca</i> sp.					X	
	37. Clase Bdelloidea						X
<b>Protozoa</b>	38. <i>Trichodina</i> sp.	X	X	X	X		
	39. <i>Vaginicola</i> sp.				X		
	40. <i>Vorticella</i> sp.				X		
<b>Diptera</b>	41. <i>Chaoborus</i> sp.					X	
	42. Chironomidae			X			
<b>Ostracoda</b>				X		X	X

X?\* Identificación dudosa: se ha reportado la presencia de *Thermocyclops crassus*, pero los organismos colectados parecieron tener morfología de *T. decipiens*. Las especies identificadas se indican con una "X".

#### 4. Análisis de datos.

En el análisis de componentes principales (ACP) aplicado para el estudio de las relaciones entre las variables, se partió desde la matriz de correlación de los datos. Se trabajó con los dos primeros componentes principales, ya que como se muestra en la tabla 14, ambos explican un 67,27% de la varianza original de los datos. Además, se cumple lo planteado por el valor límite de Jolliffe, que indica que se deben emplear los componentes principales con autovalores mayores a 0,7.

Tabla 14. Autovalores y porcentaje de la varianza explicada por el primer y segundo componente principal.

<b>Componente Principal</b>	<b>Autovalor</b>	<b>% Varianza explicada</b>
1	5,1291	39,455
2	3,61585	27,814
Total		67,269

El biplot del ACP en la figura 60, muestra las variables estudiadas (indicadas en la sección de Materiales y Métodos) y los cuerpos de agua incluidos en este estudio. Según su cercanía en el plano, se organizó 1 grupo de cuerpos de agua (grupo 1) con los embalses La Mariposa, Guanapito y Tierra Blanca. El embalse La Pereza, por su parte, resultó alejado de estos. Adicionalmente, estos embalses estuvieron más próximos entre sí que de los lagos, los cuales resultaron aislados entre ellos y de los grupos de embalses.

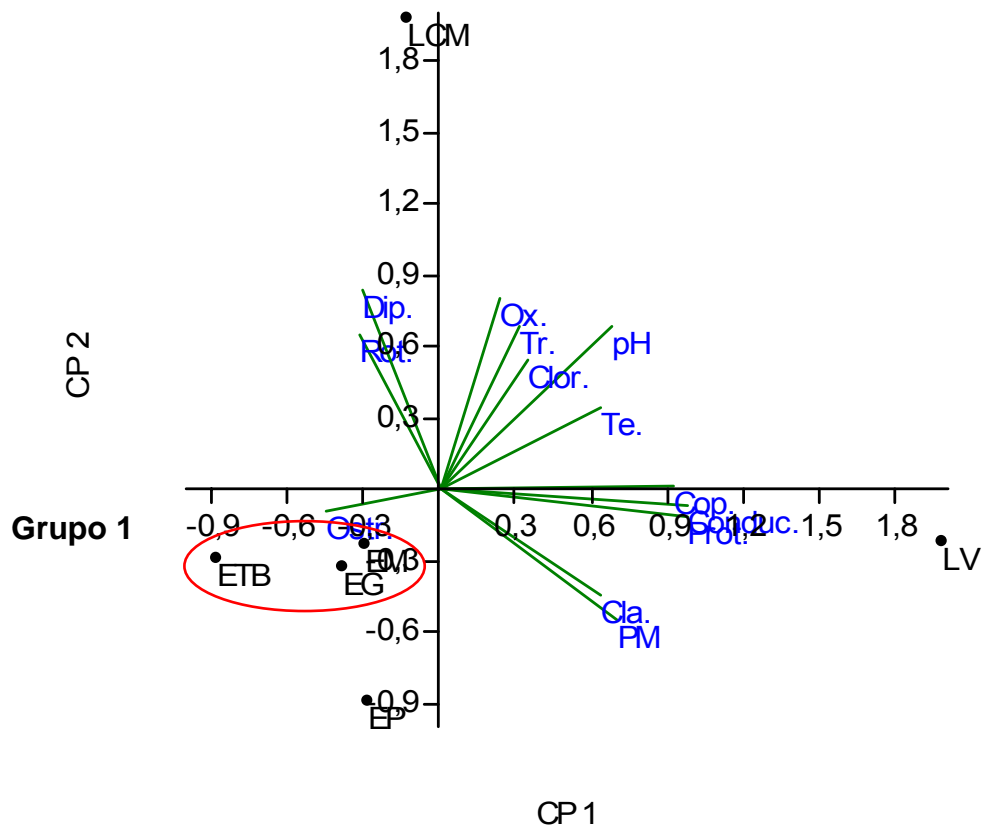


Figura 60. Biplot del análisis de componentes principales. **CP**. Componente principal. *Cuerpos de agua*: **EP**. Embalse La Pereza. **EG**. Embalse Guanapito. **LCM**. Lago del Círculo Militar. **LV**. Lago de Valencia. **ETB**. Embalse Tierra Blanca. **EM**. Embalse La Mariposa. *Variables*: **PM**. Profundidad Máxima. **Tr**. Transparencia del agua. **Te**. Temperatura. **Conduc**. Conductividad. **Ox**. Oxígeno. **Clor**. Concentración de clorofila-a. **Cop**. Copépodos. **Cla**. Cladóceros. **Rot**. Rotíferos. **Prot**. Protozoarios. **Ostr**. Ostrácodos. **Dip**. Dípteros.

En la tabla 15 se muestran los valores de las ponderaciones de las variables originales con cada componente. Se destacan las variables que presentan mayor intensidad de la relación lineal con los componentes principales.

Tabla 15. Ponderaciones de las variables originales con cada componente principal.

<b>Variables</b>	<b>CP 1</b>	<b>CP 2</b>
Profundidad Máxima	<b>0,6996</b>	-0,55
Transparencia del agua	0,3109	<b>0,6767</b>
Temperatura	<b>0,6317</b>	0,3457
Conductividad	<b>0,9728</b>	-0,07615
Oxígeno	0,2317	<b>0,7951</b>
pH	0,673	<b>0,6817</b>
Concentración de clorofila-a	0,3469	<b>0,5398</b>
Copépodos	<b>0,9179</b>	0,01424
Cladóceros	<b>0,6322</b>	-0,445
Rotíferos	-0,3143	<b>0,6492</b>
Protozoarios	<b>0,9702</b>	-0,1187
Ostrácodos	-0,4438	-0,09166
Dípteros	-0,3028	<b>0,8365</b>

**CP.** Componente principal. Se destacan las variables que presentan mayor intensidad de la relación lineal con los componentes principales.

Las variables profundidad máxima, temperatura, conductividad, abundancia de: copépodos, cladóceros y protozoarios, mostraron las más altas correlaciones positivas con el primer eje. El segundo eje mostró una alta correlación positiva con la transparencia del agua, oxígeno, pH, concentración de clorofila-a y la abundancia de rotíferos y dípteros.

Se puede observar en el biplot (figura 60), que sólo el Lago de Valencia mostró una correlación positiva con el primer eje del ACP, mientras que los demás ambientes estuvieron negativamente correlacionados con este eje.

Por otra parte, el Lago del Círculo Militar estuvo positivamente correlacionado con el eje 2 del ACP mientras que el Lago de Valencia y el grupo 1 y el embalse La Pereza, se correlacionaron negativamente con este mismo eje.

Del análisis de cluster desarrollado, se generó el dendograma mostrado en la figura 61. Respecto a los agrupamientos formados por este método, se detectaron 2 grupos al valor de similitud de -0,16 (escala de similitud cluster), donde el primer grupo quedó integrado por el Lago de Valencia y los embalses La Mariposa, Guanapito y La Pereza y el segundo por el Lago del Círculo Militar y el embalse Tierra Blanca. A un nivel de mayor similitud (cercano a -0,12), sólo una de las agrupaciones se disgregó en dos subgrupos definidos. Uno de ellos conformado por el Lago de Valencia y el embalse La Mariposa y el otro por los embalses Guanapito y La Pereza.



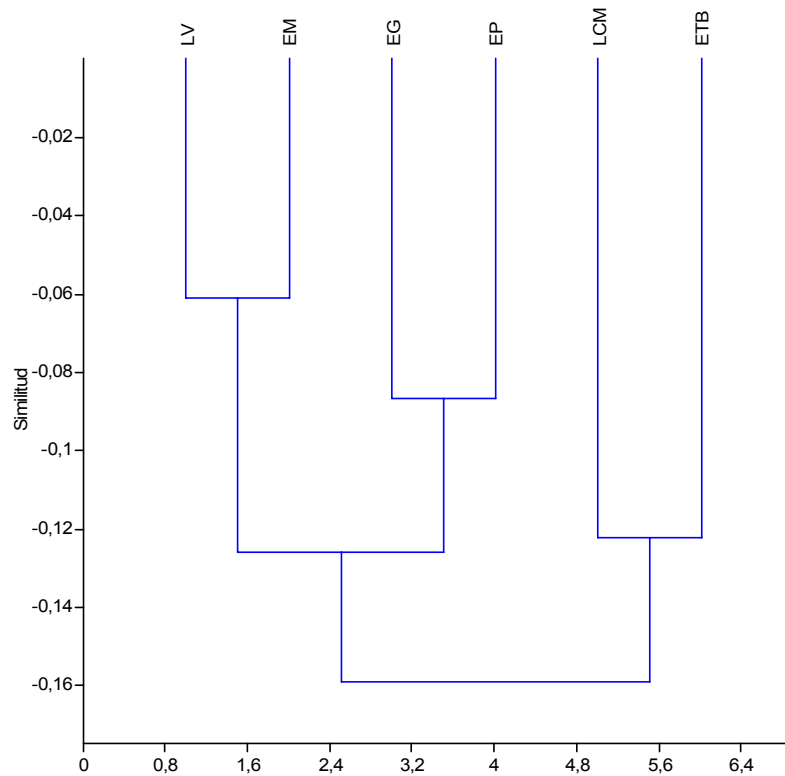


Figura 61. Dendrograma que representa la similitud entre los diferentes cuerpos de agua muestreados, a través del coeficiente de distancia de Chord. **EP**. Embalse La Pereza. **EG**. Embalse Guanapito. **LCM**. Lago del Círculo Militar. **LV**. Lago de Valencia. **ETB**. Embalse Tierra Blanca. **EM**. Embalse La Mariposa.

## 5. Estandarización de la metodología de extracción de ADN.

Se obtuvieron resultados positivos de las extracciones realizadas tanto con los individuos vivos como los preservados en etanol. Por la facilidad de mantenimiento de las muestras se decidió emplear las preservadas en etanol (No se muestran resultados).

De los tres métodos empleados para la extracción de ADN de *Diaphanosoma birgei*, se obtuvieron resultados positivos con modificaciones hechas al protocolo del estuche comercial (Bioneer) indicado en la sección Materiales y Métodos (ver figura 8), aun cuando no se logró visualizar el ADN en

una corrida electroforética luego de la extracción. Las modificaciones consistieron en hidratar a los individuos antes del procedimiento de extracción, triturarlos e incubar toda la noche con proteinasa K y búfer de lisis, en lugar de pocos minutos.

Para la extracción del material genético se emplearon individuos de la especie *Diaphanosoma birgei* de muestras de los lagos de Valencia y del Círculo Militar.

## 6. Densitometría.

La determinación con el biofotómetro de la concentración y pureza del material genético aislado, arrojó los resultados presentados en la tabla 16. Las muestras se consideran puras cuando: Absorbancia<sub>320</sub> ≈ 0, A<sub>260/280</sub> = 1,6 – 2 y A<sub>260/230</sub> ≈ 2,5.

Tabla 16. Determinación con el biofotómetro de la concentración y pureza del material genético aislado empleando individuos de la especie *Diaphanosoma birgei*.

<b>Resultados*</b>	
<b>Concentración</b>	<b>82,4 µg/mL</b>
Absorbancia <sub>260/280</sub>	1,75
A <sub>260/230</sub>	0,46
A <sub>230</sub>	0,216
A <sub>260</sub>	0,099
A <sub>280</sub>	0,056
A <sub>320</sub>	0,030

\*Estos valores se estimaron con un error entre 0,2 y 5 µg/mL.

## 7. PCR.

Todas las PCR fueron realizadas a partir del producto de la extracción del material genético de la especie *Diaphanosoma birgei*. Se obtuvo producto amplificado empleando los distintos cebadores, y los resultados se muestran en las figuras 62, empleando los cebadores del gen mtCOI; 63, con los cebadores de la región ITS2 y 64 con los cebadores del gen 12S ARNr del ADNmt.

## Gen mtCOI

En la figura 62 se muestra el registro fotográfico de la corrida electroforética en gel de agarosa de la PCR realizada con los cebadores del gen mtCOI.

La banda obtenida en el carril 2 de dicha figura, es el producto de la PCR llevada a cabo empleando los cebadores del gen mtCOI, a partir de la muestra de la extracción de ADN con 55 individuos de la especie bajo estudio, realizada esta última con el estuche comercial Bioneer. Las condiciones de amplificación se muestran en la sección de Materiales y Métodos (tabla 8). Se obtuvo una banda con un tamaño entre 800 y 700 pb y el tamaño esperado era de 710 pb según el reporte del diseñador de los iniciadores (Folmer y col., 1994).

Los carriles del 3-5 contenían los productos de la PCR realizada bajo las mismas condiciones que la muestra del carril 2, pero se emplearon muestras de la extracción de ADN obtenida a través del método 2 (Método de Towner) a partir de un individuo, sin observarse resultados positivos.

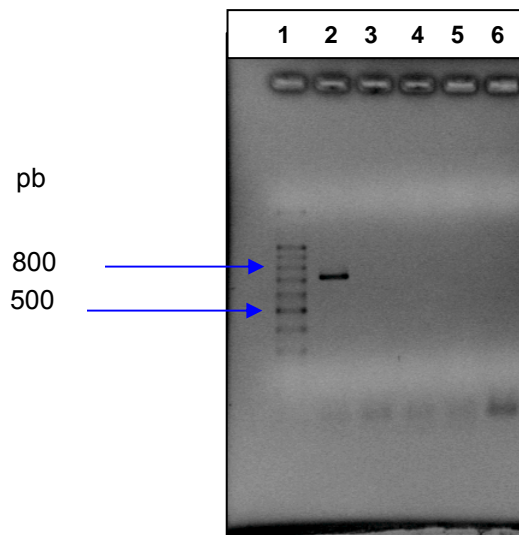


Figura 62. Registro fotográfico de la corrida electroforética en gel de agarosa al 1,5% con un voltaje de 100 V, de la PCR realizada con los cebadores del gen mtCOI. Carril 1. Marcador de peso molecular 100 pb. Carril 2. Muestra de la PCR realizada con los productos de la extracción de ADN con 55 individuos y el estuche comercial Bioneer. Carril 3 y 4. PCR empleando las diluciones 1/10 y 1/25 del material genético extraído por el método 2. Carril 5. PCR empleando el producto de la extracción con el método 2, sin diluir. Carril 6. Control negativo (agua). Las flechas indican las bandas de 800 y 500 pb.

## Región ITS2

La figura 63 muestra el registro fotográfico de la corrida electroforética en gel de agarosa de la PCR realizada con los cebadores de la región ITS2.

Las bandas obtenidas en el carril 8 de dicha figura, son el producto de la PCR llevada a cabo empleando los cebadores de la región ITS2, a partir de la muestra de la extracción de ADN con 55 individuos de la especie bajo estudio, realizada esta última con el estuche comercial Bioneer. Las condiciones de amplificación se muestran en la sección de Materiales y Métodos (tabla 6). Se obtuvieron 3 bandas: una de 800 pb y las otras dos de 300 y 200 pb (aproximadamente) y el tamaño esperado era de 500 pb según Silva (2003).

Los carriles del 2-7 contenían muestras de pruebas previas de PCR. Los carriles 9 y 10 son el resultado de la PCR realizada bajo las mismas condiciones que la muestra del carril 8. La PCR del carril 9 se llevó a cabo empleando el producto de la extracción a partir de un individuo, con el método 2 (Método de Towner). No se obtuvo una banda definida.

La PCR del carril 10 se realizó empleando una muestra producto de la extracción, a partir de un individuo, con el estuche comercial Bioneer, de la que se obtuvieron resultados positivos previos, pero en la segunda ronda no amplificó.

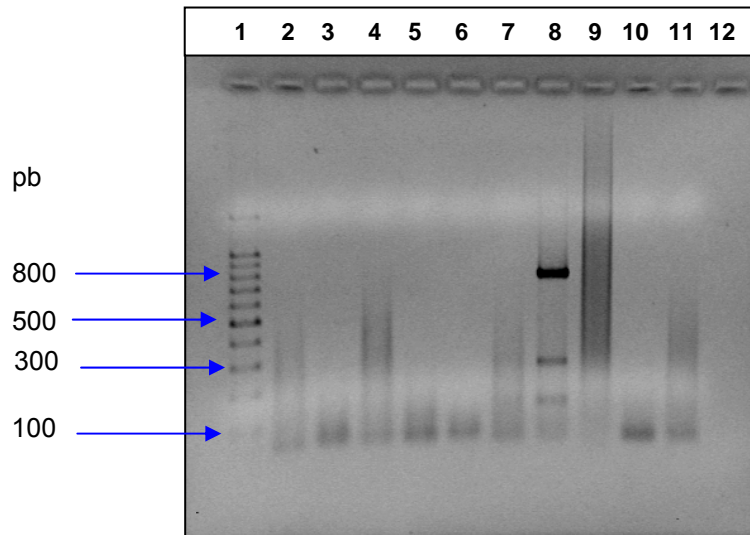


Figura 63. Registro fotográfico de la corrida electroforética en gel de agarosa al 1,5% con un voltaje de 100 V de la PCR realizada con los cebadores de la región ITS2. Carril 1. Marcador de peso molecular 100 pb. Carriles 2-7. Resultados de PCR de prueba. Carril 8. Muestra de la PCR realizada con los productos de la extracción de ADN con 55 individuos y el estuche comercial Bioneer. Carril 9. PCR empleando el producto de la extracción con el método 2. Carril 10. PCR empleando el producto de la extracción con el estuche comercial, de la que se habían obtenido resultados positivos previos. Control positivo. Carril 11. Control negativo (agua). Carril 12. Vacío. Las flechas indican las bandas de 800, 500, 300 y 100 pb.

## Gen 12S

En la figura 64 se muestra el registro fotográfico de la corrida electroforética en gel de agarosa de la PCR (2<sup>da</sup> ronda) realizada con los cebadores del gen 12S. La banda obtenida de la reacción corrida en el carril 3, es el producto de la reamplificación de una PCR previa, la cual se tomó como sustrato para la segunda ronda. Ambas reacciones fueron llevadas a cabo exactamente bajo las mismas condiciones de amplificación mostradas en la sección de Materiales y Métodos (tabla 7) y empleando los cebadores del gen 12S del ARNr del ADNmt. La primera amplificación (no se muestran resultados), se realizó empleando la muestra de la extracción de ADN con el estuche comercial Bioneer, a partir de un

individuo de la especie bajo estudio. El tamaño obtenido fue entre 800 y 700 pb y el esperado era de 605 pb según lo reportado por el diseñador de los iniciadores (Taylor y col., 1996).

Las muestras de los carriles 2 y del 4-6, son el resultado de la reamplificación de la PCR previa, bajo las mismas condiciones que la muestra del carril 3 y empleando el mismo material genético, producto de la extracción. Estas sólo presentan diferencias en las cantidades de ADN y de los iniciadores. Sólo se obtuvieron resultados positivos al agregar 2  $\mu$ L de ADN y 1,25  $\mu$ L de cebadores (carril 3), por lo que se emplearon estas condiciones para estandarizar las PCR del gen mtCOI y de la región ITS2.

El carril 7, contenía ADN de la bacteria *Stenotrophomonas maltophilia*.

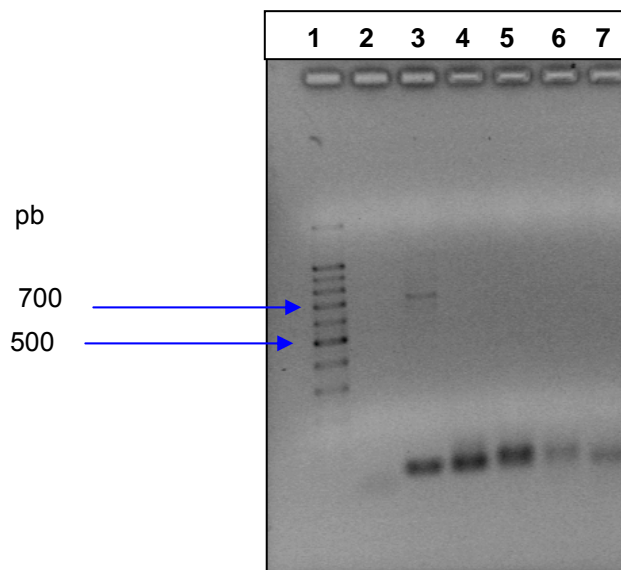


Figura 64. Registro fotográfico de la corrida electroforética en gel de agarosa al 1,5% con un voltaje de 100 V de la PCR (2<sup>da</sup> ronda) realizada con los cebadores del gen 12S. Carril 1. Marcador de peso molecular 100 pb. Carril 2. Segunda ronda de PCR hecha con cantidades correspondientes a lo publicado por Taylor y col. (1996). Carril 3. Reamplificación de PCR. Se agregaron 2  $\mu$ L de ADN y 1,25  $\mu$ L de iniciadores. Carril 4. Reamplificación de PCR. Se agregaron 4  $\mu$ L de ADN y 1,25  $\mu$ L de iniciadores. Carril 5. Reamplificación de PCR. Se agregaron 1  $\mu$ L de ADN y 1,25  $\mu$ L de iniciadores. Carril 6. Control negativo (agua). Carril 7. Primera amplificación, ADN de *Stenotrophomonas maltophilia* (bacteria). Las flechas indican las bandas de 700 y 500 pb.

## 8. Alineación de la secuencia de los cebadores empleando el software

### BLAST.

Se realizaron las alineaciones de los iniciadores con reportes de secuencias de individuos del género *Diaphanosoma* o con cladóceros en general. Los resultados se muestran en las figuras 65, 66 y 67.

### Gen mtCOI

Los iniciadores utilizados fueron diseñados por Folmer y colaboradores (1994). Estos autores compararon las secuencias de ADN publicadas de especies de los Phyla Mollusca, Annelida, Arthropoda y Coelenterata, cuyas regiones altamente conservadas de los genes COI fueron usadas como blancos para el diseño de los cebadores universales para la amplificación de un fragmento de 710 pb del gen mtCOI.

El par de cebadores empleados en este estudio, hibridó en un 100% con los reportes de las secuencias de varias especies del grupo de los gastrópodos (*Conus aurisiacus*, *Nassarius acuminatus*, entre otros) y algunos tardígrados (*Echiniscus* sp.) e insectos (*Aedes japonicus*). En la figura 65 se muestran los sitios de hibridación de los iniciadores COI-1 y COI-2 en el gen mtCOI de *Diaphanosoma brachyurum*.

---

Especie: *Diaphanosoma brachyurum*.

---

AAACTTCAGGG TGACCAA AAAATCA →  
181 GGGTTTGGAA ACTGGTTAGT CCCTTTAATG TTGGGGGCC CTGACATGGC TTTTCCTCGG  
241 TTAAATAATT TGAGGTTTTG ATTATTACCC CCTTCTCTGA CCCTTCTTTT AGTTGGGAGG  
301 GCTGTAGAGA GAGGGGCCGG CACCGGCTGA ACTGTCTACC CTCCTCTTTC AGGTACTATT  
361 GCGCATGCAG GTGCCTCTGT TGACTIONAAGT ATTTTTTCTC TTCATCTAGC NGGTATTTCT  
421 TCTATTTTGG GCGCAGTAAA TTTTATTCT AC GGTAATGA ATATGCGTAC TAAGGGTTTG  
481 ACTTTAGATC GAACTCCTTT **ATTTGTTTGG** TCTGTAGGTA TTACGGCTTT ATTGCTTTTG  
← GGTC **AACAAAT** CATAAAGATATTGG

---

Figura 65. Sitios de hibridación de los iniciadores COI-1 y COI-2 en el gen mtCOI de *Diaphanosoma brachyurum*. La selección en rojo señala la secuencia del cebador y los sitios de hibridación con la secuencia de ADN, se indican ambos en color verde. Las flechas indican la dirección de la amplificación. Tomado de GenBank, número de acceso EF189666.1.

## Región ITS2

Los cebadores empleados en este estudio para amplificar la región ITS2, fueron diseñados por Sarah Gerken (James Madison University, VA, EUA) (citado en Silva, 2003). Estos han sido empleados en estudios moleculares con copépodos, esperando un amplificado de 500 pb.

El par de cebadores empleados no hibridó en un 100% con ningún reporte de la secuencia de algún individuo. En la figura 66 se muestran los sitios de hibridación de los iniciadores ITS10 e ITS4 en la secuencia parcial del gen 18S ARNr; las secuencias completas de: ITS1, gen 5.8S ARNr, ITS2; y la secuencia parcial del gen 28S ARNr de *Bosmina freyi*.



---

Especie: *Bosmina freyi*.

---

61 TAGAGGAAGT AAAAGTCGTA ACAAGGTTTC CGTAGGTGAA CCTGCGGAAG GATCATA**ATC**  
GC **ATC**  
**GATGAA GAACGCAGC** →  
121 **GATGAA**CATG TACCGTTCTT AAGCGCCTAC AAGCCCTTGG ACGAGTACAT ATTTCTAAAA  
181 GCCTTAAACA GGC~~GAA~~AATAA AGTCAATGTG AAGGAGACGG GTACCAGGAC GTTACGTCAA  
241 GGTTC~~AA~~AGA ATTCCGCCCG ACTTCTCTCA CAACACACAC AAACCTCTAG TAACCACGGT  
301 AGTTG~~G~~AAAA TATT~~C~~GAAAC GCCGTAGTCT TTGCGAAAGC AAAGACGAAT AGCGCTCGAA  
361 GAACACAATG T~~G~~TATAATT ATGACCCTGA ACGGTGGATC ACTCGGCTCG TGGATCGATG  
421 AAGAGCGCAG CAAAGTGC~~G~~C TAATCCATGC GAACCGCAGA ACACATGGAG CATCGAAATC  
481 TTGAACGTAA ATGGCGGCC AGCTTCACTG CTCGGGCCAC ATCTGACTGA GGGTCGGTTG  
541 ATTGATGAAC GATTATTCTG GGTGCCGAGC GGAAAGAAAT TTCCATCGAT GCCTTAAATT  
601 CAATCGGTCA CCACTCGATG GGAGGCATTA TCAAGAGTCT AAGCGGCACC GAAGTGTCTG  
661 GAGCCCAAAC GACTCCTATT GCTACAAACC CTGTCTGGTGG TTGTGACTGT AAAAGCTAAG  
721 TACAGACTTA AGTTTGCTCA TAAGGCGTTT GAGGCAGTGT ATAGTCTCGG ACGGTACGTG  
781 TGTGTTTTGTC TGTACGCCGG GCGTGTCTGGG AA~~A~~CTGACCA CCGCGATGAG ACAGCCGTAC  
841 CAAGACAAAT CACTGACGAG CCTGTGAGTA GCTCAGGTCG ATAAAAGTAC AAAGCACCAA  
901 TCTTATCATA TCTGACCTCA GTTTAGGTGA GACTACCCGC TGA~~A~~CTTAAG CATATCAGTA  
961 AGCGGAGGAA AAGAACTAA CAAGGATTCC CTCAGTAGCG GCGAGCGAAC AGGGAAGAGC  
1021 CCAGCACCGA ATCCCCTGCC CTGCAAAGAG ACAGGGAAAT GTGGTGT~~T~~TG GGAGGGCCGT  
1081 GCGCGCCTGT CCGGTATTAG CCAAGTTCT CATGAACGAG ACGAGCAACC CATAGAGGGT  
← T ACGGGCCT  
**ATCACCCCTCT A CG**  
1141 **GTCAGGCCCG** TCGATAGCTA GCCGC

---

Figura 66. Sitios de hibridación de los iniciadores ITS10 e ITS4 en la secuencia parcial del gen 18S ARNr; las secuencias completas de: ITS1, gen 5.8S ARNr, ITS2; y la secuencia parcial del gen 28S ARNr de *Bosmina freyi*. La selección en rojo señala la secuencia del cebador y los sitios de hibridación con la secuencia de ADN, se indican ambos en color verde. Las flechas indican la dirección de la amplificación. Tomado de GenBank, número de acceso EU650763.1.

## Gen 12S

Los cebadores empleados en este trabajo para amplificar el gen 12S ARNr, fueron diseñados por Taylor y colaboradores (1996) a partir de regiones conservadas dentro del gen mitocondrial de los individuos *Daphnia pulex* y *Drosophila yakuba*. El tamaño esperado era de 605 pb.

El par de iniciadores hibridó en un 100% con el reporte de la secuencia completa del genoma mitocondrial de *Daphnia pulex* (cladóceros). En la figura 67 se muestran los sitios de hibridación de los iniciadores utilizados, 12S-cladoc1 y 12S-cladoc2, en el gen 12S ARNr del ADNmt de *Sida crystallina*.

---

Especie: *Sida crystallina*

---

			ATGCACTTTC	CAGTACATCTAC	→	
241	TATACAAACT	GCTATACAAA	ACCAAGAAAG	GTAAATCGAG	GATTATCAAT	TATGAGACAA
301	GCTCCTCTGT	AAAGGTAGAA	TACCGCCAAA	ATCTTTGGGT	TTGAAGAACA	TCTTTTACTA
361	CCCTAAAATC	ATTTAGTTAA	AATAACAGGG	TATCTAATCC	TGGTTTATCC	TTTAACTTTC
421	AAAAGAACTT	CACACTCACC	TTTTTAAATT	CCTTATTAAA	TTTAAATTTT	ACCTTAAAAT
481	TTAACTTTTC	TATTAATAAA	TATGACACGG	CAATTGCTTT	CTTAAAATTT	TTTACTCTAC
541	TTGAATTCTA	CGTCTAACCG	CGGTAGCTGG	CACGACTTTA	ACCAATTCCT	ACTTATTTAA
			← AAATCGTG	CCAGCCGTCGC		

---

Figura 67. Sitios de hibridación de los iniciadores 12S-cladoc1 y 12S-cladoc2 en el gen 12S ARNr del ADNmt de *Sida crystallina*. La selección en rojo señala la secuencia del cebador y los sitios de hibridación con la secuencia de ADN, se indican ambos en color verde. Las flechas indican la dirección de la amplificación. Tomado de GenBank, número de acceso AY009490.1.

## 9. Secuenciación.

La banda de 700-800 pb (figura 63), producto de PCR obtenida de la amplificación de la región ITS2, se extrajo y purificó desde el gel de agarosa siguiendo el protocolo del estuche comercial descrito. Se evaluó la eficiencia de la purificación mediante una corrida electroforética y ésta fue adecuada como para enviar a secuenciar el material genético. Dicho registro fotográfico se muestra en la figura 68. Sin embargo, no se obtuvo una lectura adecuada de la secuencia.

El producto de PCR de la amplificación del gen mtCOI, fue purificado y al evaluar la eficiencia del proceso, ésta no fue adecuada. Se realizaron nuevas reamplificaciones sin obtenerse resultados positivos, por lo que no pudo ser enviado a secuenciar. Lo mismo sucedió con el amplificado del gen 12 ARNr.

No se logró tener secuencia de ninguno de los productos amplificados.

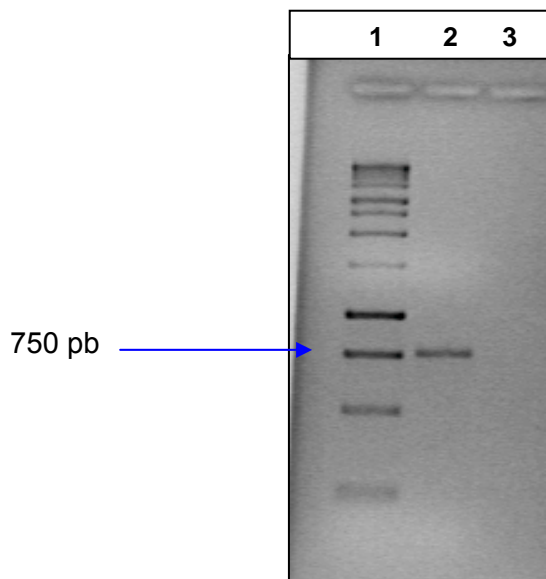


Figura 68. Registro fotográfico de la corrida electroforética en gel de agarosa al 1,5% con un voltaje de 100 V de la purificación del producto de PCR realizada con los cebadores de la región ITS2, enviada a secuenciar. Carril 1. Marcador de peso molecular 1kb. Carril 2. 5  $\mu$ L de la purificación del producto de PCR (Región ITS2). Carril 3. Vacío. La flecha indica el tamaño de la banda de 750 pb.

## **DISCUSIÓN**

El funcionamiento de los ecosistemas acuáticos continentales está condicionado por el clima, características de la cuenca (tipo de sustrato, suelo y vegetación), además de la actividad humana desarrollada en la misma. Algunos de ellos están sujetos a un importante aporte de nutrientes. Todo esto va a determinar la biomasa y composición del fitoplancton y del zooplancton presente, haciendo entonces que cada cuerpo de agua sea diferente de otro (Horne y Goldman, 1994).

### **1. Variables fisicoquímicas.**

La mayor parte de la estructura de los ecosistemas acuáticos está directamente relacionada con la radiación solar, que implica calor y luz. Dentro del agua, la luz es rápidamente atenuada con el incremento de la profundidad. El establecimiento de la zonación de la luz restringe la fotosíntesis del fitoplancton a los estratos superiores iluminados (zona eufótica). El movimiento y migración de muchos individuos acuáticos también es guiada por la intensidad de ésta (Horne y Goldman, 1994; Wetzel y Likens, 2000).

Las aguas del embalse Guanapito y del Lago del Círculo Militar presentaron un color verde claro para los días del muestreo, esto debido a las bajas concentraciones de sólidos totales en suspensión y a la escasez de algas fitoplanctónicas en el caso del embalse Guanapito, como consecuencia de la baja concentración de nutrientes en este último. Así, están clasificados como cuerpos de agua mesotrófico y oligo-mesotrófico, respectivamente. En respuesta a esto,

fueron los sistemas que presentaron los valores más altos de transparencia del agua (2,30 m y 2,90 m, respectivamente).

Sin embargo, es de hacer notar que se esperaba registrar el mismo patrón en el embalse Tierra Blanca, por estar clasificado como oligo-mesotrófico al igual que el Lago del Círculo Militar, pero no fue así. El agua se encontró con el mismo aspecto que en el embalse La Pereza y el Lago de Valencia, que son ambientes eutróficos. De estos tres, la transparencia del agua fue mayor en el Lago de Valencia (2 m), lo que puede deberse a que es el cuerpo de agua más profundo y que el muestreo fue realizado en época de lluvias, cuando la concentración de nutrientes se diluye por el aumento de los caudales de los tributarios, como lo reportado por González y colaboradores (2004) para el embalse Pao-Cachinche. Sin embargo, es una transparencia alta, respecto a la reportada previamente por Infante (1980 a).

Es importante destacar el bajo nivel de agua registrado en el embalse Tierra Blanca, cuya profundidad máxima fue 13,5 m, mientras que se han reportado profundidades máximas de hasta 35 m (González, 2004 a). Esto pudo influenciar la baja transparencia observada, además de la concentración de los nutrientes en la columna de agua, ya que estarían contenidos en un menor volumen, así como la resuspensión del material del fondo, que pudo afectar el clima lumínico del embalse.

Gavidia (2003) y González (2004 a) en el mes de septiembre (mismo mes en el que se realizó el muestreo en este embalse), reportaron bajos valores de la transparencia del agua (2 m), pero estos no fueron tan bajos como el registrado en el presente estudio (0,90 m). González (2004 a), explica que tal baja transparencia

coincidió con el suministro de agua desde la fuente de Las Caritas. Una vez que el embalse alcanzó su cota máxima en noviembre del año 2002, la transparencia del agua aumentó hasta valores superiores a los 3 m.

En el embalse La Mariposa, el bajo nivel de agua (6 m de profundidad máxima) respecto a lo reportado en la literatura (15 m de profundidad máxima) y la alta turbidez abiogénica y biogénica durante el día del muestreo, además de la cobertura por la macrófita bora *Eichhornia crassipes*, pudieron limitar la penetración de la luz en la columna de agua y explicar el aspecto marrón pardo. No obstante, el valor medio de transparencia reportado para este sistema en estudios previos fue de apenas 0,6 m (González, 2004 b).

Alrededor de la mitad de la radiación solar que penetra en la columna de agua, es absorbida y disipada como calor y la distribución de éste está influida ampliamente por la energía del viento (Wetzel y Likens, 2000). Ambos, el calor y el viento, pueden producir la estratificación térmica, características de embalses o lagos profundos. Así, de la misma forma que la radiación solar es atenuada con la profundidad, la temperatura del agua también lo es. Los períodos de mezcla o circulación del cuerpo de agua alteran los perfiles de temperatura, densidad, oxigenación, pH, la solubilidad y disponibilidad de nutrientes, así como también afectan la distribución y actividad metabólica de los organismos que habitan en los diferentes estratos (Cole, 1983; Horne y Goldman, 1994).

La luz solar calienta las aguas cercanas a la superficie, generando una capa de agua más cálida y por tanto menos densa. Ésta es el epilimnion, que flota

sobre una capa de agua más fría y densa casi inalterada, el hipolimnion. La capa entre estas dos es el metalimnion, que presenta un gradiente térmico marcado por la intersección entre el homogéneo epilimnion y el hipolimnion. El hipolimnion es la capa más profunda y por tanto más fría, ya que a mayor profundidad hay menor temperatura en el cuerpo de agua por la atenuación de la luz incidente (Wetzel y Likens, 2000).

Muchos autores han tratado de clasificar de forma eficaz los sistemas acuáticos, siendo los tropicales uno de los más complejos, en los que con temperaturas mayores a 20 °C, se generan estratificaciones térmicas muy estables a pesar de las diferencias reducidas de temperaturas entre capas, que pueden ser de hasta 1 y 3 °C (Cole, 1983).

En el embalse Guanapito se registró la presencia de dos termoclinas, las cuales también fueron reportadas por Cressa y Senior (1990). Estas pudieran ser producto de eventos climatológicos no periódicos, que producen mezclas superficiales de las masas de agua, los cuales son considerados como característicos de los sistemas acuáticos tropicales.

De los seis ambientes, el Lago del Círculo Militar presentó la menor diferencia de temperatura entre la superficie y el fondo. Ésta fue de 0,5 °C, lo que coincide con lo esperado, puesto que es el cuerpo de agua más somero, con períodos de mezcla intermitentes por el viento durante un mismo día, además de las corrientes convectivas generadas por los cambios de temperatura del aire entre el día y la noche.

El sistema que presentó la mayor diferencia de temperatura entre la superficie y el fondo fue el embalse Tierra Blanca (4,6 °C), además de presentar la

segunda temperatura más alta en la superficie. González (2004 a) reportó diferencias mayores de temperatura entre la superficie y el fondo, de hasta 5,3 °C. Esto puede deberse a la ubicación del embalse entre montañas que lo protegen de la acción del viento, en conjunto con las corrientes de densidad registradas, que permiten su estabilidad térmica.

Respecto al Lago de Valencia, éste, como la mayoría de los lagos tropicales, muestra ciclos estacionales pronunciados, explicados principalmente por cambios en la estabilidad de la columna de agua. En el año pasa por dos períodos, el de circulación y el de estratificación (Saunders y Lewis, 1988).

Durante el período de estratificación, que fue en el que se realizó el muestreo, el patrón obtenido se explica ya que la capa superior del lago es muy variable en su espesor y presenta mezcla por el viento y por las corrientes convectivas. Debajo de esta capa superior mezclada se registró un cambio abrupto a una capa que presentó un gradiente térmico negativo, es decir, que disminuyó en temperatura. Ésta dio lugar a otra capa en la que el gradiente térmico fue cero, luego de la cual puede ocurrir otra con disminución de temperatura. Se presentan entonces varias termoclinas, repitiéndose el patrón a través de varias capas, por lo que el Lago de Valencia no tiene un hipolimnion reconocible. El gradiente consistió en disminuciones sostenidas de la temperatura en 0,1 °C que implican cambios en la densidad del agua. A temperaturas cercanas a los 25 °C, los cambios de densidad son mayores con variaciones de apenas 0,1 °C en la temperatura, ya que a menor diferencia de temperatura, mayor densidad (Lewis, 1983; Saunders y Lewis, 1988).



Así, Saunders y Lewis (1988) se refieren al hecho de que ocurre atelomixis (mezcla parcial) en este sistema, ya que la mezcla diaria está restringida al epilimnion y generalmente una termoclina impide que la mezcla progrese hacia abajo, por lo que el lago puede ser típicamente anóxico después de los 20 m.

La distribución vertical del oxígeno en el agua resulta de su difusión a partir de la superficie, la cual es lenta y además su concentración está condicionada por la temperatura, el viento y la actividad de los organismos. La concentración de saturación de oxígeno es rápidamente alcanzada en la interfase aire-agua. Su solubilidad es menor a temperaturas mayores, pero se ve favorecida por la turbulencia a causa del viento (Roldán y Ramírez, 2008).

Las concentraciones de oxígeno fueron máximas en la superficie de los sistemas estudiados. Los procesos de mezcla de las capas de agua superiores a causa del viento, facilitaron la oxigenación. En el embalse Guanapito la concentración de oxígeno fue constante hasta los 4 m de profundidad, concordante con la homogeneidad del perfil de temperatura.

Se presentaron algunos máximos de concentración de este gas en los primeros metros de profundidad en el embalse La Pereza (2 m) y en el embalse La Mariposa (0,6 m). Esto pudo ser debido a que, además de las variables químicas, la actividad de los organismos ejerce un papel importante. La fotosíntesis del fitoplancton determina un máximo en la zona iluminada, cerca de la superficie, ya que tal proceso libera oxígeno (Margalef, 1983).

En el fondo, aunque las temperaturas son bajas, los procesos de descomposición consumen el oxígeno del hipolimnion remanente del período de

mezcla, por lo que suelen encontrarse los valores mínimos (Margalef, 1983). No obstante, en cuerpos con baja productividad como el embalse Guanapito y el Lago del Círculo Militar, la mayor parte de la materia orgánica se descompone antes de llegar al fondo, por lo que no alcanzan condiciones de hipoxia/anoxia. En el caso del Lago del Círculo Militar, además, éste es un sistema somero y presenta macrófitas en el fondo que oxigenan la columna de agua.

Se registraron condiciones de hipoxia/anoxia en el embalse La Pereza desde 12 m, en el embalse Tierra Blanca desde los 5 m y en el Lago de Valencia a partir de los 30 m, detectándose olor a sulfuro de hidrógeno, lo que indica que éste producto de la descomposición se encontró en concentraciones superiores a los 100 µg/L (Infante y col., 1979 b). En el Lago de Valencia, la propia estratificación térmica no favorece la difusión de oxígeno a las capas más profundas. No obstante, en el embalse Tierra Blanca, el flujo de corrientes de agua más densas que pueden ser de diversas fuentes como: tributarios, escorrentía, bombeo de agua, suministraron oxígeno al hipolimnion (González, 2004 a).

Por su parte, la conductividad mide el número de iones cargados en el agua, como calcio, sodio, sulfato, entre otros. Debido a que la corriente eléctrica se transporta por medio de iones en solución, la conductividad aumenta con la concentración de iones (Roldán y Ramírez, 2008).

La tendencia a presentar valores máximos de conductividad en el fondo está asociada a una alta liberación de iones por descomposición orgánica y contacto del agua con el sedimento (Villabona-González y col., 2007). Este patrón

fue observado sólo en el embalse La Pereza, en el Lago del Círculo Militar y en el Lago de Valencia.

En el embalse Guanapito, se registró un perfil vertical del contenido de iones bastante uniforme. Lo mismo había sido reportado por Infante y colaboradores (1992). En el embalse Tierra Blanca, las fluctuaciones leves registradas fueron por causa de la presencia de las corrientes de densidad.

Los embalses Guanapito, La Pereza, Tierra Blanca y el Lago del Círculo Militar fueron considerados como de baja salinidad de acuerdo al criterio de Serruya y Pollinger (1983) para lagos tropicales, ya que sus valores de conductividad fueron menores a los 500  $\mu\text{S}/\text{cm}$ . Por su parte, el Lago de Valencia y el embalse La Mariposa, por presentar valores de conductividad comprendidos en el intervalo de 500 a 3000  $\mu\text{S}/\text{cm}$ , fueron considerados de salinidad media.

Los altos valores de conductividad en el embalse La Mariposa respondieron al bajo nivel del agua y por tanto a la concentración de iones en menor volumen. Estos son mayores a los reportados en González (2004 b), en el que este sistema fue clasificado como de baja salinidad, aunque sus valores estuvieron cercanos a los 500  $\mu\text{S}/\text{cm}$ .

En el Lago de Valencia se registraron los mayores valores de conductividad de los 6 ambientes, ya que además de sus características geológicas, las altas tasas de evaporación, la disminución de la entrada de aguas subterráneas, la característica endorreica del lago y la descarga de aguas residuales, han sido consideradas como las principales causas de la reducción en los niveles del agua y del incremento en la concentración de sales (Infante y Riehl, 1984).

En cuanto al pH, en las aguas dulces oscila entre 6,5 y 8,7 (Margalef, 1983). Los valores obtenidos están dentro de estos límites, exceptuando los Lagos del Círculo Militar y de Valencia, en los que se registraron los mayores valores medios (8,76). El menor valor fue en el embalse La Pereza (7,4). Las aguas, entonces, presentaron valores de pH alcalinos.

En general, los estratos superficiales fueron más alcalinos que los estratos profundos, aunque en algunos sistemas hubo poca variación entre la superficie y el fondo. Esto corresponde con el cambio en la concentración de CO<sub>2</sub> en el agua, que al ser fijado por productores primarios durante el proceso de fotosíntesis, basicifica el medio (superficie). En los fondos, el pH es menos básico por los procesos de descomposición y respiración, que tienden a acidificar las aguas (Villabona-González y col., 2007).

## **2. Biomasa del fitoplancton.**

La producción primaria en las aguas tropicales es sostenida generalmente por altos niveles de entradas de energía solar y temperatura, que son relativamente constantes durante el año. El desarrollo de la biomasa es afectado frecuentemente por las variaciones estacionales en la columna de agua (efectos que tienen las lluvias o las sequías sobre el volumen de agua transportado), la mezcla vertical y el suministro de nutrientes. La penetración de la luz en el agua influencia la distribución de la biomasa y por tanto la actividad fotosintética. El fitoplancton, además, induce reacciones físicas y químicas sobre el medio,

incluyendo turbidez, gases, materia orgánica y nutrientes (Roldán y Ramírez, 2008).

Las masas de agua eutróficas se caracterizan por tener una productividad elevada y altos valores de biomasa. En estos cuerpos de agua proliferan las cianobacterias, mientras que el hipolimnion presenta condiciones de anoxia durante los períodos de estratificación térmica. A menudo, los cuerpos de agua eutróficos poseen menos especies de plantas y animales que los sistemas oligotróficos (González y col., 2003), cuya productividad y biomasa fitoplanctónica son bajas.

Los valores máximos de concentración de clorofila-*a*, en general, no fueron obtenidos en la superficie de los sistemas estudiados, sino a niveles subsuperficiales. Esto, debido a que la radiación solar es máxima en la superficie, causando la fotoinhibición de los pigmentos fotosintéticos (Infante, 1980 a).

En el estudio realizado, para el embalse Guanapito, la concentración de clorofila-*a* no pudo ser detectada por el método empleado, por lo que se tomó ésta como 0 µg/L. No obstante, es importante destacar que en un muestreo llevado a cabo en el mismo mes, pero un año después (2010), se registró una concentración de  $3,33 \pm 0,51$  µg/L (González, comunicación personal), concentración igualmente baja. En esta época del año, por lo tanto, parecen consistentes las concentraciones bajas de clorofila-*a*.

Cressa y Senior (1990) reportaron, con base en las concentraciones promedio de nitrógeno y fósforo, que el embalse Guanapito podía ser clasificado como oligotrófico con tendencia a la mesotrofía. Posteriormente, Infante y colaboradores (1992) y Cressa y colaboradores (1993) expresaron que la baja

concentración de nutrientes podría ser la explicación de la baja producción primaria y biomasa de algas.

Para el embalse La Mariposa, González y colaboradores (2003) reportaron una media del valor de biomasa (como clorofila-*a*) de 41,92 µg/L. Ésta fue mucho mayor a la obtenida en este estudio ( $2,37 \pm 2,51$  µg/L), debido quizás a la baja transparencia, causada principalmente por la alta turbidez abiogénica, producto de la resuspensión de los sedimentos del fondo.

En el Lago del Círculo Militar se registraron los valores máximos de clorofila-*a*. No obstante, aunque es un sistema clasificado como oligo-mesotrófico (Gordon y col., 2008), las concentraciones de clorofila muestran tendencias a la eutrofia (Salas y Martínó, 1990). Esto pudo responder a una entrada puntual de nutrientes, puesto que se observó la descarga de aguas al lago, lo que pudo traer como consecuencia un incremento en la biomasa. Sin embargo, esto no afectó el clima lumínico del mismo, lo que benefició los incrementos en biomasa del fitoplancton.

En el embalse La Pereza, en comparación con la concentración de clorofila-*a* (44,37 µg/L) reportada por González y colaboradores (2003), la media obtenida en este estudio fue menor (15,1 µg/L). Esto pudo estar relacionado con la disminución de la transparencia registrada (0,7 m), ya que para este sistema se han reportado valores de 1,34 m (Ortiz y col., 1999).

En el Lago de Valencia, los valores de biomasa del fitoplancton registrados fueron menores a los esperados para un sistema eutrófico. Estos pudieron ser el resultado de un intenso pastoreo por el zooplancton, ya que en este sistema se registraron las mayores abundancias de animales planctónicos, como se discutirá

posteriormente. También es probable que el viento haya dispersado el fitoplancton de esta localidad del lago, ya que la concentración de nutrientes no fue limitante (concentraciones de ortofosfatos > 200 µg/L) (González, comunicación personal).

En el embalse Tierra Blanca, la media de la concentración de clorofila-a registrada (7,85 µg/L) fue parecida a la reportada por Gavidia (2003), 8,62 µg/L, aun cuando la transparencia fue baja.

### **3. Zooplancton.**

En los ambientes oligotróficos, la abundancia del plancton es baja y el zooplancton responde de manera directa a las variaciones del fitoplancton, como oferta de alimento. En estos tipos de ambientes, los nutrientes limitan la producción fitoplanctónica y por consecuencia, la zooplanctónica, de modo que la regulación vía depredación por peces puede resultar menos importante. Por el contrario, en los ambientes eutróficos la abundancia del plancton es elevada, se debilitan los vínculos entre el fitoplancton y el zooplancton y aumenta la importancia del detritos como fuente directa de alimento. En estos tipos de ambientes, los nutrientes no limitan la producción planctónica y se esperaría que incrementara la regulación del zooplancton por vía de depredación por parte de peces y otras comunidades (Ortiz y col., 2006).

Los embalses Guanapito y La Mariposa presentaron los menores valores de abundancia de zooplancton. Esto se corresponde con el patrón de biomasa del fitoplancton registrado, ya que justamente fue en estos dos embalses donde se

obtuvieron los menores valores. Por tanto, tal abundancia pareció estar limitada por la presencia de alimento.

En el caso del embalse Guanapito, los resultados coinciden con lo reportado por Infante y colaboradores (1992), en el que la baja oferta de alimento (fitoplancton) trajo como consecuencia la baja abundancia del zooplancton.

Por el contrario, los valores de abundancia del zooplancton en el embalse La Mariposa han sido considerados elevados en estudios anteriores (González, 2004 b). La menor abundancia registrada por Ortaz y colaboradores (1999) fue 110 ind./L, muy superior a la registrada en este estudio.

Aunque la mayor abundancia media del zooplancton se registró en el Lago de Valencia, éste no presentó las mayores concentraciones de clorofila-a, lo que pudiera explicarse porque los vínculos entre el zooplancton y el fitoplancton suelen ser débiles en los sistemas eutróficos, de manera que no existe una relación directa; el zooplancton de los sistemas eutróficos se alimenta principalmente de detritos. Sin embargo, en la zona central y más profunda del lago, el zooplancton presenta densidades menores que, por ejemplo, las localidades costeras sin influencia directa de la polución (Infante, 1993).

En el embalse Tierra Blanca y en el Lago del Círculo Militar, la depredación sobre el zooplancton pudo ocurrir puesto que fueron observados peces pequeños en sus aguas, los cuales pudieran consumir organismos planctónicos. Sin embargo, los vínculos entre los organismos zooplanctónicos y del fitoplancton pudieron ser menos débiles que en el resto de los cuerpos de agua estudiados, ya que a pesar de la posible presión de depredación, ocuparon la segunda y tercera mayor abundancia zooplanctónica de los sistemas estudiados, respectivamente.



No obstante, cabe destacar que en ambos sistemas, con base en las concentraciones de clorofila-*a* obtenidas, se esperaría un patrón inverso, ya que por ejemplo, hubo mayor biomasa fitoplanctónica en el Lago del Círculo Militar que en el embalse Tierra Blanca.

Las altas tasas reproductivas de los rotíferos pudieron mantener las altas abundancias del zooplancton en los dos sistemas, ya que justamente estos organismos representaron las mayores proporciones del zooplancton total.

En el embalse La Pereza, los bajos valores de abundancia pudieron estar relacionados con la baja transparencia del agua, la cual limitó al fitoplancton y éste, a su vez, posiblemente controló la abundancia del zooplancton.

En el embalse Guanapito, los copépodos dominaron en la columna de agua, al igual que lo descrito por Infante y colaboradores (1992). Dentro de estos, los Calanoida fueron más abundantes. Tal patrón también fue registrado en el embalse La Pereza. Estos individuos, generalmente son indicadores de condiciones de oligotrofia, aunque también se ha reportado su dominancia en ambientes eutróficos (Roldán y Ramírez, 2008).

En el Lago de Valencia, los copépodos Cyclopoida presentaron las mayores abundancias, seguidos de los protozoarios. Según Horne y Goldman (1994), los protozoarios y los rotíferos presentan altas densidades en aguas con abundante materia orgánica y junto con los copépodos ciclopoideos dominan en los cuerpos de agua con características eutróficas. En este sistema, la abundancia de los rotíferos fue relativamente baja en todos los estratos. Infante (1993), reportó la

variación estacional de estos individuos y la asoció con las variaciones en las concentraciones de oxígeno en la columna de agua.

En el embalse Tierra Blanca y en el Lago del Círculo Militar, los rotíferos representaron las mayores proporciones del zooplancton total. Es de hacer notar que la dominancia numérica de este grupo en ambientes eutróficos ha sido ampliamente documentada. Sin embargo, su dominancia en sistemas oligo y mesotróficos parece sugerir que factores como la naturaleza de los sistemas acuáticos y los aspectos relacionados con la competencia por el alimento, pudieran jugar un papel decisivo (Fabián y Cruz Pizarro, 1997). También podrían influir las tasas de desarrollo más rápidas de los rotíferos con respecto a la de los crustáceos, lo que permite mantener la población estable y una recuperación rápida de las pérdidas por depredación (Obertegger y col., 2009).

En general, entonces, el patrón exhibido por las comunidades del zooplancton, fue similar entre el embalse Tierra Blanca y el Lago del Círculo Militar.

En el embalse La Mariposa, fue notoria la dominancia de los cladóceros de 2-0 m, contrario a lo registrado por González (2004 b), quien observó que los cladóceros fueron los organismos menos abundantes entre los principales grupos del zooplancton. No obstante, los rotíferos representaron las mayores proporciones. Pequeñas partículas orgánicas y bacterias pudieron estar disponibles en el embalse, bajo las condiciones actuales, las cuales constituyen la base de la alimentación de los rotíferos y de algunos cladóceros (Infante y col., 1992).

En cuanto a los tres estadios principales de crecimiento de los copépodos, el estadio de larva (nauplios) fue dominante en ambos grupos, Cyclopoida y Calanoida, en el embalse Guanapito y Lagos del Círculo Militar y de Valencia. En el embalse Tierra Blanca no se registraron individuos del grupo de los Calanoida, por lo que los nauplios de Cyclopoida fueron dominantes. Aparentemente, en cada cuerpo de agua, muestreado en estaciones climáticas distintas, los copépodos presentaron tasas reproductivas altas.

En los embalses La Mariposa y La Pereza los copepoditos de Cyclopoida fueron dominantes. En estos, al igual que en los otros sistemas, la baja predominancia de los estadios adultos pudiera indicar una mayor presión selectiva del ambiente, bien sea por las condiciones abióticas (estrés ambiental) o bióticas (depredación, disponibilidad de alimento) sobre los organismos de mayor tamaño del zooplancton (González, 2004 b).

Es de hacer notar que sólo en el embalse La Pereza dominaron en abundancia los individuos adultos de Calanoida. Sin embargo, Ortaz y colaboradores (1999) detectaron variaciones en sus densidades, concluyendo que la reproducción de estos individuos puede estar afectada por las condiciones y el alimento disponible en el sistema. Estas variables y la presencia de los depredadores, influyen sobre la distribución vertical y la abundancia de estos organismos.

En el Lago del Círculo Militar, tal patrón pudiera responder a la depredación de los peces sobre el zooplancton de mayor tamaño aunque resulta difícil afirmarlo con tan sólo un muestreo puntual. Así, Fabián y Cruz-Pizarro (1997), reportan que en la predominancia de formas de pequeño y mediano tamaño, es posible

evidenciar los efectos derivados de una presión de depredación sobre formas mayores. Sin embargo, también es posible que, debido a lo somero del sistema, los organismos zooplanctónicos estén sometidos a un mayor estrés físico, lo cual es una de las conclusiones de Carrasquel (2010).

En el embalse Tierra Blanca se registró la presencia de larvas del díptero *Chaoborus* sp. Por su tamaño pequeño, las larvas de *Chaoborus* están limitadas a alimentarse de zooplancton pequeño tal como cladóceros, copépodos y rotíferos. Estas larvas, pueden eliminar completamente ciertas especies del zooplancton en los lagos (Lencioni, 2006). La depredación de este organismo sobre el zooplancton pudo afectar las abundancias de los copépodos adultos y la de los cladóceros en este cuerpo de agua, lo que explicaría las bajas abundancias de estos grupos, lo cual coincide con lo registrado previamente por González (2004 a).

En cuanto a los taxones registrados en los 6 ambientes, Infante y colaboradores (1992) identificaron 15 taxones en el embalse Guanapito, mientras que en el presente trabajo se identificaron 7. Además, Infante y colaboradores (1992), reportaron organismos de la especie *Diaphanosoma* sp., pero no reportaron protozoarios. Por el contrario, en el presente trabajo, los protozoarios sí fueron registrados (*Trichodina* sp.) mientras que *Diaphanosoma spinulosum* no pudo ser detectado en las determinaciones de abundancia por sus bajas densidades poblacionales; esta especie sí fue detectada, pero en otras localidades del embalse alejadas del punto de muestreo (González, comunicación personal).

No se registraron copépodos Calanoida en el embalse Tierra Blanca (como en González, 2004 a) ni protozoarios, pero estos sí han sido reportados para este sistema. En este cuerpo de agua se ha registrado la presencia de *Diaphanosoma spinulosum* (González, 2004 a). Es de hacer notar que Infante (1980 b), no reportó esta especie en el Lago de Valencia, sino que reportó *Diaphanosoma brachyurum*, aunque según Korinek (1981) (citado en El Moor-Loureiro, 1997) *D. brachyurum* es una especie que sólo se encuentra en las zonas templadas, por lo que en los trópicos, los registros de esta especie posiblemente correspondan, en realidad, a *D. birgei*.

Ortiz y colaboradores (1999) registraron en el embalse La Pereza 13 taxones, incluyendo los ostrácodos y reportaron organismos de la especie *Diaphanosoma* sp. En el presente estudio se registraron 10, dentro de los cuales no hubo presencia de ostrácodos. Sin embargo, debe recordarse que en este estudio sólo se muestreó de manera puntual cada cuerpo de agua, por lo que no necesariamente se registraron todos los taxones que pudieron estar presentes en ellos.

González (2004 b), en el embalse La Mariposa, identificó 19 taxones del zooplancton, mientras que en este trabajo sólo fueron registrados 12. A diferencia del primero, no se encontraron copépodos Calanoida ni Harpacticoida, como tampoco protozoarios ni dípteros. Estos autores reportaron la presencia de *Diaphanosoma*, aunque no identificaron la especie.

Con base en este estudio, el género de cladóceros encontrado en los seis ambientes fue *Diaphanosoma* mientras que la especie registrada en 4 de los 6 ambientes fue *Diaphanosoma spinulosum*. Esta especie también ha sido registrada en Paraguay, Argentina, Brasil (Carruyo-Noguera, 2004), Perú, Costa Rica, Cuba y El Salvador, entre otros (Fernando, 2002). En Venezuela, en: río Socuy, embalse de Manuelote, cuenca del río Catatumbo y en la cuenca del río Orinoco (Carruyo-Noguera, 2004). Según Elmoor-Loureiro (1998, citada en De Melo Jr., 2007), esta especie es euriótica (tolera una gran variedad de hábitats) y posee una distribución neotropical.

El ACP desarrollado con las variables físicoquímicas y biológicas de los sistemas estudiados, indicó que el Lago de Valencia estuvo asociado a los más altos valores de conductividad y abundancia de copépodos y protozoarios.

Los altos valores de oxígeno y de la abundancia de dípteros estuvieron asociados al Lago del Círculo Militar, mientras que el grupo 1 (embalses La Mariposa, Guanapito y Tierra Blanca) fueron asociados con altos valores de abundancia de ostrácodos.

En el análisis de cluster se observó la formación de tres grupos de cuerpos de agua. El Lago del Círculo Militar y el embalse Tierra Blanca fueron más similares entre sí que a los otros ambientes. Dichos sistemas presentaron características semejantes, sobre todo en lo que concierne al zooplancton, aunque

variaron en otras variables y justamente ambos fueron clasificados como oligo-mesotróficos, con la menor carga de nutrientes entre los sistemas estudiados.

Por su parte, el Lago de Valencia y el embalse La Mariposa formaron otro grupo, relacionados por sus estados tróficos. Finalmente, los embalses Guanapito y La Pereza conformaron otro grupo, relacionados también por sus estados tróficos.

Se obtuvo el mismo patrón al realizar los análisis tanto con la medida de similitud de Chord y la de Bray-Curtis, pero sólo se muestra el primero por ser más fácil de visualizar. A pesar de haberse realizado muestreos puntuales, el análisis cluster también agrupó a los cuerpos de agua según sus estados tróficos.

#### **4. Análisis molecular.**

El ADN es particularmente susceptible a la degradación por endonucleasas hidrolíticas y oxidativas, las cuales si no son contrarrestadas, descomponen largas cadenas de información en pequeños fragmentos, reduciendo su uso en muchos análisis (Dawson y col., 1998).

La actividad enzimática y la degradación consecuente del ADN pueden ser limitadas ajustando el pH, la concentración de sales o la temperatura. Las muestras pueden ser preservadas exitosamente por tratamientos físicos o químicos. La criopreservación es el método preferido de protección del ADN y puede ser realizado por congelamiento de las muestras en hielo seco o en nitrógeno líquido. Sin embargo, ambos métodos son difíciles de usar en campo,

porque requieren un manejo cuidadoso y un equipo especial (Dawson y col., 1998).

El protocolo estándar usado por los ecólogos del plancton es frecuentemente matar y fijar a los especímenes del zooplancton mediante el uso de una solución de formalina al 4% de concentración final, para estudios futuros. La solución de formalina 4% ha sido recomendada porque reduce las distorsiones morfológicas, incluso de animales blandos, al tiempo que proporciona las propiedades del formol de conservación y fijación. La distorsión mínima es particularmente deseable en estudios de depredación tamaño-selectiva o sobre las tasas reproductivas. Sin embargo, mientras que hay ventajas por la fijación con formalina, existen también importantes problemas a la salud humana por exposición al formaldehído (Black y Dodson, 2003).

La formalina es poco costosa y efectiva. Sin embargo, la preservación de los tejidos en formalina tiene numerosos impactos directos e indirectos sobre la estructura del ADN, tales como la desnaturalización irreversible, modificación y fragmentación. En adición, el formol sin búfer o la formalina tamponada luego de largo almacenamiento, puede ser muy ácida, fragmentando y desnaturalizando el ADN (Bucklin y Allen, 2004). Ante esto, el uso de etanol para la preservación de los tejidos con fines de análisis genéticos ha sido ampliamente reportado (Silva, 2003) y fue corroborado en este estudio.



Respecto a los métodos de extracción empleados, aunque el método 1 fue aplicado por Vestheim y colaboradores (2005), en este trabajo no se obtuvieron resultados positivos. Es un proceso muy sencillo que consiste en hervir a los individuos, triturarlos y posteriormente agregar la mezcla de PCR. El trabajo original no especifica el uso de búfer ni soluciones para garantizar la lisis de las células más allá de la trituración y tampoco se realiza una correcta extracción de componentes celulares, lo que podría explicar su baja eficiencia. En este estudio, los organismos no eran visualizados, por lo que no se garantizó que fueran triturados efectivamente.

El método 2 (Towner, 1991), aplicado por Braga y colaboradores (1999), es un protocolo más elaborado que el anterior, que involucra también la trituración del individuo, previa resuspensión en nitrógeno líquido y, además, emplea los solventes orgánicos fenol-cloroformo para una adecuada extracción de proteínas, lípidos y otros componentes celulares. No obstante, al comprobar su eficiencia mediante PCR sólo se obtuvieron amplificaciones inespecíficas, sugiriendo la posibilidad de que el material genético sí hubiera sido extraído eficientemente.

Con el método 3, protocolo del estuche "AccuPrep Stool DNA Extraction kit" (Bioneer), sí se obtuvieron bandas definidas en las amplificaciones por PCR luego de incorporar modificaciones, como por ejemplo la de hidratar a los individuos antes del proceso de extracción y sobre todo triturarlos, ya que los cladóceros presentan un exoesqueleto quitinoso que puede ser considerado como una barrera para la lisis (Gorokhova, 2005).

La efectividad de los métodos de extracción no dependió de la cantidad de individuos desde los cuales se partía el protocolo de aislamiento, ya que fueron

realizados con un individuo y hasta con 55 individuos, obteniéndose resultados positivos en ambos casos. Este resultado es de gran relevancia para estudios posteriores, en los cuales es importante partir de un solo individuo.

A través de las corridas electroforéticas realizadas se observaron bandas, resultados de las amplificaciones con los cebadores de los genes 12S ARNr, mtCOI y de la región espaciadora ITS2. Sin embargo, el rendimiento y la calidad de los productos de amplificación de los dos primeros genes no fueron adecuados para realizar la secuenciación y tampoco se logró reamplificar el material genético en una segunda ronda de PCR. Los resultados negativos, obtenidos en la secuenciación de la región ITS2, nos indicarían que los cebadores empleados no fueron específicos para la región estimada en otros géneros.

Los cebadores empleados en este trabajo para amplificar el gen 12S ARNr fueron diseñados por Taylor y colaboradores (1996) a partir de regiones conservadas entre *Daphnia pulex* y *Drosophila yakuba* dentro del gen mitocondrial. Tales iniciadores han sido usados para otros análisis con el género *Daphnia* (Colbourne y Hebert, 1996), pero nunca con *D. birgei*.

Para la región ITS2 los iniciadores han sido usados previamente, obteniéndose resultados efectivos con copépodos, pero nunca con *D. birgei* (Silva, 2003).

En cuanto al gen mtCOI, los iniciadores empleados fueron diseñados por Folmer (1994) como cebadores de ADN universales para la amplificación de la reacción en cadena de la polimerasa de un fragmento de 710 pb del gen mtCOI. Estos fueron empleados por Elías-Gutiérrez y colaboradores (2008); sin embargo,

los autores indicaron en sus resultados que las amplificaciones fallaron para 13 especies de Cladocera y 6 especies de Copepoda.

Por estos resultados fallidos se realizó el análisis “in silico” mostrado en las figuras 65, 66 y 67. En la bibliografía consultada no hubo reportes de estudios moleculares con esta especie. Por lo tanto, no existen registros que permitieran confirmar la eficiencia de los iniciadores con estos organismos y aun cuando los empleados para el gen mtCOI son “universales,” no resultaron eficientes.

En las alineaciones realizadas utilizando BLAST, se observó que no hubo hibridación con más de 10 pb, entre algunos de los juegos de cebadores empleados y las secuencias reportadas de diferentes individuos.

Finalmente, aunque se obtuvieron bandas producto de la amplificación, al no poder secuenciar el material genético, no se pudo comprobar la eficiencia de los cebadores ni de las PCR desarrolladas sugiriendo resultados inespecíficos. Sin embargo, el estuche comercial permitió estandarizar con éxito el método de extracción de los ácidos nucleicos para *Diaphanosoma birgei*.

Para investigaciones próximas, se recomienda el diseño de cebadores específicos para estas regiones del genoma de *Diaphanosoma birgei*, o alternativamente utilizar otros cebadores reportados previamente con otros organismos y que puedan producir resultados más acertados. Es de hacer notar que este trabajo representa la primera aproximación hacia el estudio molecular de *D. birgei*, estandarizando la preservación de los individuos y el aislamiento exitoso de su material genético.

## CONCLUSIONES

1. Los embalses La Pereza, Guanapito, Tierra Blanca y La Mariposa estuvieron estratificados térmicamente el día del muestreo. Los Lagos del Círculo Militar y de Valencia presentaron una estratificación térmica menos marcada.

2. Se registraron condiciones de hipoxia/anoxia sólo en los embalses La Pereza, Tierra Blanca y en el Lago de Valencia.

3. Los embalses Guanapito, La Pereza, Tierra Blanca y el Lago del Círculo Militar, por sus bajos valores de conductividad, fueron considerados como de baja salinidad. El Lago de Valencia y el embalse La Mariposa presentaron salinidades medias.

4. Las aguas de los sistemas acuáticos estudiados presentaron un carácter alcalino.

5. El valor mayor de clorofila-a fue registrado en el Lago del Círculo Militar, seguido por el embalse La Pereza, el Lago de Valencia y los embalses Tierra Blanca y La Mariposa. En el embalse Guanapito, sus valores fueron tan bajos que estuvieron por debajo del límite de detección.

6. Los embalses Guanapito y La Mariposa presentaron las menores abundancias de zooplancton, seguidos en orden ascendente por el embalse La Pereza, el Lago del Círculo Militar, el embalse Tierra Blanca y el Lago de Valencia.

7. Los copépodos fueron dominantes en los embalses Guanapito y La Pereza y en el Lago de Valencia. En los embalses Tierra Blanca y La Mariposa y en el Lago del Círculo Militar, los rotíferos representaron las mayores proporciones del zooplancton total. El género de cladócero encontrado en los seis ambientes

estudiados fue *Diaphanosoma*, por lo que estos individuos fueron seleccionados para los estudios moleculares (*Diaphanosoma birgei*).

8. El estadio de larva (nauplios) de los copépodos fue dominante en los embalses Guanapito, Tierra Blanca y Lagos del Círculo Militar y de Valencia. En los embalses La Mariposa y La Pereza, fueron los copepoditos.

9. El Análisis de Componentes Principales desarrollado con las variables físicoquímicas y biológicas de los sistemas estudiados separó a los lagos entre sí y de los embalses. En el Análisis de Cluster, se observó la formación de tres grupos de cuerpos de agua, coincidiendo con sus clasificaciones según su estado trófico.

10. La extracción de ácidos nucleicos desde microcrustáceos, resultó más exitosa con muestras preservadas en etanol que en formol y empleando el estuche comercial AccuPrep Stool DNA Extraction kit” (Bioneer).

11. Los cebadores empleados no fueron lo suficientemente específicos como para obtenerse resultados de PCR reproducibles y lograr productos para tener la secuencia de los amplicones.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Afifi, A., y Clark, V. 1984. Computer-aided multivariate analysis. Van Nostrand Reimhold, New York.
2. Arrivillaga, J., Norris, D., Feliciangeli, M., Lanzaro, G. 2002. Phylogeography of the neotropical sand fly *Lutzomyia longipalpis* inferred from mitochondrial DNA sequences. *Infect. Genet. Evol.*, **2**: 83-95
3. Belyaeva, M., Taylor, D. 2009. Cryptic species within the *Chydorus sphaericus* species complex (Crustacea: Cladocera) revealed by molecular markers and sexual stage. *Mol. Phylogenet. Evol.* **50**: 534–546.
4. Black, A., Dodson, S. 2003. Ethanol: a better preservation technique for *Daphnia*. *Limnol. Oceanogr. Methods.* **1**: 45-50.
5. Blair, D., Agatsuma, T., Watanobe, T., Okamoto, M., Ito, A. 1997. Geographical genetic structure within the human lung fluke, *Paragonimus westermani*, detected from DNA sequences. *Parasitology*, **115**: 411-417.
6. Braga, E., Zardoya, R., Meyer, A., Yen, J. 1999. Mitochondrial and nuclear rRNA based copepod phylogeny with emphasis on the Euchaetidae (Calanoida). *Mar. Biol.* **133**: 79-90.
7. Bucklin, A., Frost, B., Kocher, T. 1992. DNA sequence variation of the mitochondrial 16S rRNA in *Calanus* (Copepoda; Calanoida): intraspecific and interspecific patterns. *Molec. Mar. Biol. Biotechnol.* **1**: 397-407.
8. Bucklin, A., Frost, B., Kocher, T. 1995. Molecular systematics of six *Calanus* and three *Metridia* species (Calanoida: Copepoda). *Mar. Biol.* **121**: 655-664.

9. Bucklin, A., Frost, B., Bradford-Grieve, J., Allen, L., Copley, N. 2003. Molecular systematic and phylogenetic assessment of 34 calanoid copepod species of the Calanidae and Clausocalanidae. *Mar. Biol.* **142**: 333-343.
10. Bucklin, A., Allen, L. 2004. mtDNA sequencing from zooplankton after long-term preservation in buffered formalin. *Mol. Phylogenet. Evol.* **30**: 879–882
11. Burton, R., Lee, B. 1994. Nuclear and mitochondrial gene genealogies and allozyme polymorphism across a major phylogeographic break in the copepod *Tigriopus californicus*. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* **91**: 5197-5201.
12. Carrasquel, J. 2010. Variaciones temporales de la abundancia de los principales grupos del zooplancton del Lago del Círculo Militar de Caracas (DC) y taxonomía molecular de *Thermocyclops decipiens* (Kiefer, 1929) (copépodo Cyclopoida). Tesis de Licenciatura. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Ciencias. Caracas, Venezuela.
13. Carruyo-Noguera, J., Reyes, J., Casler, C., Reverol, Y. 2004. Cladóceros (Crustacea, Branchiopoda) de la Laguna de Kunana, Sierra de Perijá, Estado Zulia, Venezuela. [en línea]. [http://www.serbi.luz.edu.ve/pdf/bcib/v38n2/art\\_05.pdf](http://www.serbi.luz.edu.ve/pdf/bcib/v38n2/art_05.pdf). [Consulta: 4 abril 2010].
14. Colbourne, J., Hebert, P. 1996. The systematics of North American Daphnia (Crustacea: Anomopoda): a molecular phylogenetic approach. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* **351**: 349-360
15. Cole, G. 1983. Textbook of Limnology. Prospect Heights, Illinois: Waveland.

16. Conde-Porcuna, J., Ramos-Rodríguez, E., Morales-Baquero, R. 2004. El zooplancton como integrante de la estructura trófica de los ecosistemas lénticos. *Ecosistemas*, **13**: 23-29.
17. Cressa, C., Senior C. 1990. Características físico-químicas de las aguas del Embalse de Guanapito, Venezuela. *Ecotrópicos*, **3**: 33-51.
18. Cressa, C., Vasquez, E., Zoppi, E., Rincón, J., López, C. 1993. Aspectos generales de la limnología en Venezuela. *Interciencia*, **18**: 237-248.
19. Cruickshank, R. 2002. Molecular markers for the phylogenetics of mites and ticks. *Syst. Appl. Acarology*, **7**: 3-14.
20. Dawson, M., Raskoff, K., Jacobs, D. 1998. Field preservation of marine invertebrate tissue for DNA analyses. *Mol. Mar. Biol. Biotech.* **7**: 145-152.
21. De Melo Jr., M., Dos Santos, V., Nogueira, M., Do Nascimento, A. 2007. Crustáceos planctônicos de um reservatório oligotrófico do Nordeste do Brasil. *Zoociencias*. **9**: 19-30.
22. Elías-Gutiérrez, M., Martínez, F., Ivanova, N., Valdez-Moreno, M., Hebert, P. 2008. DNA barcodes for Cladocera and Copepoda from Mexico and Guatemala, highlights and new discoveries. *Zootaxa* **1839**, 1-42.
23. El Moor-Loureiro, L.M.A. 1997. Manual de identificação de cladóceros límnicos do Brasil. Editora Universa, Brasil.
24. Fabián, D., Cruz-Pizarro, L. 1997. Variaciones espaciales y temporales del zooplancton en un lago monomíctico eutrófico (Lago Ton-Ton, Uruguay). *Limnetica*, **13**: 55-68.
25. Fernando, C.H. 2002. A guide to tropical freshwater zooplankton. Identification, ecology and impact on fisheries. Backhuys Publishers, The Netherlands.



26. Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., Vrijenhoek, R. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome C oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mar. Biol. Biotech.* **3**: 294-299.
27. Gavidia, J. 2003. Variación en la abundancia y biomasa del zooplancton en dos localidades del embalse Tierra Blanca, Estado Guárico. Tesis de Licenciatura. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Ciencias. Caracas, Venezuela.
28. Gessner, F. 1956. Ergebnisse der deutschen limnologischen Venezuela-expedition 1952. Deutscher verlag der wisserns chaf ten, Berlín.
29. Gessner, F. 1968. El plancton del Lago de Valencia. *El Lago* **9**: 98-100.
30. Ginez, A., Olivo, M.L., Rodríguez, A. 1983. Inventario de los embalses manejados por el Instituto Nacional de Obras Sanitarias (INOS), con información básica para la actividad piscícola. Parte III. Sinopsis de los embalses con fines piscícolas. Ministerio del Ambiente y de los Recursos Naturales Renovables. Caracas.
31. Ginez, A., y Olivo, M.L. 1984. Inventario de los embalses con información básica para la actividad piscícola. Parte I. Sinopsis de los embalses administrados por el MARNR. Ministerio del Ambiente y de los Recursos Naturales Renovables. Caracas.
32. González, E. 2004 a. Caracterización limnológica de los embalses Agua Fría (Edo. Miranda) y Tierra Blanca (Edo. Guárico). Proyecto S1-98001361. Etapa II. Caracterización del embalse Tierra Blanca (Edo. Guárico). Informe Técnico. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.

33. González, E. 2004 b. Distribución espacial del zooplancton en el embalse La Mariposa. Proyecto individual. Informe Técnico. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.
34. González, E., Ortaz, M. 1998. Efectos del enriquecimiento con N y P sobre la comunidad del fitoplancton en microcosmos de un embalse tropical (La Mariposa, Venezuela). *Rev. Biol. Trop.* **46**: 27-34
35. González, E., Ortaz, M., Matos, M., Mendoza, J., Peñaherrera, C., Carrillo, V. 2002. Zooplancton de dos embalses neotropicales con distintos estados tróficos. *Interciencia*, **27**: 551-558.
36. González, E., Ortaz, M., Peñaherrera, C., Montes, E., Matos, M., Mendoza, J. 2003. Fitoplancton de cinco embalses de Venezuela con diferentes estados tróficos. *Limnetica* **22**: 15-35.
37. González, E., Ortaz, M., Peñaherrera, C., Matos, M. 2004. Fitoplancton de un embalse tropical hipereutrófico (Pao-Cachinche, Venezuela): abundancia, biomasa y producción primaria. *Interciencia*, **29**: 548-555.
38. Gordon, E., Rodríguez, M., Malaver, N., Fernández, M., Ortaz, M., Molina, C., Morales, L., González, E. 2008. Informe del estudio preliminar sobre las características fisicoquímicas, vegetación y fauna del Lago del Círculo Militar. Instituto de Zoología Tropical, Instituto de Biología Experimental, Universidad Central de Venezuela.
39. Gorokhova, E. 2005. Effects of preservation and storage of microcrustaceans in RNA/ater on RNA and DNA degradation. *Limnol. Oceanogr. Methods.* **3**: 143-148.

40. Guðmundsdóttir, R. 2008. *Pseudocalanus* in Svalbard waters: identification and distribution patterns of two sibling copepod species. Tesis de Maestría. Department of Aquatic Bio Sciences. Norwegian College of Fishery Science. University of Tromsø. University Centre in Svalbard.
41. Gutiérrez, E., Subramhanya, S. 1999. Zooplancton de sistemas acuáticos epicontinentales mexicanos en la región central de México. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Informe final SNIB-CONABIO. México D.F.
42. Hanner, R., Fugate, M. 1997. Branchiopod phylogenetic reconstruction from 12S rDNA sequence data. *J. Crustacean Biol.* **17**: 174-183.
43. Hebert, P., Cywinska, A., Ball, S., De Waard, J. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. The Royal Society. [en línea]. [http://www.barcoding.si.edu/BackgroundPublications/Hebert\\_et\\_al\\_2003\\_DNABarcodes.pdf](http://www.barcoding.si.edu/BackgroundPublications/Hebert_et_al_2003_DNABarcodes.pdf) [Consulta: 24 abril 2009].
44. Hernández, L. 2006. Relaciones filogenéticas de *Premnoplex tatei* Chapman 1925 (Aves, Furnariidae). Tesis de Licenciatura. Escuela de Biología. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela.
45. Hill, R., Allen, L., Bucklin, A. 2001. Multiplexed species-specific PCR protocol to discriminate four N. Atlantic *Calanus* species, with a mtCOI gene tree for ten *Calanus* species. *Mar. Biol.* **139**: 279-287.
46. Horne, A., Goldman, C. 1994. Limnology. Segunda edición. Editorial McGraw-Hill, Inc. EE.UU.

47. Hwang, U., Kim, W. 1999. General properties and phylogenetic utilities of nuclear ribosomal DNA and mitochondrial DNA commonly used in molecular systematics. *The Korean J. Parasitol.* **37**: 215-228.
48. Infante, A. 1976. Estudio limnológico del Embalse Lagartijo, Estado Miranda, Venezuela. IV. Composición y variaciones estacionales del zooplancton del Embalse de Lagartijo, Estado Miranda. Informe al Instituto Nacional de Obras Sanitarias. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.
49. Infante, A. 1980 a. El zooplancton del Lago de Valencia. Informe Científico. CONICIT. Escuela de Biología, Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.
50. Infante, A. 1980 b. Los cladóceros del Lago de Valencia. *Acta Cient Venez.* **31**: 593-603.
51. Infante, A. 1980 c. Los rotíferos del Lago de Valencia. *Acta Cient. Venez.* **31**: 30-47.
52. Infante, A. 1988. El plancton de las aguas continentales. Monografía N° 33. Serie de Biología. Secretaría de la OEA. Washington.
53. Infante, A. 1990. Informe final de ejecución de proyectos. Proyecto: "Estudio limnológico comparativo del Lago de Valencia (Venezuela) y el Lago de Managua (Nicaragua)". OEA/CIECC. Universidad Central de Venezuela. Laboratorio de Limnología. Escuela de Biología.
54. Infante, A. 1993. Vertical and horizontal distribution of the zooplankton in Lake Valencia. *Acta Limnológica Brasillensia.* **4**: 97-105.
55. Infante, A., Riehl, W., Saunders, J. 1979 a. Los copépodos del Lago de Valencia, Venezuela. *Acta Cient. Venez.* **30**: 224-233.

56. Infante, A., Infante, O., Márquez, M., Lewis, W., Weibezahn, F. 1979 b. Conditions leading to mass mortality of fish and zooplankton in Lake Valencia. *Acta Cient. Venez.* **30**: 67-73.
57. Infante, A., Riehl, W. 1984. The effect of Cyanophyta upon zooplankton in a eutrophic tropical lake (Lake Valencia, Venezuela). *Hydrobiologia.* **113**: 293-298.
58. Infante, A., Infante, O., Vegas, T., Riehl, W. 1992. Proyecto Multinacional de Medio Ambiente y de los Recursos Naturales. Informe final: I etapa (embalses Camatagua, Guanapito y Lagartijo, Venezuela, y Las Canoas, Nicaragua). Universidad Central de Venezuela y Organización de los Estados Americanos. Caracas.
59. Kiefer, F. 1956. Ergebn deutsch limnol Venezuela-exped 1952. **1**: 233-268.
60. Lampert, W., Sommer, U. 1997. Limnoecology: The ecology of lakes and streams. Oxford University Press.
61. Lencioni, M., 2006. Prey selection by *Chaoborus* in the field and laboratory. The Journal of young investigators. **15**. [en línea]. <http://www.jyi.org/research/re.php?id=777> [Consultado: 10 abril 2010].
62. Lewis, W. 1983. Temperature, heat and mixing in Lake Valencia, Venezuela. *Limnol. Oceanogr.* **28**: 273-286.
63. López, C., Villalobos, M., González, E. 2001. Estudios sobre el zooplancton de los embalses de Venezuela: Estado actual y recomendaciones para futuras investigaciones. *Ciencia*, **9**: 217-234.

64. Luque, J., Herráez, A. 2000. *Biología Molecular e Ingeniería Genética. Conceptos, técnicas y aplicaciones en ciencias de la salud.* Elsevier España. Madrid, España.
65. Manduca, J. 1988. Evaluación de la siembra experimental realizada en el Embalse Tierra Blanca, estado Guárico. Trabajo realizado para el Ministerio del Ambiente y de los Recursos Naturales Renovables. Dirección de Manejo de Cuencas. Caracas.
66. Margalef, R. 1983. *Limnología.* Ediciones Omega. Barcelona.
67. MARNR. 1998. *Grandes presas de Venezuela. El Agua. Tomo II.* Ediciones MARNR. Caracas, Venezuela.
68. Martin, J., Davis, G. 2001. An updated classification of the recent Crustacea. Natural History Museum of Los Angeles County. Los Angeles, Estados Unidos. Science series, No. 39.
69. Matsumura-Tundisi, T. 1997. Estudio de diversidad de especies de zooplâncton lacustre do Estado de Sao Paulo. UFSCar.
70. Meneses, L. 1997. Estructura de la comunidad de Cladóceros en La Laguna Alalay (Cochabamba, Bolivia). *Rev. Bol. Ecol.* **3**: 47-59.
71. Navarro, J.C., Weaver, S. 2004. Molecular phylogeny of the Vomifer and Pedroi groups in the Spissipes Section of the subgenus *Culex* (*Melanoconion*). *J. Med. Entomol.* **41**: 575-581.
72. Navarro, J.C, Hernández, C., Rangel-Díaz, G., Guerrero, E., Rangel, Y., Arrivillaga, J. 2009. Invalidación de autapomorfías putativas mediante análisis de filogenia molecular en *Anopheles* subgénero *Nyssorhynchus*. *Bol. Mal. Salud Amb.* **49**: 223-239.

73. Nusch, E. A., Palme, G. 1975. Biologische Methoden Fur der Praxis der Gewasseruntersuchung, Bestimmung des Chlorophyll-a und Phaeopigmentgehaltes in Oberflachenwasser. *GWF-Wasser/Abwasser*, **116**: 562-565.
74. Obertegger, U., Borsato, A., Flaim, G. 2009. Rotifer–crustacean interactions in a pseudokarstic lake: influence of hydrology. *Aquat Ecol.* **44**.
75. Omilian, A., Lynch, M. 2009. Patterns of intraspecific DNA variation in the *Daphnia* nuclear genome. *Genetics*. **182**: 325-336.
76. Ortaz, M., González, E., Peñaherrera, C., Montes, E. 1999. Características limnológicas de los embalses La Pereza, Lagartijo, La Mariposa y Quebrada Seca y preservación del zooplancton como controlador de microalgas mediante técnicas de biomanipulación. Informe Técnico. Hidrocapital, Hidroimpacto y Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.
77. Ortaz, M., González, E., Peñaherrera, C. 2006. Depredación de peces sobre el zooplancton en tres embalses neotropicales con distintos estados tróficos. *Interciencia*. **31**: 517-524.
78. Pearse, A. 1921. Crustacea from Lake Valencia, Venezuela. *Proc. U.S. Nat. Mees*. **59**: 459-462.
79. Penton, E., Hebert, P., Crease, J. 2004. Mitochondrial DNA variation in North American populations of *Daphnia obtusa*: continentalism or cryptic endemism? *Mol. Ecol.* **13**: 97-107.
80. Pérez-Emán, J. 2005. Molecular phylogenetics and biogeography of the Neotropical Redstarts (*Myioborus*; Aves, Parulinae). *Mol. Phylogenet. Evol.*, **37**: 511-528.

81. Piscícola Orinoco C.A. 1991. Estudio de factibilidad recomendable para la futura siembra de peces en el embalse Tierra Blanca, Estado Guárico. Programa Nacional de Manejo Piscícola de Embalses. San Casimiro.
82. Ramírez, J., y Díaz, A. 1992. Fluctuación estacional del zooplancton en la laguna del Parque Norte, Medellín, Colombia. [en línea]. <http://rbt.biologia.ucr.ac.cr/revistas/44-3y451/ramirez1.htm>. [Consultado: 27 abril 2009].
83. Rietzler, A., Rocha, O., Roche, K., Ribeiro, M. 2008. Laboratory demonstration of morphological alterations in *Ceriodaphnia cornuta* Sars (1885) fa *rigaudi* induced by *Chaoborus brasiliensis* Theobald (1901). *Braz. J. Biol.* **68**: 453-454.
84. Roldán, G., Ramírez, J. 2008. Fundamentos de limnología neotropical. Editorial Universidad de Antioquia. 2<sup>da</sup> edición.
85. Salas, H., Martinó, P. 1990. Metodologías simplificadas para la evaluación de eutroficación en lagos cálidos tropicales. Programa regional Cepis/HPE/OPS. Organización Mundial de la Salud. Organización Panamericana de la Salud. Programa de Salud ambiental.
86. Saunders, J., Lewis, W. 1988. Dynamics and control mechanisms in a tropical zooplankton community (Lake Valencia, Venezuela). *Ecol. Monogr.* **58**: 337-353.
87. Schaper, S., Hernández, F., Soto, L. 1998. La lucha contra el dengue: control biológico de larvas de *Aedes aegypti* empleando *Mesocyclops thermocyclopoides* (Crustacea). *Rev. Costarric. Cienc. Méd.* **19**:119-125.



88. Serruya, C., Pollinger, U. 1983. Lakes of the warm belt. Cambridge University Press. Cambridge.
89. Silva, W. 2003. Diversidade dos Cyclopoida (Copépoda, Crustácea) de água doce do Estado de Sao Paulo: Taxonomía, ecologia e genética. Tesis de Doctorado. Universidad Federal de Sao Carlos. Centro de Ciencias Biológicas y de la Salud. Sao Carlos, Brasil.
90. Starkweather, P. 1993. Hierarchical gene trees and molecular phylogeny of the Rotifera: use of the Polymerase Chain Reaction (PCR) to dissect ecological and evolutionary patterns. *Hydrobiologia*, **255/256**: 551-555.
91. Taylor, D., Hebert, P., Colbourne, J. 1996. Phylogenetics and evolution of the *Daphnia longispina* group (Crustacea) based on 12S rDNA sequence and allozyme variation. *Mol. Phylogenet. Evol.* **5**: 495-510.
92. Terdalkar, S., Pai, I. 2001. Statistical approaches for computing diversity of zooplankton in the Andaman sea. *Tropical Ecology*. **42**: 243-250.
93. Tjensvoll, K., Hodneland, K., Nilsen, F., Nylund, A. 2005. Genetic characterization of the mitochondrial DNA from *Lepeophtheirus salmonis* (Crustacea; Copepoda). A new gene organization revealed. *Gene*. **353**: 218–230.
94. Tjensvoll, K., Glover, K., Nylund, A. 2006. Sequence variation in four mitochondrial genes of the salmon louse *Lepeophtheirus salmonis*. *Dis. Aquat. Org.* **68**: 251–259.
95. Towner, P. 1991. Purification of DNA. En: *Brown TA Essential molecular biology*. Oxford University Press, Oxford. **1**: 47-68.

96. Vestheim, H., Edvardsen, B., Kaartvedt, S. 2005. Assessing feeding of a carnivorous copepod using species-specific PCR. *Mar. Biol.* **147**: 381-385.
97. Villabona-González, S., Gavilán-Díaz, R., Estrada-Posada, A. 2007. Cambios nictemerales en la distribución vertical de algunos microcrustáceos en un lago artificial del neotrópico (Colombia). *Limnetica*. **26**: 75-88.
98. Villalobos, L. 2006. Estado de conocimiento de los crustáceos zooplanctónicos dulceacuícolas de Chile. *Gayana*, **70**: 31-39
99. Wetzel, R. 2001. Limnology: lake and river ecosystems. Third Edition. Academic Press, San Diego, EEUU.
100. Wetzel, R., y Likens, G. 2000. Limnological analyses. 3<sup>rd</sup> edition. Springer. New York.

Consultas en línea:

[www.covenpre.org.ve/presas/guanapito.htm](http://www.covenpre.org.ve/presas/guanapito.htm) (23 de abril del 2009)

[Google Earth](#) (23 de abril del 2009)

[http://www.zonu.com/venezuela\\_maps/s\\_LagodeValenciAx.htm](http://www.zonu.com/venezuela_maps/s_LagodeValenciAx.htm) (24 de abril del 2009).

# ANEXOS

## Anexo I

### Determinación de la concentración de clorofila-a

Se determinará por el método de Nusch y Palme (1975).

*Procedimiento:* Se filtran al menos 0,5 litros de cada muestra de agua utilizando filtros Whatman GF/C de 47 mm de diámetro. Luego, el filtro se coloca dentro de un tubo de ensayo. Se agregan 10 mL de etanol 96% en cada tubo de ensayo con los filtros que contienen los organismos con pigmentos fotosintéticos. Los tubos de ensayo con filtros se calientan en baño de María a 75°C por 5 minutos. Luego, se enfrían con agua o con hielo. Después, se maceran los filtros.

Los tubos de ensayo con los filtros macerados se centrifugan a 3000 rpm por un tiempo entre 5-10 minutos. Con una pipeta, se toma una alícuota de cada extracto centrifugado y se mide la absorbancia a 750 nm y a 665 nm en un espectrofotómetro (Genesys 20). A 750 nm se determina la turbidez de la muestra, para corregir la absorbancia de la clorofila-a que es determinada a 665 nm de longitud de onda. El blanco es etanol 96%.

Para destruir la clorofila-a, se acidifican los extractos con HCl 0,4 M (0,01 mL por cada mL de extracto) y, después de un período de 5 minutos, nuevamente se determina la absorbancia a 750 nm y a 665 nm. El pH del extracto debe estar, luego de la acidificación, entre 2,6 y 2,8.

El proceso de filtrado y de extracción de la clorofila debe hacerse en un cuarto con poca iluminación. *Fórmula:*

$$\text{Clorofila-a} = \frac{29,6 (A^b - A^a) \times v}{V \times l}$$

$A^b$  = Absorbancia del extracto original a 665 nm – absorbancia a 750 nm.

**A<sup>a</sup>**= Absorbancia a 665 nm – absorbancia a 750 nm después de acidificar.

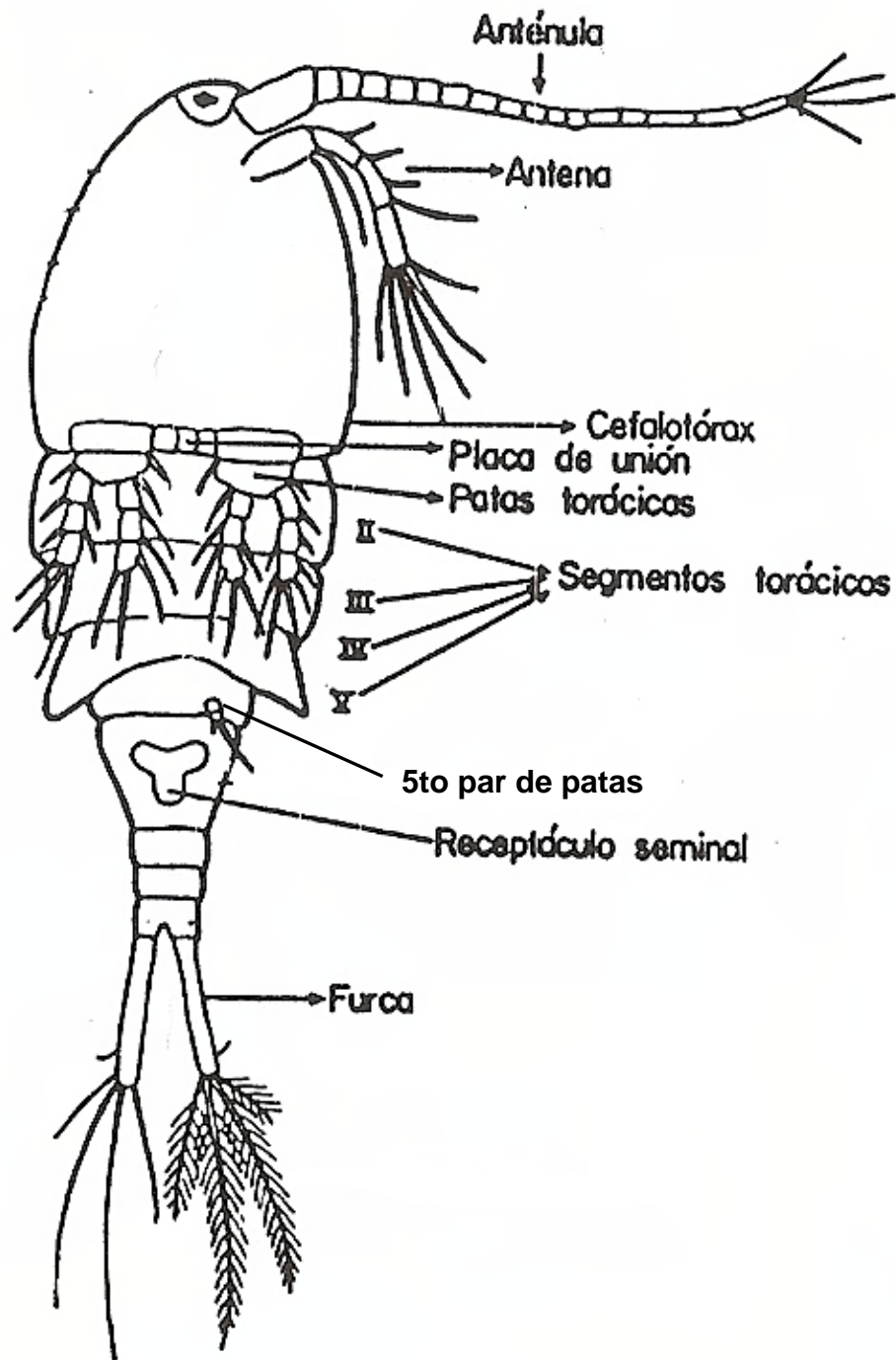
**v**= Volumen de etanol utilizado para la extracción (10 mL).

**V**= Volumen de agua filtrado (0,5 L).

**l**= Longitud del paso de luz en la cubeta del espectrofotómetro (1 cm).

## Anexo II

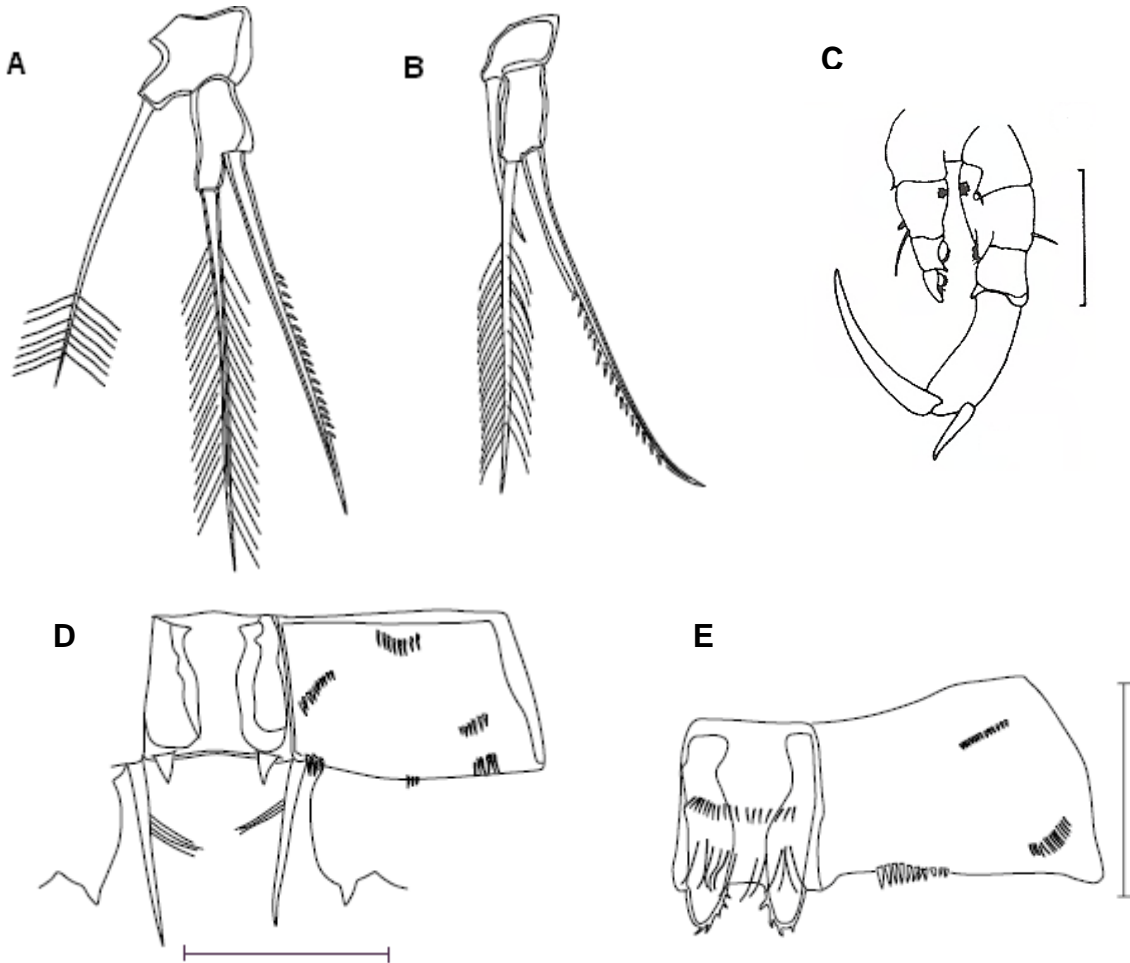
### Esquema general de un copépodo



Esquema general de las partes del cuerpo de un copépodo.  
Fuente: Infante (1988).

### Anexo III

#### Algunos caracteres para la identificación del género y de la especie en copéodos.



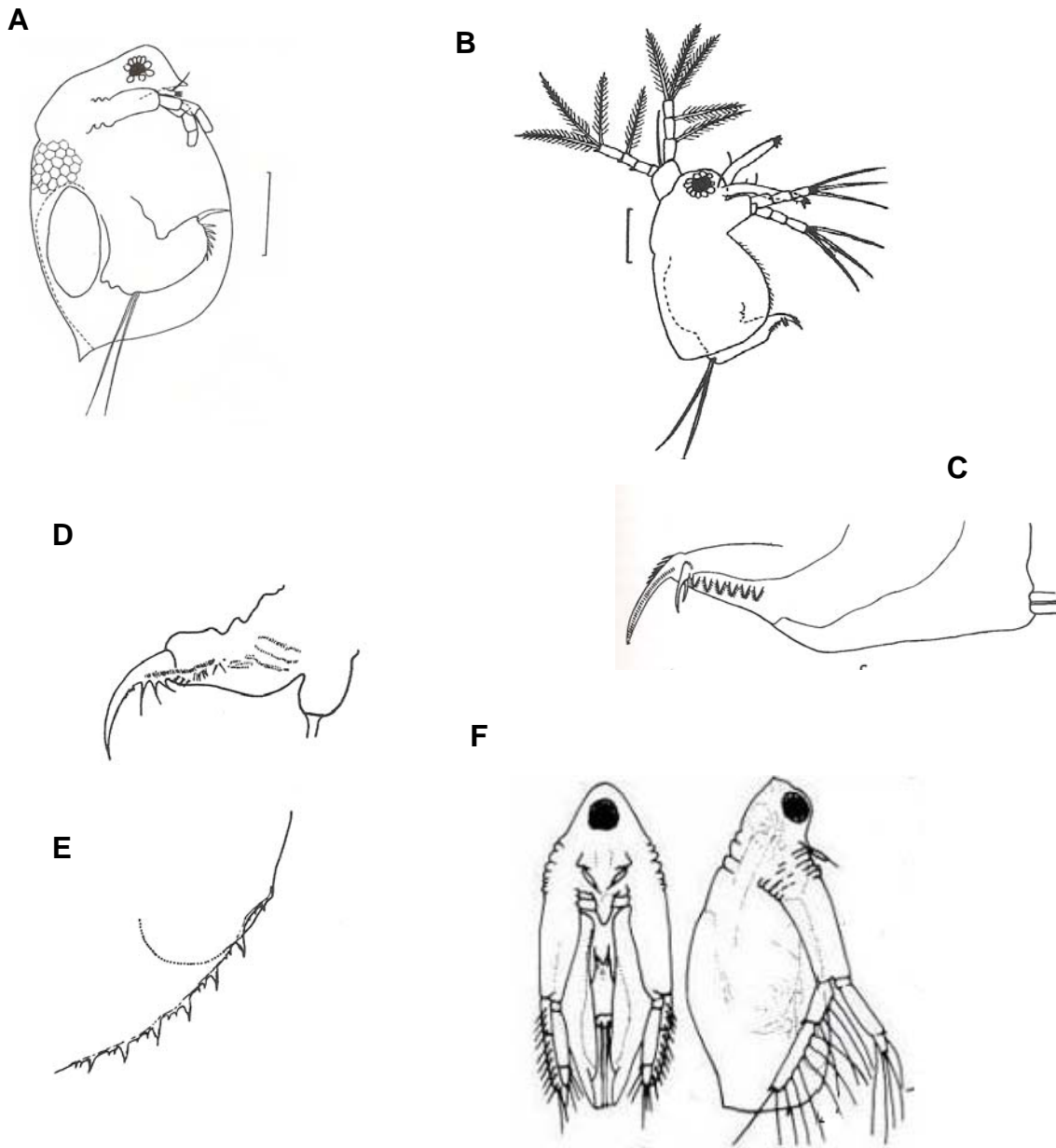
**A-B.** 5<sup>tos</sup> pares de patas de dos géneros diferentes de copéodos Cyclopoida (*Mesocyclops* y *Thermocyclops*, respectivamente). Escala= 100  $\mu$ m. Fuente: Silva (2003).

**C.** 5<sup>to</sup> par de patas del Calanoida *Notodiaptomus venezolanus*. Escala= 0,05 mm. Fuente: Infante y col. (1979 a).

**D-E.** Placa de unión de copéodos Cyclopoida. Géneros *Mesocyclops* y *Thermocyclops*, respectivamente. Escala= 100  $\mu$ m. Fuente: Silva (2003).

## Anexo IV

### Esquemas de cladóceros.

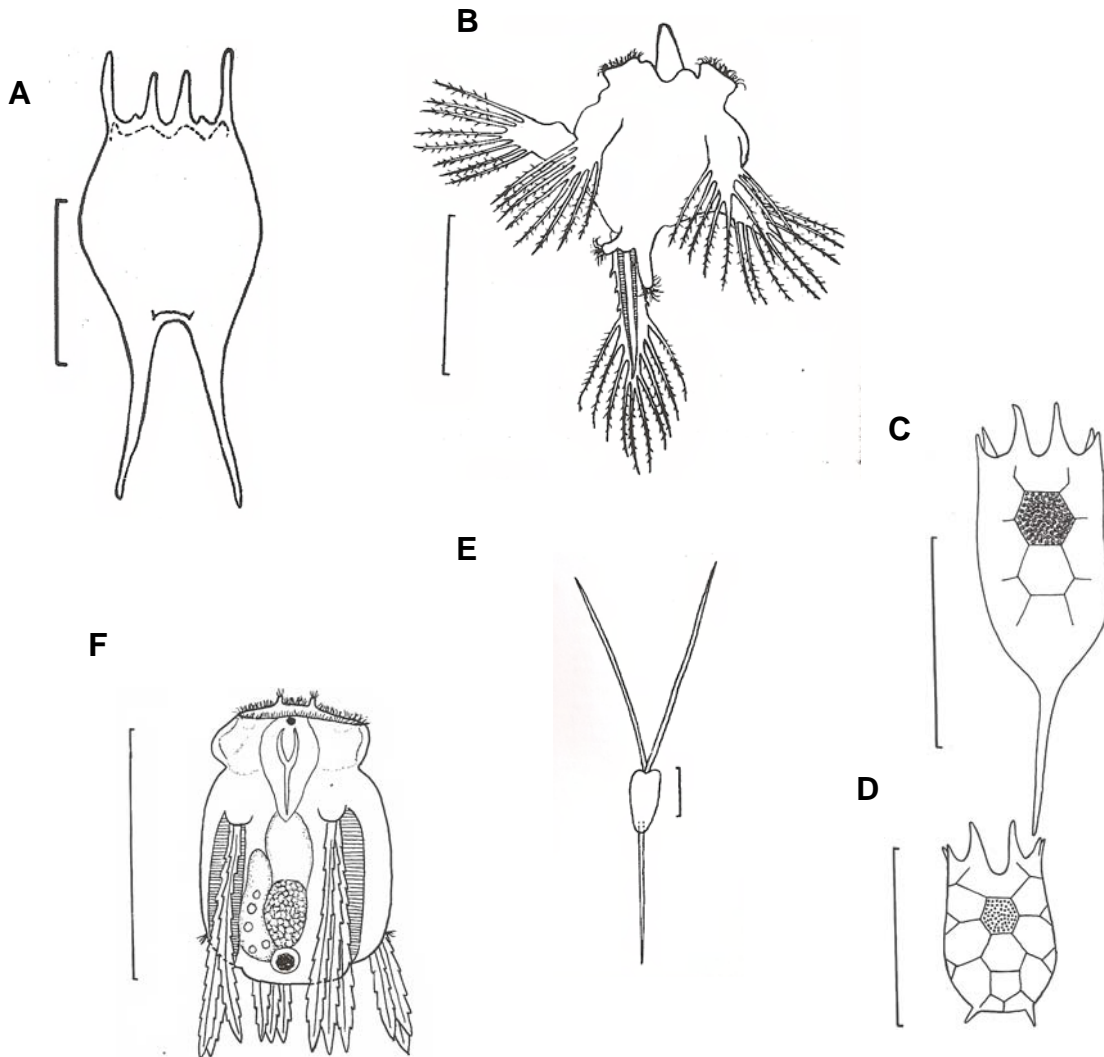


- A. Cladocero: *Ceriodaphnia cornuta*. Fuente: Infante (1980 b).  
B. Cladocero: *Moina* sp. Fuente: Infante (1980 b)  
C. Postabdomen de *Moina* sp. Fuente: Infante (1980 b).  
D. Postabdomen de *Diaphanosoma spinulosum*. Fuente: El Moor-Loureiro (1997).  
E. Margen ventral-posterior de la valva de *Diaphanosoma spinulosum*. Fuente: El Moor-Loureiro (1997).  
F. Cladocero: *Diaphanosoma spinulosum*. Vista frontal y lateral. Fuente: Carruyo-Noguera y col. (2004).



## Anexo V

### Esquemas de rotíferos.



A. Rotifera: *Brachionus havanaensis*. La escala corresponde a 100  $\mu\text{m}$ . Fuente: Infante (1980 c).

B. Rotifera: *Hexarthra intermedia* b. La escala corresponde a 100  $\mu\text{m}$ . Fuente: Infante (1980 c).

C. Rotifera: *Keratella americana*. Vista dorsal. La escala corresponde a 100  $\mu\text{m}$ . Fuente: Infante (1980 c).

D. Rotifera: *Keratella procurva* p. Vista dorsal. La escala corresponde a 100  $\mu\text{m}$ . Fuente: Infante (1980 c).

E. Rotifera: *Filinia longiseta*. La escala corresponde a 100  $\mu\text{m}$ . Fuente: Infante (1980 c).

F. Rotifera: *Polyarthra remata*. La escala corresponde a 100  $\mu\text{m}$ . Fuente: Infante (1980 c).