

DINÁMICA DE COMUNIDADES MICROBIANAS HETEROTRÓFICAS EN LA PLANICIE DE INUNDACIÓN DEL RÍO MAPIRE, VENEZUELA

Alejandra Zamora-Figueroa y Nora Malaver*

Laboratorio de Ecología de Microorganismos. Centro de Ecología Aplicada. Instituto de Zoología y Ecología Tropical. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela. *alejandra.zamora@gmail.com

RESUMEN

En la planicie de inundación del Río Mapiro (Venezuela) se producen anualmente pulsos de inundación y sequía que generan variabilidad espacial y temporal en las condiciones de humedad del suelo. El objetivo fue caracterizar las comunidades microbianas heterotróficas (hongos y bacterias) cultivables asociadas al suelo de la planicie de inundación, y determinar si el gradiente de inundación influye en los patrones de estructura comunitaria y en su función, en referencia a la descomposición de materia orgánica en este tipo de ecosistemas. Se colectaron muestras en tres épocas del año (sequía, entrada de lluvias e inundación) en 4 puntos del gradiente definidos por la intensidad de la inundación. Se compararon en las diferentes zonas y épocas de muestreo los parámetros fisicoquímicos del suelo, densidades de microorganismos y los perfiles fisiológicos de las cepas aisladas, mediante análisis estadísticos. La estructura comunitaria se estimó a través de índices de diversidad funcional y un análisis de clúster permitió identificar equivalencias funcionales. Los resultados muestran patrones espacio-temporales de estructura funcional de la comunidad microbiana como respuesta a heterogeneidad en condiciones edáficas y disponibilidad de sustratos. Se infiere que las comunidades microbianas están adaptadas a los pulsos anuales de inundación, pues la inundación no afecta negativamente el funcionamiento del componente microbiano en el ecosistema y no se detienen los procesos a los cuales está asociado. Las equivalencias funcionales revelan procesos sucesionales debido a los cambios de humedad del suelo y disponibilidad de fuentes de carbono en las distintas épocas del año.

Palabras clave: comunidades microbianas, suelo, planicie de inundación, perfil fisiológico, grupos funcionales, diversidad funcional.

Heterotrophic microbial communities dynamics in the floodplain of Mapiro River, Venezuela

Abstract

Annual pulses of flooding and drought in the floodplain of the Mapiro River (Venezuela) generate spatial and temporal variability in soil moisture conditions. The objective of this study was to characterize the cultivable heterotrophic microbial communities (fungi and bacteria) associated with the floodplain soil to determine if the flood gradient influences the patterns of community structure and its function, in reference to the decomposition of organic matter in this type of

ecosystems. Samples were collected at three times of the year (drought, rainfall and flooding) at 4 points of the gradient defined by the intensity of the flood. Statistical analyzes were used to compare the physicochemical parameters of the soil, the densities of microorganisms and the physiological profiles of the isolated strains in the different sampling areas and times. The community structure was estimated through functional diversity indices and a cluster analysis allowed identification of functional equivalences. The results show spatial-temporal patterns of functional structure of the microbial community as a response to heterogeneity in edaphic conditions and availability of substrates. It is inferred that the microbial communities are adapted to the annual flood pulses, since the flood does not negatively affect the functioning of the microbial component in the ecosystem and the processes to which it is associated do not stop. Functional equivalences reveal successional processes due to changes in soil moisture and availability of carbon sources at different times of the year.

Keywords: microbial communities, soil, floodplain, physiological profile, functional groups, functional diversity.

INTRODUCCIÓN

Las planicies de inundación constituyen áreas cuyos suelos son de origen aluvial en uno o ambos lados de un río, y están sujetos a las inundaciones por desbordamiento durante los períodos de mayor nivel de agua permaneciendo saturados o cubiertos de agua periódicamente (Westermann, 1993, Rinklebe *y col.*, 2007). Las fluctuaciones del nivel freático traen como consecuencia varias condiciones de humedad del suelo, presentando zonas óxicas y anóxicas, lo que permite una amplia gama de procesos anaeróbicos y aeróbicos (Gutknecht *y col.*, 2006).

Diversos estudios en biogeoquímica de humedales han demostrado que la hidrología es el principal factor que afecta la estructura de la comunidad microbiana (Brockett *y col.*, 2012) pues, los períodos de sequía y re-humedecimiento del suelo generan estrés osmótico y competencia por recursos ocasionando presión selectiva (Fierer *y col.*, 2003; Castro *y col.*, 2010), influyendo en los procesos microbianos en este tipo de ecosistemas (Mentzer *y col.*, 2006). Las llanuras de inundación conectan los sistemas terrestres y acuáticos y los microorganismos impulsan la transferencia de nutrientes, elementos y materia orgánica en estos sistemas (Nelson *y col.*, 2016). En ese sentido, la mayoría de los estudios relacionados con la ecología microbiana están orientados a determinar cómo la diversidad de microorganismos influye en el funcionamiento de los ecosistemas y la relación existente entre diversidad-funcionamiento (Hooper *y col.*, 2005; Córdoba-Tapia y Zambrano, 2015). Sin embargo, la dinámica estacional de la comunidad microbiana en suelos de planicies de inundación con condiciones fluctuantes de óxido-reducción es poco conocida, pero se considera importante para entender la comunidad microbiana y la dinámica del ciclo de nutrientes en estos ecosistemas (Moche *y col.*, 2015).

Las comunidades microbianas tienen un importante rol en muchos procesos ecosistémicos, tales como formación y descomposición de materia orgánica, respiración, ciclaje de nutrientes (Delgado-Baquerizo *y col.*, 2016), no obstante, la investigación microbiana en humedales se ha centrado mucho más en microorganismos específicos responsables de procesos clave que en el análisis funcional general de la comunidad microbiana (Gutknecht *y col.*, 2006).

Los estudios independientes del cultivo demuestran que una gran proporción de las poblaciones microbianas autóctonas en los humedales está representada por organismos aún no cultivados con fisiologías y potenciales metabólicos desconocidos (Dedysh, 2011), y además, el conocimiento sobre los microorganismos responsables de la descomposición de la materia orgánica en estos ecosistemas es mucho más limitado (Pankratov *y col.*, 2011) aunque se han realizado algunos avances en el conocimiento del efecto de las variables ambientales en los humedales y en las capacidades metabólicas de los microorganismos (Freixa *y col.*, 2016; Argiroff *y col.*, 2017).

La determinación de patrones de uso de sustratos como indicador de la diversidad funcional (Zak *y col.*, 1994) ha sido ampliamente utilizada para clasificar o caracterizar especies aisladas del suelo, o consorcios microbianos (Campbell *y col.*, 1997). La evaluación de la utilización de diferentes fuentes de carbono por un microorganismo o consorcio de ellos es una metodología que permite establecer el perfil fisiológico de ensamblajes microbianos heterotróficos capaces de ser metabólicamente activos y cultivables (Stefanowicz, 2006; Zamora *y col.*, 2012;). Como ventaja, algunas investigaciones demuestran que éstos métodos convencionales de microbiología, combinados con un enfoque de ecología de comunidades pueden detectar cambios estructurales o funcionales de la comunidad microbiana del suelo (Garau *y col.*, 2007). Así lo demuestran los trabajos de (Huang *y col.*, 2017) en cuyo monitoreo de efecto de enmiendas al suelo encontraron que los resultados de perfiles fisiológicos y la diversidad funcional de la comunidad microbiana del suelo fue consistente con los resultados encontrados con técnicas moleculares (basado en genes del rRNA 16S y rRNA ITS). En otro estudio comparativo, Xue *y col.* (2008) usando Ecoplasmas Biolog, electroforesis en gel con gradiente desnaturalizante (DGGE, por sus siglas en inglés), mostraron resultados similares en términos del efecto del cambio en el uso de la tierra en la estructura de la comunidad microbiana del suelo.

Las variaciones estacionales en las condiciones de humedad originan cambios en las condiciones fisicoquímicas en la solución del suelo (disponibilidad de nutrientes, pH, potencial redox, etc.) que se reflejan en

la respuesta fisiológica de la comunidad microbiana, y estos cambios en la función de la comunidad pueden ser indicadores del funcionamiento del ecosistema en respuesta a condiciones ambientales globales (Lennon *y col.*, 2012, Nelson *y col.*, 2016; García *y col.*, 2018). Por otra parte, el cambio climático podría influir en las condiciones fisicoquímicas de los suelos de las planicies de inundación con los consecuentes impactos en la comunidad microbiana del suelo. Por esta razón se hace necesaria la comprensión de los principales procesos biogeoquímicos, particularmente, las funciones microbianas del suelo como requisito previo para el manejo sostenible de este tipo de ecosistemas en el contexto de la adaptación y mitigación del cambio climático.

En ese sentido, el análisis funcional de comunidades microbianas heterotróficas en planicies de inundación tropicales contribuye al conocimiento de estos ecosistemas ribereños y su biogeoquímica. Con esta premisa, este trabajo procura caracterizar funcionalmente las comunidades microbianas heterotróficas (hongos y bacterias) asociadas al suelo de la planicie de inundación de un río tropical, con la finalidad de determinar si los cambios espaciales y temporales del gradiente de inundación influyen en los patrones de estructura comunitaria, como una variable controladora en el funcionamiento del ecosistema.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio. El sitio de estudio se encuentra ubicado al sur del estado Anzoátegui, Venezuela, en la planicie de inundación del río Mapire (7°44'N y 64°45'W). Este río fluye a través de la Formación Mesa del Pleistoceno, y ha sido clasificado como de aguas negras debido a su color marrón oscuro y a las características oligotróficas en términos de nutrientes y productividad primaria (Vegas-Vilarrúbia, 1988). La temperatura media anual es 27,4°C y la precipitación promedio anual es de 1333 mm, con una estación seca entre noviembre y abril y la estación lluviosa desde mayo hasta octubre (Vegas-Vilarrúbia y Herrera, 1993).

En esta zona ocurre la formación de un lago de inundación estacional como consecuencia del represamiento de las aguas por el río Orinoco, generando un lecho de inundación perpendicular al cauce del río, y donde se puede delimitar claramente un gradiente de inundación que depende de la topografía del área. El estudio se realizó a lo largo de un hidropériodo completo: sequía (T1, Marzo 2009), inicio de lluvias (T2, Mayo 2009) e inundación (T3, Agosto 2009) en cuatro zonas del gradiente, delimitadas

previamente por Chacón y col. (2005): (i) zona baja (MAX), donde la profundidad de la lámina es de 12 m durante ocho meses por año, de mayo a diciembre, de textura arcillosa (54.2% arcilla, 23.3% limos y 22.5% arena); (ii) zona intermedia (MED), donde la inundación alcanza un máximo de cinco metros de profundidad durante cinco meses al año, de junio a noviembre, de textura arcillosa (65% arcilla, 20.8% limos y 14.2% arena) ; (iii) zona alta (MIN), en la que la lámina de agua presenta 1 m de profundidad sólo dos meses por año, de julio a septiembre, de textura franco-arcillo-arenosa (21.7% arcilla, 20.8% limos y 57.5% arena) y se incluyó una zona más elevada topográficamente (NF), donde en ninguna época del año ocurre inundación, de textura arenosa (18.3% arcilla, 20% limos y 61.7% arena).

Colecta de muestras. En cada zona y período, se colectaron muestras de suelo empleando un diseño muestral sistemático. Los puntos de muestreo se arreglaron en un transecto perpendicular al margen del río siguiendo el gradiente de la inundación (Figura 1), y en cada punto de muestreo se tomaron muestras de suelo por triplicado del horizonte superficial del perfil del suelo (0-10 cm), usando un core circular con 8 cm de diámetro (n=3 por zona y fecha de muestreo, total n= 36).

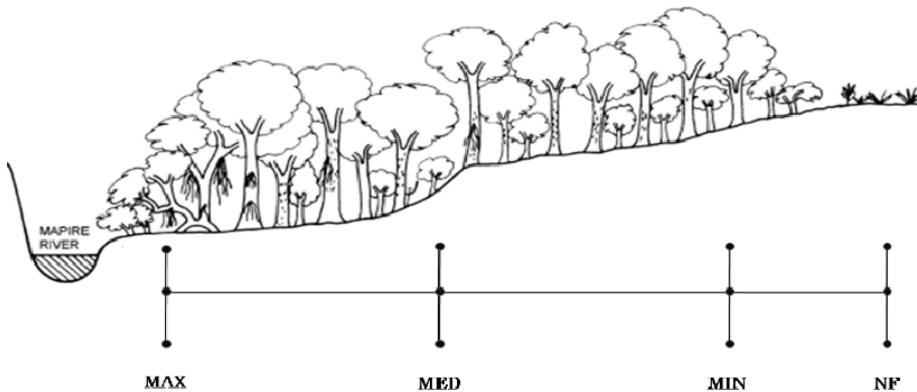


Figura 1. Diseño de la toma de muestras en las diferentes zonas del gradiente de inundación del río Mapire. MAX, zona máxima inundación; MED, zona de inundación media; MIN, zona de mínima inundación, NF, zona nunca inundada. (·) punto de muestreo. Adaptado de Rosales (1988).

Análisis físico y químico del suelo. Las muestras fueron secadas (excepto las muestras para la determinación de humedad y aislamiento microbiano) a temperatura ambiental, entre 26 a 28°C, tamizadas (mesh 10) y homogeneizadas a fin de tomar una fracción representativa para los diferentes análisis. Se determinó el porcentaje de saturación de agua por diferencia en el peso antes y después de secar 10 g de suelo a 110 °C durante 24 horas (Richards, 1941) y se expresó respecto a la capacidad de campo (relación entre la máxima capacidad de retención de agua y el contenido de agua de la muestra). El pH se determinó en una mezcla con proporción 1:2.5 (suelo: agua) de acuerdo a Jackson (1976) utilizando un electrodo estándar de vidrio (HORIBA). La materia orgánica de suelo (%MO) se determinó por el método de oxidación completa (Walkley y Black, 1934).

Aislamiento de microorganismos. Los microorganismos cultivables del suelo fueron activados en medio líquido, agitando durante 8 horas 25 g de suelo en 50 ml de solución salina isotónica (NaCl 0.85 % p/v). Se realizaron diluciones seriadas y se inocularon en placas de agar tripticosa de soya para bacterias aeróbicas, agar tioglicolato para bacterias anaeróbicas y agar malta para hongos. Todas las placas fueron incubadas a temperatura ambiente. Para la incubación de bacterias anaerobias se usaron jarras de anaerobiosis GasPack®. Para determinar la densidad microbiana se cuantificaron las unidades formadoras de colonias (UFC) luego de 24 h para las bacterias y 72 h para los hongos. Para cada época de muestreo, se aislaron aleatoriamente de cada réplica diez cepas de bacterias aeróbicas, diez cepas de bacterias anaeróbicas (para un total de 30 cepas de bacterias aeróbicas y 30 cepas de bacterias anaeróbicas por cada zona del gradiente) y los diferentes morfotipos de hongos.

Determinación del perfil fisiológico y análisis funcional. La caracterización funcional de las comunidades microbianas se realizó a través del potencial bioquímico de cada cepa bacteriana y fúngica aislada. Se realizaron un total de 14 pruebas bioquímicas vinculadas a la mineralización de materia orgánica y ciclaje de N y P en el suelo, que incluyeron: a) utilización de compuestos carbonados como glucosa, lactosa, peptonas, almidón (MacFaddin, 2004), celulosa, lignina, quitina y pectina (Parkinson *y col.*, 1971), b) producción de enzimas como ureasas, proteasas, fitasas, nitrato y nitrito-reductasas (MacFaddin, 2004) y lipasas (Slifkin, 2000) y c) solubilización de fosfatos (Pikovskaya, 1948). Los resultados se expresaron como frecuencias de utilización de cada sustrato (número de respuestas positivas) respecto al total de cepas. La frecuencia de uso de sustratos en cada sitio y época de muestreo se utilizó para calcular el índice de diversidad de Shannon (H') como estimador de la diversidad metabólica de la comunidad microbiana (Zak *y col.*, 1994).

Análisis estadístico. Se realizaron análisis de ordenación de escalamiento multidimensional no métrico (NMDS por sus siglas en inglés) para representar gráficamente los cambios en las variables microbiológicas (densidad microbiana y perfiles de utilización de sustratos) y de variables fisicoquímicas del suelo en las diferentes zonas del gradiente de inundación en las diferentes épocas de muestreo. La ordenación NMDS se llevó a cabo con base a la medida de distancia Bray-Curtis en el software PAST versión 3.2 (Hammer y Harper, 2001). Adicionalmente, a partir de los valores de frecuencia de utilización de cada sustrato se realizó un análisis de componentes principales (ACP) con el software CANOCO versión 4.56 (Braak y Smilauer, 1997), a fin de representar los patrones de actividad fisiológica de las comunidades microbianas en las distintas zonas del gradiente durante las diferentes épocas del año. Se realizó un análisis multivariante permutacional de varianza de dos vías (PERMANOVA por sus siglas en inglés; Anderson *y col.*, 2008) para determinar diferencias estadísticamente significativas de las variables microbiológicas y fisicoquímicas del suelo, entre épocas y sitios de muestreo de la planicie de inundación. Cada prueba se realizó utilizando 9999 permutaciones bajo la suma de cuadrados (SS) de Tipo III y un modelo reducido para generar un estadístico F permutado y un valor de *p*. La contribución de las variables fisicoquímicas y microbiológicas a la disimilitud promedio (PD, por sus siglas en inglés) entre sitios y épocas de muestreo se calculó mediante un procedimiento de porcentaje de similitud (SIMPER por sus siglas en inglés, Clarke y Gorley, 2006). Estos análisis multivariados se realizaron utilizando el software PRIMER 6 y PERMANOVA+ versión 6.1.16. Las diferencias en los índices de diversidad (H') y variables fisicoquímicas se determinaron a través de un análisis de varianza de dos vías (ANOVA) y test de Tukey como prueba *a posteriori*. Se realizó un análisis de cluster, con base a los resultados de presencia o ausencia de utilización de sustratos, empleando el algoritmo de vecino más cercano y como medida de similitud la distancia euclidiana, con la finalidad de agrupar las cepas con perfiles fisiológicos idénticos. Los grupos formados por cepas de distinto tipo: bacterias aeróbicas y anaeróbicas, o bacterias y hongos, u hongos taxonómicamente distintos, se consideraron equivalentes funcionales. Estos análisis se realizaron en el software PAST versión 3.2 (Hammer y Harper, 2001).

RESULTADOS

Dinámica espacio-temporal del gradiente de inundación. La variabilidad espacio-temporal de las variables fisicoquímicas y microbiológicas se representó mediante un NMDS (Figura 2). La

dispersión de los puntos sugiere la formación de un gradiente espacial, y principalmente temporal de condiciones fisicoquímicas en el suelo que se refleja en la expresión de los grupos funcionales microbianos. Las variables fisicoquímicas (Figura 2A) fueron diferentes en todas la localidades (PERMANOVA: $F= 143.4$, $P_{perm}= 0.001$) y entre épocas (PERMANOVA: $F= 830.3$, $P_{perm}= 0.001$), así como la interacción entre ambos factores (PERMANOVA: $F= 44.3$, $P_{perm}= 0.001$).

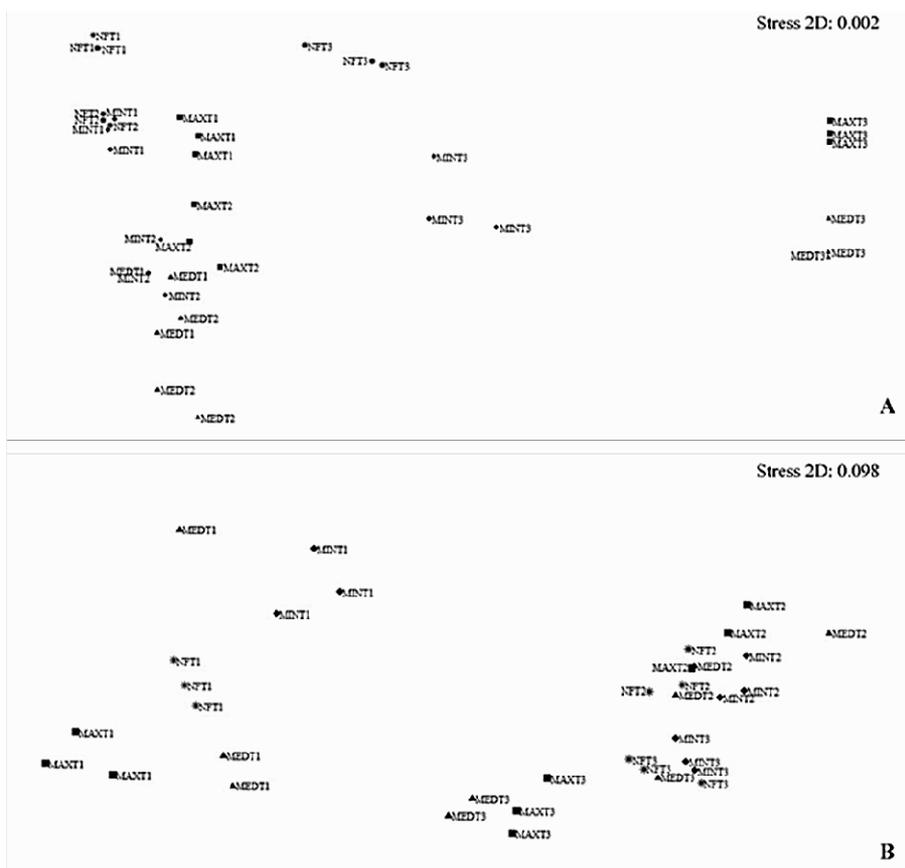


Figura 2. Análisis de ordenación de escalamiento multidimensional no métrico (NMDS) mostrando diferencias entre las zonas del gradiente de inundación y épocas de muestreo. (A) NMDS plot basado en similitudes de variables fisicoquímicas. (B) NMDS plot basado en similitudes de variables microbiológicas. MAX. zona máxima inundación. MED. zona de inundación media. MIN. zona de mínima inundación. NF. zona no inundada. T1. sequía. T2. inicio de lluvias. T3. inundación.

En la Tabla 1 se observa que las zonas más bajas del gradiente (MAX y MED) presentaron un porcentaje de saturación de humedad significativamente mayor respecto a las zonas más elevadas (MIN y NF) en todas las épocas de muestreo (Tukey, $p < 0.05$). Por otra parte, el contenido de materia orgánica en el suelo de las zonas intermedias mostró una tendencia a aumentar con el inicio de lluvias (Tukey, $p < 0.05$), encontrándose en mayor concentración en las zonas intermedias del gradiente (MED y MIN). Los análisis de varianzas indicaron que para ambas variables la interacción de los factores sitio y época de muestreo fueron significativas (ANOVA, $p = 6.35 \text{ E-}17$ y $1.79 \text{ E-}05$, respectivamente). Los valores de pH del suelo indican que el suelo es bastante ácido, y no se encontraron variaciones espacio-temporales significativas. Con relación a la densidad de microorganismos cultivables, se determinó que la interacción de los factores sitio y época de muestreo fue significativa para bacterias aeróbicas y hongos (ANOVA, $p = 3.06 \text{ E-}09$ y 0.02 respectivamente). La densidad de bacterias mostró una tendencia a aumentar (Tukey, $p < 0.05$) durante la época de inicio de lluvias, mientras que la densidad fúngica disminuyó significativamente durante la época de inundación (Tukey, $p < 0.05$) en todas las zonas de muestreo. La riqueza fúngica por otra parte presentó una tendencia particular, encontrándose mayor riqueza de morfotipos de hongos filamentosos y levaduriformes en T2, mientras que en T3 se observó una disminución del número de morfotipos de hongos filamentosos con relación a las levaduras (Tabla 1).

Las disimilitudes entre sitios basadas en variables fisicoquímicas (SIMPER) indicaron que la principal contribución entre MAX y MED (PD=32.11) fue el contenido de materia orgánica (67%), mientras que con el resto de las zonas la principal contribución fue el porcentaje de saturación de humedad (99% de contribución en todos los casos). El SIMPER también indicó que la diferencia entre T1 y T2 (PD=26) se debió al porcentaje de saturación de humedad (59% de contribución) y al contenido de materia orgánica (41%), mientras que en T3 las diferencias se debieron al porcentaje de saturación de humedad (99% de contribución).

Las disimilitudes entre sitios basadas en variables fisicoquímicas (SIMPER) indicaron que la principal contribución entre MAX y MED (PD=32.11) fue el contenido de materia orgánica (67%), mientras que con el resto de las zonas la principal contribución fue el porcentaje de saturación de humedad (99% de contribución en todos los casos). El SIMPER también indicó que la diferencia entre T1 y T2 (PD=26) se debió al porcentaje de saturación de humedad (59% de contribución) y al contenido de materia orgánica (41%), mientras que en T3 las diferencias se debieron al porcentaje de saturación de humedad (99% de contribución).

Tabla 1. Variables fisicoquímicas y microbiológicas en el gradiente de inundación a lo largo del hidropériodo.

Season Zone	H (%)	MO (%)	pH	DensAE Log CFU g ⁻¹	DensAN Log CFU g ⁻¹	DensH Log CFU g ⁻¹	N° morfotipos fúngicos
T1	MAX	18.99 ^{Ba}	7.98 ^{Bb}	3.7 ^{Aa}	7.32 ^{Bc}	8.55 ^{Bb}	8.22 ^{Aa} 9 H 2 L
	MED	15.1 ^{Ba}	13.24 ^{Ba}	3.8 ^{Aa}	9.17 ^{Ca}	8.90 ^{Bab}	6.77 ^{ABab} 4 H 1 L
	MIN	8.82 ^{Bb}	8.39 ^{Bb}	4.1 ^{Aa}	8.18 ^{Bb}	10.65 ^{Ba}	5.26 ^{Bb} 3 H 4 L
	NF	6.82 ^{Bb}	5.63 ^{Bc}	3.9 ^{Aa}	7.32 ^{Bc}	10.43 ^{Bab}	7.54 ^{ABab} 4 H 2 L
T2	MAX	20.42 ^{Ba}	11.19 ^{Ab}	3.5 ^{ABb}	12.41 ^{Aa}	12.08 ^{Aa}	4.35 ^{Ba} 4 H 4 L
	MED	17.79 ^{Ba}	15.71 ^{Aa}	3.7 ^{Ab}	12.37 ^{Aa}	12.88 ^{Aa}	5.02 ^{Ba} 7 H 5 L
	MIN	15.02 ^{Ba}	12.46 ^{Ab}	3.9 ^{Aab}	12.17 ^{Aa}	13.51 ^{ABa}	5.66 ^{ABa} 7 H 7 L
	NF	8.14 ^{Bb}	8.02 ^{Ac}	4.3 ^{Aa}	12.36 ^{Aa}	12.34 ^{Aa}	5.63 ^{Ba} 9 H 7 L
T3	MAX	100 ^{Aa}	4.02 ^{Cb}	4.3 ^{Aa}	12.52 ^{Aa}	10.32 ^{ABc}	8.25 ^{Aa} 1 H 12 L
	MED	100 ^{Aa}	7.53 ^{Ca}	4.1 ^{Aa}	11.64 ^{Bb}	10.79 ^{ABbc}	8.45 ^{Aa} 3 H 15 L
	MIN	52.32 ^{Ab}	8.48 ^{Ba}	3.8 ^{Aa}	12.82 ^{Aa}	13.27 ^{Aa}	7.77 ^{Aa} 3 H 15 L
	NF	39.43 ^{Ac}	4.51 ^{Bb}	4.1 ^{Aa}	12.79 ^{Aa}	12.68 ^{Aab}	8.38 ^{Aa} 4 H 11 L

*Letras mayúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas entre épocas para una misma zona (ANOVA, Tukey $p < 0.05$). *Letras minúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas entre zonas para una misma época (ANOVA, Tukey $p < 0.05$). MAX. zona máxima inundación. MED. zona de inundación media. MIN. zona de mínima inundación. NF. zona no inundada. T1. sequía. T2. inicio de lluvias. T3. inundación. %H. porcentaje de humedad con relación a la capacidad de campo. %MO. porcentaje de materia orgánica. Den AE. densidad de bacterias heterotróficas aeróbicas. Den AN. densidad de bacterias heterotróficas anaeróbicas. Den H. densidad de hongos.

Tal como se observa en la Figura 2B, los perfiles de uso de sustratos mostraron diferencias entre sitios (PERMANOVA: $F= 7.3$, $P_{perm}= 0.001$), y entre épocas (PERMANOVA: $F= 46.9$, $P_{perm}= 0.001$) y la interacción de los factores (PERMANOVA: $F= 3.2$, $P_{perm}= 0.001$). En la Figura 3 se representa el patrón de usos de sustratos de las comunidades microbianas en las diferentes zonas y épocas de muestreo. Se destacan cambios temporales en los patrones de consumo de sustratos complejos (celulosa, lignina, pectina y quitina), simples (actividad de α -amilasas, β -amilasas, proteasas) así como uso de aceptores de electrones alternativos (nitrito y nitrato reductasas, sulfatoreductasas).

Los análisis de similitudes (SIMPER) indicaron que las diferencias en los perfiles de uso de sustratos entre las zonas MAX y MED ($PD=14.99$) son debidas a cambios en las frecuencias de utilización de carbohidratos simples principalmente (13% de contribución) y amilasas (12%); con MIN

(PD=16.03) la contribución a la disimilitud fue de principalmente carbohidratos simples (15%) y actividad ureasa (10%) y la disimilitud con NF (PD=13.66) la mayor contribución fue la actividad nitrito-reductasa (11%) y ureasa (10%). La disimilitud de los perfiles fisiológicos entre las zonas MED y MIN (PD=13.03) se debe a una mayor frecuencia de amilasas (14% de contribución) y carbohidratos simples (10%) y con NF (PD=15.86) por amilasas (13%) y actividad lipolítica (11%). Finalmente, la principal contribución a la disimilitud de perfiles fisiológicos entre las zonas MIN y NF (PD= 11.27) se deben a la solubilización de fosfatos (12%) y actividad lipolítica (11%). En cuanto a las diferencias temporales el SIMPER indicó que las diferencias entre las zonas entre T1 y T2 (PD= 22.64) se debieron principalmente a la actividad de nitrito-reductasa (19% de contribución) y uso de lignina (8%) y con T3 (PD=22.52) la mayor contribución es de actividad de nitrito-reductasa (14%) y actividad proteolítica (9%). La principal contribución a las diferencias en el perfil fisiológico entre T2 y T3 (PD= 18.47) fue la solubilización de fosfatos (14%) y amilasas (11%).

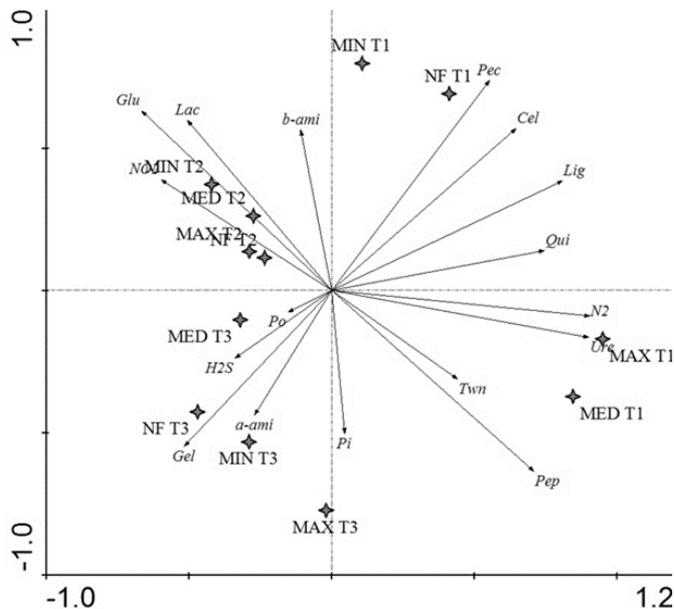


Figura 3. Análisis de Componentes Principales de los patrones de utilización de sustratos de comunidades microbianas en el gradiente de inundación. MAX. zona máxima inundación. MED. zona de inundación media. MIN. zona de mínima inundación. NF. zona no inundada. T1. sequía. T2. inicio de lluvias. T3. inundación. Glu. metabolismo de glucosa. Lac. metabolismo de lactosa. Pep. metabolismo de peptonas. α -ami. Actividad de α -amilasas. β -ami. Actividad de β -amilasas. Pec. degradación de pectina. Cel. degradación de celulosa. Lig. degradación de lignina. Qui. degradación de quitina. Gel. actividad de proteasas. TwN. actividad de lipasas. NO2. actividad de nitrato-reductasas. N2. actividad de nitrito-reductasas. Ure. actividad de ureasas. Pi. solubilización de fosfatos. Po. actividad de fitasas.

Diversidad Funcional. La Figura 4 representa los índices H' , los cuales sugieren de forma cuantitativa el grado de semejanza en la estructura de las comunidades estudiadas. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los índices de diversidad en las diferentes zonas y épocas de muestreo (ANOVA, $p > 0.05$).

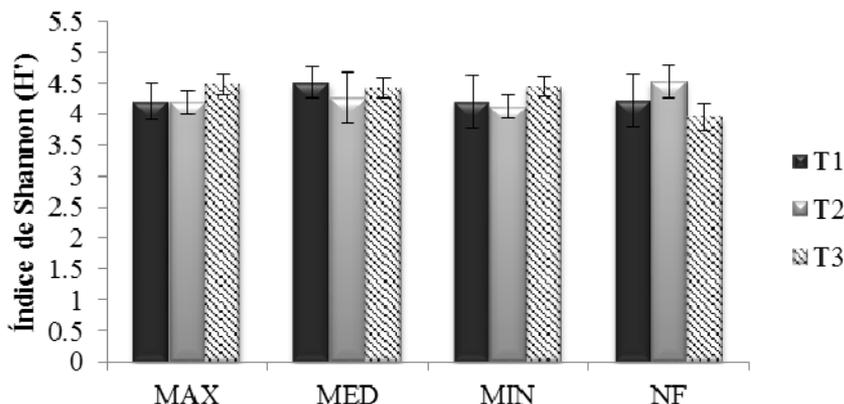


Figura 4. Diversidad de utilización de sustratos de la comunidad microbiana en el gradiente de inundación. MAX. zona máxima inundación. MED. zona de inundación media. MIN. zona de mínima inundación. NF. zona no inundada. T1. sequía. T2. inicio de lluvias. T3. inundación.

Equivalencias funcionales. Los perfiles fisiológicos de cada cepa aislada por sitio y época de muestreo permitieron determinar equivalencias funcionales en el gradiente de inundación (Tabla 2). Como factor común, en todas las zonas se observaron equivalencias del tipo bacteria aeróbica-anaeróbica, hongo-levadura, hongo-bacteria, levadura-bacteria. Se determinó predominancia de equivalencias entre cepas anaeróbicas, pero también aeróbica-anaeróbica (por ejemplo, MAX y NF en T1) o anaeróbica-hongo (por ejemplo, MAX y MIN en T2). Se destacan además, equivalencias de tipo aeróbica-levadura (MAX y MED en T3), anaeróbica-hongo (MIN en T2, MAX y MIN en T2), hongo-levadura (MIN y NF en T3). La matriz de equivalencias funcionales evidencia que al identificar coincidencias en la expresión de grupos microbianos particulares en diferentes zonas del gradiente para una misma época de muestreo o en la misma zona para distintas épocas podría implicar redundancia funcional en la comunidad microbiana.

Tabla 2. Matriz de equivalencias funcionales en el gradiente de inundación

Sitio / época	MAX			MED			MIN			NF		
	T1	T2	T3	T1	T2	T3	T1	T2	T3	T1	T2	T3
MAX	T1											
	T2	AN-AN AE-AN										
	T3	AN-AN AE-AN	AN-AN L - L									
MED	T1	AN-AN AN-H	AE-AE	AN-AN								
	T2	AE-AE AE-AN AN-H	AE-AE AN-AN	AE-AE	AN-AN							
	T3	AN-AN	AE-AE AE-AN	AE-AE AE - L	AE-AE	AE-AN AE-AE AN-H AN-AN						
MIN	T1	AN-AN	AE-AE AE-AN	AN-AN AE-AE	AN-AN	AN-AN	AN-AN L - L					
	T2	AN-AN AE-AN	AN-AN AE-AN AE-AE	AN-AN AE-AN AE-AE	AE-AN	AN-AN AE-AE	AE-AE AE-AN	AN-H AE-AE				
	T3	AN-AN	AN-AN L - L	AN-AN AE-AE	AN-AN AE - L	AE-AE	AE-AE AE-AN	AN-AN AE-AN	AN-AN			
NF	T1	AN-AN AE-AN	AN-AN L - L	AN-AN L - L	AN-AN	AN-AN	AN-AN	AN-AN AE-AN	AE-AN	AN-AN		
	T2	*	AN-AN AE-AE	AN-AN AE-AE	*	AN-AN	AE-AE L - L AN-AN	AE-AE	AN-AN AE-AE	AN-AN AE-AE	AN-AN	
	T3	AE-AE AE-AN AN-AN	AE-AN AN-AN	AE-AE AN-AN	AN-AN AE - L	AE-AE	AN-AN	AN-AN AE-AN	AN-AN AE-AE	AE-AE AN-AN L - L H - L L - AN L - AE	AN-AN	AN-AN

La interpretación se hace con doble entrada, considerando equivalencias funcionales de cepas de distinto tipo: AE. bacteria aeróbica. AN. bacteria anaeróbica. H. hongo filamentosos. L. levadura. MAX. zona máxima inundación. MED. zona de inundación media. MIN. zona de mínima inundación. NF. zona no inundada. T1. sequía. T2. inicio de lluvias. T3. inundación.

DISCUSIÓN

Se ha establecido que la estructura de las comunidades cambia espacio-temporalmente como respuesta al incremento o déficit de recursos o por factores ambientales que determinan los patrones de actividad de los microorganismos y su interacción en la comunidad (Samaritani *y col.*, 2017). En los ecosistemas influenciados por pulsos de entrada de recursos (agua, nutrientes) éstos se convierten en el principal factor de la variación estacional de la biomasa microbiana del suelo (Wardle, 1998). El análisis de ordenación realizado en este estudio muestra que la estructura funcional de la comunidad microbiana varía en el espacio y el tiempo, pero fueron las variaciones estacionales las que tuvieron mayor impacto. Este resultado parece coincidir con lo planteado

por Delong (2010) quien señala que en los sistemas bajo perturbaciones recurrentes, tales como los pulsos de inundación, las dinámicas temporales dominan los patrones de diversidad microbiana.

Los perfiles fisiológicos cambiaron de acuerdo a las variaciones de las condiciones fisicoquímicas y disponibilidad de sustratos en cada posición del gradiente (Figura 2). Resultados similares fueron encontrados por Samaritani *y col.* (2017) quienes reportan que la estacionalidad influye en mayor medida la estructura de la comunidad microbiana, en relación a las variaciones espaciales a través de una planicie de inundación restaurada. Estos autores concluyen que la estacionalidad afectó la disponibilidad de carbono, y la humedad del suelo y contenido de nutrientes fue heterogéneo en consecuencia, y por tanto la estructura comunitaria fue variable espacio-temporalmente.

Miller *y col.* (2001) establecen que los suelos en las zonas elevadas de las planicies de inundación son mejor drenados y en consecuencia son menos inundados que las zonas más bajas asociadas. Esta condición se cumple en el gradiente de inundación del Río Mapire, donde las zonas MAX y MED de textura arcillosa y ello les permite retener más tiempo la humedad del suelo y la materia orgánica (Langer y Rinklebe, 2009), mientras que las zonas MIN y NF textura franco-arenosa, están sometidas a condiciones abióticas diferentes, no sólo por la textura más arenosa y menor retención de humedad, sino por encontrarse más cercano al ecotono entre el bosque y la sabana. En referencia a este gradiente edáfico, Rosales (1988) determinó que los cambios en la fertilidad del suelo definen el tipo de vegetación que se establece, identificando en el gradiente de inundación del Río Mapire dos tipos de vegetación, várzea e igapó, caracterizadas por mayor y menor fertilidad respectivamente. Este estudio se realizó en el bosque de igapó, donde la baja fertilidad del suelo y el carácter oligotrófico de las aguas de inundación (Vegas-Vilarrúbia y Herrera, 1993) hacen de la planicie de inundación del Río Mapire un ecosistema que podría considerarse como un sistema cerrado en el cual, la cantidad de sedimentos transportada por el Río Mapire aun en épocas de descarga alta es muy baja como sugieren los resultados de Vegas-Vilarrúbia (1988). En este sistema los nutrientes son reciclados constantemente, ya que entran al suelo en forma de hojarasca durante la época seca (T1). Las plantas en este bosque pierden sus hojas debido al estrés hídrico como un mecanismo adaptativo de la vegetación para evitar la excesiva transpiración foliar (Fernández *y col.*, 1999). Esta hojarasca es descompuesta por la comunidad microbiana del suelo, siendo gran parte de estos nutrientes incorporados nuevamente a las plantas para la formación de hojas nuevas durante la entrada de lluvias. Los perfiles fisiológicos de la comunidad microbiana durante la época seca se

caracterizaron por el consumo de sustratos complejos tales como lignina, celulosa, pectina y almidón principalmente, lo cual es consistente con el proceso arriba explicado, pues estos sustratos constituyen elementos estructurales de la hojarasca seca.

Trabajos previos han propuesto que la heterogeneidad del hábitat es el resultado de los cambios en la composición de la comunidad vegetal, explicando la variabilidad en la estructura de la comunidad microbiana (Grayston *y col.*, 2001; Balasooriya *y col.*, 2008). Asimismo, algunas especies de plantas favorecen la actividad de la biota del suelo que facilita la descomposición de sus propios residuos, al menos a pequeñas escalas espacio-temporales (Dennis *y col.*, 2010), y los patrones sucesivos de la comunidad microbiana seguirá la sucesión de vegetación a lo largo del gradiente de inundación y la calidad de la hojarasca (Balasooriya *y col.*, 2008; Bardgett y Van der Putten, 2014). En ese respecto, Gutknecht *y col.* (2006), Balasooriya *y col.* (2008), Yu *y col.* (2012) y Samaritani *y col.* (2017) establecen que la vegetación es uno de los factores que influyen en la estructura de la comunidad microbiana a través de exudados radicales que proveen carbono soluble para los microorganismos que habitan las cercanías de las raíces (Gutknecht *y col.*, 2006; Samaritani *y col.*, 2017).

Además se ha discutido que la disponibilidad de agua es un factor importante que influye en la diversidad microbiana del suelo (Mentzer *y col.*, 2006) y se determinó en este estudio que el contenido de humedad del suelo varió significativamente de una época a otra en la planicie de inundación (Tabla 1). De la misma manera en que la humedad del suelo aumentó en T2, también incrementó el contenido de materia orgánica y la densidad de microorganismos. El perfil fisiológico de las comunidades microbianas durante esta época se caracterizó por el uso de sustratos simples y solubles tales como glucosa y almidón (Figura 3), que coincide con la mayor disponibilidad de carbono en el suelo, proveniente quizá de una mayor actividad de las raíces y lisis de células microbianas por shock osmótico producto del rehumedecimiento del suelo (Balasooriya *y col.*, 2008). En ese sentido, la estimulación de microorganismos capaces de utilizar azúcares simples y aminoácidos sugiere que las plantas pueden liberar compuestos de este tipo en sus rizósferas (Grayston *y col.*, 2001; Grayston y Campbell, 1996). Por otro lado, la actividad de nitrato reductasas demuestra la importancia del metabolismo anaeróbico de algunos microorganismos durante esta época.

Asimismo, en esta época aumentó en el número de morfotipos de levaduras en todas las zonas del gradiente, resultado que coincide con lo indicado por Allison y Treseder (2008) quienes sugieren que cuando ocurre un cambio en la humedad del suelo, se reduce la capacidad competitiva de

los hongos adaptados a la condición anterior respecto a aquellos taxones tolerantes a las nuevas condiciones. Las bajas tensiones de oxígeno pueden influir en el desarrollo de hongos filamentosos, debido a que éstos presentan un metabolismo estrictamente aeróbico (Morton, 2005) favoreciéndose entonces la expresión de levaduras, cuyo metabolismo fermentativo les permite adaptarse a las nuevas condiciones. Este patrón espacio-temporal de riqueza de morfotipos fúngicos (Tabla 1) como respuesta a los cambios estacionales en la planicie de inundación, coincide con los resultados de Kaisermann *y col.* (2015) y Lennon *y col.* (2012) quienes determinaron que la comunidad fúngica del suelo es sensible a cambios de humedad, modificando rápidamente la composición de la comunidad entre estados de alto y bajo nivel de saturación, debido a la coexistencia de diferentes poblaciones de hongos ocupando distintos nichos de humedad, con dominancia de aquellas más tolerantes. Autores como Gutknecht *y col.* (2006), Mentzer *y col.* (2006), Bossio *y col.* (2006), Langer y Rinklebe (2009) y Unger *y col.* (2009) establecen que en suelos inundados la actividad fúngica es poco importante así como su participación en la biogeoquímica en el ecosistema. Estas observaciones difieren de los resultados de este trabajo, ya que se pudo determinar que la densidad fúngica no disminuyó significativamente (Tabla 1) ni tampoco su actividad fisiológica durante la época de mayor inundación (T3). Los perfiles de uso de sustratos sugieren que el compartimiento fúngico de la comunidad microbiana tiene una importante participación en la biogeoquímica del bosque, no encontrándose evidencia de que los cambios en el contenido de humedad del suelo afecten el rendimiento metabólico de los hongos (Kaisermann *y col.*, 2015).

Durante la inundación (T3) los perfiles fisiológicos determinados mostraron mayor frecuencia de actividad de proteasas e hidrólisis de peptonas, ambos sustratos asociados a la mineralización de nitrógeno, y también así como solubilización de fósforo, y mineralización de este elemento por fitasas (Figura 3). El contenido de materia orgánica en el suelo disminuyó significativamente en esta época (Tabla 1) quizá por degradación microbiana, o bien porque los nutrimentos fueron absorbidos por las raíces de las plantas y/o lixiviados (Montaño *y col.*, 2013). El patrón de uso de sustratos encontrado responde a una disminución en la cantidad y calidad de sustratos, indicando que la disponibilidad de recursos podría estar activando microorganismos con la capacidad enzimática para mineralizar los nutrientes limitantes. Estos resultados sugieren que la que la inundación no afectó los procesos biogeoquímicos a los cuales los microorganismos están asociados, puesto que las comunidades microbianas en estas zonas están adaptadas a los pulsos anuales de inundación, manteniéndose la actividad fisiológica del componente microbiano en este ecosistema.

Es interesante destacar que bajo la lámina de agua en la zona MAX se encontraron además de las bacterias anaeróbicas y levaduras, presencia de bacterias aerobias y hongos filamentosos cuyo metabolismo es estrictamente aerobio. Una explicación para ello es que la vegetación de la zona presenta adaptaciones morfológicas para sobrevivir a la época de inundación prolongada, presentando en las ramas raíces adventicias, que permiten la respiración de la planta en aquellas zonas donde la duración de la inundación es mayor (Rosales, 1988). Esta estrategia de evasión para la inundación desarrollada por la vegetación podría tener influencia en la comunidad microbiana del suelo, ya que la respiración de la planta, así como su metabolismo (fotosíntesis) no es detenido durante la época lluviosa debido a un cierre estomático que ocurre durante esta época (Fernández., 2006). La contribución de la respiración de las raíces a la respiración total del suelo puede oscilar entre 10 y 90% (Hanson *y col.*, 2000) y quizá la ventilación radical podría mantener cierta condición aeróbica en la superficie del suelo inundado (Gutknecht *y col.*, 2006), facilitando la actividad de algunos hongos filamentosos y bacterias aeróbicas durante la inundación.

En este trabajo no se determinó la diversidad de especies microbianas, sino que se utilizó la estructura funcional (perfil fisiológico) como un estimador de la estructura de las comunidades microbianas. La variedad de morfotipos fúngicos encontrados, así como los cambios significativos en los patrones de utilización de sustratos entre sitios y épocas sugieren que la hidrología modificó la estructura de las comunidades microbianas, en concordancia con lo encontrado por Moche *y col.* (2015) cuyos resultados apuntan a que la duración de la inundación afecta la estructura comunitaria, resultado directamente relacionado con la textura del suelo y la disponibilidad de carbono orgánico lábil.

Después de una perturbación, tal como la inundación, la estructura de la comunidad microbiana es modificada debido a que algunos grupos microbianos son más sensibles al cambio de las condiciones abióticas, mientras que otras son favorecidas (Chowdhury *y col.*, 2011) y a pesar de ello, una comunidad puede presentar cambios en la diversidad taxonómica y mantenerse estable en cuanto a la diversidad funcional (Villéger *y col.* 2010). Esta afirmación podría estar sustentada con los resultados encontrados, pues se determinó que la estructura comunitaria es afectada por la estacionalidad, pero no se encontraron diferencias significativas en los valores de índices de diversidad de sustratos (Figura 4). La relación entre el hábitat, procesos y estructura comunitaria es extremadamente compleja, y conexiones directas son muy difíciles de establecer (Bardgett y Van der Putten, 2014). La contribución de los

diferentes microorganismos a las funciones ecosistémicas no son equitativas, y grupos particulares pueden más sensibles a los cambios de los parámetros del suelo (Rasche *y col.*, 2011) o pueden ser funcionalmente redundantes (Pereira e Silva *y col.*, 2012).

En ese sentido, la expresión de grupos funcionalmente idénticos en diferentes épocas de muestreo (Tabla 2) indica patrones temporales que evidencian sucesión de la comunidad microbiana como respuesta a cambios en las variables fisicoquímicas como contenido de humedad del suelo y variaciones en la cantidad y disponibilidad de sustratos (por ejemplo, T1 y T3 en MAX; T2 y T3 en MED). La apertura de nichos específicos en ciertas etapas del hidropériodo trae como consecuencia cambios en la estructura de la comunidad microbiana, sin embargo, la presencia de grupos funcionalmente equivalentes garantizaría la estabilidad funcional del sistema. La resiliencia después de la perturbación es una función de la estructura de la comunidad, la contribución relativa de especies sensibles y resistentes (Samaritani *y col.*, 2017).

Peter *y col.* (2011) sugiere que existe un contexto-dependencia de funciones específicas de ciertas especies que tiene influencia directa en la redundancia multifuncional de la comunidad microbiana, como un efecto simultáneo de la biodiversidad en el ecosistema. Entonces, cuando hay más de una especie con un papel ecológico similar en un sistema, se consideran funcionalmente redundantes, y pueden desempeñar un papel importante en garantizar la estabilidad del ecosistema cuando algunas especies se pierden debido a cambios ambientales (Córdoba-Tapia y Zambrano, 2015).

Por otra parte, las equivalencias funcionales entre zonas adyacentes indican que ocurre un intercambio de organismos entre las diferentes zonas del gradiente por el movimiento de agua, de la lluvia y del río en las diferentes épocas de año; desde la zona NF hacia la zona MAX en T2 y de la zona MAX a MIN en T3 (Tabla 2), lo cual concuerda con la teoría de conectividad hidrológica planteada por Ward *y col.* (1999) y Neiff (2004) que implica flujos horizontales (agua, nutrientes, organismos) desde y hacia el río. Durante la fase positiva del pulso denominada potamofase, las planicies adyacentes al ríos están cubiertos de agua de inundación, conectados con el curso del río y recibiendo aportes de éste (agua, nutrientes, esporas, etc.), mientras que durante la fase negativa del pulso o sequía, denominada limnofase, se produce entonces un flujo de materiales desde la planicie hasta el curso del río. Este proceso, tiene implicaciones importantes para los patrones de biodiversidad, debido al papel que juega la conectividad hidrológica en la estructuración de los

patrones sucesionales de las comunidades vegetales (Ward *y col.*, 1999), y como consecuencia, en las comunidades microbianas del suelo, pues aun cuando cada zona del gradiente de inundación tiene características fisicoquímicas y microbiológicas particulares, la conectividad hidrológica entre ellos puede proporcionar una vía importante para la dispersión microbiana (Hullar *y col.*, 2006; Argiroff *y col.*, 2017). Estos resultados sugieren que la hidrología del sistema promueve la conectividad entre las comunidades microbianas en las diferentes zonas en el gradiente de inundación, con importantes implicaciones en la biodiversidad de la planicie de inundación, entendiéndose que la funcionalidad del ecosistema es un componente de ésta (Ward *y col.*, 1999).

En conclusión, los patrones espaciales y temporales en la estructura funcional de la comunidad microbiana cultivable encontrados en este trabajo, parecen ser una respuesta a los cambios en las variables fisicoquímicas del suelo. En ese sentido, se observó que las comunidades microbianas se encuentran adaptadas a los pulsos anuales de inundación y sequía, por lo que los cambios temporales en la estructura funcional de la comunidad microbiana fueron más evidentes. La humedad del suelo es un factor determinante en el crecimiento de bacterias y hongos, creando condiciones adecuadas para el incremento de la densidad poblacional de estos grupos microbianos, aunque la saturación del suelo modificó la estructura comunitaria. Sin embargo, se determinó que los pulsos de inundación no afectaron negativamente la diversidad funcional, al contrario se determinó que la hidrología del sistema y la disponibilidad de sustratos inducen cambios en la estructura comunitaria, mientras que la redundancia funcional garantiza la continuidad de los procesos, indicando que el ecosistema es altamente resiliente a las perturbaciones anuales de inundación y sequía.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue financiada por FONACIT Proyecto N° 2009000461.

LITERATURA CITADA

- Allison, S.D. y K.K. Treseder. 2008. Warming and drying suppress microbial activity and carbon cycling in boreal forest soils. *Glob. Change Biol.* 14:2898–2909.
- Anderson, M.J., R.N. Gorley y K.R. Clarke. 2008. PRIMER+ for PERMANOVA: Guide to Software and Statistical Methods (Primer-E: Plymouth, UK). 214 p.

- Argiroff, W.A., D.R. Zak, C.M. Lanser, y M.J. Wiley. 2017. Microbial community functional Potential and composition are shaped by hydrologic connectivity in riverine floodplain soils. *Microb. Ecol.* 73(3):630–644.
- Balasoorya, W.K., K. Denef, J. Peters, N.E. Verhoest y P. Boeckx. 2008. Vegetation composition and soil microbial community structural changes along a wetland hydrological gradient. *Hydrol. Earth Syst. Sci.* 4:3869–3907.
- Bardgett, R.D. y W. Van der Putten. 2014. Belowground diversity and ecosystem functioning. *Nature* 515:505–511.
- Bossio, D.A., J.A. Fleck, K.M. Scow y R. Fujii. 2006. Alteration of soil microbial communities and water quality in restored wetlands. *Soil Biol. Biochem.* 38:1223–1233.
- Braak, C.J. y P. Smilauer. 1997. Canoco for Windows version 4.51. Biometris - Plant Research International. Wageningen, The Netherlands.
- Brockett, B.F.T., C.E. Prescott y S.J. Grayston. 2012. Soil moisture is the major factor influencing microbial community structure and enzyme activities across seven biogeoclimatic zones in western Canada. *Soil Biol. Biochem.* 44:9–20.
- Campbell, C.D., S.J. Grayston y D.J. Hirst. 1997. Use of rhizosphere carbon sources in sole carbon source tests to discriminate soil microbial communities. *J. Microbiol. Methods* 30:33–41.
- Castro, H.F., A.T. Classen, E.E. Austin, R.J. Norby y C.W. Schadt. 2010. Soil microbial community responses to multiple experimental climate change drivers. *Appl. Environ. Microbiol.* 76:999–1007.
- Chacón, N., N. Dezzeo, B. Muñoz y J.M. Rodríguez. 2005. Implications of soil organic carbon and the biogeochemistry of iron and aluminum on soil phosphorus distribution in flooded forest of the lower Orinoco River, Venezuela. *Biogeochemistry* 73:555 – 566.
- Chowdhury, N., P. Marschner y R. Burns. 2011. Soil microbial activity and community composition: impact of changes in matric and osmotic potential. *Soil Biol. Biochem.* 43:1229–1236.
- Clarke, K.R. y R.N. Gorley. 2006. PRIMER v6: User Manual/Tutorial. (PRIMER-E: Plymouth, UK.).
- Córdova-Tapia, F. y L. Zambrano. 2015. La diversidad funcional en la ecología de comunidades. *Ecosistemas* 24(3):78–87.
- Dedysh, S.N. 2011. Cultivating uncultured bacteria from northern wetlands: knowledge gained and remaining gaps. *Front. Microbiol.* 184(2):1–15.
- Delgado-Baquerizo, M., J. Grinyer, P.B. Reich y B.K. Singh. 2016. Relative importance of soil properties and microbial community for soil functionality: insights from a microbial swap experiment. *Funct. Ecol.* 30:1862–1873.
- Delong, M.D. 2010. Food webs and the Upper Mississippi River: contributions to our understanding of ecosystem function in large rivers. *Hydrobiology* 640:89–101.
- Dennis, P.G., A.J. Miller, y P.R. Hirsch, 2010. Are root exudates more important than other sources of rhizodeposits in structuring rhizosphere bacterial communities? *FEMS Microbiol. Ecology* 72:313–327.
- Fernández, M.D. 2006. Changes in photosynthesis and fluorescence in response to flooding in emerged and submerged leaves of *Pouteria orinocoensis*. *Photosynthetica* 44(1):32–38.

- Fernández, M.D., A. Pieters, C. Donoso, C. Herrera, W. Tezara, E. Rengifo y A. Herrera. 1999. Seasonal changes in photosynthesis of trees in the flooded forest of the Mapire river. *Tree Physiol.* 19:79–85.
- Fierer, N., J.P. Schimel y P.A. Holden. 2003. Variations in microbial community composition through two soils depth profiles. *Soil Biol. Biochem.* 35:167–176.
- Freixa, A., E. Ejarque, S.Crognale, S. Amalfitano, S. Fazi, A. Butturini y A.M. Romani. 2016. Sediment microbial communities rely on different dissolved organic matter sources along a Mediterranean river continuum. *Limnol. Oceanogr.* 61:1389–1405.
- Garau, G., P. Castaldi, L. Santona, P. Deiana y P. Melis. 2007. Influence of red mud, zeolite and lime on heavy metal immobilization, culturable heterotrophic microbial populations and enzyme activities in a contaminated soil. *Geoderma* 142:47–57.
- García, F.C., E. Bestiona, R. Warfielda y G. Yvon-Durocher. 2018. Changes in temperature alter the relationship between biodiversity and ecosystem functioning. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 115(43):10989–10994.
- Grayston, S.J. y C.D. Campbell. 1996. Functional biodiversity of microbial communities in the rhizospheres of hybrid larch (*Larix eurolepis*) and Sitka spruce (*Picea sitchensis*). *Tree Physiol.* 16:1031–1038.
- Grayston, S.J., G.S. Griffith, J.L. Mawdsley, C.D. Campbell y R.D. Bardgett. 2001. Accounting for variability in soil microbial communities of temperate upland grassland ecosystems. *Soil Biol. Biochem.* 33:533–551.
- Gutknecht, J.L., R.M. Goodman y T.C. Balsler. 2006. Linking soil processes and microbial ecology in freshwater wetland ecosystems. *Plant Soil* 289:17–34.
- Hammer, Ø., D.A. Harper y P.D. Ryan. 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for education and data analysis. *Palaeontol. Electron.* 4(1): 9–18.
- Hanson, P.J., N.T. Edwards, C.T. Garten y J.A. Andrews. 2000. Separating root and soil microbial contributions to soil respiration: a review of methods and observations. *Biogeochemistry* 48:115–146.
- Hooper, D.U., F.S. Chapin, J.J. Ewel, A. Hector, P. Inchausti, S. Lavorel, J.H. Lawton, D.M. Lodge, M. Loreau, S. Naeem, B. Schmid, H. Setälä, A.J. Symstad, J. Vandermeer y D.A. Wardle. 2005. Effects of biodiversity on ecosystem functioning: a consensus of current knowledge. *Ecol. Monogr.* 75:3–35.
- Huang, N., W. Wang, Y. Yao, F. Zhu, W. Wang y X. Chang. 2017. The influence of different concentrations of bio-organic fertilizer on cucumber *Fusarium* wilt and soil microflora alterations. *PLoS One* 12 (2):e0171490.
- Hullar, M.A.J., L.A. Kaplan y D.A. Stahl. 2006. Recurring seasonal dynamics of microbial communities in stream habitats. *Appl. Environ. Microbiol.* 72:713–22.
- Jackson, M. 1976. Análisis químico del suelo. 3^{ra} ed. Omega, Barcelona. 662p.
- Kaisermann, A., P.A. Maron, L. Beaumelle y J.C. Lata. 2015. Fungal communities are more sensitive indicators to non-extreme soil moisture variations than bacterial communities. *Appl. Soil Ecol.* 86:158–164.
- Langer, U. y J. Rinklebe. 2009. Lipid biomarkers for assessment of Microbial Communities in floodplain soils of the Elbe River (Germany). *Wetlands* 29(1):353 – 362.
- Lennon, J.T., Z.T. Aanderud, B.K. Lehmkuhl y D.R. Schoolmaster. 2012. Mapping the niche space of soil microorganisms using taxonomy and traits. *Ecology* 93:1867–1879.

- McFaddin, J. 2004. Pruebas Bioquímicas Para La Identificación De Bacterias De Importancia Clínica. 3ª Edición. Buenos Aires Argentina: Ediciones Panamericana. 850p.
- Mentzer, J.L., R.M. Goodman y T.C. Balser. 2006. Microbial seasonal response to hydrologic and fertilization treatments in a simulated wet prairie, *Plant Soil* 284:85–100.
- Miller, A.J., E.A. Shuur y O.A. Chadwick. 2001. Redox control of phosphorus pools in Hawaiian montane forest. *Geoderma*, 102: 219–237.
- Moche, M., J. Gutknecht, E. Schulz, U. Langer y J. Rinklebe. 2015. Monthly dynamics of microbial community structure and their controlling factors in three floodplain soils. *Soil Biol. and Biochem.* 90:169-178.
- Montaño, N.M., A.L. Sandoval-Pérez, M. Nava-Mendoza, J.M. Sánchez-Yañez y F. García-Oliva. 2013. Variación espacial y estacional de grupos funcionales de bacterias cultivables del suelo de un bosque tropical seco en México. *Rev. Biol. Trop.* 61(1):439-453.
- Morton, J.B. (2005). Fungi. En: *Principles and Applications of Soil Microbiology* (Sylvia, D.M., Fuhrmann, J.J., Hartel, P.G. y Zuberer, D.A. Eds). New Jersey, USA: Prentice Hall. Capítulo 3:72-92.
- Neiff, J.J. 2004. Bosques fluviales de la Cuenca del Paraná. En: *Ecología y manejo de los bosques de Argentina* (Arturi, M.F., Frangi, J.L. y Goya, J.F. Eds). Corrientes Argentina: CONICET. Capítulo 1:1-26).
- Nelson, T.M., C. Streten, K.S. Gibb y A.A. Chariton. 2016. Bacteria in tropical floodplain soils are sensitive to changes in saltwater. *Mar. Freshwater Res.* 69(7):1110-1123.
- Pankratov, T.A., A.O. Ivanova, S.N. Dedysh y W. Liesack. 2011. Bacterial populations and environmental factors controlling cellulose degradation in an acidic *Sphagnum* peat. *Environ. Microbiol* 13:1800–1814.
- Parkinson, D., T.R.G. Gray y S.T. Williams. 1971. Methods for Studying the Ecology of Soil Micro-organisms. IBP Handbook No 19. International Biological Programme. Oxford: Blackwell Scientific Publications. 116p.
- Pereira e Silva, M.C., A.C.F. Dias, J.D. van Elsas y J.F. Salles. 2012. Spatial and temporal variation of archaeal, bacterial and fungal communities in agricultural soils. *PLoS One* 7(12): e51554.
- Peter, H., S. Beier, S. Bertilsson, E.S. Lindström, S. Langenheder y L.J. Tranvik. 2011. Function-specific response to depletion of microbial diversity. *ISME J.* 5:351-361.
- Pikovskaya, R.L. 1948. Mobilization of phosphorus in soil in connection with vital activities by some microbial species. *Mikrobiologia* 17:362–370.
- Rasche, F., D. Knapp, C. Kaiser, M. Koranda, B. Kitzler, S. Zechmeister-Boltenstern y A. Sessitsch. 2011. Seasonality and resource availability control bacterial and archaeal communities in soils of a temperate beech forest. *ISME J.* 5:389–402.
- Richards, L. 1941. A pressure membrane extraction apparatus for soil solution. *Soil Science* 51: 377–386.
- Rinklebe, J., C. Franke y H.U. Neue. 2007. Aggregation of floodplain soils based on classification principles to predict concentrations of nutrients and pollutants. *Geoderma* 141:210-223.
- Rosales, J. 1988. Análisis florístico-estructural y algunas relaciones ecológicas en un bosque inundable en la boca del río Mapire (estado Anzoátegui). Tesis de Maestría. Caracas, Venezuela: Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. 235 p.

- Samaritani, E., E.A.D. Mitchell, J. Rich, J. Shrestha, B. Fournier, y B. Frey. 2017. Soil bacterial communities and ecosystem functioning change more strongly with season than habitat in a restored floodplain. *Appl. Soil Ecol.* 112:71-78.
- Slifkin, M. 2000. Tween 80 Opacity Test Responses of Various *Candida* Species. *J. Clin. Microbiol.* 38(12):4626-4628.
- Stefanowicz, A.M., M. Niklińska y R. Laskowski. 2008. Metals affect soil bacterial and fungal functional diversity differently. *Environ. Toxicol. Chem.* 27(3):591-598.
- Unger, I.M., A.C. Kennedy y R.M. Muzika. 2009. Flooding effects on soil microbial communities. *Appl. Soil Ecol.* 42:1-9.
- Vegas-Vilarrúbia, T. y F. Herrera. 1993. Effects of periodic flooding on the water chemistry and primary production of the Mapires systems (Venezuela). *Hydrobiologia*, 262: 31-42.
- Vegas-Vilarrúbia, T. (1988). Aproximación a una clasificación de los ríos de aguas negras venezolanos atendiendo a las características de sus sustancias húmicas y de sus variables físico-químicas. Tesis Maestría. Caracas, Venezuela: Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. 199p.
- Villéger, S., J.R. Miranda, D.F. Hernández y D. Mouillot. 2010. Contrasting changes in taxonomic vs. functional diversity of tropical fish communities after habitat degradation. *Ecol. Appl.* 20:1512-1522.
- Walkley, A. y A. Black. 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science* 37:29-38.
- Ward, J.V., K. Tockner y F. Schiemer. 1999. Biodiversity of floodplain river ecosystems: ecotones and connectivity. *Regul. Rivers: Res. Manage.* 15:125-139.
- Wardle, D.A. 1998. Controls of temporal variability of the soil microbial biomass: a global-scale synthesis. Review. *Soil Biol. Biochem.* 30:1627-1637.
- Westermann, P. 1993. Wetland and swamp microbiology. En: *Aquatic Microbiology, An ecological approach* (Ford T. Ed). Oxford: Blackwell Scientific Publications. Capítulo 3:215-238.
- Xue, D., H.Y. Yao, D.Y. Ge y C.Y. Huang. 2008. Soil microbial community structure in diverse land use systems: a comparative study using Biolog, DGGE, and PLFA analyses. *Pedosphere* 18(5):653-663.
- Yu, Y., H. Wang, J. Liu, Q. Wang, T. Shen, W. Guo y R. Wang. 2012. Shifts in microbial community function and structure along the successional gradient of coastal wetlands in Yellow River Estuary. *Eur. J. Soil Biol.* 49:12-21.
- Zak, J., M. Willing, D. Moorhead y H. Wildman. 1994. Functional diversity of microbial communities: A quantitative approach. *Soil Biol. Biochem.* 26:1101-1108.
- Zamora, A., N. Malaver y J. Ramos. 2012. Análisis Funcional de Microorganismos: un estimador de diversidad y estructura comunitaria. *Acta Biol. Venez.* 32(1): 57-86.